



MCA-2017/06

S.E.P. TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO de Tuxtepec

**"CARACTERIZACIÓN DE LA SEMILLA Y EL ACEITE
DE MORINGA (*Moringa oleifera*) EXTRAÍDO POR
ULTRASONIDO"**

TESIS

Para Obtener el título de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

I.I.A. MARÍA DE LA LUZ JUÁREZ RAFAEL

DIRECTORA:

DRA. CECILIA E. MARTÍNEZ SÁNCHEZ

CO-DIRECTOR:

DR. ERASMO HERMAN Y LARA

TUXTEPEC, OAXACA, MARZO 2017

COMITÉ TUTORIAL

DRA. CECILIA E. MARTÍNEZ SÁNCHEZ

DR. ERASMO HERMAN Y LARA

DRA. MARÍA DE LOS ÁNGELES VIVAR VERA

M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA



S.E.P TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO de Tuxtepec

“CARACTERIZACIÓN DE LA SEMILLA Y ACEITE DE MORINGA (*Moringa oleifera*) EXTRAÍDO POR ULTRASONIDO”

TESIS

Para obtener el título de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA

I.I.A MARÍA DE LA LUZ JUÁREZ RAFAEL

DIRECTORA

DRA. CECILIA E. MARTÍNEZ SÁNCHEZ

CO-DIRECTOR

DR. ERASMO HERMAN Y LARA



TUXTEPEC, OAXACA, MARZO 2017.

"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA
División de Estudios Profesionales

Procedimiento para la Titulación
Autorización de Presentación del Trabajo Profesional
Referencia a la Norma ISO 9001:2008 7.5.1

SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
EXPEDIENTE: DEP-R/17
Tuxtépéc, Oaxaca. **10/MARZO/2017**
OFICIO: No. 1476

LLA. MARÍA DE LA LUZ JUÁREZ RAFAEL
EGRESADA DE LAMAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS
CON NÚMERO DE CONTROL M15350004
PRESENTE.

POR MEDIO DE LA PRESENTE ME PERMITO COMUNICARLE QUE LA COMISIÓN REVISORA INTEGRADA POR LOS C.C. **DRA. CECILIA EUGENIA MARTÍNEZ SÁNCHEZ, DR. ERASMO HERMAN Y LARA, DRA. MARIA DE LOS ÁNGELES VIVAR VERA Y M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA** REVISÓ Y APROBÓ EN SU TOTALIDAD EL TRABAJO PROFESIONAL DENOMINADO **"CARACTERIZACIÓN DE LA SEMILLA Y ACEITE DE MORINGA (*Moringa oleifera*) EXTRAÍDO POR ULTRASONIDO"** PRESENTADO POR USTED COMO PRODUCTO DE TESIS DEL LINEAMIENTO DE TITULACIÓN CORRESPONDIENTE, PARA OBTENER EL GRADO DE **MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS**.

POR LO ANTERIOR Y DE ACUERDO A LOS LINEAMIENTOS INSTITUCIONALES, SE LE DA TRÁMITE LEGAL PARA QUE PROCEDA A LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO PROFESIONAL.

ATENTAMENTE
"CIENCIA Y TÉCNICA PRESENTES AL FUTURO"


M.E. JULIAN KURI MAR
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES.

C.c.p.-Coord. de titulación
JKM/has



DEDICATORIAS

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y por darme la vida, salud, paciencia, sabiduría y fortaleza en mis momentos de debilidad.

A mis familiares

*A mis padres **Francisco Juárez Aragón y Beatriz Rafael Leonardo** por su amor y apoyo incondicional en todo momento, por sus consejos y por la motivación constante.*

*A mi hermosa hermana Patito (**Gendys Patricia Juárez Rafael**) por sus consejos, los ánimos que me dabas y más en los momentos de flaqueza además por quererme mucho, creer en mí y porque siempre me apoyaste.*

A mi hermano Belizario, mi sobrina Alexa por su cariño y apoyo.

Al amor de mi vida

A Francisco Antonio Isidro por su amor, comprensión y confianza.

A mis amigos y compañeros

A mi nano (Juan Andrés), Dennis y Lucy por compartir sus conocimientos y amistad durante mi estancia en Durango de igual manera a Fany, Karen, Issac, etc., por su amabilidad y amistad brindada. A Pau, los chicos de servicio (Irmita, Edgar, Lucy, Jonathan y Débora), a Marisol, Sayra y mis compañeras por las convivencias vividas en el salón y laboratorio, a Doña Karina y Doña Rosa por su apoyo incondicional y su amabilidad, a mis vecinos, compañeras y primos Said y Fredy (quienes me ayudaban en la cosecha de la materia prima) y a todos los que de una u otra forma contribuyeron en la realización de este trabajo.

RECONOCIMIENTOS

A la **Dra. Cecilia E. Martínez Sánchez**, por su paciencia, apoyo y consejos para la realización de este proyecto, si como su amistad y confianza brindado.

Dr. Erasmo Herman y Lara, Dra. María de los Ángeles Vivar Vera y M.C. Ernestina Paz Gamboa, Dra. Betsabé Hernández Santos y Dr. Jesús Rodríguez Miranda por los consejos y sugerencia para la realización de este trabajo de investigación.

Al **Instituto Tecnológico de Comitancillo**, por la donación de los frutos de moringa en especial al Dr. Julio Cesar Dehesa Valencia e Ing. Leandro Marcos Ramos por la autorización y apoyo.

A la **Universidad del Papaloapan (UNPA)**, por haberme facilitado el uso del refractómetro y para la realización de este trabajo.

Al **Instituto Tecnológico de Durango** y a la **Dra. Nuria E. Rocha Guzmán** por la estancia y uso de cromatografía líquida acoplada a masas.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico (beca) para la realización de mi estudio de posgrado.

RESUMEN

Juárez-Rafael, María de la Luz. M. C. en Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. Febrero, 2017. **Caracterización de la semilla y aceite de moringa (*Moringa oleifera*) extraído por ultrasonido**. Director (a): Dra. Cecilia Eugenia Martínez Sánchez, Co-director: Dr. Erasmo Herman y Lara.

Actualmente existe una búsqueda y revalorización de fuentes naturales que puedan ser aplicables al desarrollo de alimentos, los cuales interfieran en la nutrición y a la vez proporcionen efecto benéfico a la salud. En ese contexto se encuentran las semillas de moringa (*Moringa oleifera*), especie vegetal con un alto contenido de aceite y proteínas. Sin embargo, no es aprovechado en el ámbito alimenticio. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar las propiedades físicas del fruto (vaina, semilla y almendra) y físico-químicas del aceite de moringa (*Moringa oleifera*) extraído por ultrasonido. Se determinaron las dimensiones lineales de las vainas, semillas y almendras con el uso del vernier, también se determinó sus propiedades gravimétricas y friccionales. Así mismo se le determinó los parámetros a^* , b^* , C^* , h° y ΔE y análisis químico proximal en la harina de almendra de moringa. El aceite se obtuvo por extracción por ultrasonido de acuerdo a un diseño de experimentos central compuesto, con 3 variables independientes: proporción muestra/solvente (hexano) (X_1) (6 - 20 g/mL), temperatura (X_2) (30 - 40 °C) y tiempo de ultrasonido (X_3) (10 - 30 min) y 6 variables de respuesta [rendimiento, eficiencia, índice de peróxidos (IP), ácidos grasos libres (AGL), p -anisidina (p -IA) y valor tototox (VT)]. Posteriormente, se realizó una optimización numérica para encontrar los mejores tratamientos y a los cuales se les determinó: todos los parámetros de color, índice de refracción, densidad, perfil de ácidos grasos, perfil térmico, índice de yodo, índice de saponificación, identificación y cuantificación de fitoesteroides y tocoferoles, y su capacidad antioxidante de los compuestos bioactivos. De acuerdo a los valores promedios de las dimensiones características (longitud, anchura y espesor) de la vaina, semilla y almendra, las vainas presentaron valores mayores seguidos de las semillas. En base al contenido de masa, la parte comestible de la vaina fue de 1.48% y el 64% en la semilla. Con respecto a la densidad aparente, densidad real y porosidad oscilaron entre 0.48-0.72 g/cm³, 0.29-0.46 g/cm³ y 41-36.27% en la semilla y almendra, respectivamente. Las semillas mostraron valores más altos en esfericidad (1.04-0.95%), volumen (0.52-0.17 cm³), diámetro geométrico (0.97-0.70 cm) y aritmético (0.97-0.71 cm). El ángulo de reposo de la semilla (83.41°) y almendra (83.18°) no mostraron diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Tanto las semillas como almendras mostraron coeficiente estático de fricción mínimo en el acero inoxidable (0.35-0.32) y máximo en el caucho (1.03-1.13). La fuerza de ruptura fue significativamente ($p < 0.05$) mayor para las almendras (11799.89 N) en comparación con las semillas (34826.58 N). La harina de

la almendra mostró en su mayor proporción lípidos (46.27%), seguido de proteínas (40.03%). Los análisis de color de harina de almendra de moringa mostraron los siguientes valores: $L^*=73.67$, $a^*=1.82$, $b^*=18.56$, $C^*=18.64$, $h^\circ=84.23$ y $\Delta E=31.64$. El rendimiento de los tratamientos de extracción varió de 389.46 a 438.69 g/kg con una eficiencia de extracción de 887.76 a 999.97 g/kg, con la siguiente estabilidad oxidativa: IP (1.13-2.26 meq O_2 /kg), *p*-IA (0.43-5.14), AGL (0.88-1.13 %) y VT (2.16-10.23). Los resultados del rendimiento, eficiencia y estabilidad oxidativa de la extracción del aceite de la semilla de moringa mostraron efecto estadísticamente significativo ($p<0.05$), obteniéndose 3 condiciones óptimas de extracción: proporción de muestra/hexano de 1:17.16, 1:17.16 y 1:16.58 (p/v); con una temperatura de 50.99, 44.75 y 53.73 °C y un tiempo de extracción de 25.95, 14.09 y 25.95 min, identificadas como Tratamiento 1 (T1), Tratamiento 2 (T2) y Tratamiento 3 (T3), respectivamente. La validación experimental verificó la confiabilidad de las condiciones óptimas de extracción por ultrasonido. Se encontró la presencia de 7 ácidos grasos (C18:0, C16:0, C16:1, C18:1, C18:2, C20:0 y C22:0) en los tres tratamientos, encontrándose en mayor proporción el ácido graso monoinsaturado (C18:1). Los tres tratamientos presentaron diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) en densidad (0.92, 0.93 y 0.94 mg/mL), índice de saponificación (152.12, 154.77 y 158.47 mg KOH/g) y en todos los parámetros de L^* , b^* , C^* , h° y ΔE . Sin embargo, el índice de refracción (1.46), índice de yodo (63.30, 63.28 y 63.30 g I_2 /100 g de aceite) y el perfil térmico no presentaron diferencias estadísticamente significativa ($p<0.05$). El análisis de LC-APCI⁺-MS demostró la presencia de α -tocoferol en los tres tratamientos, quienes no presentaron diferencias significativas ($p<0.05$). Sin embargo, el T2 y T3 fueron significativamente diferentes ($p<0.05$) en el contenido de γ -tocoferol [T1 (109.50), T2 (99.34) y T3 (121.75)] y δ -tocoferol [T1 (6.85), T2 (6.07) y T3 (8.46)]. Con respecto al contenido de ergosterol, campesterol y estigmasterol en los tres tratamientos no presentaron diferencia significativa ($p<0.05$) pero en las concentraciones de β -sitosterol presentaron diferencia significativa en cada uno de los tratamientos [T1 (1307.03), T2 (986.95) y T3 (1094.66)]. Los tocoferoles y fitoesteroles presentes en los tratamientos presentaron actividad antioxidante con el ensayo de la Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (por su sigla en inglés ORAC). Las condiciones favorables para la extracción de cantidades elevadas de esos compuestos secundarios, contenido del C18:1 y el mejor parámetro de calidad del aceite se obtuvieron con el T1, es decir con las siguientes condiciones de extracción: proporción de muestra/hexano de 1:17.16 (p/v), con una temperatura de 50.99 °C y un tiempo de extracción de 25.95 min.

ABSTRACT

Juárez-Rafael, María de la Luz. Master in Food Science. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. February, 2017. **Characterization of moringa seed and oil (*Moringa oleifera*) extracted by ultrasound**. Advisor: Dra. Cecilia Eugenia Martínez Sánchez, Co-advisor: Dr. Erasmo Herman y Lara.

At present nowadays, there is a search and revaluation of natural sources that may be applicable to the development of food, which interfere with nutrition and at the same time provide beneficial effect to health. In this context, the seeds of moring (*Moringa oleifera*) are a valuable potential natural source of oil and protein. However it is not used in the food field. The objective of this work was to characterize the physical properties of the fruit (pod, seed and almond) and physical-chemical characterization of moringa oil (*Moringa oleifera*) extracted by ultrasound. The linear dimensions of the pods, seeds and almonds were determined using the vernier, their gravimetric and frictional properties were also determined. Also the parameters a^* , b^* , C^* , h° and ΔE and proximal chemical analysis in the moringa almond flour are determined. The oil was obtained by ultrasonic extraction according to a central composite design, with 3 independent variables: sample/solvent ratio (X_1) (6-20 g/mL), temperature (X_2) (30-40 °C) and ultrasound time (X_3) (10-30 min) with six answer variables [yield, efficiency, peroxide index (PI), p -anisidine (p -AI), free fatty acids (FFA) and totox value (TV)]. Subsequently, a numerical optimization was carried out to find the best treatments and all the parameters of color, refractive index, density, fatty acid profile, thermal profile, iodine index, saponification index, identification and quantification of phytosterols and tocopherols, and their antioxidant capacity of bioactive compounds. The pods were the samples with the highest dimension values (length, width and thickness), folowed by the seeds and almond. Based on the mass content, the edible part of the pod was 1.48% and 64% in the seed. With regard to bulk density, real density and porosity, they ranged from 0.48-0.72 g/cm³, 0.29-0.46 g/cm³ and from 41-36.27% on seed and almond, respectively. The seeds showed higher values in sphericity (1.04-0.95%), volume (0.52-0.17 cm³), geometric diameter (0.97-0.70 cm) and arithmetic (0.97-0.71 cm). The rest angle of the seed (83.41°) and almond (83.18°) did not show a statistically significant difference ($p < 0.05$). Both seeds and almonds showed minimum static coefficient of friction for stainless steel (0.35-0.32) and maximum for rubber (1.03-1.13). The rupture strength was significantly ($p < 0.05$) higher for almonds (11799.89 N) than seeds (34826.58 N). Almond meal contains the highest proportion of lipids (46.27%), followed by proteins (40.03%). Color analysis of moringa almond flour showed the following values: $L^* = 73.67$, $a^* = 1.82$, $b^* = 18.56$, $C^* = 18.64$, $h^\circ = 84.23$ and $\Delta E = 31.64$.

The yield of the extraction treatments varied from 389.46 to 438.69 g/kg with an extraction efficiency of 887.76 to 999.97 g/kg, with the following oxidative stability: IP (1.13-2.26 meq O₂/kg), *p*-AI (0.43-5.14), FFA (0.88-1.13%) and TV (2.16-10.23). The results of the yield, efficiency and oxidative stability of the extraction of the oil moringa seeds had a statistically significant effect ($p < 0.05$), which obtained 3 optimal conditions of extraction: sample/hexane ratio of 1:17.16, 1: 7.16 and 1:16.58 (w/v); With a temperature of 50.99, 44.75 and 53.73 °C and an extraction time of 25.95, 14.09 and 25.95 min, identified as Treatment 1 (T1), Treatment 2 (T2) and Treatment 3 (T3), respectively. Experimental validation verified the reliability of optimal ultrasound extraction conditions. The presence of 7 fatty acids (C18:0, C16:0, C16:1, C18:1, C18:2, C20 and C22) was found in all three treatments, being in greater proportion the monounsaturated fatty acid (C18:1). The three treatments presented a statistically significant difference ($p < 0.05$) in density (0.92, 0.93 and 0.94 mg / mL), saponification index (152.12, 154.77 and 158.47 mg KOH/g) and in all the parameters of L*, b*, C*, h° and ΔE. However, the refractive index (1.46), iodine index (63.30, 63.28 and 63.30 g I₂/100 g oil) and thermal profile did not present statistically significant differences ($p < 0.05$). The LC-APCI⁺-MS analysis showed the presence of α-tocopherol in the three treatments, which did not present significant differences ($p < 0.05$). However, T2 and T3 were significantly different ($p < 0.05$) in the γ-tocopherol content [T1 (109.50), T2 (99.34) and T3 (121.75)] and δ-tocopherol [T1 (6.85), T2 (6.07) and T3 (8.46)]. There was no significant difference in the concentrations of ergosterol, campesterol and stigmasterol in the three treatments ($p < 0.05$), but in the β-sitosterol concentrations there was a significant difference in each treatment (T1 (1307.03), T2 (986.95) and T3 (1094.66)]. The tocopherols and phytosterols present in the treatments presented antioxidant activity with the Oxygen Radical Absorption Capacity (ORAC). The favorable conditions for the extraction of high amounts of these secondary compounds, C18:1 content and the best oil quality parameter was found at T1, with the following extraction conditions: sample/hexane ratio of 1: 17.16 (w/v), with a temperature of 50.99 °C and extraction time of 25.95 min.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT	v
LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 MORINGA (<i>Moringa oleifera</i>)	3
2.1.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	3
2.1.2 USO E IMPORTANCIA	5
2.1.3 SEMILLA DE MORINGA	5
2.2. ACEITE DE SEMILLA DE MORINGA	6
2.2.1. METABOLITOS SECUNDARIOS.....	7
2.2.2. TOCOFEROLES	8
2.2.2. FITOESTEROLES	9
2.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE	10
2.3.1 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS	10
2.3.2. EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.....	11
2.3.2. EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO	11
2.3.2.1 Mecanismos y Ventaja de la Extracción por Ultrasonido.....	12
2.3.2.1 Equipos de Ultrasonificado.....	13
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. OBJETIVOS.....	18
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	18
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
5.1 MATERIALES	19
5.2 PROPIEDADES FÍSICAS DE LA SEMILLA.....	19
5.2.1 TAMAÑO Y FORMA	19
5.2.2 PROPIEDADES GRAVIMÉTRICAS	20
5.2.3 PROPIEDADES FRICCIONALES-FLUIDEZ	22

5.2.3.1 Ángulo de Reposo.....	22
5.2.3.2 Coeficiente de Fricción Estático y Dinámico	23
5.2.3.3 Fuerza de Ruptura	24
5.2.4 CAPACIDAD DE HIDRATACIÓN E ÍNDICE DE HIDRATACIÓN	24
5.2.5 CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO (CH) E ÍNDICE DE HINCHAMIENTO (II).....	25
5.3 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL EN LA ALMENDRA DE MORINGA	25
5.4 DETERMINACIÓN DEL COLOR DE LA HARINA DE ALMENDRA DE MORINGA	25
5.5 EXTRACCIÓN DEL ACEITE	26
5.5.1 ACONDICIONAMIENTO DE LA SEMILLA	26
5.5.2 EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO	26
5.6 ESTABILIDAD OXIDATIVA	27
5.7 COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS.....	27
5.8 PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL ACEITE.....	28
5.9 PROPIEDADES TÉRMICAS.....	29
5.10 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS	30
5.10.1 EXTRACCIÓN EN FASE LÍQUIDA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS	30
5.10.2 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS	31
5.11 MÉTODO LC-APC ⁺ -MS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES Y FITOESTEROLES	33
5.11.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES Y FITOESTEROLES	34
5.12 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE RADICALES DE OXÍGENO	34
5.13 DISEÑO EXPERIMENTAL	35
5.13.1 OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN	36
5.13.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES	38
6.1 PROPIEDADES FÍSICAS DE LA SEMILLA.....	38
6.1.1 TAMAÑO Y FORMA	38
6.1.2 PROPIEDADES GRAVIMÉTRICAS	39
6.1.3.1 Ángulo de Reposo.....	42
6.1.3.2 Coeficiente de Fricción Estático y Dinámico	42
6.1.3.3 Fuerza de Ruptura	45
6.1.4 CAPACIDAD HIDRATACIÓN E ÍNDICE DE HIDRATACIÓN	46

6.1.5 CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO E ÍNDICE DE HINCHAMIENTO	46
6.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HARINA DE ALMENDRA DE MORINGA	47
6.3 COLOR EN LA HARINA DE ALMENDRA DE MORINGA	48
6.4 EFECTO EN LA EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO SOBRE EL RENDIMIENTO DEL ACEITE DE LAS SEMILLAS DE MORINGA.....	48
6.5 EFECTO EN LA EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO SOBRE LA EFICIENCIA DEL ACEITE DE LAS SEMILLAS DE MORINGA	51
6.6 EFECTO EN LA EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO EN LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE LAS SEMILLAS DE MORINGA.....	54
6.6.1 ÍNDICE DE PERÓXIDO	55
6.6.2 ÍNDICE DE <i>P</i> -ANISIDINA	56
6.6.2 ÁCIDOS GRASOS LIBRES	58
6.6.3 VALOR TOTOX.....	60
6.7 OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN	61
6.8 DETERMINACIÓN DE PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS.....	62
6.9 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL ACEITE.....	65
6.9.1 ÍNDICE DE REFRACCIÓN.....	65
6.9.2 DENSIDAD.....	65
6.9.3 COLOR.....	67
6.9.4 ÍNDICE DE YODO.....	69
6.9.5 ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN	69
6.10 PROPIEDADES TÉRMICAS.....	70
6.11 IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS POR LC-ESI-MS.....	71
6.12 MÉTODO LC-APC ⁺ - MS	72
6.12.1 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES	74
6.12.2 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE FITOESTEROLES.....	76
6.13 CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE RADICALES DE OXÍGENO (ORAC)	78
7. CONCLUSIONES.....	81
8. SUGERENCIAS	83
9. REFERENCIAS	84

LISTA DE TABLAS

No.		Pág.
1	Componentes de separación a base de los gradientes	32
2	Tiempo de retención de iones referenciales para identificación de compuestos fenólicos	32
3	Gradientes de separación de los compuestos de tocoferol y fitoesteroles	33
4	Tiempo de retención de iones referenciales para identificación tocoferoles y fitoesteroles	34
5	Niveles de las variables codificadas del aceite de semilla de moringa extraído por EU	35
6	Diseño experimental de las variables independientes	36
7	Propiedades físicas del fruto Moringa	39
8	Capacidad e índice de hidratación e hinchamiento	46
9	Composición química de la harina de almendra de moringa	47
10	Respuesta de las variables dependientes de acuerdo al diseño central compuesto	52
11	Coeficientes de regresión de las variables independientes y análisis de varianza del modelo central compuesto	53
12	Optimización y validación de las condiciones de extracción de acuerdo al diseño central compuesto	63
13	Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de moringa	64
14	Propiedades físicas del aceite de semilla de moringa	66
15	Temperaturas de las curvas de cristalización y fusión de los aceites de semilla de moringa	73
16	Capacidad antioxidante del aceite de semilla de moringa	80

LISTA DE FIGURAS

No.		Pág.
1	Árbol de moringa	4
2	Imagen y esquema de un baño ultrasónico	14
3	Dimensiones del fruto (vaina, semilla y almendra) de moringa	19
4	Dimensiones lineales de la vaina y almendra de moringa	20
5	Determinación de densidad aparente y a granel	21
6	Determinación del ángulo de reposo en las semillas y almendras	22
7	Fricción de semillas y almendras en madera	23
8	Hidratación de almendras, semillas con y sin alas	24
9	Esquema de las etapas de extracción del aceite	27
10	Propiedades físico-químicas del aceite	28
11	Preparación de la muestra para la cuantificación de tocoferoles y fitoesteroles	34
12	Coeficiente dinámico del fruto de moringa en diferentes superficies	43
13	Coeficiente de fricción estático del fruto de moringa en diferentes superficies	44
14	Gráfica tridimensional del rendimiento de extracción del aceite de semilla de moringa	50
15	Gráfica tridimensional de la eficiencia de extracción del aceite de semilla de moringa	54
16	Gráfica tridimensional del índice de peróxido en la extracción del aceite de semilla de moringa	56
17	Gráfica tridimensional del p -IA en la extracción del aceite de semilla de moringa	58
18	Gráfica tridimensional del % AGL en la extracción del aceite de semilla de moringa	59
19	Gráfica tridimensional del valor totox en la extracción del aceite de semilla de moringa	60
20	Termogramas (DSC) de aceites de semilla de moringa	73
21	Contenido de α -tocoferol, γ -tocoferol y Δ -tocoferol (mg/l) en las diferentes condiciones de extracción de aceite	75
22	Contenido de Ergosterol, Campesterol, Estigmasterol y B-sitosterol (mg/l) en las diferentes condiciones de extracción de aceite	78

1. INTRODUCCIÓN

El árbol de Moringa cuyo nombre científico es *Moringa oleifera*, forma parte de la horticultura tradicional en México con fines ornamentales. Son abundantes y frondosos en las llanuras calientes en la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México (Olson y Alvarado, 2016). Cada parte del árbol tropical (flores, vainas inmaduras, hojas, raíz, tallo y las semillas) son comestibles, nutricionales y medicinales. Las semillas son una fuente rica de proteína y aceite (El-Baky y E-Barot, 2013).

Los aceites vegetales son una parte importante del sustento humano, dado que aportan un alto valor energético y son excelentes portadores de sabor en el alimento. Todos los aceites vegetales se componen principalmente de triacilglicéridos (95-98%) y una mezcla compleja de compuestos secundarios (2-5%) con una amplia gama de estructuras químicas. Entre estos compuestos secundarios se encuentran: tocoferoles, fitoesteroles, pigmentos, compuestos volátiles y polifenoles. Los tocoferoles y fitoesteroles constituyen la mayor proporción de la fracción no saponificable de los lípidos. Estos compuestos han despertado gran interés en los últimos años por sus efectos beneficiosos para la salud.

En el proceso de extracción de aceites, las semillas son sometidas a una serie de operaciones que incluyen el secado, la molienda y tamizado. Estas operaciones requieren mucho tiempo además de que generan mayor cantidad de desperdicios si se realizan manualmente. Sin embargo, las industrias aceiteras procesan adecuadamente las semillas utilizando máquinas y equipos, este procesamiento es factible cuando se tiene conocimiento de las propiedades físicas (Aviara et al., 2013). Es decir, el conocimiento de las propiedades físicas de las semillas, son indispensables para la realización adecuada de las operaciones post-cosecha, así como para el diseño del equipamiento para el manejo, transporte y acondicionamiento de las semillas. Las propiedades físicas se pueden agrupar en: tamaño y forma de la semilla (longitudes características, diámetro geométrico, área

superficial específica, relación de aspecto), propiedades gravimétricas (densidad aparente y real, porosidad) y de fricción (coeficiente de fricción y ángulo de reposo) (Hernández et al., 2015).

Regularmente los aceites vegetales se obtienen mediante procesos mecánicos o químicos. Los procesos mecánicos a menudo se asocian con bajos rendimientos, mientras que los métodos de extracción química implican el uso de disolventes orgánicos que pueden ser perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente. Sin embargo, diversas investigaciones han demostrado que el método de extracción por ultrasonido es una nueva técnica simple y de bajo costo para extraer aceites a partir de diferentes fuentes, presentado ventajas con su alto rendimiento, eficiencia y el uso de baja cantidad de disolvente.

Por otra parte, en los últimos años se ha incrementado el interés en consumir productos alimenticios con propiedades nutricionales que a la vez proporcionen efectos benéficos a la salud. A base de ello, los investigadores se han dado a la tarea de buscar nuevas fuentes naturales, que aporten esos beneficios. Dentro de esta tendencia las semillas ocupan un lugar clave. En este sentido, las semillas de moringa ofrecen una nueva oportunidad para mejorar la nutrición humana, debido a que presentan un elevado contenido en aceites ricos en ácido oleico, tocoferoles y fitoesteroles, cuya incorporación en la dieta permitiría la incidencia en enfermedades cardiovasculares, diabetes, entre otros. Además podría tener como consecuencia un impacto socioeconómico en la comercialización de las semillas para la extracción del aceite a nivel industrial. En función a estas características, se determinaron las propiedades físicas del fruto (vaina, semilla y almendra) y físico-químicas del aceite de moringa (*Moringa oleifera*) extraído por ultrasonido.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 MORINGA (*Moringa oleifera*)

Moringaceae, una familia monogenérica, con un solo género *Moringa* se caracteriza por 13 especies (*arborea*, *concanensis*, *drocanensis*, *drouhardii*, *hildebrandtii*, *pygmaea*, *peregrina*, *ovalaifolia*, *rospoliana*, *stenopetala*, *rivae*, *oleifera* y *borziana*) de dicotiledóneas tropicales y subtropicales. Casi todas las especies de *Moringa* parecen tener su origen en India y África, pero se ha extendido en países trópicos, entre ellos México (Amaglo et al., 2010; Muhammad et al., 2016). *Moringa oleifera* comúnmente llamado el "árbol de rábano picante", "moringa", "perla", "Jacinto", "paraíso" y "árbol milagro". Es el más conocido y ampliamente distribuido de los 13 (Padayachee y Baijnath, 2012).

La moringa pudo haber sido traída a través de los viajes de la Nao de China, o en el siglo XX, misioneros que viajaron de África a Latinoamérica la trajeron a este continente. Filipinas utiliza la moringa como alimento y se cree que los marineros en la ruta Manila-Acapulco la trajeron a México para fines alimenticios. En los siglos subsiguientes, en la mayor parte de México se ha perdido la costumbre de comer la moringa y el árbol se emplea principalmente para fines ornamentales. Este cambio en el uso de la moringa podría implicar por su sabor desagradable (por ejemplo, de sabor muy picante debido a su alto contenido de glucosinolatos-isotiocianatos) (Olson y Alvarado-Cárdenas, 2016). Este árbol se encuentra abundantemente en pueblos de toda la costa del Pacífico, desde el sur de Sonora hasta Chiapas, incluyendo el sur de la península de Baja California (al sur de La Paz y de Todos Santos). Los ejemplares de moringa son especialmente abundantes y frondosos en las llanuras calientes del sur del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca (Olson y Fahye, 2011).

