

Estudios preliminares de la caracterización química de ácidos grasos del aceite de frutos de *Bertholletia excelsa* por cromatografía de gases

Preliminary studies about the chemical characterization of fatty acids from *Bertholletia excelsa* fruit's oil by gas chromatography

Ivan Limachi Valdez¹, Oscar Farfan², Olov Sterner³, Alberto Giménez Turba¹

¹Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia.

²Empresa Tahuamanu, Cobija. Pando, Bolivia.

³Kemicentrum, Lund University. SE-221 00. Sweden.

Dirección para correspondencia: Ivan Limachi Valdez. Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Mayor de San Andrés. Av. Saavedra N° 2224, 2° Piso, Miraflores. La Paz, Bolivia.

E mail: Ivanozz_@hotmail.com

Recibido para publicación en 6/07/09

Aceptado en 15/10/09

RESUMEN

Bertholletia excelsa, es un árbol originario de la selva húmeda tropical de la amazonía sudamericana. Sus frutos conocidos como castaña constituyen uno de los productos forestales no maderables (PFNM) más importantes del norte de Bolivia. Por lo que es necesario conocer la composición química del aceite de castaña producida en regiones tropicales de Bolivia y contar con referencias de calidad para mercados internacionales.

Para la caracterización química del aceite de castaña, inicialmente se realizó un análisis por resonancia magnética nuclear (RMN) confirmando la presencia de triglicéridos y posteriormente se llevó adelante una trans-esterificación básica del aceite, obteniendo los ésteres metilados de los ácidos grasos (FAME) que conforman los triglicéridos, los ésteres fueron posteriormente analizados por cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-MS).

El análisis por GC-MS de los FAME, obtenidos por trans-esterificación del aceite de castaña, nos ha reportado una composición de: ácido linoleico

51,1%, ácido oleico 32,7%, ácido palmítico 9,4% y ácido esteárico 6,8%, representando un 83,8% de ácidos grasos insaturados.

Palabras Clave: Aceite de nuez de Brasil, *Bertholletia excelsa*, Trans-esterificación, CG-MS, RMN, ácido linoléico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido esteárico.

ABSTRACT

Bertholletia excelsa, is a tree original from the South American Amazon humid forest. The fruits of this tree known as Brazilian Chesnutt represent one of the most important non wood products in the northern part of Bolivia. Therefore it is necessary to get to know the composition of the oil contained in the fruits found in the tropical regions in Bolivia in order to have quality standards for international markets.

For the chemical characterization of the Brazilian Chesnutt oil we did carry out a nuclear magnetic resonance (NMR) analysis and subsequently we did performed a trans-esterification under basic conditions to obtain the methyl esters of the fatty acids (FAME) that conform the triglycerides, the

methyl esters were subsequently analyzed by means of gas chromatography mass spectrometry (GC-MS).

The GC-MS analysis of the obtained FAME after the trans-esterification of the Brazilian Chesnutt oil did show a composition of: linoleic acid 51,1% oleic acid 32,7%, palmitic acid 9,4% and stearic acid 6,8%. All together these represent a total of 83,8% of unsaturated fatty acids.

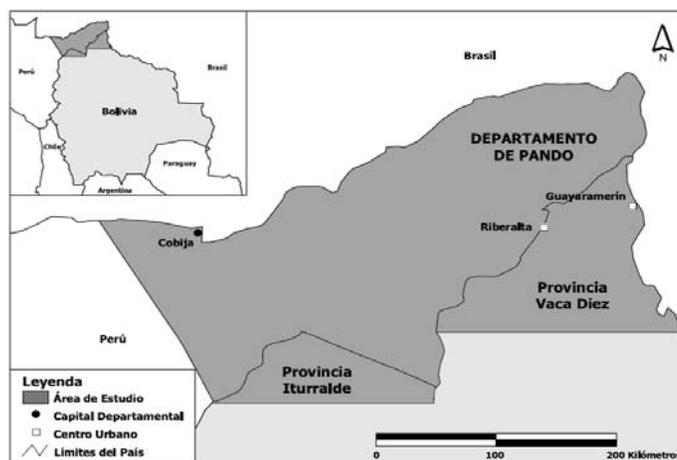
Key Words: Brazilian Chesnutt oil, *Bertholletia excelsa*, Trans-esterification, CG-MS, NMR, linoleic acid, oleic acid, palmitic acid and stearic acid.

INTRODUCCIÓN

La castaña *Bertholletia excelsa*, es originaria de la selva húmeda tropical de la amazonía que abarca los países de Venezuela, Colombia, Bolivia, Perú, Guayana y Brasil¹. En la región norte de Bolivia constituye uno de los productos forestales no maderables (PFNM) más importantes², como se puede observar en la Figura 1.

