

**Evaluación de cuatro métodos de extracción
de aceite de la semilla de piñón (*Jatropha
curcas*) var. Cabo Verde y cuantificación de
sus ésteres de forbol**

Emerson David Nolasco Guzman

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2015

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Evaluación de cuatro métodos de extracción de aceite de la semilla de piñón (*Jatropha curcas*) var. Cabo Verde y cuantificación de sus ésteres de forbol

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Emerson David Nolasco Guzman

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2015

Evaluación de cuatro métodos de extracción de aceite de la semilla de piñón (*Jatropha curcas*) var. Cabo Verde y cuantificación de sus ésteres de forbol

Presentado por:

Emerson David Nolasco Guzman

Aprobado:

Juan A. Ruano, D. Sc.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Departamento de Agroindustria
Alimentaria

Renán Pineda, Ph.D.
Asesor

Raúl H. Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Evaluación de cuatro métodos de extracción de aceite de la semilla de piñón (*Jatropha curcas*) var. Cabo Verde y cuantificación de sus ésteres de forbol

Emerson David Nolasco Guzman

Resumen: La planta del piñón (*Jatropha curcas*), es un cultivo oleaginoso perteneciente a la familia Euphorbiaceae. Tienen un contenido de aceite de 40-60% en base a peso de semilla. Los ésteres de forbol no permiten que el aceite sea comestible ni permite un uso doméstico. El contenido de ésteres de forbol en la variedad Cabo Verde fue de 2.7 mg/g de semilla. La extracción de aceite se realizó por métodos químicos y la extracción mecánica se realizó utilizando una prensa de tornillo, ambos métodos resultaron en diferentes rendimientos de aceite. El objetivo fue evaluar el método con mejor rendimiento en extracción de aceite optimizando dicho método. Se utilizó un DCA evaluando cuatro tratamientos obteniendo una ANDEVA y separación de medias Duncan ($P < 0.05$). La optimización se realizó con la metodología de superficie de respuesta, determinando temperatura de semilla ($^{\circ}\text{C}$) y la velocidad del tornillo (rpm) como factores independientes. Las unidades experimentales fueron: cuatro puntos factoriales, cuatro puntos axiales y cinco repeticiones del punto central. La extracción mecánica tuvo una mayor producción de aceite con un contenido de ésteres de forbol del 75% en aceite del total en semilla ($P < 0.05$). Mayores temperaturas en el rango estudiado tienen un impacto positivo en rendimiento y contenido de aceite. La velocidad del tornillo disminuyó el contenido de sedimento. Ambos modelos matemáticos obtenidos fueron tendenciosos. Se recomienda dislocar los valores de temperatura para determinar valores óptimos en futuros estudios.

Palabras clave: Extracción química, extracción mecánica, MPE 40, optimización, rendimiento.

Abstract: The pinion plant (*Jatropha curcas*), is an oilseed crop that belong to the Euphorbiaceae family. It has an oil content of 40-60% based on seed weight. The seed has a toxic characteristic, given by the phorbol esters. The phorbol ester content in the variety Cape Verde showed 2.7 mg/g of seed. The oil extraction was realized by chemical methods and mechanical methods using screw press, both methods resulting in different yields. The objective was to evaluate the method with highest yield in oil extraction optimizing such method. A CRD was used evaluating four methods with three repetitions obtaining an ANDEVA and a Duncan mean separation. The optimization was realized with the surface response methodology, seed temperature ($^{\circ}\text{C}$) and screw velocity (rpm) were established as independent factors. The experimental units were: four factorial points, four axial pints and five repetitions for the central point. The mechanical extraction had a highest productivity with a phorbol ester content of 75% in oil from the seed total ($P < 0.05$). Highest temperature in the studied range had a positive impact on oil yield and sediment content. The screw velocity diminished the oil sediment content. Both mathematical models obtained were tendentious. It is recommended to dislocate the seed temperature and RPM values to determine the optimal values for oil extraction.

Key words: Chemical extraction, mechanical extraction, MPE 40, optimization, yield.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
4. CONCLUSIONES.....	22
5. RECOMENDACIONES.....	23
6. LITERATURA CITADA.....	24
7. ANEXOS	27

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Diámetro de los saranes del laboratorio de semillas en la planta de semillas y concentrados	3
2. Descripción de los valores reales utilizados en el diseño compuesto central rotacional	7
3. Descripción de los valores codificados y reales de las variables en el diseño compuesto central rotacional	8
4. Cuantificación de éster de forbol en aceite de semilla de piñón mediante diferentes métodos de extracción de aceite	13
5. Evaluación de rendimiento, tiempo y producción de aceite mediante métodos físicos y químicos	15
6. Efecto de la temperatura y RPM en el rendimiento de semilla de piñón molida mediante la prensa MPE 40	16
7. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión cuadrático aplicado en el rendimiento de aceite de la semilla de piñón utilizando la prensa MPE 40	16
8. Efecto de la temperatura y RPM en el contenido de sedimento del aceite de semilla de piñón molida prensada mediante la prensa MPE 40	18
9. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión cuadrático aplicado en el contenido de sedimento de aceite de la semilla de piñón utilizando la prensa MPE 40	19
10. Resultado del análisis de regresión para las variables dependientes de la semilla de piñón calculado sobre los niveles codificados	20
Figuras	Página
1. Distribución de los tratamientos en el diseño central compuesto rotacional	8
2. Configuración de las zonas del tornillo de la prensa MPE 40.....	10
3. Configuración estándar de los discos de la prensa MPE 40 y sus respectivas separaciones mediante anillos de aluminio detallado por ECIRTEC.....	11
4. Configuración modificada de los discos de la prensa MPE 40 y sus respectivas separaciones mediante anillos de aluminio utilizado en el estudio.	11
5. Granulometría presentada en semilla de piñón molida por molino de disco presentada en porcentajes acumulados	12
6. Superficie de respuesta de las variables independientes sobre el rendimiento de aceite de semilla de piñón	17

7. Superficie de respuesta de los efectos de las variables independientes sobre el porcentaje de sedimento en el aceite	20
8. Valores óptimos de las variables independientes sobre el rendimiento y contenido de sedimento en el aceite de semilla de piñón	21

Anexos	Página
1. Sedimentación del aceite crudo obtenido por el prensado de semilla caliente utilizando la MPE 40	27
2. Dislocación del punto central hacia el axial en la metodología de superficie de respuesta	27
3. Estructura química del éster de forbol presente en la semilla de piñón	28
4. Viscosidad del aceite y biodiesel de piñón a diferentes temperaturas	28
5. Cromatograma de la cuantificación del éster de forbol en la muestra de aceite de piñón	29
6. 6. Compuestos antinutricionales en diferentes variedades de semilla de piñón	29

1. INTRODUCCIÓN

La planta del piñón (*Jatropha curcas*) crece en regiones tropicales y subtropicales (Díaz *et al.*, 2013). Es un cultivo oleaginoso perenne de porte arbustivo perteneciente a la familia Euphorbiaceae. Oriunda de Mesoamérica, se ha esparcido alrededor del mundo, sin embargo todavía se mantiene como una planta silvestre. Es de crecimiento rápido alcanzando una altura de cuatro a seis metros. Las partes de la planta del piñón tienen compuestos de interés para fines agrícolas. Un ejemplo muy claro son las semillas, las cuales tienen un contenido de aceite de 40-60% en base a peso de semilla (Makkar *et al.*, 1997). Este aceite contiene diferentes cantidades de ésteres de forbol y tienen diversas aplicaciones en la industria actual, tales como aplicaciones medicinales, insecticidas y lubricantes. Debido a la toxicidad de la semilla, el aceite de *Jatropha curcas* no es comestible, ni se le permite su uso doméstico.

Dentro de la amplia gama de los ésteres se encuentran los ésteres de forbol. Estos son diterpenos que contienen 20 átomos de carbono formados por cuatro unidades de isopreno (Saetae y Suntornsuk, 2010) y que están presentes en la semilla del piñón. Estos compuestos presentan alta toxicidad y están ubicados en los cotiledones, la testa y el embrión con 2.7 mg/g de semilla en la variedad Cabo Verde (Sosa, 2012). Generalmente los ésteres de forbol presentan una resistencia a temperaturas de 160°C por 30 min. (Aregheore *et al.*, 2003). Dichos compuestos son causantes de la activación de la enzima quinasa C (Devappa *et al.*, 2011) y son promotores del cáncer (Chún, 2013). Actuando como cocarcinogénicos al no promover la formación de tumores sino aumentando la susceptibilidad de una célula, expuesta a una dosis de algún carcinogénico (Goel *et al.*, 2007).

