



**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

TEMA:

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN
LA POSICION SN-2 EN 5 VARIEDADES DE PALMAS HIBRIDAS
(*E. Oleíferas x E. guineensis*) MANTA 2019.

AUTOR:

SAMUEL FERNANDO PARRAGA SAAVEDRA

TUTORA:

Ing. Maria Isabel Mantuano Cusme Mg.sc.

MANTA – MANABI – ECUADOR

2019

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

“IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LA
POSICION SN-2 EN 5 VARIEDADES DE PALMAS HIBRIDAS (*E. Oleíferas x*
***E. guineensis*) MANTA 2019”**

Sometida a consideraciones del honorable consejo de directivo de la facultad de ciencias agropecuarias como requisito para obtener título de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

Aprobado por el tribunal

Ing. Ángel Prado Cedeño, Mg
Presidente del tribunal

Ing. Edison Greco Lavayen Delgado, Mg
Miembro del tribunal

Ing. Roy Barre Zambrano, Mg
Miembro del tribunal

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

En calidad de docente tutor(a) de la facultad de CIENCIAS AGROPECUARIAS de la universidad Laica “Eloy Alfaro de Manabí” certifico:

Haber dirigido y revisado el trabajo de titulación cumpliendo el total de 400 horas, bajo la modalidad de tesis, cuyo tema del proyecto es “**IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LA POSICION SN-2 EN 5 VARIEDADES DE PALMAS HIBRIDAS (*E. Oleíferas x E. guineensis*) MANTA 2018**”, el mismo que ha sido desarrollado de acuerdo a los alineamientos internos de la modalidad en mención y en apego al cumplimiento de los requisitos exigidos por el reglamento de régimen académico, por tal motivo CERTIFICO, que el mencionado proyecto reúne los méritos académicos, científicos y formales, suficientes para ser sometido a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

La autoría del tema desarrollado, corresponde al **Sr. Párraga Saavedra Samuel Fernando**, estudiante de la carrera de **ingeniería agroindustrial**, periodo académico 2018-2019, quien se encuentra apto para sustentación de trabajo de titulación.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de ley en contrario.

Manta, agosto de 2019

Lo certifico,

Ing. Maria Isabel Mantuano Cusme, Mg
Docente tutora

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Quien suscribe, Samuel Fernando Párraga Saavedra con cedula de identidad 1313766261 egresado de la facultad de ciencias Agropecuarias de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, doy mi declaración que el presente trabajo de titulación IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LA POSICION SN-2 EN 5 VARIEDADES DE PALMAS HIBRIDAS (*E. Oleíferas x E. guineensis*) MANTA 2019, fue de carácter investigativo, las expresiones ofrecidas es autoría de quien suscribe, la misma que se ha realizado utilizando información de diferentes autores que tiene publicaciones científicas, en efecto asumo la responsabilidad de la originalidad de la misma que se han citado las fuentes correspondientes y que en su elaboración se ha respetado las disposiciones legales que protegen los derechos del autor vigente.

Párraga Saavedra Samuel Fernando

CI: 1313766261

AGRADECIMIENTO

A Jehová Dios todopoderoso que siempre guía mis pasos, me da valor, fuerzas y sabiduría en todos mis proyectos emprendidos.

A la universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, a la Facultad de ciencias Agropecuarias y a todos los docentes que integraron parte de mi formación profesional.

A mi tutora la ingeniera Maria Isabel Mantuano por su paciencia y profesionalismo en la guía del actual trabajo de titulación.

A la empresa La Fabril s.a por la acogida y la oportunidad de ampliar y complementar conocimientos fundamentales como profesional.

A los ingenieros Shone Morales, Nathalie Quezada y Kevin Ponce investigadores, que me brindaron su humilde y amplio conocimiento durante mi estancia en la empresa La fabril s.a

DEDICATORIA

A mis padres Roberto Párraga y Maritza Saavedra que siempre me han contagiado de motivación, apoyo y ánimos desde mis primeros días de vida.

A mi amada esposa Ana Tobar y mis hijas Cristhina y Anny Párraga que me han acompañado en los buenos y malos momentos y que se han convertido en esa fuerza y energía que impulsa las ganas de seguir adelante en pie durante todo este tiempo y en los días venideros.

A todos mis hermanos, hermanas y familia que siempre me han apoyado con sus palabras de aliento y positivismo.

ÍNDICE GENERAL

I INTRODUCCIÓN

Marco teórico	1
1.1 Palma africana (<i>Elaeis guineensis</i>)	1
1.2 Palma americana (<i>Elaeis oleifera</i>)	1
1.3 Híbridos (<i>Elaeis oleifera</i> x <i>Elaeis guineensis</i>) OxG	2
1.4 Aceites y Grasas	2
1.5 Ácidos Grasos	3
1.6 Ácidos Grasos Saturados	3
1.7 Ácidos Grasos Insaturados	4
1.8 Ácidos Grasos de Cadena Media	4
1.9 Clasificación de Ácidos Grasos	4
1.10 Monoglicéridos	5
1.11 Triglicéridos	6
1.12 Lipasa	6
1.13 Actividad Lipásica	7
1.14 Hidrólisis de Lipasas	8
1.15 Especificidad de la Lipasa	9
1.15.1 Lipasas no específicas	9
1.15.2 Posicional o regio especificidad	9
1.15.3 Lipasas con respecto al ácido graso	9
1.16 Tipos de cromatografías	10
1.17 Planteamiento del Problema	11
1.18 Justificación	12
1.19 Hipótesis	13
1.20 Objetivos	13

II METODOLOGÍA

2.1 Ubicación del Estudio	14
2.2 Tipo de Investigación:	14
2.3 Materia Prima y Reactivos	14
2.4 Materiales Y Equipos	15
2.5 Análisis empleados para caracterización del aceite híbrido.	16
2.6 Método AOCS Ch 3-91	16

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV CONCLUSIONES

V RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

RESUMEN DE TRABAJO

La presente investigación tuvo como objetivo cuantificar los ácidos grasos en posición sn-2 en las 5 variedades híbridas de palma “*Taisha x Avros murgas*, *Taisha x Avros rgs*, *Taisha x Ekona*, *Taisha x Yangambi* y *Coari x Lamé*”, dado que esta es la principal responsable del metabolismo lipídico en los seres humanos y los animales, se identificó que el material con mejores características de concentración y perfil ácido graso fue de la variedad *Coari x Lamé* con 56,60 % de ácido Oleico y 17,30 % de ácido palmítico, el material *Taisha x Avros Murgas* obtuvo 48,97 % de ácido Oleico y 12,40 % de ácido palmítico, el material *Taisha x Avros rgs* obtuvo 54,80 % de ácido Oleico y 15,47 % de ácido palmítico, el material *Taisha x Ekona* obtuvo 50,10 % de ácido Oleico y 16,90 % de ácido palmítico, el material *Taisha x Yangambi* obtuvo 55,17 % de ácido Oleico y 17 % de ácido palmítico, Los mismos que se obtuvieron mediante el método de cromatografía de capa fina (TLC) y el método de cromatografía de gases (GC). En las industrias de extracción de aceite se tiene como objetivo tener la mejor tasa de obtención de aceite y la calidad del mismo es por esto que se estudia el mejoramiento de estas plantas, el cruzamiento de la palma americana *Elaeis Oleífera* y palma africana *Elaeis Guineensis* dio como resultado 5 híbridos interespecíficos los mismos que están siendo estudiados a nivel de campo y laboratorio. El aceite de estos híbridos representa una materia prima de alto valor económico y nutritivo ya que, sus altos contenidos de tocoferoles, tocotrienoles, carotenos, vitaminas y su composición lipídica con sus dos principales ácidos grasos el oleico y palmítico, los mismos que conforman aproximadamente el 48% del perfil de ácidos grasos y varían dependiendo la variedad en estudio.

Palabras Claves: Ácidos Grasos, Posición sn-2, Palmas Híbridas, Lipasa, TLC

SUMMARY

The objective of this research was to quantify the fatty acids in sn-2 position in the 5 hybrid varieties of palm "*Taisha x Avros murgas*, *Taisha x Avros rgs*, *Taisha x Ekona*, *Taisha x Yangambi* and *Coari x Lamé*", since this is the main responsible for lipid metabolism in humans and animals, It was identified that the material with the best concentration characteristics and fatty acid profile was of the *Coari x Lamé* variety with 56.60% Oleic acid and 17.30% palmitic acid, the *Taisha x Avros Murgas* material obtained 48.97% of Oleic acid and 12.40% palmitic acid, *Taisha x Avros rgs* material obtained 54.80% Oleic acid and 15.47% palmitic acid, *Taisha x Ekona* material obtained 50.10% Oleic acid and 16, 90% palmitic acid, *Taisha x Yangambi* material obtained 55.17% Oleic acid and 17% palmitic acid, They were obtained using the thin layer chromatography (TLC) method and the gas chromatography (GC) method. In the oil extraction industries, the objective is to have the best rate of obtaining oil and the quality of the oil, which is why we study the improvement of these plants, the crossing of the American palm *Elaeis Oleífera* and African palm *Elaeis Guineensis* gave as a result 5 interspecific hybrids the same that are being studied at the field and laboratory level. The oil of these hybrids represents a raw material of high economic and nutritional value since, its high content of tocopherols, tocotrienols, carotenes, vitamins and its lipid composition with its two main oleic and palmitic fatty acids, which make up approximately 48% of the fatty acid profile and vary depending on the variety under study.

Key words: Fatty Ácid, Sn-2 positions, Hibrids Palm, Lipase, TLC

I INTRODUCCIÓN

Marco teórico

1.1 Palma africana (*Elaeis guineensis*)

La palma africana es una especie de origen africano, dividida en tres tipos principales, *Dura*, *Pisífera* y *Tenera*. La cual está basada en la característica del endocarpio, la misma que puede llegar a medir de 15 a 18 metros de altura y en bosques densos hasta 30 metros (Barcelos et al, 2015). Algunas plantas de palma tienen más de 200 años (Corley et al, 2003). Las hojas pueden llegar a medir 8 metros de largo, lo que determina la densidad del cultivo y es por ende una característica importante para determinar el rendimiento del cultivar (Barcelos et al, 2015).

