

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
CARRERA DE QUÍMICA INDUSTRIAL



PROYECTO DE GRADO

ESTUDIO PARA LA OBTENCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE
ÁCIDO OLEANÓLICO DE LA ESPECIE LAMPAYO (*Lampayo*
***castellani M.*) PARA ENRIQUECER ACEITE DE MANÍ**

Proyecto de grado para optar al Título de Licenciado en Química Industrial

Postulante: Rommel Daniel Aranda Ticona

Tutor: Lic. Patricia Duchén Uriarte

La Paz - Bolivia

2022

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas.

A la Universidad Mayor de San Andrés, en especial a la Facultad de Tecnología por acogermé durante mis años de formación para poder desarrollarme como profesional, a los docentes por inculcarme sus conocimientos.

A mi tutora Lic. Patricia Duchén Uriarte, a quien le doy un profundo agradecimiento por brindarme la oportunidad de compartir su conocimiento, por su incondicional y valioso apoyo durante el proyecto, por sus consejos, paciencia

y la confianza depositada en mí y sobre todo por su amistad.

A los miembros del tribunal: Dra. María Monasterios y Lic.

Marcélino Martínez, por las sugerencias y aportes al trabajo de investigación realizado.

Al herbario Nacional de Bolivia por haber colaborado con la identificación de la especies vegetales.

A la facultad de Ciencias Puras y Naturales quienes me proporcionaron el patrón de ácido oleanólico.

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado la vida y permitirme llegar a este momento tan importante de mi vida.

A mi mamá Valentina por apoyarme en todo momento con su amor, consejos, apoyo incondicional, quien ha sabido formarme con buenos hábitos y valores permitiéndome ser una persona de bien.

A mi papá Luis quien con su esfuerzo y sacrificio hizo que nunca nos faltara nada, por sus consejos, su apoyo y su cariño incondicional.

A mi pareja: Yessica que me dio un apoyo incondicional durante la elaboración del proyecto

A mis amigos Cynthia y Néstor, por estar conmigo y apoyarme siempre.

A todas las personas que me apoyaron y me dieron su apoyo, aliento cuando más lo necesitaba.

RESUMEN

Para la obtención y cuantificación de ácido oleanólico presente en la especie *Lampayo castellani* M., que presenta un alto contenido de este metabolito en las hojas de la planta, se usó métodos de extracción por maceración con etanol al 96% y técnicas de purificación empleando solventes orgánicos y métodos de cristalización.

Para realizar la cuantificación de ácido oleanólico, se usó la técnica de espectrofotometría UV-Vis, donde se utilizó un patrón de ácido oleanolico puro, para después realizar la cuantificación de ácido oleanólico presente en la muestra obtenida.

Se realizó la obtención de aceite de maní por prensado a 80°C, para luego realizar la respectiva formulación del producto propuesto (aceite de maní enriquecido con ácido oleanólico), para después hacer la caracterización completa de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas.

ÍNDICE

1	Capítulo I: GENERALIDADES	1
1.1	INTRODUCCIÓN	1
1.2	ANTECEDENTES.....	2
1.3	ESTUDIOS SOBRE EL ÁCIDO OLEANÓLICO PRESENTE EN LA ESPECIE LAMPAYA.....	3
1.4	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
1.5	JUSTIFICACIÓN	5
1.6	JUSTIFICACIÓN TEÓRICA.....	6
1.7	JUSTIFICACIÓN ACADÉMICA	6
1.8	OBJETIVOS	7
1.8.1	OBJETIVO GENERAL	7
1.8.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS	7
2	Capítulo II: MARCO TEÓRICO	8
2.1	UTILIZACIÓN DE ESPECIES NATIVAS	9
2.2	HÁBITAT.....	9
2.3	CONDICIONES DE AGUA	10
2.4	CONDICIONES DE LUZ	10
2.5	RESISTENCIA AL FRÍO:	10
2.6	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y DISTRIBUCIÓN ECOLÓGICA DE LA ESPECIE LAMPAYA	10

2.7	APLICACIONES TRADICIONALES	11
2.8	PRODUCTOS NATURALES A PARTIR DE METABOLITOS SECUNDARIOS.....	11
2.9	TRITERPENOS.....	12
2.10	ÁCIDO OLEANÓLICO	12
2.11	ÁCIDO MASLÍNICO.....	13
2.12	DIABETES Y ANTIDIABÉTICO.....	14
2.13	ÁCIDO OLEANÓLICO PARA LA PREVENCIÓN DE LA DIABETES DE TIPO II.....	15
2.14	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN	16
2.14.1	EXTRACCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	16
2.14.2	EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO	16
2.14.3	PURIFICACIÓN	17
2.15	CROMATOGRAFÍA.....	17
2.15.1	CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA	17
2.16	TÉCNICAS CUALITATIVAS	18
2.17	ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICOS	18
2.18	ACEITE DE MANÍ	19
2.19	BENEFICIOS DEL ACEITE DE MANÍ.....	19
2.20	INFORMACIÓN NUTRICIONAL.....	20

2.21	OBTENCIÓN DE ACEITES VEGETALES DE SEMILLA	22
2.22	ACEITE DE MANÍ O CACAHUETE	22
2.23	MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR PRENSADO	23
2.24	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DEL ACEITE DE MANÍ	24
2.24.1	DENSIDAD RELATIVA A 25 °C.....	24
2.24.2	ÍNDICE DE REFRACCIÓN.....	25
2.24.3	ÍNDICE DE ACIDEZ.....	25
2.24.4	ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN.....	25
2.24.5	ÍNDICE DE PERÓXIDO.....	26
2.25	CONSUMO DE ÁCIDO OLEANOLICO	26
2.26	MECANISMO DE ACCION DEL ÁCIDO OLEANÓLICO PARA LA REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA	27
A)	DIABETES TIPO 1,	27
B)	DIABETES TIPO 2,	27
2.26.1	GLICÓGENO FOSFORILASA A Y SU RELACIÓN CON TRITERPENOS.....	27
2.27	TOXICIDAD DEL ÁCIDO OLEANÓLICO	29
2.27.1	TOXICIDAD AGUDA (DOSIS LETAL MEDIA).....	29
2.27.2	TOXICIDAD SUBAGUDA (DOSIS REPETIDA POR 28 DÍAS).	29
3	Capitulo III: MÉTODOLOGIA DEL DESARROLLO	30

3.1	METODOLOGÍA DE DESARROLLO	30
3.2	MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.2.1	MATERIA PRIMA:	31
3.2.2	REACTIVOS:	32
3.2.3	EQUIPOS Y MATERIAL DE LABORATORIO	32
3.3	OBTENCIÓN DE ÁCIDO OLEANÓLICO.....	33
3.3.1	OBTENCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL	33
3.3.2	SECADO	33
3.3.3	MACERADO.....	34
3.4	PRUEBAS FITOQUÍMICAS PRELIMINARES	35
3.4.1	Test de Mayer	35
3.4.2	Test de Fehling.....	35
3.4.3	Test de espuma.....	36
3.4.4	Test de cloruro férrico	36
3.4.5	Test de acetato de plomo	36
3.4.6	Método de identificación de flavonoides	36
3.4.7	Reacción de Liberman – Burchard.....	37
3.5	PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS PRELIMINARES	37
3.5.1	Cromatografía en Capa Fina	37
3.6	DECOLORACIÓN	38

3.7	EXTRACCIÓN LIQUIDO - LIQUIDO.....	39
3.8	PROCESO DE PURIFICACIÓN POR CRISTALIZACIÓN	40
3.9	PRUEBAS FITOQUÍMICAS FINALES	41
3.10	PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS FINALES	41
3.11	ESPECTROSCOPIA UV- VISIBLE.....	42
3.12	RENDIMIENTO	43
3.13	OBTENCIÓN DE ACEITE DE MANÍ.....	43
3.13.1	RECOLECCIÓN DE MATERIA PRIMA	43
3.13.2	LIMPIEZA Y DESCASCARADO	44
3.13.3	MOLIENDA.....	45
3.13.4	TRATAMIENTO TERMICO.....	45
3.13.5	EXTRACCIÓN POR PENSADO.....	46
3.13.6	FILTRADO	47
3.14	PREPARACIÓN DEL PRODUCTO FINAL	47
3.14.1	DOSIS DE CONSUMO DEL PRODUCTO FINAL	47
3.14.2	FORMULACIÓN DEL PRODUCTO FINAL	48
3.15	CONTROL DE CALIDAD PRODUCTO FORMULADO.....	49
3.15.1	PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS.....	49
3.15.2	PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS	49
4	Capitulo IV: ANÁLISIS Y RESULTADOS	55

4.1	IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA	55
4.2	DETERMINACIÓN DE MASAS OBTENIDAS Y RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE ÁCIDO OLEANÓLICO	55
4.2.1	CÁLCULO DEL RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO.....	55
4.2.2	PRUEBAS CUALITATIVAS INICIALES	56
4.3	PROCESO DE PURIFICACIÓN	57
4.3.1	PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS	57
4.3.2	EXTRACCION LÍQUIDO-LÍQUIDO.....	59
4.3.3	PROCESO DE CRISTALIZACIÓN	59
4.4	PRUEBAS FITOQUÍMICAS CUALITATIVAS FINALES	60
4.1	PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS FINALES	60
4.2	CÁLCULO DEL RENDIMIENTO DEL PROCESO DE PURIFICACIÓN	62
4.3	ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO.....	62
4.3.1	BARRIDO ESPECTRAL.....	62
4.3.2	ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	63
4.4	CÁLCULO DE CONTENIDO DE ÁCIDO OLEANÓLICO POR CADA 100 GRAMOS DE EXTRACTO PURIFICADO OBTENIDO:	69
4.5	CALCULÓ EL CONTENIDO DE ÁCIDO OLEANÓLICO POR GRAMO OBTENIDO DE EXTRACTO DE LAMPAYA:	70
4.6	OBTENCIÓN DEL ACEITE DE MANÍ	71

4.7	OBTENCIÓN DEL PRODUCTO FINAL	72
4.8	EVALUACIÓN DE PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS	73
4.9	EVALUACIÓN DE CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO OBTENIDO	73
4.9.1	DENSIDAD RELATIVA.....	73
4.9.2	ÍNDICE DE REFRACCIÓN	74
4.9.3	ÍNDICE DE ACIDEZ	74
4.9.4	ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN	75
4.9.5	ÍNDICE DE PERÓXIDO	76
4.10	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	77
4.11	EVALUACION DE LA CALIDAD DEL PRODUCTO FORMULADO	78
5	Capitulo V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
5.1	CONCLUSIONES	79
5.2	RECOMENDACIONES	80
6	BIBLIOGRAFÍA.....	81
7	ANEXOS	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Crecimiento de la diabetes en Bolivia hasta el año 2015 (fuente - página 7)	5
Figura 2: Planta Lampayo <i>castellani</i> M. en su hábitat natural (Fuente internet)	9
Figura 3: Unidad de Isopreno (Componente de los triterpenos)	12
Figura 4: Fórmula estructural del ácido oleanólico	13
Figura 5: Fórmula estructural del ácido maslínico	13
Figura 6: Espectro electromagnético (Fuente internet).....	19
Figura 7: Leguminosa y Aceite de Maní (Fuente internet)	21
Figura 8: Representación esquemática del proceso de regulación de glicemia (Fuente biologiaterceroiem.blogspot.com)	28
Figura 9: Diagrama de flujo para la obtención de ácido oleanólico (Elaboración propia) ..	30
Figura 10: Diagrama de flujo para la obtención de aceite de maní (Elaboración propia) ...	31
Figura 11: Lampaya recolectada.....	33
Figura 12:Secado de las hojas de lampaya y determinación de humedad	34
Figura 13:Proceso de extracción solido-líquido por maceración	34
Figura 14:Recuperado del extracto etanólico por rota evaporación	35
Figura 15:Pruebas cualitativas hechas en el extracto etanólico.....	37
Figura 16:Cromatografía en capa fina al extracto etanólico	38
Figura 17:Proceso de decoloración del extracto etanólico	39
Figura 18: Extracción Líquido-líquido (Separación de azúcares)	40
Figura 19:Proceso de purificación (Cristalización con solventes orgánicos).....	40
Figura 20:Pruebas cualitativas finales.....	41
Figura 21:Pruebas cromatográficas finales	42

Figura 22:Espectrofotómetro UV-Visible (PERSEE)	43
Figura 23:Maní recolectado.....	44
Figura 24:Maní descascarado	44
Figura 25:Proceso de Molienda del maní.....	45
Figura 26:Proceso de tratamiento térmico del maní a 80°C.....	45
Figura 27:Proceso de prensado para la obtención de aceite de maní (Ver Anexo E).....	46
Figura 28:Proceso de filtrado del aceite obtenido después del filtrado	47
Figura 29:Preparación de producto final (Aceite de maní + Acido oleanólico).....	48
Figura 30:Mezclado de aceite de maní y ácido oleanólico	48
Figura 31:Medición del peso específico del producto obtenido.....	50
Figura 32:Titulación ácido - base para la determinación de la acidez del producto obtenido	51
Figura 33:Refractómetro ABBE DE BANCADA (QUIMIS ISO 9001).....	52
Figura 34:Determinación del índice de peróxido	53
Figura 35:Determinación del índice de saponificación.....	54
Figura 36:Pruebas cromatográficas para la identificación del mejor solvente para realizar la purificación del extracto (prueba A1, A2, A3, A4, A5).....	57
Figura 37:Cromatografía capa fina con la mezcla de mejor separación de componentes del extracto etanólico	58
Figura 38:Cromatografía capa fina del patrón de ácido oleanólico.....	61
Figura 39:Cromatografía capa fina extracto cristalizado	61
Figura 40:Barrido espectral.....	63
Figura 41:Gráfico obtenido en el equipo de espectrofotometría	64
Figura 42:Gráfico elaborado a partir con los datos corregidos obtenidos en laboratorio	66

Figura 43: Grafico obtenido a partir del dato obtenido del extracto.....	67
Figura 44: Grafico obtenido con el dato de absorbancia de la dilución de la muestra	68
Figura 45: Extracto purificado y aceite de maní obtenido	72

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Identificación botánica (Ver Anexo A)	55
Tabla 2: Masas empleadas para la maceración.....	55
Tabla 3: Detalle de pruebas fitoquímicas cualitativas preliminares en el extracto etanólico obtenido.....	56
Tabla 4: Masa obtenida después del proceso de cristalización	59
Tabla 5: Evaluación de parámetros organolépticos del extracto obtenido.....	60
Tabla 6: Detalle de pruebas fitoquímicas cualitativas finales en el extracto etanólico	60
Tabla 7: Rendimiento (proceso de purificación)	62
Tabla 8: Datos obtenidos absorbancia vs. concentración.....	63
Tabla 9: Datos corregidos de absorbancia vs. concentración.....	65
Tabla 10: primer dato de lectura obtenida de la muestra purificada.....	66
Tabla 11: dato de absorbancia obtenida después de hacer la dilución de la muestra	67
Tabla 12: Parámetros organolépticos del producto obtenido	73
Tabla 13: Parámetros fisicoquímicos de calidad obtenidos del producto obtenido	77

LISTA DE ANEXOS

Anexo A	85
Anexo B.....	86
Anexo C.....	86
Anexo D	87
Anexo E.....	88
Anexo F.....	89

1 Capítulo I: GENERALIDADES

1.1 INTRODUCCIÓN

Los triterpenos pentacíclicos son metabolitos secundarios localizados ampliamente en numerosas especies del Reino Vegetal. Se encontró que dichos compuestos se encontraron en altas concentraciones en las hojas de la planta lampaya procedentes de la zona centro-sur del altiplano boliviano.

Este estudio se basará fundamentalmente en los triterpenos (ácido oleanólico), encontrados en hojas de lampaya (*Lampayo castellani* M.).

Los triterpenos pentacíclicos presentan propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antioxidantes e hipoglicemiantes. Esta última propiedad actualmente se encuentra en el punto de mira de estudios para la prevención y tratamiento de la diabetes mellitus, ya que debido a su gran actividad biológica en la regulación glucosilada en sangre ayudaría a combatir dicha enfermedad. Basados en los antecedentes a este proyecto y lo encontrado en el mismo se plantea la elaboración productos naturales que pueden sustituir o complementar la acción de fármacos convencionales en el tratamiento de la diabetes.

Para la obtención de ácido oleanólico se usaron técnicas de extracción por maceración y técnicas de purificación con solventes orgánico, y para la obtención de aceite de maní se usó técnicas de extracción por prensado a 80 °C. después de elaborar el producto propuesto y realizar la caracterización fisicoquímica y organoléptica se pudo evidenciar que el producto tiene un gran posibilidad de industrialización para realizar el aprovechamiento de materias primas que se encuentran en nuestro territorio.

1.2 ANTECEDENTES

La Lampaya, planta originaria del altiplano boliviano, distribuida entre los departamentos de Oruro y Potosí, es apreciada por las comunidades donde se la encuentra. En el campo medicinal tradicional, sirve para tratar la próstata, actúa también como un antiinflamatorio natural, calma el dolor de huesos y articulaciones entre otros males, es por sus grandes beneficios de tratamientos para diferentes patologías, la gente que conoce las propiedades de esta planta, tienen definida su posición sobre esta, como infusión medicinal, lo cual nos conlleva a decidir su posible industrialización del extracto obtenido para un mejor aprovechamiento de la planta y así poder enriquecer aceite de maní, que también es producido en nuestro país, y poder contribuir a la prevención y tratamiento de la diabetes, y de esta manera tener un producto que pueda ser vendido en forma competitiva en nuestro mercado, y de esta manera se pueda contribuir al desarrollo de las comunidades aisladas y empobrecidas poseedoras de esta planta (Alzérrecá, Calle, & Laura, 2002)

El presente proyecto no cuenta con suficiente investigación formal registrada en el departamento de La Paz, sin embargo, se ha realizado un compilado de las investigaciones formales que hasta ahora se han registrado.

Lampaya (*Lampayo castellani* M.) es un arbusto perenne, que varía en tamaño pudiendo alcanzar los 8 m de alto, con ramificaciones que van desde su base, estas ramas se extienden a los costados. Presenta hojas simples, opuestas, gruesas, ovales o elípticas. Las flores son hermafroditas, de forma tubular, con coloración blanca o violeta y están ubicadas en las axilas de las hojas, en el extremo de las ramitas. Los frutos son carnosos y se separan en cuatro piezas al madurar. Dentro de cada pieza se encuentra una semilla.

1.3 ESTUDIOS SOBRE EL ÁCIDO OLEANÓLICO PRESENTE EN LA ESPECIE LAMPAYA

Estudio para la determinación estructural molecular de la Lampayo *castellani* M, donde a partir de hojas de las hojas secas molidas del Lampayo fueron realizadas diversas extracciones sólido- líquido, líquido-líquido en el cual fueron aislados varios compuestos, dos de los cuales se identificaron por medios espectroscópicos como triterpenos de esqueleto oleanano, el ácido oleanólico y el ácido maslínico. (Herrera Shirley, 2001)

En la región del Altiplano Sur, se ha extendido de manera no planificada el monocultivo de quinua, causando la pérdida de la vegetación nativa y el deterioro del agroecosistema. Por lo que, es importante realizar estudios científicos de las plantas nativas de la región, que justifiquen su uso en productos con valor agregado, como fitofármacos, biopesticidas o colorantes, entre otros, En este sentido, se realizó el estudio fitoquímico preliminar de cinco especies vegetales del Altiplano Sur Boliviano, donde se incluye al Lampayo empleado en medicina tradicional, aplicando una extracción sólido – líquido, seguida de análisis cromatográfico en capa fina y pruebas fitoquímicas preliminares, determinándose que la Lampaya presentan una interesante composición de compuestos terpenicos, Ácido Oleanólico y Ácido Maslínico, los cuales son de gran interés por sus actividades biológicas. (Chui Tinco, 2021)

El ácido oleanólico es un triterpeno pentacíclico ampliamente distribuido en el reino vegetal, posee diversas propiedades farmacológicas. Las plantas son la principal fuente de este interesante compuesto, en este sentido, durante este estudio cuantificamos este metabolito en el Lampayo *castellani* M, por un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La cantidad determinada Lampayo *castellani* fue de (13,87 mg/g), mayor que la concentración reportada en frutos de oliva (0,17-0,56 mg/g) y menor a la reportada

para hojas de oliva (31,00 mg/g), la fuente más importante de ácido oleanólico comercial. Concluyendo que es una fuente potencial de ácido oleanólico en la región. (Lozano, Flores, & Almanza, 2017)

La importancia del maní como alimento, el maní es una planta anual de la familia de las leguminosas, nativa del sur de Bolivia y del noreste de Argentina, cuyos frutos son un alimento muy apreciado. El maní nació en Bolivia. Los incas extendieron su cultivo a otras regiones sudamericanas y centroamericanas. En las tierras de Perú y México se cultiva hace más de 7000 años, y fue llevado a Europa hace más de 500 años. Hoy el cultivo se ha extendido a muchos países, particularmente Estados Unidos, China e India, ante la elevada y creciente demanda por los múltiples usos del maní (Tech, 2022)

El Foro del Maní Boliviano, donde los maniceros solicitaron respaldo gubernamental para darle un valor agregado al que es considerado "el maní con más calidad en el mundo", el boliviano.