El rendimiento en aceite de la semilla de piñón depende del método de extracción. Los principales métodos de extracción son mecánicos utilizando una prensa hidráulica o una prensa impulsada por motor y los métodos químicos utilizando solventes orgánicos como n-hexano (Forson *et al.*, 2004). El hexano tiene un porcentaje de extracción de 45%-47%, siendo superior entre los solventes orgánicos derivados de petróleo (Hermógenes *et al.*, 2010 y Sayyar *et al.*, 2009). El método de aprisionamiento trifásico logro un rendimiento en semilla de piñón de 36 g de aceite/100 g de semilla representando una extracción del 81% (Shah *et al.*, 2004). De igual manera el prensado motorizado puede extraer 22.98 g de aceite/100 g de semilla (Openshaw, 2000). Se notó que precalentar la semilla por 5 min a 60°C incremento de 77.8 a 79.8% la extracción de aceite en base 58.3% contenido de grasa total para la variedad Kalimantan (Subroto *et al.*, 2015a).

El procesamiento de la semilla de piñón mediante métodos químicos o mecánicos tiene como productos aceite crudo y torta semidesgrasada. La calidad nutricional de su proteína (19 a 27% de la torta) se asemeja a la de la soya con excepción de la lisina (Apiwatanapiwat *et al.*, 2009). Sin embargo debido a compuestos antinutricionales y tóxicos como fitatos, inhibidores de tripsina y de amilasa, ácido fítico. Los ésteres de forbol no permite darle a la torta y aceite un fin como alimento (Apiwatanapiwat *et al.*, 2009). Por ello, la industria busca la forma de detoxificar la torta o determinar su residualidad. La residualidad del éster de forbol se ha evaluado en plantaciones de papa fertilizadas con torta de semilla de piñón con 1% y 10% de grasa. Se detectó mediante HPLC-UV una concentración de 0.1285 y 0.1664 mg/g de tomate para torta con un contenido de grasa de 1 y 10% respectivamente. Sin embargo la confirmación mediante cromatografía líquida mostro ausencia del mismo (Punsuvon *et al.*, 2012). En tomate var. Sida Tip fertilizado con fertilizantes químicos y torta de piñón con 0.3246 mg ésteres/g en una relación 50:50 obtuvo una residualidad en el fruto de 0.3755 mg/g a los 106 días de germinación (Srinophakun *et al.*, 2011). Cabe mencionar que los parámetros de operación del procesamiento influyen en el contenido de ésteres en el producto obtenido en la extracción.

Las prensas de tornillo están clasificadas en prensas de tornillo tipo colador (“strainer”) o de orificio en cilindro (“cylinder hole”). La primera se compone de un tornillo sin fin con diámetro ascendente dentro del barril compuesto por varios discos o barras con una separación específica (Ferchau, 2000). Saliendo el aceite por la abertura entre discos siendo modificables, generando diferentes presiones adecuadas al tipo de material prensado. Está diseñada para una operación a escala industrial con un rango de 15 hasta 2000 kg/h de semilla. La prensa orificio en cilindro tiene como diferencia la salida al ser esta una boquilla de un diámetro específico formando pellets. La presión depende del tipo de boquilla y velocidad del tornillo (Beerens, 2007). Su capacidad de procesamiento es de menor volumen al ser de 100 kg/h de semilla aproximadamente (Ferchau, 2000). Estas prensas tienen una alta capacidad productiva sin embargo su capacidad de extracción es baja con 30-38% del aceite total (Ferchau, 2000). El prensado hidráulico o pistón es de gran utilidad en zonas de bajos recursos. Sin embargo no es rentable debido a su baja capacidad de extracción y alto requerimiento de mano de obra (Siregar *et al.*, 2015). La capacidad de extracción es 60-65% de aceite, con un 86.1% como máximo utilizando 15 Mpa, 90°C en la extracción y un contenido de humedad de 4% (Subroto *et al.*, 2015a). Siendo estas las condiciones adecuadas para obtener dicho rendimiento.

En esta investigación se establecieron los siguientes objetivos:

- Cuantificar y evaluar el contenido de ésteres de forbol en cuatro métodos de extracción de aceite de la semilla de piñón para su aplicación como insecticida.
- Determinar el método de extracción de aceite de la semilla de piñón con mayor producción de aceite.
- Optimizar el método de extracción de aceite con mayor producción utilizando la metodología de superficie de respuesta.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. La investigación se realizó en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ) ubicado en el Departamento de Agroindustria Alimentaria y en la Planta de Procesamiento de Biodiesel contiguo a las instalaciones de Maquinaria y Riego Agrícola. Ambas infraestructuras están localizadas en el departamento de Francisco Morazán, 32 km al este de Tegucigalpa, Honduras. Las semillas de *Jatropha curcas* variedad Cabo Verde fueron obtenidas del proyecto *Jatropha* Zamorano-Syngenta de la unidad de Granos y Semillas del Departamento de Ingeniería Agronómica. Cosechadas en Santa Inés en el año 2014 producto del proyecto Syngenta en Zamorano.

Clasificación de granulometría. La semilla de piñón descascarillada fue molida mediante un molino de disco. Con el fin de reducir el tamaño de partícula. Esta práctica fue recomendada por ECIRTEC proveedor de la prensa MPE 40 ubicada en la Planta de Procesamiento de Biodiesel. Aumentando el área superficial lo que genera una mayor fricción incrementando así el aceite extraído de dicha semilla. El tamaño de partícula se clasifico mediante la agitación de 250 g de semilla molida en saranes por 5 minutos. Se registró el peso retenido por cada sarán para realizar la curva granulométrica utilizando una balanza análoga Ohaus Triple Beam. Los saranes pertenecen al Laboratorio de Calidad de Granos y Semillas ubicado en la Escuela Agrícola Panamericana. Estos están clasificados según el diámetro de la apertura redonda detallado en el Cuadro 1. Los tamaños de la abertura son clasificados en base al diámetro en una parte de sesentaicuatroavos de pulgada. El método particionamiento trifásico y Soxtec se utilizó un tamaño de partícula menor a 4/64 de pulgada.

Cuadro 1. Diámetro de los saranes del laboratorio de semillas en la planta de semillas y concentrados.

Código Sarán	Diámetro (mm)
4/64	1.07
8/64	3.08
14/64	5.44
21/64	8.30

Prensado de semilla a 60°C. Un kilogramo de semilla molida descascarillada se sometió a cocción durante 60 °C/30 min en el autoclave Electric Steroclave 25X. Este tiene una capacidad de someter la semilla a un tratamiento térmico de hasta 61 °C. El precalentamiento de la semilla ayudó a la rápida separación del aceite pues torna las membranas celulares más permeables al paso del aceite y reduce su viscosidad (Brossard *et al.*, 2010). La semilla caliente se introdujo en la prensa MPE 40 obteniendo así aceite crudo y torta semidesgrasada. La torta semidesgrasada que se obtuvo se almacenó a 25°C para evaluar el contenido de grasa mediante el análisis extracto etéreo AOAC 2003.06. Se midió el tiempo de extracción, empezando desde el ingreso de la semilla molida descascarillada a la cámara de alimentación de la prensa hasta que se detuvo el goteo del aceite en la prensa.

Prensado de semilla a 25°C. Un kilogramo de semilla molida descascarillada se introdujo en la prensa MPE 40 para extraer el aceite. La torta semidesgrasada que se obtuvo se almacenó a 25°C para evaluar el contenido de grasa mediante el análisis extracto etéreo AOAC 2003.06. Se midió el tiempo de extracción empezando desde el ingreso de la semilla molida descascarillada a la cámara de alimentación de la prensa hasta que paró el goteo del aceite en la prensa.

Filtrado de aceite crudo. El aceite crudo obtenido del prensado presentó sedimentos. Para evaluar el rendimiento en aceite, este se filtró mediante un embudo Bushner, matraz Kitasato, y un filtro Whatman 185mm. Una sedimentación previa de las partículas ayuda en un filtrado de mayor rapidez.

