



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
CENTRO DE ESTUDIOS DE POSGRADO, INVESTIGACIÓN,
RELACIONES Y COOPERACIÓN INTERNACIONAL

UNIVERSIDAD SANTIAGO DE CHILE
CENTRO DE ESTUDIOS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
LOS ALIMENTOS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN, TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS Y SUSTENTABILIDAD



usach



TEMA.

“PERSPECTIVAS DE APLICACIÓN DE ACEITE DE PALMA
AFRICANA (*Elaeis Guineensis*) EN DIETAS PARA ALIMENTACION DE
ERIZOS CULTIVADOS”

ELABORADO POR:

ING. JOHNNY ALEXANDER LOPEZ DELGADO

TESIS DE GRADO PRESENTADO EN CONFORMIDAD A LOS REQUISITOS
PARA OBTENER EL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS

MANTA

MANABÍ

ECUADOR



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
CENTRO DE ESTUDIOS DE POSGRADO, INVESTIGACIÓN,
RELACIONES Y COOPERACIÓN INTERNACIONAL
UNIVERSIDAD SANTIAGO DE CHILE
CENTRO DE ESTUDIOS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DE LOS ALIMENTOS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN, TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS Y SUSTENTABILIDAD



TRIBUNAL EXAMINADOR

LOS HONORABLES MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR APRUEBAN
EL INFORME DE INVESTIGACION SOBRE EL TEMA: “PERSPECTIVAS DE
APLICACIÓN DE ACEITE DE PALMA AFRICANA (*Elaeis Guineensis*) EN
DIETAS PARA ALIMENTACION DE ERIZOS CULTIVADOS”

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con el amor más profundo a mi familia, mi esposa Mónica que es el soporte que me acompaña en las decisiones y luchas que emprendo para crecer como ser humano. A mis Hijos Denzel y Samantha, que son la continuación de mi vida y el motor que me impulsa a ser cada día mejor.

RESUMEN

El Aceite Crudo de palma es la fuente natural mas rica en carotenoides en términos de Retinol (provitamina A) así como también de alfa-carotenos, Beta-carotenos, Tocoferoles, tocotrienoles, los cuales constituyen una excelente fuente nutricional muy apreciados en la industria de alimentos, y es justamente este atributo del aceite de palma ecuatoriano, que se le quiere dar una aplicación en el desarrollo de dietas para la industria acuícola muy desarrollada en Chile.

Mediante la determinación de sus componentes carotenoides, evaluados mediante análisis en HPLC así como también la composición de ácidos grasos del aceite de palma crudo y sus diferentes derivados, se pretende evaluar la aplicación de este importante aceite para incorporarlo en el cultivo de erizos, una Industria joven en Chile y a la cual se espera poder contribuir con los nutrientes de la palma africana.

ABSTRACT

The Crude Oil of palm is the natural but rich source in carotenoid in terms of Retinol (provitamin A) as well as of alpha-carotenes, Beta-carotenes, Tocoferoles, tocotrienoles, which constitute an excellent nutritional source very appreciated in the food industry, and is exactly this attribute of the Ecuadorian oil of palm, that is wanted to give an application to him in the development of diets for the seafood industry very developed in Chile.

By means of the determination of his carotenoid components, evaluated by means of analysis in HPLC as well as the fatty acid composition of the crude oil of palm and its different derivatives, it is tried to evaluate the application of this important oil to incorporate it in the culture of sprocket wheels, a young Industry in Chile and to which it is hoped to be able to contribute with the nutrient of the African palm.

INDICE

I	Introducción.	8
II	Objetivos	12
	2.1. Objetivo General	12
	2.2. Objetivos específicos	12
III	Antecedentes	13
	3.1. La Palma en el Ecuador	13
	3.2. Información técnica	17
	3.2.1. Requerimientos básicos de clima y suelo	17
	3.2.2. Ciclos de cultivo	17
	3.2.3. Siembra	17
	3.2.4. Rendimientos agrícolas	18
	3.3. Principales productores de Palma Africana	18
	3.3.1. Producción mundial de aceite de palma	19
	3.4. Aceite de palma y aceite de Palmiste	21
	3.4.1. Aceite de Almendra de Palma (Palmiste)	21

IV	Industrialización de la Palma	22
4.1.	Extracción del aceite crudo de Palma	22
4.2.	Proceso Industrial de Palma	23
4.2.1.	Esterilización	24
4.2.2.	Separación	24
4.2.3.	Prensado	24
4.2.4.	Clarificación	24
4.2.5.	Refinado del aceite de palma	25
4.2.6.	Desgomado	26
4.2.7.	Refinación alcalina del aceite de palma.	26
4.2.8.	Neutralización	27
4.2.9.	Blanqueo	28
4.2.10.	Desodorización del aceite	29
4.2.11.	Valores de aceptabilidad para el aceite refinado de Palma.	29
4.2.12.	Almacenamiento del aceite	30

4.3.	Proceso Alternativos	30
V	El Erizo	32
5.1.	Delimitación del problema.	34
5.2.	Influencia de los nutrientes principales de las dietas.	35
5.2.1.	Efecto de las proteínas	35
5.2.2.	Efecto de los Pigmentos (carotenoides)	37
5.2.3.	Efecto de los lípidos	40
VI	Materiales y métodos	43
6.1.	Carotenoides del aceite	43
6.2.	Ácidos grasos del aceite de palma	45
6.3.	Perfil de ácidos grasos de gónadas de erizo	46
6.4.	Contenido de antioxidantes naturales del aceite de palma	48
6.5.	Proceso para cambiar la composición del aceite de palma	49
6.6.	Determinación de carotenoides por cromatografía.	51
6.6.1.	Extracción y purificación de pigmentos	52
6.6.2.	Identificación y cuantificación de pigmentos:	53

6.6.3. Identificación inicial de pigmentos extraídos del aceite de palma.	54
6.6.4. Identificación de pigmentos	55
6.7. Fraccionamiento del aceite de palma.	66
VII Resultados y discusión	69
VIII Referencias Bibliográficas	70
IX Anexos	73
9.1.- Tabla de ácidos grasos	73
9.2.- Formulas de los diferentes carotenos	74
9.3.- Especies comestibles de Erizos de mar	76

I Introducción.

Ecuador es uno de los principales países productores y exportadores de productos derivados de Palma Africana (*Elaeis Guineensis*). Actualmente, cerca del 80% de la producción mundial del aceite de palma es destinada a la industria alimenticia (fabricación de margarina, helados, galletas, leche y chocolates artificiales, aceite de cocina, mayonesa, frituras industriales, etc.), y el restante es aplicado en las industrias de cosméticos, jabones, velas, productos farmacéuticos y lubricantes, entre otras. (www.campestre.com.br. Rev.09/05/06).

La idea se fundamenta en que las dietas para moluscos y peces necesitan contener energía, pigmentos, vitaminas y antioxidantes liposolubles que actualmente son adicionadas separadamente, pero que el aceite de palma crudo o alguno de sus subproductos podrían aportarlos en un único insumo y de paso ser completamente naturales, muy de acuerdo con la tendencia actual de sustituir los aditivos sintéticos.

La industria de dietas para acuicultura emplea hoy en día cantidades enormes de ingredientes, algunos de origen animal como harina y aceite de pescado, pero preferentemente de origen vegetal en forma de afrechos desgrasados, residuos de molinería, y en menor medida harinas de granos integrales. En el cultivo de salmones, moluscos y crustáceos hay una gran necesidad de insumos grasos, pero estos deben presentar niveles mínimos de ácidos grasos de la familia ómega-3.

En este aspecto el aceite de palma, al igual que la mayoría de los aceites vegetales (excepto linaza y canola) no cumple con este requisito, por lo cual deben ser utilizados en mezcla con aceite de pescado.

Sin embargo, los tocoferoles, tocotrienoles y diferentes carotenoides del aceite de palma crudo o de las borras de su refinación, constituyen una ventaja para aquellas especies marinas que acumulan carotenoides en sus tejidos (salmónidos, erizo, mejillón), cuya intensidad y tono no es apenas un criterio de calidad, sino que un nutriente esencial para su desarrollo.

Los carotenoides pertenecen a los ingredientes más caros de un alimento; en salmón, la astaxantina sintética encapsulada que le da el color anaranjado típico contribuye entre el 10-15% del costo de la dieta. El beta-caroteno, (pro-vitamina A) es también un aditivo caro, mas todavía si es de origen natural.

La astaxantina no puede ser sintetizada por el pez a partir de otros carotenoides por lo cual no habría ventaja en introducir aceite de palma en una dieta para salmones. Sin embargo, la situación con erizos, un cultivo que esta adquiriendo un fuerte desarrollo en Chile, sería mucho más favorable pues los equinodermos pueden sintetizar Equinenona, su pigmento típico, a partir del beta-caroteno, muy abundante en la palma africana, además los equinodermos consiguen sintetizar ácidos grasos poliinsaturados con 20 carbonos, de manera más eficiente que los salmones, a partir de precursores con 18 carbonos presentes en los aceites vegetales.

Por otra parte, todas las dietas llevan adición de antioxidantes, hasta hoy de origen sintético (BHT, THBQ, Etoxiquina), lo que está siendo cada vez mas cuestionado por los consumidores. La riqueza del aceite de palma en tocoferoles y tocotrienoles no esterificados, garantiza que la dieta tendrá una mayor protección antioxidativa de origen natural, pudiendo eliminar o reducir al mínimo la cantidad del antioxidante sintético.

El aceite de palma para estas finalidades no necesita ser refinado, manteniendo el color anaranjado-rojizo peculiar de la pulpa del fruto. El inconveniente de la refinación es que remueve la mayor parte de los carotenoides dejándolo ligeramente amarillo y generando borras ricas en pigmentos, ácidos grasos y fosfolípidos que podrían también encontrar aplicación en acuicultura y avicultura. Además, la refinación remueve los antioxidantes naturales, que son deseables en las dietas.

El aceite crudo de palma es mas barato que el refinado, tornándolo competitivo para alimentación de especies marinas cultivadas en relación a otros aceites vegetales.

Otra opción tecnológica es el fraccionamiento del aceite por enfriamiento y cristalización produciendo "Oleína" o fracción líquida y "Estearina" o fracción sólida. La líquida tiene mayor poliinsaturación, pero debe estudiarse como acontece la partición de los tocoferoles y los carotenos entre ambas fases y los costos en comparación con aceite crudo.

Este trabajo pretende recopilar datos sobre la industria de aceite de palma ecuatoriano, caracterizar los carotenoides, tocoferoles (vitamina E) y tocotrienoles (antioxidantes) a fin de disponer de información básica para expandir el aprovechamiento del aceite de palma en futuras aplicaciones en el cultivo de erizos y otras especies terrestres o acuáticas.

II Objetivos

2.1. Objetivo General

Este trabajo, pretende demostrar que además de los usos mencionados, el aceite crudo, borras de su refinación o fracciones separadas podrían convertirse en nuevos insumos para dietas de acuicultura.

2.2 Objetivos específicos

Mediante la determinación de los compuestos carotenoides que posee la palma africana (*Eleais Guinensis*) ecuatoriana, se pretende incorporar estos nutrientes en dietas para el cultivo de Erizos (*Loxechinus Albus*) en la Industria acuícola Chilena.

Debido a la composición de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados que posee la fracción líquida del aceite refinado de palma (Oleína), se pretende que sea asimilado en el desarrollo nutricional del Erizo, aportándole una fuente de energía necesaria para su desarrollo, conociendo que este tipo de Equinodermo es herbívoro.

El color, sabor y textura en las gónadas de Erizo son propiedades esenciales que juzgan la calidad de los mismos siendo el color uno de los factores principales de aceptabilidad, es por eso que se pretende contribuir con los componentes carotenoides propios del aceite de palma para mejorar este aspecto de calidad en los erizos cultivados.

III Antecedentes

3.1. La Palma en el Ecuador

Las primeras plantaciones de palma africana en el Ecuador se remontan al año 1953 en Santo Domingo de los Colorados, provincia de Pichincha y en Quinindé, provincia de Esmeraldas, sitios en los que se inician los cultivos a pequeña escala. El crecimiento del sector palmicultor se da el año 1967, época en la cual ya se habían sembrado alrededor de 1.000 hectáreas.

Las condiciones climatológicas del Ecuador hacen que sus tierras sean óptimas para el cultivo de palma africana, actividad que reúne ciertas características peculiares y convierten a esta industria en un potencial para el desarrollo social y económico de la población.

El cultivo de palma africana mueve interesantes inversiones, genera importantes puestos de trabajo e impulsa el desarrollo agropecuario del país, no sólo desde el punto de vista del cultivo sino por la serie de negocios subyacentes que se generan.

Se estima que esta actividad genera 60 mil puestos de trabajo directo y 30 mil indirectos en las actividades relacionadas.

La Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Africana (ANCUPA) es un organismo privado que a más de integrar a los empresarios de esta actividad, promueve la capacitación, transferencia de tecnologías, investigación y promoción de cultivos.

ANCUPA en 1998 a nivel nacional censó 2.125 palmicultores diseminados en la costa, sierra y oriente, abarcando una superficie total sembrada aproximado de 124 mil hectáreas de cultivos. La mayoría de productores (76%) explotan en pequeñas fincas que no sobrepasan las 50 hectáreas; apenas 7 productores (0,33%) superan las 1.000 hectáreas. El Proyecto SICA estimaba que para finales del año 2000 la superficie total sembrada alcanzaría 144 mil hectáreas. Las provincias con mayor producción de palma africana son Pichincha, Esmeraldas y Los Ríos; en menor escala se produce también en las provincias de Cotopaxi, Guayas, Imbabura, Manabí, Napo y Sucumbíos. Los cantones con las plantaciones más representativas son Quinindé, Santo Domingo de los Colorados y Buena Fe. (Armendariz ,2002)

A finales de 1999 la superficie para cultivo de palma africana se había incrementado considerablemente. Sólo en el cantón San Lorenzo de la provincia de Esmeraldas se incrementó en más de 15.000 hectáreas. El Ministerio del Ambiente (MA) estimó la destrucción de 8.000 hectáreas de bosques en esta zona debido a las plantaciones de palma y proyectaba para los próximos años unas 30.000 hectáreas de bosques serían convertidas en áreas palmicultoras.