1.2 Palma americana (*Elaeis oleífera*)

La palma americana es una especie de origen amazónico, posee como principal característica agronómica la resistencia al amarillamiento fatal (AF). El cruzamiento entre la palma africana y la palma americana, da origen a un híbrido interespecífico (*Elaeis oleífera* x *Elaeis guineensis*), el cual está siendo utilizado en la producción de cultivares debido a la resistencia al AF y a la pudrición del cogollo (PC) heredada de la palma americana (Gomes, 2010).

La especie *E. oleífera* se encuentra naturalmente distribuida en regiones de Centro América y el Amazonas y ha sido históricamente menos utilizada debido a su menor productividad (Corley et al, 2003). No obstante, el cultivo a gran escala de *E. oleífera* es cada vez más importante debido a que la palma americana tiene mayor resistencia al PC que la palma africana, y a que los híbridos de *E. oleífera* x *E. guineensis* tienen un potencial interesante desde un punto de vista comercial puesto que pueden contener características deseables de ambas especies.

1.3 Híbridos (*Elaeis oleífera* x *Elaeis guineensis*) O x G

Las investigaciones sobre morfología y fisiología de los híbridos de palma de aceite publicadas en bases de datos públicas son limitadas. Algunos de los autores y publicaciones destacadas son. (Peláez *et al*, 2010)

A principios de los años 80 se crea uno de los primeros híbridos O x G (*Coarí* x *LaMé*), siendo en la actualidad el más difundido y conocido, con resultados de adaptación, tolerancia a la enfermedad y producciones de fruta y aceite muy interesantes. Las técnicas, estrategias y tecnologías de cruzamiento utilizadas en los cultivos de palma híbrida se basan en estudios existentes de híbridos de maíz, que se enfocan en el desarrollo de líneas parentales endogámicas para producir híbridos F1 (Barcelos *et al*, 2015).

Según (Barba, 2011), la palma originaria de Taisha presenta un fenotipo similar a la palma guineensis, su hábitat natural son humedales y pantanos ubicados entre los 240 a 420 msnm, son palmas virescens, con frutos tipo Dura guineensis, racimos de buena fertilidad. El análisis físico de 600 palmas de este tipo presento un promedio de 72,12% de frutos normales y 11,84% de frutos partenocarpicos y el 8% de frutos vanos y blancos en racimo.

1.4 Aceites y Grasas

Son una clase de lípidos que químicamente se las describe como: mezclas de triacilgliceroles, llamados también triglicéridos, que a su vez son uniones de esterres de glicerina con ácidos grasos; además cumplen funciones como moléculas de almacenamiento de energía (9,3 kcal/g), fuente de ácidos grasos esenciales y de vitaminas (Belitz *et al*, 2009).

En alimentos son los principales contribuyentes de textura, de propiedades sensoriales y nutritivas. Generalmente el término “grasa” se aplica al lípido sólido y “aceite” a los que son líquidos, a temperatura ambiente (Badui, 2006).

La importancia de la biodisponibilidad de los ácidos grasos insaturados oleico y linoleico radica en que estos son hipocolesterolemiantes, y por tanto disminuyen las concentraciones de colesterol LDL (fracción perjudicial del colesterol que en exceso se deposita en la paredes arteriales originando la formación de ateromas), y potencian las acciones beneficiosas del colesterol HDL (encargado de recolectar el colesterol libre desde los tejidos del cuerpo hasta el hígado, donde es descompuesto y eliminado del cuerpo por medio de la bilis).

Las características de los triglicéridos dependen principalmente de los ácidos grasos en los tipos de posición en que se encuentren. La posición de los ácidos grasos tiene un efecto en su biodisponibilidad, ya que los ácidos grasos que se encuentran en la posición sn-2 tienen la facilidad de ser absorbidos en el organismo y cumple un rol funcional (Oshima, 2002).

1.5 Ácidos Grasos

Son ácidos carboxílicos que mayormente en la naturaleza poseen un número par de átomos de carbono, muestran una fórmula general: R-COOH; donde R es la cadena alquílica con el grupo terminal carboxilo (-COOH). como se muestra en la figura N°1 del anexo 1.

Así mismo, estos representan un gran porcentaje de la composición de los triglicéridos y en consecuencia de las grasas y aceites; constituyen el 94 - 96% del peso total de la molécula, por ello comprenden la parte activa de ésta, ejerciendo así una marcada influencia en las propiedades físicas y químicas de los aceites y grasas (Badui, 2006).

1.6 Ácidos Grasos Saturados

Ácidos grasos saturados Predominan en las grasas con esqueleto lineal y número par de carbonos y hacen parte de los triglicéridos. Los de bajo peso molecular (<14 carbonos) solo están presentes en la leche de coco y palma, mientras que los de peso molecular mayor (<18 carbonos) se detectan en las leguminosas (Cabezas *et. al* 2016).

1.7 Ácidos Grasos Insaturados

Los que predominan en los lípidos contienen uno, dos o tres grupos alilo, con el doble enlace aislado y con puentes de metileno que siempre tiene la configuración cis, considerada biológicamente activa. Estos ácidos grasos se pueden clasificar según el terminal metilo en tres familias: omega-3, omega -6 y omega -9.

Los ácidos grasos insaturados también se pueden clasificar según la estructura de su molécula en “Cis” o “Trans”. La mayoría de los ácidos grasos insaturados de la dieta tienen conformación Cis; sin embargo, la carne y la leche de los rumiantes, como bovinos y ovejas, contienen pequeñas cantidades de ácidos grasos insaturados en forma de trans (Cabezas *et al*, 2016).

1.8 Ácidos Grasos de Cadena Media

Los ácidos grasos de cadena media son ácidos grasos saturados de cadena de hidrocarburo más corta, al ser ingeridos son metabolizados rápidamente por una vía diferente a de los ácidos grasos de cadena más larga además no tienen ningún efecto sobre el nivel de colesterol; los AGCM son: el ácido caprónico C6:0, ácido caprílico C8:0 y el ácido cáprico C10:0. El ácido láurico C12:0 presenta propiedades intermedias entre los AGCM y los AGCL.

Los principales ácidos grasos de cadena media que superan el 50% del total de ácidos grasos en los aceites de coco y palmiste, otros, en pequeñas proporciones se localizan en fuentes naturales como la leche de cabra y bovina (C6:0-C10:0), constituyendo del 4 al 12% del total de ácidos grasos (Sáyago *et al*, 2008); además pueden ser obtenidos en procesos de hidrólisis y vueltos a esterificar con glicerol, formando una mezcla de triglicéridos de cadena media con mayores concentraciones de AGCM aleatorizados (Bailey, 2005).

1.9 Clasificación de Ácidos Grasos

Se pueden dividir en grupos de acuerdo con su longitud de la cadena, número, posición, configuración de sus dobles enlaces y presencia de grupos funcionales

adicionales en las cadenas alifáticas (Belitz *et al*, 2009). De acuerdo con la tabla que se muestra a continuación.

Tabla N° 1: Clasificación de ácidos grasos

Nombre Común	Acido Graso	Formula	Long. de cadena
Ácidos Grasos Saturados			
Butírico	C4:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Corta
Caproico	C6:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	Corta/Media
caprílico	C8:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Media
Cáprico	C10:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	Media
Láurico	C12:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Media
Mirístico	C14:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Larga
Palmítico	C16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Larga
Estereárico	C18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Larga
Araquídico	C20:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Larga
Ácidos Grasos Insaturados			
Palmitoleico	C16:1 (n-7)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Monoinsaturado
Oleico	C18:1 (n-9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Monoinsaturado
Linoleico	C18:2 (n-6)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	poliinsaturado
Linolénico	C18:3 (n-3)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	poliinsaturado
Araquídico	C20:4 (n-6)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	poliinsaturado

Fuente: (Belitz *et al*, 2009).

1.10 Monoglicéridos

Los monoglicéridos conocidos también como monoacilgliceroles, están compuestos por un glicérido unido covalentemente a una cadena de ácidos grasos a través de un enlace éster (Badui, 2006).

Estos pueden ser sólidos cerosos, sólidos duros o líquidos, todos ellos insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos. Su eficacia como emulsificantes w/o y o/w se debe en parte a la capacidad que poseen de disminuir la tensión superficial entre el agua y distintos lípidos a altas temperaturas. Además, los monoglicéridos se caracterizan por situarse sobre la superficie de la fase dispersa de las emulsiones formando una película superficial viscoelástica o bien formando cristales líquidos (Flickinger *et al*, 2003).

Los monoglicéridos se producen tanto biológica como industrialmente. Están presentes en la naturaleza en niveles muy bajos (0,1-0,2%) en algunos aceites de semillas como el aceite de oliva, el aceite de colza y el aceite de semilla de algodón. Son biosintetizados por la hidrólisis enzimática de los triglicéridos por la lipoproteína lipasa y la hidrólisis enzimática de los diglicéridos por la diacilglicerol lipasa; o como un intermedio en la alcanoilación del glicerol para formar grasas (Sonntag, 1982).

Los monoacilgliceroles se pueden dividir en: 1-monoacilgliceroles y 2-monoacilgliceroles, dependiendo de la posición del enlace éster en la molécula de glicerol. Monoglicéridos y diglicéridos son comúnmente añadidos a los productos comerciales de alimentos en pequeñas cantidades. Actúan como emulsionantes, ayudando a mezclar los ingredientes insolubles que de otro modo no se mezclarían (Badui, 2006).

1.11 Triglicéridos

Los triglicéridos (TG) pueden ser considerados como el producto de la unión de una molécula de glicerol con tres de ácidos grasos, dando tres moléculas de agua y una de triglicérido, su formación se muestra en la figura 2.