Gran parte de esa producción es exportada en bruto a países como Holanda o Alemania, explicó el responsable comercial de la Asociación de Productores de Ají y Maní de Padilla (Apajimpa), Alcides Ovando. Luego, ese maní boliviano retorna al país convertido, por ejemplo, en mantequilla de maní, objetó Ovando, y actualmente, el único valor agregado que los productores bolivianos dan al maní de exportación es el pelado, clasificado y calibrado.

Es decir, seleccionan el maní por tamaños, de esta manera los compradores calculan su tiempo de cocción. "Mientras más grande es, más tarda en cocer" (Pérez & García., 2015)

Por medio de la presente investigación se plantea determinar el proceso adecuado y optimizado para la obtención del ácido oleanólico del Lampayo, haciéndolo un producto para el enriquecimiento del aceite de maní, obteniendo un producto comercial disponible,

considerando que se mantengan las propiedades medicinales que posee la planta del Lampayo y los beneficios nutricionales del aceite de maní.

1.4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En nuestro país existe poco aprovechamiento de productos originarios provenientes de distintas regiones del país, como la especie lampaya (*Lampaya castellani* M.) de origen silvestre, como también la leguminosa del maní, la lampaya contiene ácido oleanólico que puede ser aprovechado para el tratamiento y prevención de enfermedades como la diabetes y el aceite comestible de maní que posee grandes beneficios a la salud, ninguno de estos productos se encuentran actualmente industrializados de manera considerable en nuestro país.

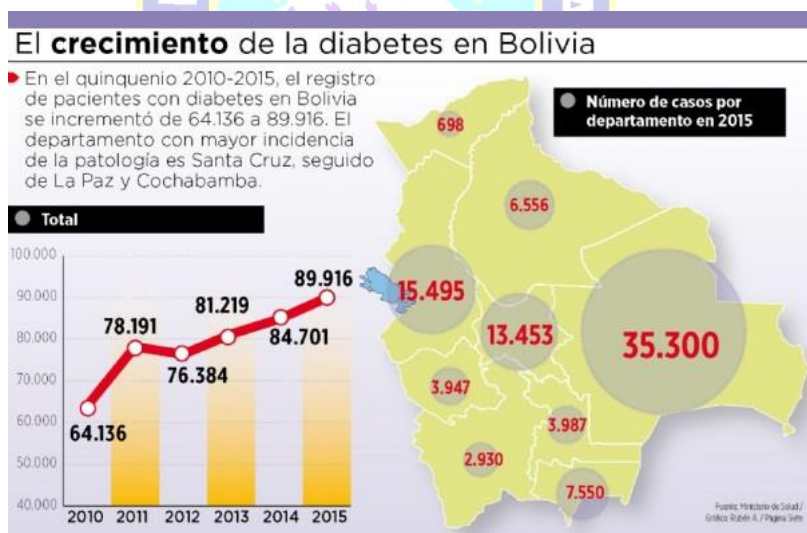


Figura 1: Crecimiento de la diabetes en Bolivia hasta el año 2015 (fuente - página 7)

1.5 JUSTIFICACIÓN

El producto que se espera obtener pretende satisfacer una necesidad en la población enferma de diabetes y con síntomas de prediabetes, que cada año va en aumento en nuestro país, el producto obtenido será de libre comercialización en el mercado para consumo, como

aporte para la diversificación de productos alimenticios de origen natural en el mercado de nuestro país.

1.6 JUSTIFICACIÓN TEÓRICA

Por medio de la presente investigación se plantea determinar el proceso adecuado para la obtención de un aceite de maní comestible enriquecido con extracto de lampaya, que son dos productos que se encuentran en nuestro país, haciendo un producto natural y de origen de productos bolivianos. Será un producto de necesidad para gente que padece de diabetes como también como un producto para la prevención de esta enfermedad, haciéndolo un producto comercial disponible en el mercado, considerando que se mantengan las mismas propiedades medicinales del aceite de maní y de las hojas del Lampayo.

1.7 JUSTIFICACIÓN ACADÉMICA

En este proyecto se realizó la optimización del método de extracción y cuantificación del ácido oleanólico por métodos espectrofotométricos, aplicando para la obtención del metabolito secundario, técnicas de maceración, con alcohol etílico, descoloramiento con carbón activado y técnicas de cristalización como técnica de purificación del extracto obtenido, y para la obtención del aceite de maní se usó técnicas de extracción por prensado a 80 °C y se calculó el respectivo rendimiento de ambos procedimientos.

Una vez terminado el proceso de obtención de ácido oleanólico y aceite de maní, se determinó las propiedades organolépticas del producto obtenido, también se hizo la caracterización de para metros que deben cumplir los aceites comestibles en Bolivia, según norma NB/350.

1.8 OBJETIVOS

1.8.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar el estudio integral sobre la obtención y cuantificación de ácido oleanólico presente en la especie *Lampayo castellani* M., a fin de que el aceite de maní sea enriquecido con este metabolito secundario y contribuya al tratamiento y prevención de la diabetes.

1.8.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Definir el proceso para la obtención y cuantificación de ácido oleanólico para elaborar un aceite de maní enriquecido con extractos, la hoja de Lampaya (*Lampayo castellani* M.).
- ✓ Realizar la formulación del aceite de maní obtenido experimentalmente con extracto de ácido oleanólico.
- ✓ Determinar las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del aceite de maní enriquecido con extractos de lampaya, con relación a las características propias de un aceite de consumo tradicional.
- ✓ Evaluar el producto obtenido a partir de la caracterización de sus propiedades determinadas.

2 Capítulo II: MARCO TEÓRICO

Las comunidades alto andinas han heredado un modo ancestral de comprender su medio ambiente, lo que les permite integrar múltiples facetas de su realidad y experimentar la naturaleza como cultura, la tierra, las montañas, son sagrados. Son esas deidades quienes hacen posible la reproducción de la vida y deben ser respetados, recordados y honrados en ritos y ofrendas (Murra, 1972).

La percepción del ambiente, a través del periodo prehispánico, fue influenciada por gentes de los señoríos altiplánicos y luego por el Inca. En tiempos coloniales (siglo XVII), estos territorios pertenecieron al Arzobispado de Charcas (Alto Perú, Bolivia) y estuvieron sujetos a procesos de extirpación de idolatrías. Durante el siglo XVIII, participaron de las rebeliones de Túpac Amaru. En el periodo republicano, a fines del siglo XIX, estas tierras fueron anexadas al estado boliviano. En el presente, la población indígena se reconoce como descendiente de sus ancestros prehispánicos, siempre presentes en sus tradiciones orales de vida tradicional, agro pastoril, con actividades de recolección, normadas por un calendario económico, ceremonial y del sincretismo de ritos de origen prehispánico con otros de la cristiandad (Dijoux, 2009).

Durante miles de años, los habitantes de la zona altiplánica han vivido en un paisaje marcadamente heterogéneo. A través de su pronunciada gradiente altitudinal, la cadena andina despliega una diversidad de zonas ecológicas, cada una de las cuales representa diferentes características para la subsistencia de la población andina, que ha tenido la habilidad para explotar estos niveles ecológicos, constituyéndolos en la base de patrones económicos y culturales, tanto del pasado como del presente. Estos modos de vida están asociados directamente a una percepción vertical del paisaje (Montes de Oca, 1988)

2.1 UTILIZACIÓN DE ESPECIES NATIVAS

Mallea, J.A. 1996, indica que: en sus zonas ecológicas la gente no solo obtiene el forraje para sus rebaños, sino también han asignado usos a las distintas especies silvestres nativas del área y distinguen diferentes categorías de utilización de las plantas. Las más populares son aquellas usadas como forraje, luego están las medicinales, alimenticias y por último las de eficacia simbólica utilizadas en ceremonias o rituales.

De las varias especies leñosas, la yareta es la más valorizada de todas, ya que conforma las zonas de más alta densidad de plantas, sin embargo, la mayoría de las especies que sirven de forraje se encuentran en los tólares, documentando la importancia de esta zona para la mantención de llamas, especialmente en años lluviosos cuando la biomasa de hierbas se incrementa marcadamente. Sin embargo, durante la mayor parte del año las llamas consumen preferentemente las plantas del pajonal y particularmente los pastos de los bofedales (Navarro & Ferreira , 2004)

2.2 HÁBITAT

En Bolivia y específicamente en el municipio de Esmeralda, esta especie crece en las siguientes condiciones ambientales:



Figura 2: Planta *Lampayo castellani* M. en su hábitat natural (Fuente internet)

2.3 CONDICIONES DE AGUA

Áreas extremadamente áridas, con precipitaciones <100 mm/año, lluvias muy raras, la temporada seca dura 8 - 12 meses y es posible que en algunos años no haya precipitaciones.

2.4 CONDICIONES DE LUZ

En el municipio de Esmeralda, en el departamento de Oruro, los arbustos de lampaya están totalmente expuestos y se hallan mayormente en aéreas planas o laderas a pleno sol, como se verifica en la Fig. 11 (AFCH, 2022)

2.5 RESISTENCIA AL FRÍO:

La especie resiste temperaturas bajas (de hasta -8 °C), además puede tolerar nevadas ocasionales y cobertura de nieve durante un par de semanas al año (Ministerio de Medio Ambiente y Agua, 2012)

2.6 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y DISTRIBUCIÓN ECOLÓGICA DE LA ESPECIE LAMPAYA

Arbusto perennifolio, hojoso, de hasta 0.8 m de alto, ramificado desde la base, ramas tendidas, apoyantes. Hojas opuestas, de color verde claro, el sabor de las hojas es algo salado y agrio, son simples y carnosas, ovales o elípticas, flores hermafroditas, tubulares, blancas o violetas claras, ubicadas en las axilas de las hojas, el extremo de las ramitas. Frutos esquizocarpos drupáceos, sub carnosos.

El Lampayo es propia de arenales del altiplano sur de Bolivia, se distribuye y crece entre 3600-4300 metros sobre el nivel del mar, con preferencia en dunas promontorios de arena suelta, acumuladas por la acción del viento, con humedad subterránea. Se comporta como pionera de arenales, formando densas colonias en lugares arenosos, cubriendo extensas áreas, estabilizando dunas pequeñas, agregando al suelo, aportando materia orgánica y favoreciendo el ingreso de otras especies herbáceas y arbustivas, por la consolidación del

suelo. Florece de noviembre a diciembre, se encuentran con frutos en marzo y se reproduce a través de semillas mediante brotes de las raíces (Torrice, 1994)

2.7 APLICACIONES TRADICIONALES

Las comunidades originarias donde se encuentra distribuido el Lampayo, le dan un uso de leña. También lo usan para consumo, tuestan las hojas, se muelen y se emplean como sucedáneo del café, como forraje para llamas, ovejas, burros y cabras, se consumen los brotes tiernos y las flores.

Su más importante aplicación es como planta medicinal para el tratamiento de la tos (Torrice, 1994), para mejorar “el estado de los pulmones”, también se la usa para tratar golpes y magulladuras, como infusión de las hojas, previamente tostadas. Se vende en puestos de medicina natural como diurético, se aplica haciendo hervir 30 a 40 g de las hojas y tallos en un litro de agua durante 5 minutos, se sirve en un cuarto de taza, cuatro veces al día antes de los alimentos, limpia todas las flemas de las vías genitourinarias siendo un fuerte diurético. También es recomendado para curar problemas de próstata y reumatismo, siendo aplicado también por vía oral por infusión.

2.8 PRODUCTOS NATURALES A PARTIR DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Se dividen en dos grupos: metabolitos primarios y metabolitos secundarios y se caracterizan de la siguiente manera:

- Metabolito primario
 - Producto del metabolismo natural
 - Ampliamente distribuido en plantas y microorganismos como, por ejemplo: aminoácidos de proteínas comunes, nucleótidos, ácidos carboxílicos del ciclo cítrico, lípidos glicéridos.

- Metabolito secundario
 - Producto del metabolismo especial.
 - Biosintetizado a partir de metabolitos primarios.

Con distribución restringida a ciertas plantas y microorganismos, a veces es característico de un género dado o de una especie. Ejemplos: alcaloides, triterpenoides, flavonoides, oligosacáridos, etc.

2.9 TRITERPENOS

Los triterpenos son productos naturales cuya estructura consta de 30 átomos de carbono provenientes de 6 unidades de isopreno.

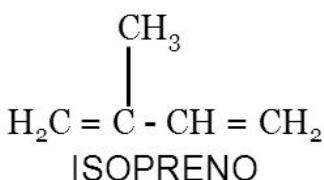


Figura 3: Unidad de Isopreno (Componente de los triterpenos)

Se distinguen cuatro clases: Triterpenos de cadena abierta, tricíclicos, tetracíclicos y pentacíclicos.

2.10 ÁCIDO OLEANÓLICO

El ácido oleanólico es un ácido triterpénico pentacíclico, que se encuentra de forma natural en numerosas plantas. Es uno de los componentes del aceite de oliva, las aceitunas y las uvas. Su fórmula es 3-betahidroxi-28-carboxioleanano (wikipedia.org, 2019)

Se le han atribuido numerosas propiedades beneficiosas para la salud, por lo cual se están realizando estudios en diferentes países para comprobar si su consumo habitual puede constituir un tratamiento eficaz para diferentes enfermedades como la diabetes. Los resultados obtenidos hasta el momento son esperanzadores.

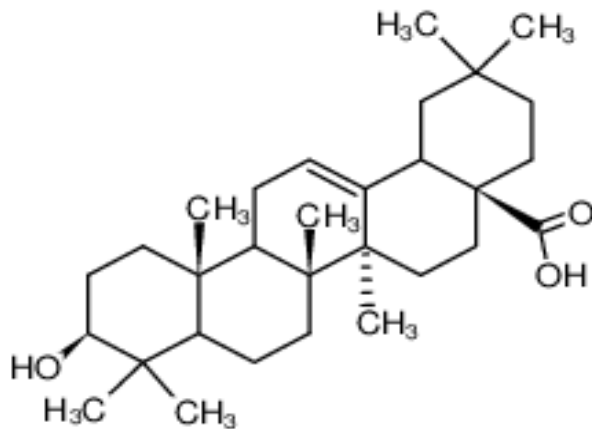


Figura 4: Fórmula estructural del ácido oleanólico

2.11 ÁCIDO MASLÍNICO

El ácido maslínico es un lípido pentacíclico de naturaleza terpénica que se puede encontrar en la piel de la aceituna. Posee numerosas propiedades, muchas de las cuales terapéuticas: Entre estas destacan su capacidad antioxidante, antitumoral y antihiperlipidémica. Además, aporta grandes beneficios cardiovasculares. En cuanto a su naturaleza lipídica, se puede decir que, concretamente, es un triterpeno, del grupo de los oleananos. Otra de sus propiedades es la inhibición de la acción de proteasas de la serina que intervienen en la difusión del VIH, lo que es un retardante de este. Además, evita la proliferación de células cancerosas en el cáncer de colon.

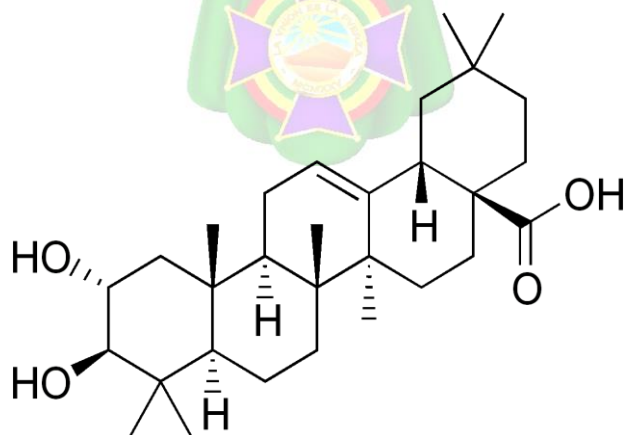


Figura 5: Fórmula estructural del ácido maslínico

2.12 DIABETES Y ANTIDIABÉTICO

La diabetes es una enfermedad crónica (de larga duración) que afecta la forma en que el cuerpo convierte los alimentos en energía.

Su cuerpo descompone la mayor parte de los alimentos que come en azúcar (también llamada glucosa) y los libera en el torrente sanguíneo. El páncreas produce una hormona llamada insulina, que actúa como una llave que permite que el azúcar en la sangre entre a las células del cuerpo para que estas la usen como energía.

Con diabetes, su cuerpo no produce una cantidad suficiente de insulina o no puede usar adecuadamente la insulina que produce. Cuando no hay suficiente insulina o las células dejan de responder a la insulina, queda demasiada azúcar en el torrente sanguíneo y, con el tiempo, esto puede causar problemas de salud graves, como enfermedad del corazón, pérdida de la visión y enfermedad de los riñones (enfermedades, 2022)

La diabetes mellitus tipo 1 es una enfermedad caracterizada por deficiencia de insulina, por lo que la insulina es la droga usada en estos pacientes, por vía inyectada. La diabetes mellitus tipo 2 se caracteriza por resistencia a la acción de la insulina, por lo que el tratamiento de esta enfermedad incluye fármacos que reducen la generación hepática de glucosa, fármacos que aumenten la cantidad de insulina secretada por el páncreas, fármacos que aumenten la sensibilidad celular a la insulina o fármacos que disminuyen la velocidad en la que la glucosa es absorbida por el tracto gastrointestinal.

Un antidiabético es un medicamento usado para reducir los niveles de glucosa en sangre, por lo que se indica en el tratamiento de la diabetes mellitus. Con la excepción de la insulina, exenatida, liraglutida, lixisenatida y dulaglutida, todos son administrados por vía oral. La selección de los diferentes tipos de antidiabéticos depende de la enfermedad, la edad y condición de salud del paciente, así como otros factores (wikipedia.org, 2022)

2.13 ÁCIDO OLEANÓLICO PARA LA PREVENCIÓN DE LA DIABETES DE TIPO II

En un estudio llamado PREDIABOLE, realizado en España con principios de la medicina basada en la evidencia exigen disponer de evidencia de alta calidad (ensayos clínicos aleatorizados y controlados, y estudios de cohortes) antes de que puedan formularse recomendaciones nutricionales a la población. El nivel de evidencia, de un ensayo particular depende no solo de su diseño, sino también de la calidad de su ejecución. El Estudio PREDIABOLE (acrónimo de PREvención de DIABetes con ácido OLEanólico), ha sido un ensayo clínico pionero, totalmente aleatorizado, controlado y doble ciego, bien diseñado y ejecutado, desarrollado íntegramente en atención primaria en el sistema público de salud, que ha demostrado que el consumo regular de este aceite de oliva funcional enriquecido en ácido oleanólico previene la diabetes tipo 2 en individuos prediabéticos.

La elección de este colectivo (individuos diagnosticados de glucosa basal alterada y tolerancia alterada a la glucosa), responde a estudios epidemiológicos recientes que muestran que estos individuos tienen un riesgo 45 veces superior de desarrollar diabetes que individuos normo glucémicos. Por tanto, constituyen una población diana fantástica para evaluar cualquier estrategia preventiva frente a la diabetes.

En el estudio PREDIABOLE han participado 176 pacientes prediabéticos, que fueron seguidos por hasta 30 meses (mediana de seguimiento 27.5 meses), mediante un protocolo de visitas médicas trimestrales y sesiones de formación nutricional.