A mediados del año 2001 se presentaron iniciativas privadas de inversión en palma africana en la zona de San Lorenzo, cuyo objetivo fundamental sería coadyuvar al desarrollo económico y social de la zona; ante estas perspectivas han surgido algunos obstáculos por parte de organizaciones ambientalistas que defienden la conservación del medio ambiente y manglares, y por lo tanto se han opuesto a que la empresa privada amplíe sus sembríos de palma. Pese a que los

inversionistas han realizado estudios técnicos de impacto ambiental y manejo adecuado de los proyectos, no se conocen resultados que satisfagan a las partes.

La presencia de las palmicultoras en el norte de Esmeraldas es reciente. Este cambio hacia el norte de la Costa Ecuatoriana se debe a que la palma africana ha bajado sus rendimientos en las zonas de Santo Domingo, Quinindé y Quevedo. Se aduce a "causas ambientales y mal manejo nutricional". Esto significa que los palmicultores necesitan tierras nuevas para el cultivo. Otra causa para el traslado son los precios de la tierra, pues en el norte de Esmeraldas son más bajos y la falta total de control en relación al ambiente y al tráfico de tierras les facilita acaparar más superficie para el cultivo.

Las cifras indican que la producción de palma africana tuvo una tendencia creciente, pues entre los años mencionados creció anualmente el 13,5%. La gran producción de este período constituye cifra récord de la última década. La falta de manejo nutricional ocasionó que los suelos se agoten y pierdan gran cantidad de nutrientes por lo que la producción del año 2000 se vio afectada alcanzando un crecimiento de 2,2% con respecto a 1999.

La superficie cosechada ha tenido una tendencia creciente a lo largo de los últimos diez años, ubicándose para el año 1999 y 2000 en 103 mil y 113 mil hectáreas, respectivamente. El proyecto SICA del Ministerio de Agricultura estimó que la superficie cosechada para el año 2001 fue de 123,6 miles de hectáreas, mientras que para el 2002 se cosechó una superficie de 133 mil Ha.

En lo que respecta a rendimientos, entre 1997 y 2000 la producción de fruta de palma africana logró un promedio de 11,87 toneladas métricas por cada hectárea cosechada, destacándose el año 99 en el cual se alcanzó el mayor rendimiento 12,7 Tm/Ha. Entre el año 2000 y 2001 el rendimiento en Tm. de aceite crudo producido por cada hectárea cosechada cayó un 5,8% a partir de 11,3 Tm.



Fig. 1.- El fruto de la Palma africana (*Elaeis Guineensis*)

3.2. Información técnica

A continuación se describen algunas características técnicas de la palma africana.

- Nombre común: *Palma africana*.
- Especie botánica: *Elaeis guineensis* Jacq.
- Variedades: *Dura*; *Tenera* (INIAP), *Pisífera*.

3.2.1. Requerimientos básicos de clima y suelo

- Clima: Sub tropical.
- Humedad: 80%
- Temperatura promedio anual: 22 - 33 °C (óptimo: 28 °C).
- Precipitación anual: 1,500 a 3,000 mm anuales.
- Altitud: 1,700 – 2,500 metros sobre el nivel del mar.
- Tipo de suelo: Franco–limoso o Franco–arcilloso con buen drenaje.
- Acidez: PH 5.8 – 6.5, no desarrolla en suelos alcalinos.

3.2.2. Ciclos de cultivo

- Desarrollo de la plantación 36 meses.
- Inicio de la cosecha 36 meses.
- Vida económica Perenne.

3.2.3. Siembra

- Material de siembra Semillas germinadas en vivero. El sistema de siembra es en tres bolillos.
- Distancia de la siembra 9 m.
- Densidad por hectáreas 143 palmas / ha y 35 cm. de profundidad (transplante de plantas de vivero).

3.2.4. Rendimientos agrícolas

El rendimiento de palma africana es progresivo e incrementa con la edad de la plantación hasta estabilizarse.(Proyecto SICA-MAG Servicio de Información Agropecuaria del Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2001)

3.3. Principales productores de Palma Africana

Los mayores productores, según el Malaysian Palm Oil Board, están localizados en el continente asiático, principalmente en Malasia, Indonesia y Tailandia. En el 2005, Asia fue responsable por más del 80% del total producido. En seguida se destacaron las Américas - Colombia, Ecuador, Brasil, Honduras, Costa Rica y Guatemala con el 4,2%; y África con 3,5%. Individualmente, los principales productores mundiales fueron: Malasia (44,9%); Indonesia (40,8%); Nigeria (2,4%); y Colombia (2,0%). Ecuador es el 8º mayor productor, con aproximadamente 0,9% del total.

3.3.1. Producción mundial de aceite de palma

Tabla 1.- Producción mundial de aceite de palma, 2005 (en mil toneladas)

País	2005	
	Valor	Part.%
Malasia	14.962	44,9%
Indonesia	13.600	40,8%
Nigeria	800	2,4%
Colombia	662	2,0%
Costa de Marfil	260	0,8%
Tailandia	685	2,1%
Papua Nueva Guinea	350	1,1%
Ecuador	298	0,9%
Costa Rica	195	0,6%
Honduras	178	0,5%
Brasil	160	0,5%
Venezuela	66	0,2%
Guatemala	90	0,3%
Subtotal	32.306	96,9%
Otros países	1.020	3,1%
Total	33.326	100,0%

Fuente: Malaysian Palm Oil Board.

En el 2005, el consumo mundial de aceites y grasas vegetales, incluyendo el aceite de palma, fue de 138,2 millones de toneladas. Los principales consumidores fueron, China, la Unión Europea, Estados Unidos e India, que representaron más de 55% del consumo total. (www.mpob.gov.my – Acceso el 09/05/06).

El aceite de palma tal como se extrae contiene alrededor del 3,5% de lípidos polares, fosfolípidos y glicolípidos, siendo el resto triglicéridos. Los ácidos grasos

fundamentales el palmítico y el oleico, predominando uno u otro según la especie, variedad y condiciones de cultivo. La característica más llamativa de este aceite es el intenso color rojo que tiene cuando no ha sido refinado, debido a la presencia de carotenoides, en concentraciones muy elevadas, entre 600 y 6000 mg/kg. El carotenoide predominante es el b- caroteno, que representa unos dos tercios del total, siendo el resto fundamentalmente a-caroteno. El aceite de palma es también es un aceite rico en tocoferoles.

El aceite de palma se refina para eliminar el color, y generalmente se fracciona, para obtener separadamente una grasa que es sólida a temperatura ambiente y otra que es líquida.

Tabla 2.- Composición del aceite de palma y de palmiste

Aceite	ácidos grasos								
	C 8:0	C 10:0	C 12:0	C 14:0	C 16:0	C 18:0	C 18:1	C 18:2	18:3
<i>Elaeis guineensis</i> *	-	-		1 -1,5	39 - 46	4 - 5	37 - 44	9 - 13	< 1
<i>Elaeis oleifera</i> *	-	-	-	0,3 - 0,7	20 - 41	1,5 - 2,5	35 - 53	3 - 20	< 1
Palmiste	3-4	3 - 7	46 -52	15 -17	6 - 9	1 -3	13 - 19	0,5 - 2	-

*Datos obtenidos de CENIPALMA

3.4. Aceite de palma y aceite de Palmiste

Aunque se obtienen del fruto del mismo vegetal, y se confunden con mucha frecuencia, el aceite de palma y el aceite de nuez de palma son productos totalmente distintos. El “aceite de palma” se obtiene de la pulpa del fruto de la palma de aceite, que es de color anaranjado. El aceite de Palmiste se obtiene de la semilla de la misma palmera.

3.4.1. Composición de la Almendra de Palma (Palmiste)

Aceite % 47, Humedad % 7, Proteína % 8, Celulosa 5%, Ceniza 2%, Materia no nitrogenada 23%.

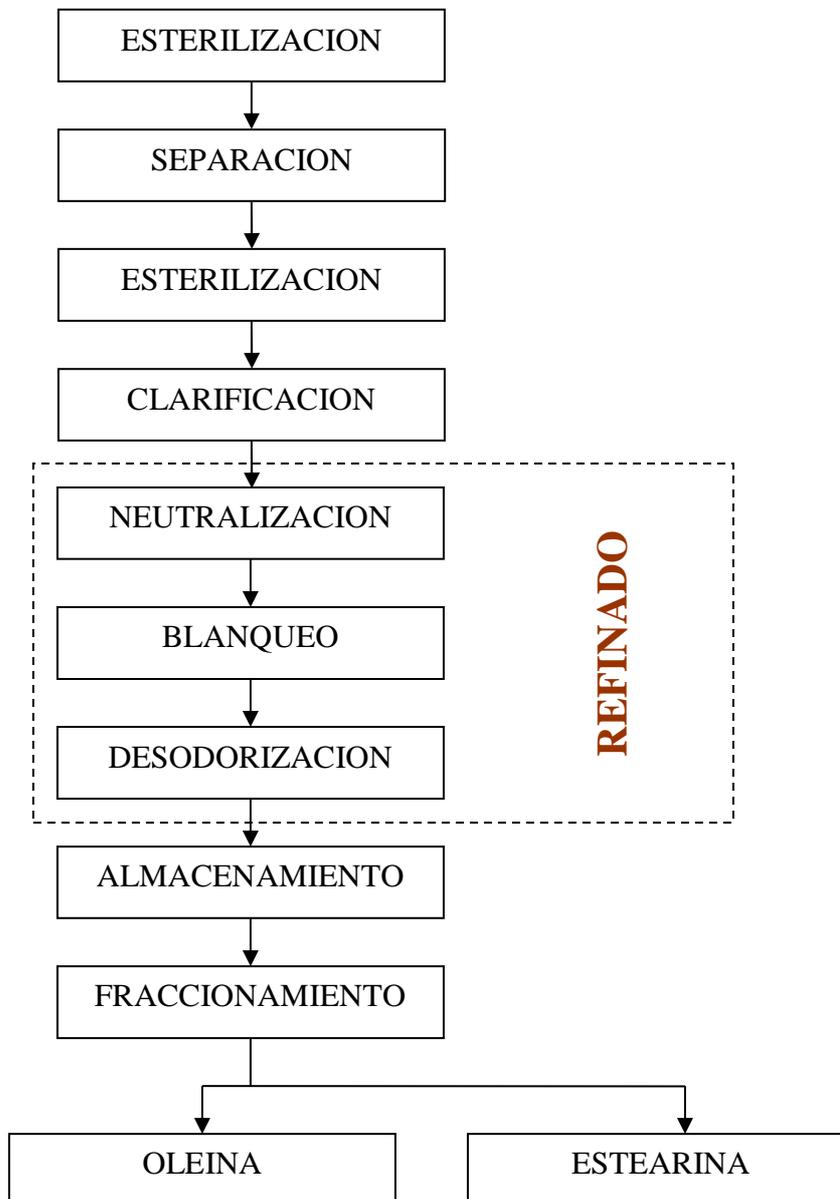
IV Industrialización de la Palma

4.1. Extracción del aceite crudo de Palma

En el Ecuador para la producción de aceite de palma africana se utiliza el método extracción por prensado, el cual resulta mas conveniente económicamente en comparación al método de extracción por solventes (hexano), para este propósito de extracción industrialmente se deben seguir los pasos que se detallan en el diagrama adjunto, sin embargo, el proceso de fabricación de este producto oleaginoso tiene múltiples variaciones en sus procesos, toda vez que de esta materia prima se derivan una infinidad de productos realizando múltiples procesos para conseguir características diversas de acuerdo a la composición de sus ácidos grasos en sus respectivos productos, en esta ocasión nos detendremos a detallar el proceso de fraccionamiento que es el punto de partida o la etapa de separación de la mayoría de componentes por su composición química dejando de una parte a los de bajo punto de fusión y los de alto punto de fusión en otra parte. Para entender un poco más de este proceso se detalla a continuación los principales aspectos que se realizan en cada etapa del mismo:

4.2. Proceso Industrial de Palma

Diagrama de proceso de obtención de aceite de palma (*Elaeis guineensis*)



4.2.1. Esterilización

Se logra "cocinando a presión" los racimos en un autoclave, a una presión de 3 kg/cm² a una temperatura de 130°C durante una hora.

La esterilización desactiva las enzimas estabilizando la calidad del aceite en cuanto a la formación de ácidos grasos libres (FFA.). Durante el proceso también se aflojan los frutos, se endurece el mucílago y se encogen los palmistes con lo cual se desprende la cáscara.

4.2.2. Separación

Las frutas se separan de los racimos por medio del desfrutador.

4.2.3. Prensado

La extracción del aceite crudo de palma de la fruta es un proceso mecánico. En primer lugar, es necesaria la digestión de las frutas, la cual se logra mediante agitación mecánica, la que hace que se desintegren las células que contienen aceite para que puedan luego ser sometidas al prensado que se realiza en una prensa de tornillo de tipo continuo. El aceite crudo se recoge y se tamiza para reducir las partículas sólidas grandes.

4.2.4. Clarificación

La primera etapa de la separación del aceite del agua, las partículas sólidas de fruta y la mugre, consiste en una decantación natural. Se puede obtener más aceite de esa masa resultante agregando más agua caliente. El aceite decantado

se filtra y luego se centrifuga para completar la separación y finalmente se seca en una secadora al vacío.

El aceite crudo de palma obtenido en la planta extractora es sometido a un proceso de refinación y fraccionamiento que se emplean para convertir el aceite en productos semirrefinados (estearina 30 % y oleína 70 %) y productos finales más sofisticados para alimentos de consumo humano directo. Sin embargo, se debe recordar que para las dietas para erizos se recomienda emplear el aceite crudo

4.2.5. Refinado del aceite de palma

Las refinerías de aceite de palma requieren un producto que se pueda refinar lo más moderadamente posible, para luego elaborar productos blandos, incoloros e inodoros que el consumidor exige. Sin embargo, la refinación actualmente aplicada es poco moderada, trayendo en consecuencia la imposibilidad de conservar la mayor cantidad posible de los antioxidantes naturales presentes en el aceite de palma crudo como los tocoferoles, tocotrienoles y carotenos que ayudan a proteger de la oxidación a dicho aceite, y que a su vez proporcionan una mayor calidad nutricional al alimento (Bustamante, 2001).