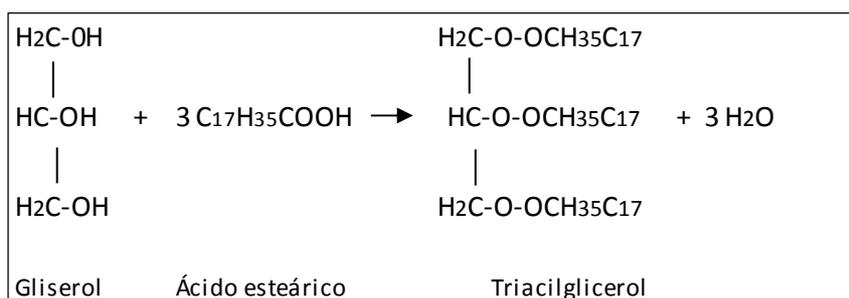


Figura N°2: Esquema y formación de un triglicérido.
Fuente: Pixhook, 2010.

1.12 Lipasa

Son triacilglicerol acil hidrolasas encargadas en la degradación de los lípidos como una clase especial de esterasas por su mayor actividad en sustratos insolubles en agua. Actúan óptimamente en una interfaz aceite-agua, como los

sistemas en emulsión donde el sitio activo de la proteína queda expuesto hacia la región hidrofóbica, pero con acceso a la fase acuosa requiriendo moléculas de agua para la catálisis; este fenómeno es conocido como activación interfacial (Badui, 2006).

De acuerdo con la definición de la Comisión de Enzimas de la IUPAC las lipasas pertenecen al grupo EC3, hidrolasas, y específicamente al grupo EC3.1.1.3, las cuales son capaces de catalizar la hidrólisis de forma natural principalmente los triglicéridos para producir mono, di glicéridos, ácidos grasos libres y glicerol (Utrera, 2009).

Se encuentran difundidas en vegetales apareciendo sobre todo en la germinación de semillas oleaginosas que usan los ácidos grasos como fuente de energía para el desarrollo del embrión (Gutiérrez, 2000), en animales segregadas por el páncreas para la digestión de las grasas y, sintetizadas por microorganismos (hongos, bacterias, levaduras) siendo esta última, la más comercialmente importante (Aceves *et al*, 2012).

Las lipasas pueden ser aplicados a dos áreas principales dentro de la industria de productos oleo químicos: división de ácidos grasos y síntesis de ésteres (Aceves *et al*, 2012).

1.13 Actividad Lipásica

Las lipasas son activos en una interfaz de aceite/ agua, cuanto más pequeño es el tamaño de la gota de aceite, mayor es la interfaz aceite / agua y, por lo tanto, mayor es la actividad de la lipasa.

La actividad enzimática puede ser medida determinando la velocidad de aparición de un producto o desaparición de un reactivo; en la actualidad existen diversos métodos para establecer cualitativa o cuantitativamente la capacidad hidrolítica de las lipasas y que dependerá de factores como costo, equipos, reactivos y nivel de sensibilidad (Román, 2005).

1.14 Hidrólisis de Lipasas

Los procesos tradicionalmente empleados para la producción de ácidos grasos son químicos y enzimáticos; los procesos químicos se desarrollan bajo condiciones de temperaturas y presiones elevadas con diferentes tiempos de reacción obteniendo productos muy variados en naturaleza y pureza (Salimon *et al*, 2011).

Por ejemplo, en la hidrólisis alcalina, empleado condiciones de reacción suaves (70-100 °C), el producto adquiere olor y color no deseado; mientras en procesos continuos utilizando una elevada presión (5000 kPa) y temperatura entre 250-360 °C, puede conllevar a una posible desnaturalización de ácidos grasos (Goswani *et al*, 2012); en comparación con la hidrólisis catalizada por lipasa, esta posee claras ventajas con una excelente pureza del producto y condiciones de proceso leve.

Estudios previos hacen referencia a un aumento del rendimiento y velocidad de reacción con la adición de aditivos en el medio de reacción (tensioactivos y sales), además de un aumento significativo de la actividad de la enzima en presencia de disolventes orgánicos y a cambios de diferentes variables de proceso con efectos como la temperatura, contenido de agua, velocidad de agitación, pH y cantidad de catalizador (Raspe *et al*, 2013).

Muchos estudios relacionados a los aceites se han centrado en la hidrólisis de los triglicéridos por medio de la lipasa, enzima que reacciona en un lugar específico de la cadena de los triglicéridos. Este proceso bioquímico es el encargado de producir la separación de los ácidos grasos que están formando un complejo lipídico.

Aunque no se han realizado muchos estudios relacionado a la cuantificación de ácidos grasos en posición sn-2 en híbridos interespecíficos, se tiene registros de investigaciones y trabajos similares con aceites de palma africana en cuanto a la aplicación de alimentos balanceados en aves, bovinos, caninos, equinos y

formulación sustitutos de leche materna y suplementos alimenticios para personas adultas.

Por otra parte (Vilarrasa E. *et al*, 2011), efectuaron una investigación sobre el efecto del uso de aceites esterificados con diferente contenido de monoglicéridos en la ración del pollo de carne. Obteniendo como resultado que el uso de aceites ácidos esterificados de palma podría servir para mejorar las digestibilidades de los aceites ácidos, e incluso alcanzar digestibilidades similares a las de una fuente de grasa insaturada, pero a un menor precio.

1.15 Especificidad de la Lipasa

La especificidad es una de las propiedades más notables de la molécula de la enzima y se puede definir como una diferencia comparativa de los tipos de catálisis de ciertas reacciones (Bailey, 2005) y que pueden presentarse con relación a su actividad, propiedades a nivel molecular, y estructura del sustrato (Román, 2005).

Las lipasas se pueden clasificar en tres grupos basados en su especificidad; al azar (no-regio específica), sn-1,3-específica (regio específica) hacia los TG's, y específica para un ácido graso determinado o una clase de ácido graso, estas especificidades no se logran en las reacciones de hidrólisis, esterificación o interesterificación catalizada químicamente (Gutiérrez, 2000).

1.15.1 Lipasas no específicas

Su uso conduce a la completa ruptura de TG a glicerol y ácidos grasos libres (Gutiérrez, 2000).

1.15.2 Posicional o regio especificidad

Estas lipasas tienen la capacidad de dividir ácidos grasos en las posiciones sn 1-3 del TG e hidrolizan para proporcionar ácidos grasos libres, 1,2 o (2,3) di glicéridos y 2-monogliceridos (Gutiérrez, 2000).

1.15.3 Lipasas con respecto al ácido graso

Son selectivas respecto a una clase de ácidos grasos independientemente de su posición en la cadena principal de glicerol, realizando una acomodación de la cadena carbonada del ácido graso en el centro activo de la enzima e hidrolizando con mayor velocidad (Gutiérrez, 2000).

1.16 Tipos de cromatografías

- **Cromatografía de capa fina**

La cromatografía en capa fina presenta una serie de ventajas frente a otros métodos cromatográficos (en columna, en papel, en fase gaseosa) ya que el utillaje que precisa es más simple. El tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor y la separación es generalmente mejor (Braithwaite A. 1985).

La cromatografía, consiste en una fase estacionaria y una fase móvil y el principio es el mismo la sustancia de interés se adherirá a la fase estacionaria y se moverá con la fase móvil, viajando una distancia que es inversamente proporcional a la afinidad por la fase estacionaria (Skoog *et al*, 1994). La muestra con la sustancia que queremos identificar se depositará en pequeñas gotas sobre la base estacionaria marcando donde se ha depositado (Quirós *et al* 2017)

En la biología celular se utiliza frecuentemente para separar azúcares simples, lípidos, aminoácidos, nucleótidos, metabolitos, y ocasionalmente para separar cadenas cortas de polipéptidos y ácidos nucleicos (Skoog *et al*, 1994).

- **Cromatografía de gases**

La cromatografía en general es un método físico analítico, cuyo objetivo es separar distintos componentes presentes en una mezcla compleja permitiendo caracterizarlos. En todas las separaciones cromatográfica, la muestra se desplaza con una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria con

la que es inmisible, y que se fija a una columna o una superficie sólida (Skoog, 2001).

Los diferentes tipos de cromatografía se clasifican por el tipo de fase móvil:

- Cromatografía de Líquidos (LC)
- Cromatografía de Gases (CG)
- Cromatografía de Fluidos Supercríticos (SLC)

En la CG, la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte. A diferencia de otros tipos de cromatografía la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito (Skoog, 2001).

En el análisis de grasas y aceites la CG consiste en la introducción al puerto de inyección de ésteres metílicos, estos ésteres se obtienen como la reacción, que se vaporizan y transportan por un gas inerte a través de la columna con el líquido de reparto que presenta solubilidad selectiva con los componentes de la muestra ocasionando su separación.

Los componentes que eluyen de la columna pasan uno a uno por el detector, el cual genera una señal eléctrica proporcional, la que es transformada por el integrador en una gráfica de la señal obtenida contra tiempo llamada cromatograma (Norma Mexicana NMX-F-017-SCFI, 2011).

1.17 Planteamiento del Problema

En el transcurso del tiempo se ha ido despertando un creciente interés de conocer cuáles son los compuestos químicos que conforman las moléculas orgánicas en los alimentos, sus funciones en el proceso metabólico del cuerpo humano y su capacidad de reaccionar.

Uno de los compuestos involucrados son los triglicéridos, que por sus características generales de aporte energético en las células y así estas puedan

cumplir sus funciones fisiológicas y químicas. La importancia de esta investigación se basa en la necesidad de conocer los ácidos grasos que estructuran la molécula del monoglicérido en la posición sn-2 en aceites de palma híbrida, debido a que estos tienen la capacidad de ser absorbido por el metabolismo.

Según la FAO (2012), la posición sn-2 tiende a contener principalmente ácidos grasos poliinsaturados, especialmente ácido Oleico. Sin embargo, en la leche de vaca, todo el ácido butírico (C4:0) y la mayoría del ácido hexaenoico (C6:0) se encuentran en la posición sn-3, mientras que los de cadena larga (C14:0, C16:0 y C18:0) se distribuyen por igual en las posiciones sn-1 y sn-2.

En la leche humana, el ácido palmítico (C16:0) se encuentra principalmente en la posición sn-2, mientras que el ácido esteárico (C18:0) se encuentra en la posición sn-1.