Bertholletia excelsa es conocida con el nombre común de Nuez de Brasil, es producida en la región amazónica y tiene un gran mercado en Europa y Norte America³. El árbol de la castaña pertenece a la familia de las *Lecitidáceas*, alcanza hasta 40 m de altura, el fruto del árbol está formado por una cáscara de unos 16 cm de diámetro, el que al madurar libera de 20 a 24 semillas en forma arriñonada de 3 a 4 cm con una capa leñosa que encierra a una almendra⁴.

Es un fruto conocido por su contenido en proteínas (15-17% en peso en fresco y alrededor del 50% en peso de su harina desgrasada), los frutos secos son también una buena fuente de aceite (63-70%)³. La castaña se comercializa pelada o con su cáscara (secas), en los mercados locales se consumen frescas. Las almendras contienen aproximadamente 56-66% de grasa, 15% de proteínas y 9% de hidratos de carbono. Las almendras que no cumplen con los requisitos de calidad para su exportación, son materia prima para la obtención del aceite de almendras, la cual se transforma en jabón y la cáscara se utiliza, como leña, para calentar los hornos de secado¹.



Fuente: ESRI Data and Maps 2002.

Figura 1. Región productora de castaña boliviana

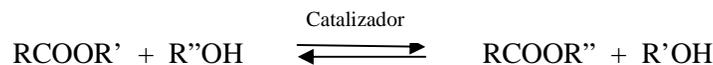
El aceite de castaña colectada en zonas del Brasil, se encuentra en concentraciones que varían de 65,5 a 69,3% y contiene concentraciones apreciables de los ácidos palmítico (12-15%),

esteárico (8,7 – 10,4%), oleico (27,2 - 40%) y linoleico (34 – 49%)^{5,6}.

Estudios han precisado que los isómeros posicionales del ácido linoleico *cis*-9, *trans*-11 están relacionados con actividad

anticarcinogénica⁷. Otros estudios realizados en animales, han demostrado que la adición de ácido linoleico en la dieta, ocasiona modificaciones corporales y disminución de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), colesterol total (CL) y triglicéridos (TG)⁸.

La trans-esterificación es en general un término que describe a un grupo importante de reacciones orgánicas en la que un éster es transformado en otro por medio del intercambio de un grupo alcoxi⁹ (Esquema 1).



Esquema 1. Reacción general de la trans-esterificación

En la trans-esterificación de aceites vegetales, un triglicérido reacciona con un alcohol en presencia de un ácido o base fuerte, produciendo una mezcla de alquil ésteres de ácidos grasos y glicerol³. El proceso general es una secuencia de tres reacciones consecutivas y reversibles, en la que di y mono glicéridos se forman como intermediarios. La reacción requiere 1 mol de triglicéridos y 3 moles del alcohol. Sin embargo, un exceso de alcohol se utiliza para aumentar los rendimientos de los ésteres alquílicos y permitir su separación del glicerol formado⁹. Varios factores, como el tipo de catalizador (alcalinos o ácidos), la proporción molar alcohol, tipo de aceite vegetal, la temperatura, pureza de los reactivos (principalmente el contenido de agua)⁵ son importantes para la optimización de resultados.

La determinación de la composición exacta de estos compuestos puede ser de una inestimable ayuda para su discriminación en la falsificación y aplicaciones en cosméticos y alimentos³.

MATERIAL Y MÉTODOS

El aceite de castaña fue obtenido por extrucción directa de los frutos y donado al IIFB por la empresa Tahuamanu, para su análisis. Los solventes utilizados en la trans-esterificación fueron sometidos a doble destilación y secado sobre sales inorgánicas, para minimizar el contenido de agua de los mismos. Ambos, los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN), (Bruker a 400MHz) y los cromatogramas de cromatografía de gases acoplado a espectroscopía de masas (CG-MS) fueron obtenidos en el laboratorio de química orgánica de la universidad de Lund, Suecia.

Obtención de los metil ésteres del aceite de castaña (FAME). Se realizó la trans-esterificación por un método modificado de T.Chunhieng³ donde a la muestra de aceite (100 mg) disuelta en hexano (1 mL), se agregó la solución A [0,6 mL, NaOH (1g) en MeOH (13 mL)], se calentó por 30 min en baño maría, se enfrió y se añadió la solución B [1,6mL, HCl conc. (1mL) en MeOH (11 mL)], después de agitar, se separó la fase superior y se concentró en rotaevaporador y al vacío. La muestra es una pasta blanca sólida a temperatura ambiente y líquida al calor de la mano.