2.1.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Su clasificación taxonómica muestra que pertenece al reino: Plantae, sub-reino: Tracheobionta, superdivisión: Spermatophyta, división: Magnoliophyta, clase:

magnoleopsida, subclase: Dilleniidae, orden: Brassicales, familia: Moringaceae, género: *Moringa* y especies: *oleifera* (Muhammad et al., 2016). El árbol puede tolerar temperaturas mínimas de 15 °C, con lluvias estacionales de hasta 1000 mm, tiene una preferencia en suelos bien drenados y en una cota altitudinal máxima de 600 m, puede ser cultivado a través de las llanuras (Olson y Alvarado-Cárdenas, 2016). Moringa es un arbusto perennifolio de crecimiento rápido que usualmente se extiende en alturas desde 5 a 10 m de alto (Adedapo et al., 2009; Liñan, 2010; Padayachee y Baijnath, 2012); tiene raíces tuberosas, una corteza blanquecina, suave, madera esponjosa de aspecto corchoso y tronco corto (Canett- Romero et al., 2014), tiene una copa abierta y esparcida de ramas inclinadas, frágiles y esbeltas, un follaje plumoso de hojas pinadas, son hojas alternas, dos o tres veces pinnadas y dispuestos en espiral. Las flores agradablemente fragantes de 2.5 cm de ancho son de color blanco o crema. Las frutas (cápsulas) pueden encontrarse solas o en pares, de color verde claro, delgado, tiernas, firmes y leñosas en estado verde, y en estado de madurez son de color café. *M. oleifera* crece típicamente en suelo semi-seco, desierto o en suelos tropicales (Olson y Fahye, 2011). En la figura 1 se presentan dos fotografías de árboles de moringa.



Fig. 1 Árbol de moringa

2.1.2 USO E IMPORTANCIA

El auge reciente de moringa en México y en el resto del mundo se debe a 2 descubrimientos. En la década de 1990 se encontró que, gracias a su alto contenido proteínico (Olson y Fahey, 2011), la administración de polvo de hoja seca de moringa a madres en lactancia en situación de inanición extrema aumentaba la producción de leche, posibilitando así la supervivencia de los niños (Fuglie, 2001). El polvo de hoja de moringa empezó a usarse en zonas de emergencia, salvando miles de vidas. El otro descubrimiento ocurrió en el laboratorio, cuando se confirmaron sus propiedades quimioprotectoras anticáncer en animales (Bharali et al., 2003; Fahey et al., 2004). El árbol también produce aceite comestible en sus semillas (Kibazohi y Sangwan, 2011; Sánchez-Peña et al., 2013) y una proteína coagulante, la cual existen diversos estudio que han demostrado que podría ser un nuevo método natural de tratamiento de aguas fluviales y aguas turbias (Alfaro y Martínez, 2008; Lea, 2010) también en la clarificación de miel y jugo de caña (Paguia et al., 2014). Sus hojas presentan un efecto glucorregulatorio notorio (Ndong et al., 2007).

En especial, la moringa es de interés porque puede posibilitar a comunidades marginadas cubrir sus necesidades nutricionales urgentes y acceder a potentes sustancias quimioprotectoras (anticáncer) (Olson y Alvarado-Cárdenas, 2016). Por lo tanto, es valorado por sus múltiples aplicaciones, como propiedades antimicrobianas, nutritivas, antioxidantes y terapéuticas (El-Baky y El-Baroty, 2013; Canett- Romero et al., 2014; Ullah et. al., 2015). Estos beneficios se obtienen a través de todo el árbol, es decir, en las hojas, raíces, frutos, flores y semillas (García-Torres et al., 2013).

2.1.3 SEMILLA DE MORINGA

Las semillas son redondas, carnosas, cubiertas por una cáscara fina de color café castaño oscuro, poseen tres alas blanquecinas (semilla alada). Al quitar la cáscara se encuentra la zona de parénquima donde las paredes celulares tienen numerosos orificios presentando así una apariencia reticulada, que contienen gotas de aceite,

aleurona (granos proteicos) y algunas veces grupos de cristales (Adejumo et al., 2013).

La producción de vainas comienza a una edad temprana, en torno a los seis u ocho meses (Aria-Sabin, 2014). Un solo árbol puede producir 300 o 400 vainas por año a los tres años de haber sido plantado, y un árbol ya maduro es capaz de producir 1000 a 1600 vainas por año (Navie y Csurhes, 2010). Cada vaina puede tener de 12 a 25 semillas (Aria-Sabin, 2014), de manera que si se considera una media de 20 semillas por vaina, un ejemplar maduro puede producir de 20,000 a 32,000 semillas anualmente. Si cada semilla tiene un peso medio de 0.3-0.4 g, lo que se traduce en 3,000-4,000 semillas por kg y en algunos casos hasta 9,000 y aproximadamente se produciría entre 15,000 y 25,000 semillas/año, por árbol (Aria-Sabin, 2014).

Los análisis de composición proximal de estas semillas han mostrado alto nivel de lípidos (33-42%) y proteínas (37-42%), glucósidos, pterigospermina, 4 benzilisocianato y trazas de alcaloides (Abdulkarim et al., 2005; Maní et al., 2007). Estas proteínas, podrían ser útiles en la formulación de alimentos, sin embargo depende de las propiedades funcionales que presente la harina de la semilla mencionada. Por otra parte, los aceites presenten en la semilla de moringa puede utilizarse en la cocina, para producir jabones, cosméticos y biocombustible (Navie y Csurhes, 2010; Sánchez-Peña et al., 2013).

2.2. ACEITE DE SEMILLA DE MORINGA

Los aceites son ésteres formados por la condensación (unión) de ácidos grasos con glicerol, son los compuestos más estables y no son fácilmente degradables (Badui, 2006; Carey, 2006; García-Torres et al., 2013).

El aceite de la semilla de moringa se caracteriza por ser de alta calidad, poco viscoso, color amarillo brillante con sabor y aroma agradables a cacahuete (Ghazali

y Mohammed, 2011; Mofijur et al., 2014), además con una fuente natural de ácido behénico, que es el único parcialmente absorbido por el intestino humano (< 20%), este efecto de baja absorción, hace que la densidad calórica por gramo de aceite sea menor que otros (Abdulkarim et al., 2007; Martin et al., 2013; Arias-Sabin, 2014). Y es conocida comercialmente como Ben. En Haití, el aceite se utiliza para ensaladas mientras que en la India, el aceite ha sido utilizado para cocinar (Yusoff et al., 2016).

Este aceite se asemeja al aceite de olivo (Ruttarattanamongkol et al., 2014; Da Porto et al., 2016) por su alta proporción en el contenido de ácido oleico (68-85%), cuya alta concentración es deseable en términos de nutrición, estabilidad durante la cocción y freído (Abdulkarim et al., 2005, 2006, 2007; Alfaro, 2008; Ayerza, 2011; Madrigal y Avalos, 2015) de hecho sugieren que es más estable que el aceite de canola, soya y palma, cuando se usa en la fritura (Rashid et al., 2011; Nguyen et al., 2011; Ojiako y Okeke, 2013). También se ha informado que tiene beneficios fisiológicos, tales como reducción de los niveles de colesterol en suero, suprime ciertos tipos de cáncer, mejora de la función hepática, y reduce algunos efectos del envejecimiento y la enfermedad coronaria (Carluccio et al., 2007; Abdulkarim et al., 2007; Gunstone, 2011; Gillingham et al., 2012; Arias-Sabin, 2014). Además se ha reportado la presencia de tocoferoles, fenoles, esteroides y carotenoides (Abdulkarim, et al., 2007; Anwar et al., 2007; Maní et al., 2007; Palafox et al., 2012; Bhatnagar et al., 2013; Bhutada et al., 2016; Fakayode y Ajav, 2016).

2.2.1. METABOLITOS SECUNDARIOS

Los aceites son una parte importante del sustento humano en todo el mundo (Sánchez et al., 2015). Todos los aceites se componen principalmente de triacilglicéridos (95-98%) y una mezcla compleja de compuestos menores (2-5%) con una amplia gama de estructuras químicas. Entre estos compuestos secundarios se encuentran: tocoferoles, fitoesteroides, pigmentos, compuestos volátiles y polifenoles (Cañabate-Díaz et al., 2007; Zarrouk et al., 2009). Los tocoferoles y fitoesteroides constituyen la mayor proporción de la fracción no saponificable de los

lípidos. Estos compuestos han despertado gran interés en los últimos años por sus efectos beneficiosos para la salud (Lagarda et al., 2006; Zhang y Meng, 2009).

2.2.2. TOCOFEROLES

La vitamina E se compone de cuatro tocoferoles (α -, β -, γ - y δ -tocoferol) y cuatro tocotrienoles (α -, β -, γ -, y δ -tocotrienoles), determinado por el número y la posición de grupos metilo ($-\text{CH}_3$) presentes en las posiciones 5 y 7 en el anillo cromanol. Todos estos compuestos tienen una cadena lateral fitilo de 16-carbonos unidos al anillo de cromanol y tienen tres dobles enlaces. Denominados conjuntamente como tococromanoles o tocoles (Saini y Keum, 2016).

Los tocoferoles se utilizan para aumentar la vida útil y la estabilidad de los alimentos (Kamal y Budilarto, 2015; Seppanen et al., 2010). Asimismo en la dermatología cosmética y clínica debido a su fotoprotección y propiedades antioxidantes (Thiele et al., 2005). La actividad antioxidante se le atribuye principalmente a α -tocoferol en un sistema celular (Azzi, 2007) Además es importante en el mantenimiento de la integridad de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en las membranas celulares. Por lo tanto, los lípidos bioactivos tales como tocoferoles son las moléculas de señalización importantes que cambian sus niveles diferencialmente en respuesta al ambiente externo, dependiendo de la extensión y tipo de las estimulaciones (Traber y Atkinson, 2007). Con solamente este mecanismo, α -tocoferol desempeña un papel vital en la tolerancia al estrés de la planta, es decir con el aumento del nivel de α -tocoferol contribuye a la tolerancia al estrés, mientras que niveles reducidos favorecen el daño oxidativo en las plantas (Munne-Bosch, 2005). Por otra parte γ -tocoferol, también es relevante de la vitamina E y proporciona actividades antioxidantes a través de la captura de electrones de electrófilos lipófilos y de especies reactivas de nitrógeno y oxígeno. Además, γ -tocoferol ha demostrado que se asocia inversamente con el riesgo de cáncer de próstata y enfermedades coronarias del corazón (Yang et al., 2010). Sin embargo, la mezcla de α -, γ - y δ -tocoferoles (5:2:1, w/w/w) tiene mayor capacidad antioxidante y efectos anti-inflamatorios. Por lo tanto, la cuantificación de todos los homólogos

de tocoferol en matrices biológicas y de alimentos es importante (Lanina et al., 2007).

2.2.2. FITOESTEROLES

Los fitosteroles o esteroides vegetales, son compuestos que se producen naturalmente y son similares a la estructura del colesterol, pero tienen diferentes configuraciones de la cadena lateral. Dado que tiene cuatro anillos en el núcleo de esteroides, el grupo 3 β -hidroxilo y a menudo un doble enlace 5,6, teniendo como función el estabilizar las bicapas de fosfolípidos en las células de las membranas (Fernandes y Cabral, 2007; Tan et al., 2013). Sin embargo, el colesterol tiene una cadena lateral compuesta de ocho átomos de carbono, mientras que los fitosteroles más comunes tienen una cadena lateral compuesta de 9 o 10 átomos de carbono, de un total de 28 o 29 átomos de carbono. Actualmente se han reportado más de 100 tipos de fitosteroles en las plantas, pero el más abundante son sitosterol, estigmasterol y campesterol y en menores cantidades brasicasterol, Δ^5 avenasterol, sitostanol y campestanol (Phillips et al., 2002; Berger et al., 2004; Kritchevsky y Chen, 2005; Zarrouk et al., 2009).

Los fitoesteroides han sido reconocidos como sustancias biológicamente activas y relevantes en la industria farmacéutica (producción de esteroides terapéuticos) a causa de su capacidad en disminuir los niveles de colesterol en los seres humanos, que resulta en una reducción significativa en el riesgo de enfermedad cardiovascular, también se han descrito como un tipo de producto natural con actividad anti-inflamatoria, anti-bacteriana, con propiedades de anti-oxidación y anti-cáncer; nutrición (aditivos anti-colesterol en los alimentos funcionales) y cosméticos (cremas y lápiz labial)(Zhao et al., 2005; Fernandes y Cabral, 2007; Zhang y Meng, 2009). Kritchevsky y Chen (2005) establecen que una reducción del 10% en los niveles en sangre de colesterol LDL se puede obtener con una ingesta óptima de fitosteroides de 2 g al día.

Sin embargo, el tipo de extracción y la condición puede afectar considerablemente el rendimiento del aceite y de sus metabolitos secundarios así como la calidad del mismo. Existen varios métodos para la obtención de los aceites de las diferentes semillas, algunas de ellas se describen a continuación.

2.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE

En la extracción de aceite de semillas oleaginosas existen diferentes alternativas, entre ellas se encuentran los métodos tradicionales, estos se obtienen por procesos mecánicos (mecánica a alta presión usando una prensa de tornillo) o químicos (extracción con solvente asociados con el uso de calor y/o agitación, la combinación del prensado seguido de la extracción por solvente), a menudo se asocian con bajos rendimientos además requiere de mucho tiempo, mientras que los métodos de extracción química implican el uso de disolventes orgánicos que pueden ser perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente (Hu et al., 2012) pero eficiente en cuanto a los rendimientos de extracción, sin embargo la calidad del aceite y de la harina desgrasada es disminuida, debido a la inactivación de vitaminas y sustancias activas presentes en la materia prima (Guerra y Zúñiga, 2003).

Los métodos de extracción más modernos se basan en la mejora de la eficiencia de los métodos tradicionales por acción física sobre el medio, estos métodos se conocen como “métodos no tradicionales” (Azuola y Aguilar, 2007), describiéndose a continuación.

2.3.1 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS

La técnica permite la extracción de principios activos de matrices vegetales con base en el calentamiento selectivo obtenido de la fricción molecular debida a la alineación de iones y dipolos al campo eléctrico oscilante de las microondas para interactuar con las moléculas polares del material y así generar calor de forma homogénea (Mosquera et al., 2012). La radiación produce sobrecalentamiento del

agua que contienen las células y causa la ruptura de la pared celular, facilitando la transferencia de las sustancias al exterior y la penetración del disolvente en la matriz vegetal (Mahesar et al., 2008). La rapidez del calentamiento es la principal ventaja del microondas, su aplicación en alimentos se realiza a frecuencias de 2450 MHz y 915 MHz. Los parámetros que afectan la eficacia de la extracción son la naturaleza del disolvente, la temperatura, la potencia, el tiempo de extracción y la naturaleza de la matriz (Jiménez et al., 2001).

2.3.2. EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA

La extracción supercrítica se basa en el uso de un fluido en condiciones de presión y temperatura por encima de su punto crítico. Bajo estas condiciones, las propiedades del fluido cambian y se sitúan entre las de un gas y un líquido. Así, mientras que su densidad es más parecida a la del líquido, la viscosidad se parece más a la del estado gaseoso y la difusividad presenta valores intermedios entre los dos estados. En general, se considera que el estado supercrítico es aquel en el que el líquido es compresible (Herrero et al., 2006).

Las particularidades de las propiedades físico-químicas de los fluidos supercríticos y su uso presentan ciertas ventajas respecto a los métodos tradicionales de extracción. De esta manera los rendimientos de extracción son mayores que si se usara en estado líquido, en parte, debido al alto valor del coeficiente de difusividad. Entre los solventes usados en forma supercrítica el más usado es el dióxido de carbono, debido a la mayor facilidad que hay para alcanzar su punto crítico (31.3 °C y 72.9 atm). Además, el hecho de que el dióxido de carbono sea gas a temperatura ambiente permite la obtención de extractos libres de residuos (Herrero et al., 2010; Hoang et al., 2011).

2.3.2. EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO

La extracción asistida por ultrasonido es una nueva técnica simple para extraer aceites y compuestos bioactivos a partir de diferentes fuentes; se basa en una

energía de alta frecuencia que es imperceptible por el oído humano. La intensidad de potencia de ultrasonidos crea la vibración adicional en moléculas, estas vibraciones se desplazan en el medio causando expansión y compresión del material. Este movimiento oscilatorio forma burbujas o cavidades en el líquido, donde por efecto de las ondas, la temperatura se incrementa causando la ruptura de la tensión superficial, favoreciendo la solubilidad y penetración del solvente en el material vegetal, arrastrando con él los componentes activos por diferencia de concentración y pudiendo facilitar la hinchazón y la hidratación y por lo tanto causar un agrandamiento en los poros de la pared celular. Esto mejora el proceso de difusión y por lo tanto mejora la transferencia de masa (Long et al., 2011; Awad et al., 2012; Hernández-Santos et al., 2016).

2.3.2.1 Mecanismos y Ventaja de la Extracción por Ultrasonido

La extracción por ultrasonido puede mejorar el proceso, así como acelerarlo, gracias a los efectos derivados del fenómeno de cavitación (Esclapez et al., 2011). Según Mason et al. (2011), son cuatro mecanismos interconectados los cuales incrementan la eficacia del proceso de extracción, los cuales son:

- **Rotura de las paredes celulares:** como consecuencia de la formación de microjets a raíz de la implosión asimétrica de las burbujas de cavitación en la zona próxima a la interface sólido-líquido. Ello aumenta la permeabilidad del tejido vegetal, libera el material intracelular y reduce el tamaño de partícula, incrementando progresivamente la superficie sólida en contacto con el disolvente de extracción.
- **Incremento de la solubilidad de los analitos:** provocada por el incremento localizado de la temperatura en la zona de implosión de las burbujas de cavitación.
- **Mejora de la penetración del disolvente en la matriz del soluto:** como consecuencia del aumento de presión localizado, así como de la rotura y erosión de la superficie celular originadas por los microjets.

- **Mayor difusión:** debido a la continua renovación de la capa de disolvente en contacto con la superficie del sólido provocada por los US de potencia.

Este método presenta ventajas por su alto rendimiento, eficiencia y el uso de baja cantidad de disolvente así mismo el procedimiento de utilización es de bajo costo y simple. Por otra parte, la extracción asistida por ultrasonido es ajustable para ser utilizado con disolventes polares y no polares en varias temperaturas (Azuola y Vargas, 2007; Wang et al., 2008; Bimakr et al., 2012; Samaram et al., 2014). Sin embargo, según Palma y Barroso (2002), las variables que se deben tomar en cuenta para optimizar la técnica de extracción asistida por ultrasonido son temperatura, solvente, volumen del solvente, tiempo de extracción, frecuencia y potencia del ultrasonido y duración del ciclo aplicado.

2.3.2.1 Equipos de Ultrasonificado

El equipo de ultrasonificado está constituido por tres elementos fundamentales: un generador, un transductor y un emisor. El generador transforma la señal eléctrica de la red a la frecuencia deseada. El transductor, que suele ser un cuerpo vibrante, es la fuente que genera los ultrasonidos a partir de la señal eléctrica de alta frecuencia que recibe del generador. El emisor, por su parte, es el elemento que transmite la energía acústica generada por el transductor al medio que se desea tratar. De entre los equipos de ultrasonido en medios acuosos destacan principalmente los baños de ultrasonido y los sistemas tipo sonda. Los baños de ultrasonido son posiblemente los sistemas de aplicación más utilizados, debido a que se trata de equipos simples, compactos y económicos, con los transductores colocados en la base del recipiente y con el sistema de generación-emisión incluidos en el mismo. En los equipos tipo sonda, se utiliza una sonda metálica como emisor del sistema para aplicar al medio líquido la vibración generada por el transductor. El material utilizado para su fabricación debe tener una alta resistencia a la fatiga y erosión que provoca el fenómeno de cavitación. No obstante, el desgaste y formación de irregularidades en su superficie es inevitable, siendo necesario el control periódico de la sonda para evitar pérdida de eficacia en la emisión de

ultrasonidos (García-Pérez, 2007). Para la evaluación de la calidad del aceite obtenido por este método se recurre a la caracterización física y química del aceite. En la figura 2 se presenta una imagen y un esquema del proceso de ultrasonido mencionado anteriormente.



Fig. 2 Imagen y esquema de un baño ultrasónico

2.4 ANTECEDENTES

Abdulkarim et al. (2005). Determinaron las propiedades físico-químicas del aceite de semillas de *Moringa oleífera* extraídas por solvente (éter de petróleo) y enzima. La enzima la eligieron tras un estudio preliminar realizado en la extracción enzimática de aceite de semilla, usando cuatro enzimas comerciales Termamyl 120L, Tipo L (α -amilasa), Neutrased[®] 0.8L (proteasa neutral), Celluclast[®] 1.5 L FG (celulasa) y Pectinex[®] SP-L Ultra (Pectinasa) mostrando que Neutrased es la mejor enzima ya que presentó mayor rendimiento en la extracción del aceite. Estos autores reportaron que los aceites extraídos por los dos métodos mostraron diferencia en la composición porcentual de sus ácidos grasos. Los atributos de la calidad del aceite, como porcentaje relativo de ácido oleico, el porcentaje total de ácidos grasos insaturados, índice de yodo, ácido graso libre, el contenido de materia insaponificable y el color. El aceite extraído por enzimas mostró mejores resultados que los aceites extraídos por solvente.

Maní et al. (2007). Optimizaron la extracción del aceite de semillas de *Moringa oleífera* utilizando un diseño central compuesto para estudiar el efecto del tipo de disolvente (hexano, acetona, éter de petróleo), tamaño de partícula, temperatura, y tiempo de extracción. Obtuvieron un rendimiento de aceite con el hexano (33.1%), éter de petróleo (31.8%) y para la acetona (31.1%). Entre los tres solventes, el hexano produjo el máximo rendimiento de aceite de semillas de moringa. Respecto a los parámetros estudiados, el tamaño de partícula presentó efecto significativo sobre el rendimiento en aceite seguido de la temperatura de extracción y el tiempo para todos los disolventes. Se utilizó la metodología de superficie de respuesta para optimizar las variables independientes para la máxima extracción de aceite. Las condiciones óptimas de extracción del aceite fueron con el tamaño de partícula (0.62 mm), temperatura de extracción (56.5 °C) y tiempo de residencia (7 h), el rendimiento máximo de aceite obtenido era 33.5%, usando hexano.

Marrero et al. (2014). Determinaron la composición porcentual de ácidos grasos en el aceite de semillas de *Moringa oleífera*. El aceite lo extrajeron por medio de hexano en un baño ultrasónico (a 35 KHz con una proporción de 1:500 p/v, por un tiempo de 2 h) y los ácidos grasos obtenidos de los aceites fueron determinados como ésteres metílicos por cromatografía de gases con una columna capilar BPX-70. Encontraron 22 ácidos grasos: oleico (C18:1; 73.1%), palmítico (C16:0; 7.4%) y docosanoico (C22:0; 5.8%), mientras que otros 19 ácidos grasos (C12:0, C14:0, C15:0, C17:0, C18:1 (n-10), C18:2, C18:3, C20:0, C20:1, C21:0, C22:1, C23:0, C24:0, C25:0, C26:0 C27:0 y C28:0) se encontraron en menores proporciones. Concluyeron que el ácido oleico es el componente mayoritario, que podría establecerse como utilidad nutricional.

Ruttarattanamongkol et al. (2014). Propusieron una alternativa de extracción de aceite de semillas de *Moringa oleífera* utilizando extracción de fluido supercrítico con el dióxido de carbono (CO₂) como solvente. Estudiaron las condiciones de extracción, que fueron presión (15 a 35 MPa) y temperatura (25 a 35 °C) a un flujo de 20 kg/h. Hallaron que la extracción a presión de 35 MPa a una temperatura de

30 °C extrajo la máxima cantidad de aceite (75.27%) y la presión más baja (15 MPa) fue más selectiva para la extracción de ácido oleico, tocoferoles y esteroides. Las propiedades físico-químicas de los aceites extraídos por fluido supercrítico con CO₂ no eran diferentes de los aceites obtenidos por los métodos convencionales.

Bhutada et al. (2016). Evaluaron los efectos de la temperatura y la relación de disolventes en el rendimiento de extracción del aceite de semilla de *Moringa oleifera*, usando extracción Soxhlet. Demostraron que el rendimiento de la extracción del aceite varió con el cambio en las temperaturas (80-110 °C) y la relación de disolventes [tales como, cloroformo: metanol (C: M) de 1:1, 2:1, 3:1, 4:1]. Obtuvieron un máximo rendimiento de extracción en proporción 3:1 de C: M a 100 °C. También observaron un aumento en el rendimiento al aumentar la temperatura y a partir del análisis termo-gravimétrico descubrieron que el aceite se degrada a la temperatura de 425-450 °C. El uso de disolventes de extracción es un método eficaz para la extracción del aceite, mostrando la presencia de saponinas, flavonoides, esteroides, terpenoides, fenoles y triterpenoides arrastrados por los disolventes.

3. JUSTIFICACIÓN

En la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, abunda el crecimiento y desarrollo de los árboles de *Moringa oleifera* con fines ornamentales. Algunos de los pobladores asentados en esa región le han dado uso a sus hojas para el tratamiento de la anemia u otros en las semillas para el control de enfermedad de *Diabetes mellitus*. Por lo que este recurso natural no es aprovechado en el ámbito alimenticio por el desconocimiento de sus bondades.

Sin embargo, el árbol de moringa contiene en su fruto, específicamente en su almendra un alto contenido de aceite. Este aceite es similar al aceite de olivo por su alta proporción en el contenido de ácido oleico. El consumo del ácido oleico favorece a la prevención de enfermedades cardiovasculares ya que reduce la lipoproteína de baja densidad manteniendo de esta manera los niveles óptimos de triacilglicéridos y colesterol. No obstante, el ácido oleico es muy estable a las altas temperaturas comparadas con los ácidos grasos poliinsaturados, favoreciendo en la aplicación de la cocina para el freído y cocción de los alimentos. Por lo tanto es de interés científico y aplicativo para su estudio y caracterizar sus propiedades físicas del fruto de moringa y físico-químicas del aceite, a su vez conocer sus propiedades nutraceuticas así como el método de extracción adecuado para obtener mayor rendimiento de aceite sin afectar la calidad del mismo, para incorporarla en la dieta humana con el fin de mejorar la calidad de vida.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar las propiedades físicas del fruto (vaina, semilla y almendra) y físico-químicas del aceite de moringa (*Moringa oleifera*) extraído por ultrasonido.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar las propiedades físicas de la vaina, semilla y almendra de moringa mediante la determinación de sus propiedades geométricas, lineales y de fricción.
2. Optimizar el método de Extracción por Ultrasonido (EU) en el aceite de las almendras de moringa.
3. Evaluar la estabilidad oxidativa del aceite obtenido por EU de almendras de moringa.
4. Caracterizar las propiedades fisicoquímicas en el aceite de almendras de moringa obtenido de la optimización de la EU.
5. Determinar el perfil de ácidos grasos y térmicos en el aceite de almendra de moringa obtenido de la optimización de la EU.
6. Identificar los metabolitos secundarios (tocoferoles y fitoesteroles) del aceite de almendra de moringa obtenido de la optimización de la EU.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES

Los frutos del árbol de la *Moringa oleifera* (vaina seca, semilla y almendra) fueron adquiridos en el Instituto Tecnológico de Comitancillo de la ciudad de San Pedro Comitancillo, Oaxaca, México. Los frutos fueron recolectados de cinco árboles durante los meses de Abril-Junio 2015 y Marzo-Junio 2016. Las vainas secas se abrieron manualmente para la obtención de las semillas, éstas a la vez se descascarillaron con el apoyo de un martillo para la obtención de la almendra. Las vainas, semilla y almendra se limpiaron de forma manual y las que no presentaron daño físico fueron seleccionadas.

5.2 PROPIEDADES FÍSICAS DE LA SEMILLA

5.2.1 TAMAÑO Y FORMA

En la figura 3 se observan las dimensiones lineales de las vainas, semillas y almendras, las cuales fueron medidas de acuerdo con Mpotokwane et al. (2008).

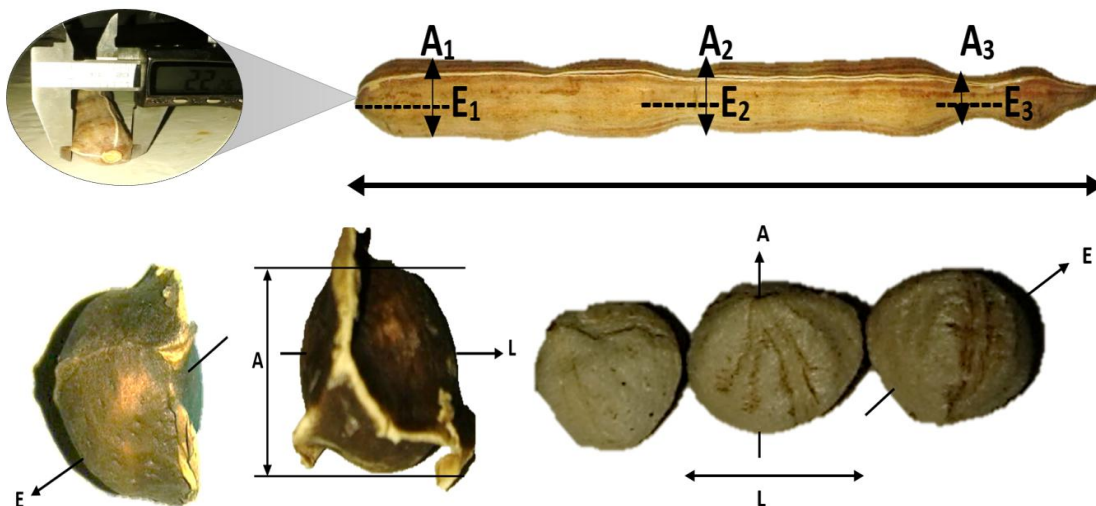


Fig 3. Dimensiones del fruto (vaina, semilla y almendra) de moringa.

L=largo (horizontal); A=ancho (vertical); E=espesor (transversal).