El estudio ha permitido demostrar que el riesgo de desarrollar diabetes entre los prediabéticos que tomaron el aceite de oliva enriquecido en ácido oleanólico era un 55.2 % menor que entre aquellos individuos que ingirieron el mismo aceite de oliva no enriquecido en el compuesto. Los estudios de regresión llevados a cabo han confirmado la relación causal

directa entre la ingesta de ácido oleanólico y la protección frente a la diabetes (Castellano Orozco, 2016)

2.14 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN

2.14.1 EXTRACCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Para extraer los metabolitos secundarios de sus fuentes naturales, se aplica una extracción líquido - sólido por medio de un disolvente adecuado.

La extracción con disolventes por maceración es el método más utilizado para separar una clase de productos orgánicos de una mezcla, La maceración consiste en sumergir los materiales vegetales (gruesos o en polvo) en un recipiente tapado con un disolvente y dejarlos reposar a temperatura ambiente durante un periodo definido con agitación frecuente hasta que se disuelva la materia soluble. Este método es el más adecuado en el caso de los extractos termosensible (Swami & Singh, 2008)

2.14.2 EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO

Es una operación unitaria que consiste en la separación de una o varias sustancias (solutos) contenidas en una matriz sólida (fase portadora), usualmente pulverizada, mediante el uso de disolventes líquidos.

Para el proceso de extracción, nos basamos en la naturaleza del material a analizar y de los compuestos a ser aislados. Empleando procesos de extracción para materiales vegetales, que siguen las etapas de secado, disminución del material, y extracción con solvente, teniendo este último a ser utilizado para la extracción por maceración. La extracción es del tipo total, ya que siendo un solvente orgánico polar (etanol) el empleado para extraer tantos compuestos como sea posible, lo cual está basado en la capacidad de estos solventes de incrementar la permeabilidad celular, facilitar la extracción eficiente de grandes cantidades constituyentes polares y de baja polaridad.

2.14.3 PURIFICACIÓN

La cristalización es un método de gran eficiencia en la purificación de una sustancia sólida en un disolvente adecuado, o mezcla de disolventes. El compuesto a ser purificado debe ser soluble en caliente e insoluble en frío, y debe precipitar en frío.

Los cristales separados en la primera cristalización se recogen por filtración a bomba de vacío y se lavan con un poco de disolvente frío. Las aguas madres se unen y se evaporan, después se dejan de nuevo en reposo hasta la separación de una segunda porción de cristales, el grado de pureza se determina por puntos de fusión.

La muestra a purificar frecuentemente contiene sustancias extrañas coloreadas, solubles, las cuales hacen que las disoluciones y cristales tengan un color amarillento a tono sucio, las que pueden ser absorbidas en algunos casos por carbón activado.

2.15 CROMATOGRAFÍA

La cromatografía de afinidad es un método fisicoquímico, que permite la separación de compuestos disueltos en un solvente de polaridad afín en movimiento sobre una superficie estacionaria o inmóvil a partir de mezclas de sustancias absorbidas en la superficie estacionaria. La adsorción se da por la separación diferencial de estos compuestos sobre la fase estacionaria. La fase móvil o estacionaria puede ser sólida o líquida. Su empleo es ventajoso en la separación de numerosos productos naturales. La cromatografía de afinidad usada es una capa fina, que puede ser analítica o preparativa.

2.15.1 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Este método es ventajoso por la excelente nitidez, alta sensibilidad y gran rapidez en su uso, el soporte puede ser una hoja metálica, de vidrio, o plástico cubierto con un adsorbente como silica gel o alúmina gel.

2.16 TÉCNICAS CUALITATIVAS

Se han propuesto muchas reacciones de color para detectar la presencia triterpenos, siendo las más usuales reacciones de Liebermann-Burchard, en que las saponinas triterpenoidales dan color rosado a púrpura mientras los esteroidales dan un color azul-verdoso.

2.17 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma.

El fundamento de la espectroscopía se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV- visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica), por lo que dicha técnica constituye un valioso instrumento para la determinación y caracterización de biomoléculas. Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna. Cuando la luz (considerada como energía) es absorbida por una molécula, se origina un salto desde un estado energético basal o fundamental, a un estado de mayor energía (estado excitado). Cada molécula tiene una serie de estados excitados (o bandas) que la distingue del resto de moléculas. Como consecuencia, la absorción que a distintas longitudes de onda presenta una molécula, esto es, su espectro de absorción constituye una señal de identidad de la misma. (Díaz & Bárcena Ruiz, 2008)

En espectroscopía el término luz no solo se aplica a la forma visible de radiación electromagnética, sino también a las formas UV e IR, que son invisibles. En espectrofotometría de absorbancia se utilizan las regiones del ultravioleta (UV cercano, de 195-400 nm) y el visible (400-780 nm).



Figura 6: Espectro electromagnético (Fuente internet)

2.18 ACEITE DE MANÍ

El aceite de maní o cacahuete es comestible, dulce y sabroso. Se elabora a partir de *Arachis hypogaea*, una planta de crecimiento lento que es el único miembro de la Leguminosae de la familia Fabaceae. El maní es una legumbre que crece bajo tierra, a diferencia de otros frutos secos como nueces y almendras, que crecen en los árboles (y, por lo tanto, se llaman frutos secos).

El maní o cacahuete se cree que es originario de América del sur. Los Incas del Perú usaban los cacahuetses como ofrendas de sacrificio y los colocaban junto a sus momias para ayudar a los espíritus. Los exploradores europeos trajeron la planta a América del norte, Asia y África (Coca Laura, Rodriguez Suarez, & Chavez Vespa, 2019)

2.19 BENEFICIOS DEL ACEITE DE MANÍ

Si se usa con moderación y sin calentarlo, el aceite de cacahuete puede tener una multitud de beneficios para su salud. Este aceite comestible es un tónico natural que aumenta la inmunidad y tonifica todo el cuerpo.

Tiene altos niveles de polifenoles antioxidantes que ayudan a eliminar los radicales libres, causantes de enfermedades crónicas tales como cáncer y enfermedad de Alzheimer. El resveratrol, uno de los antioxidantes más importantes del aceite, también puede interactuar con varias hormonas tales como la angiotensina, que ayuda a constreñir los vasos sanguíneos y las arterias, disminuyendo la presión arterial y reducir el estrés en su sistema cardiovascular (Aceites esenciales, 2019)

También puede proporcionar beneficios para el corazón debido a su contenido en ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico), que ayudan a bajar sus niveles de colesterol “malo” mientras aumenta el colesterol “bueno”. Esto ayuda a prevenir dolencias cardíacas relacionadas, como enfermedades coronarias, ataques cardíacos, trazos y aterosclerosis.

Si se aplica tópicamente, puede ayudar a promover la salud de la piel, ya que es rico en vitamina e. También protege contra los radicales libres causantes de arrugas, manchas y otros signos de envejecimiento prematuro (Aceites esenciales, 2019)

2.20 INFORMACIÓN NUTRICIONAL

El maní es un alimento con un alto contenido de magnesio, mineral que ayuda a mantener los niveles de azúcar en sangre más estables. Además, tiene un alto contenido de grasas insaturadas y otros nutrientes que mejoran la capacidad del cuerpo para regular la insulina. (Ciappesoni, Colman, & Rodriguez, 2014)

En algunos estudios se ha observado que consumir maní o mantequilla de maní en las mañanas puede ayudar a controlar los niveles de azúcar en sangre durante el día.

También, consumir maní puede ayudar a disminuir “los picos” de azúcar en sangre que generan los alimentos con alto índice glicémico (los que se convierten más rápido en azúcar en sangre). Por ejemplo, hacer una merienda de solo frutas en comparación con frutas y un puñito de maní.

Propiedades del aceite de maní para bajar el colesterol.

- Rico en grasas buenas, grasas monoinsaturadas.
- Gran aporte de energía, mejorar las articulaciones y fortalecer los huesos.
- Antioxidante natural.
- El maní tiene un índice glucémico bajo de 14, lo que evita los picos de azúcar en sangre.
- Contribuye a reducir el colesterol.

Estas propiedades y beneficios logran tratar la hipercolesterolemia de manera favorable, por ello reemplaza las grasas animales por los aceites vegetales. Estos te permiten mejorar tu salud cardiovascular.

- 100 cc de aceite de maní aporta:
 - 17 g de ácidos grasos saturados.
 - 46 g de ácidos grasos monoinsaturados.
 - 32 g de ácidos grasos poliinsaturados.
 - 40 mg de Vitamina E.



Figura 7: Leguminosa y Aceite de Maní (Fuente internet)

2.21 OBTENCIÓN DE ACEITES VEGETALES DE SEMILLA

Existen 2 métodos: prensado y extracción:

El prensado ha sido el método más antiguamente utilizado y solo hasta hace poco ha empezado a ser reemplazado por el método de la extracción porque da mejores resultados para la obtención del aceite en semilla.

En un principio hubo algunas objeciones para el método de extracción y se decía que el aceite obtenido de esa forma no era apto para el consumo humano, pero se comprobó que después del refinamiento no habría ninguna diferencia entre el aceite extraído y el aceite prensado. Actualmente, se usa mucho el método de extracción, el residuo sobrante contiene menos del 1% del aceite obtenido (Fortuny Santos, 2009)

Luego de la obtención del aceite bruto viene el proceso de REFINACIÓN que implica el desgomado, la neutralización, decoloración, winterización para precipitar las estearinas, glicéridos saturados de alto punto de fusión; posteriormente se procede a la desodorización, hidrogenación y envasado (Giraldo, Velasquez, & Cuartas, 2010)

2.22 ACEITE DE MANÍ O CACAHUETE

El aceite de cacahuete, aceite de maní o aceite de cacahuete es un aceite vegetal preparado ya sea mediante cocción de los maníes (*Arachis hypogaea*) o mediante su extracción en una prensa hidráulica. Este aceite es de color muy claro y su idoneidad para aguantar altas temperaturas le convierte en aceite ideal en la cocina como aceite de freír. Tiene un sabor suave que le hace apropiado para elaborar ensaladas, mahonesas y vinagretas.

La composición de ácidos grasos del aceite de maní para consumo humano es la siguiente (en porcentaje de peso en orden descendente) (Wikipedia, 2018):

Ácido oleico (C18: 1 ω -9 monoinsaturado): 35 - 72%

Ácido linoleico (C18: 2 ω -6 poliinsaturados): 13 - 43%

Ácido palmítico (C16: 0 saturado): 7 a 16%

Ácido esteárico (C18: 0 saturado): 1,3 a 6,5%

Ácido behénico (C22: 0 saturado): 1,0 a 5,0%

Ácido araquídico (C20: 0 saturado): 0,5 a 3%

Ácido lignócerico (C24: 0 saturado): 0,5 a 3%

Ácido gadoleico (C20: 1 ω -9 monoinsaturado): 0,5 a 2,1%

Ácido alfa-linolénico (ALA) (C18: 3 ω -3 poliinsaturados): <0,6%

Ácido erúxico (C22: 1 monoinsaturado): <0,5%

2.23 MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR PRENSADO

La mayor parte del aceite de maní se produce por procedimientos mecánicos, en general mediante prensas de tornillo helicoidal y usando prensas mecánicas, utilizando granos de maní “blanqueado” (sin tegumento) y tostado. Para llevar a cabo el “blanqueado” del maní, se utiliza energía eléctrica y calor, aunque también se usa medios manuales para hacer el proceso. En el presente trabajo se propone procesar el grano para la extracción del aceite (Fortuny Santos, 2009)

Se realizó un diseño multifactorial para evaluar el efecto de los siguientes parámetros:

- Contenido de humedad del material (6, 9 y 12 %, b.h.),
- Temperatura de prensado (50 a 90 °C),
- Tiempo de prensado (10 minutos)

Ventajas de la obtención de aceite por prensado:

- Moderado coste de operación
- Máquinas de sencillo funcionamiento
- Gasto de energía mínimo (eléctrico y gas)
- Producto obtenido de alta calidad y con poco post procesamiento

2.24 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DEL ACEITE DE MANÍ

Los parámetros fisicoquímicos que se analizan en un aceite comestible nos brindan la información, la calidad de este, es decir, si cumple con las normas de calidad establecidas por el ente regulador encargado, en este caso el IBNORCA.

En la actualidad, los para metros a cumplir en los aceites comestibles redactadas por el IBNORCA son:

- Densidad relativa
- Índice de refracción
- Índice de acidez (Como ácido oleico)
- Índice de saponificación
- Índice de peróxido

La norma boliviana NB 34056:2017 de Aceites y grasas – Aceite de sésamo, es la norma en la que se basó el análisis de calidad del producto final.

Estos parámetros que se estudiaron ayudaran con los siguientes objetivos:

- Identificar atributos físicos y químicos.
- Identificar si la adición de ácido oleanólico al aceite de maní provoca alteraciones en los parámetros fisicoquímicos que debe cumplir un aceite comestible
- Detectar adulteraciones y falsificaciones
- Caracterizar calidad frente a NORMAS

2.24.1 DENSIDAD RELATIVA A 25 °C.

Es la relación entre la masa de un volumen dado de sustancia a 25 °C y la masa de un volumen idéntico de agua a 25 °C. La temperatura ambiente del lugar donde se calibre el picnómetro y se realice la determinación deberá ser menor a 25 °C. Durante la calibración

del picnómetro y durante la determinación de la densidad relativa, el picnómetro deberá estar completamente limpio y no deberá entrar en contacto directo con las manos del operador.

2.24.2 ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción (IR) se define como la relación entre la velocidad de la luz en el aire (técnicamente, un vacío) y la velocidad de la luz en el aceite. El IR está relacionado con el grado de saturación; el IR disminuye linealmente conforme disminuye el índice de yodo. El IR se utiliza también como una medida de la pureza y como un medio de identificación, puesto que cada sustancia presenta un IR característico. Sin embargo, el IR es influido por factores, como el contenido en ácidos grasos libres, la oxidación, calentamiento de la grasa y el aceite (Martinez Carrillo, 2016)

2.24.3 ÍNDICE DE ACIDEZ

El índice de acidez (IA) refleja la cantidad de ácidos grasos hidrolizados a partir de los triglicéridos. El grado de acidez es el porcentaje en peso expresado en función de un ácido graso específico (el oleico). El índice de acidez se define como los miligramos de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos libres presentes en 1 g de aceite. Se analiza volumétricamente una muestra líquida de grasa disuelta en etanol del 95% neutralizado, con hidróxido de sodio valorado, hasta el punto final de la fenolftaleína. Se usan el volumen y la normalidad del hidróxido de sodio consumido, junto con el peso de la muestra, para calcular el índice de acidez (Manrique, 2010)

2.24.4 ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN

El índice de saponificación (IS) es expresado como el número de miligramos de KOH requeridos para saponificar los ácidos grasos libres y combinados, presentes en un gramo de grasa, y ofrece una medida del peso molecular promedio de los triglicéridos que constituye la grasa (Chatterjea & Shinde, 2012; Nielsen, 2003)

2.24.5 ÍNDICE DE PERÓXIDO

El Índice de peróxido se define como los miliequivalentes de oxígeno activo contenidos en un kilogramo de grasa, tal y como se determina en un procedimiento volumétrico para medir la cantidad de grupos peróxidos o hidroperóxidos. A una cantidad conocida de grasa o de aceite, se le añade un exceso de yoduro de potasio, el cual reacciona con los peróxidos contenidos en la muestra. El yodo liberado se determina volumétricamente con una disolución de tiosulfato de sodio, previamente valorada frente a un patrón, utilizando como indicador la disolución de almidón. Para determinar el índice de peróxidos, se utiliza la cantidad calculada de yoduro de potasio necesaria para reaccionar con los peróxidos presentes (Brumovsky & Horianski, 2016)

2.25 CONSUMO DE ÁCIDO OLEANOLICO

En el estudio PREDIABOLE 176 personas prediabéticas (glucemia basal alterada y tolerancia alterada a la glucosa) de ambos sexos y de edades comprendidas entre 30 y 80 años, fueron aleatorizadas para recibir 55 ml / día de aceite de oliva enriquecido con ácido oleanólico (dosis equivalentes a 30 mg / día en el grupo de intervención), o el mismo aceite no enriquecido (grupo control). El resultado principal fue la incidencia de diabetes tipo 2 en ambos grupos. Los participantes fueron reclutados por sus médicos de familia, pertenecientes a 25 centros de salud, y seguidos durante una mediana de 27,5 meses.

Los resultados del estudio pusieron de manifiesto que el consumo del aceite de oliva enriquecido en ácido oleanólico, a la dosis diaria indicada anteriormente, reduce a la mitad el riesgo de desarrollar diabetes en individuos prediabéticos (Ver Anexo D). No se informaron efectos adversos relacionados con la intervención.

El estudio ha sido financiado por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía y por el Instituto de Salud Carlos III. El grupo olivarero ACESUR (Dos Hermanas, Sevilla) ha

colaborado aportando el aceite de oliva necesario para la realización del ensayo (Lapetra, Castellano, & Santos, 2021)

2.26 MECANISMO DE ACCION DEL ÁCIDO OLEANÓLICO PARA LA REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA

La diabetes mellitus se caracteriza por el aumento crónico de los niveles de glucosa y afecta aproximadamente al 6% de la población occidental adulta. Se estima que existirá un aumento del 46% en diez años. Este significativo aumento se espera en países en desarrollo de África, Asia y América del Sur (Rojas & Molina, 2012)

La diabetes mellitus se clasifica en dos formas:

A) DIABETES TIPO 1, es una enfermedad autoinmune caracterizada por una deficiencia de insulina y puede ser tratada con insulina exógena.

B) DIABETES TIPO 2, implica una secreción anormal de insulina, y/o resistencia a la insulina donde los niveles de glucosa para estos pacientes son controlados principalmente por dieta, ejercicio e hipoglicemiantes orales y/o administración de insulina.

2.26.1 GLUCÓGENO FOSFORILASA A Y SU RELACIÓN CON TRITERPENOS

La regulación de la producción hepática de glucosa a través de la glucogenólisis es un importante blanco para la terapia de la diabetes tipo 2. La glucogenólisis es catalizada en el hígado, músculo y cerebro por isoformas tejido específico de enzimas glicógeno fosforilasa (GP). Numerosos estudios han demostrado que la producción hepática de glucosa es mayor en diabetes mellitus 2 en el estado post-pandrial y se correlaciona directamente con la hiperglicemia en ayunas. La principal enzima reguladora de la glucogenólisis es la GP y solo la forma fosforilada tiene actividad significativa (GP_a). La GP_a libera glucosa-1-fosfato a partir de glucógeno, el cual juega un papel importante para la glucogenólisis en la producción

de glucosa hepática. Por lo tanto, la inhibición de la GP_a hepática podría suprimir la producción de glucosa derivada tanto de la glucogenólisis como de la gluconeogénesis. En vista de los mecanismos expuestos anteriormente la inhibición de GP_a ha sido considerada como una estrategia terapéutica para el control de la glucosa en sangre, varios estudios han demostrado la eficacia de los inhibidores de GP_a en reducir la glicemia en modelos animales de diabetes y ensayos clínicos. Hasta la fecha se han evaluado varias clases estructurales de inhibidores de GP_a, entre ellos los triterpenos pentacíclicos puros, mostrando que la mayoría presenta moderada actividad inhibitoria sobre GP_a (Queupil Carrasco, 2011).