Extracción química con n-hexano. Basado en el método oficial de extracto etéreo AOAC 2003.06. Se deberá moler la semilla para obtener harina con tamaño de partícula menor a <1 mm. Se utilizó 5 g de semilla de piñón con 80 mL de hexano, para la extracción química en el equipo Soxtec 2050 FOSS. La muestra se introdujo en dedales de celulosa junto con 3.5 g de celite 545. Se dejó secando en el horno convectivo a 100 °C por una hora y se enfrió. Las tazas de aluminio fueron pesadas y se anotó como Peso Taza. Algodón fue puesto para cubrir la muestra homogenizada con el celite. Los dedales fueron transferidos al SOXTEC 2050 FOSS. Se agregó 80 mL de hexano en cada dedal. Cada dedal fue sumergido en hexano ebuliendo a 155°C/25 min. Luego se lavó con hexano por 30 min. La muestra sin solvente fue removida del SOXTEC 2050 y se secó a 100 °C/ 30 min. Se enfrió y se pesó la muestra anotado como Peso Taza + Extracto Etéreo (EE). El % de grasa en la muestra fue calculado siguiendo la Ecuación 1. Cada muestra se hizo por duplicado realizando tres repeticiones (Hermógenes *et al.*, 2010).

$$\% \text{ de grasa} = \frac{(\text{Peso Taza} + \text{Muestra}) - (\text{Peso Taza})}{\text{Peso Muestra}} \times 100 \quad [1]$$

Particionamiento trifásico. Basado en la metodología utilizada por Shah *et al.* (2004). La suspensión se preparó moliendo 5 g de semilla de piñón descascarillada con un tamaño de partícula <1 mm en 30 mL de agua destilada. Se añadió sulfato de amonio 30% p/v al agua destilada. Mezclado posteriormente en el agitador Fisher Vortex Genie 2, seguidamente se agregó 30 mL de t-butanol. Esta suspensión se mantuvo durante una hora a 25°C, tiempo en que se da la formación de las tres fases de solvente orgánico, agua y torta. Luego del tiempo transcurrido las tres fases se separarán por centrifugación a 2000 × g, durante 10

minutos en el modelo K115 (IEC). La capa orgánica superior fue transferida a un balón de 250 mL. Esta fue evaporada en un evaporador rotatorio, a una temperatura de 50°C y 80 rpm durante 5 a 10 min al vacío. Para eliminar la humedad obtenida del baño maría, el balón conteniendo el aceite se secó a 100°C por 24 horas. La cantidad de aceite recogido fue calculado como porcentaje del aceite total presente en la muestra. Grasa total se determinó por Soxtec utilizando hexano mediante el estándar AOAC (Shah *et al.*, 2003).

Análisis Ésteres de Forbol. Basado en el método desarrollado por King (2009). Para la extracción se pesó 300 mg de muestra en tubos cónicos para centrifuga agregando 50 µg de forbol 12-miristato 13-acetato (PMA) como estándar a cada muestra. El blanco contiene el estándar PMA sometido al mismo proceso de extracción. Se utilizaron dos soluciones en la extracción; hexano-isopropanol en relación 3:2 e isopropanol puro. Se agregó 4 mL de la solución hexano-isopropanol en la primera extracción, 3 mL de dicha solución en la segunda extracción y 3 mL de isopropanol puro en la tercera extracción. Al incluir dichas soluciones se agitó en el Fisher Vortex Genie 2 por 10 s. Seguido se colocó de manera horizontal en el agitador rotatorio a 300 RPM por 60 min. Transcurrido los 60 minutos las muestras fueron centrifugadas mediante el K115 (IEC) a 1000 rpm por 10 minutos. El sobrenadante de cada extracción fue colocado en un tubo de ensayo de vidrio. Se realizaron un total de tres extracciones. El sobrenadante fue evaporado con nitrógeno utilizando el Flexivap Work Station® a 40°C por 30-60 min. Evaporado el sobrenadante de cada muestra se agregó 2 mL de acetonitrilo a cada tubo de ensayo y se agitó manualmente por 10 s. Luego se agregó 2 mL de hexanos y se agito en el agitador Fisher Vortex Genie 2. Las muestras fueron centrifugadas a 1000 rpm por 2 min dando lugar a la separación de solventes. El hexano en la parte superior fue removido ya que contiene compuestos lipídicos ajenos a los ésteres de forbol. El lavado fue repetido dos veces más, removiendo el hexano obteniendo así el acetonitrilo con ésteres de forbol. El acetonitrilo se filtró mediante una jeringa utilizando filtro de 0.45 µm PTFE (Millex®-LH). La muestra fue concentrada utilizando Flexivap Work Station® a 40 °C hasta obtener un volumen de 300-400 µL.

Análisis de cromatografía de alta presión (HPLC). Basado en el método de King (2009) se utilizó un Cromatógrafo Líquido de Alta Presión (HPLC) marca Agilent serie 1100/1200, con una columna Eclipse Plus C18 150 x 4.6 mm 5 micrón. Para la fase móvil se utilizaron dos soluciones, la primera conformada por agua con 0.1% de ácido fórmico (solvente A) y la segunda por acetonitrilo con 0.1% de ácido fórmico (solvente B). Se estableció un flujo constante de 0.5 ml/min e inyección de 100 µL de muestra. Previo a la lectura se preparó un vial con 100% de acetonitrilo como lavado de la jeringa. También se preparó un vial con 50:50 acetonitrilo y agua destilada respectivamente. Esta fue inyectada después del análisis de la primera muestra. Se usó un gradiente de 0-5 minutos con 95% solvente A y 5% de solvente B, de 5-40 minutos, 20% solvente A y 80% Solvente B y de 40-60, 100% de solvente B.

Cuantificación de ésteres de forbol. Para la cuantificación se usó un detector de diodos (DAD 1100) a una longitud de onda de 240 nm. Para calcular la cantidad de ésteres de forbol se utilizó la Ecuación 2 resultado expresado en µg de ésteres de forbol/g de aceite (King *et al.*, 2009).

Este se calculó identificando el área los ésteres de forbol y estándar interno (PMA) respectivamente, el volumen de estándar interno, peso molecular de los ésteres de forbol y peso molecular del PMA. Referenciando el área con el tiempo de elusión de los ésteres de forbol y estándar interno dentro del rango de 35 a 45 min (Sosa, 2012 y Chún, 2013).

$$\frac{\text{Masa de estándar}}{\text{área estándar}} \times \text{área éster de forbol de } J. \text{ curcas} \times \frac{\text{P.M} \xi \text{ éster de forbol } Jatropha \text{ curcas}}{\text{P.M estándar}} \quad [2]$$

§: Peso molecular

Diseño experimental.

Fase I. Se implementó un Diseño Completo al Azar (DCA) para evaluar los métodos de extracción de aceite de la semilla de piñón siendo estos los tratamientos y cuantificación de sus ésteres de forbol. Los tratamientos evaluados fueron el prensado con semilla a 25 y 60 °C, particionamiento trifásico y Soxtec. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento para un total de 12 unidades experimentales. Se utilizó una prueba Duncan con un nivel de $P < 0.05$ para evaluar si hubo diferencias significativas en las medias. Siendo la variable dependiente el tiempo de extracción, rendimiento y producción de aceite y contenido de ésteres de forbol en aceite.

Fase II. Fueron consideradas las variables independientes de velocidad de tornillo (rpm) y temperatura de semilla molida (°C). Utilizando una metodología de superficie de respuesta tipo central compuesto rotacional de segundo orden con una $P < 0.10$ (Box *et al.*, 1978 y Rocha, 2009). Los parámetros del proceso establecido como variables independientes fueron estudiados en tres niveles codificados (-1,0,1) establecido por la ecuación 3:

$$xi = \frac{Xi - Z}{\Delta xi} \quad [3]$$

Donde:

xi: valor codificado de la variable Xi

Xi: valor real de la variable

Z: valor real de la variable en el punto central

Δxi : valor de intervalo de variación de xi

Este delineamiento también incluye niveles de variables axiales codificadas como $-\alpha$ y α . El valor de α es el número factorial ($F=2^k$) del diseño y el número de variables independientes ($K=2$), definida por la ecuación 4.

$$\alpha = (F)^{\frac{1}{4}} = (2^k)^{\frac{1}{4}} = (2^2)^{\frac{1}{4}} = 1.414 \quad [4]$$

El número de tratamientos se basó en un experimento factorial completo definido por la ecuación 5.

$$n = 2^k + 2k + M \quad [5]$$

Donde:

2^k : número de puntos factoriales

$2k$: número de puntos axiales

M: repeticiones del punto central

Los valores máximos y mínimos de las variables dependientes fueron basados en la capacidades técnicas del autoclave Electric Steroclave 25X al dar un tratamiento de hasta 61 °C. La velocidad de tornillo se basó en el estudio realizado con la prensa MPE 40 ECIRTEC en el cual utilizo 52 rpm para extraer aceite de la semilla de piñón (Cedeño, 2014). Para el análisis de resultados experimentales, la metodología describe el comportamiento de variables independientes (X_k) y su efecto en las variables dependientes o respuesta (Y_i). La respuesta es una función donde se combinan y se definen estos factores especificado por Box y Draper (1967) y Rocha (2009) en la ecuación 6.

$$Y_i = F(X_1, X_2, \dots, X_k) \quad [6]$$

A través de un análisis de regresión lineal se ajusta para cada respuesta (Y) un polinomio de segundo orden con las variables (X_k). Esta se utiliza para predecir el comportamiento de cada respuesta descrito en la ecuación 7.

$$Y_i = B_0 + B_1 X_1 + B_2 X_2 + B_{11} X_1^2 + B_{22} X_2^2 + B_{12} X_1 X_2 + \varepsilon \quad [7]$$

Donde:

Y_i : función respuesta

B_0 : coeficiente relativo a la interpretación del plan con la respuesta en el eje

X_1, X_2 : valores de las variables independientes

B_1, B_2 : coeficientes lineales estimados por el mínimo cuadrado

B_{11}, B_{22} : coeficiente de la variable cuadrática

B_{12} : coeficiente de interacción entre las variables independientes

ε : error experimental

La codificación de las variables independientes y sus valores decodificados están detallados en el Cuadro 2. Estos valores fueron definidos en base a capacidad técnica del equipo y la velocidad del tornillo utilizado por Cedeño (2014).