1.18 Justificación

La presente investigación se la ha realizado con el fin de conocer que tipo y concentración de ácidos grasos en la posición sn-2 existen en las diferentes variedades interespecíficas de palmas híbridas aceiteras, la cual a nivel industrial existe un interés en la comercialización de este tipo de grasa hidrolizada para la constitución de suplementos alimenticios formulados para infantes y adultos mayores.

Ya que estas personas tienen poca capacidad de metabolización de las grasas con altas concentraciones de triglicéridos y ácidos grasos libres. Las mismas que no han sido estudiadas en sus cinco variedades interespecíficas de *E. Oleíferas* con *E. Guineensis*, las cuales son ampliamente utilizadas dentro en las industrias de extracción y refinación de aceites y grasas como materia prima para sus diversos productos y subproductos.

Dado que se conoce la realidad por la cual está pasando el cultivo de la palma africana *E. Guineensis*, el mismo que ha sido el cultivo convencional de los

agricultores de centro y sur América, ya que este se ha visto afectado por una enfermedad degenerativa conocida como pudrición del cogollo (PC) y la desaceleración de este cultivo en las zonas que anteriormente se producía a gran escala dentro del Ecuador y los países vecinos como Colombia y Brasil.

Dicha enfermedad ha motivado el desarrollo de Híbridos, no solamente los que están en estudio, sino otros que se están desarrollando con el fin de que presenten una mejor tasa de extracción de aceite y resistencia a la (PC), objetivos en común que permiten sacar a flote esta industria que es altamente rentable.

1.19 Hipótesis

Existirán diferencias en concentraciones y perfil de ácidos grasos en los híbridos de palma en estudio.

1.20 Objetivos

Objetivo General:

Cuantificar los ácidos grasos en la posición sn-2 en 5 variedades de palma híbrida (*E. Oleíferas x E. guineensis*).

Objetivos Específicos:

- Identificar el perfil de ácidos grasos presentes en la posición sn-2 en 5 variedades de palma híbrida (*E. Oleíferas x E. guineensis*).
- Determinar la concentración de los ácidos grasos en la posición sn-2 en 5 variedades de palma híbrida (*E. Oleíferas x E. guineensis*).

II METODOLOGÍA

2.1 Ubicación del Estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la Ciudad de Manta en la planta piloto de la sección de Investigación y desarrollo de la industria La Fabril S.A.

2.2 Tipo de Investigación:

La investigación fue de carácter cualitativa y cuantitativa la cual fue llevada a cabo a nivel de laboratorio enfocada en la identificación y cuantificación de los ácidos grasos presente en la cadena de los triglicéridos de los aceites de la palma híbrida, "*Taisha x Avros murgas*, *Taisha x Avros rgs*, *Taisha x Ekona*, *Taisha x Yangambi* y *Coari x Lamé*, las mismas que fueron obtenidas de la planta extractora piloto Energy & Palma, de la Fabril en San Lorenzo – Esmeraldas.

2.3 Materia Prima y Reactivos

En la siguiente lista se muestra la materia prima, reactivos, materiales y equipos que se utilizaron en la investigación.

Materia prima

- Aceite de palma híbrida cruda.
- TLC Silica gel 60g 254 F Glass plate

Reactivos

- Ácido clorhídrico 6N-Agua destilada
- Cloruro de calcio 2.2 %
- Hidróxido de sodio
- Metanol
- Ácido fosfomolibdico 5%
- Colato de sodio 0.1 %
- Buffer Tris-HCL 0.1M PH 7.54
- Lipasa "Lipozymes TL 100 L".

- Alcohol 70%
- Hexano grado HPLC
- Ácido Acético glacial
- Dietil Éter grado HPLC

Materiales Y Equipos

Materiales

- Mesa de acero inoxidable
- Micro pipeta Boeco de 1000 ml
- Micro pipeta Boeco de 100 ml
- Micro pipeta Boeco de 10 ml
- Probeta de 100 ml
- 10 Tubos de ensayo con tapa rosca de 10ml
- Puntas estériles de 1000µl
- Puntas estériles de 200 µl
- Puntas estériles de 10 µl
- 4 Balones aforado de 100 ml.
- Espátula
- Papel filtro

Equipos

- pH metro (Starter ST 320)
- Balanza digital (SHIMADZU, TXB6201L, Japón)
- Sorbona nederman
- Estufa esco isotherm
- Cámara cromatográfica de TLC de vidrio
- Vórtex mixer labnet
- Centrifuga (MAS CC001C06)
- Cromatógrafo de gases Perkin Elmer
- Baño maría con Agitación.(76 Water Batch shaker)

2.5 Análisis empleados para caracterización del aceite híbrido.

Perfil de ácidos grasos:

Los ácidos grasos son metilados para ser separados mediante un Cromatógrafo Gaseoso GC Autosystem de Perkin Elmer, complementado con una columna capilar de vidrio fundido cubierto de una película de material polimérico semilíquido, de 10-60 m de longitud y de 0.2-1.0 mm de diámetro; utilizando helio como gas transportador del analíto.

Se realizó la metodología planteada por ISO 5508:1990, cuantificándolos en forma de metilésteres.

2.6 Método AOCS Ch 3-91

De acuerdo al método oficial propuesto de la AOCS Ch 3-91, técnica para analizar los ácidos grasos en la posición sn-2 se emplearía de la siguiente manera:

- **Recepción de muestras**

Se utilizarán aceites del material híbrido *Taisha x Avros Murgas*, *Coari x Lamé*, *Taisha x Avros Rgs*, *Taisha x Ekona* y *Taisha x Yangambi*. Obtenidos de la extractora San Carlos de la empresa Energy & Palma, San Lorenzo – Esmeraldas.

- **Adición y activación de placas de cromatografía en capa fina (TLC)**

Previo al proceso de digestión e hidrólisis se deben activar las placas a 105°C por 2 horas en la estufa y se prepara la cubeta de vidrio con la fase móvil 1 hora antes del procedimiento y con ayuda del papel filtro para que se sature la atmósfera del medio.

- **Digestión**

Se pesará 50 mg de muestra de aceite en un tubo de ensayo de 10 ml, seguidamente se añaden 2 ml del buffer Tris HCL 0.1M pH 7.54, 0.5 ml de Colato

de sodio 0.1 % p/v, 0.2 ml de cloruro de calcio 2.2 % p/v, 10 µl de enzima lipasa “Lipozymes TL 100 L”.

- **Hidrólisis**

Se hace vórtex durante 30 segundos, se incuba a 40°C x 5 min y nuevamente se agita en vórtex durante 30 segundos. Se incuba a 40°C x 5 min y vórtex durante 30 segundos. Se agrega 0.5 ml de ácido clorhídrico 6N para detener la reacción de hidrolisis y 2ml de dietil éter para disolver la muestra.

- **Centrifugación y separación**

Se centrifuga a 4500 RPM x 10 min, se recoge el sobrenadante que está compuesto por el dietil éter y la muestra, se transporta a otro tubo de ensayo para secarlo con nitrógeno gaseoso hasta alcanzar aproximadamente 100 µl de sobrenadante. Este procedimiento se repite para el desarrollo de todas las muestras del híbrido.

- **Ubicación**

Luego que las placas y la cubeta estén listas previamente, se marca una línea base para depositar la muestra y tener una referencia de la distancia que va a recorrer nuestra muestra, esta línea base se trazaré de un borde de la placa hasta el otro lado, hasta alcanzar 1.5 cm de distancia con parte inferior de la placa. Se ingresa la placa a la cubeta y se espera 40 min hasta alcanzar recorrido necesario.

Se impregna ácido fosfomolibdico al 5% en la placa para poder visualizar el recorrido de la muestra y marcar la distancia que debe correr las futuras placas. Tomándose una placa como muestra patrón.

2.7 Análisis de hidrolisis y metilación de ácidos graso.

La metodología aplica fue de acuerdo con el método oficial propuesto por la AOCS Ch 3-91

2.8 Cromatografía de capa fina (TLC).

Para la separación de moléculas se utilizó la placa TLC de Silica gel 60g 254 F Glass plate en fase normal. Metodología propuesta por (Luddy et al, 1964).

2.9 Cromatografía de gases.

Para la identificación y cuantificación de los ácidos grasos se empleó el método planteado por: ISO 5508:1990 cuantificándolos en forma de metilésteres. Donde los ácidos grasos son metilados para ser separados mediante un Cromatógrafo Gaseoso GC Autosystem de Perkin Elmer, complementado con una columna capilar de vidrio fundido cubierto de una película de material polimérico semilíquido, de 10-60 m de longitud y de 0.2-1.0 mm de diámetro; utilizando helio como gas transportador del analito.

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados en Referencia a los Híbridos OxG

A continuación, se muestran las figuras que revelan las diferentes concentraciones de ácido palmítico, oleico, linoleico, Erucico y Estereárico presente comúnmente en todos los materiales de aceite de palma analizado. Las publicaciones referentes al posicionamiento de los ácidos grasos en los triglicéridos en aceites híbridos no están remarcadas en la literatura universal, debido a la reciente evolución de la palma aceitera en función a la proliferación de la pudrición del cogollo (PC).

En la aplicación industrial este perfil de ácidos grasos favorece a reducir los costos de refinación ya que el aceite híbrido crudo contiene una baja concentración de ácidos grasos libres (AGL), en otras industrias agroalimentarias dedicadas a la elaboración de barras nutritivas y alimentos para mascotas, esta materia prima representa una ventaja de innovación nutricional y económica en la formulación de los productos y subproductos que se comercializan dentro y fuera del país

- **Ácido Palmítico**

En el gráfico N° 1 se muestra la diferencia en cuanto a la concentración del ácido palmítico C16:0, en los diferentes materiales en estudio de palmas híbridas, siendo el material *Coarí x LaMé* el cual presentó el 17,3% de este ácido siendo el más alto en comparación del material *Taisha x Avros Murgas* que tuvo el 12,4%, existiendo una diferencia de 4,9%, con los resultados obtenidos se puede indicar que el híbrido *Coarí x Lamé*, *Taisha x Avros Murgas* y *Taisha x Ekona* tiene una mayor influencia del Gen paterno *E. guineensis* y el híbrido *Taisha x Avros Murgas* tiene dominancia del Gen Materno *E. Oleíferas*.