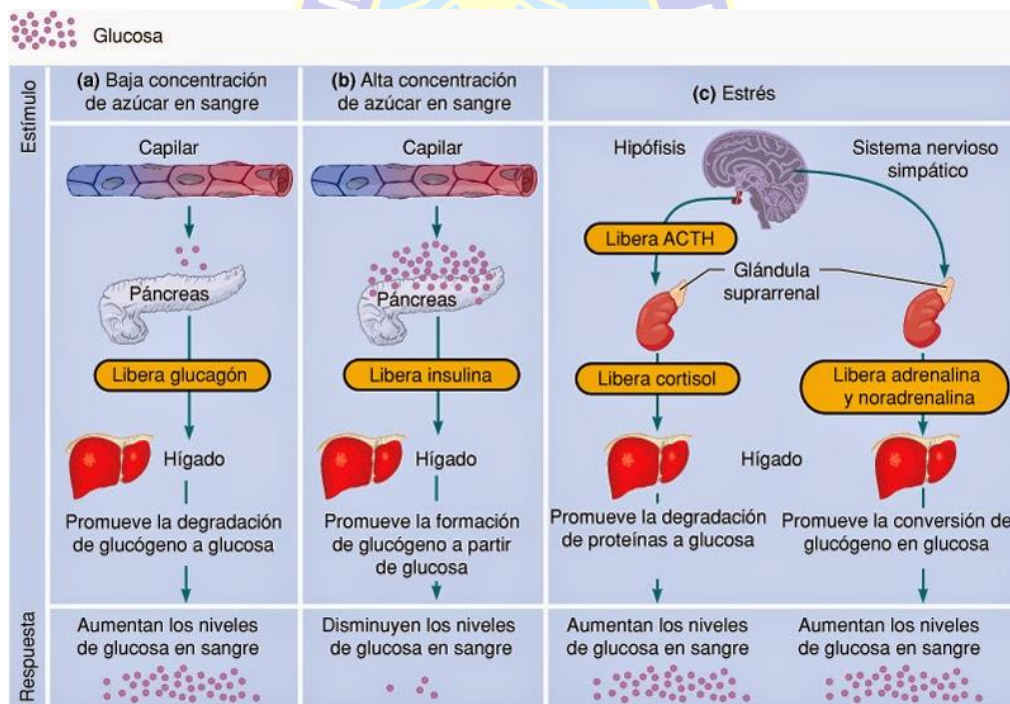


Figura 8: Representación esquemática del proceso de regulación de glicemia (Fuente biologiaterceroiem.blogspot.com)

2.27 TOXICIDAD DEL ÁCIDO OLEANÓLICO

2.27.1 TOXICIDAD AGUDA (DOSIS LETAL MEDIA).

La evaluación toxicológica de una mezcla de AU/AO obtenida a partir de *B. ternifolia* fue superior a 300 mg/kg en ratones, de ambos sexos, de acuerdo con el método usado para la evaluación. A esta dosis no se observaron signos de toxicidad o muerte durante los 14 días posteriores al tratamiento cuando los animales son administrados por vía s.c. No se realizaron evaluaciones a dosis superiores, tomando en cuenta que las concentraciones que tienen actividad biológica para este tipo de compuestos son mucho menores; por ejemplo, la DE50 como agente antiinflamatorio es de 56 µg/cm² para AU y 132 µg/cm² para AO. Como agente anti micobacteriano la CMI es ≤50 µg/ml y como agente hepatoprotector 200 µmol/kg. (Cornejo Garrido, AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA Y ANTIMICOBACTERIANA DE ÁCIDO URSÓLICO Y ÁCIDO OLEANÓLICO., 2012)

2.27.2 TOXICIDAD SUBAGUDA (DOSIS REPETIDA POR 28 DÍAS).

En el estudio de toxicidad subaguda no se encontraron signos o síntomas de toxicidad (como piloerección o alteraciones en la actividad motora) o casos de muerte en los grupos tratados cuando fueron comparados con los grupos control para animales de ambos sexos. Los pesos de los ratones no presentan variaciones significativas durante el periodo de tratamiento. Los pesos de los diferentes órganos no presentan diferencias significativas al ser comparados con el grupo control y el grupo vehículo. Los órganos internos no muestran ningún tipo de lesión morfológica macroscópica. Los resultados obtenidos indican que la mezcla de AU/AO no afecta el crecimiento de los ratones durante el periodo de tratamiento ni afecta el peso de los diferentes órganos.

3 Capítulo III: METODOLOGÍA DEL DESARROLLO

3.1 METODOLOGÍA DE DESARROLLO

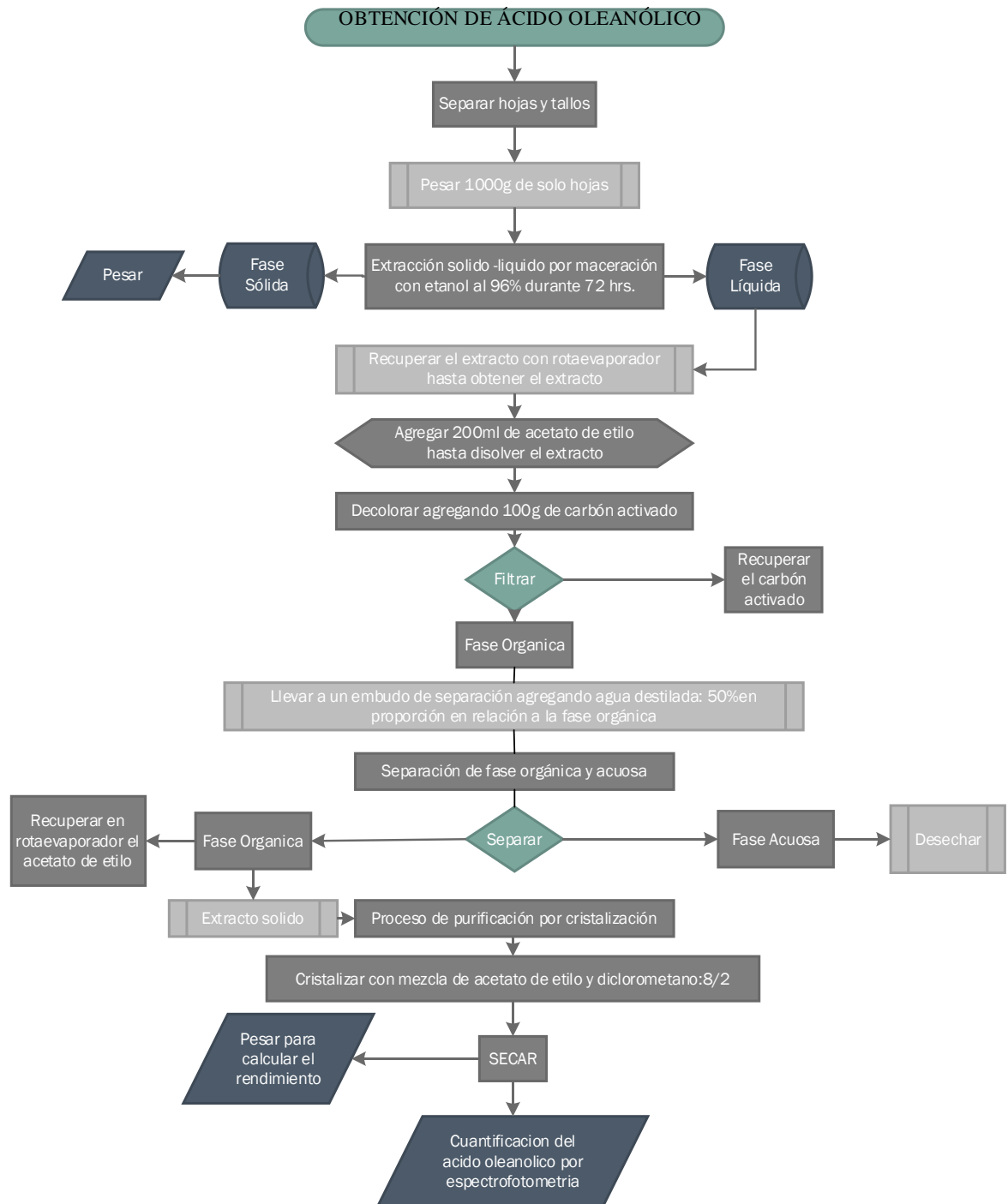


Figura 9: Diagrama de flujo para la obtención de ácido oleanólico (Elaboración propia)

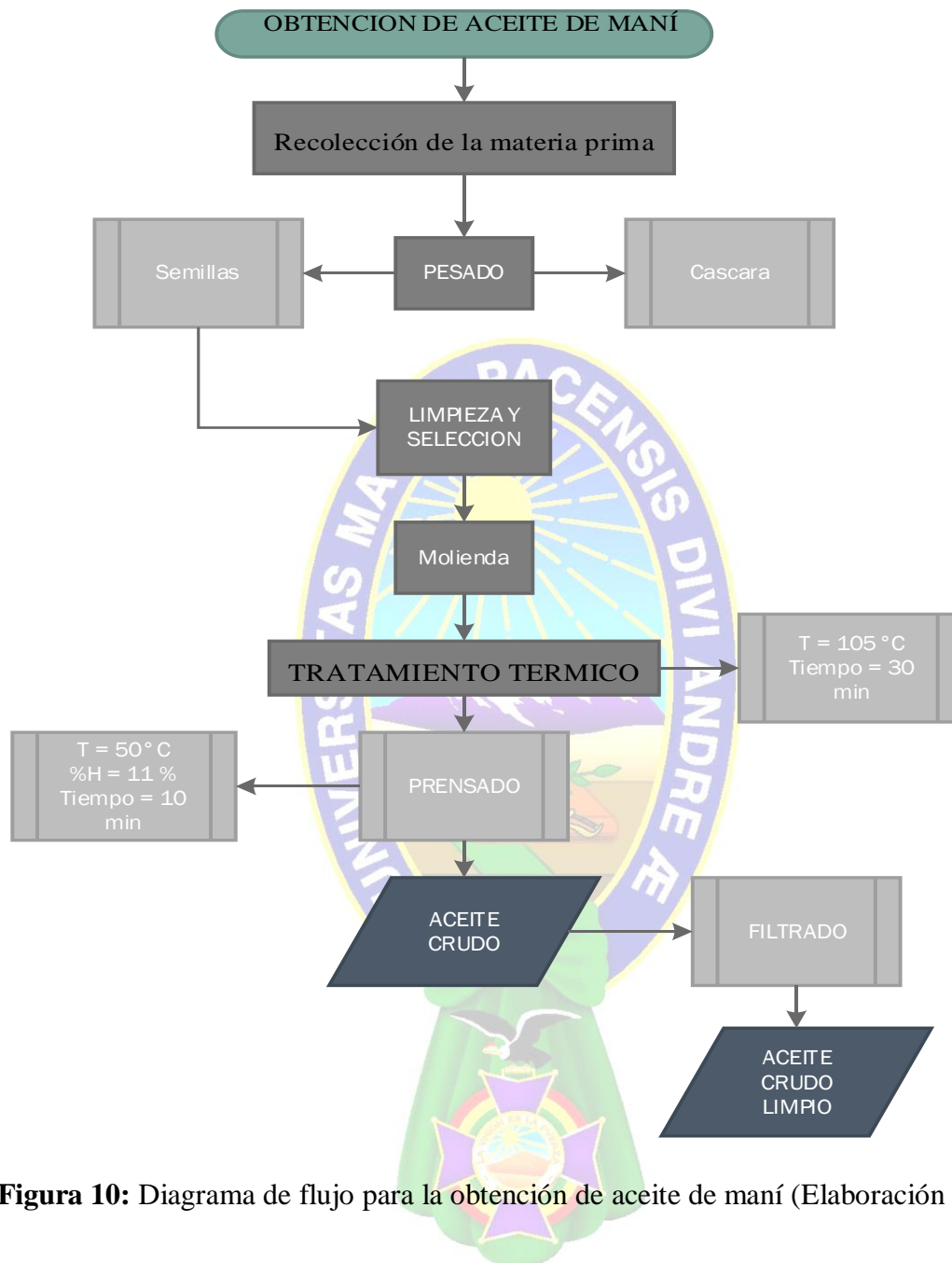


Figura 10: Diagrama de flujo para la obtención de aceite de maní (Elaboración propia)

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 MATERIA PRIMA:

1200 g de Hojas secas de lampaya (*Lampayo castellani* M.)

1000 g de maní (*Arachis hypogaea*)

3.2.2 REACTIVOS:

Etanol 96% de pureza.

Acetato de etilo.

Diclorometano.

Carbón activado.

Agua destilada.

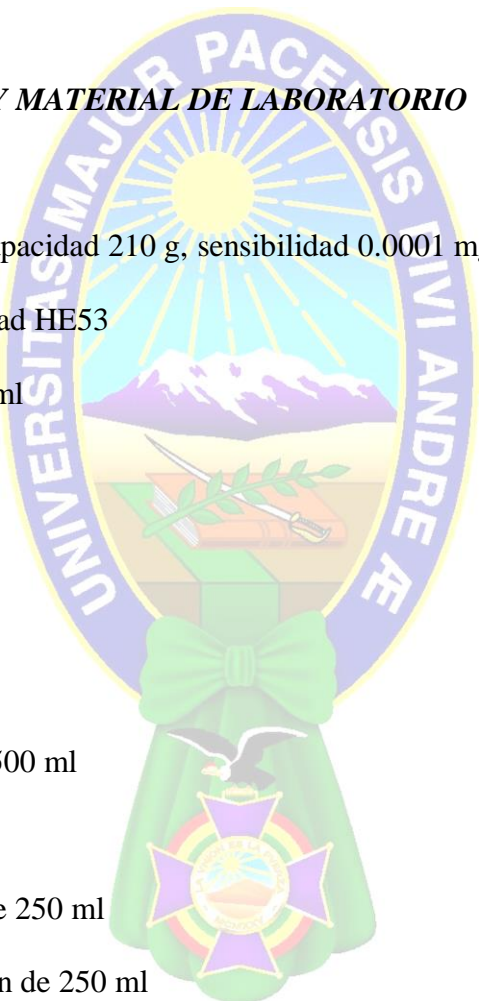
3.2.3 EQUIPOS Y MATERIAL DE LABORATORIO

Equipos. -

- Balanza Analítica. Capacidad 210 g, sensibilidad 0.0001 mg.
- Analizador de humedad HE53
- Rotaevaporador 500 ml
- Horno
- Prensa hidráulica
- Cilindro de plástico

Materiales. -

- Frascos de vidrio de 500 ml
- Pipetas de 1, 5, 10 ml
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Embudo de separación de 250 ml
- Embudo de vástago corto
- Vasos de precipitado de 50, 150 y 250 ml
- Vidrio de reloj
- Goteros
- Tubos de ensayo



3.3 OBTENCIÓN DE ÁCIDO OLEANÓLICO

3.3.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL

La recolección de la especie vegetal se realizó en un viaje de colecta al municipio de Challapata en la provincia de Avaroa en el departamento de Oruro.

Se recolecto 1200g de materia prima aproximadamente.



Figura 11: Lampaya recolectada

3.3.2 SECADO

Una vez recolectada la materia prima se procedió al secado de esta, dejando la muestra en un lugar seco y apartado de la luz solar por dos meses.

Luego se separó hojas y tallos, para luego determinar la humedad del material utilizando un equipo METTLER TOLEDO HE53, el análisis nos dio una humedad del de 5.88%.

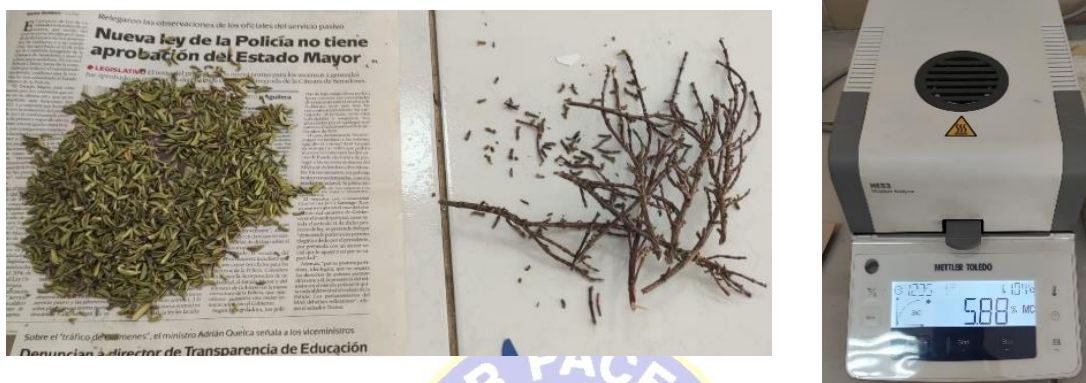


Figura 12: Secado de las hojas de lampaya y determinación de humedad

3.3.3 MACERADO

Terminado el desengrasado se filtra las hojas y el éter, estas se dejan secar a ambiente hasta la total volatilización del éter, se recupera el éter separado por rota evaporador, una vez secas las hojas se procede a la maceración de la materia prima, este proceso se realizó con etanol al 96% durante 72 horas.



Figura 13:Proceso de extracción solido-líquido por maceración

Terminado el proceso de extracción sólido - líquido por maceración, se procede a recuperar el solvente por rota evaporador, para así obtener el extracto vegetal.



Figura 14: Recuperado del extracto etanólico por rota evaporación

3.4 PRUEBAS FITOQUÍMICAS PRELIMINARES

Al extracto etanólico obtenido se realizaron pruebas cualitativas para la identificación de alcaloides, azúcares, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides. A continuación, se describen los métodos utilizados:

Método de identificación de alcaloides:

3.4.1 Test de Mayer

Una pequeña cantidad de extracto se disuelve con etanol, luego se añade una o dos gotas del reactivo de Mayer por la pared del tubo de ensayo. Un precipitado blanco o crema indica que el test es positivo.

Método de identificación de azúcares:

3.4.2 Test de Fehling

Una pequeña cantidad de extracto se disuelve en etanol, luego se añade 1 ml de la solución A y B Fehling, para el test, agitar y calentar a ebullición. un precipitado de color rojizo o naranja muestra que la prueba es positiva.

Método de identificación de saponinas:

3.4.3 Test de espuma

Una pequeña cantidad de extracto disuelto con agua destilada y se afora a 5 ml. La suspensión se agita en una probeta de 10ml y se deja reposar 15 minutos. Una columna de 2 cm de espuma indica la presencia de saponinas.

Método de identificación de compuestos fenólicos:

3.4.4 Test de cloruro férrico

El extracto (5mg) es disuelto en 1 ml de etanol. A esta mezcla se le añaden algunas gotas de cloruro férrico al 5%. Un color verde oscuro, azul, azul oscuro indica la presencia de polifenoles.

Método de identificación de taninos:

3.4.5 Test de acetato de plomo

El extracto (50mg) es disuelto en agua destilada y a esta solución se le añaden 3ml, de una solución de acetato de plomo al 10%. Un precipitado blanco y voluminoso indica la presencia de compuestos fenólicos

3.4.6 Método de identificación de flavonoides

El extracto (10mg) es disuelto en 4 ml y algunos fragmentos de magnesio metálico son añadidos seguidos de ácido clorhídrico concentrado (por goteo) esta reacción produce una coloración naranja, rosa, roja a púrpura, si se reemplaza con zinc en lugar de magnesio solo dan como resultado positivo los flavonoles de color rojo intenso a magenta, flavononas y flavonoles dan una coloración rosa débil a magenta o directamente ningún color.

Método de identificación de triterpenos:

3.4.7 *Reacción de Liberman – Burchard*

Extracto (5mg) se le agrega 1 ml de cloroformo y disolver en un tubo de ensayo, después agregar pocas gotas de ácido acético más 3 ml de anhídrido acético/H₂SO₄ (50:1) en proporción de cada uno, esperar unos 10 minutos a la coloración de la muestra, compuestos triterpenoidales dan color rosa o púrpura y compuestos esteroidales dan un color azul verdoso.