Para obtener de un aceite crudo un aceite totalmente refinado existen varios métodos entre ellos está la refinación física y la alcalina.

4.2.6. Desgomado

Es el primer paso para refinar el aceite consiste en la utilización de ácido fosfórico o ácido cítrico para minimizar las gomas y trazas de metal, especialmente el hierro el cual actúa como prooxidante y afecta fuertemente la estabilidad del aceite refinado (eliminar del aceite crudo los constituyentes no oleosos).

El proceso de "desgomado suave" involucra la eliminación completa de los cationes por un agente coagulante en la presencia de un reactivo, técnica que permite un tratamiento suave donde los cationes de metal (Ca, Mg, Fe) y fosfolípidos son removidos rápidamente en un solo paso.

4.2.7. Refinación alcalina del aceite de palma.

El aceite de palma totalmente refinado (estearina, oleína) ha registrado un proceso de neutralización, decoloración y desodorización del aceite crudo por el que su acidez, materiales colorantes, olor, así como sabor se suprimen hasta el punto de que su contenido de ácidos grasos libres, calculado como ácido palmítico no supera 0,1% y medido con el tintómetro de Lovibond con una célula de 5 1/4 pulgadas, no excederá de 6 en la escala del Rojo y de modo tal que el producto se considere totalmente inodoro e insípido (suave) aceite dulce, claro.

El aceite crudo se trata con ácido fosfórico (0,02 a 0,5%) de 60 a 90°C durante 15 a 30 minutos para acondicionar las gomas (fosfolípidos) y aumentar su insolubilidad en el aceite. Esto facilita su eliminación. El ácido fosfórico también reacciona con el magnesio de la clorofila y reduce la coloración del aceite.

Después del ácido fosfórico, al aceite se le agrega de una sola vez, entre 1 a 3% de solución al 8 a 12 % de hidróxido de sodio y se agita a 70 C por un período de 10 a 30 minutos. La fase jabonosa (que sedimenta por gravedad) es posteriormente removida. Lavados con agua o soluciones ácidas diluidas se llevan a cabo en forma repetida para reducir el contenido de jabón a menos de 50 p.p.m. La fase jabonosa puede ser acidificada (H_2SO_4) y recuperarse los ácidos grasos libres.

4.2.8. Neutralización

La neutralización es una especie de arte y se requieren especialistas experimentados para hacerla bien. Este proceso elimina los ácidos grasos libres (a.g.l.) y residuos de ácidos fosfóricos. Se calcula como ácido palmítico, no supera 0,3%. Esta operación se realiza en el tanque neutralizador, Primero se agita el aceite crudo (rojo) a gran velocidad. Luego se añade hidróxido de sodio (soda cáustica) en una solución del 8 al 21% y agua de lavado por aspersion y se mezcla con el aceite durante 10 a 30 minutos.

Se baja la velocidad del agitador y se calienta la mezcla a vapor a través de un serpentín a 60°C hasta que el hidróxido de sodio rompa la emulsión, después se para el agitador y el calentamiento.

Se deja reposar la mezcla para que sedimente la masa jabonosa (o se separa por un proceso centrifugal). Luego se introduce agua caliente.

Se separa la masa jabonosa del aceite, esta pasta de neutralización producida contiene siempre una cantidad de aceite, que constituye una pérdida de la refinación. El lavado se repite varias veces.

4.2.9. Blanqueo

El aceite neutralizado y seco está preparado para la planta de blanqueo. Con este proceso se reduce el contenido de carotenoides en el aceite por absorción del blanqueador, hasta un punto en el que la muestra el color no exceda a 20 en la escala del Rojo. Esta operación también se realiza en el mismo tanque neutralizador.

El tanque neutralizador se conecta al vacío (para que no se formen productos de oxidación secundaria) y se conecta la agitación.

La mezcla blanqueadora se introduce a través de un tubo que llega hasta la mitad del tanque para evitar la formación de polvo. Las sustancias blanqueadoras utilizadas en Ecuador, en el aceite de palma, generalmente se utiliza un 0,125 - 2,00 % de arcilla activada de blanquear y en ocasiones con carbón activado al vacío y con agitación; este proceso también remueve los productos de la oxidación de las grasas y cualquier residuo jabonoso que en otras circunstancias afectaría la etapa de hidrogenación. Cuando se haya obtenido un aceite lo suficientemente claro, es decir, cuando haya alcanzado su blanqueo máximo, se interrumpe el vacío y la agitación. Posteriormente esta mezcla de aceite blanqueado y los componentes blanqueadores como la arcilla activada o carbón activado deben pasar por un filtro prensa para poder liberar los elementos

blanqueadores agotados y saturados, dejando pasar el aceite limpio y decolorado habiendo disminuido en gran magnitud los componentes carotenoides propios del aceite de palma, dándole al aceite una tonalidad amarilla transparente.

4.2.10. Desodorización del aceite

Es el proceso final en la refinación por el cual los peróxidos y productos de oxidación secundaria (aldehídos y quetonas) son eliminados. Este proceso se realiza en el tanque de desodorización.

Para la desodorización del aceite neutralizado y blanqueado se inyecta vapor vivo de 160 a 300°C de 4 a 7 horas, al vacío que varía de 3 a 11 milibares mucho mayor que el utilizado para plantas de blanqueo y secado. En estas condiciones de temperatura y presión, los componentes volátiles odoríferos y los ácidos grasos de cadenas cortas son extraídos por el vacío (presión negativa) bajando el índice de acidez y la peroxidación del aceite, dejándolo en condiciones apropiadas para el consumo humano. Después se enfría el aceite bajo vacío hasta 50°C, temperatura en la cual se protege el aceite para que no suba el índice de peróxido el cual aporta un sabor rancio, indeseable.

4.2.11. Valores de aceptabilidad para el aceite refinado de Palma

Contenido de ácido graso libre 3-5%, Humedad 0,1%, Impurezas 0,01%, Hierro 3,5(ppm), Cobre 0,2(ppm), Índice de peróxido 4,5

Para los aceites refinados o fraccionados existen especificaciones más completas que pueden incluir una o más de los criterios analíticos anteriormente descritos, u otras características, como el contenido de lecitina.

4.2.12. Almacenamiento del aceite

Para el almacenamiento del aceite refinado es muy conveniente que las cisternas donde se transporten o almacenen estén revestidas preferiblemente de resinas esponjosas y reguladas a una temperatura máxima de 55°C. Durante la refinación, se eliminan las sustancias antioxidantes. Por esto el aceite refinado debe ser almacenado añadiéndole antioxidantes artificiales y naturales. El aceite absorbe fácilmente sabores y olores de envases como los de plástico.

4.3. Proceso Alternativo

Ha sido desarrollado un proceso para la refinación del aceite crudo de palma (ACP) para producir aceite rojo de (ARP), sin destruir los carotenos. Este proceso es de naturaleza física involucra un pretratamiento de ACP, seguido por una desacidificación y una desodorización mediante la destilación molecular. El ARP producido contiene menos del 0,1% de ácidos grasos libres (AGL), y retiene más del 80% de los carotenos y vitamina E originalmente contenidos en el ACP. La calidad del ARP es similar a la de cualquier otro aceite de palma refinado, blanqueado y desodorizado, en términos de AGL y el índice de peróxido. El perfil del caroteno del ARP mostró que se retuvo la mayor parte de los carotenos. El proceso aún no se utiliza en Ecuador, pero se espera que esté en la industria nacional muy pronto. Este proceso parece ser el mas adecuado si se requiriese

reducir alguna de las impurezas del aceite crudo al momento de aplicarlo en las dietas para erizos.

V El Erizo

El erizo blanco o comestible *Loxechinus albus*, es un equinodermo que se distribuye a lo largo de la costa sur oriental del océano Pacífico, desde el Perú (isla Lobos de Afuera, 6°53'50»S), hasta el extremo austral de Chile (Cabo de Hornos, 55°52"S) y Tierra del Fuego en el sector argentino (Guisado y Castilla, 1987). Esta especie habita en fondos duros y se distribuye desde la zona litoral hasta los 340 m de profundidad; sin embargo su extracción se concentra entre los 0 y 40 m de profundidad.

Los erizos pertenecen, al igual que las estrellas y otros grupos, tales como los pepinos de mar (*holoturias*), las estrellas frágiles (ofiuos) y los lirios de mar (crinoídeos), a los equinodermos, pero, a diferencia de las estrellas que son carnívoras, los erizos son herbívoros y pasan el día pacíficamente comiendo algas gracias a un complejo sistema de dientes llamado "linterna de Aristóteles" y a las púas que les ayudan a recolectar las algas.



Figura 2 Erizo (*Loxechinus Albus*)

El erizo se caracteriza por su caparazón hemisférico de color verde, con tonalidades rojizas o moradas en ambulacros e interambulacros.

Al igual que los demás equinodermos, el cuerpo del erizo está dividido en cinco sectores cubiertos de aguzadas espinas.

Esta es la única especie de erizo que se explota comercialmente en Chile. A pesar que se captura a lo largo de toda la costa, en los últimos años el esfuerzo pesquero se ha concentrado principalmente en la región sur- austral de Chile (42°-57°S), lo que ha motivado un notorio incremento en los desembarques de esa zona.

Los erizos más comunes en el litoral chileno son el erizo negro (*Tetrapygus niger*) y el erizo comestible, también llamado erizo colorado, que curiosamente es verdoso, y cuyo nombre científico (*albus*) nos dice que es blanco (*Loxechinus albus*).

Los sexos de los erizos están separados, y la fecundación ocurre en el agua por unión de los gametos masculinos y femeninos, lo que da origen a una larva llamada nauplius, que nada libremente y luego se fija y comienza a desarrollarse en un erizo juvenil. Son animales gregarios, formando grupos muy numerosos.

Como dato anecdótico, cabe señalar que el cangrejo que se encuentra en el interior del erizo es un crustáceo del género *Pinaxodes*, que vive como comensal del intestino terminal del erizo.

Las “lenguas” del erizo comestible corresponden a las gónadas, que presentan el mismo aspecto en el caso de los machos y de las hembras.

5.1. Delimitación del problema del uso de aceite de palma en erizos

El consumo de erizos es poco difundido en los países de América Latina, pero en oriente(Macao, Taiwan, Japón, Hong Kong) hay una alta demanda constituyéndose en un excelente mercado para los exportadores Chilenos, Noruegos, Norteamericanos u otros que dispongan a nivel comercial de productos naturales o cultivados.

Actualmente se acepta que la creciente demanda por especies acuáticas solo podrá ser satisfecha mediante cultivos, ya que los bancos naturales están sobreexplotados. Bajo esa premisa, en Chile se están haciendo varios estudios sobre reproducción y crecimiento del erizo chileno (*Loxechinus albus*) que envuelven investigaciones de insumos alternativos para las dietas, entre los cuales esperamos incluir al aceite de la palma africana. La implementación de un sistema de cultivo eficiente y sustentable, se apoya en el desarrollo de dietas extruídas, que sean económicas y que produzcan erizos con las características sensoriales exigidas por los mercados, las cuales se refieren principalmente al color y sabor de las gónadas o lenguas de erizo.

5.2. Influencia de los nutrientes principales de las dietas.

5.2.1. Efecto de las proteínas

En los últimos años, la investigación sobre proteínas para alimentación de erizos de distintas especies se ha centrado en los aspectos siguientes:

-Fuentes económicas de proteínas

-Concentración de proteínas y composición aminoacídica de las dietas.

La adecuabilidad de las proteínas se juzga por el efecto sobre la tasa de crecimiento y sobre las propiedades sensoriales de las gónadas de erizos.

Hammer et al, 2005, estudiaron el efecto de las proteínas en el consumo, mortalidad y producción de erizo *Lytechinus variegatus*. Concluyó que la mortalidad fue cerca de 0% en los erizos alimentados con dietas con más de 20% de proteínas y la eficiencia de producción de gónadas fue también mayor. En los erizos alimentados con dietas menos proteicas la mortalidad fue mayor y la eficiencia de producción fue menor.

Los autores concluyen que un 9% de proteínas es insuficiente para aportar el mínimo de amino ácidos esenciales, pues causa una disminución del diámetro de la testa y del peso de las gónadas.

Jong-Westman et al. (1995), McBride(1998), Akiyama et Al. (2001), Pearce et al. (2002), Hammer, (2005;) concuerdan que un nivel de 20% de proteínas es adecuado, pues sobre este porcentaje no hay diferencias estadísticamente

significativas en el crecimiento. La tabla 3 muestra un ejemplo de dieta experimental para erizos

Tabla 3.- Composición de dietas probadas por Hammer et al. 2005

Componentes (% base seca)	Concentración final de proteínas		
	9%	20%	31%
Almidón de trigo	36.94	18.47	0
Harina de alga	30	28.5	26.99
Harina de Krill	15	15	15
Celulosa	4	4	4
Fosfolípidos	4	4	4
Aceite de pescado	2.25	2.13	2
Premix vitamínico	1.5	1.5	1.5
Caseína	1.1	9.5	17.9
PO4	1	1	1
Soya	1	10.5	20
Colesterol	1	1	1
Gluten de trigo	1	3.2	5.4
Premix mineral	1	1	1
Vitamina C	0.1	0.1	0.1
ZnCO ₃	0.04	0.04	0.04
CuCl ₂ *2H ₂ O	0.03	0.03	0.03
MnSo ₄ *H ₂ o	0.03	0.03	0.03
Beta-caroteno	0.01	0.01	0.01

Pearce et al. 2002, estudió el erizo *Strongylocentrotus droebachiensis* encontrando que el % de proteínas del alimento afecta el color: Independiente de la fuente de proteínas, las dietas con 19 y 24 % tuvieron mejor color, pero la aceptabilidad del sabor disminuía con el aumento de proteínas.

Hoshikawa et al., (1998), Pearce (2002^a) informaron que al incrementar el % de harina de pescado el sabor tendía a ser amargo, recomendando una relación de 1:1 entre proteína animal y vegetal Pearce (2002b) encontró que un nivel sobre 15% de harina de pescado era inconveniente.