Gonzales *et.al* (2012), realizaron el estudio de la concentración del ácido palmítico en posición sn-2 en 6 sustitutos de leche materna de diferentes marcas comerciales en Argentina, teniendo como resultados que las formulas

desarrolladas con base láctea tienen mayor concentración de ácido palmítico en un 48,5%, en la tabla N°3 descrita por Mozzon, *et al* (2013) se muestra la concentración del ácido palmítico en 42.1 %, habiendo una diferencia 6,4 % con los sustitutos realizados en base láctea. esto en comparación con las que se le ha adicionado aceites vegetales hidrolizados que tienen un promedio de 14,7% de este ácido, en este resultado se puede evidenciar que los sustitutos que se le adicionaron aceites vegetales se encuentran relativamente parecidas a este estudio, como se muestra en el gráfico n°1 la concentración promedio del ácido palmítico se encuentra en 15,81% existiendo una pequeña diferencia de 1.1 %.

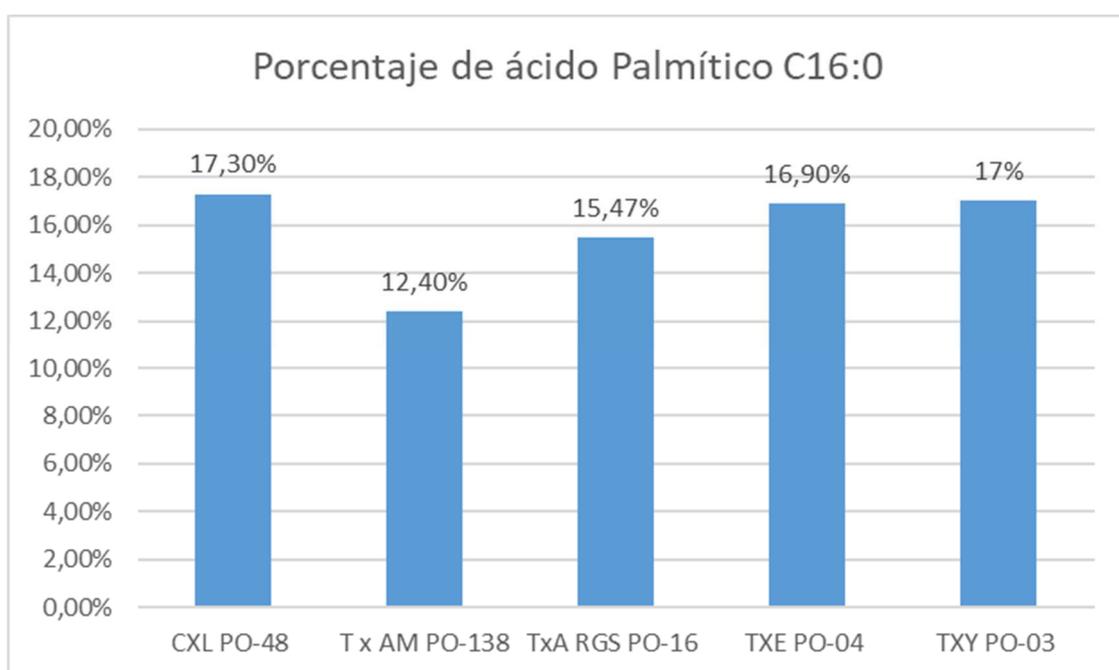


Gráfico N°1: Concentración del ácido palmítico en las 5 variedades de híbridos OxG

Fuente: Parraga S. (2019)

- **Ácido oleico C18:1**

Como se muestra en el gráfico N°2, el material *Coarí x LaMé* tiene 56,3% de ácido oleico siendo este el de mayor concentración en comparación al *Taisha x Avros murgas* que tiene 48,9% de ácido oleico, existiendo una diferencia de 7,4%. en las variedades de *Taisha x Yangambi* y *Taisha x Ekona* se encuentran relativamente parecidas, siendo el A. oleico el más dominante en el perfil de ácidos grasos de las 5 variedades, en un estudio realizado por Peláez *et al.* (2010) hacen comparaciones con las oleíferas y guineensis, la palma tipo Coarí

de la familia de *E. Oleíferas* tiene una tasa fotosintética más alta, indicando una mayor capacidad de fijación de CO₂ que la *E. guineensis* siendo este uno de los factores que permiten una mayor concentración de ácido oleico en los materiales híbridos, Mozzon, *et al* (2013) indica en la tabla N°3 que el ácido oleico en posición sn-2 en el material híbrido tiene una concentración de 65,5 % y 56,7% en *E.guineensis*, en el presente estudio como se muestra en el gráfico N°2 se reporta 56,3% en el híbrido *Coarí x LaMé* como el indicador de mayor concentración, cabe mencionar que no se describe la variedad del híbrido caracterizado por el mencionado autor, por tal motivo no se podría comparar con los 5 híbridos estudiados, en cuanto a los parentales de esta investigación se reporta en *E. Oleíferas* 52,76 % y en *E. Guineensis* 56,14% (véase tablas 4 y 5).

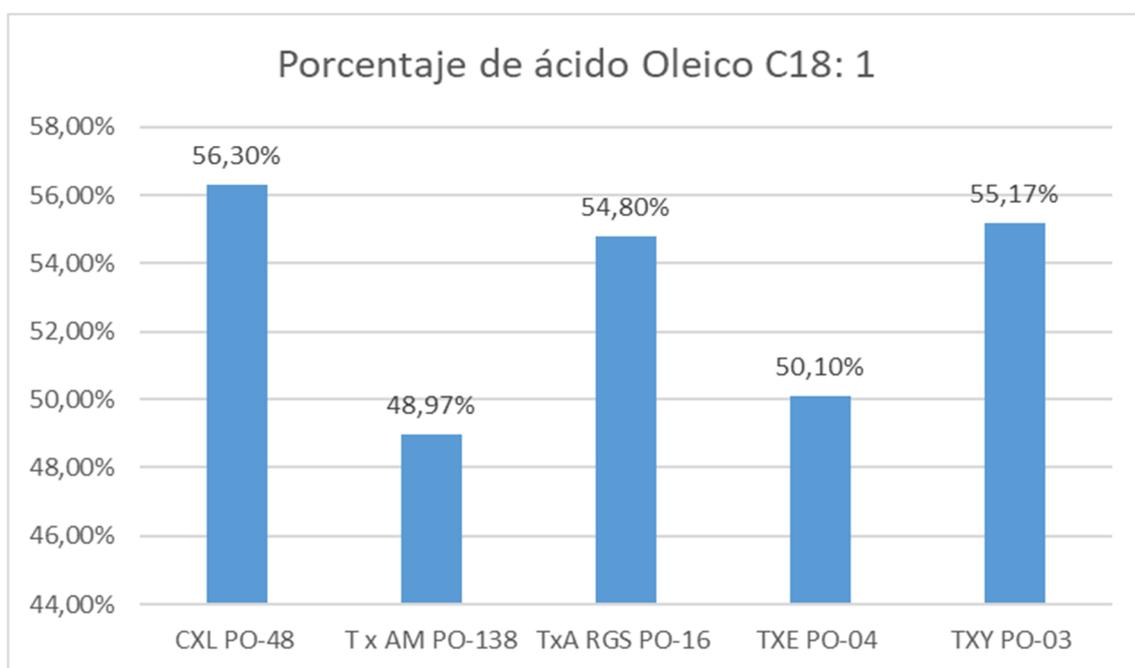


Gráfico N°2. Concentración del ácido Oleico en las 5 variedades de híbrido OxG

Fuente: Parraga.S (2019)

- **Ácido linoleico C18:2**

En el gráfico N°3, se muestra el material *Taisha x Ekona* con una concentración de 19,1 % en comparación al *Coarí x LaMé* que tiene 13,9 % siendo este el de menor concentración, existiendo una diferencia de 5,2 % y con los datos conseguidos se puede mostrar que los híbridos *Taisha x Ekona*, *Taisha x Avros Murgas* y *Taisha x Yangambi* y *Taisha x Avros rgs* tiene una mayor presencia del Gen Materno *E. Oleíferas* y el híbrido *Coarí x LaMé* tiene dominancia del Gen paterno *E. guineensis* tal como se muestra en las tablas (4 y 5). Mozzon, et al (2013) reporta en la tabla N°3 que el ácido linoleico en posición sn-2 se encuentra en una concentración de 19,5 % en el híbrido, lo cual indica la semejanza que tiene con la variedad *Taisha x Ekona* que contiene 19,1%.