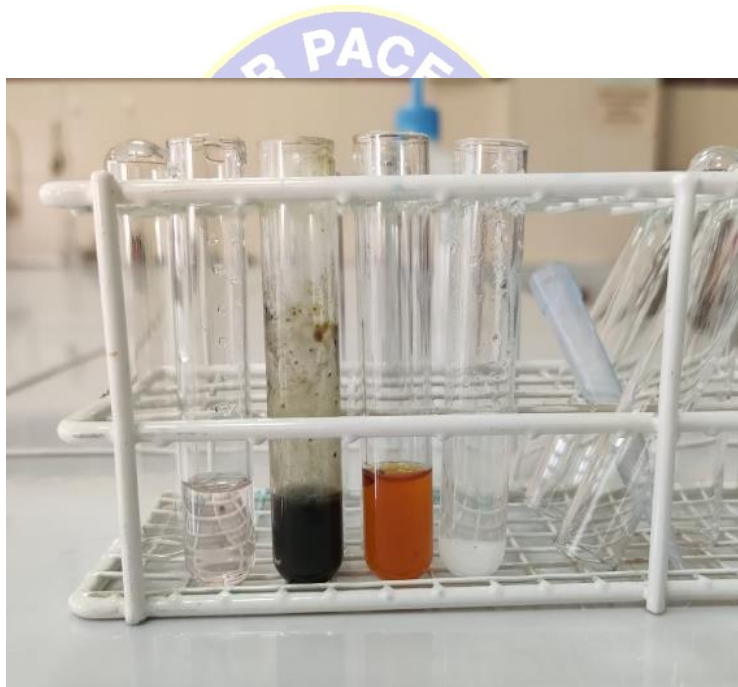


Figura 15: Pruebas cualitativas hechas en el extracto etanólico

3.5 PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS PRELIMINARES

3.5.1 *Cromatografía en Capa Fina*

En la cromatografía en capa fina (CCF) la fase estacionaria consiste en una capa delgada de un adsorbente (como por ejemplo gel de sílice, alúmina o celulosa) depositada sobre un soporte, una lámina de aluminio o de plástico. La fase móvil (líquido o eluyente) se introduce en una cubeta cromatográfica, de forma que solo la parte inferior de la placa queda sumergida en el líquido y asciende por la placa de CCF por capilaridad. Cuando son visibles las

fracciones, se puede determinar el valor de R_f (factor de retención), o la distancia que cada compuesto se desplaza en la placa (Jorin Novo & Barcena Ruiz, 2001).

$$R_f = \frac{\text{Distancia de la sustancia al origen}}{\text{Distancia del frente del eluyente al origen}}$$

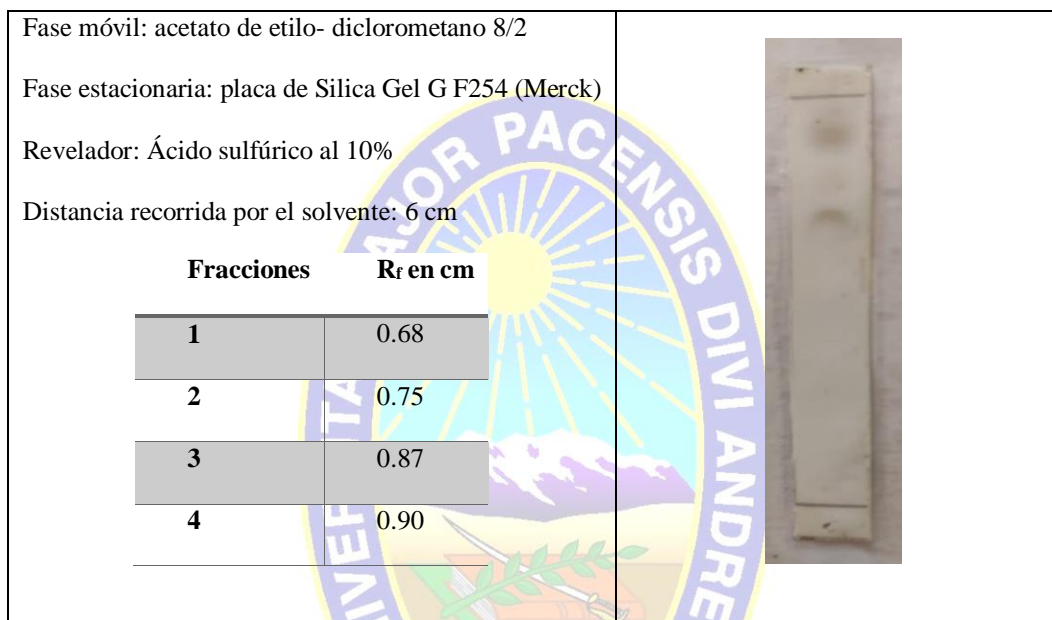


Figura 16: Cromatografía en capa fina al extracto etanólico

La cromatografía en capa fina se realizó con una fase estacionaria Silica Gel y una fase móvil de acetato de etilo- diclorometano 8/2 en relación de volumen, sembramos el aceite sobre la placa y se introdujo a una cubeta cromatográfica, se esperó que recorra la fase móvil sobre la fase estacionaria, se activó la placa y se reveló con ácido sulfúrico al 10%. Posteriormente, se realizó la medición de la distancia recorrida por el compuesto y disolvente.

3.6 DECOLORACIÓN

Al extracto vegetal seco obtenido se le agregó 100ml de acetato de etilo para disolver este,

una vez disuelto el extracto se pesó 100 g de carbón activado granular y este se agregó a la solución dejando reposar durante 24hrs para que el carbón activado absorba la mayor cantidad de colorante vegetal que contenga el extracto vegetal obtenido.



Figura 17: Proceso de decoloración del extracto etanólico

La porosidad facilita la absorción, mediante el cual la materia se adhiere a la superficie de un absorbente, en este caso el carbón activado. Gracias a esta absorción es que el carbón activado llega a tener una gran capacidad de retención.

El carbón activado actúa atrapando impurezas, pesticidas, colorantes y también remueve los contaminantes que generan olores.

3.7 EXTRACCIÓN LIQUIDO - LIQUIDO

El procedimiento se realizó empleando solventes no polares y agua destilada, los solventes utilizados fueron una mezcla de acetato de etilo y diclorometano en una proporción 8/2, que luego se agregó 100ml de esta mezcla al extracto vegetal, se disolvió y se trasvasó a un embudo de separación, se agregó 100ml de agua destilada, se agitó durante 15 minutos, luego se dejó decantar durante media. Se procedió a recuperar las fases orgánica y acuosa, el ácido oleónico se encontraba en la fase orgánica permitiendo desechar la fase acuosa.



Figura 18: Extracción Líquido-líquido (Separación de azúcares)

3.8 PROCESO DE PURIFICACIÓN POR CRISTALIZACIÓN

Se recuperó el extracto obtenido llevando la fase orgánica en rotaevaporador, para luego realizar el proceso de purificación por cristalización del extracto obtenido, usando acetato de etilo, como disolvente para purificar el extracto, se procedió a calentar el acetato de etilo, para así aumentar la solubilidad del extracto en este, para luego por un cambio brusco de temperatura poder cristalizar el ácido oleanólico presente en la muestra.



Figura 19: Proceso de purificación (Cristalización con solventes orgánicos)

3.9 PRUEBAS FITOQUÍMICAS FINALES

Al extracto obtenido se aplicaron nuevamente pruebas cualitativas para la identificación de alcaloides, azúcares, compuestos fenólicos, flavonoides y triterpenos. En las cuales se pudo denotar que aplicando los métodos de aislamiento y purificación utilizados ayudaron a aislar el ácido oleanólico de la manera más viable.



Figura 20: Pruebas cualitativas finales

3.10 PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS FINALES

Aplicando la técnica de cromatografía en capa fina se pudo ver que la purificación de la muestra fue efectiva, es decir, que los otros componentes obtenidos en el extracto etanólico fueron eliminados casi por completo hasta la fase final del proceso de purificación.

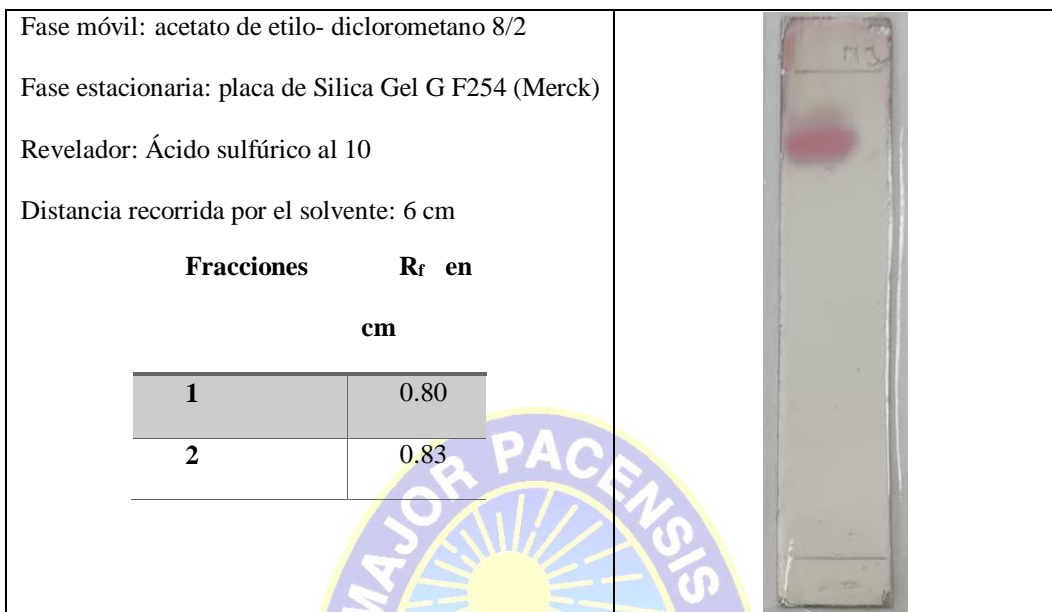


Figura 21: Pruebas cromatográficas finales

3.11 ESPECTROSCOPIA UV- VISIBLE

Se realizó los barridos espectrales para cada aceite con el espectrofotómetro UV- Vis. Doble haz (PERSEE). Se definió parámetros en modo Spectrum con la lámpara de Deuterio, entre longitud de onda 170 – 340 nm. Para la determinación de la longitud de onda de absorción del ácido oleanólico. Utilizando la longitud de onda de mayor absorción y un patrón de ácido oleanólico obtenido en la Carrera de Química-Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la UMSA. Se preparó soluciones patrón de 100, 200, 300, 400 ppm de concentración, utilizando acetato de etilo como disolvente.



Figura 22: Espectrofotómetro UV-Visible (PERSEE)

3.12 RENDIMIENTO

Para la determinación del rendimiento del proceso de obtención de ácido oleanólico y también para la obtención de aceite de maní por prensado, se aplicaron las siguientes expresiones matemáticas, y se aclaran los valores numéricos:

Rendimiento para la extracción sólido-líquido:

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final}}{\text{masa inicial}} \times 100\%$$

3.13 OBTENCIÓN DE ACEITE DE MANÍ

3.13.1 RECOLECCIÓN DE MATERIA PRIMA

Para la recolección de materia prima (maní), se buscó en los mercados de la ciudad de La Paz y El Alto, se aprovechó los meses de julio y agosto que es temporada del producto y este llega desde el departamento de Chuquisaca.

Se seleccionó la materia prima de cáscara oscura, ya que en bibliografía presentaría mayor rendimiento al momento de la obtención de aceite de maní.



Figura 23: Maní recolectado

3.13.2 LIMPIEZA Y DESCASCARADO

Se limpió y selecciono la materia prima que no presentara defectos, es decir producto seco, producto malgrado por el transporte realizado.



Figura 24: Maní descascarado

3.13.3 MOLIENDA

Es una operación unitaria que implica una transformación física de la materia sin alterar su naturaleza, reduce el volumen promedio de las partículas de una muestra sólida, al dividir o fraccionar la muestra por medios mecánicos hasta el tamaño deseado



Figura 25: Proceso de Molienda del maní

3.13.4 TRATAMIENTO TERMICO

La extracción de aceite de maní aumenta a 80° C, por lo que se empleó un horno de cocina para el tratamiento térmico, empleando un termómetro se controló la temperatura del maní, para luego llevar a una prensa hidráulica, y proceder con el prensado.



Figura 26: Proceso de tratamiento térmico del maní a 80°C

3.13.5 EXTRACCIÓN POR PRENSADO

Con el método de extracción de aceite por prensado se basa en el principio de aplicar una fuerza sobre una determinada superficie de la pulpa de maní dentro de una cavidad para extraer aceite (óleo) de consumo doméstico.

Se presiona la masa molida de maní dentro de un cilindro-criba por medio de un pistón de tornillo. El aceite se recolecta dentro de un tarro que lo dirige hacia el envase.

Aumenta la cantidad de aceite extraído por kilo de masa, ya que las pérdidas son mínimas, comparadas con la extracción tradicional.

Como una de las ventajas de usar este método de obtención, se tiene un bajo costo y mayor rapidez en el proceso. Permite envasar directamente en un recipiente al mismo tiempo y como desventaja se tiene que, aunque el porcentaje de aceite es mayor que con la técnica tradicional, una buena parte queda atrapado en la fibra y no puede ser extraído por este método.



Figura 27: Proceso de prensado para la obtención de aceite de maní (Ver Anexo E)

3.13.6 FILTRADO

La filtración es una operación unitaria donde se consigue la separación de los sólidos que se encuentran suspendidos en un medio líquido, haciendo pasar la suspensión a través de un medio poroso, el cual va a retener las partículas sólidas dejando pasar el líquido.



Figura 28: Proceso de filtrado del aceite obtenido después del filtrado

3.14 PREPARACIÓN DEL PRODUCTO FINAL

En este caso, “enriquecer” significa agregar de este componente natural al aceite de maní. Podemos agregarlos niveles “normales” de ácido oleanólico al aceite de maní, mediante la adición del compuesto altamente purificado procedente de la hoja de Lampayo y aprovechando la naturaleza “lipofílica” del ácido oleanólico se hizo la adición de este al aceite de maní, para aprovechar el elevado potencial farmacológico del ácido oleanólico, debemos conseguir dosis terapéuticas del compuesto.

3.14.1 DOSIS DE CONSUMO DEL PRODUCTO FINAL

Basándonos en el estudio del potencial antidiabético del ácido oleanólico. Se sugiere que la cantidad de ácido oleanólico que se debe consumir es de 30mg de ingesta diaria

solubilizados en 55ml de aceite de maní. Que se sugieren distribuir libremente este volumen de aceite entre las tres comidas principales (desayuno, almuerzo y cena), incorporándolo a su elección en tostadas, ensaladas, pescados o carnes a la plancha, etc.



Figura 29: Preparación de producto final (Aceite de maní + Acido oleanólico)

3.14.2 FORMULACIÓN DEL PRODUCTO FINAL

El producto final se elaboró en un recipiente de plástico de capacidad de 120ml de aceite de maní, donde se le agregaron 60mg de ácido oleanólico, en donde se procedió a disolver este.



Figura 30: Mezclado de aceite de maní y ácido oleanólico

3.15 CONTROL DE CALIDAD PRODUCTO FORMULADO.

3.15.1 PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS

Las características organolépticas del aceite (sabor, color, olor, textura) dependen de los componentes del fruto y los procesos de extracción que se utilicen, permitiéndoles conservar su color y variedad de nutrientes, si no es expuesto a un proceso de refinación.

3.15.2 PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS

Los parámetros de control de calidad que se aplicaron al producto obtenido, están basados en la NB 161:2016 de la norma boliviana para aceites comestibles enriquecidos. Los parámetros que se evaluaron fueron: densidad relativa, índice de acidez, índice peróxido, índice saponificación, índice de refracción, punto de congelación y rancidez.

3.15.2.1 DENSIDAD RELATIVA

Densidad a 20 °C. La densidad relativa es la masa de la unidad de volumen, dado del aceite a 20 °C con respecto a la masa de un volumen igual de agua destilada. La densidad relativa no tiene dimensiones siendo su símbolo " ρ ".

Se preparó un picnómetro de 5 ml, se limpió y se pesó vacío en una balanza analítica (METTLER TOLEDO). Se llenó el picnómetro con agua destilada y se pesó. Se llenó con aceite de maní y se realizó la pesada. Se vació el picnómetro y se lavó con etanol para eliminar todo vestigio de aceite esencial. Según la NB 34021:2007 Aceites y grasas - Determinación de la densidad relativa a 20 °C ± 5 °C (Primera revisión). La densidad relativa viene dada por la siguiente expresión.

$$\rho_r = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Dónde:

m_0 = es la masa, en gramos, del picnómetro vacío.

m1 = es la masa, en gramos, del picnómetro lleno de agua.

m2 = es la masa, en gramos, del picnómetro lleno de aceite esencial.



Figura 31: Medición del peso específico del producto obtenido

3.15.2.2 ÍNDICE DE ACIDEZ

La acidez de las sustancias grasas es muy variable. Generalmente, las grasas frescas o recién preparadas no contienen ácidos grasos libres o si los contienen los tienen en muy pequeñas cantidades, al envejecer, especialmente si no han estado protegidos de la acción del aire y la luz su acidez crece lentamente al principio y con cierta rapidez después.

En un matraz Erlenmeyer se depositó 2 gramos del aceite obtenido y 5ml de alcohol absoluto. Se adicionó 3 a 5 gotas de indicador fenolftaleína y se agitó completamente. Sin detener la agitación, se fue titulando con la base ya preparada de (KOH) desde la bureta, gota a gota, hasta que aparezca color rosa que persista 30 segundos. Se anotó el volumen de (KOH) gastados y se aplicó la expresión según NB 34004:2007 Aceites y grasas - Determinación del porcentaje de acidez en relación al ácido oleico.

La determinación del IA, se emplea la siguiente expresión:

$$IA = \frac{V * C * P_{meq} \text{ Ac. Oleico} * 100}{m}$$

Dónde:

V = es el volumen en mililitros de hidróxido de potasio utilizado en la neutralización.

c = es la concentración exacta, en moles por litro de la solución de hidróxido de potasio.

Pmeq Ac.Oleico = es el peso miliequivalente del Ácido Oleico

m = es la masa en gramos de la porción de ensayo



Figura 32: Titulación ácido - base para la determinación de la acidez del producto obtenido

3.15.2.3 ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción de los aceites esenciales es la relación entre la velocidad de un haz de luz en el vacío y la velocidad del haz de luz cuando esta pasa por el aceite esencial, el que se mide con el refractómetro. Se verificó la calibración del refractómetro ABBE DE BANCADA (QUIMIS ISO 9001), con agua destilada y luego de limpiar y secar se depositó una o dos gotas de aceite sobre el prisma principal y se cerró dejando la muestra entre dos prismas. Una vez ajustado el campo se tomó el dato de la escala a temperatura de 20°C. Las mediciones se realizaron por triplicado de cada muestra.

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,0004 (t' - t)$$

$n_D^{t'}$ = es el valor de la lectura, obtenida a la temperatura de trabajo t' la cual se ha efectuado la determinación. t = es la temperatura de referencia es de 20°C.

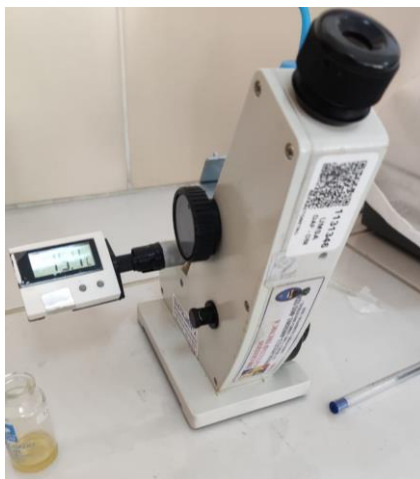


Figura 33: Refractómetro ABBE DE BANCADA (QUIMIS ISO 9001)

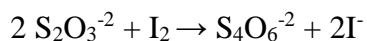
3.15.2.4 ÍNDICE DE PERÓXIDO

Mide el grado de oxidación primaria de un aceite y nos indica el estado de conservación del aceite.

Se determina por la capacidad que tiene el oxígeno activo de oxidar al yoduro de potasio (KI) y liberar yodo (I_2)

Que se valora con tiosulfato (Na_2SO_3)

Utilizando una solución de almidón como indicador



El índice de peróxidos se define como los miliequivalentes de oxígeno activo contenido en 1 Kg de aceite o grasa

El cálculo se lo hace empleando la siguiente fórmula:

$$IP (mEq O_2/Kg) = \frac{V_{muestra} - V_{blanco} * N * 1000}{g \text{ de aceite}}$$

Donde:

V_{muestra} = ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gastado en la muestra

V_{blanco} = ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gastado en el blanco

N = normalidad del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

g de aceite = peso en gramos del aceite



Figura 34: Determinación del índice de peróxido

3.15.2.5 ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN

El índice de saponificación, o número de saponificación, representa la cantidad de miligramos de hidróxido de potasio (KOH) o hidróxido de sodio (NaOH) necesarios para saponificar un gramo de grasa en las condiciones especificadas. Es una medida del peso molecular promedio (o longitud de cadena) de todos los ácidos grasos presentes en la muestra como triglicéridos. Cuanto mayor sea el índice de saponificación, menor será la longitud media de los ácidos grasos, menor será el peso molecular medio de los triglicéridos y viceversa. En la práctica, las grasas o los aceites con alto valor de saponificación (como el aceite de coco y de palma) son más adecuados para la fabricación de jabón.