5.2.2. Efecto de los Pigmentos (carotenoides)

Los pigmentos carotenoides son una fuente de colores rojos, naranjas y amarillos, siendo sintetizados sólo por plantas y microorganismos, por lo cual deben ser suministrados en la dieta; ya sea en ingredientes coloreados como en harina de maíz, harina de hojas o de flores o en forma concentrada como caroteno sintético. Sin embargo, algunos animales pueden aprovechar el esqueleto del carotenoide dietario para convertirlo en el carotenoide que necesitan para su desarrollo. El beta- caroteno puede transformarse en beta-isocriptoxantina y beta-equinenona (Tsushima, et, al, 1993), siendo este último el pigmento más abundante de los erizos (50 – 70%) en las gónadas de erizo japonés *Pseudocentrotus depressus*.

Según Kawakami, (1998) la fucoxantina, el beta-caroteno y la equinenona juegan un importante rol en la defensa biológica y en la reproducción del erizo.

La calidad de las gónadas de erizo se juzga por el sabor, textura y color, siendo este último muy importante como factor primario de aceptación.

En la mayoría de las especies de erizos las gónadas, testa y espina presentan siempre alfa y beta-equinenona y beta-caroteno, zeaxantina y luteína. (Matsuno y Tsushima, 2001).

Ocasionalmente pueden presentar naftoquinona (Borisovets 2002) y cantidades moderadas de fucoxantina de color café (kawakami, 1998) depositada en las paredes intestinales pero no en la parte comestible o gónada. Este carotenoide proviene de las algas pardas (feofitas) que consume el erizo.

Robinson et al. (2003), hicieron un experimento para testear como influían distintas fuentes de pigmentos en el color de la gónada del erizo verde (*Stringylocentrotus droebachiensis*), tabla 4.

Tabla 4.- Influencia del contenido de pigmentos de la dieta en el tipo de pigmento depositado en las gónadas de erizo.

Tipo de Dieta	beta-caroteno	Zeaxantin	Luteína
Algro ^{TM*}	55.8	7.3	5.5
Rica en beta- caroteno	290.8	3.6	5.5
Rica en Zeaxantina	19.1	46.2	35.6
Con Pigmento Mínimo	5.8	3.7	2.6
Dieta Referencia	250.0	7.3	5.5

Algro (Pearce 2004) es una preparación seca de fitoplancton que contiene un mínimo de 2% de beta-caroteno y cantidades menores de criptoxantina, alfa-caroteno, luteína y zeaxantina)

El autor concluyó que los pigmentos no influenciaban el crecimiento gonadal si se los suministra en el mínimo necesario, y que existe una correlación directa

entre el contenido de beta-caroteno y la formación de equinenona, el principal pigmento de erizos.

La dieta mas alta en carotenoides fue la mejor, ya que aumentó los parámetros a* y b* (rojo y amarillo respectivamente) lo que es altamente deseable para la aceptabilidad del color. Ni la zeaxantina ni la luteína fueron eficientes en el aumento del color ya que dieron gónadas muy pálidas. Dicho estudio sugiere un nivel de carotenoides sobre 250 mg/kg para lograr una coloración atractiva de las gónadas.

Tsushima et al. (1995) mostró que la bioconversión de beta-caroteno en beta-equinenona, vía beta-isocriptoxantina en erizos, ocurriría en las paredes intestinales permitiendo que la beta-equinenona sea almacenada en las gónadas.

La tabla 5.- muestra los tipos de colores que resultan en la gónada en función del carotenoide suministrad en la dieta.

Carotenoide	Color principal	Abundancia Relativa
Beta - caroteno	Amarillo	5 – 20
(6' R) beta, epsilon - caroteno	Amarillo	2 – 10
Beta – equinenona	Amarillo	5 – 20
Cantaxantina	Rojo – anaranjado	1 – 10
Luteína	Café – verdoso	1 – 10
Zeaxantina	amarillo	1 – 10

(Tsushima, et, al, 1993)

5.2.3. Efecto de los lípidos

Los lípidos y sus sustancias derivadas constituyen para los erizos una fuente concentrada de energía ya que pueden almacenar mayor cantidad de calorías por unidad de volumen que las proteínas e hidratos de carbono.

Además de la función energética, algunos lípidos funcionan como componente estructural para la producción de membrana celular como fosfolípidos y colesterol y procesos esenciales en el crecimiento somático (March y Watts 2001).

Ciertos lípidos pueden servir como vitaminas, hormonas y pigmentos o como precursores de sustancias como eicosenoides que funcionan en procesos internos como la osmorregulación y respuestas inmunes (Hwang, 1998).

Los erizos tienen requerimientos de ácidos grasos n-3 y n-6 sin embargo, Castell (2004), Cook et al, (2000), Liana-pathirana et al, (2002) entre otros, han intentado dilucidar las necesidades de ácidos grasos, su transformación mediante elongación y desaturación, así como el rol biológico de ciertos ácidos grasos extremadamente extraños (ácidos grasos no interrumpidos por metilenos).que el erizo produce por elongación de ácidos grasos comunes.

Castell et. Al., (2004), estudiaron la influencia del tipo de lípido dietario en la composición de lípidos de las gónadas, suministrándoles dietas con aceite de maíz (alto en 18:2n-6, linoleico), de lino (alto en 18:3:n-3, linolénico), de pescado (menhaden) (alto en 20:5n-3, EPA y 22:6n-3, DHA) y sus combinaciones. Además las dietas contenían una cantidad importante de ácido araquidónico.

Los autores encontraron que el erizo a diferencia del pescado, tiene la capacidad de alargar cadenas de 18 carbonos poliinsaturados para cadenas de 20, 22 carbonos altamente insaturadas, gracias a que poseen desaturasas, enzimas que los peces han perdido a lo largo de la vida evolutiva.

La tabla 6.- muestra la diferencia entre los ácidos grasos suministrados y los depositados (Castell et al, 2004)

Ácido graso	% en la dieta	% en los tejidos	Veces que aumentó o disminuyó
20:4n-6 (araquidonico)	0.3	3.8	12.7
20:5n-3 (EPA)	5.1	10.1	2
22:6n-3 (DHA)	7.2	7.9	1.1

El ácido araquidónico sería muy importante para el erizo, debido a que mantuvo niveles estables en la testa lo que sugiere una importancia para la osmoregulación, sin embargo, no sería fundamental en % altos ya que se formaría a partir del ácido linoleico, muy abundante en cualquier insumo vegetal.

Se observa que a mayores niveles de ácido linolénico en la dieta, mayor es la presencia de EPA en los tejidos, también sugiere que a diferencia de los peces, los erizos no tendrían requerimientos estrictos de EPA y DHA

18:2n-6 → 20:4n-6 (linoleico → araquidónico)

18:3n-3 → 20:5n-3 (linolénico → EPA)

Un aspecto importante y poco estudiado, tiene relación con la presencia de ácidos grasos no interrumpidos por grupos metilénicos, los que constituyen una rareza de la naturaleza, solo presentes en erizos y algunos tipos moluscos y camarones. Tendrían una importante función en la regulación osmótica al igual que el EPA, ya que perfiles de ácidos grasos señalan que se acumularían principalmente en la testa. Sin embargo, se desconoce su efecto en animales ni humanos, pero que por su estructura química podrían hacer suponer efectos benéficos al igual que el EPA y el DHA. Se encuentran altas concentraciones de estos ácidos grasos en erizos alimentados con dietas suplidas con aceites vegetales como maíz (17.3 % de 20:2 Δ 5,11 y 5.1% de 20:2C5,13 del total de ácidos grasos). Este hecho se atribuiría a la actividad enzimática de la enzima Δ 5 desaturasa.

VI Materiales y métodos

6.1. Carotenoides del aceite

Los análisis de los carotenoides totales de 4 muestras de aceite de palma no refinada colectado en Manta, Ecuador, determinados por espectrofotometría a 450nm en hexano, dieron los resultados de la tabla 7, donde aparecen comparados con el contenido de carotenoides de otras fuentes típicas de pigmentos.

Tabla 7.- Carotenoides totales de varias fuentes potenciales

Origen	Contenido en mg. por Kg.
Aceite de palma (Ecuador)	1880±401
Harina gluten de maíz	330 (Tacon,1987)
Harina de krill	82 (Tacon,1987)
Aceite de camarón	1095 (Tacon,1987)
Harina de pétalos de Marigold	60000-10000 (Tacon,1987)
Harina de Zanahoria seca	65 (Tacon,1987)

Se observa que el aceite de palma es una de las mejores opciones para adicionar pigmentos amarillos o anaranjados, mas aún, sus carotenoides están formados por componentes nobles como el beta y alfa caroteno y no por xantofilas de menor valor en las funciones de provitamina A o de Equinenona. La harina de pétalos de Marigold, muy alta en pigmentos, no es un insumo industrial, por lo cual su empleo solo se hace a nivel experimental.

Tabla 8.- Contenido de carotenoides de extractos de aceite de palma (ppm)

Aceite	(ppm)
Aceite de palma crudo, primer prensado	630 - 700
Oleína de palma cruda	680 - 760
Estearina de palma cruda	380 - 540
Segundo aceite prensado	1800 - 2400
Aceite residual de fibra	4000 - 6000

De la tabla 8 se desprende que hay mucho más pigmentos en el aceite del segundo prensado, lo cual puede ser muy ventajoso para el objetivo de esta tesis. Otra posibilidad que se abre es remover los pigmentos adheridos a las fibras mediante solventes inocuos, o mejor aún, incluir en la dieta directamente parte del residuo fibroso como fuente de carotenoides, reservando las fracciones líquidas que tienen mayor valor económico para producir aceites refinados. Se puede objetar que se incorporará una cantidad excesiva de fibra pero debe recordarse que el erizo es vegetariano y posee un aparato digestivo acorde con la ingestión habitual de celulosa, pectina, agar carragenina etc. Por otra parte la pulpa fibrosa contiene 9% de proteínas y algo de aceite retenido, que el invertebrado podrá aprovechar.

6.2. Ácidos grasos del aceite de palma

La tabla 9 muestra que la composición de ácidos grasos del aceite de la palma africana es diferente si se extrae de la pulpa (palm oil) o del hueso (kernel oil). Los carotenos se localizan en el aceite de la pulpa, que también contiene los tocoferoles y tocotrienoles

Tabla 9.- Perfil de ácidos grasos de aceite de palma africana (*Elaeis guineensis*) extraído de la pulpa y del hueso de los frutos

ACIDO GRASO (%)	FORMULA	ACEITE DE PULPA	ACEITE DE HUESO
CAPRILICO	C 8: 0	nd	nd
CAPRICO	C 10: 0	nd	4
LAURICO	C 12: 0	trazas	44,3
MIRISTICO	C14: 0	1	18,5
PALMITICO	C16: 0	42,5	9
PALMITOLEICO	C16: 1	trazas	trazas
ESTEARICO	C18: 0	4	3
OLEICO	C18:1 ω 9	43,1	15,1
LINOLEICO	C18:2 ω 6	8,2	2,2
LINOLENICO	C18:3 ω 3	trazas	trazas
ARAQUIDICO	C20: 0	trazas	nd

(nd) no detectado

El aceite de palma es rico en ácido palmítico y no se parece a los aceites vegetales comunes que son ricos en ácido linoleico, mientras que el aceite de hueso es muy próximo del aceite de coco, conteniendo cantidades altas de

ácidos grasos de cadena corta y media (cáprico, láurico, mirístico), ácidos que aunque son saturados, pueden ser utilizados como energía mas eficientemente que los sebos de bovino o caprino, ricos en ácido esteárico. De la tabla 9 también se desprende que la contribución de los ácidos poliinsaturados (Linoleico y linolénico) es irrelevante por lo cual no se debe esperar que la palma aporte estructuras lipídicas para elongación y desaturación en peces y moluscos cultivados. Sin embargo, sus méritos provienen de la riqueza de beta-caroteno y de los tocotrienoles, antioxidantes naturales específicos del aceite de palma.

6.3. Perfil de ácidos grasos de gónadas de erizo

La tabla 10 muestra los resultados de la composición de ácidos grasos de un estudio reciente hecho en Chile para verificar si la composición del aceite de las gónadas era influenciada por la inclusión de harinas de algas, de afrechos o aceites vegetales ricos en pigmentos.

Tabla 10.- Perfil de ácidos grasos de erizo chileno (*L. albus*) (23 muestras de tamaño comercial con valores de grasa de $6,47 \pm 1,93$ (g/100g de gónadas)

ACIDO GRASO (%)	FORMULA	MUESTRAS
MIRISTICO	C14:0	14,06 ± 2,26
PALMITICO	C16:0	7,46 ± 1,33
PALMITOLEICO	C16:1	4,46 ± 0,92
	C17:1	1,52 ± 0,29
ESTEARICO	C18:0	0,98 ± 0,10
OLEICO	C18:1 ω 9	6,37 ± 0,89
OLEICO	C18:1 ω 7	2,65 ± 0,49
OLEICO	C18:1 ω 13	1,75 ± 0,23
LINOLEICO	C18:2 ω 6	1,74 ± 0,29
LINOLENICO	**C18:3 ω 3	4,00 ± 0,78
	C18:4 ω 3	4,03 ± 0,79
ARAQUIDICO	C20:0	1,00 ± 0,179
CETOLEICO	C20:1 ω 9	1,29 ± 0,38
METILENO NO INTERRUMPIDO*	C20:1 ω ?	10,57 ± 0,78
METILENO NO INTERRUMPIDO*	C20:2 ω ?	1,83 ± 0,18
METILENO NO INTERRUMPIDO*	C20:2 ω ?	1,64 ± 0,08
METILENO NO INTERRUMPIDO*	C20:3 ω ?	4,20 ± 0,37
METILENO NO INTERRUMPIDO*	C20:3 ω ?	4,00 ± 0,78
ARAQUIDÓNICO	C20:4 ω 6	2,57 ± 0,39
EPA (EICOSAPENTAENOICO)	**C20:5 ω 3	8,13 ± 0,90
DPA (DOCOSAPENTAENOICO)	**C22:5 ω 3	0,65 ± 0,08
DHA (DOCOSAHEXAENOICO)	**C20:5 ω 3	1,44 ± 0,20

* Ácidos grasos “raros” con estructura metileno no interrumpida

** Ácidos grasos omega.3

6.4. Contenido de antioxidantes naturales del aceite de palma

El análisis de tocoferoles y tocotrienoles del aceite de palma colectado en Manta, Ecuador, realizado en el CECTA-USACH, (2007) mostró que la palma presenta un esquema de antioxidantes muy diferente de otros aceites vegetales, como se aprecia en la tabla 11, en la cual se analizaron aceites de soya y maíz no refinados que por lo tanto se pueden comparar con el aceite de palma crudo.