Se seleccionaron 100 vainas al azar y 100 semillas y almendras, a las cuales se les midió la longitud (L en cm), anchura (A en cm) y el espesor (E en cm) con la ayuda de un vernier, como se perciben en la figura 4. Estos datos se utilizaron para calcular el diámetro geométrico, esfericidad, diámetro aritmético, diámetro equivalente, volumen, área superficial, relación de aspecto, el área de superficie del elipsoide y el volumen elipsoide. El diámetro geométrico (D_g en cm) y diámetro aritmético (D_a en cm), se calcularon usando las ecuaciones 1 de Mohsenin (1986) y 2 de Bahnasawy (2007):

$$D_g = (L A E)^{1/3} \quad \text{Ec 1}$$

$$D_a = \frac{(L+A+E)}{3} \quad \text{Ec 2}$$

Se calculó el peso de cien vainas y el número de semillas que contenía cada una de las vainas de acuerdo al procedimiento de Mpotokwane et al. (2008).



Fig. 4 Dimensiones lineales de la vaina y almendra de moringa.

5.2.2 PROPIEDADES GRAVIMÉTRICAS

La esfericidad ($\emptyset$ en %) se calculó usando las siguientes ecuaciones de Bahnasawy (2007):

$$\emptyset = \frac{(L A E)^{1/3}}{L} \quad \text{Ec 3}$$

El Volumen (V en cm^3) y Superficie (S en cm^2) se calcularon con las ecuaciones 4 de Karababa y 5 Coskuner (2013):

$$S = \pi D_g^2 \quad \text{Ec 4}$$

$$V = \frac{\pi B^2 L^2}{6(2L-B)} \quad \text{Ec 5}$$

Para calcular la ecuación 5, se calculó el valor de B de acuerdo a la ecuación 6, expresada en cm.

$$B = (AE)^{0.5} \quad \text{Ec 6}$$

La relación de aspecto (R es adimensional) de acuerdo a la ecuación propuesta por Hauhouot-O'Hara et al. (2000):

$$R = \frac{W}{L} \quad \text{Ec 7}$$

La superficie elipsoide (S_e en cm^2) y el volumen del elipsoide (E_v en cm^3) se calcularon usando las ecuaciones de Firatligil-Durmus et al. (2010):

$$S_e = \frac{\pi^2}{4} L \left(W + T + \sqrt{2(W^2 + T^2)} \right) \quad \text{Ec 8}$$

$$E_v = \frac{4\pi}{3} LWT \quad \text{Ec 9}$$

La densidad aparente (p_a en g/cm^3) de semilla, se determinó por el método de desplazamiento como se aprecian en la figura 5, de acuerdo a la metodología reportada por Amin (2004). Y la densidad a granel (p_b en g/cm^3) se determinó con la relación: masa (peso en g de las semillas/almendras que ocuparon los 100 cm^3) sobre el volumen (volumen ocupado por las semillas/almendras) (Singh y Goswami, 1996). Con respecto a la porosidad (ϵ en %) fue calculada a partir de los valores de densidad aparente y la densidad a granel obtenidos anteriormente, utilizando la siguiente ecuación 9 (Altuntas y Yildiz, 2007).

$$\epsilon = \left(1 - \frac{p_b}{p_a} \right) \cdot 100 \quad \text{Ec 9}$$



Fig. 5 Determinación de densidad aparente y a granel

5.2.3 PROPIEDADES FRICCIONALES-FLUIDEZ

5.2.3.1 Ángulo de Reposo

El ángulo de reposo se determinó en las semillas con/sin alas y en las almendras, de acuerdo a la metodología de Hamid et al. (2014). Se utilizó un tubo de cloruro de polivinilo (PVC) con la de medida de 76.2 mm de diámetro interno y 200 mm de longitud, el cual fue montado en el texturómetro (TA-XT plus, Stable Microsystems Inc., Reino Unido) de tal manera que descansara perpendicularmente en una superficie horizontal. En esta posición, el tubo fue llenado con la muestra de semillas hasta una altura de 150 mm. Luego, accionando el texturómetro, se levantó el tubo a una velocidad constante de 10 mm/s, hasta lograr que todas las semillas fluyeran del tubo formando granel sobre la superficie horizontal, como se observan en la figura 6. Se determinó la altura y el diámetro del granel, posteriormente se sustituyó en la siguiente ecuación:

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{2H}{D} \right) \quad \text{Ec 10}$$

Dónde: θ = ángulo de reposo, H = altura del granel (mm), D = diámetro de la base del granel (mm).

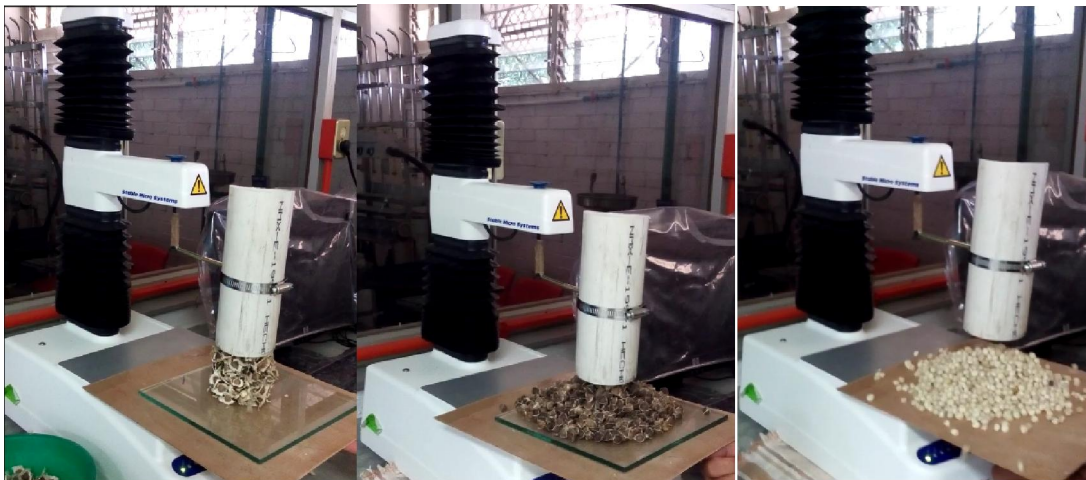


Fig. 6 Determinación del ángulo de reposo en las semillas y almendras

5.2.3.2 Coeficiente de Fricción Estático y Dinámico

El coeficiente de fricción estático (μ_o) se determinó en un sistema de acoplamiento de superficie (acero inoxidable, aglomerado de madera, vidrio, hierro galvanizado, caucho y polivinilo de cloruro (PVC) intercambiable para utilizar con un texturómetro (TA-XT plus, Stable Microsystems Inc., Reino Unido). El texturómetro se operó en el modo de prueba de tensión y con la ayuda de una polea a una velocidad constante de 10 mm/s. Las semillas con/sin alas y las almendras, previamente pesadas, fueron depositadas en una caja de madera (90 x 90 x 90 mm). La fuerza para desplazar la caja con las semillas sobre la superficie fue registrada directamente por el texturómetro (Amin et al, 2004), como se muestran en la figura 7. El μ_o se determinó de acuerdo a la siguiente ecuación (Altuntas y Yildiz, 2007):

$$\mu_o = \left(\frac{F_o}{W} \right) \quad \text{Ec 11}$$

Dónde, μ_o = coeficiente de fricción estático (adimensional), F_o = fuerza máxima requerida para mover la muestra (kgf), W = peso de las semillas (kgf).

También se calculó el coeficiente de fricción dinámico (μ) con la misma fórmula, con la diferencia que al peso de la semilla se le sumó el peso de la caja vacía (165.41 g). Ambos coeficientes de fricción fueron evaluados en las semillas con/sin alas y almendras, en 10 repeticiones por cada superficie.

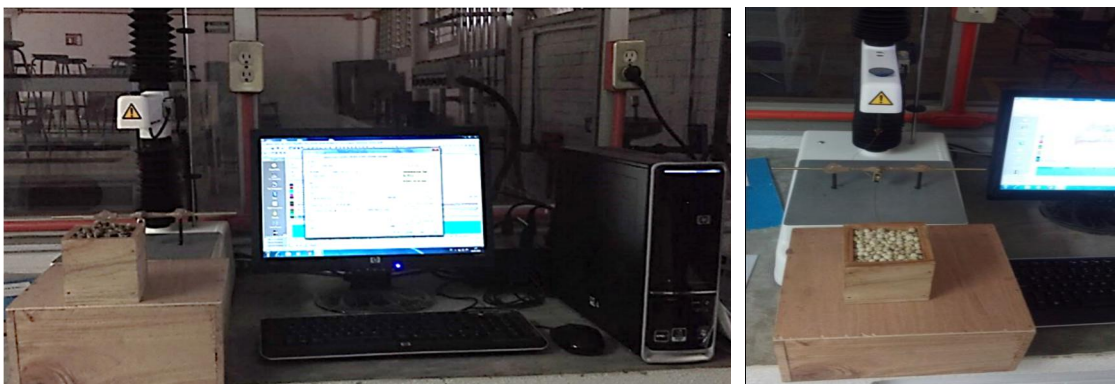


Fig. 7 Fricción de semillas y almendras en madera.

5.2.3.3 Fuerza de Ruptura

Se determinó la fuerza de ruptura (F_r) con el uso de un texturómetro (TA-XT plus, Stable Microsystems Inc., Reino Unido). Las 20 semillas con/sin alas, se colocaron en lado vertical de la plataforma del texturométero. Y se programó el texturométero a una velocidad de compresión de 6 mm/min. A partir de la información registrada en cada ensayo se determinó la fuerza máxima (N) requerida para fracturar las muestra. Los resultados fueron registrados automáticamente por el equipo en cada prueba (Karaj y Müller, 2010).

5.2.4 CAPACIDAD DE HIDRATACIÓN E ÍNDICE DE HIDRATACIÓN

La capacidad e índice de hidratación se determinaron de acuerdo a la metodología de Adebawale et al. (2005). Se pesaron 5 g de muestra (semillas con y sin alas y almendras) se humedecieron en 50 mL de agua destilada en un vaso de precipitados durante 24 h a una temperatura de 20 °C, como se perciben en la figura 8, posteriormente se eliminó el agua y se midió el peso de las semillas (con y sin alas) y almendras remojadas. Se calcularon la capacidad de hidratación y el índice de hidratación de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Capacidad de hidratación} = \frac{\text{peso de la semilla hidratada} - \text{peso de la semilla}}{\text{Numero de semilla}} \quad \text{Ec 12}$$

$$\text{Índice de hidratación} = \frac{\text{Capacidad de hidratación de la semilla}}{\text{peso de una semilla}} \quad \text{Ec 13}$$



Fig. 8 Hidratación de almendras, semillas con y sin alas

5.2.5 CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO (CH) E ÍNDICE DE HINCHAMIENTO (II)

El volumen de 5 g de semillas y almendras fue calculado usando una probeta graduada. Las semillas y almendras fueron hidratadas en agua destilada por 12 h. El volumen de las semillas se midió después de la inmersión (Adebawale et al., 2005).

$$CH = \frac{V \text{ después hidratada} - V \text{ antes hidratada}}{\# \text{ de semillas}} \quad \text{Ec 14}$$

$$II = \frac{\text{Capacidad de hinchamiento}}{\# \text{ de semillas}} \quad \text{Ec 15}$$

5.3 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL EN LA ALMENDRA DE MORINGA

Se determinó por triplicado siguiendo los métodos de la AOAC (2005): humedad (925.10); cenizas (942.05); proteína (960.52); y grasa (948,22). Fibra bruta se determinó por digestión ácido-alcalina (Tejada 1992), y carbohidratos por diferencia.

5.4 DETERMINACIÓN DEL COLOR DE LA HARINA DE ALMENDRA DE MORINGA

El color de la harina de la almendra de Moringa se midió utilizando un colorímetro Ultra Scan VIS Hunter Lab (MiniScan Hunter Lab, modelo 45/0L, Hunter Associates Lab. Virginia U.S.A). En una celda de cuarzo se colocó la harina frente a la fuente de luz, se cubrió con una cubierta de color negro. La medición del color se hizo determinando los valores de L^* (luminosidad), a^* (rojo a verde), b^* (amarillo a azul), Cromaticidad (C^*), ángulo Hue (h°) y la diferencia total de color (ΔE). De acuerdo a Aguas-Atlahua et al. (2014), se aplicaron las ecuaciones 16 para C^* y 17 h° .

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5} \quad \text{Ec. 16}$$

$$H^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad \text{Ec. 17}$$

5.5 EXTRACCIÓN DEL ACEITE

5.5.1 ACONDICIONAMIENTO DE LA SEMILLA

Las semillas se descascarillaron con el apoyo de un martillo para la obtención de almendras, se limpiaron de forma manual y los que no presentaron daño físico fueron seleccionados para secarlos a 60 °C en un horno (RIOSSA, E-41. México) durante 24 h para eliminar el contenido de humedad. Posteriormente se molieron utilizando una licuadora marca Oster. El tamaño de partícula se ajustó a una malla tamiz de 0.59 mm (malla N° 30). Dichas harinas tamizadas se utilizaron para la extracción del aceite.

5.5.2 EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO

La extracción del aceite se llevó a cabo en un baño ultrasónico (Elmasonic P D-78224 Singen/Htw. Germany) con una frecuencia de 80 kHz en una potencia de 100%, 20 g de harina tamizada de almendras de moringa se utilizaron para cada combinación de las variables del proceso. Dichas combinaciones fueron las diferentes condiciones de proporción de muestra/hexano (6-20 mL), temperatura (40-60 °C) y tiempo (10-30 min). Las mezclas obtenidas se filtraron al vacío y el aceite se recuperó en un rotaevaporador (Buchi Labortechnik, AG 9230, Flawil/Switzerland), como se muestran en la figura 9. Posteriormente se almacenaron en frascos ámbar bajo una atmósfera de nitrógeno y a temperatura de refrigeración hasta su análisis. Cada ensayo se repitió tres veces. El rendimiento y la eficiencia de la extracción se calcularon con las formulas 18 y 19:

$$\text{Rendimiento (g/kg)} = \frac{\text{Aceite extraído (g)}}{\text{Muestra} - \text{Aceite extraído}} \times 1000 \quad \text{Ec 18}$$

$$\text{Eficiencia(g/kg)} = \frac{\text{Rendimiento del Aceite extraído (g)}}{\text{Contenido total de lípidos}} \times 1000 \quad \text{Ec 19}$$

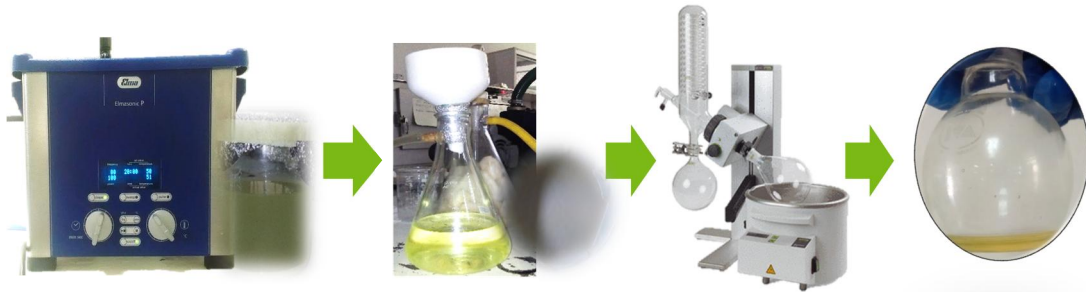


Fig. 9 Esquema de las etapas de extracción del aceite.

5.6 ESTABILIDAD OXIDATIVA

Se calculó de acuerdo con las técnicas del AOCS (1999); índice de peróxidos (IP) (Método Cd 8-53) , ácidos grasos libres (AGL) (Método Aa 4-38), p-anisidina (*p*-IA) (Método Cd 18-90) y el valor TOTOX (VT)(CG 3-91) se calculó de acuerdo a la siguiente formula:

$$VT = p\text{-IA} + 2IP \quad \text{Ec. 20}$$

5.7 COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos se determinaron mediante cromatografía de gases (Agilent Technologies 7820A. China). Los ésteres metílicos del aceite, se obtuvieron de acuerdo al procedimiento descrito por Martínez et al. (2005): se pesaron 200 mg del aceite en un tubo de ensayo para adicionarle 1 mL de HCL-Metanol (1N), inmediatamente se colocó el tubo en un baño seco a 80 °C durante 2 h, pasando dicho tiempo se enfrió el tubo a 25 °C y se agregaron 200 µL de agua destilada. Y se extrajo, añadiendo 2 mL de hexano. Posteriormente se agitó en un vortex y se agregó sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos. Después se recuperó la fase orgánica en un vial de vidrio para ser analizado por cromatografía de gases. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se analizaron con un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización de llama y el uso de nitrógeno como gas portador (4 mL/min). Se empleó un inyector split/splitless y un detector (ambos fijados en 250 °C). Las muestras fueron inyectados en una columna capilar de sílice fundida (HP-INNOWax, 60 m,

320 μm , 0.25 μm) a una temperatura programada de 110 a 260 $^{\circ}\text{C}$ a 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y se mantuvo durante un tiempo total de 47 min. En base a los tiempos de retención de los estándares (normas de lípidos Sigma-Aldrich: FAME mezclas C14:0-C:22:0, 18917 Supelco, 3050 Spruce Street, Saint Louis, Missouri 63103, Estados Unidos) se identificaron los ácidos grasos.

5.8 PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL ACEITE

En la figura 10 se aprecian las determinaciones realizadas en el aceite. Las características químicas, se determinaron mediante los índices de yodo (Método Cd 1d-92) y saponificación (Método Cd 3-25), de acuerdo con el método descrito por AOCS (1999). Y las propiedades físicas se describen a continuación.



Fig. 10 Propiedades físico-químicas del aceite

5.8.1 ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Se midió con un refractómetro electrónico (PAL-3 ATAGO, EUA.). Se alibró con una gota de agua destilada, después se colocó una gota de muestra en el prisma de medición evitando la formación de burbujas y se determinó la lectura en el equipo.

5.8.2 DENSIDAD

Fue determinada con el picnómetro de 10 mL con tapón esmerilado. El procedimiento inició con la calibración del picnómetro que consistió en pesarlo vacío, llenarlo con agua destilada y colocarlo en un baño por 30 min para alcanzar el equilibrio térmico (25 °C), posteriormente se aforó y se volvió a pesar a temperatura ambiente. Este procedimiento se repitió utilizando aceite de los tres tratamientos. Los resultados se expresaron como la relación de la masa del aceite con respecto al volumen del picnómetro (g/mL) (Lafont y Portacio, 2011).

5.8.3 COLOR

Se determinó utilizando un colorímetro triestímulo marca Hunter lab (MiniScan Hunter Lab, modelo 45/0L, Hunter Associates Lab. Virginia U.S.A). Se midieron los parámetros de color: L (Claridad), a^* (cromaticidad rojo-verde), b^* (cromaticidad amarillo-azul), (ΔE) y a partir de ecuaciones 16 y 17 mencionado con anterioridad se calcularon los valores de Cromaticidad (C^*) y ángulo Hue (h°).

5.9 PROPIEDADES TÉRMICAS

Para el análisis térmico de las muestras de aceites se utilizó un calorímetro diferencial de barrido (DSC Q2000, V24.10 Build 122, México) controlado por el software TA Instruments Universal V4.5A Analysis. La metodología se basó de acuerdo a lo reportado por Dollah et al. (2015), con algunas modificaciones. El instrumento fue calibrado con indio, usando flujo de gas de nitrógeno 99.99% a 100 ml/min y una presión de 20 psi. Las muestras de aceite, fueron pesadas de 5-7 mg con una precisión de 0.07 en una charola de aluminio las cuales fueron selladas mediante una prensa para lograr el cierre hermético de las mismas. Las charolas se colocaron en el calorímetro, utilizando como referencia una charola vacía de la misma capacidad, realizándose este ensayo por duplicado. Las muestras fueron sometidas a procesos de enfriamiento y de calentamiento mediante el siguiente programa de temperatura: calentamiento de las muestras desde la temperatura ambiente hasta los -70 °C bajo una corriente de nitrógeno a 20 mL/min durante 2

min y rampas de enfriamiento desde los $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ se mantuvo a 2 min; posteriormente fue enfriado desde $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ a razón de $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y se mantuvo la isoterma $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 min. Se obtuvieron los datos de flujo de calor (en mW) en función del tiempo y de la temperatura durante la etapa de calentamiento, a partir de los cuales se determinaron los valores de las temperaturas de los picos de transición (T_p), de la temperatura de inicio (T_0) y de la temperatura de finalización (T_{end}) de las transiciones durante la evolución del proceso de fusión.

5.10 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

5.10.1 EXTRACCIÓN EN FASE LÍQUIDA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Para la extracción de compuestos fenólicos en las muestras de aceite, se evaluaron dos técnicas de extracción, que a continuación se describen: El proceso consistió en adicionar 2g de aceite en 5 mL de n-hexano y se mezclaron con 10 mL de metanol-agua (80:20 v/v) en un tubo de ensayo, después se agitó en un vortex (marca Benchmark) por 2 min. Pasando el tiempo, las muestras fueron colocadas en la centrifuga (Heraeus Labofuge, 400 R centrifuge Thermo electron corporation. U.S.A) a 3000 rpm durante 10 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, los extractos hidroalcohólicos se separaron de la fase lipídica mediante una pipeta pasteur y transferido a un tubo eppendorf, posteriormente fue evaporada al vacío en el equipo de Centrivap (Labconco 7812010, CentriVap Mobile System Console. Kansas), a una temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que se alcanzó una consistencia de jarabe. El residuo lipídico se volvió a disolver en 10 mL de metanol-agua (80:20, v/v) y la extracción se repitió dos veces. Los extractos hidroalcohólicos se redisolviaron en acetonitrilo (15 mL) y la mezcla se lavó tres veces con n-hexano (15 mL cada uno). Los fenoles purificados en acetonitrilo se concentraron al vacío a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se disolvieron en metanol para su posterior análisis (Ramadan, 2013).

El procedimiento descrito por García-Villalba et al. (2010) con algunas modificaciones, se describe a continuación: los cartuchos de Diol C18 se acondicionaron previamente mediante la adición de 5 mL de metanol y posteriormente 5 mL de n-hexano. Después se adicionó la muestra, para lo cual se midieron 12 mL de aceite y se disolvieron en 12 mL de hexano. Posteriormente los cartuchos se lavaron con 7.5 mL de n-hexano para eliminar la fracción no polar del aceite, y la muestra se eluyó con metanol (20 mL) sin vacío. Los eluyentes se evaporaron al vacío en un equipo Centrivap (Labconco 7812010, CentriVap Mobile System Console. Kansas) a una temperatura de 30 °C. Después, el residuo seco se volvió a disolver en 2 mL de metanol.

5.10.2 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Para la identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos se utilizó el cromatógrafo de líquidos de alta resolución acoplado a masas (LC-MS) con módulo de ionización negativo (ESI) a base del método reportado por Gruz et al. (2008), con algunas modificaciones. La columna utilizada fue de fase reversa, Acquity UPLC BEH C8 (2.1 x 150 x 1.7 μ m) que se mantuvo entre 20-40 °C, un voltaje de 20-70V con un volumen de inyección de 1 μ L. Como fase móvil se manejó agua/ácido fórmico (99:1 v/v) (A) y acetonitrilo (B) a una velocidad de flujo de 0.250 mL/min, una temperatura de la fuente de 150 °C, una temperatura de solvatación de 350 °C, con un flujo de gas del cono de 151 L/h y un flujo de nitrógeno de 646 lb/ft³. En la Tabla 1, se observan los gradientes utilizados en el equipo para separar los componentes y en la Tabla 2, el tiempo de retención y los fragmentos de los estándares.

Tabla 1. Componentes de separación a base de los gradientes

Tiempo (Min)	Fase A (Agua acidificada 1%)	Fase B (Acetonitrilo HPLC)
Inicial	95	5
0.8	95	5
1.2	90	10
1.9	90	10
2.4	85	15
3.7	85	15
4	79	21
5.2	79	21
5.7	73	27
8	50	50
9	0	100
11.5	95	5

Tabla 2. Tiempo de retención de iones referenciales para identificación de compuestos fenólicos

Compuesto	Fragmentos Ion precursor (m/z)	Fragmentación	Tiempo de retención (min)
Ácido 4 hidroxibenzoico/salicílico	4.52	137.04	65.09, 93.05
Ácido 2,5 dihidroxibenzoico	4.22	153.15	81.09, 108.92
Ácido 2, 4, 6 trihidroxibenzaldehído	6.36	153.15	83.04, 153.52
Ácido protocatecoico	3.12	153.15	91.04, 109.05
Ácido vanílico	4.95	167.18	123.09, 152.02
Ácido gálico	1.62	169.15	79.07, 125.05
Ácido siringico	5.19	197.21	153.11, 182.05
Ácido transcinámico	9.1	147.17	77.07, 103.08
Ácido cumárico	6.38	163.24	98.07, 119.08
Ácido cafeico	4.99	179.19	89.09, 135.08
Ácido quínico	0.99	191.2	85.06, 93.06
Ácido ferúlico	6.75	193.24	134.04, 178.07
Ácido sinápico	6.64	223.24	149.04, 164.06
Ácido 4-o cafeoilquínico	4.62	353.3	173.01, 179.06
Ácido clorogénico	4.41	353.34	85.05, 191.06
Ácido rosmarínico	7.89	359.28	161.04, 197.05
Ácido 3,4/ 4,5 dicafeoilquínico	7.23	515.43	173.01, 179.06, 353.2

5.11 MÉTODO LC-APC⁺-MS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES Y FITOESTEROLES

Los análisis de tocoferoles y esteroides se realizaron por LC-APCI⁺-MS (Cromatografía líquida- ionización química a presión de iones-acoplada a masas), de acuerdo al método descrito por Zarrouk et al. (2009), con algunas modificaciones. El equipo LC se acopló a un espectrómetro de masas equipado con una interfaz APCI (en modo de ion positivo) usando los siguientes parámetros: una velocidad del gas seco (nitrógeno) fluyó a 0.12 mL/min con una presión del gas nebulizador (barra) a 6 psi en un límite de alta presión de 15000 psi, se aplicó una descarga en corona del orden 1.0-6.1 Kv, la temperatura de la interfase APCI fue de 300 °C. En la Tabla 3, se indican los gradientes de separación con de elución de agua/ácido fórmico (A) y acetonitrilo (B) a una velocidad de flujo de 0.11 a 0.12 mL/min a una temperatura de la fuente y solvatación de 150 °C y 250 °C, respectivamente, con un flujo de gas del cono de 150 L/h.

Tabla 3. Gradientes de separación de los compuestos de tocoferol y fitoesteroides

Tiempo (Min)	Fase A (Agua/7.5 mM ACIDO FORMICO)	Fase B (Acetonitrilo)
Inicial	15	85
0.2	10	90
8.0	0	100
9.0	15	85

El equipo fue programado con las siguientes condiciones: se utilizó la columna Acquity UPLC⁺ BEH ShieldRP C18 (2.1 x 150 x 1.7 µm), la temperatura de la columna se fijó a 40 °C, un voltaje entre 30.0 – 99.19 V y el volumen de inyección fue de 0.2 µL. La identificación de los analitos se basó en la comparación de sus tiempos de retención y sus espectros de masas con respecto a los estándares, la cual se indican en la Tabla 4. Para la cuantificación de los analitos, se prepararon estándares a diferentes concentraciones.

Tabla 4. Tiempo de retención de iones referenciales para identificación tocoferoles y fitoesteroles

Compuesto	Tiempo de retención (min)	APCI ⁺	Fragmentos	Ecuación
Delta tocoferol	7.46	403.289	136.98	$y = 78119x + 9E-10$
Gama tocoferol	8.34	417.271	151.00	$y = 68266x + 2E-09$
Alfa tocoferol	9.09	431.337	165.06	$y = 58807x$
Ergosterol	7.78	397.27	124.00	$y = 2301.1x - 43140$
Campesterol	9.98	401.33	383.00	$y = 7293.2x - 126544$
Estigmasterol	10.08	413.29	124.00	$y = 7682.3x - 68959$
B-sitosterol	10.74	415.32	397.00	$y = 97659x - 777615$

5.11.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES Y FITOESTEROLES

Para la identificación de estos analitos, se adicionaron 100 μ L de aceite en 900 μ L de acetato de etilo en tubos eppendorf, para la cual se agitó por 1 min en un vortex. Posteriormente se filtró en una membrana de 0.45 μ m y se recolectó en un vial ámbar para ser analizado en el LC-APCI⁺-MS, la cual se observa en la figura 11.

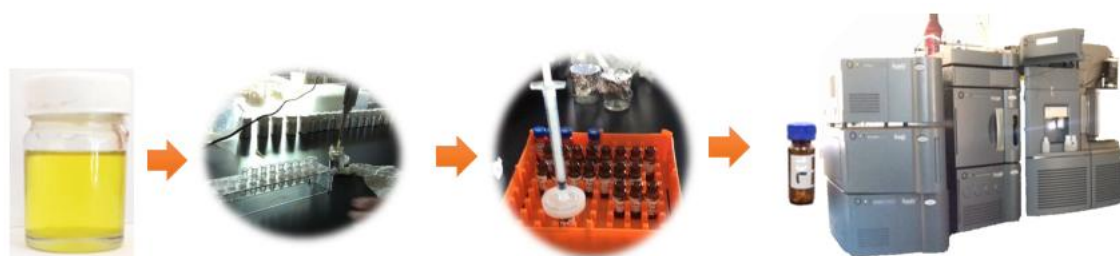


Fig. 11 Preparación de la muestra para la cuantificación de tocoferoles y fitoesteroles.

5.12 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE RADICALES DE OXÍGENO

Para la determinación de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC, por su sigla en ingles oxygen radical absorbance capacity) se empleó la metodología de Garret et al. (2010). Se añadieron 20 μ L de muestra en una microplaca de 96 pozos para fluorescencia y después se agregaron 200 μ L de

fluoresceína 0.108 μM ; la microplaca se incubó a 37 °C por 15 min y posteriormente se hicieron tres lecturas de fluorescencia en un espectrofotómetro Sinergy HT a una longitud de onda de excitación y emisión de 485/20 y 528/20 nm, respectivamente; a continuación, se añadieron 75 μL del radical 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH) 79.65 mM y se efectuó una cinética por 2 h a 37 °C. Se usó una curva estándar de TROLOX® con concentraciones de 5, 10, 25, 35 y 50 μM ; los resultados obtenidos se expresaron como μM equivalentes de TROLOX® (μMET).