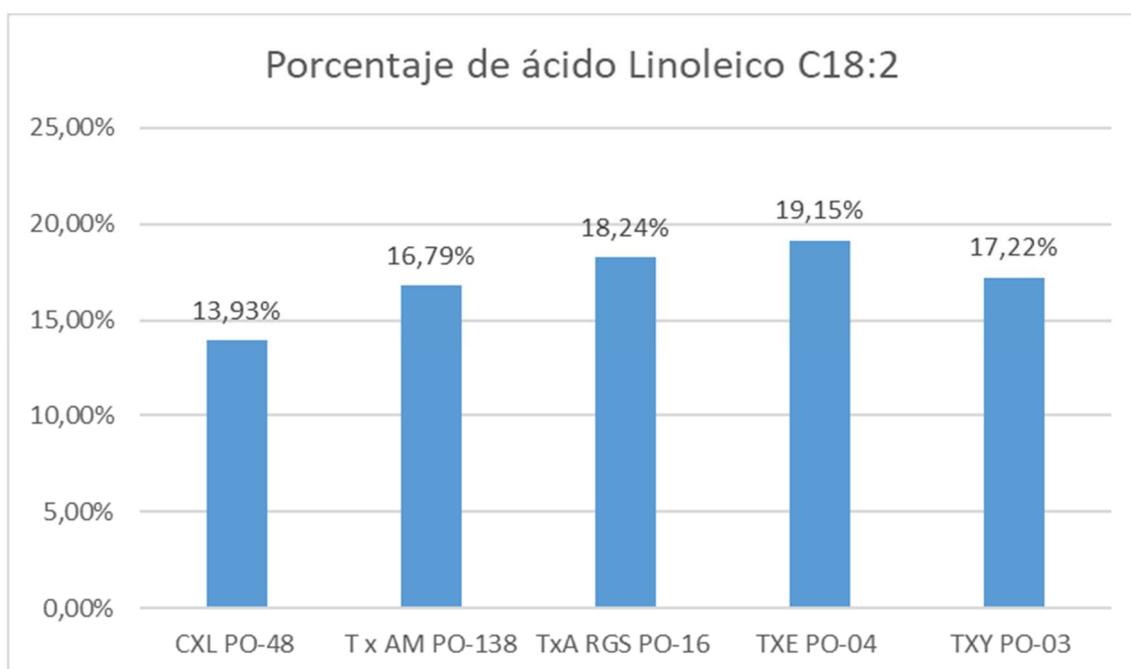


Gráfico N°3. Concentración del ácido linoleico en las 5 variedades de híbrido OxG
Fuente: Parraga.S (2019)

- **Ácido Erucico C22:1**

Se identificó la presencia del Ácido Erucico C22:1 como se muestra en el gráfico N°4, el cual que no es común en el perfil de ácidos grasos de los parentales que se tomaron para realizar el cruzamiento (véase tabla N°4 y 5). En el estudio realizado por Mozzon, et al (2013) no se reporta la presencia de este ácido en el perfil de ácidos grasos en el híbrido caracterizado.

El ácido erucico se encuentra en pequeñas cantidades en aceites de semillas como la mostaza (*Sinapis alba*) y colza (*Brassica napus*) en concentraciones alrededor de 2%. Encontrándose en porcentajes mayores en el material *Taisha x Avros Murgas* que tiene 7,05 % siendo este el de mayor concentración que en los híbridos *Taisha x Avros rgs* que tiene 1,93 %, existiendo una diferencia de 5,12 % y entendiéndose que se desconoce la presencia de dicho ácido en el perfil en estudio.

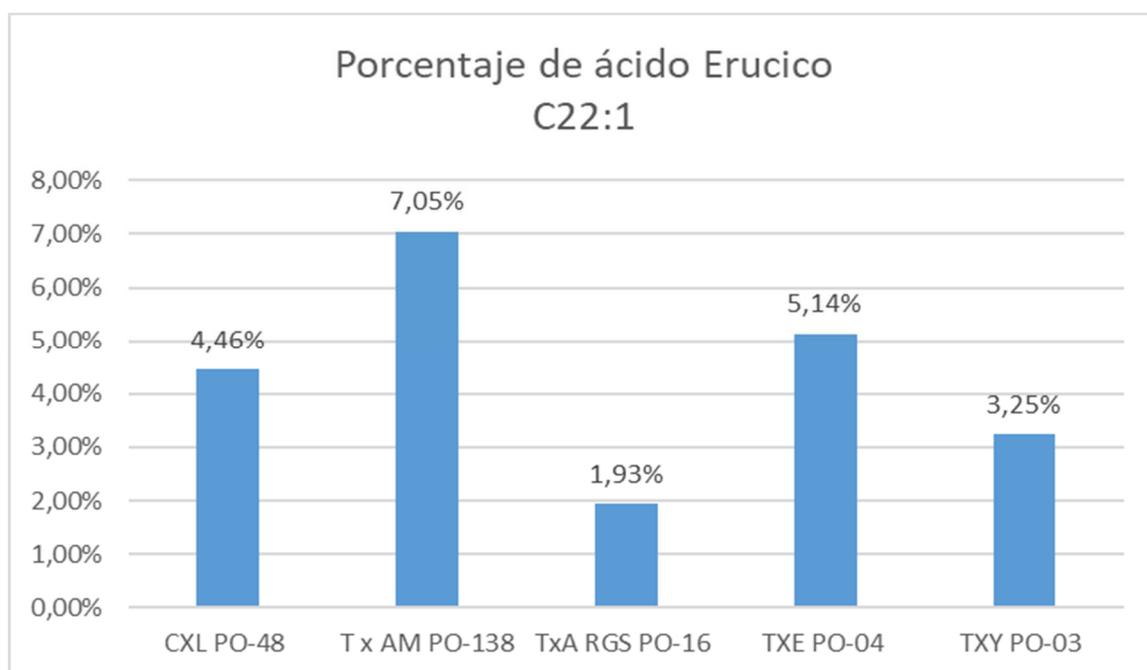


Gráfico N°4. Concentración del ácido Erucico en las 5 variedades de híbrido OxG
Fuente: Parraga S (2019)

- **Ácido esteárico C18:0**

En el presente material *Taisha x Ekona*, se muestra una concentración de 8,7% mientras que en el material *Taisha x Avros rgs* presento un 3,83%, mientras que en las variedades de *Taisha x Yangambi* y *Coarí x Lamé* se encuentran relativamente parecidas entre sí, ya que el A. esteárico en común en la familia de la *E. guineensis* tal como muestra por Mozzon, *et al* (2013) el ácido graso en posición s-2 en la tabla N°3 que reporta 2,7% y en este estudio en la tabla N°5 se reporta 4,43%, se podría indicar que este cruzamiento produjo un incremento

de este ácido en el híbrido *Taisha x Ekona* y una mayor dominancia del Gen Paterno.

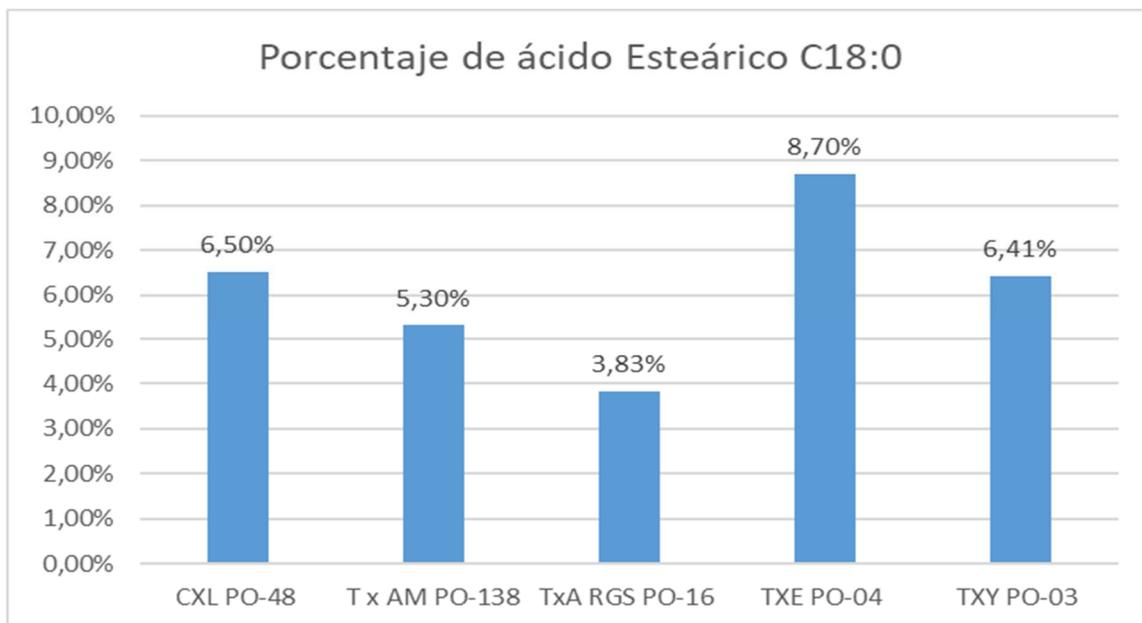


Gráfico N°5. Concentración del ácido esteárico en las 5 variedades de híbrido OxG
Fuente: Parraga S (2019)

Así como también se pudo apreciar la inexistencia de varios ácidos grasos en todos los materiales que se utilizaron, como es el caso del ácido laurico C12 y ácido mirístico C14 entre otros (véase tabla 2), que si están presente en los parentales.

Mondragón, *et al* (2015), indica que un reciente estudio realizado por Mozzon, *et al* (2013) quien caracterizó detalladamente la composición y estructura de los ácidos grasos presentes en el aceite crudo de palma, obteniendo del material híbrido interespecífico cultivado en Colombia. Dichos resultados y su comparación con los valores obtenidos a partir del aceite proveniente de la palma de aceite los cuales se presentan en las tablas N°2 y 3.

Tabla N°2. Perfil de ácidos grasos híbridos OxG vs *E. guineensis*

ACIDOS GRASOS	Palma africana <i>E. guineensis</i>	híbrido OxG
C12:0 Laurico	0.7 ± 0.1	1.3 ± 0.7
C14:0 Mirístico	1.0 ± 0.1	0.8 ± 0.2
C16:0 Palmítico	40.1 ± 0.1	28.3 ± 0.1
C18:0 Esteárico	5.0 ± 0.1	2.8 ± 0.3
C18:1 Oleico	41.1 ± 0.3	54.6 ± 1.0
C18:2 Linoleico	10.6 ± 0.1	11.0 ± 0.5
Total Ac. Grasos Saturados	47.3 ± 0.1	33.5 ± 0.5
Total Ac. Grasos Mono insaturados	41.6 ± 0.2	55.1 ± 1.1
Total Ac. Grasos Poli insaturados	10.9 ± 0.1	11.4 ± 0.5

.Fuente: Mozzon et.al (2013)

Tabla N° 3 Perfil de ácidos grasos en posición sn-2 en *Elaeis guineensis* e Híbrido

ÁCIDOS GRASOS	<i>E. GUINEENSIS</i>	HIBRIDOS
C12:0 ácido laurico	1.4 ± 0.1	3.1 ± 2.0
C14:0 ácido mirístico	1.0 ± 0.2	1.1 ± 0.5
C16:0 ácido palmítico	42.1 ± 0.2	10.0 ± 1.2
C18:0 ácido esteárico	2.7 ± 0.4	0.5 ± 0.3
C18:1 ácido oleico	56.7 ± 1.6	65.5 ± 0.7
C18:2 ácido linoléico	10.2 ± 0.2	19.5 ± 0.4
total de ac. Grasos Saturados	47.2	14,7
total de ac. Grasos mono Insaturados	56.7	65.5
total de ac. Grasos poli insaturados	10.2	19.5

Fuente: mozzon et al (2013)

Resultados en Referencia a los Parentales del Cruzamiento

- **Parental *Elaeis Oleíferas***

Como se muestra en la tabla N°4. los resultados obtenidos del parental *E. Oleíferas* tiene una alta concentración del ácido oleico en comparación del estándar de monoglicérido el cual se encuentra naturalmente en la posición sn-2 en este material, el cual es un aporte nutritivo y saludable al ser humano debido a que previene enfermedades cardiovasculares.