Tabla 11.- Perfil de antioxidantes de la familia de la vitamina E en aceite de palma africana (*Elaeis guineensis*) y otros aceites vegetales (Contreras,1981)

ACEITES /ANTIOXIDANTES	Palma	Soja	Maiz
α -TOCOFEROL (mg/100g)	7,5	18,5	11,2
β + γ -TOCOFEROL (mg/100g)	3	81,1	39,9
δ -TOCOFEROL (mg/100g)	0,5	44,2	4,9
α -TOCOTRIENOL (mg/100g)	38	nd	4,2
γ -TOCOTRIENOL (mg/100g)	26	nd	6,8
δ -TOCOTRIENOL (mg/100g)	6	nd	nd
TOTAL TOCOL (mg/100g)	81	144	67

El aceite de palma es particularmente alto en tocotrienoles, que son los homólogos insaturados de los tocoferoles.

El efecto de altos niveles de tocotrienoles en el aceite de palma, cuando adicionado a una dieta para peces o moluscos cultivados, es desconocido. Sin embargo, se sabe que el alfa-tocotrienol tiene una actividad biológica de vitamina

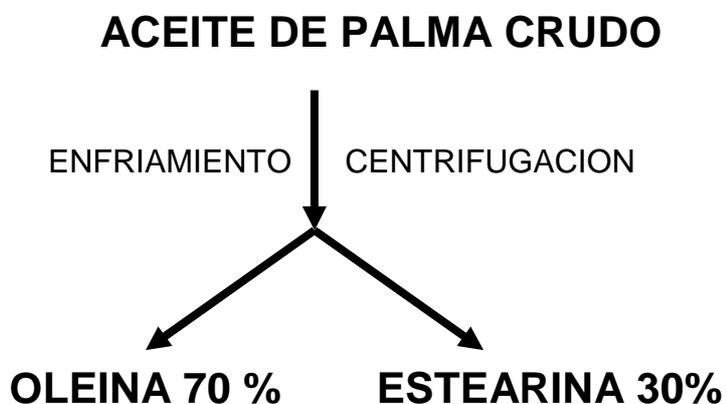
E ligeramente menor que su homólogo el alfa-tocoferol, reconocido como vitamina E verdadera.

En cambio, su capacidad para inhibir la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, en mediciones de laboratorio, demostró ser tan efectiva como la de los tocoferoles respectivos. El aceite de palma no es extremadamente alto en antioxidantes tipo vitamina E, siendo mas bajo que la soja, canola y algodón que superan los 100mg/100g, pero es mas alto que el gluten de maíz, un insumo infaltable en las dietas actuales para suministrar proteínas y .carotenoides, que podrían ser sustituidos por derivados del aceite de palma

6.5. Proceso para cambiar la composición del aceite de palma

Para aumentar el nivel de poliinsaturados, carotenoides y tocotrienoles, el aceite de palma se puede someter al fraccionamiento por enfriamiento programado, como ya se mencionó en la revisión bibliográfica dando 2 fracciones : una líquida (OLEINA) y una semi-sólida (ESTEARINA). Este tradicional proceso se aplica actualmente con propósitos tecnológicos a fin de disponer de tipos de grasas adecuadas para pasteles, helados, chocolates, cremas etc. Pero, para la finalidad que se pretende en esta tesis lo interesante es que la oleína concentre los ácidos grasos poliinsaturados y los carotenoides.

FIGURA 3.- El esquema muestra los rendimientos promedio de un fraccionamiento típico, realizado en Manta, Ecuador (2007)



Los ácidos grasos de la oleína se muestran en la tabla 12

Tabla 12.- Ácidos grasos de la fracción Oleína del aceite de palma (*Elaeis guineensis*) ecuatoriano en comparación con el aceite no fraccionado

ACIDO GRASO (%)	FORMULA	ACEITE DE PULPA	FRACCION OLEÍNA
CAPRILICO	C 8: 0	nd	nd
CAPRICO	C 10: 0	nd	trazas
LAURICO	C 12: 0	trazas	0,64
MIRISTICO	C14: 0	1	0,87
PALMITICO	C16: 0	42,5	35,32
PALMITOLEICO	C16: 1	trazas	0,14
ESTEARICO	C18: 0	4	4,96
OLEICO	C18:1 ω 9	43,1	43,01
LINOLEICO	C18:2 ω 6	8,2	13,23
LINOLENICO	C18:3 ω 3	trazas	0,26
ARAQUIDICO	C20: 0	trazas	nd

(nd) no detectado

Los carotenoides se localizaron preferentemente en la oleína que acumuló en este ensayo el 61% del contenido en el aceite inicial, mientras que la estearina solo acumuló 39%. Esto es un aspecto conveniente para su aplicación eventual en erizos, pero es preciso considerar otros factores.

En relación a los ácidos grasos se percibe que la oleína tiene menos ácido palmítico y bastante más linoleico (C18:2 ω 6), pero de todas maneras el perfil de ácidos grasos no consigue adecuarse a los requerimientos del erizo pues junto a los ácidos ω 6 necesita también de ácidos ω 3, como el C18:3 (ácido linolénico) que apenas alcanza al 0,26% en la oleína. Es necesario hacer un estudio completo de la distribución de carotenoides y tocotrienoles en la oleína a fin de establecer con certeza si vale la pena invertir en esta operación

6.6. Determinación de carotenoides por cromatografía.

El aceite de palma, *Elaeis guineensis*, crudo es un alimento graso rico en carotenoides principalmente el β -caroteno y α -caroteno, los cuales le proporcionan una fortaleza nutricional, ya que estos pigmentos son precursores de la vitamina A y están directamente relacionados con sus propiedades protectoras contra el daño de los radicales libres. Sin embargo, este aceite es refinado para su posterior consumo trayendo como consecuencia una pérdida de sus propiedades. En este trabajo se analizarán las técnicas para identificar y cuantificar algunos pigmentos carotenoides presentes en el aceite de palma crudo, pretratado y refinado; con la finalidad de realizar un posterior estudio de los factores más preponderantes en el proceso de refinación, que puedan ser optimizados para obtener un aceite con mayores cualidades nutricionales. Las

técnicas cromatográficas empleadas fueron: cromatografía en capa fina (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa, previa saponificación con KOH metanólico, del aceite disuelto en acetona. Fueron identificados los pigmentos: β -caroteno y sus isómeros, α -caroteno, luteína y licopeno en el aceite crudo pretratado. En el caso del aceite refinado no se observó la presencia de ningún pigmento carotenoide. Fueron cuantificados el β -caroteno y sus isómeros: 1.158,198 mg/kg; luteína y sus isómeros: 42,819 mg/kg; y licopeno: 14,179 mg/kg. (N. Salinas, E. Pacheco-Delahaye, 2003)

El objetivo de este trabajo es aplicar las técnicas de cromatografía en capa fina (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para identificar pigmentos carotenoides presentes en el aceite de palma crudo para posteriormente evaluar su aplicación en las dietas alimentarias para el cultivo de erizos.

6.6.1. Extracción y purificación de pigmentos

La extracción fue realizada en las muestras, señaladas en el Cuadro 13, siguiendo el método señalado por Mínguez (1997) que consiste en disolver cada muestra en 100 ml éter etílico; saponificar con 100 ml KOH metanólico al 20%, extraer hasta la neutralidad; filtrar por Na_2SO_4 anhidro; evaporar y retomar con acetona. Para la extracción en fase sólida se acondicionó una columna de 9 cm octadecilsilano de 6 μm con el paso de 12 ml. metanol y luego 10 ml de hexano; se pasó la muestra de aceite (Cuadro 13) disuelta en 4 ml de hexano; se esperó a que fluyera toda la materia grasa, agregándole 3 ml adicionales de hexano para asegurar la extracción de toda la grasa; se probó con un papel de filtro el extracto

posteriormente recogido; se evaporó y disolvió en acetona para posterior análisis por cromatografía en capa fina (TLC) de acuerdo con Mínguez et al., 1984).

CUADRO 13.- Muestras de aceite de palma utilizadas en la extracción de los pigmentos.

N° Muestra	Tipo de aceite de palma	Peso (g)	Color
1	Crudo	2,8634	Rojo / Naranja
2	Pretratado	2,9512	Rojo / Naranja
3	Refinado	8,8712	Crema

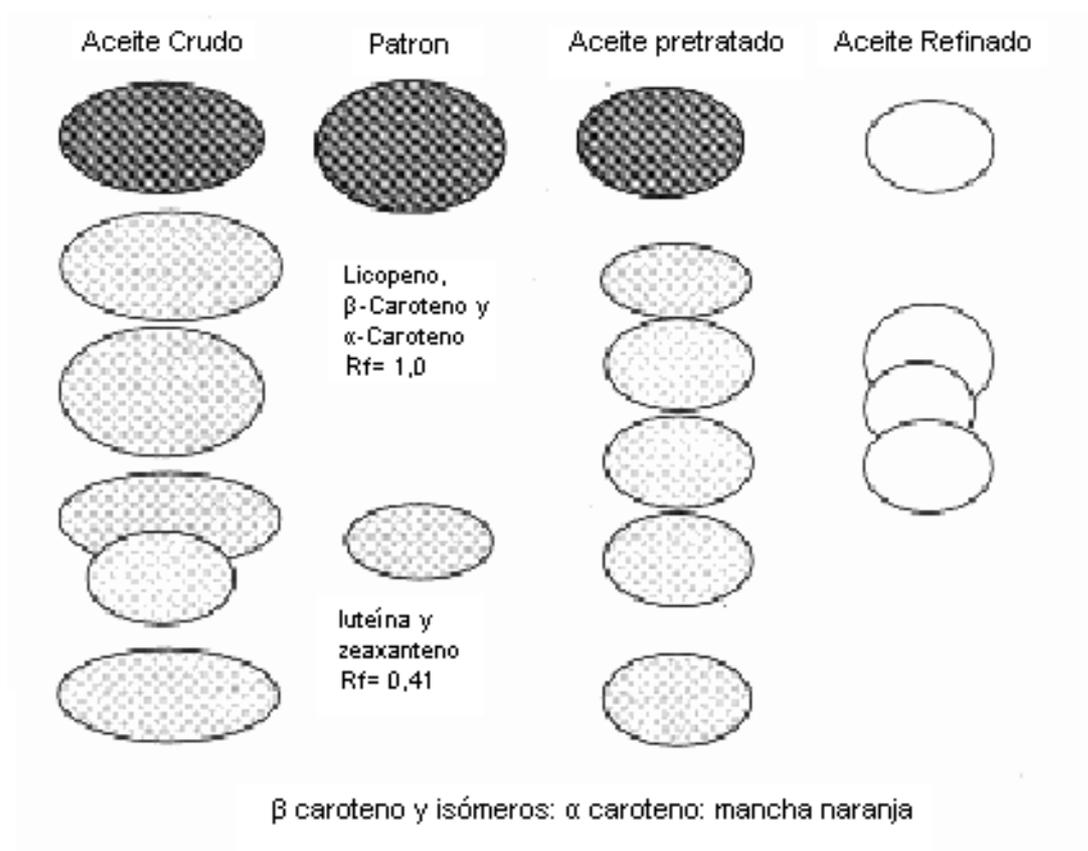
6.6.2. Identificación y cuantificación de pigmentos:

- a. Cromatografía en capa fina (TLC); Fase móvil: éter de petróleo 60-95': acetona: dietilamina (10:4:1); fase estacionaria: placa (20x20) de silicagel 60 HF254, espesor 1 mm (Merck).
- b. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); Series 1 1 00 Hewlet Packard con arreglo de diodos: columna C 1 8 fase reversa, 4,6 mm, 5 μ , régimen isocrático; fase móvil: acetonitrilo, metanol y tetrahidrofurano (58:35:7), flujo: 1,5 ml/min.
- c. Espectrofotometría ultravioleta (UV); Espectrofotómetro HP8452 con arreglo de diodos.
- d. Pruebas Químicas: a. acetilación de hidróxidos; b. 5,6 epóxidos; c. xantofilas con 2 grupos hidróxilos sin más sustituyentes (Gandul-Rojas et al., 1992; Mínguez et al., 1993; Mínguez, 1997; Bueno, 1997).

6.6.3. Identificación inicial de pigmentos extraídos del aceite de palma

La identificación de los compuestos carotenoides se suele efectuar a partir del extracto saponificado de pigmentos saponificados, para eliminar tanto los componentes clorofílicos como la presencia de lípidos (Mínguez, 1997), lo cual permite trabajar con un mayor tamaño de muestra y obtener cantidad suficiente de cada sustancia para verificar con las pruebas necesarias. Se tomaron en cuenta las propiedades de absorción, color y posición en TLC.

Figura 4.- Placa de TLC de las muestras de aceite de palma. El color gris oscuro representa la coloración naranja que originalmente presentaron los carotenos.



Las placas de TLC obtenidas de los extractos de las muestras se presentan en la Figura 4, donde se aprecia que hubo una separación claramente definida de los carotenoides; sin embargo, las bandas indican la presencia de licopeno, α y β - carotenos y luteína, al presentar una coloración amarillo naranja muy fuerte a la luz blanca, así como también el fitoflueno bajo fluorescencia blanca amarillenta a 366 nm; estos pigmentos hacen el mismo recorrido en la placa en iguales condiciones de solvente. También se observó la posible presencia del pigmento luteína 0 de zeaxanteno en las muestras, puesto que los patrones presentan un recorrido similar en la placa en relación al valor de Rf (0,41) y el color amarillo naranja bajo la luz blanca (Mínguez, 1997).