5.13 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó un diseño central compuesto con tres variables independientes, que fueron: la relación de proporción muestra/solvente (X_1), temperatura (X_2) y tiempo (X_3), con 6 puntos centrales, en donde se aprecia en la Tabla 5. Y como variables de respuesta el rendimiento, la eficiencia y la estabilidad oxidativa (IP, AGL, p -IA y VT) del aceite extraído.

Tabla 5. Niveles de las variables codificadas del aceite de semilla de moringa extraído por EU

Variables	Código	Niveles				
		$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Proporción (g/mL)	X_1	6	8.84	13	17.16	20
Temperatura (°C)	X_2	10	14.05	50	25.95	30
Tiempo (min)	X_3	40	44.05	20	55.96	60

$\alpha = 1.68$

Los datos experimentales se analizaron con la metodología de superficie de respuesta utilizando el paquete estadístico Design Expert (Design Expert 8.0.2, Stat-Ease INC., Minneapolis, Estados Unidos), utilizando regresión lineal múltiple y la significancia estadística de los términos de regresión se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA), con un nivel de confianza del 95%, utilizando el programa estadístico Statistica Versión 10.0 (StatSoft, Inc. 1984-2008, USA).

5.13.1 OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

Se utilizó la metodología de superficie de respuesta para optimizar numéricamente, el rendimiento, la eficiencia y la estabilidad oxidativa, IP, *p*-IA, AGL y VT, fueron las variables de respuestas. Los parámetros de respuesta, se mencionan a continuación: valores máximos en el rendimiento y eficiencia y valores mínimos con respecto a la estabilidad oxidativa.

Tabla 6. Diseño experimental de las variables independientes

Tratamiento	Proporción (g/mL) X ₁ (x ₁)	Temperatura (°C) X ₂ (x ₂)	Tiempo (min) X ₃ (x ₃)
1	8.84 (-1)	44.05 (-1)	14.05 (-1)
2	17.16 (1)	44.05 (-1)	14.05 (-1)
3	8.84 (-1)	55.95 (1)	14.05 (-1)
4	17.16 (1)	55.95 (1)	14.05 (-1)
5	8.84 (-1)	44.05 (-1)	25.95 (1)
6	17.16 (1)	44.05 (-1)	25.95 (1)
7	8.84 (-1)	55.95 (1)	25.95 (1)
8	17.16 (1)	55.95 (1)	25.95 (1)
9	6 (-1.68)	50 (0)	20 (0)
10	20 (1.68)	50 (0)	20 (0)
11	13 (0)	40 (-1.68)	20 (0)
12	13 (0)	60 (1.68)	20 (0)
13	13 (0)	50 (0)	10 (-1.68)
14	13 (0)	50 (0)	30 (1.68)
15	13 (0)	50 (0)	20 (0)
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
20	13 (0)	50 (0)	20 (0)

X es el valor real de las variables. (x) es el valor codificado de las variables

5.13.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de las propiedades fisicoquímicas, perfil de ácidos grasos y térmico, tocoferoles, fitoesteres y ORAC, realizados en los tres mejores tratamientos se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA) de una vía y se determinaron las diferencias entre los promedios mediante una prueba de diferencia

mínima significativa (LSD), con un nivel de confianza del 95%, utilizando el programa estadístico Statistica Versión 10.0 (StatSoft, Inc. 1984-2008, USA).

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 PROPIEDADES FÍSICAS DE LA SEMILLA

6.1.1 TAMAÑO Y FORMA

Las dimensiones de longitud, el ancho y el espesor de las vainas, semillas y almendra de *Moringa oleifera* se especifican en la Tabla 7. Las 100 vainas mostraron una longitud media de 16 a 23.3 cm, anchura de 1.376 a 2.098 cm y un espesor de 0.998 a 2.16 cm, con una media de masa de 4.96 a 16.78 g.

En promedio en cada vaina se encontraron 16.62 ± 3.56 semillas, con una media de 6 a 23 sumando un total de 1518 semillas de las 100 vainas con una masa total de 354.36 g, teniendo un promedio de 5.64 ± 1.56 g de las semillas de cada vaina. Las semillas presentaron las siguientes dimensiones: media de longitud de 0.713 a 1.144 cm, anchura de 0.095 a 1.78 cm, espesor de 0.537 a 1.17 cm; la masa de cada semilla osciló de 0.2675 a 0.4301 g.

La dimensión longitudinal de las almendras varió entre 6.03 a 8.66 mm, la media del ancho y espesor fue de 0.725 a 0.849 cm y 0.471 a 0.782 cm, respectivamente y 0.14 a 0.25 g con respecto a la media de la masa.

Los valores del D_g y D_a de la vaina, fueron superiores comparados con la semilla y almendra. Sin embargo, los valores del diámetro geométrico y aritmético mostraron una aproximación, esta información es relevante para el desarrollo de equipos que permitan separar o clasificar las semillas y almendras de acuerdo a la dimensión obtenida. Resultados similares fueron reportados por Aviara et al. (2013) en las semillas (1.07–1.15 cm y 1.067–1.144 cm) y almendras (0.663–0.717 cm y 0.661–0.714 cm) de moringa de diferentes contenidos de humedad.

El conocimiento de la masa del fruto de moringa es relevante para el procesamiento de la materia prima, de acuerdo a los resultados de la Tabla 7, en promedio la parte comestible del fruto (vainas) fue de 1.48 % y de la semilla el 64%.

Tabla 7. Propiedades físicas del fruto moringa

Propiedades físicas	Vainas	Semillas	Almendras
L (cm)	22.34 ± 2.61	0.93 ± 0.07	0.74 ± 0.04
A (cm)	1.84 ± 0.16	1.01 ± 0.13	0.75 ± 0.04
E (cm)	1.84 ± 0.16	0.96 ± 0.08	0.63 ± 0.06
D _g (cm)	4.22 ± 0.31	0.97 ± 0.08	0.70 ± 0.02
Da (cm)	8.67 ± 0.89	0.97 ± 0.07	0.71 ± 0.02
Ø (%)	19.04 ± 1.70	100 ± 0.07	95 ± 0.05
A _R	0.08 ± 0.01	1.08 ± 0.14	1.01 ± 0.07
Masa (g)	10.80 ± 2.31	0.25 ± 0.05	0.16 ± 0.02
S (cm ²)	56.21 ± 8.17	2.94 ± 0.45	1.55 ± 0.08
V (cm ³)	20.84 ± 4.47	0.52 ± 0.15	0.17 ± 0.2
S _e (cm ²)	378.46 ± 56.07	8.54 ± 1.24	5.05 ± 0.28
E _v (cm ³)	319.55 ± 68.50	3.84 ± 0.87	1.46 ± 0.11
p _a (g/cm ³)	-----	0.48 ± 0.01	0.72 ± 0.05
p _b (g/cm ³)	-----	0.29 ± 0.02	0.46 ± 0.01
£ (%)	-----	41 ± 4.54	36.27 ± 4.73

Son resultados del promedio de 100 determinaciones de las vainas y 300 en semilla y almendras ± la desviación estándar. L = longitud; W = Ancho; T = Espesor; D_g = diámetro geométrico; Da = diámetro aritmética; Ø = Esfericidad; A_R = Relación de aspecto; S = área de la superficie; V = Volumen; S_e = superficie elipsoide; E_v = Elipsoide; p_a = Densidad aparente; p_b = Densidad a granel; £ = Porosidad.

6.1.2 PROPIEDADES GRAVIMÉTRICAS

La forma de un material alimenticio se expresa habitualmente en términos de su esfericidad (ϕ), y la relación de aspecto (Ra) (Wani et al., 2014). Con respecto a la esfericidad, los valores obtenidos en las vainas (19.04 ± 1.70) demuestran que no son esféricos, como se observa en la figura 3 y a simple vista son longitudinales, sin embargo, las semillas son más esféricas comparadas con las almendras. De acuerdo a Niveditha et al. (2013) los valores de esfericidad cercanos a 1 tienen a rodar, en base a ello se puede decir que las semillas y almendras tienen la facilidad de deslizar o rodar (Pradhan et al., 2012). La relación de aspecto se refiere a la relación de la anchura y la longitud, que es un indicativo de su tendencia a ser de

forma oblonga (Hernández et al., 2015). De acuerdo a los resultados de ϕ y R_a en las semilla (1.08 ± 0.14) y almendra (1.01 ± 0.07), ambas presentaron una forma circular. El conocimiento del tamaño y forma del fruto de moringa son importantes en electrostática, para la separación de materiales no deseados, en el dimensionamiento del desarrollo y/o diseño de maquinarias, equipos de clasificación, tolvas, rampas y separadores.

Los valores de superficie ($S=56.21 \pm 8.17 \text{ cm}^2$) y el volumen ($V=20.84 \pm 4.47 \text{ cm}^3$) de las vainas son superiores a las semillas y almendras. La información de S y V juega un papel importante en la determinación del área proyectada de las semillas que se mueven en la corriente de aire turbulento y por lo tanto es útil en el proceso como la cosecha, limpieza, la separación, la manipulación, la aireación, secado, almacenamiento, molienda, cocción y la germinación (Hernández-Santos et al., 2014). El aumento de la proporción de S y V eleva la velocidad de transferencia de calor y masa de semillas o granos que facilitan las operaciones de secado, enfriamiento y calentamiento (Jannetizadeh et al., 2008; Vishwakarma et al., 2012). En la Tabla 7 se aprecia los resultados de superficie elipsoide (S_e) de las vainas, semillas y almendra, la cual se observa que fueron superiores a los reportados por Firatligil-Durmus et al. (2010) en las semillas de leguminosas de diferentes variedades ($S_e= 0.109 - 0.162 \text{ cm}^2$), pero inferiores al Elipsoide ($E_v= 13.978 \text{ a } 25.22 \text{ cm}^3$), estas diferencias pudieron haber sido debido a diferencias genéticas.

En las semillas y almendras se distinguen dos tipos de densidades: la densidad aparente (ρ_a) y la densidad a granel (ρ_b). La ρ_a es la relación entre la masa del material y el volumen real ocupado por la partícula, excluyendo los espacios vacíos, en cambio la ρ_b es la relación entre el peso y el volumen total de la masa del producto, incluyendo los espacios intersticiales que dejan los materiales entre sí. Los valores de la ρ_a (0.48 ± 0.01) de las semillas y almendras (0.72 ± 0.05) son superiores al reportado (0.027 y 0.017 g/cm^3) por Aviara et al. (2013). Esta diferencia probablemente se le atribuye al alto contenido de humedad en las muestras del trabajo de Aviara et al (2013); de acuerdo a Aviara et al. (2005) y Tunde-Akintunde y Akintunde (2007) indicaron que la ρ_a de la semilla/almendra disminuye con el aumento del contenido de humedad así mismo la ρ_b disminuye

con la humedad porque las semillas aumentan de tamaño, lo cual hace que las semillas con altos contenidos de humedad ocupen más espacio. Sin embargo, los valores presentados por la almendra fueron similares a los de las semillas de frijol de india ($0.72\text{-}0.87\text{ g/cm}^3$). Por otra parte, la ρ_a proporciona información para el análisis de la transferencia de calor a través de los granos, en el control de calidad, limpieza, la capacidad de almacenamiento, cálculo y diseño de sistemas de transporte (Ozturk et al., 2009; Berdaftar’Kantar et al., 2010).

Los valores de ρ_b oscilaron entre $0.29 \pm 0.02\text{ g/cm}^3$ y $0.46 \pm 0.01\text{ g/cm}^3$, en las semillas y almendras respectivamente, estos valores indican, que los frutos al tener una densidad <1 no son densos, es decir existe mayor cantidad de espacios vacíos dentro del fruto y son más ligeros que el agua y por lo tanto flotan (Simonyan et al., 2009; Taser et al., 2005), los resultados se correlacionan con los datos de esfericidad, al ser esféricos mayor cantidad de espacios vacíos presentan los frutos. Los resultados de densidad a granel son importantes en el diseño de sistemas de almacenaje, empaque, deshidratación y transporte (Niveditha et al., 2013).

La porosidad (ϵ) se define como la fracción de volumen del aire o la fracción de vacío en la muestra y determina la pérdida de carga que debe vencer el aire en procesos tales como secado y aireación, por ello es un dato importante y necesario para diseñar los sistemas de aireación durante el almacenamiento (Yanucci, 2002). De acuerdo a los resultados las semillas mostraron mayor $\epsilon=41 \pm 4.54\%$, debido a su mayor esfericidad, seguida de la almendra con un valor de $36.27 \pm 4.73\%$, estos resultados se encuentran dentro del intervalo reportado por Aviara et al. (2013) con $\epsilon=37.5 - 68\%$ en las semillas de moringa, con diferentes contenido de humedad (8.43-31.66%) (En base seca) y en la almendra (20 al 74%) en el intervalo de humedad de 6.75 a 31.5%. También fueron similares a los resultados con la semilla de chíia (28.2-33.1) (Ixtaina, 2010) los granos de Canavalia (40.1-44.6%) (Niveditha et al., 2013), semillas de cilantro (31.39-33.03) (Coskuner y Karababa, 2007). Pero superiores a la quínoa (0.194-0.438) (Vilche et al., 2003). Por lo tanto, entre mayor sea la ϵ , mejor es la difusión de aireación y vapor de agua durante el secado.

6.1.3 PROPIEDADES FRICCIONALES-FLUIDEZ

6.1.3.1 Ángulo de Reposo

Los resultados del ángulo de reposo de la semilla con alas ($83.15 \pm 0.38^\circ$), sin alas ($83.41 \pm 0.18^\circ$) y la almendra ($83.18 \pm 0.87^\circ$) no mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$), no obstante los valores fueron superiores con respecto a lo reportado por Aviara et al. (2013) en las semillas y almendra (17.1° a 23° y 13.1° a 21.8° , respectivamente); esto se debe por la diferencia en el aumento de contenido de humedad. También en investigaciones realizadas en garrofín (20.31°) presentaron valores bajos así como semillas oleaginosas: girasol, mijo, quinoa, sésamo y lino (Ixtaina, 2010; Barahona et al., 2011). Los bajos valores registrados en el ángulo de reposo pueden atribuirse a la facilidad de las semillas de deslizarse o fluir unas sobre otras debido a la superficie exterior lisa y a la forma de las mismas, indicando que las semillas y almendras de este estudio no presentaron facilidad en deslizarse a pesar de los altos valores esféricos, esto se puede atribuir a su mayor fuerza de cohesión entre los granos/semillas y la superficie. Por lo tanto el ángulo de reposo es un indicador útil para saber la fluidez del material que sirve para caracterizar el comportamiento del flujo de los alimentos en procesos continuos (Pradhan et al, 2008).

6.1.3.2 Coeficiente de Fricción Estático y Dinámico

De acuerdo a las figuras 12 y 13 se observan los valores promedios del coeficiente dinámico (μ) y de fricción estático (μ_0) en función de las semillas con alas, semillas sin alas y almendras en diferentes superficies de contacto (madera, vidrio, cloruro de polivinilo (PVC), caucho, hierro galvanizado y acero inoxidable). Se observaron valores altos en el coeficiente estático de fricción comparado con el coeficiente dinámico de fricción en todas las seis superficies estudiadas; la misma tendencia observaron Barahona y Torres (2011) en las semillas de vitabosa; asimismo Altuntas et al. (2005) con las semillas de alholva (*Trigonella foenum graecum*) y Amin et al. (2004) (semillas de lentejas). Esto implica que la fuerza necesaria para mantener la muestra en movimiento es menor que la fuerza de inercia originada después del primer esfuerzo.

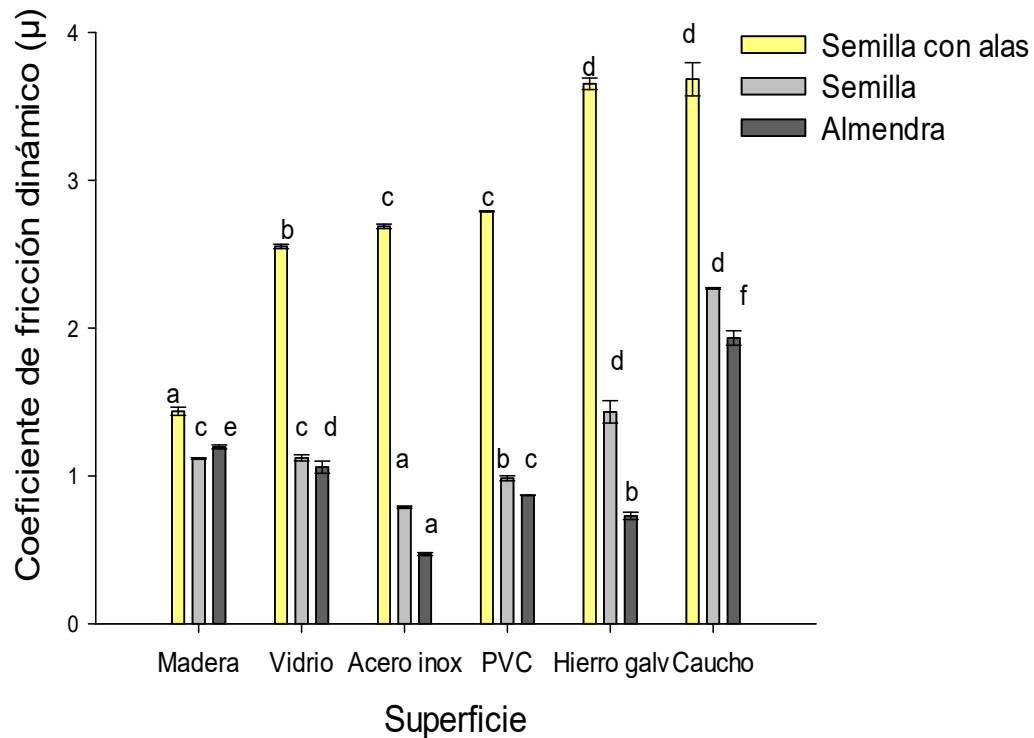


Fig. 12 Coeficiente de fricción dinámico (μ) del fruto de moringa en diferentes superficies.

De acuerdo al análisis de varianza, el tipo de superficie de contacto y la presentación del fruto de moringa presentaron efecto significativo sobre los coeficientes de fricción estático y dinámico. Estos resultados son similares con algunas investigaciones realizadas por Mansouri et al. (2015) en las semillas de melón, Abdullah et al. (2011) en semillas de *Parkia speciosa* y frutas, nueces y granos de *Jatropha curcas* reportado por Sirisomboon et al. (2007).

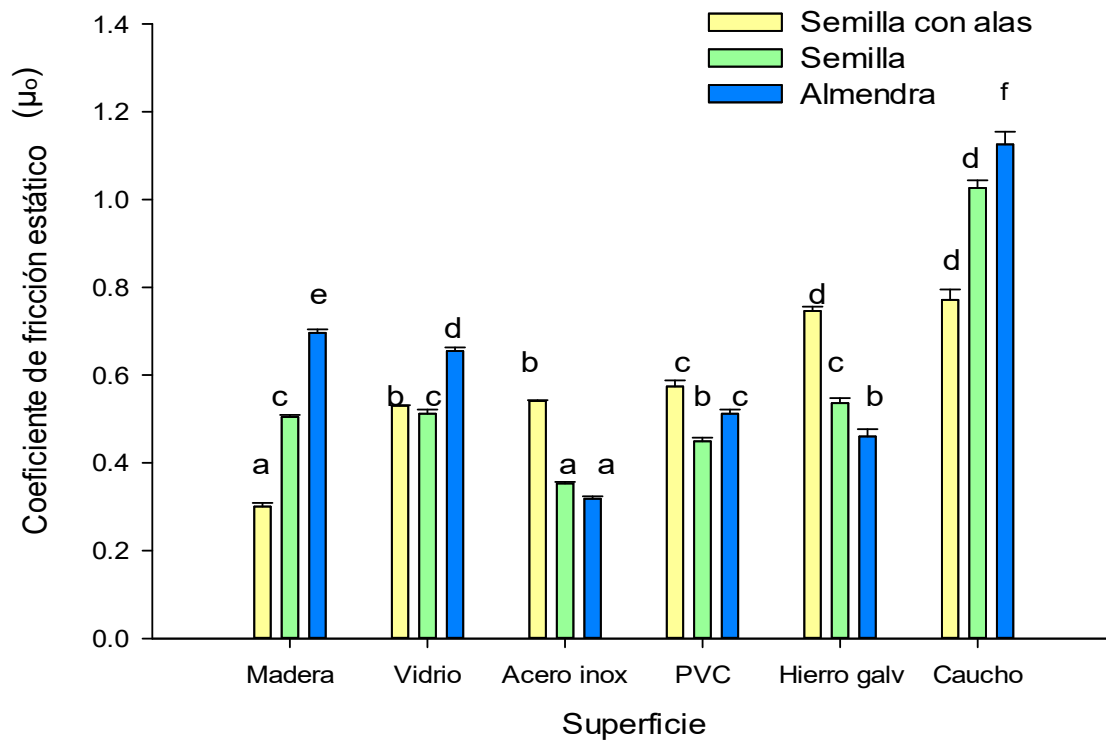


Fig. 13 Coeficiente de fricción estático (μ_0) del fruto de moringa en diferentes superficies

Las letras diferentes por cada tipo de muestra son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$).

Sin embargo, las semillas con y sin alas, y almendras mostraron mayor coeficiente estático de fricción contra el caucho. No obstante, el acero inoxidable ofreció una fricción mínima en las semillas y almendras, esto se puede atribuir a la superficie pulida y lisa de acero inoxidable en comparación con otras superficies utilizadas así como las superficies lisas de las semillas y almendras, dando como resultado la facilidad de moverse en superficies de prueba. Estos concuerda con lo reportado por Karaj y Müller (2010) y Nimkar et al. (2005).

Para el caso de las semillas con alas, fueron favorecidas con el coeficiente estático de fricción contra la madera pero requirió mayor fricción de la misma superficie comparado con las semillas sin alas y las almendras. Esto probablemente sea, por que ejerce una fuerza de adhesión en la superficie de contacto con las alas que rodea la semilla originando una alta resistencia a desplazarse con las superficies.

Debido a que el coeficiente de fricción es una propiedad fundamental de los granos y semillas, para el diseño de máquinas agroindustriales y estructuras de almacenamiento, así como operaciones de acondicionamiento y transporte, se observó que el acero inoxidable, hierro galvanizado (excepción de las semillas con y sin alas), PVC (para semillas sin alas y almendras) y madera (en caso único de la semilla con alas) mostraron mejor eficiencia en el flujo de la masa unitaria además, redujeron el consumo de energía por lo que serían los materiales adecuados en los sistemas de transporte.

6.1.3.3 Fuerza de Ruptura

El análisis de varianza presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) de la fuerza de ruptura (N) para las semillas con alas (7711.05 ± 229.75 N), semilla sin alas (11799.89 ± 165.00 N) y la almendra (34826.58 ± 1179.17 N). Estos resultados son mayores comparados con otras semillas oleaginosas, como las semillas de soya (Paulsen, 1978) y de girasol (Gupta y Das, 2000). Esta diferencia probablemente se atribuya a la variabilidad del contenido de humedad en dichas semillas, ya que absorben cierta cantidad de agua que llena los espacios internos, volviéndose estructuralmente más turgente, dando como resultado un incremento de la fuerza de ruptura.

La fuerza de ruptura fue mayor para las almendras, esta tendencia probablemente sea por la estructura y composición química de la almendra, al tener alto contenido de proteína y el grado de interacción de la matriz de la proteína con el aceite, origina una mayor dureza. Esta información es indispensable para conocer la fuerza necesaria para triturar a la almendra en el proceso de obtención de la harina para la extracción del aceite. Con respecto a la información de la fuerza de ruptura (N) de las semillas es importante para descascarillar las mismas. Por lo que se sugiere utilizar las semillas sin alas, debido a que utiliza menor fuerza de ruptura en comparación con las semillas con alas.

6.1.4 CAPACIDAD HIDRATACIÓN E ÍNDICE DE HIDRATACIÓN

En la Tabla 8, se muestran los resultados de la capacidad de hidratación e índice de hidratación. Las semillas (con y sin alas) y las almendras absorbieron agua a diferentes velocidades y magnitudes. Cuando las moléculas del agua penetraron en el interior de las paredes vegetales de las muestras, ocuparon los espacios capilares, esto originó una presión de absorción en el proceso de difusión del agua, por ello se registraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la capacidad e índice de hidratación. Por qué las semillas con alas presentaron mayores espacios capilares comparados con las semillas y almendras.

No obstante, las almendras presentaron mayor capacidad de hinchamiento, esta diferencia probablemente se deba a que la matriz de la almendra estaba conformada principalmente de proteínas y aceites, sin embargo el principal componente que absorbe el agua son las proteínas. La capacidad de hinchamiento es importante para llevar al rompimiento de la testa durante la germinación.

6.1.5 CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO E ÍNDICE DE HINCHAMIENTO

Con respecto al índice de hinchamiento no presentaron diferencias significativas en las muestras como se muestra en la Tabla 8, a pesar que presentaron diferencias en los parámetros anteriores. Indicando que las muestras tienen suavidad y alta permeabilidad en sus paredes vegetales así como en sus matrices. Esta información es relevante para el procesamiento (remojo, germinación, descascarillado y fermentación) para la extracción de los principios activos o eliminar componentes antinutricionales.

Tabla 8. Capacidad e índice de hidratación e hinchamiento

Parámetro/muestra	Semillas con alas	Semillas	Almendras
Capacidad de hidratación	0.28 ± 0.00^c	0.23 ± 0.01^b	0.15 ± 0.01^a
Índice de hidratación	1.24 ± 0.03^c	0.97 ± 0.02^b	0.80 ± 0.02^a
Capacidad de hinchamiento	0.22 ± 0.01^b	0.19 ± 0.01^c	0.25 ± 0.01^a
Índice de hinchamiento	0.01 ± 0.00^a	0.01 ± 0.00^a	0.01 ± 0.01^a

*Los resultados se expresan como la media de determinaciones por triplicado $\pm$ la desviación estándar. Las letras diferentes en las filas, presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

6.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HARINA DE ALMENDRA DE MORINGA

Los resultados mostraron que las semillas contenían 5.18% de humedad, similar al valor (5.70%) reportado por Anwar y Bhanger (2003) pero superior a 4.1% indicado por Duke y Atchley (1984) e inferior a lo reportado por Abdulkarim et al. (2005) (7.9%) para semillas de moringa. Sin embargo el contenido de proteína cruda (40.03%), fibra cruda (5.91%) y cenizas (4.32%) fueron similares a lo reportado por Abdulkarim et al. (2005), Anwar y Bhanger (2003), Makkar y Becker (1997) y Duke y Atchley (1984), como se muestra en la Tabla 9 (expresada en base seca). Sin embargo, los resultados encontrados en los lípidos (46.27%) fueron superiores a lo reportado por Tsaknis et al. (1999), Amaglo et al. (2010) y Rodríguez (2008). Esta diferencia puede deberse a las diferencias en el origen de cosecha, el clima, la recolección y el tiempo de las semillas, es decir en factores climatológicos y agronómicos. Sin embargo, el alto porcentaje de aceite hace que esta semilla tenga un potencial para la industria aceitera.

Tabla 9. Composición química de la harina de almendra de moringa

Componentes (%)	Valores obtenidos (M ± DE)	Valores reportados (bs)			
		Abdulkarim et al. (2005)	Anwar y Bhanger (2003)	Makkar y Becker (1997)	Duke y Atchley (1984)
Proteína cruda ^a	40.03 ± 0.48	41.6	31.13	36.7	40.0
Lípidos	46.27 ± 0.26	33.4	42.83	41.7	36.2
Fibra cruda	5.91 ± 0.43	4.9	7.64	4.8	3.6
Ceniza	4.32 ± 0.84	7.0	7.0	3.8	3.3
Carbohidratos totales ^b	3.47	13	11.40	17.8	16.8

M ± DE media ± desviación estándar. ^a La proteína cruda = N (%) · 6.25. ^b Los carbohidratos se obtuvieron por diferencia.

6.3 COLOR EN LA HARINA DE ALMENDRA DE MORINGA

Los resultados mostraron que la harina presentó un color blanco amarillento, con valores de luminosidad (L^*)= 73.67 ± 0.06 , el parámetro a^* (1.82 ± 0.02) indicó valores positivos, lo cual significa que se encuentra en tonos rojos, de igual manera los resultados de b^* fueron positivos, indicando la tendencia más fuerte hacia el color amarillo, este resultado probablemente sea por la presencia de carotenos en las harinas de las almendras de las semillas de Moringa (18.56 ± 0.06). El parámetro de cromaticidad (C^*) están relacionado a los valores de a^* y b^* , los cuales determinan el color e indica la intensidad o saturación de la tonalidad, cuando C^* es cercano a cero indican una tonalidad que tiene una baja saturación del color. En la muestra se observó un grado de saturación de 18.64 ± 0.07 . El ángulo hue (h°) es una medida que expresa la tonalidad del color (amarillo, rojo, verde y azul), las harinas presentaron un ángulo de $84.23^\circ \pm 0.31$, este valor se encuentra cercano al ángulo hue de 90° , el cual caracteriza al tono amarillo. Con respecto a la diferencia de color (ΔE), se refiere a la comparación con el estándar de referencia, debido a que este prácticamente corresponde a un blanco perfecto cuya $L^*=100$, $a^*=0$ y $b^*=0$. La muestra mostró la diferencia de color de 31.64 ± 0.07 .

6.4 EFECTO EN LA EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO SOBRE EL RENDIMIENTO DEL ACEITE DE LAS SEMILLAS DE MORINGA

El rendimiento de los diferentes tratamientos de extracción varió de 389.46 a 438.69 g de aceite/kg de muestra, como se observa en la Tabla 10. Presentando un promedio de 423.21 g de aceite/kg muestra, de acuerdo a las condiciones de extracción por ultrasonido. El rendimiento máximo se obtuvo en los tratamientos 8 y 10. De acuerdo a las siguientes condiciones de extracción: una proporción de 20 y 17.16 mL del solvente (hexano) por cada gramo de la harina tamizada, con una temperatura de 50 y 55.95 °C en un tiempo de 20 y 25.95 min, respectivamente.