Análisis de los metil ésteres de ácidos grasos (FAME) por cromatografía de gases.

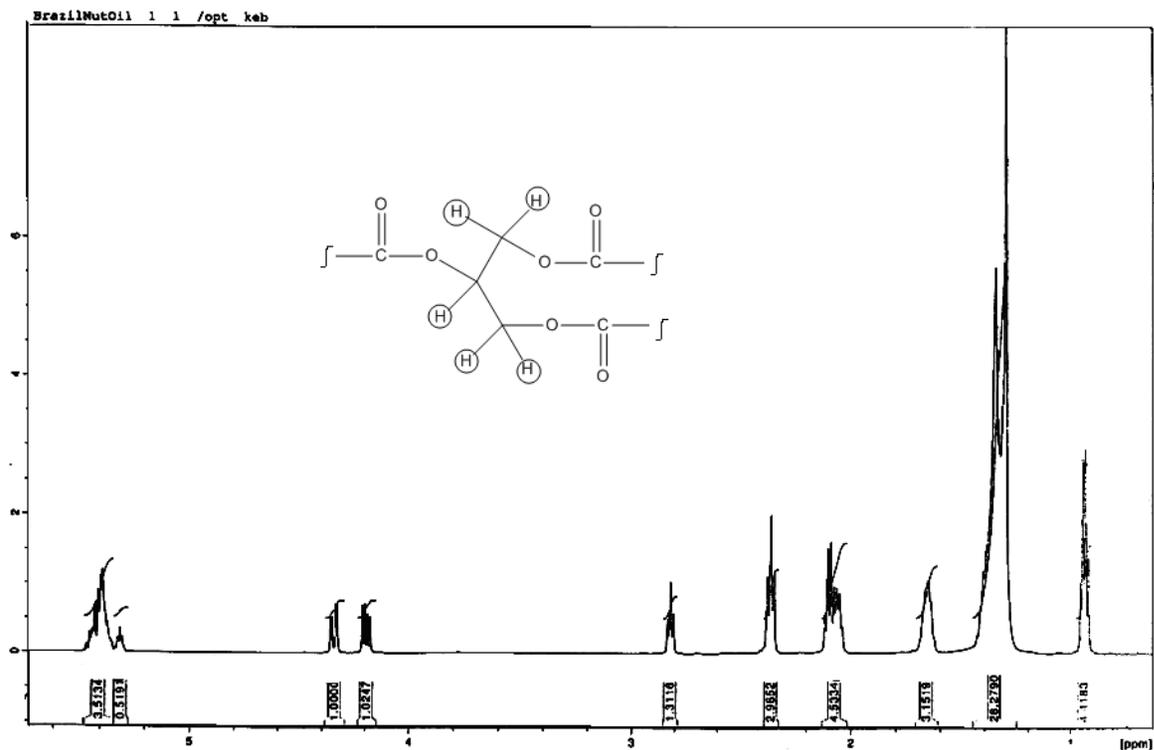
El análisis de los FAME's por GC-MS se realizó en la Universidad de Lund sobre una columna CP-Sil 88 con el inyector a 250 °C, se utilizó como gas transportador helio a 1 mL/min, el volumen de muestra inyectada fue de 1 µL FAME/Hexano. Con un programa de rampa con una temperatura inicial de 45 °C por 4 min, se elevó en razón de 13 °C por min hasta 175 °C por 27 min, posteriormente se aumentó la temperatura a razón de 4 °C por min hasta 215 °C por 35 min.

RESULTADOS

En el espectro de RMN ¹H, del aceite crudo se pudo evidenciar la presencia fundamentalmente de triglicéridos, por las señales de los sistemas ABX originados por los protones de la glicerina en forma de éster por la señal del grupo metino a δ 5,25 ppm, (m, 1H) y las señales a δ 4,19 ppm (dd, 2H) y δ 4,28 (dd, 2H) que se complementan con señales de protones sobre dobles enlaces a δ 5,40 ppm, y señales de protones en carbonos alfa al carbonilo y protones alílicos ubicados en los

ácidos grasos insaturados entre δ 1,65 y 2,80 ppm, una abundante señal centrada en δ 1,24 ppm de los grupos CH_2 y señales de grupos CH_3 a δ

0,90 ppm, confirmando la presencia de triglicéridos.