Cuadro 2. Descripción de los valores reales utilizados en el diseño compuesto central rotacional.

Variables independientes	Valores codificados				
	$-\alpha$	-1	0	1	α
X_1 : Velocidad de tornillo (rpm)	43	45	52	59	61
X_2 : Temperatura de semilla (°C)	49	51	55	59	61

Un total de 13 tratamientos fueron realizados descritos como puntos factoriales, $2^2=4$, puntos axiales, $2 \times 2=4$ y cinco repeticiones para el punto central. Estos detallados en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Descripción de los valores codificados y reales de las variables en el diseño compuesto central rotacional.

Tratamiento	Velocidad de tornillo (rpm)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
1	-1.000 [§] (45 [¶])	-1.000 (51)
2	-1.000 (45)	1.000 (59)
3	1.000 (59)	-1.000 (51)
4	1.000 (59)	1.000 (59)
5	-1.414 (43)	0.000 (55)
6	1.414 (61)	0.000 (55)
7	0.000 (52)	-1.414 (49)
8	0.000 (52)	1.414 (61)
9	0.000 (52)	0.000 (55)
10	0.000 (52)	0.000 (55)
11	0.000 (52)	0.000 (55)
12	0.000 (52)	0.000 (55)
13	0.000 (52)	0.000 (55)

§: Valor codificado, ¶: valor real

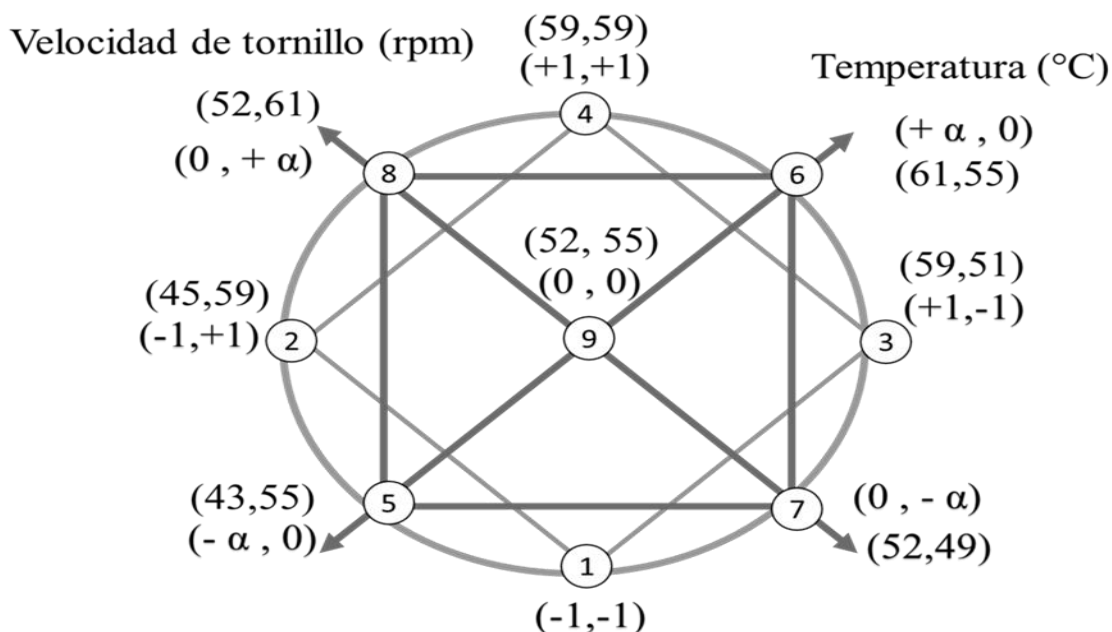


Figura 1. Distribución de los tratamientos en el diseño central compuesto rotacional.

Los puntos uno, dos, tres y cuatro son los puntos factoriales positivos y negativos representando valores máximos (positivos) y mínimos (negativos) en las variables independientes. Los puntos cinco, seis, siete, y ocho representan los puntos axiales (α) máximos (positivos) y mínimos (negativos). El punto nueve representa el punto central para el cual se realizaron 5 repeticiones evaluando la capacidad técnica del operador en realizar el experimento. La tridimensionalidad del diseño se puede observar en la Figura 1.

Análisis estadístico. Los resultados obtenidos fueron analizados por el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.3®), para encontrar diferencias significativas de medias en las variables rendimiento, tiempo, producción de aceite y contenido de ésteres de forbol en los cuatro métodos de extracción. Se utilizó una prueba Duncan con un nivel de significancia del <0.05 evaluando diferencias significativas. Para la fase II se utilizó la separación de medias LS means con una interacción entre los factores con una $P<0.05$.

El análisis de datos del diseño central compuesto rotacional se evaluó utilizando el programa Statistica 7.0®. Obteniendo el análisis de prueba de varianza (ANOVA) con el uso de la prueba de distribución F a una $P<0.05$. El modelo de regresión es significativo cuando el valor de F calculado es mayor al F tabular, a mayor el resultado más predictivo (Rocha, 2009). Se obtuvieron los coeficientes de regresión y los valores para la elaboración de gráficos superficie de respuesta. La adecuación del modelo fue evaluada utilizando el coeficiente de determinación (R^2). Para que el modelo sea denominado predictivo el coeficiente de determinación debe estar por encima de 0.60 de lo contrario este clasifica como tendencioso (Rocha, 2009).

Los gráficos de la superficie de respuesta fueron diseñados utilizando el programa Statistica 7.0®, a través de los del modelo matemático propuesto por los valores reales de las variables. Siendo la respuesta de las variables dependientes expresada en base al eje Z, con las variables dependientes representando el eje X y Y. Manteniendo las otras variables constantes en el punto central correspondiente al nivel codificado cero.

Para el análisis de regresión del modelo polinomial de segundo orden de variables independientes se utilizó la ecuación 8:

$$Y_i = B_0 + B_n^n (X - Z / \Delta x_i + \epsilon) \quad [8]$$

Y_i : función respuesta

B_0 : coeficiente relativo de la interpretación del plano con respuesta en el eje

B_n^n : coeficiente lineal, cuadrático o de interacción determinado por el método de mínimos cuadrados

X: valor decodificado de la variable

Z: valor real de la variable en el punto central

Δx_i : valor del intervalo de variación entre el punto central

ϵ : error experimental

Descripción de la prensa. La prensa MPE 40 fue proveída a la Escuela Agrícola Panamericana por la empresa ECIRTEC. Empresa especializada en la elaboración de maquinaria para la extracción de aceite de semillas oleaginosas. La prensa es de tipo colador

al estar el cañón de esta compuesta de varios discos con separaciones mediante anillos de aluminio. El diámetro de tornillo está compuesto por una relación 1.15:1 de diámetro entre la zona de alimentación y la zona de compresión siendo este el coeficiente de compresión. La zona de alimentación tiene como objetivo compactar el alimento en forma sólida y densa. La zona de transición es donde la matriz se va compactando de tal forma que expulsa el aire mediante la zona de alimentación acá se fusiona el material debido a la fricción generada y las altas temperaturas. La zona de compresión es donde el tamaño de diámetro es mayor, aumentando significativamente la presión del sistema. Tiene como objetivo homogenizar y presurizar la muestra forzando la matriz a salir por la boquilla de la prensa (Beltran y Marcilla, 2012). Estas zonas se visualizan en la Figura 2. El coeficiente de longitud es de 9:1 y la apertura en la salida de la prensa fue de 3.7 mm.