Los valores obtenidos son mayores a lo reportado por Marrero et al. (2014) (265 g de aceite/kg de muestra). Esto podría atribuirse al acondicionamiento (pre-

tratamiento) de la materia prima así como a las diferentes condiciones de extracción asistida por ultrasonido y a las condiciones ambientales. Es decir el tamaño de partícula y la aplicación de un pretratamiento de extracción influyen en el rendimiento de extracción del aceite. Este incremento posiblemente ocurre porque existe una mayor superficie expuesta, facilitando la difusión del aceite. Por otra parte, la aplicación de un pre-tratamiento térmico produce la ruptura de las paredes celulares, reduciendo la viscosidad del aceite facilitando su fluidez y desplazamiento.

También son superiores a los resultados encontrados en el método de extracción *con* dióxido de carbono supercrítico utilizando etanol (378.5 265 g de aceite/kg de muestra) (Zhao y Zhang, 2013), enzimático (226 265 g de aceite/kg de muestra) (Abdulkarim, et al., 2005), sin embargo, son similares a la extracción con disolventes utilizando hexano (331, 380, 420 265 g de aceite/kg de muestra) reportados por otros investigadores (Maní et al., 2007; Lalas y Tsaknis, 2002; Anwar y Bhanger, 2003), esta discrepancia probablemente se deba a la variedad de la planta, las condiciones ambientales, etapa de maduración, el tiempo de la cosecha de las semillas y el método de extracción utilizado.

El coeficiente de correlación del modelo ajustado a los datos experimentales fue de 0.97, lo que indicaron que el modelo tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) y que adecuadamente representaron la relación real entre los parámetros estudiados. De acuerdo a los análisis estadísticos, el rendimiento de aceite se correlaciona positivamente con la proporción de muestra/solvente (p/v) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$) en términos lineales y para el término cuadrático la proporción fue significativa ($p < 0.05$).

Por lo tanto, el aumento de las proporciones y temperatura aumentaron el rendimiento del aceite. En la Tabla 11, se observó que la magnitud del coeficiente de la proporción fueron mayores que los coeficientes de temperatura de extracción y tiempo, indicando que la relación de la proporción de muestra/solvente tiene mayor

efecto en el rendimiento de aceite comparado con el resto de las variables independientes. Los efectos de interacción significativos ($p < 0.05$) de las variables de EU sobre el rendimiento se pueden visualizar con la superficie de respuesta en la figura 14. Estos resultados demostraron que la frecuencia y potencia del baño ultrasónico, así como las variables independientes (solvente, temperatura y tiempo) jugaron un papel muy importante para el rendimiento del aceite. La frecuencia utilizada en el baño ultrasónico (80 KHz) aumentó la superficie de contacto entre las fases sólida y líquida por las vibraciones mecánicas ocasionadas por las ondas de ultrasonido, es decir, esa vibración permitió que el solvente penetrara fácilmente y en mayor cantidad en la matriz de la muestra, además con el aumento de la proporción del solvente (hexano) mejoró la difusión en las paredes del vegetal y redujo la viscosidad del aceite, permitiendo la salida de mayor cantidad de aceite, además al aumentar la temperatura y el tiempo de ultrasonido, facilitó la transferencia de aceite en las harinas tamizadas porque la temperatura suaviza los tejidos del vegetal y mejora la difusión, promoviendo así la extracción del aceite.

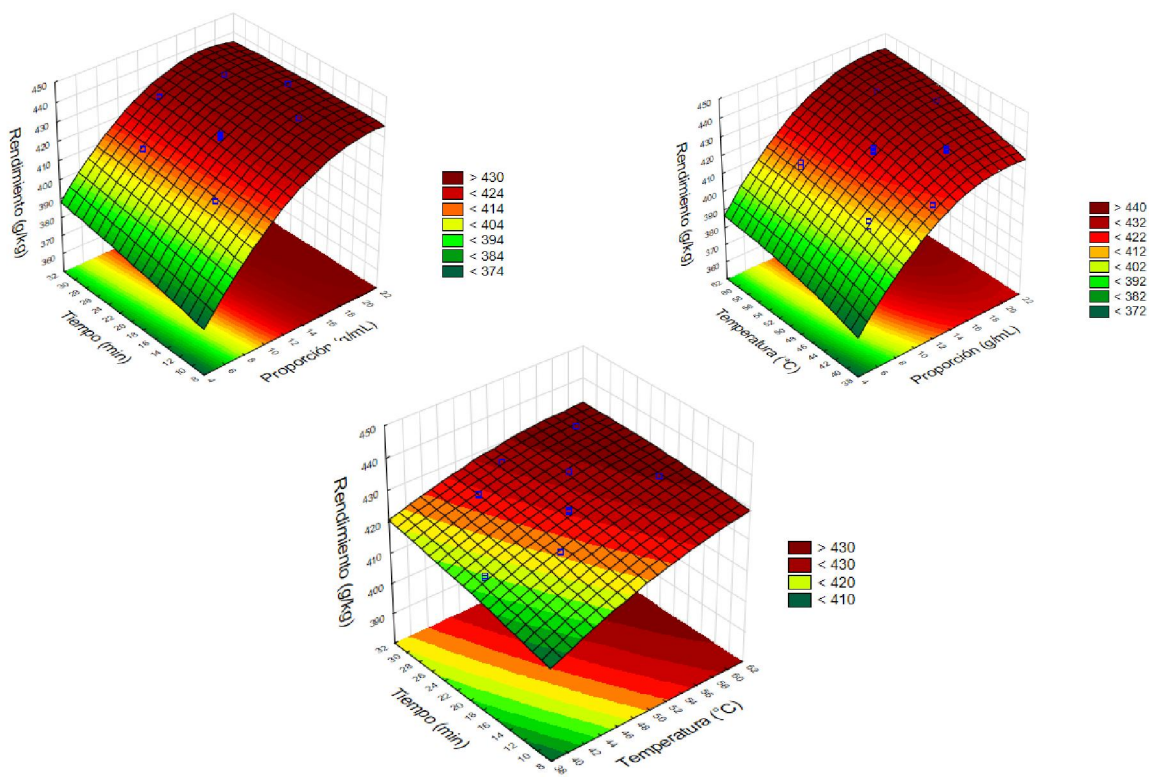


Fig. 14 Gráfica tridimensional del rendimiento de extracción del aceite de semilla de moringa en función de la proporción, temperatura y tiempo.

6.5 EFECTO EN LA EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO SOBRE LA EFICIENCIA DEL ACEITE DE LAS SEMILLAS DE MORINGA

En la Tabla 10, se visualizan los resultados de la eficiencia de extracción del aceite de las semillas de moringa, la cual varió de 887.76 a 999.97 g de aceite/kg de muestra con un promedio de 964.69 g de aceite/kg de muestra de los 20 tratamientos, siendo los tratamientos 8 y 10 los que presentaron mayor eficiencia. En la Tabla 11 se presentaron los coeficientes del modelo de regresión, los coeficientes de temperatura de extracción y el tiempo de ultrasonido en primer orden y la variable x_1 (proporción g/mL) de segundo orden fueron significativos ($p < 0.05$), mientras que la interacción entre las variables, no mostraron significancia estadística. Esto significa que el aumento de la proporción del solvente/muestra (g/mL) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$) de ultrasonido contribuyó en la eficiencia de la extracción. En especial la relación de la concentración del solvente con la muestra tuvo un efecto preponderante sobre la eficacia de la extracción, debido a que el solvente tiene la capacidad de absorber y transmitir la energía del ultrasonido en los tejidos celulares y acelerar la extracción, haciendo que el tiempo se reduzca.

En la figura 15 se indica que los valores predichos (representados en la malla) estaban muy cerca de los valores reales (representados como cuadros oscuros), de hecho el coeficiente de determinación $R^2 = 0.97$ indica que el modelo tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) y que adecuadamente representa la relación real entre los parámetros estudiados.

Tabla 10. Respuesta de las variables dependientes de acuerdo al diseño central compuesto en la extracción de aceite de semilla de moringa

Tratamiento	Rendimiento (g/kg)	Eficiencia (g/kg)	IP (meq O ₂ /kg)	p-IA	AGL (% ácido oleico)	Valor totox
1	404.84 ± 0.42	922.81 ± 0.95	1.13 ± 0.00	0.88 ± 0.01	0.96 ± 0.00	2.16 ± 0.01
2	429.00 ± 0.34	977.90 ± 0.77	1.13 ± 0.00	3.43 ± 0.00	0.97 ± 0.00	4.71 ± 0.00
3	414.95 ± 0.06	945.86 ± 0.13	2.26 ± 0.00	5.14 ± 0.00	1.04 ± 0.00	10.23 ± 0.00
4	438.66 ± 0.03	999.91 ± 0.08	2.25 ± 0.00	3.42 ± 0.01	1.21 ± 0.00	8.50 ± 0.01
5	410.23 ± 0.42	935.10 ± 0.96	1.13 ± 0.00	3.25 ± 0.00	0.89 ± 0.00	4.52 ± 0.00
6	430.24 ± 0.34	980.72 ± 0.78	1.13 ± 0.00	3.70 ± 0.03	1.05 ± 0.00	4.97 ± 0.03
7	417.56 ± 0.31	951.81 ± 0.71	2.26 ± 0.00	0.43 ± 0.00	1.13 ± 0.00	5.52 ± 0.01
8	438.69 ± 0.01	999.97 ± 0.02	2.26 ± 0.00	1.61 ± 0.00	0.96 ± 0.00	6.70 ± 0.00
9	389.46 ± 0.31	887.76 ± 0.70	1.13 ± 0.00	1.55 ± 0.02	0.97 ± 0.00	2.82 ± 0.02
10	438.69 ± 0.00	999.97 ± 0.01	1.13 ± 0.00	1.41 ± 0.00	0.96 ± 0.00	2.68 ± 0.00
11	417.61 ± 0.54	951.93 ± 1.22	1.13 ± 0.00	3.54 ± 0.01	0.96 ± 0.00	4.82 ± 0.01
12	427.65 ± 0.24	974.81 ± 0.54	2.25 ± 0.00	3.99 ± 0.01	1.13 ± 0.00	9.07 ± 0.01
13	419.91 ± 0.12	957.16 ± 0.28	1.13 ± 0.00	4.00 ± 0.01	0.97 ± 0.00	5.28 ± 0.00
14	428.06 ± 0.25	975.74 ± 0.56	1.13 ± 0.00	3.61 ± 0.01	0.88 ± 0.00	4.88 ± 0.01
15	426.55 ± 0.09	972.31 ± 0.20	1.13 ± 0.00	3.33 ± 0.01	1.13 ± 0.00	4.60 ± 0.01
16	426.34 ± 0.02	971.83 ± 0.04	1.13 ± 0.00	2.71 ± 0.01	1.13 ± 0.00	3.98 ± 0.01
17	426.56 ± 0.07	972.32 ± 0.16	1.13 ± 0.00	3.32 ± 0.00	1.13 ± 0.00	4.59 ± 0.00
18	426.55 ± 0.18	972.29 ± 0.40	1.13 ± 0.00	2.78 ± 0.01	1.13 ± 0.00	4.05 ± 0.01
19	426.48 ± 0.09	972.15 ± 0.20	1.13 ± 0.00	3.00 ± 0.00	1.13 ± 0.00	4.27 ± 0.00
20	426.21 ± 0.14	971.53 ± 0.32	1.13 ± 0.00	3.33 ± 0.01	1.13 ± 0.00	3.87 ± 0.01

*Valores entre paréntesis son los valores codificados de las variables independientes. IP=índice de peróxido; p-IA=índice de p-anisidina; AGL=ácido graso libre; VT=valor totox. Los resultados son el promedio de 3 determinaciones ± desviación estándar.

Tabla 11. Coeficientes de regresión de las variables independientes y análisis de varianza del modelo central compuesto

Parámetros	Rendimiento	Eficiencia	IP	p-IA	AGL	Valor totox
Intercepto	241.69	550.93	18.32	-26.32	-2.93	33.19
X_1	9.10	20.74	-0.12	1.73	0.13	1.34
X_2	2.811	6.41	0.70	0.24	0.08	2.14
X_3	1.66	3.79	-0.09	1.24	0.10	0.94
$X_1 X_2$	0.00	0.01	0.00	-0.02	-0.00	-0.09
$X_1 X_3$	-0.03	-0.08	0.00	0.00	-0.00	0.00
$X_2 X_3$	-0.01	-0.03	0.00	-0.03	-0.00	-0.03
X_1^2	-0.21	-0.49	0.00	-0.03	-0.00	-0.10
X_2^2	-0.10	-0.04	0.01	0.01	0.00	0.03
X_3^2	-0.01	-0.01	0.00	0.01	-0.00	0.01
R ²	0.97	0.97	0.87	0.83	0.76	0.90
F	33.90	33.9	7.75	5.35	3.61	10.37
P>F	0.00	0.00	0.00	0.01	0.03	0.00

*Los valores remarcados son estadísticamente significativos ($p < 0.05$); X_1 =proporción; X_2 =temperatura; X_3 =tiempo.

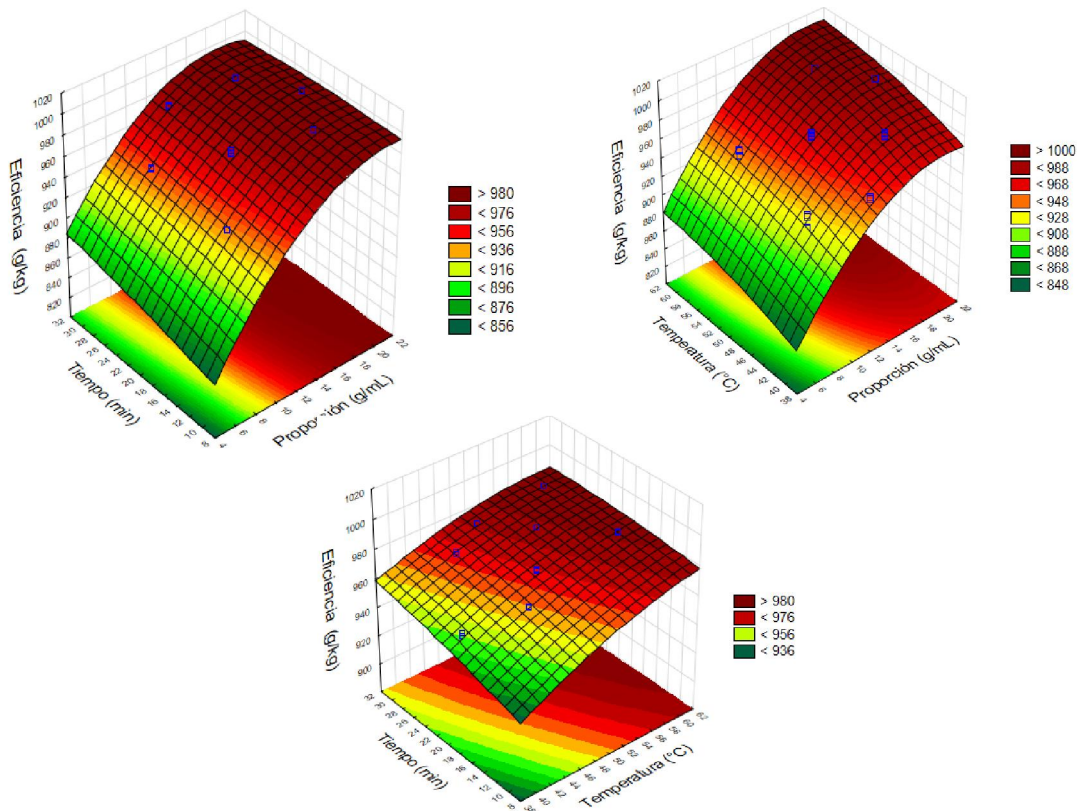


Fig. 15 Gráfica tridimensional de la eficiencia de extracción del aceite de semilla de moringa en función de la proporción, temperatura y tiempo.

6.6 EFECTO EN LA EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO EN LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE LAS SEMILLAS DE MORINGA

La estabilidad oxidativa (IP, *p*-IA, AGL y VT) se define como la resistencia a la oxidación (degradación oxidativa del aceite) de las muestras en condición controlada. En la Tabla 10 se resumen los resultados, que a continuación se detallan.

6.6.1 ÍNDICE DE PERÓXIDO

El IP es una de las pruebas más utilizadas para la medición de la rancidez oxidativa en aceites y grasas: por consiguiente mide la concentración de peróxidos e hidroperóxidos formados en las etapas iniciales de la oxidación de lípidos (Zhang et al., 2010). Los valores del índice de peróxido variaron de 1.13 a 2.26 meq O₂ /kg de aceite siendo los tratamientos T3, T4, T7, T8 y T12 quienes presentaron valores altos; esta variación fue dependiente de las condiciones de extracción. Sin embargo estos resultados indicaron que el aceite es estable a las diferentes condiciones de extracción por ultrasonido, dado que presentaron valores bajos a lo que permite la Norma Mexicana NMX-F-154-1987, siendo el valor máximo de 20 meq O₂/kg autorizados en los aceites vegetales (Molina y Sosa, 2012). Aunque Lafont y Portacio (2011) consideran que los productos con índice superior a 2 meq O₂/kg de aceite son altamente propensos a mostrar rancidez. Por consiguiente, los resultados de este trabajo están dentro de los valores permitidos asimismo son similares a lo encontrado por Abdulkarim et al. (2007) en el aceite de semilla de moringa (2.15 meq O₂/kg de aceite)

El coeficiente de correlación del modelo ajustado a los datos experimentales fue $R^2 = 0.87$, como se muestra en Tabla 11. La temperatura tuvo efecto significativo ($p < 0.05$) en los términos lineales y cuadráticos sobre la respuesta de IP, mientras que la proporción y el tiempo de ultrasonido sólo fueron significativos ($p < 0.05$) para el término cuadrático. Mientras que las interacciones de las variables no tuvieron efecto significativo ($p < 0.05$). Sin embargo, la temperatura de extracción es la variable principal que tuvo una correlación positiva con efectos negativos, como se observa en la Fig. 16 conforme aumenta la temperatura de extracción aumenta la formación de peróxidos y compuestos hidroperóxidos, es decir el índice de peróxidos. Este comportamiento probablemente se suscite ya que a altas temperatura se degradan los ácidos grasos mono y polinsaturados, debido a que son susceptibles a oxidarse por la presencia de la doble ligadura, por otra parte los peróxidos e hidroperóxidos son compuestos muy inestables; que se descomponen fácilmente a los productos de oxidación secundarios, lo que resulta en un menor

valor de peróxido (IP). Esta descomposición se lleva a cabo en las etapas media y última de la oxidación de los lípidos (Samaram et al., 2015), probablemente debido a ello se observaron valores bajos de IP pero los valores de *p*-anisidina (*p*-IA) se incrementaron.

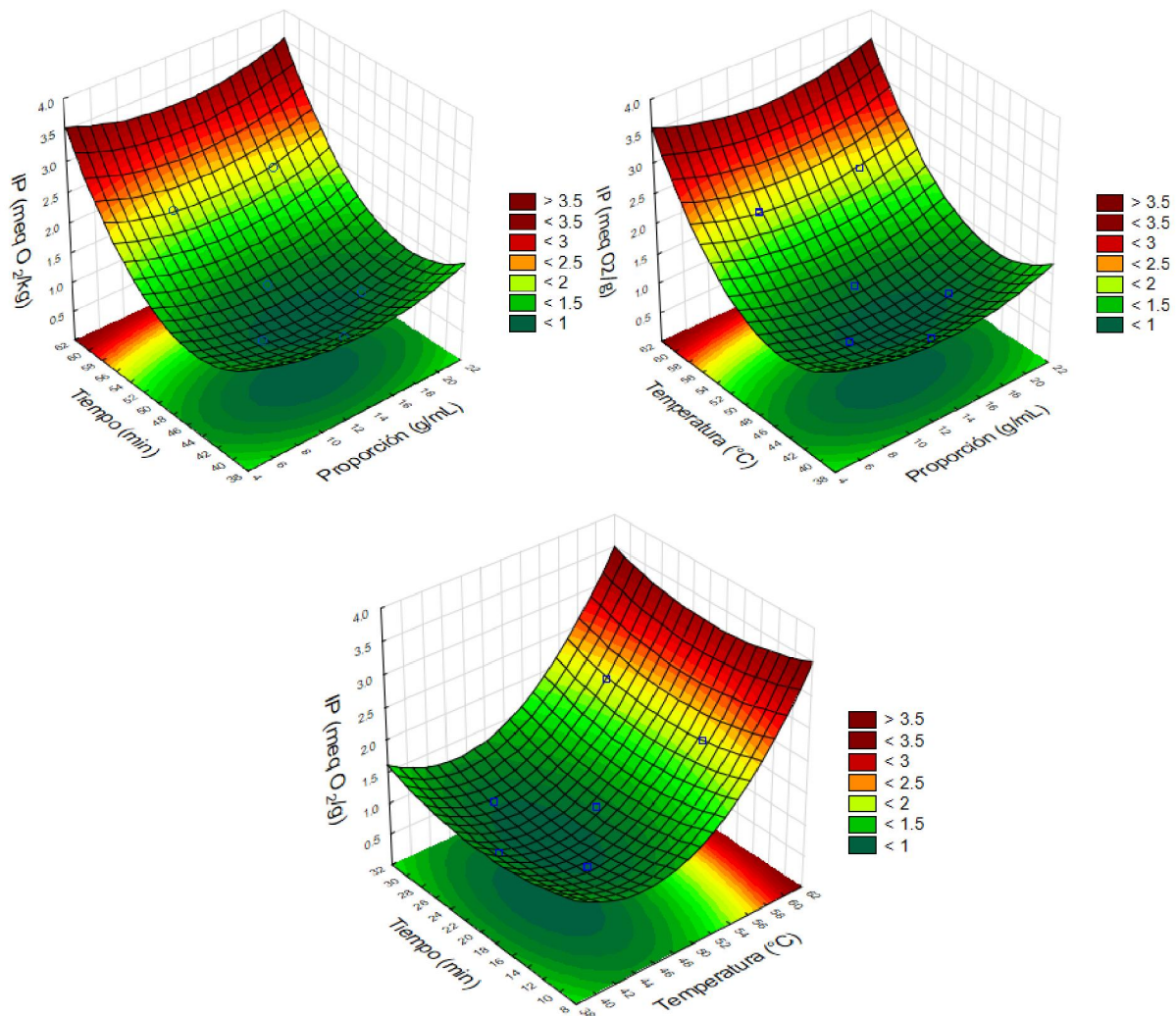


Fig. 16 Gráfica tridimensional del índice de peróxido en la extracción del aceite de semilla de moringa en función de la proporción, temperatura y tiempo.

6.6.2 ÍNDICE DE *P*-ANISIDINA

La determinación *p*-IA indica de manera general la cantidad total de compuestos carbonilos (como aldehídos y cetonas) en el aceite. A diferencia de los

hidroperóxidos, los aldehídos no se descomponen rápidamente, así permiten conocer el pasado de un aceite y este puede ser determinado con el índice de *p*-anisidina (Gallegos-Marín, 2012). El valor 1 de *p*-IA corresponde a 0.1% de material oxidado (Hernández-Santos et al., 2016). El *p*-IA del aceite de semilla de moringa varió de 0.43 a 5.14 como presenta en la Tabla 10, en las diferentes condiciones de extracción de aceite. De acuerdo con Muresan et al. (2016), como regla general *p*-IA debe ser inferior a 10 para que el aceite sea considerado de buena calidad. El *p*-IA de las muestras analizadas en este estudio estaba por debajo de este límite. Sin embargo, Abdulkarim et al. (2007) obtuvieron 11.54 de *p*-IA, siendo valor superior al obtenido en esta investigación. Por lo tanto, las condiciones de extracción del aceite en esta investigación no afectaron este parámetro. En la Tabla 11 se muestra el coeficiente de correlación del *p*-IA el cual fue de $R^2 = 0.83$, lo que muestran que el modelo fue significativo, es decir el valor de *p*-IA fue afectado considerablemente por las condiciones (variables) de extracción por ultrasonido.

Los resultados revelaron que la temperatura y tiempo de ultrasonido presentaron efecto significativo ($p < 0.05$) en el término lineal, las interacciones de las variables de temperatura y tiempo de ultrasonido mostraron una correlación negativa y con efecto significativo ($p < 0.05$), el mismo comportamiento se observó en la proporción (*p/v*) en términos cuadráticos. No obstante, la temperatura de extracción y tiempo de ultrasonido tuvo una correlación positiva lo que afectó negativamente ($p < 0.05$) en los valores de *p*-IA. Indicando que a medida que el tiempo se prolonga el valor de *p*-IA aumenta, como se observa en la figura 17, este suceso probablemente se deba a que a medida que aumenta el tiempo de ultrasonido, la temperatura del medio aumenta, lo que puede causar el deterioro de los ácidos grasos poliinsaturados cuyos dobles enlaces están más susceptibles a la oxidación por los efectos térmicos. Este efecto se ha informado en otros estudios en los que un aumento del tiempo de ultrasonido promueve la oxidación de dobles enlaces conjugados (Yolmeh et al., 2014).

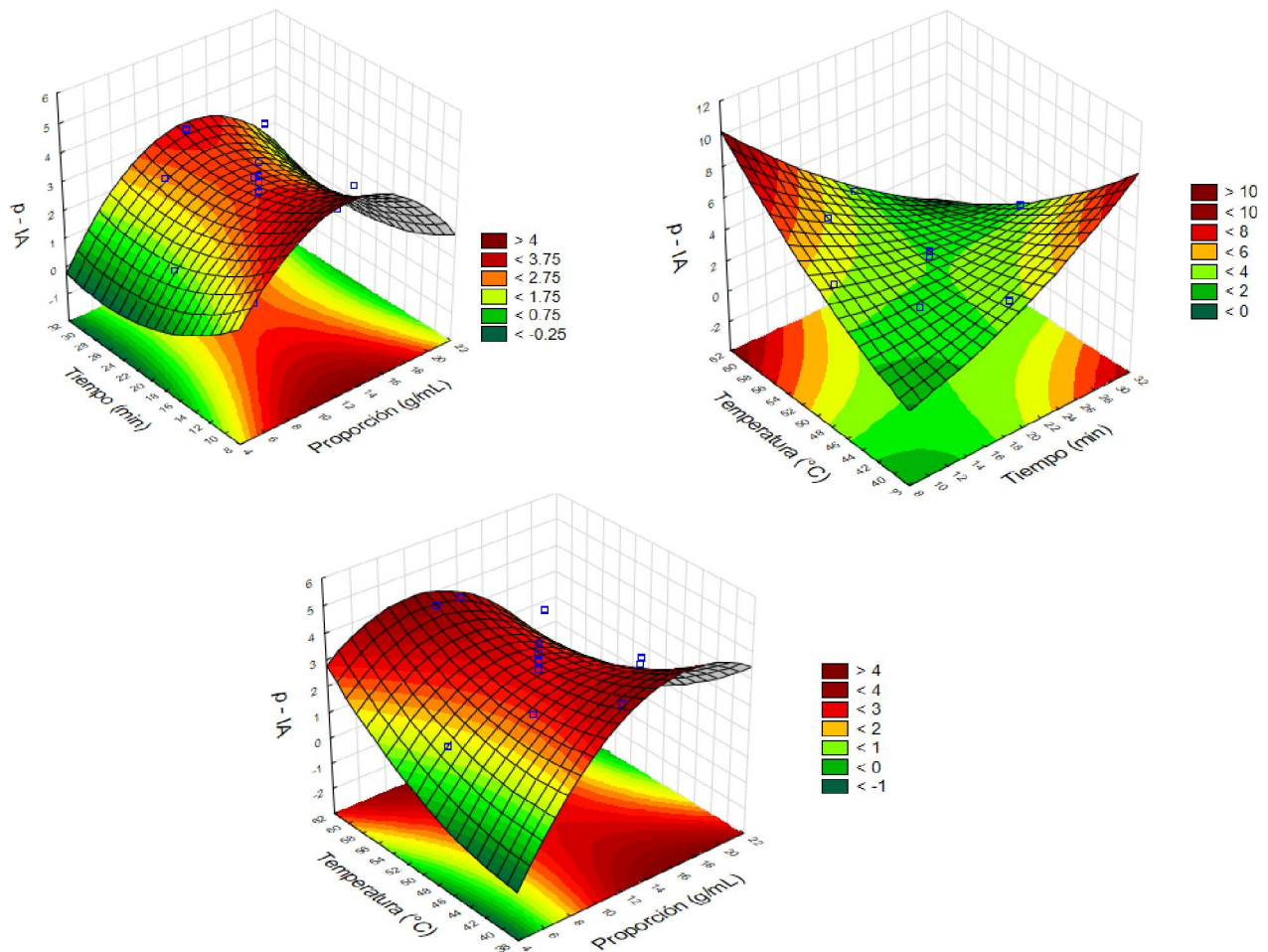


Fig. 17 Gráfica tridimensional del p -IA en la extracción del aceite de semilla de moringa en función de la proporción, temperatura y tiempo.

6.6.2 ÁCIDOS GRASOS LIBRES

La degradación de los lípidos se puede producir por hidrólisis u oxidación, es decir, los triacilglicéridos pueden ser hidrolizados a ácidos grasos libres. Este fenómeno se conoce comúnmente como la rancidez hidrolítica, donde los triacilglicéridos y ácidos grasos libres se oxidan a los compuestos volátiles que influyen en el desarrollo de olores y compuestos no volátiles que también afectan el sabor (Hernández et al., 2016). En cuestión de los datos obtenidos de los ácidos grasos libres (AGL) en el aceite de la semillas de moringa varió desde 0.88 hasta 1.13%, en las diferentes condiciones de extracción por ultrasonido. Esos valores son inferiores a 5.7-7.28% que es lo permitido en los aceites vegetales (Bhutada et al.,

2016) asimismo los tratamientos 1, 2, 3, 8-11, 13 y 14 están dentro de los parámetros establecidos por la Secretaría de Comercio en la Norma Oficial Mexicana NMX-F-101-SCFI-2012, la cual establece un máximo de 1%. El resto de los tratamientos presentaron valores mayores al 1%, estos tratamientos fueron posiblemente afectados por la actividad de las lipasas u otras enzimas presentes en la harina de semilla de moringa, que hidrolizaron los triacilglicéridos a ácidos grasos libres, diglicéridos y mono glicéridos, la cual pudo verse favorecido por la luz y la temperatura de ultrasonico. Además Tasan et al. (2011) informaron que un aumento en la temperatura, luz y humedad en la extracción del aceite o en el almacenamiento originó una degradación y un aumento de los ácidos grasos libres en el aceite de girasol evaluado por ellos.