Para la determinación se usa la siguiente expresión:

$$IS \left(mg \text{ de } \frac{KOH}{g} \text{ muestra} \right) = \frac{(N_{KOH} * V_{KOH} - N_{HCl} * V_{HCl}) * 56.1}{g \text{ de aceite}}$$

Donde:

N_{KOH} = Normalidad del KOH

V_{KOH} = Volumen usado de KOH

N_{HCl} = Normalidad del HCl

V_{HCl} = Volumen gastado de HCl

PM KOH = Peso molecular del KOH

g de aceite = masa de aceite utilizado



Figura 35: Determinación del índice de saponificación

4 Capítulo IV: ANÁLISIS Y RESULTADOS

4.1 IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

La identificación botánica de la especie colectada, fue realizada en el herbario nacional de Bolivia (La Paz-Bolivia) (Ver anexo 1), por la Lic. Rossy de Michel, identificándose la siguiente especie:

Tabla 1: Identificación botánica (Ver Anexo A)

Muestra vegetal	Nombre científico	Familia
Lampayo	Lampayo castellani M	Verbenaceae

4.2 DETERMINACIÓN DE MASAS OBTENIDAS Y RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE ÁCIDO OLEANÓLICO

4.2.1 CÁLCULO DEL RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO

Para el cálculo del rendimiento de extracto preliminar obtenido, es decir, el extracto etanólico se tomó como base las masas obtenidas en la fase de extracción por maceración:

Tabla 2: Masas empleadas para la maceración

N° de extracción	Masa de hojas de lampayo en “g”	Masa del extracto etanólico en “g”
1	110.05	12.09
2	114.20	13.20
3	121.85	16.01
4	110.60	12.30

5	118.11	14.21
6	113.77	12.57
7	115.32	12.89
Total	803.90	93.27

- Cálculo del rendimiento total:

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final total}}{\text{masa inicial total}} \times 100\%$$

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{93.27}{803.90} \times 100\%$$

$$\% \text{Rendimiento} = 11.60\%$$

4.2.2 PRUEBAS CUALITATIVAS INICIALES

Pruebas cualitativas evaluadas con diferentes métodos para la identificación de diferentes metabolitos secundarios posibles en el extracto etanólico obtenido.

Tabla 3:Detalle de pruebas fitoquímicas cualitativas preliminares en el extracto etanólico obtenido.

Especie vegetal	Alcaloides	Azucares	Saponinas	Compuestos fenólicos	Taninos	Flavonoides	Triterpenos
Pruebas cualitativas	Mayer	Fehling	Espuma	FeCl ₃	AcOPb	Shinoda	Liebermann-Burchard
Lampayo castellani M	Presencia Negativa	Presencia Positiva	Presencia Negativa	Presencia Positiva	Presencia Positiva	Presencia Positiva	Presencia Positiva

4.3 PROCESO DE PURIFICACIÓN

4.3.1 PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS

Para determinar el solvente o mezcla de solventes adecuados se realizaron mezclas usando diferentes solventes orgánicos como: Éter de petróleo (40-60°C), metanol (CH₃OH), acetato de etilo (C₄H₈O₂) y diclorometano (CH₂Cl₂).

Primer análisis cromatográfico:



Figura 36: Pruebas cromatográficas para la identificación del mejor solvente para realizar la purificación del extracto (prueba A1, A2, A3, A4, A5)

A1: CH₂Cl₂/Éter de petróleo (50:50)

A2: C₄H₈O₂/ Éter de petróleo (50:50)

A3: C₄H₈O₂/ CH₂Cl₂ (50:50)

A4: C₄H₈O₂ puro

A5: CH₂Cl₂ puro

Se vio una mejor separación en la placa cromatográfica A3.

Segundo análisis cromatográfico:

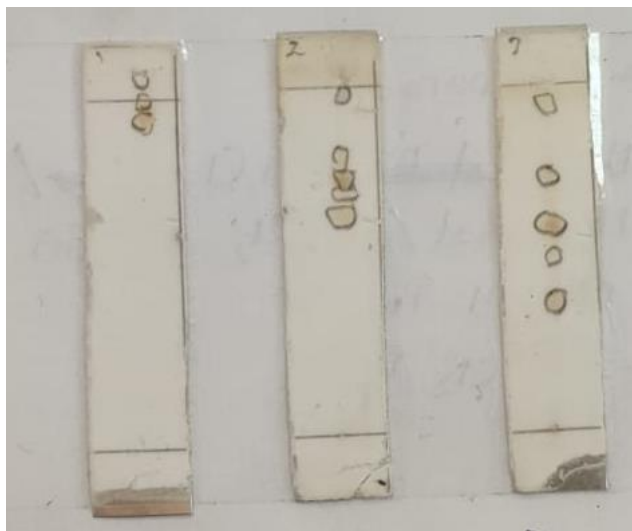


Figura 37: Cromatografía capa fina con la mezcla de mejor separación de componentes del extracto etanólico

E1: $C_4H_8O_2/CH_2Cl_2$ (7:3)

E2: $C_4H_8O_2/CH_2Cl_2$ (8:2)

E3: $C_4H_8O_2/CH_2Cl_2$ (9:1)

Se vio una mejor separación en la placa cromatográfica E2, y esta será la mezcla con la que se procedió a hacer la purificación del extracto etanólico

Las pruebas cromatográficas aplicadas en el extracto etanólico nos dio preliminarmente cinco compuestos preliminares, es decir, que coinciden con las pruebas cualitativas hechas con anterioridad.

Con la ayuda de esta técnica podemos deducir cuantas fases de purificación aproximadamente se deben hacer al extracto obtenido.

A partir de los resultados obtenidos en las pruebas cualitativas como en las pruebas cromatográficas en capa fina, se procedió a aplicar métodos que ayuden a purificar la muestra, métodos como la decoloración y cristalización.

4.3.2 EXTRACCION LÍQUIDO-LÍQUIDO

Se realizó una extracción líquido - líquido del extracto obtenido, para quitar compuestos solubles en agua que contenga el extracto obtenido después de la decoloración, para este propósito se usó en un embudo de separación donde empleando solventes no polares y agua destilada, se extrajo compuestos solamente no polares donde se encontraría el ácido oleanólico.

Llevando a sequedad la fase orgánica en el rotaevaporador se obtuvo una masa, que luego se llevó a purificar por proceso de cristalización.

4.3.3 PROCESO DE CRISTALIZACIÓN

La técnica más eficaz para purificar compuestos sólidos es la cristalización siempre y cuando el contenido de impurezas sea moderado, el método se basa en que la solubilidad de un sólido aumenta al aumentar la temperatura del disolvente, la cristalización es un proceso muy selectivo, ya que la formación de cristales está dada por moléculas del mismo tipo, forma y tamaño y así excluye las impurezas.

Usando una mezcla de solventes (Acetato de etilo/Diclorometano) se procedió a cristalizar el ácido oleanólico contenido en el extracto decolorado, y al terminar el procedimiento se pudo obtener:

Tabla 4: Masa obtenida después del proceso de cristalización

Masa obtenida	11.79g
---------------	--------

- Obteniendo una masa con características organolépticas:

Tabla 5: Evaluación de parámetros organolépticos del extracto obtenido

Parámetros	Evaluación
Olor	Sin Olor
Color	Color Blanco con verde claro
Sabor	Sin Sabor

4.4 PRUEBAS FITOQUÍMICAS CUALITATIVAS FINALES

Tabla 6: Detalle de pruebas fitoquímicas cualitativas finales en el extracto etanólico

	Triterpenos	Azucres	Compuestos fenólicos	Taninos	Flavonoides
Pruebas cualitativas	Liebermann- Burchard	Fehling	FeCl₃	AcOPb	Shinoda
Especie vegetal:Lampaya castellani MOLD	Presencia Positiva	Presencia Negativa	Presencia Negativa	Presencia Negativa	Presencia Negativa

Se realizó la prueba cualitativa de Liebermann-Burchard, para la identificación de triterpenos esteroidales, la cual arrojó positivo.

4.1 PRUEBAS CROMATOGRÁFICAS FINALES

Se realizó una cromatografía comparativa, usando el patrón de ácido oleanólico como referencia para identificar que el extracto obtenido sea el correcto

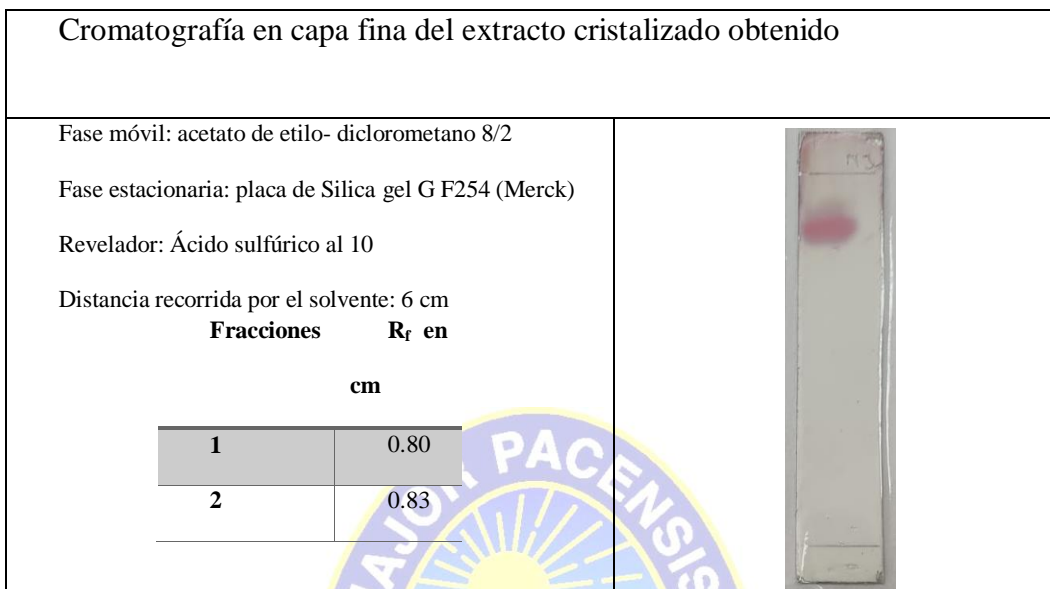


Figura 38: Cromatografía capa fina del patrón de ácido oleanólico

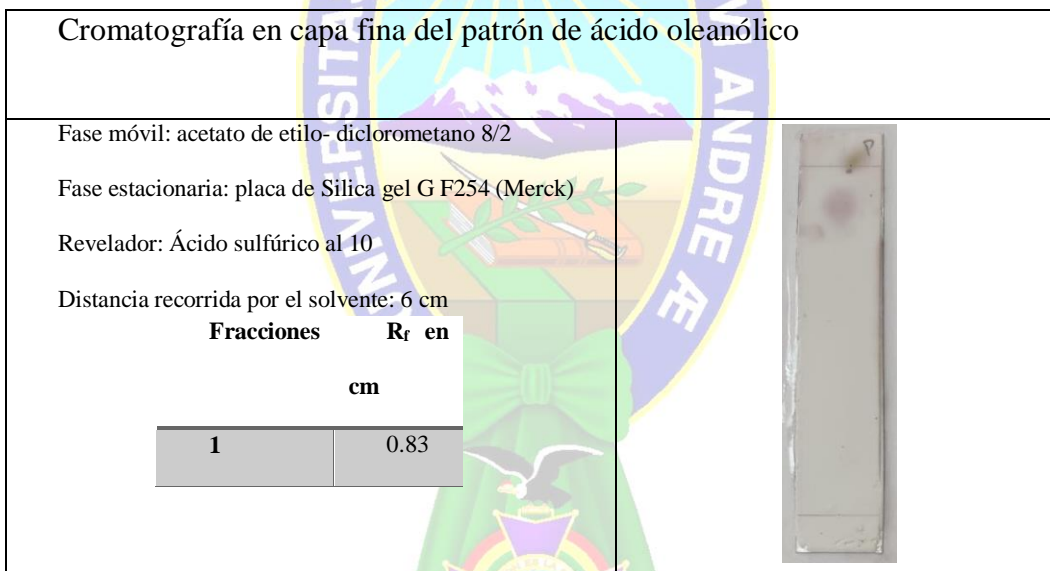


Figura 39: Cromatografía capa fina extracto cristalizado

- Se puede observar un comportamiento similar en el análisis cromatográfico, es decir que el patrón recorrió casi la misma distancia que la muestra obtenida

4.2 CÁLCULO DEL RENDIMIENTO DEL PROCESO DE PURIFICACIÓN

Para el cálculo del rendimiento de extracto purificado obtenido, es decir después de aplicar los diferentes métodos de purificación empleados se obtuvo el siguiente rendimiento:

Masas empleadas fueron:

Tabla 7: Rendimiento (proceso de purificación)

	Masa del extracto etanólico en “g”	Masa del extracto purificado en “g”
Total	93.07	11.79

- Cálculo del rendimiento total:

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final total}}{\text{masa inicial total}} \times 100\%$$

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{11.79}{93.27} \times 100\%$$

$$\% \text{Rendimiento} = 12.64\%$$

4.3 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO

El análisis espectrofotométrico para determinar la cantidad de ácido oleanólico obtenido en el proceso de extracción, ya que en la placa cromatográfica se puede ver que existen dos tipos sustancias, este análisis nos ayudó a conocer la concentración de ácido oleanólico contenida en la muestra obtenida.

4.3.1 BARRIDO ESPECTRAL

Este procedimiento se realizó para obtener la longitud de onda de absorción del ácido oleanólico se trabajó con la muestra patrón, haciendo el barrido espectral desde los 140 nm hasta 365nm:

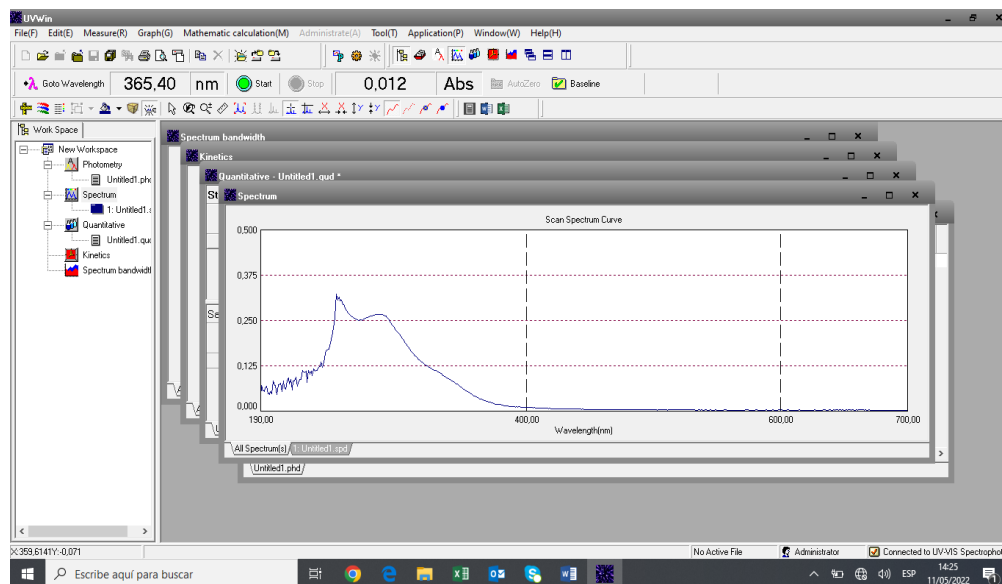


Figura 40: Barrido espectral

En el barrido espectral se encontró que el punto máximo de absorción se da dentro del espectro UV, a **251nm** (Ver Anexo B), se trabajara a esta longitud de onda al momento de realizar la curva de calibración y evaluar el contenido de ácido oleanólico en el extracto.

4.3.2 ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Se trabajo con la máxima absorbancia obtenida anteriormente y se elaboró la curva patrón con soluciones preparadas de 100, 200, 300, 400 ppm de concentración, y se obtuvieron los siguientes datos de absorbancia:

Tabla 8: Datos obtenidos absorbancia vs. concentración

Absorbancia	Concentración
0	0
0,051	100
0,112	200
0,135	300
0,181	400

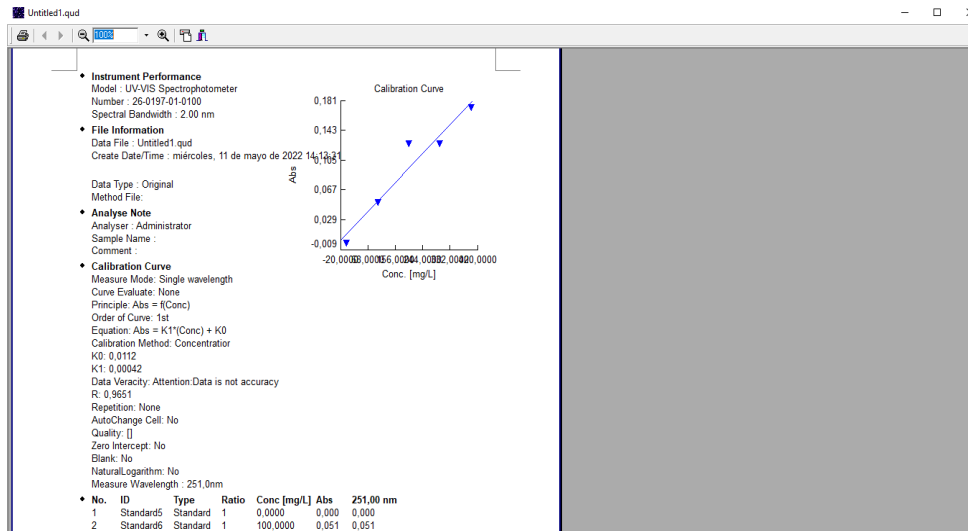


Figura 41: Gráfico obtenido en el equipo de espectrofotometría

Obteniendo las concentraciones corregidas se tiene:

Usando la ecuación de la recta para determinar factores de linealidad:

$$y = bx + a$$

$$A = -10,71$$

$$b = 2213,362$$

$$r = 0.99021$$

Teniendo el dato de (r “coeficiente de correlación lineal”), es mayor a 0.96, se puede decir que las lecturas que se harán con esta curva de calibración son fiables.