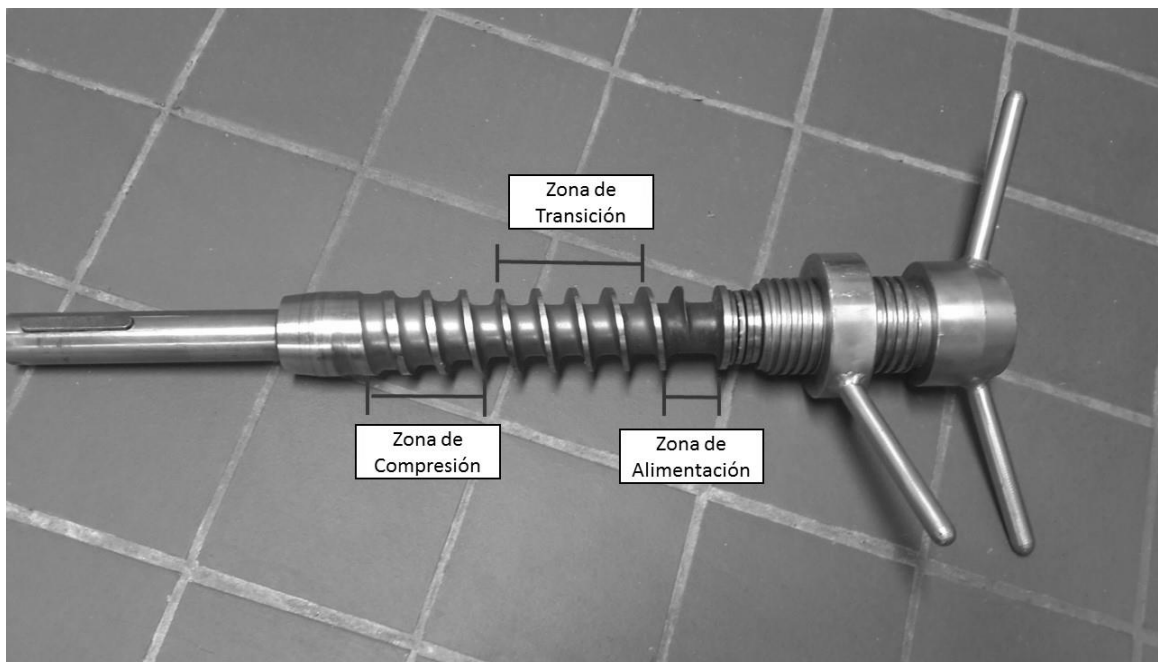


Figura 2. Configuración de las zonas del tornillo de la prensa MPE 40.

Separación de discos de la prensa MPE 40. La configuración de discos utilizada de la prensa MPE 40 está detallada en la Figura 4. Se encontró que la configuración detallada por el proveedor ECIRTEC visualizada en la Figura 3 tenía resultaba en un bajo rendimiento y alto contenido de sedimento en aceite extraído. Por lo que se decidió reducir el número de anillos presente en cada disco a la mitad. Sin embargo no se modificó la configuración de los dos primeros discos evitando generar presión en la zona de alimentación siendo esta propia de la zona de transición y compresión. El anillo 01 detallado en ambas figuras siguientes tiene un grosor promedio de 0.3937 mm y el anillo 02 tiene un grosor promedio de 0.0851 mm.

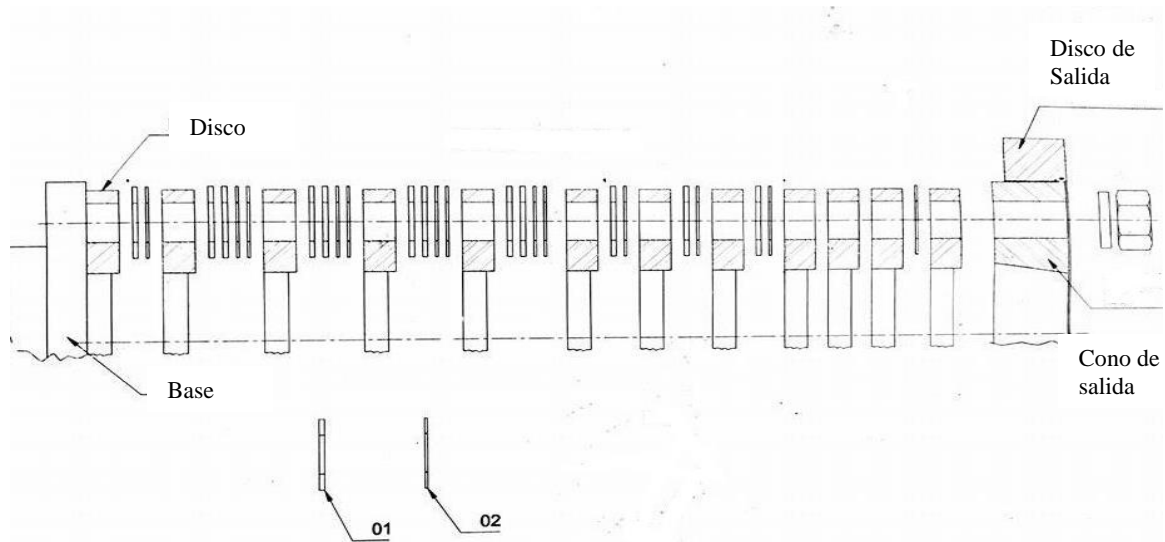


Figura 3. Configuración estándar de los discos de la prensa MPE 40 y sus respectivas separaciones mediante anillos de aluminio detallado por ECIRTEC.
Fuente: ECIRTEC (2009)

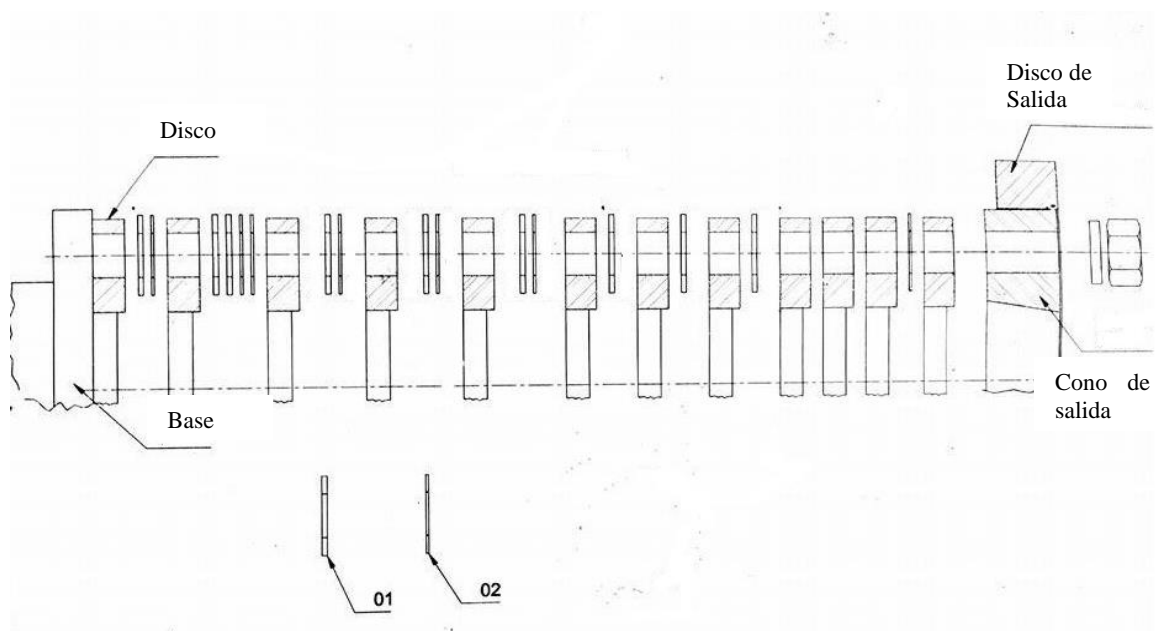


Figura 4. Configuración modificada de los discos de la prensa MPE 40 y sus respectivas separaciones mediante anillos de aluminio utilizado en el estudio.
Fuente: ECIRTEC (2009)

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 5 detalla el tamaño de partícula presente en la muestra utilizada para el prensado. Finos es toda aquella partícula que no se retuvo en el sarán 4/64. Se obtuvo una distribución en el rango de 4/64 a 21/64 de pulgada. Con un mayor porcentaje en el rango de 8/64 a 14/64 valores mayores a 3 mm. El tamaño de partícula fue mayor a otros estudios en el cual se utilizó un tamaño de partícula de 8/64 de pulgada (Subroto *et al.*, 2015a). Éste reporta un mayor porcentaje de extracción para semilla entera (74.5%) debido a la porosidad que la semilla descascarillada posee, por lo cual el aceite fluye con mayor facilidad. Resultados de otros estudios contrastan con el 82.3% de aceite extraído en semilla descascarillada molida, debido a una mayor área superficial que recibe el tratamiento térmico uniformemente (Tambunan *et al.*, 2012). Por ende la porosidad en la matriz es de importancia para mantener un adecuado flujo del aceite al fluir este en el sistema.