Se pudo identificar por el proceso de metilación e hidrólisis que el ácido palmítico tuvo una reducción de concentración del 25,19 % al 8,45 % dando una diferencia de 16,74 % presentándose en mayor porcentaje en el material *E. guineensis*. Como se puede observar en el grafico N°2 anteriormente mostrado, siendo el material *Coarí x LaMé* el que presenta la mayor concentración 56,3% en comparación al *Taisha x Avros murgas* que tiene 48,9%, existiendo una diferencia de 7,4%.

Tabla N°4. Resultados del perfil de ácidos grasos en material *Elaeis Oleíferas* con metilación y metilación e hidrólisis.

ACIDOS GRASOS	oleifera	oleifera sn-2	estándar
C12:0 Laurico			
C14:0 Mirístico	0,17		
C16:0 Palmítico	25,19	8,45	16,03
C16:1 Palmitoleico	1,99	1,97	
C17:1 + Isómeros			
C18:0 Esteárico	1,39	2,76	12,05
C18: 1 Oleico	51,14	52,76	27,98
Cis C18:1 Isómeros		2,15	33,33
C18:2 Linoleico	19,2	31,91	2,28
C18: 3 Linolenico	0,92		
C20:0 Araquídico			
C20:1 Eicosanoico			
C22:1 Erucico			8,33
Total	100	100	100
Total Ac. Grasos Saturados	26,75	11,21	28,08
Total Ac. Grasos Mono insaturados	53,13	56,88	69,64
Total Ac. Grasos Poli insaturados	20,12	31,91	2,28

Fuente: Párraga S. (2019)

- **Parental *Elaeis Guineensis***

El perfil de ácidos grasos que se muestra en la tabla N°5 del material *E. Guineensis*, se identifica al ácido palmítico como el más representativo de los ácidos grasos saturados (AGS) conteniendo un total de 47,59%, en ácidos grasos insaturados (AGI) se encuentra al ácido oleico con mayor concentración conteniendo un total de 41,23% y los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) representan un 11,18%

Ya que se entiende que en el proceso de hidrólisis con la aplicación de la lipasa se produjo la separación de los ácidos grasos en la posición 1 y 3 en el triglicérido, por ejemplo, el ácido mirístico que tiene presencia en los 2 parentales el mismo se encuentra en bajas concentraciones en ambos casos, luego del procedimiento de metilación e hidrólisis no se muestra concentración alguna en los híbridos ni en los parentales (véase tablas 4 y 5). No se ha identificado si es que el ácido mirístico desaparece del perfil de ácidos grasos a causa del hidrólisis o por el cruzamiento de los parentales.

En cuanto al ácido palmítico del proceso de sn-2 está muy cercana a la concentración del estándar de monoglicérido, pero a diferencia del dato de este ácido sin el proceso de hidrólisis y metilación está muy alejada ya que el mismo tiene mayor presencia en el material *E. guineensis*.

Sandra, et al (2009) fomentaron un estudio de caracterización físico-química en las principales plantas extractoras de aceite en Colombia, dando como resultados las similitudes en los perfiles de ácidos grasos del material *E. guineensis* colombiano con el material *E. guineensis* que se utilizó para los cruzamientos.

Tabla N°5. Resultados del perfil de ácidos grasos en material *Elaeis guineensis* con metilación y metilación e hidrólisis

ACIDOS GRASOS	guinennsis	guinennsis sn-2	estándar
C12:0 Laurico			
C14:0 Mirístico	0,79		
C16:0 Palmítico	41,75	17,36	16,03
C16:1 Palmitoleico	0,15		
C17:1 + Isómeros			
C18:0 Esteárico	5,05	4,43	12,05
C18: 1 Oleico	41,08	56,14	27,98
Cis C18:1Isomeros			33,33
C18:2 Linoleico	10,95	22,07	2,28
C18: 3 Linolenico	0,23		
C20:0 Araquídico			
C20:1 Eicosanoico			
C22:1 Erucico			8,33
Total	100	100	100
Total Ac. Grasos Saturados	47,59	21,79	28,08
Total Ac. Grasos Mono insaturados	41,23	56,14	69,64
Total Ac. Grasos Poli insaturados	11,18	22,07	2,28

Fuente: Parraga S (2019) .

Esta información es confirmada por Mozzon, *et al* (2013), que al realizar un estudio del perfil de ácidos grasos en híbrido OxG y *E. guineensis* se obtuvieron resultados similares que a los de este estudio, el mismo que se muestra en la tabla 2. En dicha investigación se reportaron los siguientes datos, ácido palmítico C16:0, Esteárico, oleico, linoleico los cuales tuvieron una concentración de 40.1%, 5.0%, 41.1%, 10.6%.

Tabla N° 6. Resultados del perfil de ácidos grasos en las 5 variedades en estudio OxG (*E. Oleíferas x E. guineensis*)

ACIDOS GRASOS	CXL PO-48 M1	CXL PO-48 M2	CXL PO-48 M3	CXL PO-48	T x AM PO-138 M1	T x AM PO-138 M2	T x AM PO-138 M3	T x AM PO-138	TxA RGS PO-16 M1	TxA RGS PO-16 M2	TxA RGS PO-16 M3	TxA RGS PO-16	TXE PO-04 M1	TXE PO-04 M2	TXE PO-04 M3	TXE PO-04	TXY PO-03 M1	TXY PO-03 M2	TXY PO-03 M3	TXY PO-03
C12:0 Laurico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C14:0 Mirístico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C16:0 Palmítico	11,3	16,6	23,8	17,3	15,8	10,4	10,9	12,4	26,0	10,9	9,5	15,5	14,4	19,3	17,1	16,9	28,3	12,4	10,3	17,0
C16:1 Palmítoleico	0,0	0,0	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,8	0,0	0,4
C17:1 + Isómeros	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C18:0 Estearico	7,5	7,3	4,7	6,5	5,6	3,2	7,1	5,3	4,3	4,2	3,0	3,8	7,4	10,2	8,5	8,7	4,9	8,6	5,7	6,4
C18: 1 Oleico	59,7	56,2	53,9	56,6	49,2	65,2	57,9	57,4	49,6	61,3	66,2	59,0	52,6	47,5	50,2	50,1	48,5	55,5	61,0	55,0
Gs C18:1Isómeros	1,3	0,0	0,0	0,4	0,0	1,0	2,2	1,1	1,3	1,5	1,2	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,6
C18:2 Linoleico	14,1	13,7	14,0	13,9	14,8	15,7	19,9	16,8	17,2	19,1	18,5	18,2	19,9	18,1	19,5	19,1	15,8	17,2	18,6	17,2
C18:3 Linolenico	0,0	0,4	0,6	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,1
C20:0 Araquídico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C20:1 Eicosanoico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C22:1 Erucico	4,0	5,7	3,6	4,5	14,6	4,5	2,1	7,0	1,1	3,0	1,7	1,9	5,7	5,0	4,8	5,1	1,7	5,4	2,6	3,3
Total	98	100	101		100	100	100		100	100	100		100	100	100		100	100	100	
Otros	2,1	0,0	-1,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	
Total Ac. Grasos Saturados	18,8	24,0	28,5	23,8	21,4	13,6	18,0	17,7	30,3	15,1	12,5	19,3	21,9	29,5	25,6	25,6	33,2	21,1	16,0	23,4
Total Ac. Grasos Mono insaturados	65,1	61,9	57,9	61,6	63,8	70,7	62,1	65,5	51,9	65,8	69,0	62,3	58,3	52,5	54,9	55,2	50,6	61,7	65,5	59,3
Total Ac. Grasos Poli insaturados	14,1	14,1	14,6	14,2	14,8	15,7	19,9	16,8	17,8	19,1	18,5	18,5	19,9	18,1	19,5	19,1	16,2	17,2	18,6	17,3
IV CROMATOGRAFICO	78,3	76,9	74,4	76,5	78,3	86,1	85,3	83,2	74,4	87,6	89,7	83,9	83,4	75,4	80,0	79,6	70,9	81,2	86,2	79,4

Fuente: Parraga.S (2019)

IV CONCLUSIONES

- Como se menciona en el apartado 3.1, efectivamente se encontró diferencias en los perfiles de ácidos grasos de las 5 variedades de híbridos, lo cual indica el beneficio que produjo este cruzamiento, el mismo generó que el ácido oleico tuviera una alta concentración en la posición sn-2 en todas las variedades de estudio.
- El material *Coarí x LaMé* reúne las mejores características en cuanto a la tasa de extracción de aceite y perfil de ácidos grasos para la utilización en la industria de refinación de aceites y los subproductos similares, ya que por su concentración de ácidos grasos saturados favorece a la elaboración de jabones de tocador entre otros subproductos.
- Los materiales *Taisha* no se presentan favorables para una buena tasa de extracción de aceite debido a sus características morfológicas y genéticas, pero como se muestra en la tabla 5 estos materiales contienen una mayor concentración de ácidos grasos mono y poliinsaturados los cuales son motivo de estudios para hacer retro cruces y mejorar la extracción de aceite.
- Se comprobó que el A. Oleico es la más dominante entre todas las 5 variedades en estudio, ya que fenotípicamente se ha expresado el parental E. *Oleífera* en todos los materiales, las concentraciones de este supera aproximadamente el 54 % en referencia al ácido erucico que tiene 1,93% el cual es común y de baja concentración como se muestra respectivamente en los gráficos 2 y 4.
- Se demostró que en la variedad *Taisha x Ekona* no se muestra la presencia de varios ácidos grasos como es el caso del ácido Linolenico, palmitoleico entre otros, los mismos que se evidencian en la tabla 2.
- Se desconoce de la presencia del ácido Erucico en las variedades de estudio, entendiendo que no forma parte del perfil de ácidos grasos de los parentales, pero se podría especular que dicho cruzamiento permitió que se expresaran genes recesivos en ambas especies.