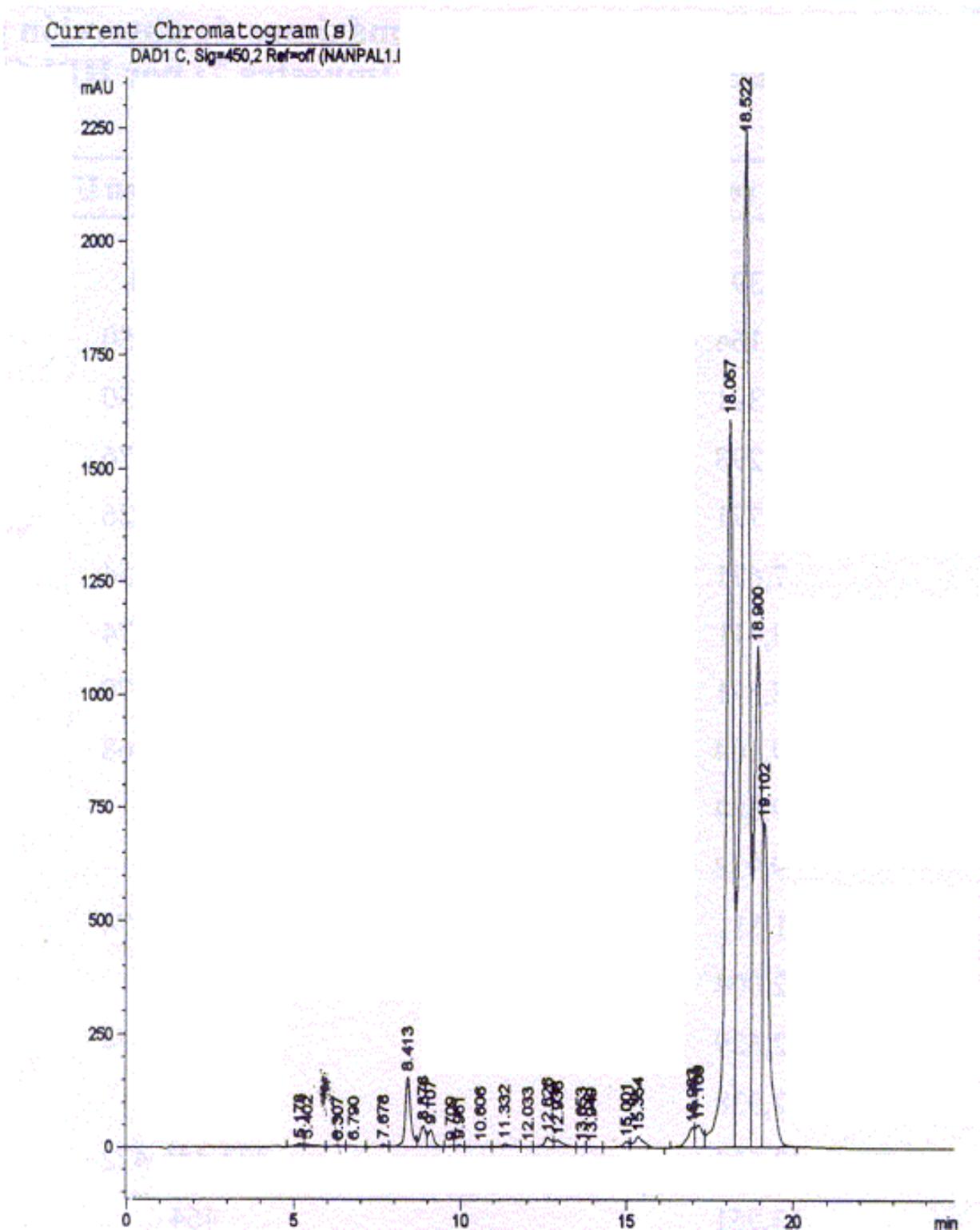
6.6.4. Identificación de pigmentos

A los extractos saponificados de las muestras 1 y 2 inyectadas en el UPLC se les tomaron los espectros de absorción de cada pico, no así a la muestra 3, en la que los picos obtenidos no demuestran espectroscópicamente la presencia de pigmento alguno. En los Cuadros 14 y 15 se muestran los tiempos de retención obtenidos, y los máximos de absorción para las muestras 1 y 2, puesto que, en general, la detección de los pigmentos mediante el uso de la espectroscopia UV-Vis se realiza entre 380-450 nm que es la zona de máxima absorción tanto para las clorofilas como para los carotenoides (Mínguez et al., 1996).

Los cromatogramas de ambas muestras presentaron los mismos picos, excepto por dos picos para la muestra 2 (picos 11 y 18 en el Cuadro 15), lo cual puede ser debido al proceso de pretratamiento del aceite crudo el cual es calentado por 30 min a 80°C (Bailey, 1996), ocasionando la formación de compuestos que

absorben en el UV-Vis. Se obtuvo con buena resolución la presencia de α -caroteno, β -caroteno y sus isómeros, con tiempos de retención entre los 18 y 19 min (picos 20, 21, 22 y 23 en la Figura 5).

FIGURA 5.- Cromatograma 1. Aceite de palma saponificado.



CUADRO 14.- Tiempos de retención y máximos de absorción para el aceite de palma crudo (muestra 1) por HPLC.

Pico	Tiempo de retención (min.)	Área mAU/s	Máximo de espectros en UV-Vis (nm)
1	5,178	117,9	402-422-450
2	5,403	122,65	402-422-476
3	6,307	58,68	422-466-476
4	6,789	46,19	384-404-426
5	7,676	94,19	408-428-454
6	8,416	851,05	424-446-474
7	8,876	576,87	420-442-470
8	9,109	467,69	420-440-468
9	9,963	71,09	458
10	11,332	195,47	402-424-474
11	12,033	45,34	362-378-464
12	12,629	398,35	422-446-474
13	12,936	312,2	448-464
14	13,653	32,58	422-446-472
15	13,949	50,3	476
16	15	230,95	400-422-448
17	15,354	517,08	(410)-430-454
18	16,983	674,46	446-472-502
19	17,169	774,97	446-472-502
20	18,056	2,44 x 10 ⁴	(421)-448-474
21	18,523	3,71 x 10 ⁴	(425)-452-476
22	18,903	1,69 x 10 ⁴	(424)-448-474
23	19,103	9 289,10	(424)-446-472

Los máximos de absorción que se aprecian en los Cuadros 14 y 15 para estos picos coinciden con lo señalado por Mínguez (1997) para el β -caroteno (426), 444, 470 nm, y muy bien con lo indicado en el CRC (1988) 426,451, 477 nm, así como también para el α -caroteno 421, 445, 474 nm

Se procedió a identificar al licopeno, picos 19 y 22 en Cuadros 14 y 15, respectivamente, con máximos de absorción localizados a los mayores que las de los carotenos cíclicos antes nombrados; esto coincide con lo observado por Bonnie y Choo (2000) y por Mínguez (1997).

La interpretación de los espectros de absorción de los carotenoides es el resultado del tipo de cromóforo presente, en este caso el sistema de dobles enlaces es el cromóforo responsable de la absorción. Un alto grado de conjugación resulta un cambio batocrómico del máximo espectral con un incremento en la absorción. La linealidad de la molécula y la planaridad del cromóforo implica que un mayor grado de estructura fina (es decir las tres bandas del licopeno) pueden ser observadas, en contraste con el β -caroteno donde ambos dobles enlaces endocíclicos están conjugados, dando un drástico decrecimiento en la estructura fina donde la banda de la longitud de onda más corta se reduce a un hombro (Ng y Tan, 1988), denotado en este trabajo por paréntesis en los Cuadros 14 y 15.

CUADRO 15.- Tiempos de retención y máximos de absorción para el aceite de palma crudo (muestra 2) por HPLC.

Pico	Tiempo de retención (min.)	Máximos de expectros en UV-Vis (nm)
1	4,397	424-444
2	5,164	402-422-450
3	5,391	402-422-450
4	6,298	422-446-476
5	6,771	384-402-426
6	7,671	408-428-454
7	8,411	424-446-474
8	8,871	420-442-470
9	9,104	420-440-468
10	9,684	454
11	9,938	460
12	11,311	402-426-474
13	12,004	452-474
14	12,629	422-446-472
15	12,938	452-474
16	13,653	422-446-472
17	13,951	464
18	14,124	460
19	15	400-422-448
20	15,138	428-454
21	16,911	446-472-502
22	17,104	446-472-502
23	18,004	(421)-448-474
24	18,464	(425)-448-476
25	18,837	(424)-448-474
26	19,051	(424)-446-474

Es de hacer notar que tal como lo indican algunos autores (Clegg, 1973; Francis, 1995; Yeun et al., 1996; Ravigadevi et al., 2000), los pigmentos mayoritarios en el aceite de palma son el α -caroteno y β -caroteno, por lo que al realizar tanto la cromatografía por TLC como por HPLC, las altas proporciones de estos pigmentos obstaculizan grandemente el aislamiento e identificación de los demás pigmentos. En la cromatografía por TLC las placas se saturan muy rápidamente con poca cantidad de muestra (100-150 ml), y por HPLC los picos obtenidos son muy pequeños a excepción de los pigmentos mayoritarios.

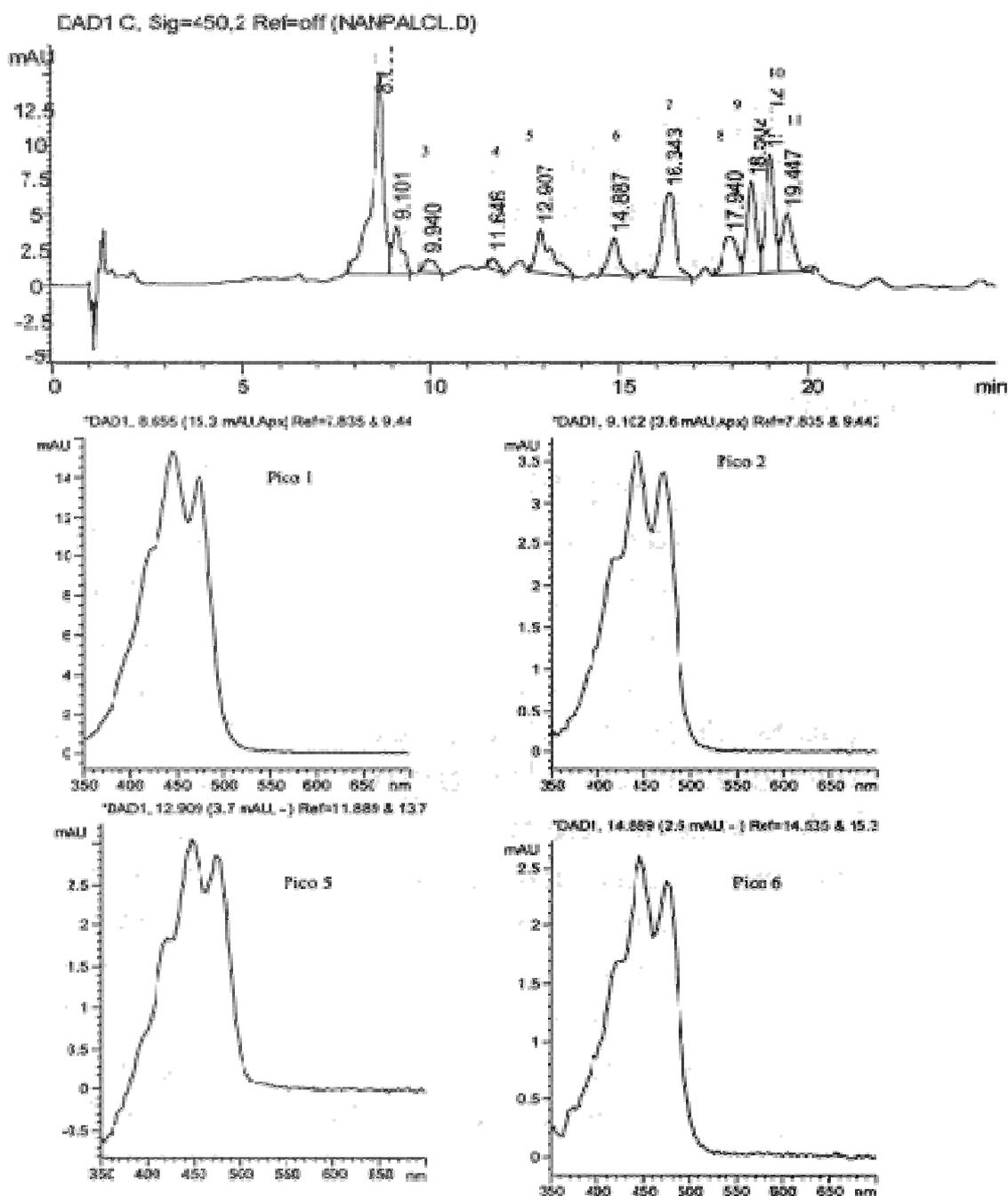
Por lo tanto, con la finalidad de obtener un extracto de pigmentos en mayor proporción, exceptuando los carotenoides: alfa, beta, licopeno y los isómeros del beta, se aplicó la técnica de extracción en fase sólida, la cual no arrojó los resultados esperados, puesto que no se pudo separar los pigmentos mayoritarios de los demás, pero se apreció la presencia de dos nuevas franjas, que no se observan en la muestra saponificada, lo que hace pensar que se debe a la existencia de pigmentos esterificados en la muestra original.

El análisis cromatográfico por HPLC de cada una de las franjas purificadas, así como de la muestra extraída por la técnica de extracción sólida (Figura 6), refleja que la muestra pasada por la columna presenta menor cantidad de picos (Cuadro 16) que la muestra saponificada (Cuadro 14) como era de esperarse, puesto que la saponificación puede modificar el estado natural en que se encuentran los carotenoides en la muestra; por lo tanto es necesario contar con los pigmentos desesterificados para verificar a través de las pruebas de identificación los grupos funcionales que puedan estar presentes; sin embargo, hay que aclarar que la

identificación de este tipo de compuesto se suele efectuar a partir del extracto de pigmentos saponificados, para eliminar tanto los componentes clorofílicos como la presencia de lípidos, lo cual permite trabajar con un mayor tamaño de muestras y obtener cantidad suficiente de cada sustancia para verificar con las pruebas necesarias (Mínguez, 1997).