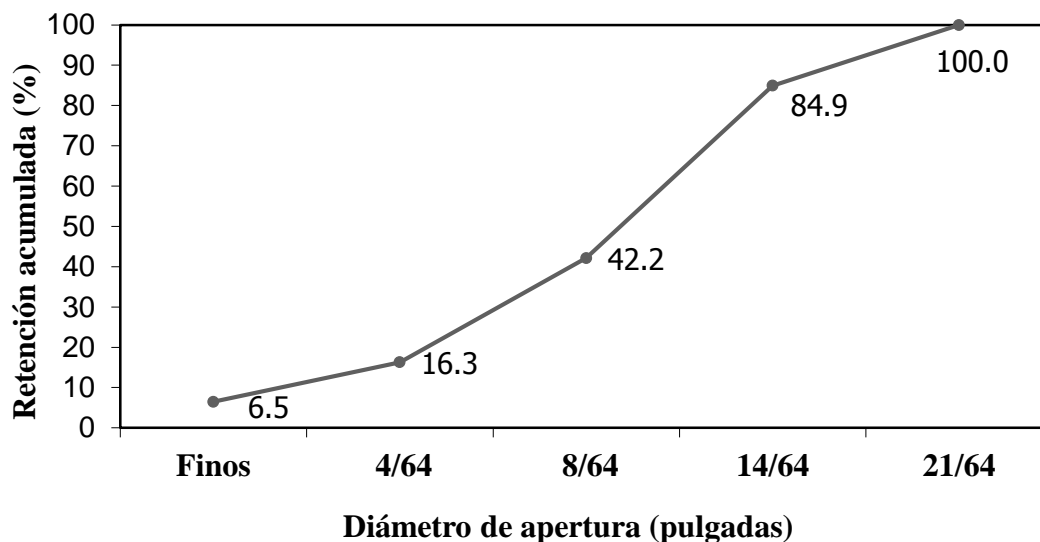


Figura 5. Granulometría presentada en semilla de piñón molida por molino de disco presentada en porcentajes acumulados.

La semilla de piñón var. Cabo Verde contiene ésteres de forbol en un rango de 2.57 a 2.7 mg/g semilla (Makkar *et al.*, 1998 y Sosa, 2012). El método de extracción por prensado obtiene un 70 a 75% de ésteres de forbol presente en la semilla (Makkar *et al.*, 2008) como se muestra en el Cuadro 4. Por lo cual el prensado con semilla a 60 y 25 °C extrajo aceite con ésteres de forbol dentro del rango ya establecido.

Estudios anteriores han reportado aceite extraído con éter de petróleo con un contenido de ésteres de forbol de 2.8 mg/g de aceite (Prasad *et al.*, 2012). La extracción de ésteres de forbol por hexano utilizando el Soxtec 2050 fue estadísticamente diferente, en ambos métodos de la extracción mecánica y el particionamiento trifásico, Los cuales no presentaron diferencia estadística entre ellos tres. El éster de forbol es termoestable a temperaturas de 160 °C/30 min (Aregheore *et al.*, 2003). Sin embargo, la configuración del método AOAC 2003.06 somete el aceite a temperaturas de 155 °C/60 min. Excediendo el tiempo límite en el cual el éster es estable, desnaturalizándolo al ser sometido a altas temperaturas en un mayor tiempo. Otros estudios han determinado la reducción de ésteres de forbol sometiendo la torta rica en éster de forbol a 121 °C/30 min seguido de cuatro lavados con hexano. Proceso que imita la extracción de extracto etéreo en el método AOAC 2003.06. El aceite obtenido por particionamiento trifásico contiene un 25 a 30% de ésteres de forbol en torta. Al presentar residualidad de aceite en la torta, se estima que el contenido de ésteres es retenido en la matriz de la torta rica en proteína con un rango de 19 a 27% (Makkar *et al.*, 1998), (Apiwatanapiwat *et al.*, 2009), (Makkar *et al.*, 2008) y (Gogoi *et al.*, 2014). Sin embargo no hubo diferencia estadística con el contenido de ésteres en el aceite obtenido por el particionamiento trifásico en comparación con los métodos físicos.

El prensado de semilla a 25 °C presenta aceite de mejor calidad limitando la formación de ácidos grasos libres, peróxidos y extracción de compuestos que contienen fosforo (Segura, 2013) presentando un mayor contenido de ésteres como se observa en el Cuadro 4. El tratamiento térmico al cual se sometió la semilla en el prensado a 60 °C genera un mayor contenido de ácidos grasos libres y peróxidos. Estos generan autooxidación en el aceite incrementando la cantidad de hidroperóxidos, reduciendo así la cantidad de ésteres y su bioactividad (Devappa *et al.*, 2013).

Cuadro 4. Cuantificación de éster de forbol en aceite de semilla de piñón mediante diferentes métodos de extracción de aceite.

Método	Ésteres de forbol (mg/g de aceite)
Prensado semilla a 25 °C	1.9520 ± 0.98 a
Prensado semilla a 60 °C	1.7415 ± 0.26 ab
Particionamiento Trifásico	1.4103 ± 0.67 ab
Soxtec	0.2511 ± 0.11 b
Coefficiente de Variación	48.09

a-b: Medias con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

El método con mayor rendimiento fue la extracción química mediante el uso de hexano en Soxtec con un rendimiento de aceite de 51 g/100 g de semilla representando un 95% de extracción. En base a esta eficiencia de extracción se calculó el 100% de aceite en la semilla. Presentando la semilla un contenido de aceite de 54 g/100 g de semilla siendo este valor el contenido total de aceite en semilla. El rendimiento de los demás métodos utilizó el contenido de aceite de 54 g/100 g de semilla para determinar el porcentaje extraído y el

rendimiento en porcentaje. Otros estudios han demostrado un rendimiento de 54, 45 y 47 g/100 g de semilla (Sayyar *et al.*, 2009), (Forson *et al.*, 2004) y (Hermógenes *et al.*, 2010). Representando un rango de aceite extraído del 91% a 98%. El rendimiento del particionamiento trifásico fue 54% y difiere al 82% reportado en estudios previos (Shah *et al.*, 2004). Este decrecimiento pudo deberse a que el particionamiento trifásico fue desarrollado para la extracción y purificación de enzimas, utilizando t-butanol para este fin. Sin embargo n-butanol mostro una capacidad extractiva mayor de los lípidos (Dennison y Lovrien, 1997). Pudiendo tener este método un mayor rendimiento.

No hubo diferencia estadística en el rendimiento del prensado con semilla a 25 y 60 °C siendo de 26 y 28% respectivamente detallado en el Cuadro 5. Estudios previos han demostrado un rendimiento de aceite de 39% presión no especificada (Forson *et al.*, 2004) y 82% en semilla a 90 °C, 5% de humedad y 20 MPa utilizando una prensa hidráulica (Subroto *et al.*, 2015b). Una prensa motorizada presento rendimientos de 52% (Chen *et al.*, 2008), menores a los de la prensa hidráulica. El contenido de humedad de la semilla en este estudio fue de 6%, siendo mayor al utilizado en estudios que reporta la literatura el cual fue de 3% de humedad (Subroto *et al.*, 2015a). Esto afectó el rendimiento funcionando el agua como plastificante entre la matriz rica en proteína y el aceite, haciendo la torta menos comprimible y reduciendo porcentaje de aceite extraído (Subroto *et al.*, 2015b). El efecto plastificante reduce la extrudabilidad de la semilla. Siendo ésta la capacidad de la semilla de transformarse en un nuevo producto de manera continua mediante la interacción de las variables independientes en el sistema las cuales son la velocidad de tornillo y temperatura de semilla. La torta semidesgrasada del prensado de semilla a 25°C presento 44% de extracto etéreo. Siendo muy baja la capacidad de extracción de dicho método. El prensado de semilla a 60°C dio una torta con un contenido de aceite de 33%. Siendo el contenido de aceite en la torta de prensado de semilla a 60°C menor estadísticamente con una $P < 0.05$.