V RECOMENDACIONES

- El caso del ácido erucico permite que se desarrolle un futuro estudio que de paso a conocer de manera precisa y objetiva el porqué de la expresión genética del mismo en los híbridos interespecíficos, ya que este ácido es común en aceites de semillas como la colza (*Brassica napus*) y mostaza (*Sinapis alba*) en pequeñas cantidades.
- Se recomienda realizar el estudio de la ruta bio-sintética para entender y conocer la expresión fenotípica que tiene al ácido Oleico en las 5 variedades de híbridos, el mismo que se encuentra de manera mayoritaria en los perfiles de ácidos grasos.
- Como se menciona en textos anteriores, el cual justifica un nuevo estudio, ya que se están desarrollando investigaciones sobre el mejoramiento genético en híbridos, pero a diferencia del presente estudio se lo está trabajando haciendo cruzamientos de (*E. guineensis* x *E. Oleíferas*) GxO.
- Previo al proceso de digestión e hidrólisis se deben activar las placas a 105°C por 2 horas en la estufa y se prepara la cubeta de vidrio con la fase móvil 1 hora antes del procedimiento y con ayuda del papel filtro de aproximadamente 15 x 15 cm se lo introduce en la cubeta de vidrio para que se sature la atmósfera del medio.
- Se recomienda que cubra la cubeta de vidrio cuando las placas estén sometidas a la fase móvil ya que esto previene la evaporación de los solventes utilizados para la cromatografía de capa fina.

BIBLIOGRAFÍA

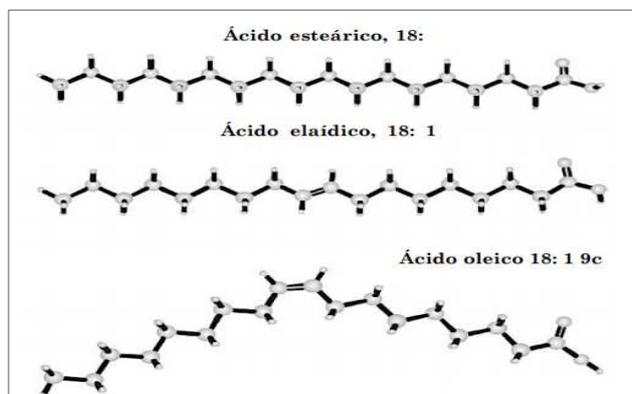
1. Aceves. A, et al. 2012. Producción biotecnológica de lipasas microbianas, una alternativa sostenible para la utilización de residuos agroindustriales. *Vitae*, 19 (3), 1-5
2. AOAC, 1984. Official methods of analysis of official analytical chemists international. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
3. Barba J, et al. 2012. Híbridos OxG obtenidos a partir de oleíferas taishapalmar del rio (PDR) – Ecuador variedad – PDR (taisha x AVROS). Revista Palmas, pp.1–13. Available at: publicaciones.fedepalma.org.
4. Barcelos E, et al. 2015. Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. *Frontiers in Plant Science*, 6(March), p.190. Available at:http://www.frontiersin.org/Plant_Genetics_and_Genomics/10.3389/fpls.2015.00190/abstract.
5. Badui B, 2006. Química de Alimentos. México: Pearson Educación.
6. Barba J, 2011. Oleíferas ecuatorianas alternativa de manejo agronomico para compensar las pérdidas ocasionadas por la pudrición del cogollo en america latina. *Palmar del Rio*.
7. Belitz H, et al. 2009. *Food Chemistry* (Vol. 4). Berlín: Springer- Verlag Berlin Heidelberg.
8. Bailey A, 2005. *Aceites y grasas industriales* (6 edición ed.). Buenos Aires: Reverte.Argetina S.C.A.
9. Braithwaite A, 1985. Métodos cromatográficos, 4ª ed., ED. Chapman & Hall, Londres, Páginas 216- 217, 271-272.
10. Corley R, et al. 2003. The Oil Palm fourth edi.
11. Cabezas C, et al. 2016. Aceites y grasas: efectos en la salud y regulación mundial, Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá - Facultad de Medicina - Departamento de Nutrición Humana - Bogotá, D.C. - Colombia.
12. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación), 2012. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Ginebra, España.
13. Flickinger, et al. 2003. «Nutritional characteristics of DAG oil». *Lipids* 38 (2): 129-132.

14. Gomes R, et al. 2010. Manejo fitosanitario da cultura da palma de óleo. Amarelecimento fatal do dendzeiro. Bases técnicas para a cultura da palma de óleo integrado na unidade produtiva da agricultura familiar. Embrapa. Amazônia Oriental.
15. Goswani D, et al 2012. Effects of Process Variables and Additives on Mustard Oil Hydrolysis by Porcine Pancreas Lipase. Brazilian Journal of Chemical Engin , 29 (3),449-460.
16. Gutiérrez J, 2000. Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos. Madrid, España: Díaz de Santos S.A.
17. Horacio F, et al 2012. Perfil de triacilgliceroles y porcentaje de ácido palmítico en la posición sn-2 en sustitutos de leche materna.
18. IUPAC, standard methods for analysis of oils, fats and derivatives, Blackwell scientific publications, 7th edn. (1987); IUPAC method 2.210.
19. Barba R, 2011. Oleíferas ecuatorianas alternativa de manejo agronómico para compensar las pérdidas ocasionadas por la pudrición del cogollo en américa latina.
20. Kubow S, 1996. The influence of positional distribution of fatty acids in native, interesterified and structure-specific lipids on lipoprotein metabolism and atherogenesis. Nutritional Biochemistry, 7, 530-541.
21. Luddy F, et al. 1964. Pancreatic lipase hydrolysis of triglycerides by a semimicro technique. J Am Oil Chem Soc. 41:693–696
22. Mondragón A, et al. 2015. Aceite de palma alto oleico: propiedades físicas y beneficios para la salud humana. Palmas, 36(4),57-66.
23. Mozzon, M et al. 2013. Crude palm oil from interspecific hybrid *Elaeis Oleífera*. Food Chemistry, 141(1) 245-252.
24. Norma Mexicana NMX-F-017-SCFI. (2011). Alimentos Aceites y Grasas: Determinación de la Composición de Ácidos Grasos por Cromatografía de Gases. México D.F.
25. Oshima A, et al. 2002. Determination of fatty acid composition at sn-2 Acyl position in triacylglycerol by capillary gas chromatography with lipase from *Rhizopus delemar*. J. OLEO SCI., Vol. 51, No 9,559-605 (2002)
26. Pixhook, 2010. *Químicaebta.blogspot.com*. Recuperado el 5 de Agosto de 2014, de Reaccion-de-esterificacion-formacion-de.html: <http://quimicaebta.blogspot.com/2010/09/reaccion-de-esterificacion-formacion-de.html>
27. Peláez E, 2010. Fisiología comparada de palmas africana (*Elaeis guineensis* Jacq.), americana (*Elaeis oleífera* hbk Cortes) e híbridos (E.

- oleífera x *E. guineensis*) en Hacienda La Cabaña. Palmas, 31(2), pp.29–38. Revista, La palma de aceite, una agroindustria eficiente, sostenible y mundialmente competitiva.
28. Quirós S. et al. 2017. método analítico aplicado a la identificación de productos de la real farmacopea española, universidad complutense, España.
29. Raspe D, et al. 2013. Effect of Additives and Process Variables on Enzymatic Hydrolysis of Macauba Kernel Oil (*Acrocomia aculeata*). (D. L. Feke, Ed.) International Journal of Chemical Engineering , 2013, 1-8.
30. Román M, 2005. Hidrólisis enzimática de triglicéridos en emulsiones O/W. Aplicación a formulaciones de detergentes. Granada: Departamento de ingeniería Química.
31. Sandra G, 2009 Análisis de las propiedades del aceite de palma en el desarrollo de su industria
32. Skoog D, 2001. Principios de Análisis Instrumental. Madrid: Mc Graw Hill.
33. Salimon J, et al. 2011. Hydrolysis optimization and characterization study of preparing fatty acids from *Jatropha curcas* seed oil. Chemistry Central Journal , V (67), 2-9.
34. Sáyago, et al. 2008. Utilidad y controversias del consumo de ácidos grasos de cadena media. Nutrición Hospitalaria , 191-202.
35. Sonntag V, 1982. «Glycerolysis of fats and methyl esters — Status, review and critique». Journal of the American Oil Chemists Society 59 (10): 795A-802A.
36. Utrera G, 2009. Obtención de glicéridos a partir de ácidos grasos mediante catálisis enzimática. Universidad Rey Juan Carlos. Móstoles: Universidad Rey Juan Carlos.
37. Vilarrasa, et.al. 2011. Efectos del uso de aceites ácidos esterificados con diferente contenido en monoglicéridos en la ración del pollo de carne

ANEXOS

Anexo N°1. Modelos de ácidos grasos



Fuente: Bailey, 2009

Anexo N°2 Pesado de muestra a procesar y Adición de reactivos para hidrólisis



Anexo N°3 Adición de muestra hidrolizada en placa TLC y Aplicación de placas TLC en cubeta de vidrio con reactivos de fase móvil



Anexo N°4

Recorrido de la muestra en placas TLC y Secado placas de TLC en estufa para eliminar exceso de solvente



Anexo N°5

Resultado de placas con muestras separadas por cromatografía de capa fina