Dado que en el cromatograma general de la muestra de aceite de palma sin saponificar, y bajo saponificación (Figura 5 y 6), se aprecia que aparte del α -caroteno y del β -caroteno y sus isómeros, la posible luteína se encuentra en mayor proporción a los demás pigmentos minoritarios, se centró la atención en identificar este pigmento, a través de la quinta fracción obtenida por TLC (presente en la muestra saponificada y sin saponificar), la cual presenta tres picos (Figura 8), que tienen gran similitud con la luteína y sus isómeros, y donde su comportamiento espectroscópico presenta un máximo de absorción a 446 (pico 6 del Cuadro 14, o pico 7, Cuadro 15) propio de numerosas xantofilas incluyendo la luteína (Lyan et al., 2001). Situación que se corrobora al disolver la fracción en diferentes solventes frente a una luteína patrón, ya que se presentan iguales máximos de absorción (Cuadro 17) a los señalados por Mínguez (1997).

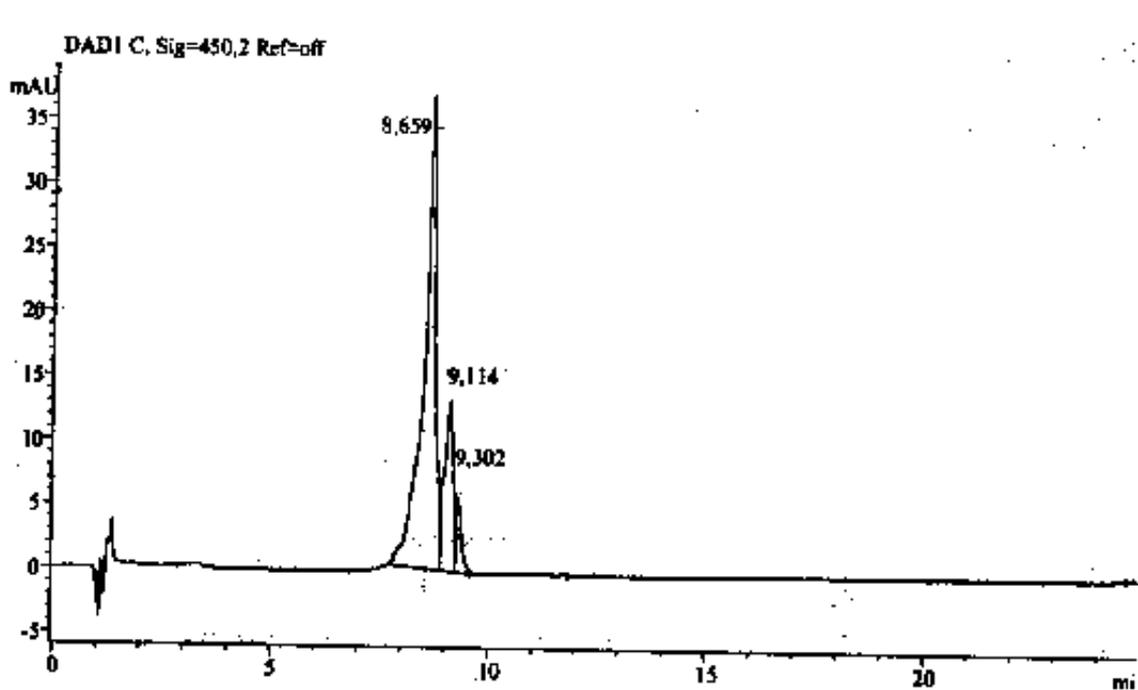
FIGURA 6.- Espectros de absorción UV-Vis y cromatograma de aceite de palma sin saponificar.



CUADRO 16.- Tiempos de retención y máximos de absorción para la muestra de aceite de palma sin saponificar por HPLC.

Pico	Tiempo de retención (min.)	Máximos de espectros en UV-Vis (nm)
1	8,653	424-446-474
2	9,101	420-440-468
3	9,94	No presenta espectro definido
4	11,646	No presenta espectro definido
5	12,907	422-446-474
6	14,887	424-446-474
7	16,343	426-446-474
8	17,94	426-450-476
9	18,502	(424)-448-474
10	19,012	(426)-454-480
11	19,447	426-450-472

FIGURA 7. Fracción 5 del aceite de palma saponificado.



CUADRO 17.- Máximos de absorción de la fracción 5 del aceite de palma.

Solvente	Máximos de espectros en UV-Vis (nm)	Según Mínguez (1997)
	I II III	I II III
Éter de petróleo 40-60°	418-442-468	418-442-470
Cloroformo	430-442-470	430-452-482
Etanol	418-442-470	418-442-472

CUADRO 18.- Prueba de acetilación de los hidróxidos

Pigmento	Tiempo de retención (min.)	Máximos de absorción (nm)
Lu acetilada x 2 h	8,639	422-448-474
	10,283	422-446-476
	12,343	426-448-476
Lu acetilada x 4 h	8,625	422-448-474
	10,284	426-446-476
	12,335	426-446-476
Lu acetilada x 2 h	8,77	454-480
	10,284	(426)-454-480
	12,696	(426)-454-480
Lu acetilada x 4 h	10,438	(426)-454-480
	12,686	(426)-454-480
Fracción 5 acetilada x 2 h	8,726	422-448-472
Fracción 5 acetilada x 2 h	8,628	422-446-472
	10,28	420-446-472

Siendo esta prueba positiva también para el pigmento zeaxanteno, se presenta la relación de picos III/II, la cual es de un 68%, superior en el caso del espectro de la

fracción 5 y para el zeaxanteno es de un 23%, o sea, es inferior al de la supuesta luteína como es característico de carotenoides con dos anillos de b-ionona (Mínguez, 1997).

Todo lo anteriormente expuesto permite afirmar con bastante certeza que uno de los pigmentos presentes en el aceite de palma crudo es la luteína, pigmento no estudiado hasta los momentos en la bibliografía consultada.

Con respecto a la cuantificación de los pigmentos en el aceite, sólo se realizó la cuantificación del β -caroteno, licopeno y luteína tomando en cuenta los patrones existentes: β -caroteno y sus isómeros: 1.158 mg/kg; luteína y sus isómeros: 42 mg/kg; licopeno: 14 mg/kg. Hay que aclarar que los resultados que se presentan a continuación no pueden ser considerados completamente exactos, ya que no se utilizó patrón interno y/o externo.

A través de las cromatografías TLC y HPLC, espectrofotometría UV-Vis y pruebas químicas se pudo identificar con bastante precisión la presencia del pigmento luteína en el aceite de palma.

6.7. Fraccionamiento del aceite de palma.

La palma africana, *Eleais Guineensis*, es la segunda fuente de aceite comestible más importante del mundo y una de las que presenta el más alto contenido de aceite (45%), así como es el que tiene mayor campo de aplicación debido a su composición química única. Este aceite es una mezcla compleja de diferentes triglicéridos con distintos puntos de fusión, situados entre los -50 y 70°C; difiere de los demás aceites vegetales comunes por su alto contenido en ácido palmítico

(aprox. 45%). Debido a su composición semisólida a temperatura ambiente, se han desarrollado procesos como el fraccionamiento que han permitido la versatilidad y adaptabilidad del aceite de palma a diferentes aplicaciones alimentarias que han cobrado gran protagonismo (Abeshima, 1998; Che-Man et al., 1999; Sambanthamurthi et al., 2000).

Mediante el proceso de fraccionamiento del aceite de palma puede dividirse en una porción más líquida (por encima de 18 a 20°C el 70% del aceite) esto es la oleína, y una porción más sólida que es la estearina. La oleína tiene una gama más estrecha de glicéridos y se mezcla perfectamente con aceite de cualquier oleaginosa. En el Ecuador se está comercializando con éxito una mezcla de 40 % de palma y el 60 % de aceite de Soya. La oleína de palma tiene un índice de yodo (i.Y.) de 56 a 61, una densidad relativa a 25°C entre 0,9000 - 0,903 y un índice de saponificación (mg KOH) y aceite entre 194 a 202.

La estearina de palma es una fuente muy útil de componentes grasos duros para productos tales como: manteca, margarinas de repostería, etc. La estearina se produce mediante diversos procesos y con cada uno se obtienen diferentes combinaciones de índice de yodo (I. V.) entre 22 - 49 y densidad relativa 60°C entre 0,882 - 0,891 y con un índice de saponificación (mg KOH/g aceite de 193 - 206).

Para la obtención de la fracción líquida del aceite refinado de palma (Oleína) se realiza el proceso que consiste en enfriar progresivamente por períodos de tiempo con agitación controlada en cada paso de una receta de fabricación, una vez que los ácidos grasos se van solidificando según su punto de fusión, los ácidos grasos

de un punto de fusión mas bajos (inferiores a 8°C) se mantienen líquidos y la curva de enfriamiento tiende a levantarse debido a la liberación de energía, que provoca la cristalización de ciertos ácidos grasos que en su mayoría tienden a tomar esta estructura a los 16°C y esto hace que se incremente la temperatura, es en este momento en que se debe finalizar el enfriamiento, para dar paso a la filtración, una vez que los ácidos grasos comienzan a cristalizarse, se debe enviar la palma cristalizada a un filtro prensa en donde se somete a una presión de 12bar, y se hace un barrido con aire a una presión mayor a 5bar por 30 minutos, de esta forma todos los ácidos grasos que se encuentran en estado liquido logran pasar a través de las capas filtrantes del filtro prensa reteniendo la fracción sólida (Estearina) entre sus placas. Posterior mente se abre el filtro prensa y se deja caer las Tortas de estearina a la tolva de acumulación la cual es calentada para disolver los cristales formados y volver liquida la estearina a una temperatura de 48°C para su almacenamiento.

VII Resultados y discusión

Nutricionalmente basamos la energía en el aceite de palma que tiene 8500 kcal como energía bruta, sin embargo tiene una alta concentración de pigmentos carotenoides, que en el proceso de industrialización en Ecuador actualmente, no se aprovecha este contenido de nutrientes, ya que son eliminados en un gran porcentaje en el proceso de Blanqueo y refinación del aceite, tal como se lo detalla en el capítulo de procesamiento de palma.

De estos compuestos carotenoides se derivan los siguientes valores:

Vitamina A: (500-700 ppm): Compuesta por α - caroteno (36%) β -carotenos (55%) M-caroteno (3%) licopeno (4%) y compuestos xantófilos (2%).

Vitamina E: El aceite de palma contiene 600 a 1000 ppm de vitamina E, está compuesto por tocoferoles (30%) y tocotrienoles (70%). La vitamina E está asociada con la reducción de la oxidación de lípidos.

Siendo los pigmentos carotenoides una fuente de colores rojos, naranjas y amarillos, éstos son sintetizados sólo por plantas y microorganismos, por lo cual al ser suministrados en la dieta de los erizos en ingredientes coloreados en forma concentrada como caroteno sintético. Algunos animales aprovechan el esqueleto del carotenoide dietario para convertirlo en el carotenoide necesario para su desarrollo.

VIII Referencias Bibliográficas

BONNIE, T. and Y. CHOO. 2000. Practical guide to establishing palm carotenoids. Palm oil developments 33:13-17.

Borisovets E.E. et al. / Comparative Biochemistry and Physiology Part B 132 (2002) 779–790

CLEGG A. 1973. Composition and related nutritional and organoleptic aspects of palm oil. J. of the Am. Oil Chem. Soc. 50:321-324.

Contreras; G:E: 2000, Bioquímica de pescados e invertebrados Editorial Cecta-Usach, Santiago de Chile.

CRC. 1988. Handbook of chromatography plant pigments. Fat-soluble pigments. Edited by Hans-Peter, K. N° 1, p. 99-117.

FRANCIS, F. J. 1995. Carotenoids as colorants. World of ingredients. Sept-Oct: 34-38.

GANDUL-ROJAS, B., M. MÍNGUEZ and L. A. GALLARDO- GUERRERO. 1992. Rapíd metod of quantification of chlorophylls and carotenoids in virgin olive by HPLC. J. of agric. and Food. Chem. 40:60-63.

Guisado, C. y J.C. Castilla. 1987. Historia de vida, reproducción y avances en el cultivo del erizo comestible chileno *Loxechinus albus* (Molina, 1782) (Echinoidea: Echinidae). In: "Manejo y Desarrollo Pesquero", P. Arana (Ed.), Esc. Ciencias del Mar, UCV, Valparaíso, 59-68

<http://www.campestre.com.br> – Acceso el 09/05/06

<http://www.tierramerica.net/2005/0521/articulo.shtml> revisada 27 marzo 2007.

LYAN, B., Y AZAIS-BRAESCO, N. CARDINAULT, Y TYSSANDIER, P. BOREL, M. ALEXANDRE and P. GROLIER. 2001. Simple method for clinical determination of 13 carotenoids in human plasma using an isocratic high-performance liquid chromatographic method. *J. of Chromatogr. Sic.* p. 297-303.

MÍNGUEZ, M. 1997. Clorofilas y carotenoides en tecnología de alimentos. Ediciones Universidad de Sevilla. España. Capítulos VI, p. 103-107; VII, p. 111-148; VIII, 155-157.

NG J. and B. TAN. 1988. Análisis of palm oil carotenoids by HPLC with diode-array detection. *J. of Chromatograph. Sei.* 26:463-469.

Pearce, C.M., Daggett, T.L., Robinson, S.M.C., 2002. Effect of binder type and concentration on prepared feed stability and gonad yield and quality of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Aquaculture* 205, 301–323.

Pearce, C.M., Tara L. Daggett and Shawn M. C. Robinson Effect of binder type and concentration on prepared feed stability and gonad yield and quality of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*

Aquaculture , Volume 205, Issues 3-4, 11 March 2002, Pages 301-323

Proyecto SICA-MAG, Servicio de Información Agropecuaria del Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2001.

Salinas N. Pacheco E., 2003, Pigmentos carotenoides identificados y purificados en aceite de Palma.