Empleando la ecuación de la recta para determinar las verdaderas concentraciones:

- Para el primer dato de absorbancia:

$$y = bx + a$$

$$y = (2213.362 * 0.051) + (-10.71)$$

$$y = 102.18 \text{ ppm}$$

- Para el segundo dato de absorbancia:

$$y = bx + a$$

$$y = (2213.362 * 0.112) + (-10.71)$$

$$y = 237.19 \text{ ppm}$$

- Para el tercer dato de absorbancia:

$$y = bx + a$$

$$y = (2213.362 * 0.135) + (-10.71)$$

$$y = 288.09 \text{ ppm}$$

- Para el cuarto dato de absorbancia:

$$y = bx + a$$

$$y = (2213.362 * 0.181) + (-10.71)$$

$$y = 389.91 \text{ ppm}$$

Datos corregidos para la curva de calibración:

Tabla 9: Datos corregidos de absorbancia vs. concentración

Absorbancia	Concentración
0	0
0,051	102.18
0,112	237.19
0,135	288.09
0,181	389.91

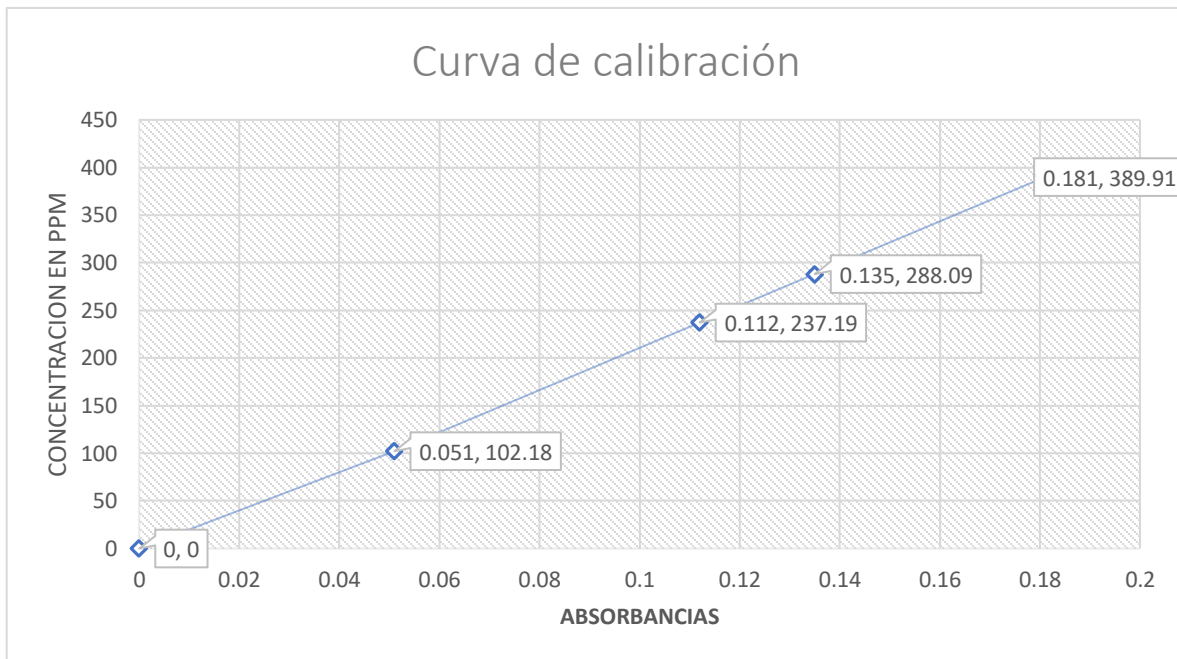


Figura 42: Gráfico elaborado a partir con los datos corregidos obtenidos en laboratorio

Para la determinación de la concentración de la muestra problema se preparó la muestra diluida en acetato de etilo, pesando 0.0156g aforando con 10ml de acetato de etilo, tuvo los siguientes datos:

Tabla 10: primer dato de lectura obtenida de la muestra purificada

Absorbancia	Concentración
0.353	811.88

El resultado obtenido se encuentra fuera de la curva, por lo que se procedió a graficar una extrapolación en Excel con el valor de absorbancia dada por el equipo:

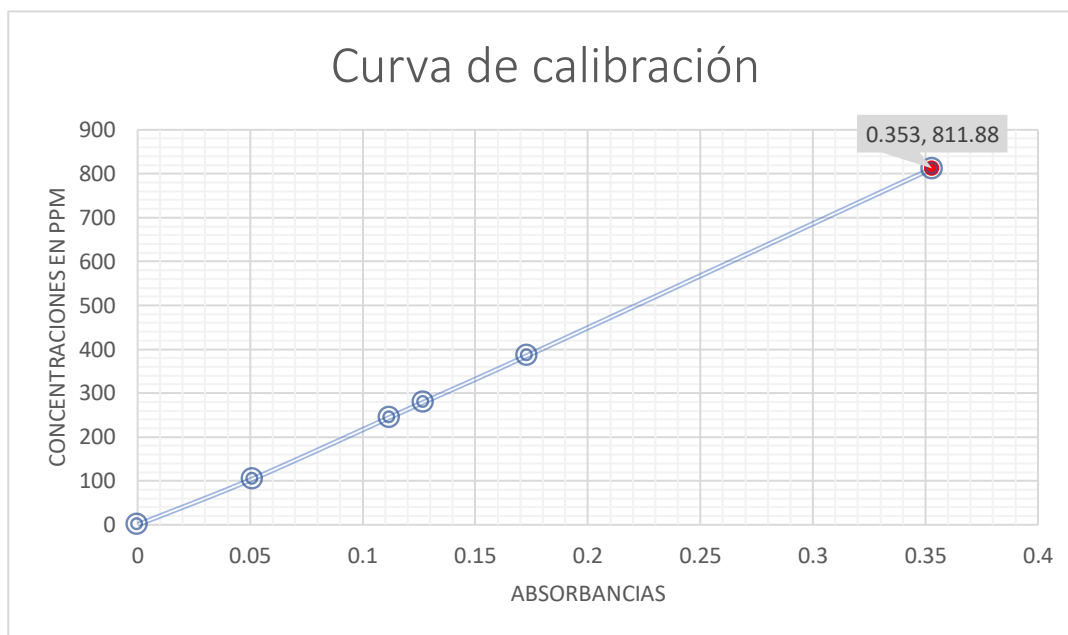


Figura 43: Grafico obtenido a partir del dato obtenido del extracto

Al obtener la primera lectura de la muestra se tiene que este sale de la curva de calibración, por lo cual se procede a realizar una dilución de $\frac{1}{4}$, es decir que se tomaron 2.5ml de la solución madre de muestra, y se aforó en otro matraz Erlenmeyer de 10ml con 7.5ml de acetato de etilo.

Obteniéndose las siguientes lecturas:

Tabla 11: dato de absorbancia obtenida después de hacer la dilución de la muestra

Absorbancia	Concentración
0.143	313.06

- Gráfico con los nuevos datos obtenidos:

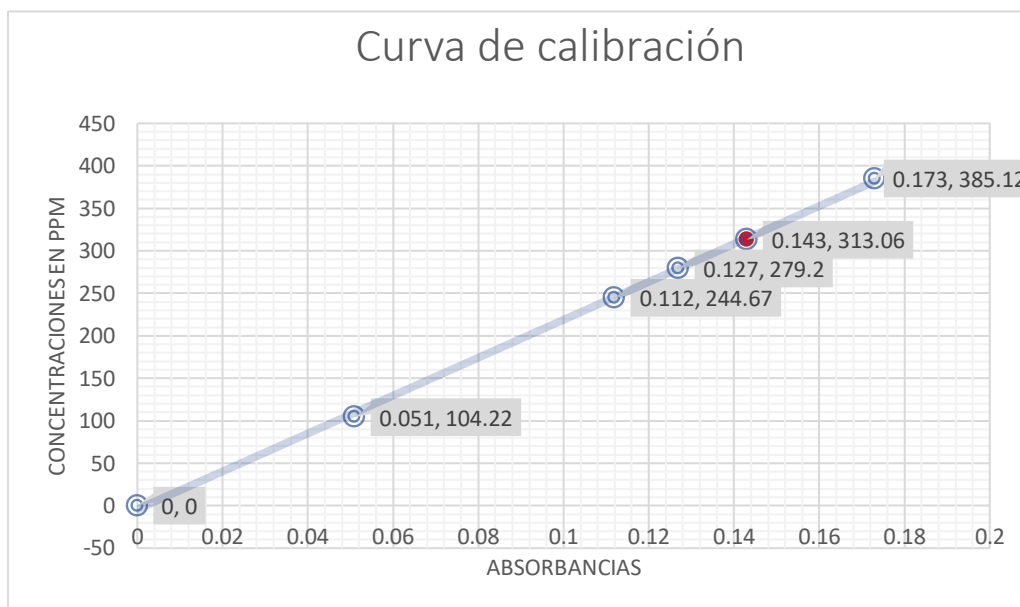


Figura 44: Grafico obtenido con el dato de absorbancia de la dilución de la muestra

Una vez hecha la dilución, la muestra ya se encuentra dentro de la curva de calibración.

Para el cálculo de la concentración de ácido oleanólico en la muestra, el equipo de espectrofotometría nos da ya el dato calculado, y para comprobar se usa la fórmula de la recta para el respectivo cálculo:

- Usando la ecuación de la recta para determinar factores de linealidad con los datos corregidos:

$$y = bx + a$$

$$A = -3,7087$$

$$b = 2162.659$$

$$r = 0.99979$$

- Reemplazando datos para encontrar la concentración con la absorbancia obtenida en el equipo:

$$y = (2162.659 * 0.143) + (-3.7087)$$

$$y = 310.26 - 12.13$$

$$y = 305.55 \text{ ppm}$$

- Es decir que realizando cálculos manuales se obtiene una concentración parecida a la obtenida en el equipo:

Concentración en ppm
305.55

4.4 CÁLCULO DE CONTENIDO DE ÁCIDO OLEANÓLICO POR CADA 100 GRAMOS DE EXTRACTO PURIFICADO OBTENIDO:

- Con los datos obtenidos:

$$C = 305.55 \text{ ppm}$$

$$V = 10\text{ml} \rightarrow 0.01 \text{ L}$$

$$\text{Masa inicial de muestra} = 0.0156 \text{ g}$$

$$\text{Factor de dilución} = 4 \text{ o } \frac{1}{4}$$

- Volviendo la concentración (ppm) obtenida por cálculos, a la dilución original:

$$C_{\text{ppm}} = 305.55 * 4 = 1222.20 \text{ ppm}$$

- Cálculo de la cantidad inicial que se tiene en la solución de la muestra preparada:

$$1222.20 \text{ mg} \text{-----} 1 \text{ L}$$

$$X \text{ mg} \text{-----} 0.01 \text{ L}$$

$$X \text{ mg} = 12.22 \text{ mg}$$

- Relacionando la masa obtenida con la masa usada para preparar la muestra:

$$x \% = \frac{12.22 \text{ mg de AO/Muestra}}{0.0156 \text{ g de extracto}} * \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} * 100$$

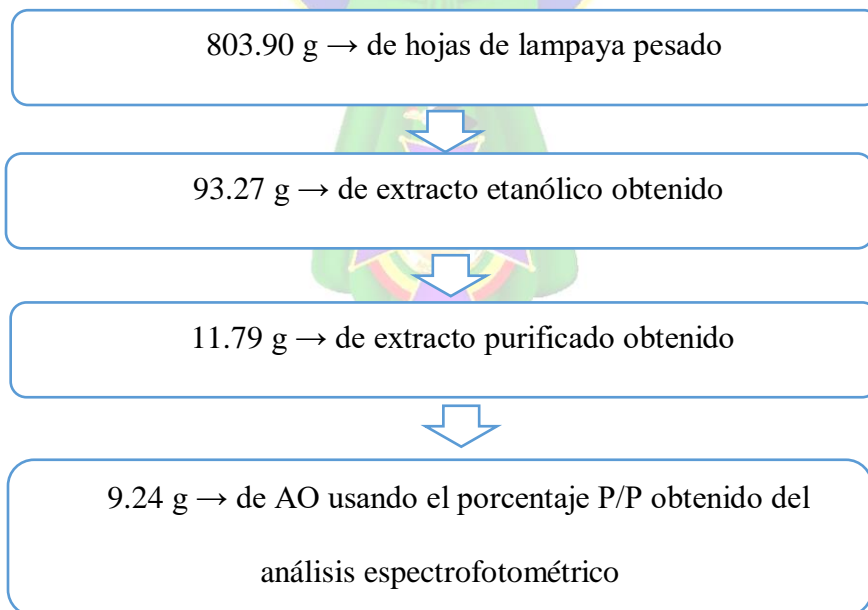
$$x \% = 78.36 \% \text{ P/P}$$

- La interpretación de los resultados obtenidos nos dice que hay 78.36 g de AO en 100 g de extracto seco purificado obtenido.

4.5 CÁLCULO EL CONTENIDO DE ÁCIDO OLEANÓLICO POR GRAMO OBTENIDO DE EXTRACTO DE LAMPAYA:

Se pesaron 803.90 g de hojas de lampaya, de las cuales después de realizar el proceso de extracción sólido – líquido se obtuvo 93.27 g, aplicando procesos de purificación se obtuvo una masa de 11.79 g y por análisis espectrofotométrico se obtuvo que el 78.36% de la masa de este extracto es ácido oleanólico, lo que sería 9.24 g de ácido oleanólico hay en 11.79 g de extracto purificado.

- Siguiendo una ruta de masas pesadas y masas obtenidas después de cada proceso:



- Para el cálculo del contenido de AO en el extracto purificado obtenido:

$$11.79 \text{ g} \text{ _____ } 100\%$$

$$X \text{ g} \text{ _____ } 78.36\%$$

$$x = \frac{11.79 * 78.36}{100}$$

$$x = 9.24 \text{ g}$$

- Para relacionar la cantidad de AO obtenido a partir de las hojas de lampaya se tiene que:

$$\% \text{ AO en hojas de lampaya} = \frac{9.24 \text{ g de AO}}{803.90 \text{ g de hojas lampaya}} * 100$$

$$\% \text{ AO en hojas de lampaya} = 1.15 \%$$

- Interpretando los resultados se obtiene que por cada 100 g de hojas de lampaya se obtiene solamente 1.15 g de ácido oleanólico.

4.6 OBTENCIÓN DEL ACEITE DE MANÍ

Después del descascarado y pelado de la cubierta de las semillas, se obtuvo una masa de 1168.74 g de maní tostado.

El cual fue sometido a tratamiento térmico y prensado para la obtención del aceite de maní.

Obteniéndose así una masa de 39.84g de aceite de maní

- Para el cálculo del rendimiento:

$$R \% = \frac{\text{masa final}}{\text{masa inicial}} \times 100\%$$

$$R \% = \frac{39.84 \text{ g}}{1168.74 \text{ g}} * 100$$

$$R \% = 3.41 \%$$

4.7 OBTENCIÓN DEL PRODUCTO FINAL

Para la elaboración del producto final se tomó 76.57 mg del ácido oleanólico del extracto obtenido y 110 ml aceite de maní obtenido. El ácido oleanólico obtenido se procedió a pulverizar para así facilitar la disolución de este en el aceite de maní, se realizó el cálculo de ajuste para agregar la cantidad necesaria de ácido oleanólico:

$$60 \text{ mg puro} \times \frac{100 \text{ mg puro}}{78.36 \text{ mg puro}} = 76.57 \text{ mg de extracto obtenido}$$

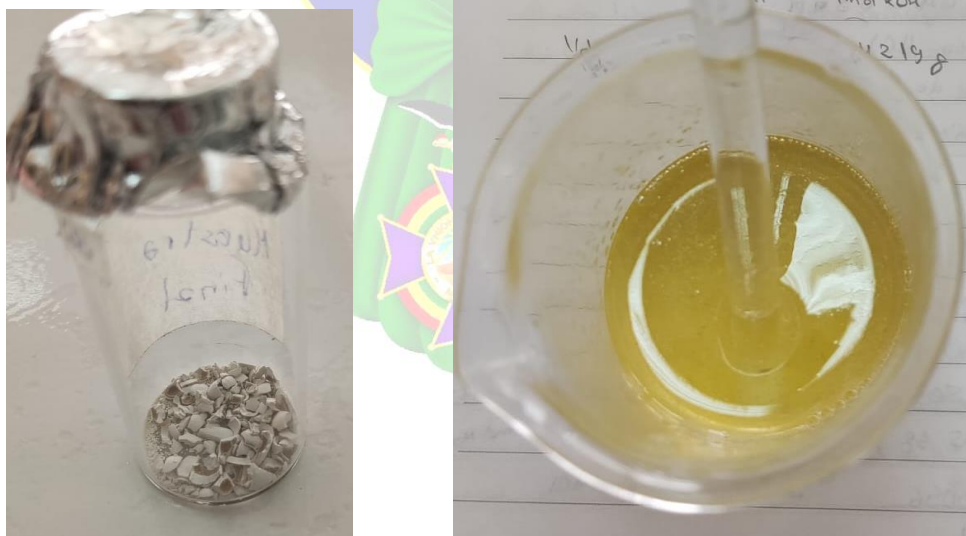


Figura 45: Extracto purificado y aceite de maní obtenido

4.8 EVALUACIÓN DE PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS

Se evaluaron propiedades como sabor, color y olor del producto final, para mostrar si el ácido oleanólico agregado al aceite de maní causaba algún cambio de las propiedades iniciales del aceite de maní:

Tabla 12: Parámetros organolépticos del producto obtenido

Parámetro	Aceite de maní obtenido	Aceite de maní + ácido oleanólico)
Olor	Sin olor/inodoro	Sin olor/inodoro
Sabor	Ligero sabor a maní	Ligero sabor a maní
Color	Color naranja tenue	Color naranja tenue
Textura	Grasosa	Grasosa

4.9 EVALUACIÓN DE CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO OBTENIDO

Se valoraron los siguientes parámetros para realizar el control de calidad del producto final:

4.9.1 DENSIDAD RELATIVA

La densidad relativa de una sustancia es la relación existente entre su densidad y la de otra sustancia de referencia: en consecuencia, es una magnitud adimensional (sin unidades):

Densidad relativa del producto final (Aceite de maní + ácido oleanólico)
$\rho_r = \frac{25.1017 - 15.8632}{26.1370 - 15.8632}$
$\rho_r = 0.8992$

El resultado de la densidad relativa obtenida es aceptable de acuerdo al parámetro teórico que se puede obtener en la bibliografía

4.9.2 ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción de un aceite se define como la razón de la velocidad de la luz en el vacío con respecto a la velocidad de la luz en el aceite evaluado.

Por razones prácticas, normalmente los instrumentos comparan con la velocidad de la luz en el aire en lugar del vacío. El índice de refracción es característico dentro de ciertos límites para cada aceite, por lo que es un indicador de pureza del aceite.

Este valor está relacionado con el grado de saturación, con la razón cis/trans de los dobles enlaces y puede estar influenciada por el daño que sufre el aceite tras la oxidación. La medición del índice de refracción se realizó con refractómetro ABBE DE BANCADA (QUIMIS ISO 9001), a 15.4 °C (Ver Anexo C):

Índice de refracción (Aceite de maní + ácido oleanólico)
$n_r = 1.467$

4.9.3 ÍNDICE DE ACIDEZ

La medición del parámetro de acidez del producto final obtenido se hace con titulaciones ácido-base, en consecuencia, de su contenido de ácidos grasos libres, provenientes de los glicéridos. Se expresa normalmente como grado de acidez o acidez libre, que representa el tanto por ciento de dichos ácidos expresados en ácido oleico. También puede expresarse como índice de acidez:

Se preparó una solución de KOH a 0.1 N, el cual se procedió a estandarizar con Ftalato de potasio, donde se obtuvo una concentración real de 0.091 N, luego se preparó la muestra a titular con 2.5ml de aceite + 12.5 ml de éter y alcohol 1:1 +3 gotas de fenolftaleína. Se realizó el procedimiento por triplicado para obtener una medida más fiable:

Se evaluó la acidez con los siguientes datos:

Masa de muestra de aceite = 2.2480g

Volumen gastado = 2.90ml

Normalidad de KOH real del 0.084N

Volumen gastado de KOH = 2.9ml

Peso meq Ac. Oleico = 0.282 g/meq

Empleando la siguiente expresión:

$$IA = \frac{V * C * P_{meq \text{ Ac. Oleico}} * 100}{m}$$

Reemplazando datos:

$$IA = \frac{2.9\text{ml} * 0.084 \frac{\text{Eq}}{\text{L}} * 0.282\text{g/mequ} * 100}{2.2480}$$

$$IA = 3.0558 \%$$

4.9.4 ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN

El índice de saponificación (IS) es una medida de ácidos grasos libres y combinados que existen en la grasa y es directamente proporcional a su masa molecular media, es decir, que cuanto menor es la proporción de ácidos grasos de cadena corta, tanto mayor será el índice de saponificación. El IS se utiliza para comprobar la pureza de las grasas.

Se estandarizó el HCl 0.5 M, con carbonato de sodio, para conocer el valor de la concentración real del HCl que fue de 0.53 M.

Se gastó un volumen de 10.2 ml en la valoración del KOH en exceso.

Obteniéndose el siguiente resultado:

Datos:

Masa de muestra = 1.0391g

Volumen de Solución alcohólica de KOH= 20ml

Concentración de Solución alcohólica de KOH = 0.48 M

Concentración de Solución de HCl = 0.53 M

Volumen gastado en la valoración de KOH en exceso = 10.2 ml

$$IS = \frac{(N_{KOH} * V_{KOH} - N_{HCl} * V_{HCl}) * 56.10}{p_m}$$
$$IS = \frac{(0.48 \text{ eq/l} * 20\text{ml} - 0.53\text{eq/l} * 10.2\text{ml}) * 56.10\text{g/eq}}{1.0391\text{g}}$$
$$IS = 226.43 \text{ mg KOH/g}$$

4.9.5 ÍNDICE DE PERÓXIDO

El Índice de peróxidos mide el estado de oxidación inicial de un aceite. Se expresa en miliequivalentes de oxígeno activo por kilo de grasa.

Para el análisis se estandarizó una solución de tiosulfato de sodio 0.1 N a 0.06 N como concentración real.