Gráfica 1. Espectro de RMN ^1H del aceite de castaña

La composición de los ácidos grasos obtenidos por CG-MS muestra un porcentaje de ácidos grasos insaturados de 83,8% (Tabla 1). Se observa la proporción de ácidos grasos

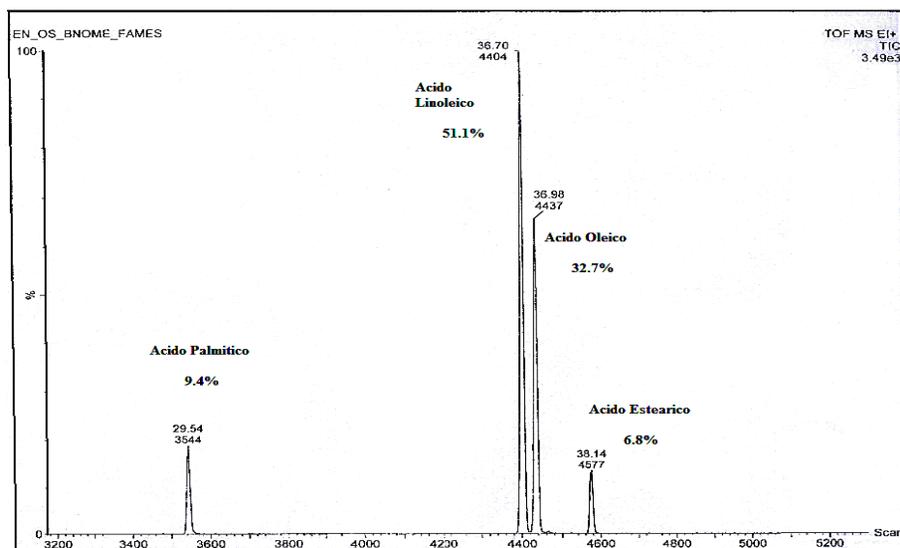
insaturados comparable con el aceite de girasol (87,3%), aceite de oliva (78%), aceite de soya (79%), aceite de canola (80,8%), aceite de cacahuete (82%) y aceite de maíz (85,8%)¹⁰.

Tabla 1. Porcentaje de ácidos grasos saturados e insaturados en aceites vegetales

ACEITES VEGETALES	% saturados	% insaturados
Castaña de Brasil	25,20%	75,00%
Castaña Boliviana	16,20%	83,80%
Aceite de Girasol	7,70%	87,93%
Aceite de Oliva		78,00%
Aceite de Linaza		56,00%
Aceite de Soya	13,70%	79,00%
Aceite de Canola	5,25%	80,75%
Aceite de Cacahuete	11,40%	82,00%
Aceite de Algodón	21,00%	72,70%
Aceite de Maiz	12,70%	85,80%

El análisis del cromatograma obtenido de GC, muestra unos porcentajes de ácido palmítico (C:16) de 9,4%, esteárico (C:18) de 6,8%, oleico (C:18:1) 32,7%, linoleico (C:18:2) 51,1 % (Gráfica 2). Cabe destacar la gran concentración de ácido linoleico (51,1%) comparable con aceites como el de girasol (65,7%), aceite de maíz (58,9%), aceite de linaza (56%) y aceite de algodón (39,6%) (Tabla 2). El ácido linoleico tiene interesantes propiedades para la salud como anticarcinogénico⁷, y dislipidémico⁸.

Existe cierta correlación en la composición de los ácidos grasos del aceite de la castaña boliviana y el aceite de la nuez colectada en el Brasil, sin embargo durante el análisis de GC-MS no se detectaron las trazas de ácido palmitoleico y linolénico en estas muestras, tal como se puede observar en la Tabla 2, sugiriendo que se requieren de estudios más detallados sobre los componentes minoritarios del aceite de castaña.



Gráfica 2. Cromatograma de GC-MS de FAME

DISCUSIÓN

El aceite de castaña colectada en los bosques pandinos de Bolivia contiene un gran porcentaje de ácidos grasos insaturados (83,8%) comparable a la composición de otros tipos de aceites vegetales como el aceite de girasol (87,3%), aceite de oliva (78%), aceite de soya (79%), aceite de canola (80,75%), aceite de cacahuete (82%), aceite de maíz (85,8%) entre otros.

Además, contiene un gran porcentaje de ácido linoleico (51,1%) el cual muestra resultados comparables con los obtenidos en otras bibliografías³, estos ácidos grasos tienen una gran importancia en la dieta.

Los resultados varían según la región en la que se encuentra la nuez de Brasil, reportándose resultados en los que el ácido linoleico varía de 36,1% a 41,1%, el ácido oleico varía 33,6% a 39,3%.

Tabla 2. Comparación del porcentaje de ácidos grasos presentes en distintos aceites vegetales.