Takahiro Kawakami^a, Miyuki Tsushima^{b,*}, Yasushi Katabami^a, Minoru Mine^a, Akira Ishida^a and Takao Matsuno Effect of β,β -carotene, β -echinenone, astaxanthin, fucoxanthin, vitamin A and vitamin E on the biological defense of the sea urchin *Pseudocentrotus depressus*, Volume 226, Issue 2 , 31 August 1998, Pages 165-174

Tsushima, M., Matsuno, T., 1990. Comparative biochemical studies of carotenoids in sea-urchins—I. Comp. Biochem. Physiol. B 96, 801–810.

www.mpob.gov.my – Acceso el 09/05/06

YEUN, M., C. SOON, K. CHENG, N. AH, H. SWEE and H. SOON. 1996.

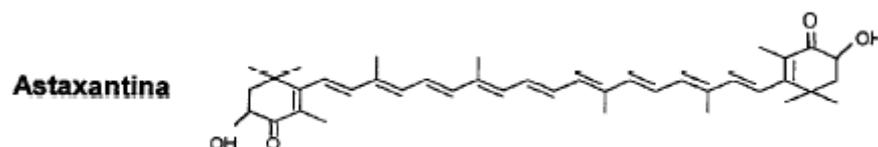
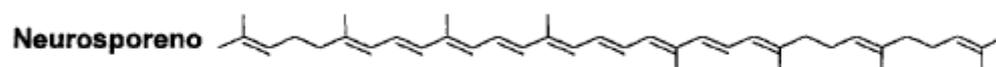
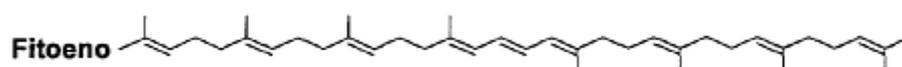
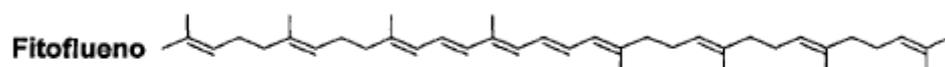
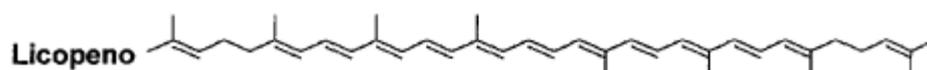
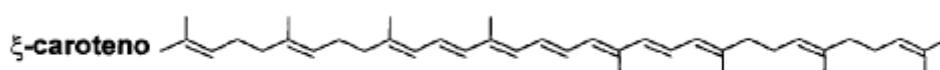
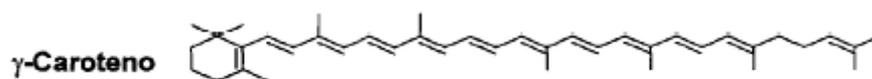
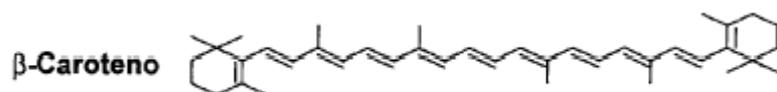
Recovered oil from palm-pressed fiber: a good source of natural carotenoids, vitamin E, and sterols. J. of Am. Oil Chem. Soc. 73(5):599-602.

IX Anexos

9.1.- Tabla de ácidos grasos

Nombre común	Nombre sistemático	Abreviatura	Familia de ácido graso
cáprico	decanoico	10:00	
láurico	dodecanoico	12:00	
mirístico	tetradecanoico	14:00	
palmítico	hexadecanoico	16:00	
esteárico	octadecanoico	18:00	
araquídico	eicosanoico	20:00	
behénico	docosanoico	22:00	
lignocérico	tetracosanoico	24:00:00	
palmitoleico	9-hexadecenoico	16:01	n-7
oleico	9-octadecenoico	18:01	n-9
gadoleico	11-eicosaenoico	20:01	n-9
cetoleico	11-docosaenoico	22:01	n-11
erúcico	13-docosaenoico	22:01	n-9
nervónico	15-tetracosanoico	24:01:00	n-9
linoleico	9,12-octadecadienoico	18:02	n-6
α -linolénico	9,12,15-octadecatrienoico	18:03	n-3
γ -linolénico	6,9,12-octadecatrienoico	18:03	n-6
dihomo-γ -linolénico	8,11,14-eicosatrienoico	20:03	n-6
	5,8,11-eicosatrienoico	20:03	n-9
araquidónico	5,8,11,14-eicosatetraenoico	20:04	n-6
AEP	5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	20:05	n-3
adrénico	7,10,13,16-docosatetraenoico	22:04	n-6
	7,10,13,16,19-docosapentaenoico	22:05	n-3
ADP	4,7,10,13,16-docosapentaenoico	22:05	n-6
ADH	4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	22:06	n-3

9.2.- Formulas de los diferentes carotenos

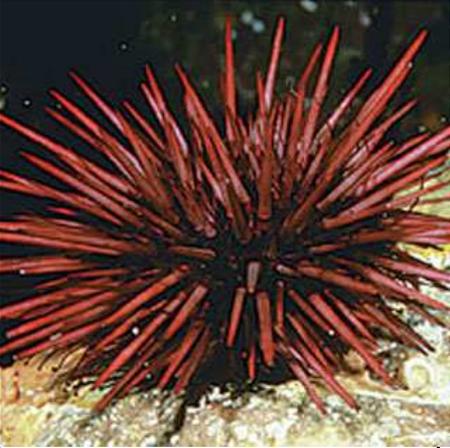


9.3.- Especies comestibles de Erizos de mar

Nombre Científico	Distribución geográfica	Observaciones
<p><i>Diadema setosum</i> (Leske)</p> 	<p>Ampliamente distribuida en la región Indo pacífica, desde la costa africana (de Suez al S. de Durban) y de Madagascar a Australia y a las Islas de Tahití, Fiji Nueva Caledonia) y a Hong Kong, Japón y las Islas Bonin en el Norte, Costas de la India, Java e Indochina, cerca de Singapur</p>	<p>Especie Litoral hasta los 70 m. Muy solicitada en Indochina. Abunda en las costas del Golfo de Siam. Las gónadas se comen principalmente en Madagascar y Malasia. Los malayos emplean mucho a las gónadas como alimento.</p>
<p><i>Paracentrotus lividus</i> (Lamarck)</p> 	<p>Distribuida sobre todo el mediterráneo. Al E. de Palestina, sobre la costa Atlántica se conoce desde Irlanda hasta el S. del África. Además en las I. Canarias, Madeira y Azores. Golfo de Suez.</p>	<p>Especie francamente litoral hasta los 35 m. de profundidad. Cavadora, se alimenta de algas. Las gónadas se comen en los países mediterráneos donde es bien conocida, principalmente en Francia en las costas de Roscoff. Las gónadas se envían a Paris donde se venden en las ostionerías. En Francia se conocen con el nombre de “chataigne de mer”, castañas de mar.</p>
<p><i>Sphaerechinus granularis</i> (Lamarck)</p> 	<p>Mediterráneo y a lo largo de la costa O. del África hasta el Golfo de Fuinea Islas Canarias e Islas Azores. Abunda en las costas de Francia, Portugal e Italia.</p>	<p>Especie Litoral hasta una profundidad de 100 m. se enmascara con plantas y fragmentos de concha ella misma. Vive sobre pastizales de Pasidonia y fondos coralinos. Las gónadas son comidas por los pescadores.</p>

<p><i>Toxopneustes roseus</i> (Agassiz)</p>	<p>Región tropical de la costa Oeste americana, desde el Golfo de California (La Paz) en Panamá, islas Perlas y Colombia. En México se ha colectado en La Paz, Acapulco y Zihuatanejo.</p>	<p>En México los pescadores y gentes del mar comen las gónadas crudas con un poco de limón. Se le encuentra viviendo desde los 2 m. hasta los 50 m. De profundidad.</p>
	<p><i>Tripneustes depressus</i> (A. Agassiz)</p> <p>Golfo de California y costa Oeste de México; Islas Galápagos e Isla Clarion.</p>	<p>En México las gónadas son comidas en crudo, con un poco de limón por la gente de mar y los pescadores. No existe récord de profundidad de esta especie pero evidentemente es una especie de aguas superficiales como su especie congénere de las Antillas <i>T. ventricosus</i>.</p>
	<p><i>Tripneustes gratilla</i> (Linnaeus)</p> <p>Ampliamente distribuida en la región Indo pacífica, del E. de África (Mar rojo y Natal) a las Islas del mar del Sur, de Norfolk e Islas Kermader a las Islas Hawai y de Australia al S. del Japón.</p>	<p>Especie litoral hasta los 75 m. de profundidad. Muy apreciada por los indígenas de Madagascar en donde la pescan en grandes cantidades. Toman las gónadas saladas, las muelen y hacen una pasta con la que fabrican unos panes anchos y planos que ponen a secar al sol.</p>
		

<p><i>Tripneustes ventricosus</i> (Lamarck)</p>	<p>Común en toda la región de las Antillas, al N. se extiende de las islas Bermudas y Florida hasta el S. del Brasil; más lejos es conocida en Ascensión y costa Oeste de África. En México se le ha colectado en Cozumel, Quintana Roo y en las Islas Verde Y Santiaguillo de Veracruz.</p>	<p>Especie litoral hasta 30 m. de profundidad. Vive principalmente sobre depósitos de pasto con el cual se cubre de ella misma, también sobre arrecifes coralinos. Las gónadas se comen ya sea crudas o cocidas por los nativos de las Antillas a donde se les conoce con el nombre de "huevos de mar". En Barbados ha habido que restringir la captura de ellas. en México la gente de mar y los pescadores toman las gónadas crudas con un poco de limón.</p>
		
<p><i>Loxechinus albus</i> (Molina)</p>	<p>Especie litoral de la costa occidental de Sudamérica, desde Callao (Perú) hasta tierra de fuego llegando hasta isla de los estados en su distribución oriental. Colectado en diversas localidades del estrecho de Magallanes hasta el Este, límite de su distribución geográfica.</p>	<p>Se la encuentra desde los 0 a 340 m. Descrita por el padre Molina, notable naturalista chileno. Constituye un marisco de gran aceptación del que se aprovechan las gónadas o "lengüitas" y a veces el cangrejo o cochayuyo Pinnaxodes chilensis que vive en su interior. Las "lengüitas" o lenguas se sazonan y se preparan de muy diversas maneras, de este modo son mucho mas apreciadas por los gastrónomos.</p>
		
<p><i>Strongylocentrotus droebachiensis</i> (O. Fr.Muller)</p>	<p>Amplísima. Especie circumpolar en todos los mares árticos, aún en la costa norte de Groenlandia. Puget Sound. Al NE, de Rhode Island, Boston Maine, etc.</p>	<p>Especie herbívora -algas, pastos marinos-. Las gónadas de esta especie son comidas por los habitantes de Alaska. Se preparan platillos con las gónadas en algunos restaurantes de Nueva York.</p>
		

<p><i>Strongylocentrotus franciscanus</i> (A. Agassiz)</p>	<p>Desde la costa de California a Alaska (isla Sitka y Kodaik, N.E. de Japón). El límite S.E. de la costa de California parece ser la I. Cedros. Parece tener dos áreas distintas de distribución al O. de América y Japón. Común en la Columbia Británica. Litoral hasta los 125 m.</p>	<p>Por lo general las gónadas no son comidas por los norteamericanos. Las comen los italianos y otros inmigrantes de los Estados Unidos de Norte América. Los Chinos a finales del siglo XIX y principios del XX radicados en Norte América, enviaban a China cantidades enormes de estos erizos en donde se consideraban un alimento muy preciado. Las gónadas son comidas también por los indios de la Columbia Británica y los griegos que radican allí.</p>
		
<p><i>Stroglyocentrotus purpuratus</i> (Stimpson)</p>	<p>Común en la costa de California: su límite S.E. parece ser la Isla Cedros, Baja California.</p>	<p>Estrictamente litoral. Sin embargo Mortensen colectó un ejemplar joven a 20 m. fuera de La Jolla. Se alimenta principalmente de algas. Respecto a sus gónadas puede aplicarse lo mismo que se dijo de la especie anterior. S. franciscanus (Agassiz).</p>
		
<p>(Lamarck)</p>	<p>Costa N.S. de Wales y Victoria (de Puerto Jackson). N. de Nueva Zelanda.</p>	<p>Parecido a Paracentrotus Lividus del Mediterráneo. Se le toma como alimento en Nueva Zelanda.</p>
		

<p><i>Echinus esculentus</i> (Linnacus)</p> 	<p>En el atlántico Norte. Se le encuentra cerca de las costas europeas. Se le ha colectado principalmente en Islandia, Islas Faroe, Noruega. Costa de Francia y Portugal.</p>	<p>Erizo muy hermoso de un color Rojo intenso. En algunas regiones se le consume en grandes cantidades. Especie carnívora se alimenta de briozoarios, percebes, gusanos hidroideos. Lo utilizan como alimento en Portugal y en algunas partes de Inglaterra. En épocas antiguas era uno de los platillos favoritos.</p>
<p><i>Echinus melo</i> (Lamarck)</p> 	<p>Común en el mediterráneo hasta el E. del mas Adriático. En el Atlántico está distribuido a lo largo de la costa Oeste africana al S. hasta el Cabo Verde y las Islas Canarias. A lo largo de las costas europeas es conocido en Portugal e Islas Británicas.</p>	<p>Se toma como alimento en Argelia, Sicilia y Córcega. Se le ha colectado desde los 25 hasta los 100 m.</p>
<p><i>Caenocentrotus gibbosus</i> (Valenciennes)</p> 	<p>Distribuida a lo largo de la costa Oeste de Sudamérica, principalmente las costas de Perú, pero aparentemente desde Guayaquil al N. De Chile. Sus límites exactos al Noroeste y al Sureste sin embargo son desconocidos. Se le encuentra en las Islas Galápagos que es la localidad tipo.</p>	<p>Un carácter muy típico de esta especie es que la mayoría de los especímenes están parasitados por un pequeño cangrejito el <i>Pinaxodes chilensis</i> el cual penetra por el ano del erizo y distorsiona el recto y el tubo digestivo. El cangrejito llega hasta el peristoma del erizo deformando hasta la región aboral de él. Esta especie es muy parecida a <i>Loxechinus albus</i> (Molina) con la cual se la confunde fácilmente.</p>