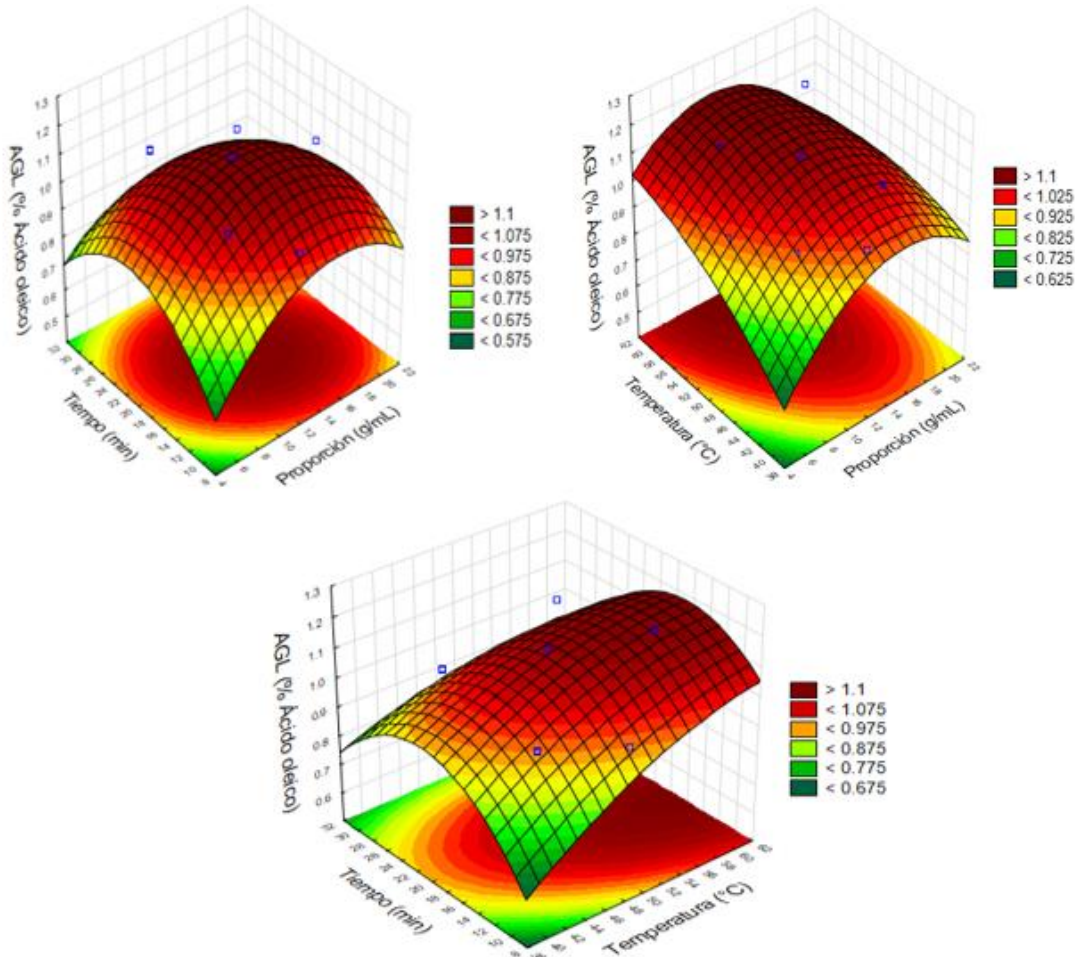


Fig. 18 Gráfica tridimensional del % AGL en la extracción del aceite de semilla de moringa en función de la proporción, temperatura y tiempo.

Los resultados obtenidos en este trabajo fueron similares a lo reportado por Abdulkarim et al. (2005) y Lalas y Tsaknis (2002). En la Tabla 11 se muestra que el coeficiente de determinación fue de $R^2 = 0.76$ del % de AGL indicando que el modelo tuvo efecto significativo ($p < 0.05$). En la Tabla 11 y figura 18 se observaron que la temperatura y tiempo de ultrasonido tuvo efecto significativamente negativo ($p < 0.05$) en términos lineales, con respecto a la proporción y tiempo de extracción manifestando una correlación negativa con efecto significativo positivo ($p < 0.05$) en el término cuadrático.

6.6.3 VALOR TOTOX

El valor totox (VT) es el índice de estabilidad del aceite asociado a la oxidación de los lípidos y es útil, ya que combina evidencia sobre la historia del aceite (p -IA), junto con el estado actual del aceite (IP).

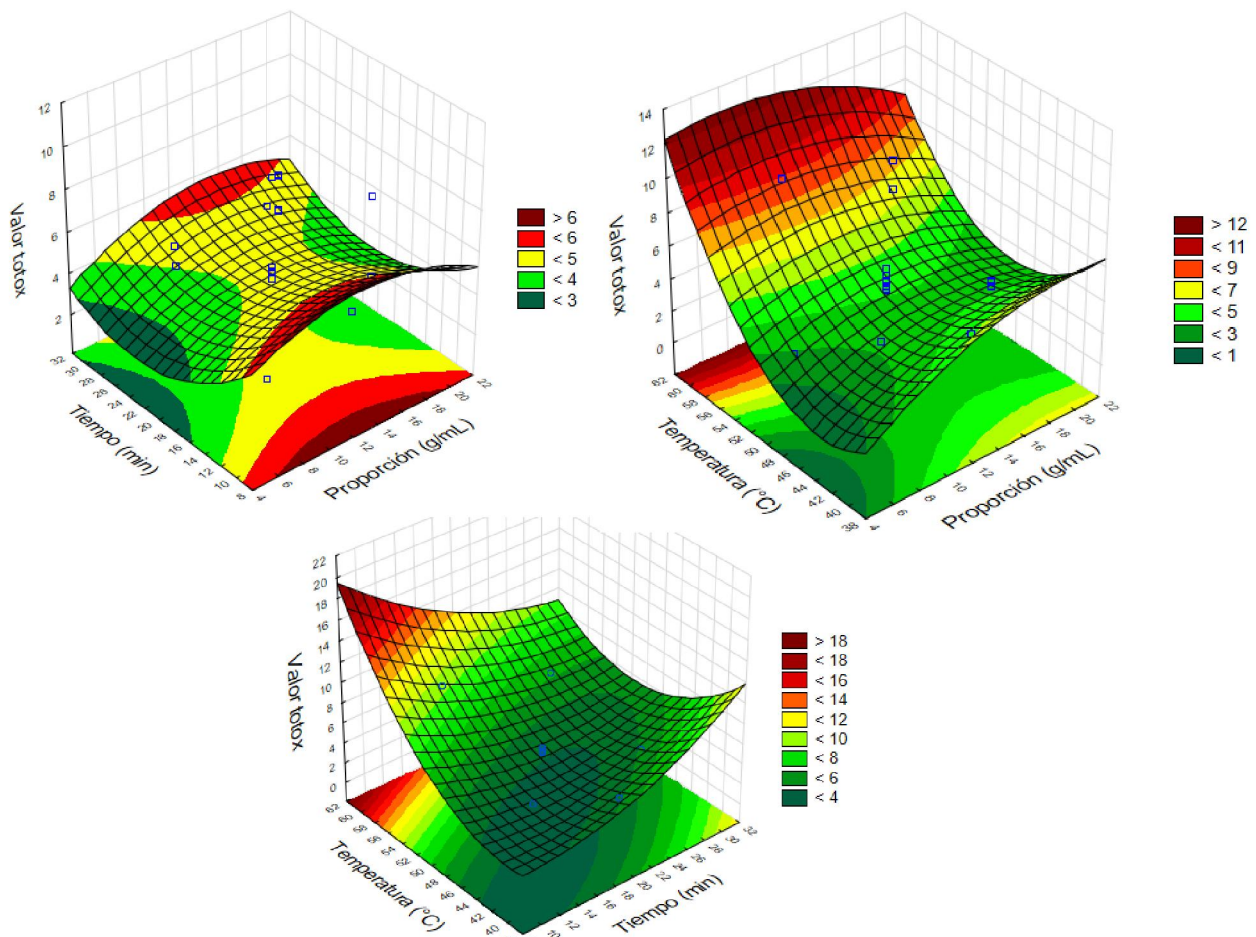


Fig. 19 Gráfica tridimensional del valor totox en la extracción del aceite de semilla de moringa en función de la proporción, temperatura y tiempo.

En este trabajo, los resultados del VT en el aceite de la semillas de moringa en función de las diferentes condiciones de extracción fue desde 2.16 hasta 10.23, siendo el T10 [con una proporción de 1:20 (p/v), a una temperatura de 50 °C en 20 min] quien presentó el valor más alto. Estos resultados fueron similares a lo reportado por Hernández-Santos et al. (2016), en el aceite de la semilla de calabaza extraído por ultrasonido (6.25-12.55), pero inferior a lo mencionado por Abdulkarim et al. (2007) en el aceite de moringa extraído por solvente (VT: 15.84).

No obstante, en la Tabla 11 se muestra el coeficiente de correlación que fue de $R^2=0.90$, demostrando que el modelo tuvo efecto significativo ($p<0.05$), asimismo se observaron los efectos significativos ($p<0.05$) de las variables independientes en el VT siendo la temperatura y tiempo de ultrasonido que afectó negativamente en términos lineales y cuadráticos, con respecto a la proporción y efecto negativo significativo en el término cuadrático. También, las interacciones de la temperatura/tiempo y la proporción en el término cuadrático tuvieron efecto mostrando una correlación negativa. El comportamiento de estos resultados se puede observar en las gráficas tridimensionales de la figura 19, la cual muestran efecto significativo ($p<0.05$) de la interacción de las variables con respecto al VT.

6.7 OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN

La optimización numérica se realizó con base en los resultados experimentales y el análisis estadístico, con el objetivo de maximizar el rendimiento de la extracción y la eficiencia así, valores mínimos de IP, p -IA, AGL y VT (estabilidad oxidativa), en la extracción por ultrasonido. En este estudio, se obtuvieron 15 condiciones óptimas, de las cuales se eligieron 3 con base en las de mayor deseabilidad, como se observa en la Tabla 12. Es importante recalcar que la mayoría de las condiciones óptimas de extracción no se encontraban en los 20 tratamientos expuestos con anterioridad, por consiguiente el paquete estadístico no solo buscó los factores vitales, sino también encontró configuraciones en los procesos ideales para las seis variables de

respuesta, además la función de optimización numérica encontró la máxima deseabilidad para las 15 respuestas simultáneamente.

Las tres condiciones óptimas predichas por el modelo fueron validadas, y se resumen en la Tabla 12. Dicha tabla se observa algunas diferencias en las variables, este comportamiento probablemente se debió a que la materia prima fue cosechada posteriormente a la que se utilizó en la primera fase.

6.8 DETERMINACIÓN DE PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

En la Tabla 13 se expresan los resultados obtenidos del análisis de cromatografía de gases, la cual mostró la presencia de 7 ácidos grasos (AG), encontrándose mayor cantidad de ácidos grasos insaturados (71.07%, 66.25% y 59.05%) en los tratamientos T1, T2 y T3, respectivamente. Estando presente en mayor proporción el ácido graso monoinsaturado oleico (C18:1) y en pequeñas proporciones, ácido palmitoleico (C16:1) y linoleico (C18:2) en los tres tratamientos. En cuanto al contenido total de los ácidos grasos saturados fue de 28.93%, 33.75% y 40.95% en los tratamientos T1, T2 y T3, respectivamente, encontrándose los ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), araquídico (C20:0) y behénico (C22:0).

De manera general, el C18:1 es el componente mayoritario de todos los ácidos grasos presentes en el aceite de semillas de moringa extraído en diferentes condiciones de extracción por ultrasonido estos resultados coinciden con lo informado por otros autores como Tsaknis y Lalas (2002); Anwar et al. (2006); Marrero et al. (2014); Ruttarattanamongkol et al. (2014); Ruttarattanamongkol y Petrasch (2015); Bhutada et al. (2016). Cabe hacer mención que utilizaron diferentes métodos de extracción.

Así, la incorporación de este aceite a la dieta sería relevante debido a que existen evidencias científicas que demuestran que los aceites con un elevado contenido de

Tabla 12. Optimización y validación de las condiciones de extracción de acuerdo al diseño central compuesto

Tratamiento				D	Rendimiento		Eficiencia		Índice de peróxido (meq O ₂ /g)		Índice de <i>p</i> -anisidina		Ácidos grasos libres (%)		Valor totox	
#	X ₁	X ₂	X ₃		P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E
1	1:17.16	50.99	25.95	0.80	436.41	504.02	994.77	995.30	1.36	1.79	2.30	3.3	0.99	1.60	4.34	6.42
2	1:17.16	44.75	14.09	0.77	429.75	499.49	979.60	986.36	1.07	1.12	2.57	2.8	1.01	2.00	3.65	5.09
3	1:16.58	53.73	25.95	0.76	437.06	497.87	996.25	983.16	1.65	2.24	1.80	3.1	1.01	1.98	4.85	7.59

D=Deseabilidad; X₁=proporción; X₂=temperatura; X₃=tiempo; P=predicción por el modelo; E=datos experimentales

ácido oleico brindan numerosos beneficios para la salud (Abdulkarim et al., 2007; OLEICO, 2012).

Sin embargo, las condiciones de extracción mostraron diferencia en las proporciones del contenido de los AG, el C18:1 presentó diferencias significativas ($p<0.05$) en el T3. Con respecto al C16:0 y C16:1 presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) en los tres tratamientos, no obstante el T1 presentó diferencia significativa ($p>0.05$) en el C20:0 pero en el C22:0 mostró diferencias significativas ($p<0.05$) en el T1 y T2. Los ácidos C18:0 y C18:2 no presentaron diferencia significativa ($p<0.05$) en el contenido de dicho AG.

En la Tabla 13, se muestran las variaciones se deben a las diferentes condiciones de extracción del aceite, la cual favorecieron y/o disminuyeron la extracción del AG, asimismo el solvente podría haber influido debido ya que algunos AG tienen afinidad química al hexano, así como la ubicación, el clima y los factores ambientales influyen en el contenido de nutrientes de la muestra vegetal. Además, se ha demostrado la influencia del ultrasonido sobre la composición de ácidos grasos de otras semillas oleaginosas: soya, girasol y colza (Luque y Castro, 2004).

Tabla 13. Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de moringa

Acido grasos	T 1	T 2	T 3
C16 (Palmítico)	13.80 ± 0.25 ^c	6.31 ± 0.28 ^a	11.34 ± 0.42 ^b
C16:1 (Palmitoleíco)	3.77 ± 0.07 ^a	1.50 ± 0.08 ^c	2.98 ± 0.09 ^b
C18 (Esteárico)	6.33 ± 0.31 ^a	6.30 ± 0.32 ^a	6.69 ± 0.87 ^a
C18:1 (Oleico)	66.55 ± 1.73 ^a	64.15 ± 2.45 ^a	55.55 ± 1.84 ^b
C18:2 (Linoleico)	0.75 ± 0.02 ^a	0.60 ± 0.01 ^a	0.52 ± 0.18 ^a
C20:0 (Araquídico)	2.81 ± 0.99 ^b	11.97 ± 3.59 ^a	15.26 ± 0.72 ^a
C22:0 (Behénico)	5.99 ± 0.76 ^a	9.16 ± 0.46 ^b	7.66 ± 0.58 ^{ab}

Las letras diferentes indica diferencia significativa ($p<0,05$). T=tratamiento.

En términos generales el mejor tratamiento, es decir el que presentó mayor proporción de los AG insaturados, fue el T1.

6.9 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL ACEITE

En la Tabla 14 se presenta un resumen de los diferentes parámetros físicos-químicos determinados en el aceite de las semillas de moringa.

6.9.1 ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción es característico para cada aceite por lo que es un indicador de pureza del mismo, en este contexto el aceite presentó valores de 1.46 en los tres tratamientos la cual no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), por ello las condiciones de extracción no interfirieron en este parámetro. Sin embargo estos valores muestran que están dentro del intervalo característico en los aceites como el de maní y de algodón (CODEX STAN 210-1999). Los valores que se obtuvieron en este trabajo de investigación coinciden a lo reportado por Tsaknis et al. (1999); Tsaknis (1998); Anwar y Bhangar (2003) y Anwar et al. (2006) sin embargo Ogunsina et al. (2014) y Sánchez et al. (2015) informaron que obtuvieron valores de 1.47, siendo este valor superior a lo encontrado en este trabajo.

6.9.2 DENSIDAD

La densidad de los aceites varía en forma directa con el grado de insaturación de sus AG constituyentes, lo cual coincide con el porcentaje total de AG insaturados. De acuerdo a la norma indican que los aceites vegetales tienen una densidad de 0.90-0.960 (Lafont y Portacio, 2011), la densidad del aceite en los tres tratamientos varió de 0.92 a 0.94 g/mL, siendo el T2 quien presentó el valor más alto, seguido por T3 y por último el T1; sin embargo, los tres tratamientos presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Esta diferencia probablemente sea debido a que las condiciones de extracción arrastraron algunos compuestos bioactivos (pigmentos, tocoferoles, fitoesteroles, etc.).

Tabla 14. Propiedades físicas del aceite de semilla de moringa

Parámetro	T1	T2	T3
Índice de refracción (20 °C)	1.46 ± 0.00 ^a	1.46 ± 0.00 ^a	1.46 ± 0.00 ^a
Densidad a 20 °C (mg/mL)	0.92 ± 0.00 ^c	0.94 ± 0.00 ^a	0.93 ± 0.00 ^b
Índice de yodo (g de I ₂ /100 g de aceite)	63.30 ± 0.20 ^a	63.28 ± 0.09 ^a	63.30 ± 0.29 ^a
Índice de saponificación (mg KOH/g)	152.12 ± 0.32 ^a	154.77 ± 0.1 ^b	158.47 ± 0.11 ^c
Color			
L*	26.85 ± 0.17 ^a	26.13 ± 0.15 ^b	26.82 ± 0.08 ^a
a*	0.23 ± 0.07 ^b	0.17 ± 0.05 ^b	0.39 ± 0.03 ^a
b*	3.70 ± 0.41 ^a	2.87 ± 0.23 ^b	3.77 ± 0.17 ^a
C	3.70 ± 0.41 ^a	2.87 ± 0.23 ^b	3.79 ± 0.17 ^a
H	0.06 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.01 ^b	0.10 ± 0.01 ^a
ΔE	71.62 ± 0.16 ^a	72.30 ± 0.16 ^b	71.65 ± 0.08 ^a

Las letras diferentes indica diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). T=tratamiento.

De acuerdo a Ruttarattanamongkol y Petrasch (2015), encontraron que la densidad del aceite de la semillas de moringa fue de 0.93 g/mL, este resultado coinciden con el T3, sin embargo los valores reportados por Ruttarattanamongkol et al. (2014) (0.93-0.94 g/mL) son similares a lo encontrado en este trabajo. Al comparar con los aceites provenientes de otras semillas se encuentran algunas diferencias, como el de olivo [Ruttarattanamongkol y Petrasch (2015)] presentó mayor densidad (0.95 g/mL), sin embargo el aceite de semilla de sandía (0.92 g/mL) y el de semilla de calabaza (0.91 g/mL); y en el caso del aceite refinado de semilla de arándano (0.94 g/mL).

6.9.3 COLOR

En la Tabla 14 se resume los resultados de la medición del color del aceite de la semillas de moringa, los tres tratamientos presentaron valores positivos (2.87-3.77) en el parámetro b^* indicando color amarillo, este pigmento probablemente sea por la presencia de carotenoides, sin embargo el T2 presentó diferencia significativa ($p<0.05$), siendo el T1 y T3 quienes mostraron ligeramente mayor color amarillo, la misma tendencia se presenta en los valores (26.13-26.85) de luminosidad (L^*), siendo el T2 quien presentó diferencia significativa ($p<0.05$). Estas diferencias estadísticas probablemente se deban a que las condiciones de extracción interfirieron en estos parámetros.

El parámetro a^* indicó valores positivos lo cual significa que se encuentra en una coloración roja, sin embargo, los valores en los tres tratamientos fueron de 0.17-0.39 siendo valores inferiores al parámetro b^* , indicando que el aceite tiene un color amarillo con un ligero color a rojo; el tratamiento que presentó valor alto fue el T3, presentando diferencia significativa ($p<0.05$).

Asimismo en la Tabla 14 se observan los valores del parámetro de cromaticidad (C^*) siendo este un indicativo de la intensidad o saturación de la tonalidad de los valores de a^* y b^* , en las muestra se observaron grado de saturación de 2.87-3.79, el T2 presentó diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$). En términos generales, este parámetro indica que el aceite de los tres tratamientos presentó

color amarillo-rojo de baja saturación. Con respecto a los valores del ángulo hue (h°) oscilaron entre 0.06-0.10, siendo el T3 quien presentó diferencia significativa ($p<0.05$). Y por último, en cuanto a la diferencia de color (ΔE), los aceites mostraron valores de diferencia de color de 71.62-72.30, cabe aclarar que el T2 fue el que presentó diferencia significativa ($p<0.05$) así como el valor más alto.

La percepción del color es un factor crítico para la determinación de aplicaciones potenciales de aceites comestibles en los alimentos. De manera general, los resultados obtenidos en los diferentes parámetros del color en los aceites, el T1 y T3 fueron los tratamientos quienes presentaron un color muy atractivo a la vista (amarillo claro), similares a los aceites comestibles. Hasta el momento no existen estándares de color para el aceite de las semillas de moringa, la medición de los parámetros L^* , a^* , b^* , h° y ΔE podrían ser utilizados para su caracterización.

Sin embargo, investigaciones de Ruttarattanamongkol y Petrasch (2015), reportaron valor altos en los parámetros de L^* , a^* y b^* , así como Ruttarattanamongkol et al. (2014) encontraron valores altos en los parámetros de L^* y b^* , pero similares en los valores a^* al aceite de olivo ($a^*=0.20$), no obstante los parámetros a^* y b^* encontrados en este trabajo fueron similares a los reportados por Abdulkarim et al. (2005). Las diferencias encontradas en este trabajo pueden deberse a los factores climatológicos y agronómicos de la semilla, así como al método de extracción utilizado, posiblemente la intensidad del ultrasonido en la extracción del aceite de este trabajo provocó una disminución en el contenido de los pigmentos debido a la isomerización de los dobles enlaces en los carotenoides (pigmentos) o la degradación de los mismos. Este comportamiento también fue observado por Dekunte et al. (2010), quienes encontraron una disminución en el pigmento carotenoide en los zumos de tomate al aplicar el ultrasonido como tecnología no térmica para inactivar microorganismos, de esta forma Bermúdez y Barbosa (2012) hallaron cambios de color en muestras de piña, uva y jugo de arándano sometido a termo-sonicaciones continuas y pulsadas.

6.9.4 ÍNDICE DE YODO

El índice de yodo indica el grado de insaturación de los ácidos grasos. De acuerdo a la Tabla 14 los aceites presentaron valores de 63.28-63.30 g I₂/100 g de aceite, lo cual es acorde con el porcentaje total de AG insaturados de los valores obtenidos en el perfil de ácidos grasos analizados por CG, esto demuestra su elevado nivel de insaturación. En los tres tratamientos de extracción del aceite, se determinó que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a este índice. Estos resultados son importantes y están relacionados con el punto de fusión del mismo, de tal manera que a mayor índice de yodo, el punto de fusión del aceite será menor. El índice de yodo obtenido en este trabajo coinciden dentro del intervalo característico para aceite de las semillas de moringa, es decir fueron similares con lo reportado por Tsaknis y Lalas (2002); Abdulkarim et al. (2005); pero inferior a lo reportado por Ogbunugafor et al. (2011).

De acuerdo a los resultados obtenidos, los tres tratamientos del aceite de las semillas de moringa pertenecen a la clasificación de los aceites no secantes, y no se encuentran dentro de los estándares establecidos en los aceites vegetales (80-106) (Bhutada et al., 2016). Los bajos valores obtenidos en este trabajo pueden atribuirse a la baja proporción de los ácido grasos poliinsaturados y alto contenido del ácido monoinsaturado (ácido oleico) siendo éste muy característico en presentar valores de índice de yodo de 50-100 g I₂/100 g de aceite.

6.9.5 ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN

El índice de saponificación representa el peso molecular promedio de la cadena carbonada de los ácidos grasos. La Tabla 14 muestra que el índice de saponificación del aceite de las semillas de moringa fue de 152.12-158.47 mg KOH/g, mostrando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en los tres tratamientos, esta diferencia probablemente se deba a que las condiciones de extracción modificaron el peso molecular de los ácidos grasos, posiblemente la intensidad del ultrasonido o la temperatura ocasionó la deshidrogenación y por lo tanto un cambio en la longitud de la cadena carbonada de los ácidos grasos.

Los valores demuestran que fueron inferiores a lo reportado por Abdulkarim et al. (2005) y Ogbunugafor et al. (2011), pero superior a lo hallado por Nzikou et al. (2009) quienes utilizaron el método Soxhlet. Según Mancio et al. (2016), cuanto mayor sea el valor de saponificación menor será la longitud de la cadena de ácidos carboxílicos. Por lo tanto, los resultados muestran que el valor bajo de saponificación son para la concentración más alta de ácidos carboxílicos con una longitud de cadena intermedia (C18:1).

Sin embargo, también fueron inferiores al aceite de la semilla de arándano (188.15 mg KOH/g), uva (180.196 mg KOH/g), soya (186 mg KOH/g), calabaza (206 mg KOH/g) y sandía (201 mg KOH/g), en donde las muestras de aceite de las semillas de moringa están conformadas por ácidos grasos de cadena intermedia y de pesos moleculares altos comparados con los aceites de las semillas anteriormente mencionados.

6.10 PROPIEDADES TÉRMICAS

Los termogramas analizados y obtenidos mediante DSC para los aceites de las semillas de moringa se presentan en la figura 19. En la primera imagen se puede visualizar el proceso de enfriamiento (característico de cristalización) y calentamiento. Los tres tratamientos de la muestra de aceite presentaron dos picos exotérmicos en el proceso de enfriamiento, una como pico principal y el otro un pequeño hombro. En la Tabla 15 se especifican los valores de la temperatura de inicio (T_0), la temperatura máxima del pico principal (T_{p1}), finalización (T_f) de la transición y calor (ΔH) de ambos procesos. Se observó que ninguno de los tratamientos tuvo efecto significativo ($p < 0.05$) en la T_0 , T_{p1} , T_f y ΔH en las curvas de cristalización, esto indica que las condiciones de extracción no modificaron las estructuras químicas de los triacilglicéridos. Ese mismo comportamiento se percibió en los valores de las curvas de fusión a excepción de la T_0 en los T_1 y T_3 , en donde el proceso de extracción afectó significativamente ($p < 0.05$), habiéndose registrado que aquéllos extraídos con una proporción muestra/solvente de 17.16 g/mL y a una temperatura de 50.99 °C iniciaron el proceso de fusión a temperaturas más bajas

que los obtenidos por las condiciones del T2 y T3. Esta diferencia podría estar relacionada con el contenido de los ácidos grasos monoinsaturados (palmitoleico y oleico) así como probablemente con la composición de triacilglicéridos. Así, la muestra del aceite de mayor contenido en C16:1 y C18:1, es decir el T1, fue el que comenzó a fundir antes con valores de T₀: -1.94 °C, mientras que el resto de los tratamientos registraron el inicio de este proceso alrededor de -2.58 y -3.30 °C. Estos resultados podrían coincidir con el análisis de los datos del índice de yodo. En general, los triacilglicéridos exhiben tres formas polimórficas principales α , β' y β , ordenadas en función del aumento de su punto de fusión, es decir de su estabilidad térmica. Los termogramas de fusión ilustrados en la figura 19 de las muestras de aceite presentan tres formas polimórficas la cual indican que su composición de triacilglicéridos es heterogénea (Garti et al., 1989). Los valores encontrados en este trabajo son semejantes a lo reportado por Abdulkarim et al. (2005) y Nzikou et al. (2009) en el proceso de fusión pero diferente en el proceso de cristalización. Esta diferencia quizá sea por el método empleado en la extracción del aceite. El uso de ultrasonido pudo haber causado la polimerización de los ácidos grasos insaturados. Este comportamiento coincide con el trabajo de Hosseini et al. (2015).

6.11 IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS POR LC-ESI-MS

Diversos autores (Ogbunugafor, et al., 2011; Baky y Baroty, 2013; Ruttarattanamongkol y Petrasch, 2015) han determinado fenoles totales, quienes han informado que el aceite de la semilla de moringa contiene fenoles, sin embargo es importante mencionar que el reactivo de Folin-Ciocalteu no sólo mide los fenoles totales sino que también reacciona con cualquier sustancia reductora. Es decir, el reactivo mide la capacidad reductora total de una muestra, no sólo el nivel de compuestos fenólicos. Por otra parte, para la identificación y cuantificación de cada uno de los compuestos fenólicos, el método LC-ESI-MS es un sistema adecuado por su alta sensibilidad y precisión (repetitividad), por lo que los resultados que se

obtienen de él son confiables. Los resultados obtenidos del cromatograma del equipo de LC-ESI-MS, indicaron que ninguno de los extractos de aceite de la semilla de moringa contenía compuestos fenólicos, este es el primer informe que demuestra lo contrario de lo reportado en otra investigación de Bhatnagar y Gopala (2013). Estos resultados podrían deberse a que la semilla de *Moringa oleifera* Mexicana no contiene compuestos fenólicos y si los tiene probablemente se hayan arrastrado en el residuo. El método de extracción del aceite no pudo haber influido debido a que el tiempo y la temperatura de extracción fue similar a la técnica de Soxhlet, la cual utilizaron la mayoría de los autores mencionados con anterioridad (Ogbunugafor, et al., 2011; Baky y Baroty, 2013; Ruttarattanamongkol y Petrasch, 2015).