El prensado de semillas oleaginosas descascarilladas mediante prensa de tornillo presentó dificultades en extracción de aceite. Siendo difícil crear una presión al perder totalmente su estructura el cual afecta la extrudabilidad de la matriz, no permitiendo así un prensado adecuado reduciendo el rendimiento (Boeck 2011 y Zheng *et al.*, 2003). El tiempo de residencia de la torta en prensado de semilla a 60 °C fue estadísticamente diferente al prensado con semilla a 25 °C. Presentando este último un mayor valor en tiempo de extracción. El precalentamiento de la semilla a 60 °C/30 min reduce un 9% el contenido de humedad (Subroto *et al.*, 2015a), endureciendo la superficie y reduciendo el efecto plastificante del agua en la torta mejorando su extrudabilidad. Esto redujo el tiempo de residualidad en la prensa, aumentando la capacidad productiva (kg/h) de extracción de aceite (Segura, 2013). La metodología de la extracción química son estandarizados, y ocupan mayor tiempo para lograr una extracción eficiente del aceite mediante las reacciones químicas. Esto minimiza la variabilidad en el tiempo de extracción. En base a la combinación del rendimiento y tiempo de extracción el prensado de semilla a 60 °C presento una mayor producción de aceite siendo estadísticamente diferente a los demás métodos. Por lo que se optimizo dicho método para determinar los valores de las variables de temperatura de semilla y velocidad de tornillo que logren la mayor producción de aceite.

Cuadro 5. Evaluación de rendimiento, tiempo y producción de aceite mediante métodos físicos y químicos.

Método	Rendimiento (%)	Tiempo (min)	Producción de aceite (kg/h)
	Media \pm DE [§]	Media \pm DE	Media \pm DE
Soxtec	95 \pm 2 a	70.00 \pm 0.00 a	0.0022 \pm 0.00 b
Particionamiento Trifásico	54 \pm 10 b	76.83 \pm 2.02 a	0.0011 \pm 0.00 b
Prensado Semilla a 25°C	26 \pm 4 c	42.33 \pm 19.40 a	0.2543 \pm 0.29 b
Prensado Semilla a 60°C	28 \pm 4 c	7.18 \pm 1.46 b	1.2928 \pm 0.23 a
Coeficiente de Variación	11.29	19.81	40.32

a-b: Medias con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05). §: Desviación estándar.

Producción de aceite. La producción de aceite fue evaluado en kg/h de aceite extraído de la semilla de piñón mediante la prensa MPE 40. El porcentaje de extracción de aceite de cada método esta detallado en la Cuadro 5. El Cuadro 6 muestra el rendimiento de aceite (kg/h) obtenido a partir de la combinación de los factores velocidad de tornillo y temperatura. No se encontró diferencia estadística en los controles siendo estos los tratamientos 9-13 (52 rpm y 55 °C). Solamente en el tratamiento 45.46 rpm y 51 °C se encontró diferencia estadística a una P <0.05, estos representan los valores menores en los puntos factoriales negativos. Esto expresa una influencia positiva de la temperatura de la semilla prensada en el rendimiento de aceite. El comportamiento del rendimiento es influenciado por el tratamiento térmico aplicado a la semilla expresa una tendencia similar a los presentados en la literatura. Donde a temperaturas de 40, 60, 80 °C hay rendimientos de 36.8, 34.2, y 47.0% en base a peso de semilla (Sirisomboon y Kitchaiya, 2009).

Cuadro 6. Efecto de la temperatura y velocidad de tornillo en la producción de aceite de semilla de piñón molida mediante la prensa MPE 40.

Tratamiento	Velocidad de tornillo (rpm Ω)	Temperatura (°C)	Producción de aceite (kg/h)
			Media \pm DE \S
1	45.46	51.00	1.89 \pm 0.28 b
2	45.46	59.00	4.55 \pm 0.89 a
3	58.53	51.00	3.44 \pm 0.82 a
4	58.53	59.00	4.64 \pm 0.18 a
5	42.76	55.00	3.68 \pm 1.07 a
6	61.24	55.00	3.85 \pm 0.35 a
7	52.00	49.34	4.52 \pm 0.88 a
8	52.00	60.56	4.44 \pm 2.41 a
9	52.00	55.00	4.35 \pm 1.15 a
10	52.00	55.00	4.29 \pm 0.80 a
11	52.00	55.00	4.08 \pm 0.42 a
12	52.00	55.00	4.64 \pm 0.49 a
13	52.00	55.00	3.32 \pm 0.72 a
Coeficiente de variación			20.48

a-b: variables con diferentes letras muestran diferencias estadísticas a una probabilidad <0.05. \S : Desviación estándar. Ω : Revoluciones por minuto.

Se demuestra que la variable lineal de temperatura fue significativa a una $P < 0.10$ en el Cuadro 7. Indicando un efecto positivo en la producción de aceite en base al incremento de temperatura. La velocidad de tornillo no tuvo efecto alguno en el incremento del rendimiento de aceite siendo la P mayor a < 0.1 . El coeficiente de determinación (R^2) está debajo de 0.60 en el cual el 52% de los datos no se ajustaron al modelo lineal. Esto debido a que la variable velocidad de tornillo no tiene efecto alguno, no presentando interacción en ambas variables. La falta de ajuste no fue significativa y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo que el modelo se clasificó como tendencioso.

Cuadro 7. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión cuadrático aplicado en producción de aceite de la semilla de piñón utilizando la prensa MPE 40.

Coefficientes	Rendimiento	Probabilidad
Intercepto	4.1368	
X ₁	2.3E-01	2.6E-01 n.s
X ₁ ²	3.1E-01	1.8E-01 n.s
X ₂	4.7E-01	5.8E-02*
X ₂ ²	4.8E-02	8.1E-01 n.s
X ₁ ×X ₂	3.6E-01	2.2E-01 n.s
Falta de Ajuste		1.2E-01 n.s
R ²		0.48
F calculado > F tabular		3.55 > 3.23

X₁: RPM, X₂: Temperatura (°C), *: Significativo a $P < 0.10$, n.s: no significativo.

En base a los resultados de la Cuadro 7 se obtuvo la ecuación matemática que denota la tendencia del comportamiento de las variables sobre la producción de aceite:

$$\text{Producción de aceite} = 4.1368 + 0.47X_2 \quad [9]$$

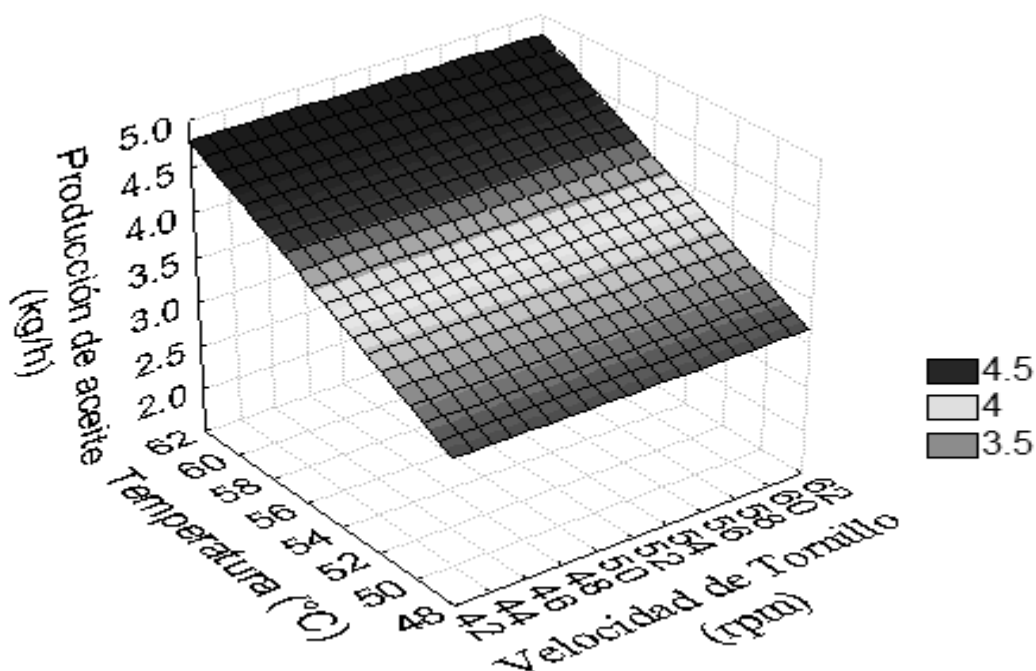


Figura 6. Superficie de respuesta de las variables independientes sobre el rendimiento de aceite de semilla de piñón.

En base a la ecuación 9 se realizó el gráfico de superficie de respuesta de la Figura 6 para la producción de aceite. Este indica que a mayor tratamiento térmico aplicado a la semilla se obtiene una producción mayor. Llegando a valores máximo de 4.5 kg/h bajo los valores establecidos de temperatura. Valores similares a 4.21 y 8.71 kg/h a 28 y 70 rpm respectivamente mediante una prensa tipo orificio cilindro (Beerens, 2007).