Se gastó un volumen de 2.9 ml de tiosulfato de sodio 0.06 N

Se gastó un volumen de 0.9 ml en la titulación del blanco

Y se usa una masa de 3.1865 g de aceite

Empleando la siguiente expresión:

$$IP = \frac{(V_{muestra} - V_{blanco}) * N_{Tiosulfato} * 1000}{Masa\ de\ muestra\ de\ aceite\ en\ g}$$

$$IP = \frac{(2.9 - 0.9) * 0.06 * 1000}{3.1865}$$

$$IP = 37.73\ mEq\ de\ Oxígeno\ activo / Kg$$

4.10 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Teniendo todos los datos de los análisis de control de calidad del producto final obtenido, se concluyó que los resultados de los parámetros analizados, son muy similares a datos obtenidos en bibliografía, estos datos ayudan a decir que el producto obtenido es de buena calidad y que la adición del ácido oleanólico no afecto a la calidad del aceite de maní, es decir que aun adicionando el ácido oleanólico no interfiere en los parámetros de calidad que se le exige a aún aceite comestible.

Tabla 13: Parámetros fisicoquímicos de calidad obtenidos del producto obtenido

Parámetro fisicoquímico	Aceite de maní (Datos de bibliografía)	Producto final (Aceite de maní + ácido oleanólico)
Densidad relativa	0.912 – 0.920	0.8992
Índice de refracción a 20°C	1.47 – 1.48	1.467
Índice de acidez (respecto al ácido oleico)	3% máximo	3.0558%
Índice de saponificación mg KOH/g	187 - 196	226.43
Índice de peróxido	10 meq/Kg máximo	37.73

4.11 EVALUACION DE LA CALIDAD DEL PRODUCTO FORMULADO

Respecto a la densidad obtenida en el producto propuesto, presenta muy poca diferencia entre la densidad relativa teórica y densidad relativa del producto.

El índice de refracción es muy parecido al teórico, aunque cabe resaltar que la lectura del dato se hizo a 16.5°C y el dato teórico es a 20°C.

El índice de acidez respecto al ácido oleico presente en el aceite de maní, es prácticamente el mismo, lo cual indicaría una buena calidad del producto y su preservación a través del tiempo.

El índice de saponificación se obtuvo un dato mayor al teórico, lo que significaría que la adición del AO aumentaría el peso molecular promedio del aceite de maní.

Respecto al índice de peróxido, este valor dio un valor alto, lo cual indicaría que la oxidación del aceite sería más rápida, es decir que el tiempo de vida del producto sería más corta si no se aplican cuidados al momento del almacenaje del producto y también el tipo de uso que se le daría.

Lo que indicaría que el producto formulado se encuentra dentro de parámetros de calidad aceptables para aceites comestibles, según la norma boliviana de aceites NB 161:2016.

5 Capítulo V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

• El proceso de obtención de ácido oleanólico de la muestra de hojas de lampaya se optimizó para obtener la mayor concentración del metabolito secundario y también este pueda ser apto para consumo humano; el proceso presentó un rendimiento 11.60 % de extracto obtenido de las hojas de lampaya, y por análisis espectrofotométrico se determinó que 78.10 g de AO/En 100 g; es decir que en cada 100g de extracto obtenido 78.10g es ácido oleanólico.

• Debido a las propiedades liposolubles del ácido oleanólico se facilitó la formulación del producto final al agregar este al aceite de maní obtenido; la formulación se hizo agregando 30mg de ácido oleanólico a 55ml de aceite de maní, que serían según estudios en España la cantidad de ingesta diaria que debería tener una persona para que la actividad antidiabética tenga un efecto esperado.

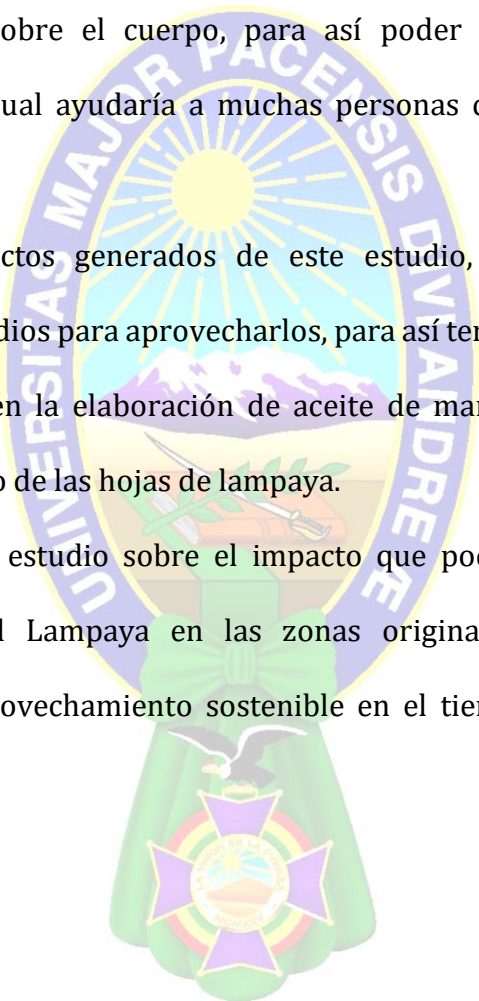
• Los parámetros fisicoquímicos y organolépticos evaluados para determinar la calidad del producto, mostraron resultados óptimos comparando con la norma NB 161:2016, así se evaluó el tiempo de vida media del producto gracias a los parámetros determinados.

Parámetro fisicoquímico	Aceite de maní + ácido oleanólico
Densidad relativa	0.8992
Índice de refracción a 20°C	1.467
Índice de acidez (respecto al ácido oleico)	3.0558%
Índice de saponificación	226.43
Índice de peróxido	37.73

- Con todos los resultados obtenidos, las aplicaciones del producto formulado, permitirán una viable propuesta de elaboración de aceite de maní enriquecido con ácido oleanólico, para así contribuir a la lucha y prevención de la diabetes en Bolivia.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda profundizar el estudio de la actividad bioquímica que ejerce el ácido oleanólico sobre el cuerpo, para así poder determinar su potencial farmacológico, el cual ayudaría a muchas personas con diferentes afecciones clínicas.
- Con los subproductos generados de este estudio, se recomienda realizar propuestas de estudios para aprovecharlos, para así tener un proceso integral de aprovechamiento en la elaboración de aceite de maní enriquecido con ácido oleanólico obtenido de las hojas de lampaya.
- Se recomienda un estudio sobre el impacto que podría tener la explotación indiscriminada del Lampaya en las zonas originarias de esta, así poder determinar un aprovechamiento sostenible en el tiempo, de este producto u otros.



6 BIBLIOGRAFÍA

- Aceites esenciales*. (15 de 09 de 2019). Obtenido de Aceites esenciales: <https://aceites-esenciales.org/aceite-de-cacahuete/>
- AFCH. (08 de 02 de 2022). *Asociación Flora Chilena*. Obtenido de www.chileflora.com/: <http://www.chileflora.com/Shome.html>
- Alzérrecá, H., Calle, P., & Laura, J. (2002). *Manual de manejo y uso sostenible de la tola y tolares*. La Paz.
- Beck. (2014). Modelando patrones geográficos de distribución de gramíneas (Poaceae) en Bolivia: Implicaciones para su conservación. *Ecología en Bolivia*.
- Brumovsky, L., & Horiánski, M. (06 de 06 de 2016). *docplayer.es*. Obtenido de [docplayer.es](https://docplayer.es/50640331-Trabajo-practico-no-8-caracterizacion-fisico-quimica-de-lipidos.html): <https://docplayer.es/50640331-Trabajo-practico-no-8-caracterizacion-fisico-quimica-de-lipidos.html>
- Castellano Orozco, J. (2016). *Potencial terapéutico del ácido oleanólico frente a la diabetes*. Madrid-España.
- Chui Tinco, G. (2021). *Estudio fitoquímico preliminar de cinco especies vegetales del altiplano Sur y determinación de componentes mayoritarios de la especie vegetal (Lampaya castellani) moldenke*. La Paz.
- Ciappesoni, Colman, & Rodríguez. (2014). *Aceite de Maní*.
- Coca Laura, E., Rodríguez Suárez, L., & Chávez Vespa, W. (2019). *Propiedades y Beneficios del aceite de cacahuete (maní)*. Santa Cruz - Bolivia.
- Cornejo Garrido, J. (2012). *AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA Y ANTIMICOBACTERIANA DE ÁCIDO URSÓLICO Y ÁCIDO OLEANÓLICO*. Mexico DF.

- Cornejo Garrido, J. (2012). *AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA Y ANTIMICOBACTERIANA DE ÁCIDO URSÓLICO Y ÁCIDO OLEANÓLICO*. Mexico: INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL.
- Díaz, N., & Bárcena Ruiz, J. (2008). *Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Cordoba.
- Dijoux. (2009). Para que se acuerden de nosotros. Testimonios de un proyecto de cooperación al desarrollo Plural. 29-30.
- enfermedades, C. d. (01 de 04 de 2022). CDC 24/7. Obtenido de CDC 24/7: <https://www.cdc.gov/diabetes/spanish/basics/diabetes.html#:~:text=La%20diabetes%20es%20una%20enfermedad,libera%20en%20el%20torrente%20sangu%20neo>.
- Fortuny Santos, J. (2009). *Tesis Doctoral - Extracción de aceite de maní*.
- Giraldo, H., Velasquez, J., & Cuartas, P. (2010). *EXTRACCIÓN CON SOLVENTES Y PURIFICACIÓN DE ACEITE A PARTIR DESEMILLAS DE *Jatropha curcas**. Caracas - Venezuela.
- Jorriñ Novo, J., & Barcena Ruiz, J. (2001). Cromatografía en capa fina. En *Separación de aminoácidos por cromatografía en capa fina y detección mediante* (págs. 5-8).
- Lapetra, J., Castellano, J., & Santos, J. (06 de 08 de 2021). *Centro de investigación biomédica en red fisiopatología de la obesidad y nutrición*. Obtenido de ciberobn: <https://www.ciberobn.es/noticias/el-consumo-de-aceite-de-oliva-enriquecido-en-acido-oleanolico-reduce-a-la-mitad-el-riesgo-de-diabetes-tipo-2-en-prediabeticos>
- Lozano, M., Flores, Y., & Almanza, G. (2017). ALTO CONTENIDO DE ACIDO OLEANOLICO EN PLANTAS BOLIVIANAS DE ALTITUD. *Revista Boliviana de Química*.

- Manrique, G. (2010). *CARACTERIZACIÓN DE GRASAS Y ACEITES*. Buenos Aires - Argentina.
- Martinez Carrillo, R. (2016). *Aceites acidos valores bajos y aceites rancios valores mayores a lo normal*.
- Ministerio de Medio Ambiente y Agua. (2012). *Libro Rojo de la Flora amenazada de Bolivia*. La Paz-Bolivia.
- Montes de Oca. (1988). *Geografía y Recursos naturales de Bolivia*. La Paz-Bolivia: Los amigos del libro.
- Murra, J. (1972). *El "control vertical" de un máximo de pisos ecológicos en la economía de las sociedades andinas*. Santiago - Chile.
- Navarro, G., & Ferreira, W. (2004). *Zonas de vegetación potencial de Bolivia: Una base para el análisis de vacíos de conservación artículos científicos*. La Paz-Bolivia.
- Opinión. (08 de mayo de 2020). *Opinión Diario de circulación Nacional*. Obtenido de Opinión Diario de circulación Nacional: <https://www.opinion.com.bo/articulo/economi%C2%ADa/productores-piden-industrializar-ldquo-mejor-man-iacute-mundo-rdquo/20150902203600530018.html>
- Pérez, M., & García., K. (2015). *Manual del cultivo de maní con criterios de sustentabilidad*. INDÓMITA S.R.L.
- Queupil Carrasco, M. J. (2011). *ACTIVIDAD INHIBITORIA DE GLICÓGENO FOSFORILASA A DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS DESDE LAS HOJAS DEUGNI MOLINAE TURCZ. (MURTILLA) MYRTACEAE*. Santiago-Chile.
- Rojas, E., & Molina, R. (2012). Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*.
- Swami, S., & Singh, K. (2008). *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*.

Tech, T. F. (15 de Junio de 2022). *The Food Tech*. Obtenido de The Food Tech:
<https://thefoodtech.com/nutricion-y-salud/mani-aporte-nutricional-y-su-impacto-en-la-salud/>

Torrico, G. (1994). *Desarrollo forestal comunal en el altiplano boliviano Potosí*. Potosí.

Wikipedia. (05 de 07 de 2018). Obtenido de Wikipedia:
https://es.wikipedia.org/wiki/Aceite_de_cacahuete

wikipedia.org. (9 de 11 de 2019). Obtenido de wikipedia.org:
https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_olean%C3%B3lico

wikipedia.org. (08 de 02 de 2022). Obtenido de wikipedia.org:
<https://es.wikipedia.org/wiki/Antidiab%C3%A9tico>


Zeballos Hurtado, H. (2003). *Política y economía de los recursos naturales renovables en Bolivia*. La Paz.



7 ANEXOS

Anexo A

Documento de identificación de la especie vegetal recolecta por el herbario nacional




HERBARIO NACIONAL DE BOLIVIA
Casilla 10077 Correo Central, La Paz – Bolivia / Campus Universitario, Calle 27 Cota Cota
Teléfonos (591 -2) 2121751 – 2792582 – 2792416 * Fax (591-2) 2770962
e-mail: direccion.herbariobolivia@gmail.com

PLANTAS COLECTADAS POR: *Rommel Daniel Aranda Ticona*

Determinado por: Rossy de Michel (LPB)

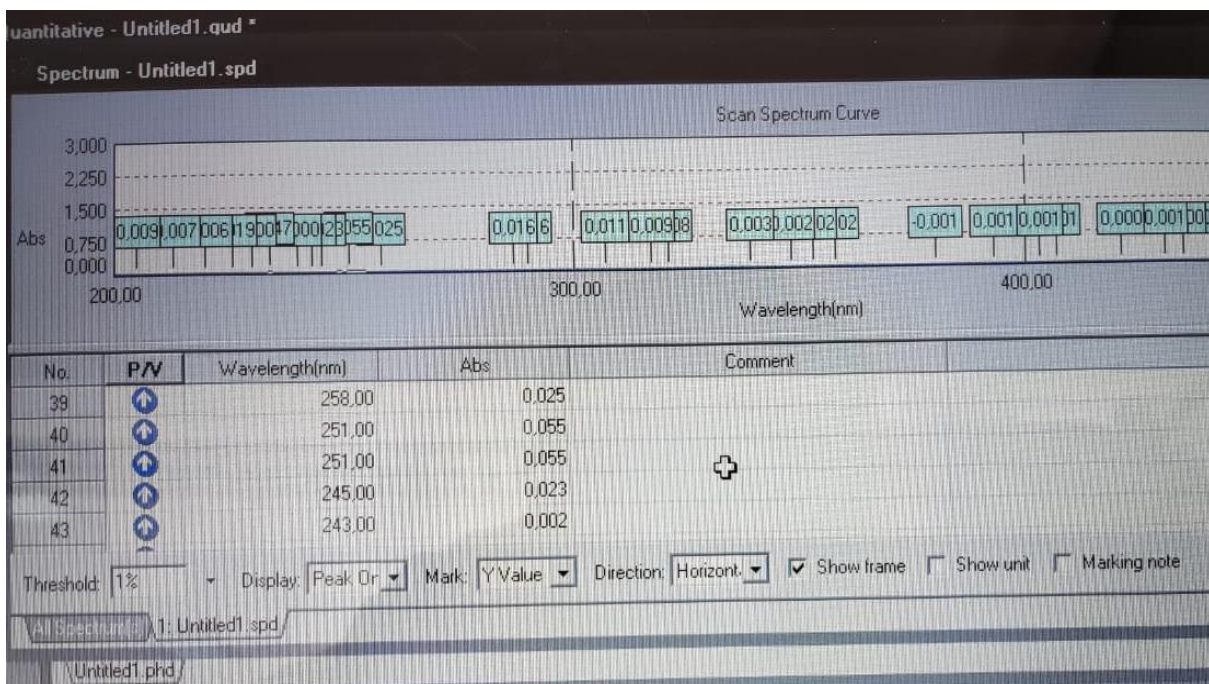
Fecha : 25 de julio de 2018

1 Verbenaceae Lampayo castellani Moldenke



Anexo B

Barrido espectral realizado con el patron de AO



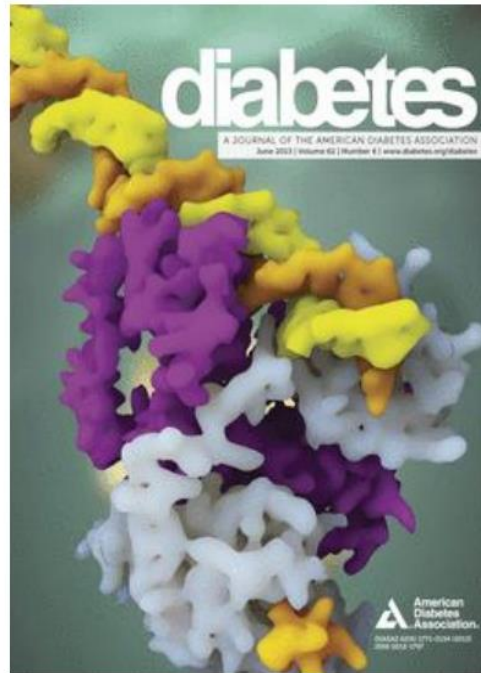
Anexo C

Lectura del índice de refracción del producto elaborado



Anexo D

Artículo de la revista diabetes donde se menciona el potencial antidiabético del AO



PERSPECTIVES IN DIABETES

Biochemical Basis of the Antidiabetic Activity of Oleanolic Acid and Related Pentacyclic Triterpenes

Jose M. Castellano, Angeles Guinda, Teresa Delgado, Mirela Rada, and Jose A. Cayuela

Oleanolic acid (OA), a natural component of many plant food and medicinal herbs, is endowed with a wide range of pharmacological properties whose therapeutic potential has only partly been exploited until now. Throughout complex and multifactorial mechanisms, OA exerts beneficial effects against diabetes and metabolic syndrome. It improves insulin response, preserves functionality and survival of β -cells, and protects against diabetes complications. OA may directly modulate enzymes connected to insulin biosynthesis, secretion, and signaling. However, its major contributions appear to be derived from the interaction with important transduction pathways, and many of its effects are consistently related to activation of the transcription factor Nrf2. Doing that, OA induces the expression of antioxidant enzymes and phase II response genes, blocks NF- κ B, and represses the polyol pathway, AGEs production, and hyperlipidemia. The management of type 2 diabetes requires an integrated approach, which includes the early intervention to prevent or delay the disease progression, and the use of therapies to control glycemia and lipidemia in its late stages. In this sense, the use of functional foods or drugs containing OA is, undoubtedly, an interesting path. *Diabetes* 62:1791–1799, 2013

Type 2 diabetes affects 220 million people worldwide. This number will be doubled by 2030 without urgent action. Diabetes prevalence has burst by the aging of population, socioeconomic disadvantages, and lifestyles that trend toward physical inactivity and overweight/obesity (1). Today, it is clear

widely distributed in the plant kingdom as free acid or as aglycone of triterpenoid saponins. More than 120 plant species have been described by their relevant OA contents (3), but few of them are socioeconomically important crops as is olive (*Olea europaea* L.). OA is a component of the cuticle waxes that cover fruit and leaf epidermis. It is especially abundant in the olive leaf, where it represents up to 3.5% of the dry weight (4).

OA and related triterpenes possess interesting pharmacological properties, including the antioxidant, microbicide, antidiabetic, anti-inflammatory, hypolipidemic, and antiatherosclerotic actions (5–7). They interfere in the development of different types of cancer (7) and neurodegenerative disorders (8). OA is therapeutically effective without apparent side effects (9–11). The aim of this review is to summarize the most significant knowledge existing to date on the molecular basis of the OA antidiabetic activity.

REDUCTION OF POSTPRANDIAL HYPERGLYCEMIA

Reducing postprandial hyperglycemia in diabetic people prevents glucose absorption after food intake. Carbohydrate digestion is facilitated by enteric enzymes, such as α -glucosidase and α -amylase, in the brush border of the small intestine cells. Their inhibition permits a better control of postprandial hyperglycemia and originates, at long term, a modest reduction of glycosylated proteins.

OA inhibits α -glucosidase *in vitro* in an uncompetitive

Anexo E

Prensa hidráulica utilizada para la obtención del aceite de maní



Anexo F

Proceso de digestión al momento de realizar el índice de saponificación