6.12 MÉTODO LC-APC⁺- MS

Para la identificación de cada uno de los tocoferoles se utilizó como referencia el tiempo de retención y la relación de la abundancia de los iones de los espectros, de cada estándar de tocoferoles (α -, β -, γ - y δ) y fitoesteroles (ergosterol, colesterol, campesterol, estigmasterol y b-sitosterol). Para la cuantificación de los compuestos, se realizaron a partir de las curvas de calibración utilizando como referencia las soluciones estándar. Se obtuvieron representando gráficamente la concentración estándar como una función del área del pico, como se indican en la Tabla 6 obtenido del análisis HPLC-APCI⁺-MS.

Las curvas de calibración obtenidas mostraron una respuesta lineal entre áreas de los picos y las concentraciones de analitos, ya que los coeficientes de regresión fueron superiores a $R^2=0.84$ para todos los compuestos cuantificados. Se estimaron los resultados de la prueba de la falta de ajuste obtenido en el intervalo de calibración. Para todos los compuestos de referencia, F calculado fue mayor ($p < 0.05$) y los modelos de regresión lineal fueron por lo tanto adecuados para los datos obtenidos.

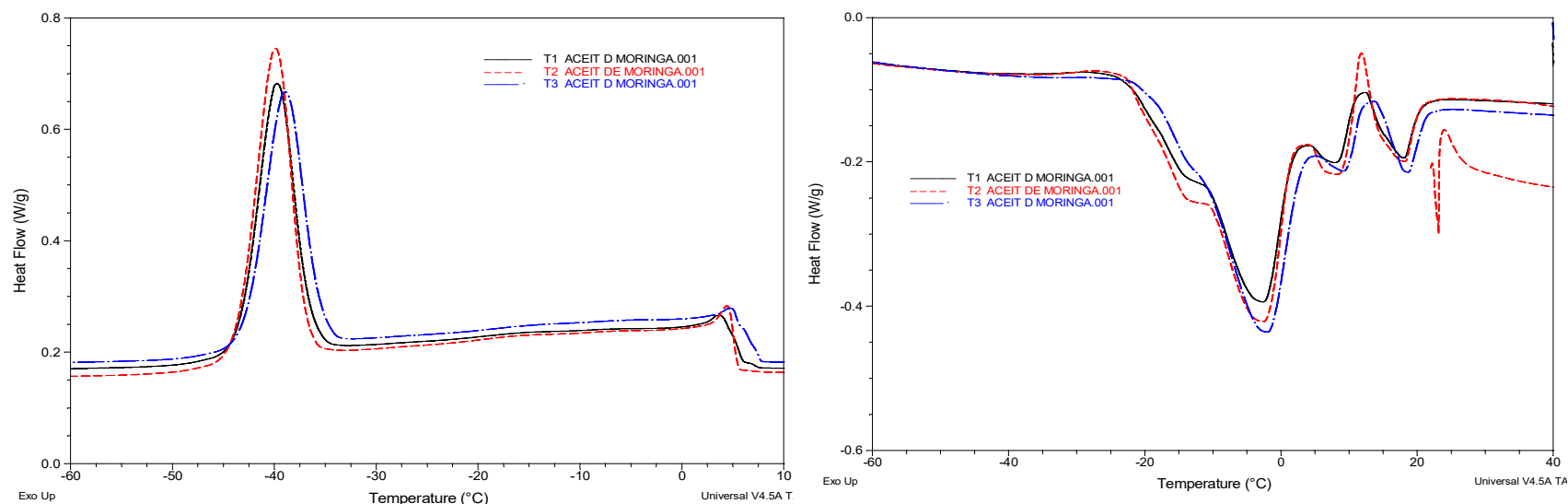


Fig. 20 Termogramas (DSC) de aceites de semilla de moringa

Tabla 15. Temperaturas máximas de pico (°C) (Tp1), del inicio (T0) y del final de la transición (Tf) correspondientes a las curvas de cristalización y fusión de los aceites de semilla de moringa

Termogramas	Cristalización			Fusión		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Temperatura inicial (T ₀)	-48.30 ± 1.70 ^a	-46.29 ± 0.13 ^a	-45.76 ± 0.48 ^a	-1.94 ± 0.00 ^a	-2.58 ± 0.30 ^{ab}	-3.30 ± 0.52 ^b
Pico 1 (Tp ₁)	-40.40 ± 0.88 ^a	-39.65 ± 0.48 ^a	-39.06 ± 0.08 ^a	9.29 ± 0.20 ^a	9.00 ± 1.00 ^a	7.68 ± 0.47 ^a
Temperatura final (T _f)	-34.70 ± 2.55 ^a	-33.8 ± 1.13 ^a	-32.9 ± 0.28 ^a	18.46 ± 0.30 ^a	18.17 ± 0.10 ^a	17.93 ± 0.64 ^a
Entalpia (ΔH)(J/g)	26.91 ± 1.91 ^a	26.76 ± 1.29 ^a	25.74 ± 1.02 ^a	26.67 ± 2.13 ^a	23.37 ± 0.22 ^a	23.19 ± 1.47 ^a

Las letras minúsculas distintas indican diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos de extracción del aceite.

6.12.1 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES

La concentración total de tocoferoles correspondiente en el T1 (412.31 mg/L), T2 (362.76 mg/L) y T3 (463.7 mg/L) fueron superiores a lo reportado por el aceite de maní (398,6 mg/kg) e inferior a la de lino (588,5 mg/L), girasol (634,4 mg/L) y la de soya (1797.6 mg/L) (Tuberoso et al., 2007). En la figura 20, se muestran los resultados de los efectos de las condiciones de extracción por ultrasonido en el contenido de tocoferoles (α - γ - δ -tocoferol) del aceite de semilla de moringa. Se encontraron cantidades altas de α -tocoferol en los tres tratamientos, los cuales no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Sin embargo, el contenido de α -tocoferol en el aceite de semilla de moringa fue superior comparado con el aceite de maíz (207 mg/L), de oliva (163 mg/L), colza (178 a 181 mg/L), soya (152 mg/L) y cacahuete (49-304 mg/L) (Gliszczynska-Świgło et al., 2007). Asimismo, también fueron mayores a los contenidos reportados por Tsaknis y Lalas (2002), quienes encontraron valores de α -tocoferol de 5.06 y 15.38 mg/L en el aceite de la semilla de moringa extraídos a presión en frío y hexano, respectivamente. De igual manera Anwar et al., 2006 hallaron la presencia de α -tocoferol (95.85-103.80 mg/L), pero en la región de Punjab y Pakistán, respectivamente. Asimismo, Ruttarattanamongkol et al. (2014) reportaron la presencia de α -tocoferol (230.3 mg/L) pero utilizando el método de extracción con fluidos supercríticos (con una presión de 15 MPa a 35 °C) con CO₂. Estas variaciones del contenido de α -tocoferol a los valores encontrados en este trabajo, probablemente sea por la composición del material vegetal, que a su vez depende de las condiciones climáticas, geográficas así como la eficiencia del método de extracción asistida por ultrasonido.

Los valores encontrados en T2 y T3 fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) respecto al contenido de γ - y δ -tocoferol. Estas diferencias tal vez se deban a las condiciones de extracción, es decir a mayor temperatura, tiempo de extracción y proporción del solvente provocaron una mayor extracción de estos metabolitos secundarios, debido a que el conjunto de las condiciones y el método de extracción

permitiendo romper las células del tejido vegetal, debido a que disminuye la viscosidad y aumenta la difusividad del solvente, lo que conduce a la liberación de los analitos de la matriz.

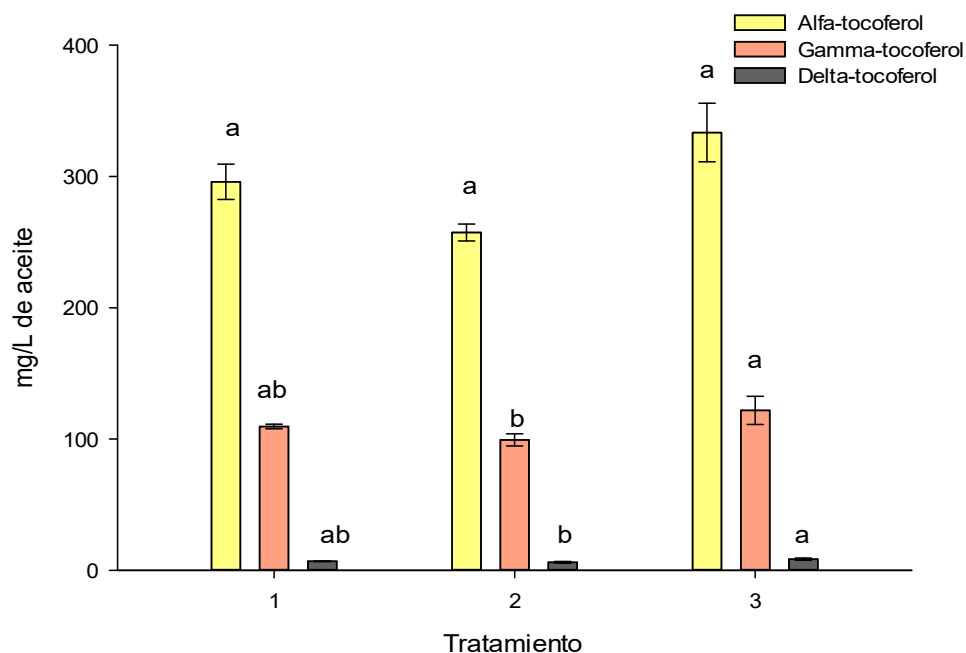


Fig. 21 Contenido de α -tocopherol, γ -tocopherol y Δ -tocopherol (mg/l) en las diferentes condiciones de extracción de aceite
Las letras distintas indican diferencias estadística significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos

Los resultados obtenidos de γ -tocopherol son superiores a lo reportado (25.40 mg/L y 4.47 mg/L extraídos a presión en frío y hexano, respectivamente) por Tsaknis y Lalas (2002) y Anwar et al. (2006) (55.75 a 64.55 mg/L), pero similares a lo indicado (106.8 mg/L) por Ruttarattanamongkol et al. (2014). Con respecto a los valores de δ -tocopheroles en los tratamientos, son inferiores a lo informado por Tsaknis y Lalas (2002) (3.55 y 15.51 mg/L) y Anwar et al. (2006) (80.26 a 86.56 mg/L). Estas diferencias encontradas en otros lugares probablemente se deban a los diferentes métodos de extracción que utilizaron así como al origen y el tiempo de cosecha de la materia prima.

En términos generales el T3, presentó mayor contenido de α , γ y δ -tocoferol, seguido del T1.

6.12.2 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE FITOESTEROLES

Según Silva et al. (2016), las semillas de oleaginosas y de cereales son las mayores fuentes naturales de fitoesteroles, en este sentido las semillas de oleaginosas como canola (3990 mg/L), soya (3530 mg/L), girasol (2250 mg/L) y maní (1270 mg/L). Presentando valores inferiores a lo encontrado en el aceite de moringa.

Los resultados obtenidos mostraron que la mayor concentración de fitoesteroles se observó en el T1 (4369.58 mg/L), seguido del T3 (4046.40 mg/L) y T2 (3673.69 mg/L), por lo que se sugiere que la temperatura y tiempo de extracción del aceite interfirieron en el arrastre de estos analitos. Este comportamiento posiblemente fue debido a que al incrementarse el tiempo de extracción aumentó la temperatura del medio y esta a su vez indujo a que los tejidos vegetales se suavizaran y mejoró la difusión, promoviendo así la extracción de los fitoesteroles en el aceite.

Los resultados en el contenido de ergosterol, campesterol, estigmasterol y β -sitosterol son expresados en mg/L en el aceite de semilla moringa, por lo que se muestran en la figura 21, donde se observa que el β -sitosterol (1307.03 ± 26.12) presentó valores altos en el T1, seguido de ergosterol (1116.82 ± 51.89), campesterol (1023.96 ± 13.55) y estigmasterol (921.77 ± 150.52); mientras que el T2 se encontró en mayor proporción el ergosterol (1040.02 ± 25.39), comparado con el campesterol (998.90 ± 109.29), β -sitosterol (986.95 ± 22.04) y estigmasterol (647.83 ± 251.59), como se puede visualizar en la mayoría de los fitoesteroles del T2 son inferiores comparado con el T1, en cambio el T3 mostró resultados similares de β -sitosterol (1094.66 ± 23.03), ergosterol (1094.48 ± 51.03), campesterol (1027.43 ± 154.30) y estigmasterol (829.83 ± 56.69). De acuerdo a los análisis estadísticos ($p < 0.05$) el contenido de ergosterol, campesterol y estigmasterol en los tres tratamientos no presentaron diferencia significativa pero en las concentraciones de β -sitosterol presentaron diferencia significativa en cada uno de los tratamientos, siendo el T1 el que presentó un mayor contenido, por el contrario el T2 fue en donde

se presentaron los valores más bajos de los tres tratamientos. Estas diferencias en las concentraciones indicaron que las condiciones de extracción del aceite del tratamiento 1 son las ideales para obtener mayor cantidad de β -sitosterol así como el resto de los componentes de los fitoesteroles.

Ruttarattanamongkol et al. (2014) encontraron fracciones de esteroides del aceite de semilla de moringa como β -sitosterol (2,310.9 mg/L), campesterol (1,179.2 mg/L), Δ 5-avenasterol (782.5 mg/L) y estigmasterol (591.5 mg/L), los dos primeros valores de los fitoesteroides fueron superiores comparados con este trabajo, pero altos en estigmasterol, es importante mencionar que ellos no hallaron la presencia de ergosterol si no Δ 5-avenasterol, sin embargo Martins et al. (2016), han informado que el aceite de la semilla de moringa obtenido por extracción con fluido subcrítico (SFE) con CO₂, encontraron en la fracción de esteroides, estigmasterol (0.5 mg/L) y β -sitosterol (2 mg/L), valores inferiores a los hallados en este trabajo. Estas diferencias en las concentraciones y el tipo de fitoesteroides en el aceite, probablemente se deba al método y condiciones de extracción del aceite, debido a que impactan considerablemente en el rendimiento del material lipídico en primera estancia y en consecuencia el contenido de fitoesteroides. No obstante, también está involucrado la condición climatológica y agronómica del fruto y árbol, además están implicados en la respuesta de las plantas a estrés por baja y alta temperatura, sequía, alta concentración de sal y ataques de patógenos (Beleggia et al., 2013). Este hecho estaría relacionado principalmente a su papel como precursor en la biosíntesis de brasinoesteroides (hormonas vegetales) y su capacidad de resistir la oxidación dentro de la membrana celular (Piironen et al., 2000; Schaller et al., 2003).

En términos generales el β -sitosterol es el componente más abundante en el aceite de semilla de moringa, siendo uno de los fitoesteroides de mayor importancia dado que estimula la secreción de insulina, además tiene un efecto regulador de la producción de anticuerpos, puede intervenir en los procesos inflamatorios asociados con el estado inicial de la diabetes tipo I, protegiendo contra la destrucción de las células β -pancreáticas, responsables de la liberación de insulina.

También el β -sitosterol mejora algunos síntomas clínicos en el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna (como el volumen y frecuencia de la orina) (Llamos et al., 2005).

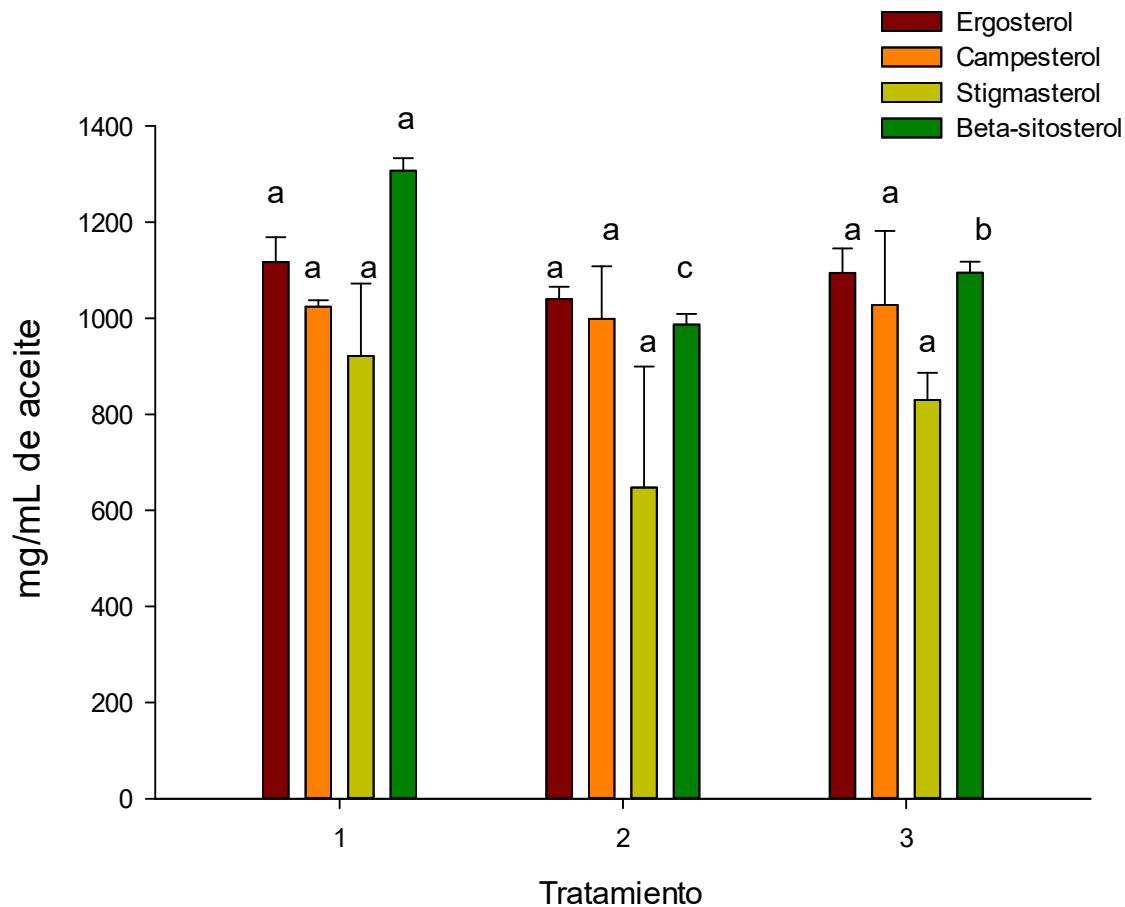


Fig. 22 Contenido de Ergosterol, Campesterol, Estigmasterol y B-sitosterol (mg/l) en las diferentes condiciones de extracción de aceite
Las letras distintas indican diferencias estadística significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos

6.13 CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE RADICALES DE OXÍGENO (ORAC)

Los extractos de los compuestos fenólicos se obtuvieron mediante seis diferentes métodos de extracción, para comprobar la eficacia del mismo en la capacidad de absorción de radicales oxígeno, encontrándose que solo dos fueron representativos, siendo los que se reportan en esta investigación. Es importante

aclarar que a pesar que se siguió la metodología para la extracción de compuestos fenólicos, los extractos que se obtuvieron eran compuestos de tocoferoles y fitoesteroles presentes en el aceite, de acuerdo a los resultados del equipo LC-APC⁺-MS, por lo que el aceite carece de compuesto fenólicos, como se mencionó anteriormente.

Los métodos de extracción presentaron diferencia significativa ($p<0.05$) siendo el método de Ramadan (2013), el que presentó mayor actividad antioxidante en la concentración de los compuestos secundarios (tocoferoles y fitoesteroles) presentes en los extractos del aceite semilla de moringa, como se observa en la Tabla 16, esta diferencia puede deberse a que este método arrastró la mayor cantidad de tocoferoles y fitoesteroles, razón por la cual presentó mayor actividad antioxidante. Es decir, en éste método se utilizó como agente extractante metanol/agua (80:20), esto indica que posiblemente el agua haya arrastrado compuestos polares y el solvente compuestos apolares, provocando una mayor concentración de componentes bioactivos (escualeno, β -caroteno) en los extractos. Sin embargo las condiciones de extracción (Tratamientos) del aceite, no presentaron diferencia significativa ($p<0.05$) en la actividad antioxidante.

Según los resultados del análisis estadístico de los datos de ORAC en el método de extracción de los compuestos secundarios (tocoferoles y fitoesteroles) de García-Villalba et al. (2010), se evidenció que los tratamientos (condiciones de extracción del aceite) tienen un efecto significativo en la actividad de antioxidante ($p<0.05$), siendo el T1 quien presentó mayor actividad, por el contrario el T2 registró la menor actividad antioxidante, como se puede observar en la Tabla 16. Este comportamiento podría haberse causado debido a que el solvente y la temperatura de extracción del aceite interfiriendo en la cantidad de compuestos secundarios extraídos, es decir el aumento de la temperatura de extracción generó un incremento en el rendimiento de obtención de pigmentos, tocoferoles y fitoesteroles, y por otra parte la proporción del solvente originó la difusión del disolvente líquido

en la matriz sólida que favorecía la cinética de desorción de los compuestos desde la matriz (Patricia-Chaparro, 2015).

Tabla 16. Capacidad antioxidante del aceite de semilla de moringa (μ MequivalenteTrolox/L) de acuerdo con el ensayo ORAC.

Método de extracción/Tratamiento	Ramadan (2013).	García-Villalba et al. (2010)
T1	2454.79 $\pm$ 88.92 ^{aA}	2017.77 $\pm$ 9.00 ^{aB}
T2	2416.86 $\pm$ 107.50 ^{aA}	1571.18 $\pm$ 30.88 ^{cB}
T3	2358.94 $\pm$ 89.34 ^{aA}	1840.42 $\pm$ 60.53 ^{bB}

Los resultados se expresan como la media de determinaciones por triplicado $\pm$ la desviación estándar. Las letras diferentes en minúscula indica diferencia significativa ($p < 0,05$) en las condiciones de extracción del aceite y en mayúscula representan diferencia significativa ($p < 0,05$) en el método de extracción de los compuestos fenólicos en el aceite. T=tratamiento

7. CONCLUSIONES

1. El diámetro geométrico y aritmético de este trabajo podría ser útil para el desarrollo de equipos que permitan separar o clasificar las semillas y almendras de acuerdo a la dimensión obtenida.
2. De acuerdo a los valores obtenidos de porosidad, indican que tiene mayor difusión de aire y vapor de agua durante el secado.
3. El acero inoxidable (para semillas sin alas y almendras) y madera (en caso único de la semilla con alas) tuvieron mayor eficiencia en el flujo de la masa unitaria además redujeron el consumo de energía y podrían ser los materiales adecuados en los sistemas de transporte.
4. Se recomienda almacenar las semillas sin alas para evitar la ganancia de humedad y a la vez favorecer el proceso de descascarillado.
5. Las semillas de moringa tuvieron alto contenido de proteínas y lípidos lo que sugiere una fuente apropiada para su extracción.
6. Las condiciones óptimas para la extracción de aceite fueron con el T1, con una proporción de muestra/hexano de 1:17.16 (p/v); con una temperatura de 50.99 °C y un tiempo de extracción de 25.95 min.
7. Con la optimización de extracción de aceite se obtuvo un rendimiento (504.02 g/kg), eficiencia (995.30 g/kg) y estabilidad oxidativa (Índice de peróxido: 1.79 meq O₂/kg, índice de *p*-anisidina: 3.3, AGL: 1.60% y valor totox: 6.42).
8. Las condiciones del método de extracción afectaron los parámetros de color, densidad, índice de saponificación y perfil de ácidos grasos.
9. Las condiciones del método de extracción por ultrasonido no afectaron el comportamiento térmico.
10. El contenido total de fitoesteroles (3673.69-4369.58 mg/L) fue mayor que el de los tocoferoles. Se encontró en mayor concentración el β -sitosterol (986.95-1307.03), comparado con el contenido de ergosterol, campesterol y estigmasterol.

11. El contenido total de tocoferoles varió de 362.76-463.7 mg/L, siendo el principal compuesto α -tocoferol, en pequeñas proporciones de γ -tocoferol y δ -tocoferol.
12. La estabilidad oxidativa mostrada por el aceite de semilla de moringa se le puede atribuir a la presencia de concentraciones considerables de tocoferoles.
13. El tratamiento 1 fue el que presentó mayor contenido de fitoesteroles no obstante, el tratamiento 2 mostró tener el mayor contenido de tocoferoles seguido del tratamiento 1.
14. El aceite de semilla de moringa no mostró la presencia de compuestos polifenólicos, pero presentó la capacidad de absorción de radicales oxígeno debido a la presencia de tocoferoles y fitosteroles.
15. Por el alto contenido de ácido oleico, tocoferoles y fitoesteroles en el aceite de semilla de moringa, le confieren propiedades nutraceuticas.

8. SUGERENCIAS

1. La semilla de moringa contiene aceite con propiedades nutraceuticas y podría proponerse como aceite comestible (para freír, aderezo, mezclas de aceites, salsas, mayonesa, bases para margarina y manteca vegetal).
2. Evaluar la biodisponibilidad in vitro así como in vivo de los compuestos secundarios (carotenoides, fitoesteroles, tocoferoles, etc.) del aceite de semilla de moringa.
3. Debido a valores altos en ácido grasos libres y la ausencia de compuestos fenólicos en el aceite, se sugiere estudiar el efecto de la frecuencia de 37 KHz a diferentes potencias de ultrasonido y de acuerdo a las condiciones óptimas de extracción (proporción muestra/solvente, temperatura y tiempo) encontrados en este trabajo.
4. Evaluar las condiciones de almacenamiento como la temperatura y tiempo óptimo para la conservación de sus propiedades nutraceuticas del aceite de la semilla de moringa.
5. Estudiar las características fisicoquímicas y funcionales del residuo, así como el efecto del método de extracción del aceite de moringa y su posible aplicación en la industria alimentaria.

9. REFERENCIAS

- Abdulkarim, S. M., Lai, O. M., Muhammad, S. K. S., Long, K. & Ghazali, H. M. (2006). Use of enzymes to enhance oil recovery during aqueous extraction of *Moringa oleifera* seed oil. *Journal of Food Lipids*, 13 (2): 113-130.
- Abdulkarim, S. M., Long, K., Lai, O. M., Muhammad, S. K. S. & Ghazali, H. M. (2007). Frying quality and stability of high-oleic *Moringa oleifera* seed oil in comparison with other vegetable oils. *Food Chemistry*, 105 (4): 1382-1389.
- Abdulkarim, S. M., Long, K., Lai, O. M., Muhammad, S. K. S. & Ghazali, H. M. (2005). Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *Food Chemistry*, 93(2): 253-263.
- Abdullah, M. H. R. O., Ch'ng, P. E. & Lim, T. H. (2011). Some physical properties of *Parkia speciosa* seeds. In *International Conference on Food Engineering and Biotechnology IPCBEE* Vol. 9. pp. 43-47.
- Adebowale, Y. A., Adeyemi, A. & Oshodi, A. A. (2005). Variability in the physicochemical, nutritional and antinutritional attributes of six *Mucuna* species. *Food Chemistry*, 89(1): 37-48.
- Adedapo, A.A., Mogbojuri, O.M. & Emikpe, B.O. (2009). Safety evaluations of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleifera* in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(8): 586-591.
- Adejumo, B. A., Alakowe, A. T. & Obi, D. E. (2013). Effect of heat treatment on the characteristics and oil yield of moringa oleifera seeds. *The International Journal of Engineering and Science*, 2: 232-239.
- Adekunte, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Scannell, A. G. M. & O'Donnell, C. P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122(3):500-507.
- administration of *Moringa oleifera* Lam on glucose tolerance in GotoKakizaki and Wistar rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 40: 229–233.
- Aguas-Atlahua, A., García-Pérez, E., Ruiz-Rosado, O., & Trinidad-Santos, A. (2014). Calidad de fruto de Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) producido en el estado de Veracruz, México. *Revista fitotecnica mexicana*, 37(4), 373-380.
- Akintunde, M. A. (2007). Effect of coiled capillary tube pitch on vapour compression refrigeration system performance. *AU Journal of Technology*. 11(1), 14-22
- Alfaro, N. C. & Martínez, W. (2008), Uso Potencial de la Moringa (*Moringa oleífera, lam*) para la Producción de Alimentos Nutricionalmente Mejorados, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (PROYECTO FODECYT No. 26-2006). Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala.
- Alimentarius, C. (1999). Norma del Codex para aceites vegetales Especificados CODEX STAN 210-1999. *Washington: FAO*.
- Altuntas, E. & M. Yildiz. (2007). Effect of moisture content on some physical and mechanical properties of faba bean (*Vicia faba* L.) grains. *Journal of Food Engineering*, 78(1): 174-183.

- Altuntaş, E., Özgöz, E. & Taşer, Ö. F. (2005). Some physical properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) seeds. *Journal of food engineering*, 71(1): 37-43.
- Amaglo, N. K., Bennett, R. N., Curto, R. B. L., Rosa, E. A., Turco, V. L., Giuffrida, A. & Timpo, G. M. (2010). Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. *Food Chemistry*, 122(4): 1047-1054.
- Amin, M. N., Hossain, M. A. & Roy, K. C. (2004). Effects of moisture content on some physical properties of lentil seeds. *Journal of Food Engineering*, 65(1): 83-87.
- Anwar, F. & Bhanger, M. I. (2003). Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22): 6558-6563.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M. & Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy research*, 21(1):17-25.
- Anwar, F., Nahid Zafar, S. & Rashid, U. (2006). Characterization of *Moringa oleifera* seed oil from drought and irrigated regions of Punjab, Pakistan. *Grasas Y Aceites*, 57(2): 160-168.
- AOAC (2005) Asociación de Oficiales Químicos Analíticos. Métodos Oficiales de Análisis, ed 18a (editado por W. Horwitz y GW Latimer) Gathersburg, MD, EE.UU.: AOAC Internacional.
- AOCS. 1999. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Edit. American Oil Chemists Society, 6th Edn. AOCS Press, Urbana, Illinois USA.
- Aria-Sabin, C. (2014). Estudio de las posibles zonas de introducción de la *Moringa oleifera* lam. En la península ibérica, islas baleares e islas canarias. Recuperado en http://oa.upm.es/23094/1/PFCARIAS_SABIN.pdf
- Aviara, N. A., Power, P.P. & Abbas, T. (2013). Moisture-dependent physical properties of *Moringa oleifera* seed relevant in bulk handling and mechanical processing. *Industrial Crops and Products*, 42:96-104.
- Aviara, N. A., Oluwole, F. A. & Haque, M. A. (2005). Effect of moisture content on some physical properties of sheanut (*Butyrospermum paradoxum*). *International Agrophysics*, 19(3), 193.
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D. & Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2):410-427.
- Ayerza, R. (2011). Seed yield components, oil content, and fatty acid composition of two cultivars of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) growing in the Arid Chaco of Argentina. *Industrial Crops and Products*, 33(2): 389-394.
- Azuola, R. & Aguilar, P. V. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Tecnología en marcha*, 20(4): 1.
- Azzi, A. (2007). Molecular mechanism of α -tocopherol action. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(1):16-21.
- Bahnasawy, A.H. (2007). Some physical and mechanical properties of garlic. *International Journal of Food Engineering*, 3:1-18.
- Barahona, Á. F. R. & Torres, I. D. A. (2011). Efecto del contenido de humedad sobre propiedades físicas de la semilla de vitabosa (*Mucuna deeringiana*). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 64(1): 5961-5971.