PORCENTAJE DE ACIDOS GRASOS EN ACEITES VEGETALES						
ACEITES VEGETALES	ACIDOS GRASOS					
	Palmítico C:16	Palmitoleico C:16:1	Estearico C:18	Oleico C:18:1	Linoleico C:18:2	Linolénico C:18:3
Castaña de Brasil	15,00%	0,30%	10,20%	33,60%	41,00%	0,10%
Castaña Boliviana	9,40%		6,80%	32,70%	51,10%	
Aceite de girasol	6,40%		1,30%	21,30%	65,70%	0,93%
Aceite de oliva				69,50%	7,90%	0,60%
Aceite de linaza					56,00%	
Aceite de soya	10,10%		3,60%	21,2	51%	6,80%
Aceite de canola	3,75%	0,25%	1,50%	59%	21,50%	
Aceite de cacahuete	8,30%		3,10%	56%	26%	
Aceite de almendras					12,21%	0,93%
Aceite de algodón	19,10%		1,90%	33,10%	39,60%	
Aceite de maíz	11,00%		1,70%	25,80%	58,90%	1,10%
Aceite de sésamo	9,10%		4,30%	45,40%	40,40%	
Margarina	12,61%		12,08%	23,21%	15,64%	ND

Los primeros estudios realizados sobre la composición del aceite de castaña colectada en Bolivia, muestran la cantidad de ácidos grasos insaturados en el aceite de los frutos de *Bertholletia excelsa* con un total de insaturados que alcanza el 83,7% y una proporción de ácido esteárico (6,8%), ácido palmítico (9,4%), ácido oleico (32,7%) y ácido linoleico (51,1%), como los cuatro componentes principales del aceite, demostrando así la calidad de este aceite, que aportaría a la dieta un gran porcentaje de los ácidos grasos requeridos por día.

AGRADECIMIENTOS

Al programa ASDI-SAREC, Proyecto Evanta IHD-2007 por el financiamiento parcial del trabajo; a la empresa TAHUAMANU, por la hospitalidad en Cobija y la donación de materia prima; y al laboratorio del Dr. Olov Sterner de la Universidad de Lund, Suecia por los espectros de RMN y GC-MS.

5. Sotero Solis V, Gioielli LA, Polakiewicz B. Mezclas binarias y ternarias del aceite y grasa hidrogenada del aceite de castaña de Brasil

REFERENCIAS

1. Augstburger F, Berger J. Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico. 1ra ed. Alemania; Asociación Naturland; 2000: 1-3.
2. Dietmar S. Cosechando lo que cae: La economía de La castaña (*Bertholletia excelsa*) en la amazonia boliviana. [monografía en Internet]; 2000 [acceso 15 de julio de 2009]. Disponible en: <http://www.redmunicipalverde.org/cosechando%20lo%20que%20cae%20CASTANA.pdf>.
3. Chunhieng T, Hafidi N, Pioch D, Brochier J, Montet D. Detailed Study of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) Oil Micro-Compounds: phospholipids, tocopherols and sterols. J. Braz. Chem. Soc. 2008; 19(7):1374-1380.
4. Jorge Pamplona Roger. El Poder de los alimentos. 1ra ed. Barcelona:ACES; 2003. pp 52 – 53. (*Bertholletia excelsa*). Rev. Grasas y aceites. 2000; 51: 405-411.

6. Sotero Solis V, Gioielli LA, Polakiewicz B . Hidrogenación e interesterificación del aceite de castaña de Brasil (*Bertholletia excelsa*). Rev. Grasas y aceites. 2001; 52(6): 192 – 197.
7. Plourde M, Destailats F, Chouinard PY, Angers P. Conjugated γ -Linolenic Acid Isomers in Bovine Milk and Muscle. J. Dairy Science. 2007; 90(11): 5269 – 5275.

8. Rodríguez A, Pacheco M, Robles S. Efecto del ácido linoleico conjugado sobre la salud cardiovascular de adultos con dislipidemia. ICASA [Revista en Internet] 2006 Diciembre [acceso 17 de julio de 2009]; 1 (142). Disponible en: <http://www2.uacj.mx/publicaciones/Avances/2006/Avances%20142%20Alejandra%20Rodr%C3%ADguez.pdf>
9. Schuchardt U, Serchelia R, Vargas RM. Transesterification of Vegetable Oils: a Review. 1998. J.Braz. Chem. Soc. 1998; 9(1): 199-210.
10. Rowe R, Sheskey PJ, Owen SC. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 5th ed. London-UK: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain; 2006.