- Beleggia, R., Platani, C., Nigro, F., De Vita, P., Cattivelli, L. & Papa, R. (2013). Effect of genotype, environment and genotype-by-environment interaction on metabolite profiling in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grain. *Journal of Cereal Science*, 57(2): 183-192.
- Berdaftar'Kantar, B., Ozturk, I., Kara, M. & Ercisli, S. (2010). Physical and chemical grain properties of new registered common bean cv. Kantar-05'. *Sains Malaysiana*, 39(5): 725-730.
- Berger, A., Jones, P. J. & Abumweis, S. S. (2004). Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids in health and disease*, 3(1): 1.
- Bermúdez-Aguirre, D. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2012). Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. *Journal of Food Engineering*, 108(3): 383-392.
- Bharali, R., Tabassum, J. & Azad, M. R. H. (2003). Chemomodulatory effect of *Moringa oleifera*, Lam., on hepatic carcinogen metabolizing enzymes, antioxidant parameters and skin papillomagenesis in mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 4:131–139.
- Bhatnagar, A. S. & Gopala Krishna, A. G. (2013). Natural antioxidants of the Jaffna variety of *Moringa Oleifera* seed oil of Indian origin as compared to other vegetable oils. *Grasas y Aceites*, 64(5): 537-545.
- Bhutada, P. R., Jadhav, A. J., Pinjari, D. V., Nemade, P. R. & Jain, R. D. (2016). Solvent assisted extraction of oil from *Moringa oleifera* Lam. seeds. *Industrial Crops and Products*, 82:74-80.
- Bimakr, M., Rahman, R. A., Taip, F. S., Adzahan, N. M., Sarker, M. Z. I. & Ganjloo, A. (2012). Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (*Benincasa hispida*) seed using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid composition. *Molecules*, 17(10):11748-11762.
- Cañabate-Díaz, B., Carretero, A. S., Fernández-Gutiérrez, A., Vega, A. B., Frenich, A. G., Vidal, J. M. & Martos, J. D. (2007). Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. *Food Chemistry*, 102(3): 593-598.
- Canett-Romero, R., Arvayo-Mata, K. L. & Ruvalcaba-Garfias, N. V. (2014). Aspectos tóxicos más relevantes de *Moringa oleifera* y sus posibles daños. *Biotecnia*, 16(2): 36-43.
- Carey, F. A. (2006). Química orgánica. 6ª Edición, Ed. McGraw-Hill, México, Capítulo 26, pp 1083. ISBN 970-10-5610-8.
- Carluccio, M.A., Massaro, M., Scoditti, E. & De-Caterina, R. 2007. Vasculoprotective potential of olive oil components. *Mol. Nutr. Food Res*, 51(10): 1225–1234.
- Coskuner, Y. & Karababa, E. (2007). Physical properties of coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Food Engineering*, 80(2): 408-416.
- Da Porto, C., Decorti, D. & Natolino, A. (2016). Microwave pretreatment of *Moringa oleifera* seed: Effect on oil obtained by pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction and Soxhlet apparatus. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107: 38-43.
- Dollah, S., Abdulkarim, S. M., Ahmad, S. H., Khoramnia, A. & Ghazali, H. M. (2015). Enzymatic interesterification on the physicochemical properties of *Moringa*

- oleifera seed oil blended with palm olein and virgin coconut oil. *Grasas y Aceites*, 66(2):e073.
- Duke, J. A. & Atchley, A. A. (1984). Proximate analysis. In B. R. Christie (Ed.), *The Handbook of plant science in agriculture*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- El-Baky, H. A. & El-Baroty, G. S. (2013). Characterization of Egyptian Moringa peregrina seed oil and its bioactivities. *International Journal of Management, Sciences and Business Research*, 2:98-108.
- Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A. & Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, 3(2): 108.
- Fahey, J.W., Dinkova-Kostova, A.T., Stephenson, K. K. & Talalay, P. (2004). The “Prochaska” microtiter plate bioassay for enducers of NQO1. *Methods in Enzymology*, 382: 244–258.
- Fakayode, O. A. & Ajav, E. A. (2016). Process optimization of mechanical oil expression from Moringa (*Moringa oleifera*) seeds. *Industrial Crops and Products*, 90: 142-151.
- Fernandes, P. & Cabral, J. M. S. (2007). Phytosterols: applications and recovery methods. *Bioresource technology*, 98(12):2335-2350.
- Firatligil-Durmus, E., Sárka, E., Bubník, Z., Schejbal, M. & Kadlec, P. (2010). Size properties of legume seeds of different varieties using image analysis. *Journal of Food Engineering*, 99(4): 445-451.
- Fuglie, L. J. (2001). Combating malnutrition with Moringa. *The miracle tree: the multiple attributes of Moringa*. CTA Publication, Wageningen, the Netherlands, 117-136.
- Gallegos-Marín, I. (2012). *Enriquecimiento de aceite de soya con ácido linoleico conjugado para la elaboración de chips de plátano macho (Musa paradisiaca var. AAB)*. Tesis de Maestría en Ciencias en Alimentos no publicada. Instituto Tecnológico de Tuxtepec, San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México.
- García-Pérez, J.V. (2007). *Contribución al estudio de la aplicación de ultrasonidos de potencia en el secado convectivo de alimentos* (Tesis doctoral) En: Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia (España).
- García-Torres, A. G., Martínez-Cubias, R. K. M. & Rodríguez-Díaz, I. A. (2013). *Evaluación de los usos potenciales del Teberinto (Moringa oleífera) como generador de materia prima para la industria química* (Doctoral dissertation, Universidad de El Salvador).
- García-Villalba, R., Carrasco-Pancorbo, A., Oliveras-Ferraro, C., Vázquez-Martín, A., Menéndez, J. A., Segura-Carretero, A. & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Characterization and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties by a rapid and resolute LC-ESI-TOF MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2):416-429.
- Garret, A.R.; Murray, B.K.; Robinson, R.A. & O'Neill, K.L. 2010. Measuring antioxidant capacity using the ORAC and TOSC assays. En D. Armstrong (Ed.). *Advanced Protocols in Oxidative Stress II*, pp. 251-262. Humana Press.
- Garti, N., Aronhime, J. S. & Sarig, S. (1989). The role of chain length and an emulsifier on the polymorphism of mixtures of triglycerides. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66(8): 1085-1089.

- Gillingham, L. G. (2012). Efficacy of high-oleic canola and flaxseed oils for cardiovascular disease risk reduction. Recuperado en http://mspace.lib.umanitoba.ca/bitstream/handle/1993/8485/gillingham_leah.pdf?sequence=1.
- Gliszczynska-Swigło, A. & Sikorska, E. (2004). Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. *Journal of Chromatography A*, 1048(2):195-198.
- Gruz, J., Novák, O. & Strnad, M. (2008). Rapid analysis of phenolic acids in beverages by UPLC–MS/MS. *Food Chemistry*, 111(3): 789-794.
- Guerra, E. & Zúñiga, M. (2003). Tratamiento enzimático en la extracción de aceite de pipa de uva, *Vitis vinifera*, por prensado en frío. *Grasas y aceites*, 54(1): 53-7.
- Gunstone, F. (Ed.). (2011). *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. John Wiley & Sons. Recuperado en http://health120years.com/cn/pdf/hd_Vegetable.Oils.pdf.
- Gupta, R.K. & Das, S.K. (2000). Fracture resistance of sunflower and kernel to compressive loading. *Journal food engineering*, 46:1-8.
- Hamid, S., Muzaffar, S., Wani, I. A., Masoodi, F. A. & Bhat, M. M. (2014). Physical and cooking characteristics of two cowpea cultivars grown in temperate Indian climate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15:127-134.
- Hauhouot-O'Hara, M., Criner, B. R., Brusewitz, G. H. & Solie, J. B. (2000). Selected physical characteristics and aerodynamic properties of cheat seed for separation from wheat. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*.
- Hernández-Santos, B., Rodríguez-Miranda, J., Herman-Lara, E., Torruco-Uco, JG, Carmona-García, R., Juárez-Barrientos, JM. & Martínez-Sánchez, CE (2016). Efecto de la extracción de petróleo asistida por ultrasonido en el perfil de propiedades físico-químicas y ácidos grasos del aceite de semilla de calabaza (*Cucurbita pepo*). *Ultrasonidos Sonochemistry*, 31:429-436.
- Hernández-Santos, B., Santiago-Adame, R., Navarro-Cortéz, R. O., Gómez-Aldapa, C. A., Castro-Rosas, J., Martínez-Sánchez, C.E. & Rodríguez-Miranda, J. (2015). Physical properties of ebony seed (*Pithecellobium flexicaule*) and functional properties of whole and defatted ebony seed meal. *Journal of food science and technology*, 52(7): 4483-4490.
- Herrero, M., Cifuentes, A. & Ibañez, E. (2006). Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. *Food chemistry*, 98(1):136-148.
- Hoang, N.N., Pag, D.G, Julius, B.M., Roberto, M.M., Hirofum H., Chris S. & Ha, K.P.H. (2011). Oil extraction of *Moringa oleifera* cores using supercritical carbon dioxide with ethanol for pretreatment: Optimization of the extraction process. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50:1207-1213.
- Hosseini, S., Gharachorloo, M., Tarzi, B. G., Ghavami, M. & Bakhoda, H. (2015). Effects of ultrasound amplitude on the physicochemical properties of some edible oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(11-12): 1717-1724.

- Hu, A., Zhang, S., Zhang, Z., Zheng, J., Wang, Y., Chen, Q. & Liu, R. (2012). Optimizations and comparison of two supercritical extractions of adlay oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13: 128-133.
- Ixtaina, V.Y. (2010). Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispánica* L.) obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en Tecnología de Alimentos. Tesis Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata fue realizada en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. pp: 21 y 22
- Jannetizadeh, A., Boldaji, M. N., Fatahi, R., Varnamkhast, I.M.G. & Tabatabaeefar, A. (2008). Some postharvest physical properties of Iranian apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruit. *International Agrophysics*, 22: 125-131.
- Jiménez, M. E., Aguilar, M. R., Zambrano, M. L. & Kolar, E. (2001). Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. *Journal of the Mexican Chemical society*, 45(2): 89-92.
- Kamal-Eldin, A. & Budilarto, E. (2015). Tocopherols and tocotrienols as antioxidants for food preservation. *Handbook of antioxidants for food preservation*, 141-159.
- Karaj, S. & Müller, J. (2010). Determination of physical, mechanical and chemical properties of seeds and kernels of *Jatropha curcua* L. *Industrial Crops and Products*, 32: 129–138.
- Kibazohi, O. & Sangwan, R. S. (2011). Vegetable oil production potential from *Jatropha curcas*, *Croton megalocarpus*, *Aleurites moluccana*, *Moringa oleifera* and *Pachiraglabra*: assessment of renewable energy resources for bio-energy production in Africa. *Biomass and Bioenergy*, 35:1352–1356.
- Kritchevsky, D. & Chen, S. C. (2005). Phytosterols—health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Research*, 25(5): 413-428.
- Kumar, P. S., Mishra, D., Ghosh, G. & Panda, C. S. (2010). Medicinal uses and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. *International Journal of Phytomedicine*, 2(3): 2010-216.
- Lafont, J. J. & Portacio, A. A. (2011). Extracción y caracterización fisicoquímica del aceite de la semilla (almendra) del marañón (*Anacardium occidentale* L.). *Información tecnológica*, 22(1): 51-58.
- Lagarda, M. J., García-Llatas, G. & Farré, R. (2006). Analysis of phytosterols in foods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5): 1486-1496.
- Lalas, S. & Tsaknis, J. (2002). Characterization of *Moringa oleifera* seed oil variety “Periyakulam 1”. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(1): 65-77.
- Lanina, S. A., Toledo, P., Sampels, S., Kamal-Eldin, A. & Jastrebova, J. A. (2007). Comparison of reversed-phase liquid chromatography–mass spectrometry with electrospray and atmospheric pressure chemical ionization for analysis of dietary tocopherols. *Journal of chromatography A.*, 1157(1): 159-170.
- Lea, M. (2010). Bioremediation of turbid surface water using seed extract from *Moringa oleifera* Lam. (Drumstick) tree. *Current Protocols in Microbiology*, 1G–2
- Liñan-Tobias, F. (2010). *Moringa oleifera* el árbol de la nutrición. *Ciencia y Tecnología*, 2 (1): 130-138.

- Llamos, B. R. H., Morejón, A. F., Bolaños, C. P., Morales, S. T., Quiñones, Y. B. & Rodríguez, M. P. (2005). Fitosteroles. Parte 1. Tendencias actuales y aplicaciones biomédicas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 36(1).
- Long, J., Fu, Y., Zu, Y., Li, J., Wang, W., Gu, C. & Luo, M. (2011). La extracción de aceite de linaza utilizando enzimas inmovilizadas asistidas por ultrasonido. *Bioresource Technology*, 102 (21): 9991-9996.
- Luque-Garcia, J. L. & De Castro, M. L. (2004). Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment: application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A*, 1034(1): 237-242.
- Madrigal, H. L. & Avalos T. C. *Moringa oleífera*. (2015). Recuperado en <https://www.yumpu.com/es/document/view/14285290/moringa-oleifera-madrigal-hl-and-avalos-t-c-red-marango>.
- Mahekar, S. A., Sherazi, S. T. H., Abro, K., Kandhro, A., Bhanger, M. I., Van de Voort, F. R. & Sedman, J. (2008). Application of microwave heating for the fast extraction of fat content from the poultry feeds. *Talanta*, 75(5): 1240-1244.
- Makkar, H. P. S. & Becker, K. (1997). Nutrients and anti-quality factors in different morphological parts of the *Moringa oleífera* tree. *Journal of Agricultural Science Cambridge*, 128:311–322.
- Mancio, A. A., da Costa, K. M. B., Ferreira, C. C., Santos, M. C., Lhamas, D. E. L., da Mota, S. A. P. & Machado, N. T. (2017). Process analysis of physicochemical properties and chemical composition of organic liquid products obtained by thermochemical conversion of palm oil. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 123 (1): 284-295.
- Maní, S., Jaya, S. & Vadivambal, R. (2007). Optimization of solvent extraction of *Moringa (Moringa oleífera)* seed kernel oil using response surface methodology. *Food and Bioproducts Processing*, 85(4): 328-335.
- Mansouri, A., Mirzabe, A. H. & Raufi, A. (2015). Physical properties and mathematical modeling of melon (*Cucumis melo* L.) seeds and kernels. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Marrero Delange, D., Murillo, R. V., González Canavaciolo, V. L. & Gutiérrez Amaro, J. (2014). Composición de ácidos grasos del aceite de las semillas de *Moringa oleífera* que crece en La Habana, Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(2): 197-204.
- Martínez, C. E., Vinay, J. C., Brieva, R., Jr. C. G. & García, H. S. (2005). Lipasecatalyzed interesterification (acidolysis) of corn oil and conjugated linoleic acid in organic solvents. *Food Biotechnol*, 13 (2): 183 – 193.
- Martins, P. F., De Melo, M. M. R. & Silva, C. M. (2016). Techno-economic optimization of the subcritical fluid extraction of oil from *Moringa oleífera* seeds and subsequent production of a purified sterols fraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107:682-689.
- Mason, T.J, Chemat, F. & Vinatoru, M. (2011). The extraction of natural products using ultrasound or microwaves. *Current Organic Chemistry*, 15(2): 237-247.
- Mofijur, M., Masjuki, H. H., Kalam, M. A., Atabani, A. E., Arbab, M. I., Cheng, S. F. & Gouk, S. W. (2014). Properties and use of *Moringa oleífera* biodiesel and

- diesel fuel blends in a multi-cylinder diesel engine. *Energy Conversion and Management*, 82:169-176.
- Mohsenin, N.N. (1986) Physical Properties of Plant and Animal Materials, 2nd edition (revised). New York: Gordon and Breach Sci. Publishers.
- Molina-Hernández, E. F. & Sosa-Morales, M. E. (2012). Efecto del tiempo de uso y el tipo de aceite de freído en las propiedades de nuggets de pescado. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2): 182-190.
- Mosquera, D. M., Cardona, J. E., Gutiérrez, R. H. & Hernández, M. S. (2012). Obtención de aceites vegetales provenientes de especies amazónicas mediante la técnica de extracción asistida por microondas (EAM). *Vitae*, 19(1): S57-S59.
- Mpotokwane, S.M, Gaditlhatlhelwe, A., Sebaka A. & Jideani, V.A. (2008) Physical properties of Bambara groundnuts from Botswana. *Journal of Food Engineering*, 89(1): 93-98.
- Muhammad, H. I., Asmawi, M. Z. & Khan, N. A. K. (2016). A review on promising phytochemical, nutritional and glycemic control studies on *Moringa oleifera* Lam. in tropical and sub-tropical regions. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(10): 896-902.
- Munne-Bosch, S. (2005). The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of plant physiology*, 162(7): 743-748.
- Muresan, V., Danthine, S., Muresan, A. E., Racolța, E., Blecker, C., Muste, S. & Baeten, V. (2016). In situ analysis of lipid oxidation in oilseed-based food products using near-infrared spectroscopy and chemometrics: The sunflower kernel paste (tahini) example. *Talanta*, 155: 336-346.
- Navie, S. & Csurhes, S. (2010). Horseradish tree *Moringa oleifera*. Biosecurity Queensland. Department of Employment, Economic Development and Innovation. Brisbane (Australia).
- Ndong, M., Uehara, M., Katsumata, S. & Suzuki, K. (2007). Effects of oral
- Nguyen, H. N., Pag-asa, D. G., Maridable, J. B., Malaluan, R. M., Hinode, H., Salim, C. & Huynh, H. K. (2011). Extraction of oil from *Moringa oleifera* kernels using supercritical carbon dioxide with ethanol for pretreatment: optimization of the extraction process. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11):1207-1213.
- Nimkar, P.M., Mandwe, D.S. & Dudhe, R.M. (2005). Physical properties of moth gram. *Biosystems Engineering*, 91:183–189.
- Niveditha, V. R., Sridhar, K. R. & Balasubramanian, D. (2013). Physical and mechanical properties of seeds and kernels of *Canavalia* of coastal sand dunes. *International Food Research Journal*, 20(4).
- Norma Oficial Mexicana, alimentos (2012). NMX-F-101-SCFI-2012
- Nzikou, J. M., Matos, L., Moussounga, J. E., Ndangui, C. B., Kimbonguila, A., Silou, T. H. & Desobry, S. (2009). Characterization of *Moringa oleifera* seed oil variety Congo Brazzaville. *Journal of Food Technology*, 7(3): 59-65.
- Ogbunugafor, H. A., Eneh, F. U., Ozumba, A. N., Igwo-Ezike, M. N., Okpuzor, J., Igwilo, I. O. & Onyekwelu, O. A. (2011). Physico-chemical and antioxidant properties of *Moringa oleifera* seed oil. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10(5): 409-414.

- Ogunsina, B. S., Indira, T. N., Bhatnagar, A. S., Radha, C., Debnath, S. & Gopala, K. A. G. (2014). Quality characteristics and stability of Moringa oleifera seed oil of Indian origin. *Journal of Food Science and Technology*, 51(3): 503–510.
- Ojiako, E. N. & Okeke, C. C. (2013). Determination of antioxidant of Moringa oleifera seed oil and its use in the production of a body cream. *Asian Journal Plant Science & Research*, 3(3):1-4.
- OLEICO, E. A. D. Á. & DE ACCIÓN, M. E. C. A. N. I. S. M. O. S. (2012). Antitumor effect of oleic acid; mechanisms of action; a review. *Nutr Hosp*, 27(5): 1860-1865.
- Olson, M. E. & Alvarado-Cárdenas, L. O. (2016). ¿Dónde cultivar el árbol milagro, Moringa oleifera, en México? Un análisis de su distribución potencial. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3):1089-1102.
- Olson, M. E. & Fahey, J. W. (2011). *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82 (4): 1071-1082.
- Ozturk, I. & Kara, M. (2009). Physico-chemical grain properties of new common bean cv. Elkoca-05. *Science Research Essays*, 4(2):88-93.
- Padayachee, B. & Baijnath, H. (2012). An overview of the medicinal importance of Moringaceae. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(48): 5831-5839.
- Pagua, H. M., Paguia, R. Q., Balba, C. & Flores, R. C. (2014). Utilization and Evaluation of Moringa Oleifera L. As Poultry Feeds. *APCBEE Procedia*, 8: 343-347.
- Palafox, J.O., Navarrete, A., Sacramento-Rivero, J.C., Rubio-Atoche, C., Escoffie, P.A. & Rocha-Urbe, J.A., 2012. Extraction and characterization of oil from Moringa oleifera using supercritical CO₂ and traditional solvents. *American Journal of Analytical Chemistry*, 3(12): 946–949.
- Palma, M., & Barroso, C. G. (2002). Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 119-130.
- Patricia-Chaparro, Á. M. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (Campomanesia lineatifolia). *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 46: 38-46.
- Paulsen, M. (1978). Fracture resistence of soybeans to compresive loading. *Transactions. ASAE*; 2-7.
- Phillips, K. M., Ruggio, D. M., Toivo, J. I., Swank, M. A. & Simpkins, A. H. (2002). Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(2): 123-142.
- Piironen, V., Lindsay, D. G., Miettinen, T. A., Toivo, J. & Lampi, A. M. (2000). Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7): 939-966.
- Pradhan, R. C., Naik, S. N., Bhatnagar, N. & Swain, S. K. (2008). Moisture-dependent physical properties of Karanja (Pongamia pinnata) kernel. *Industrial Crops and Products*, 28(2):155-161.
- Pradhan, R. C., Said, P. P. & Singh, S. (2012). Physical properties of bottle gourd seeds. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 15(1):106-113.

- Ramadan, M. F. (2013). Healthy blends of high linoleic sunflower oil with selected cold pressed oils: functionality, stability and antioxidative characteristics. *Industrial Crops and Products*, 43:65-72.
- Rashid, U., Anwar, F., Ashraf, M., Saleem, M. & Yusup, S. (2011). Application of response surface methodology for optimizing transesterification of Moringa oleifera oil: Biodiesel production. *Energy Conversion and Management*, 52(8): 3034-3042.
- Rodríguez-Nuñez, J.R. (2008). Capacidad de coagulación-adsorción de cobre, del péptido de Semilla de *Moringa oleífera* y Quitosano en el tratamiento de aguas. Tesis de Maestría, Instituto Tecnológico de Sonora.
- Ruttarattanamongkol, K. & Petrasch, A. (2015). Antimicrobial activities of Moringa oleifera seed and seed oil residue and oxidative stability of its cold pressed oil compared with extra virgin olive oil. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 37(5).
- Ruttarattanamongkol, K., Siebenhandl-Ehn, S., Schreiner, M. & Petrasch, A. M. (2014). Pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction, physico-chemical properties and profile characterization of Moringa oleifera seed oil in comparison with conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 58: 68-77.
- Saini, R. K. & Keum, Y. S. (2016). Tocopherols and tocotrienols in plants and their products: A review on methods of extraction, chromatographic separation, and detection. *Food Research International*, 82:59-70.
- Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P. & Ghazali, H. M. (2014). Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: Crystallization and thermal behavior, saturation degree, color and oxidative stability. *Industrial Crops and Products*, 52:702-708.
- Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P., Ghazali, H. M., Bordbar, S. & Serjouie, A. (2015). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chemistry*, 172:7-17.
- Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., Núñez-Gastélum, J. A., de la Mora-López, G. S., López-Hernández, J. & Paseiro-Losada, P. (2015). Effect of the refining process on Moringa oleifera seed oil quality. *Food chemistry*. 187: 53-57.
- Sánchez-Peña, Y. A., Martínez-Avila, G. C. G., Sinagawa-García, S. R. & Vázquez-Rodríguez, J. A. (2013). Moringa oleifera; Importancia, Funcionalidad y Estudios Involucrados. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 5(9).
- Schaller, H. (2003). The role of sterols in plant growth and development. *Progress in lipid research*, 42(3): 163-175.
- Seppanen, C. M., Song, Q. & Csallany, A. S. (2010). The antioxidant functions of tocopherol and tocotrienol homologues in oils, fats, and food systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(5):469-481.
- Silva, P., Pinheiro, A. C., Rodríguez, L., Figueroa, V. & Baginsky, C. (2016). Fuentes naturales de fitoesteroles y factores de producción que lo modifican Perspectiva. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(1): 17-24.

- Simonyan, K.J., Yiljep, Y.D., Oyatoyan, O.B. & Bawa, G.S. (2009). Effects of moisture content on some physical properties of Lablab purple (L.) sweet seeds. *Agricultural Engineering International: The CIGR e-Journal XI*, manuscript 1279, www.cigrjournal.org.
- Singh, K. K. & Goswami, T. K. (1996). Physical Properties of Cumin Seed. *Journal of Agricultural Engineering research*, 64: 93-98
- Sirisomboon, P., Kitchaiya, P., Pholpho, T. & Mahuttanyavanitch, W. (2007). Physical and mechanical properties of Jatropha curcas L. fruits, nuts and kernels. *Biosystems engineering*, 97(2):201-207.
- Tan, J., Niu, X., Yang, G., Wang, L., Duan, Y., Han, Y. & Zhang, C. (2013). Quantitative determination of free phytosterols in tobacco leaves by UPLC-MS/MS. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 36(5): 591-599.
- Tasan, M., Gecgel, U. & Demirci, M. (2011). Effects of storage and industrial oilseed extraction methods on the quality and stability characteristics of crude sunflower oil (*Helianthus annuus* L.). *Grasas y aceites*, 62(4): 389-398.
- Taser, O.F., Altuntas, E. & Ozgoz, E. (2005). Physical properties of Hungarian and common vetch seeds. *Journal of Applied Science*, 5: 323–326.
- Thiele, J. J., Hsieh, S. N. & Ekanayake-Mudiyanselage, S. (2005). Vitamin E: critical review of its current use in cosmetic and clinical dermatology. *Dermatologic surgery*, 31(s1):805-813.
- Traber, M. G. & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(1):4-15.
- Tsaknis, J. & Lalas, S. (2002). Stability during frying of Moringa oleifera seed oil variety “Periyakulam 1”. *Journal of Food Composition and Analysis*. 15(1): 79-101.
- Tsaknis, J. (1998). Characterisation of Moringa peregrina Arabia seed oil. *Grasas y aceites*, 49(2): 170-176.
- Tsaknis, J., Lalas, S., Gergis, V., Dourtoglou, V. & Spilitois, V. (1999). Characterization of Moringa oleifera variety Mbololo seed oil of Kenya. *J. Agric. Food Chem*, 47: 4495-4499.
- Tunde-Akintunde, T. Y. & Akintunde, B. O. (2007). Effect of moisture content and variety on selected physical properties of beniseed.
- Ullah, A., Mariutti, R. B., Masood, R., Caruso, I. P., Costa, G. H. G., de Freitas, C. M. & Arni, R. K. (2015). Crystal structure of mature 2S albumin from Moringa oleifera seeds. *Biochemical and biophysical research communications*, 468:365-371.
- Vilche, C., Gely, M. & Santalla, E. (2003). Physical properties of quinoa seeds. *Biosystems Engineering*, 86: 59-65.
- Vishwakarma, R. K., Shivhare, U. S. & Nanda, S. K. (2012). Physical properties of guar seeds. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1364-1371.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106(2): 804-810.

- Wani, I. A., Sogi, D. S., Wani, A. A. & Gill, B. S. (2014). Physical and cooking characteristics of some Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Yang, W. C., Regnier, F. E., Jiang, Q. & Adamec, J. (2010). In vitro stable isotope labeling for discovery of novel metabolites by liquid chromatography–mass spectrometry: Confirmation of γ -tocopherol metabolism in human A549 cell. *Journal of Chromatography A*, 1217(5): 667-675.
- Yanucci, D. (2002). El Granel: Factores que afectan su conservación. *Conservación de Granos y Semillas en Post-cosecha. Granos y Postcosecha Latinoamericana, de la Semilla al Consumo. Libro de Actualización Técnica*, 3:10-54.
- Yusoff, M. M., Gordon, M. H., Ezech, O. & Niranjan, K. (2016). Aqueous enzymatic extraction of Moringa oleifera oil. *Food Chemistry*, 211: 400-408.
- Zarrouk, W., Carrasco-Pancorbo, A., Zarrouk, M., Segura-Carretero, A. & Fernández-Gutiérrez, A. (2009). Multi-component analysis (sterols, tocopherols and triterpenic dialcohols) of the unsaponifiable fraction of vegetable oils by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization–ion trap mass spectrometry. *Talanta*, 80(2):924-934.
- Zhang, L. F., Liu, C. F. & Meng, Y. B. (2009). Isolation and determination of sterols in rapeseed oil by HPLC-MS. *Analytical Letters*, 42(11): 1650-1661.
- Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F. & Liu, F. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118(3): 656-662.
- Zhao, C. C., Shao, J. H., Li, X., Xu, J. & Zhang, P. (2005). Antimicrobial constituents from fruits of *Ailanthus altissima* SWINGLE. *Archives of pharmacal research*, 28(10): 1147-1151.
- Zhao, S. & Zhang, D. (2013). A parametric study of supercritical carbon dioxide extraction of oil from *Moringa oleifera* seeds using a response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 113:9-17.