Sedimentación. El sedimento son partículas mayores a 0.8 mm suspendidas en el aceite crudo en la extracción. Se asume que no contiene aceite ni humedad (Chapuis *et al.*, 2014). Partículas finas suspendidas en el aceite extraído dificultan el filtrado y la purificación del aceite crudo. Representando un alza en los costos de procesamiento al ralentizar el rendimiento productivo de la extracción de aceite. Bajo condiciones normales un aceite con 10% de sedimento o menor es aceptable para filtrado (Ferchau, 2000).

El Cuadro 8 muestra valores máximos de sedimentación de 47% propio puntos factoriales negativos de 45.46 RPM y 51°C. Se demostró valores mínimos de 25% para los valores 58 RPM y 59°C. Las separación de medias fue estadísticamente significativa a una $P < 0.05$. Pudo haber un posible efecto de ambos factores en el porcentaje de sedimento obtenido en

la muestra de aceite. Estudios previos han obtenido valores desde 30-50% mediante la prensa BT50 tipo orificio cilindro (Beerens, 2007). Sin embargo este estudio no pudo determinar las condiciones que influenciaron el contenido de sedimento en el aceite. El contenido de sedimento es mayor en semilla descascarillada, demostrado en la extracción de aceite en linaza (Zheng *et al.*, 2003). Siendo necesario establecer los parámetros para reducir el impacto en el rendimiento de aceite obtenido.

Cuadro 8. Efecto de la temperatura y RPM en el contenido de sedimento del aceite de semilla de piñón molida prensada mediante la prensa MPE 40.

Tratamiento	RPM Ω	Temperatura ($^{\circ}$ C)	Sedimentación (%)
			Media \pm DE \S
1	45.46	51.00	47.00 \pm 0.60 a
2	45.46	59.00	32.00 \pm 5.00 cd
3	58.53	51.00	32.00 \pm 0.10 cd
4	58.53	59.00	25.00 \pm 0.70 d
5	42.76	55.00	35.00 \pm 0.60 bc
6	61.24	55.00	32.00 \pm 1.20 cd
7	52.00	49.35	36.00 \pm 2.00 bc
8	52.00	60.56	33.00 \pm 0.60 cd
9	52.00	55.00	37.00 \pm 0.50 bc
10	52.00	55.00	32.00 \pm 1.70 cd
11	52.00	55.00	34.00 \pm 0.10 bcd
12	52.00	55.00	43.00 \pm 14.0 ab
13	52.00	55.00	36.00 \pm 0.04 bc
Coeficiente de variación			12.68

a-d: variables con diferentes letras muestran diferencias significativas a una probabilidad <0.05 . \S : Desviación estándar. Ω : Revoluciones por minuto.

El Cuadro 9 muestra la variable lineal de RPM y temperatura significativas sobre el porcentaje de sedimento obtenido en el aceite. Siendo significativas a una $P < 0.10$. El coeficiente de determinación indica que el 56% de los datos se ajustaron al modelo lineal y el 44% no se ajustaron posiblemente al error experimental. Clasificado de esta manera como tendencioso. Ambas variables significativas tienen un efecto de disminución en el contenido de sedimento al ser estos coeficientes de regresión negativos.

Cuadro 9. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión cuadrático aplicado en el contenido de sedimento de aceite de la semilla de piñón utilizando la prensa MPE 40.

Coeficientes	Sedimentación	Probabilidad
Intercepto	3.60E-01	
X ₁	3.20E-02	9.70E-02*
X ₁ ²	-1.61E-02	3.70E-01 n.s
X ₂	-3.22E-02	9.40E-02*
X ₂ ²	-1.08E-02	5.30E-01 n.s
X ₁ ×X ₂	1.72E-02	4.60E-01 n.s
Falta de Ajuste		3.2E-01 n.s
R ²		0.56
F calculado>F tabular		8.64>2.92

X₁: RPM, X₂: Temperatura (°C) *: Significativo a una probabilidad <0.10.

En base a los resultados del Cuadro 9 se construyó la ecuación matemática que predice el comportamiento de las variables sobre el contenido de sedimento en el aceite:

$$\text{Sedimentación} = 0.360 - 0.032X_1 - 0.032X_2 \quad [10]$$

Se presenta en la Figura 7 el gráfico de superficie de respuesta realizado a partir de la Ecuación 10. Éste presenta efecto negativo de las variables independientes ya que a mayor valor de estas el contenido de sedimento en el aceite será menor. Se ha mostrado que sometiendo la semilla a un pretratamiento a mayores temperaturas se obtiene un contenido de sedimento menor. En el cual un pretratamiento térmico de 100 °C aplicado a la semilla mostró un contenido de sedimento del 36.8% viéndose este reducido a 34.7% cuando el pretratamiento aumento a 180°C (Beerens, 2007). El estudio no indica el tiempo de exposición de la semilla a este tratamiento térmico. El efecto de las rpm en la disminución del contenido de sedimento puede variar debido a que a mayor rpm más fricción es generada, incrementando la temperatura (Beerens, 2007). Esto reduce la viscosidad del aceite generando una contrapresión en el barril de la prensa generando diversión de los sólidos a la salidas del aceite en la prensa (Singh *et al.*, 2002). Por ende la contrapresión generada a bajas rpm incrementa el sedimento en el aceite al ser el tiempo de retención de la matriz mayor.

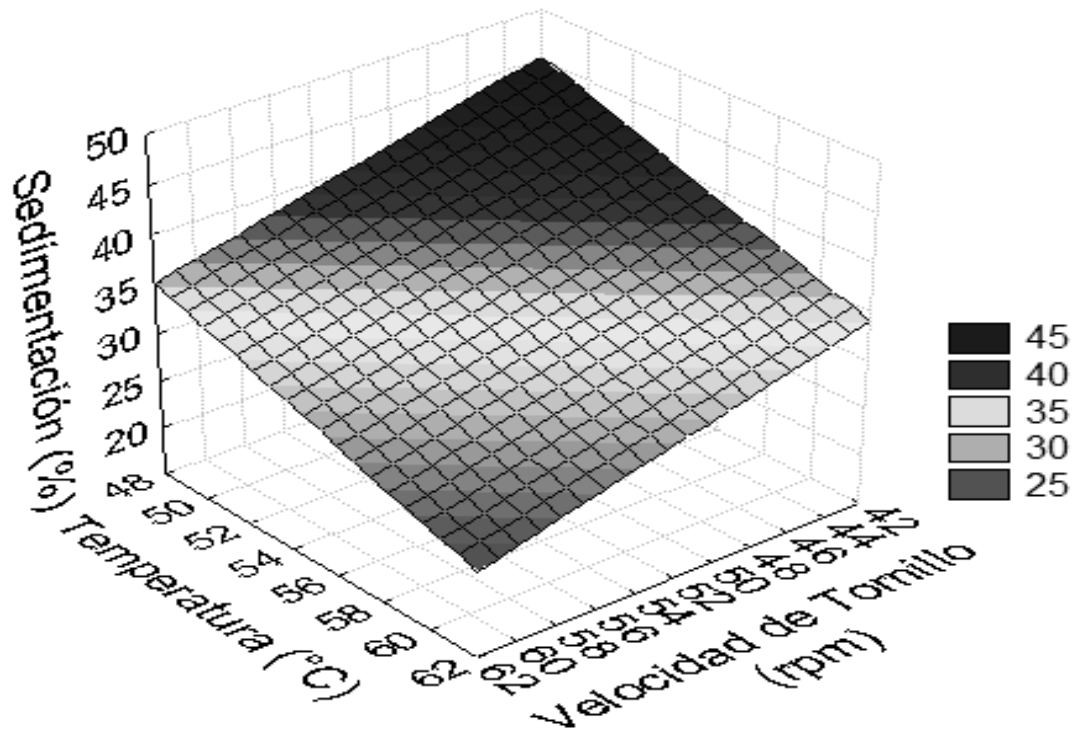


Figura 7. Superficie de respuesta de los efectos de las variables independientes sobre el porcentaje de sedimento en el aceite.

Se muestran las ecuaciones de los modelos tendenciosos de las variables dependientes de rendimiento (kg/h) y sedimentación en el aceite en el Cuadro 10. Estos valores fueron significativos a una $P < 0.10$. Mediante estas podemos evaluar la tendencia que se obtendrá al sustituir los valores de las variables independientes en las ecuaciones presentadas.

Cuadro 10. Resultado del análisis de regresión para las variables dependientes de la semilla de piñón calculado sobre los niveles codificados

Variable dependiente	Modelo		
	$B_0 \delta$	$X_1 \Omega$	$X_2 \omega$
Rendimiento (kg/h)	4.14		0.47
Sedimentación (%)	36.25	-3.20	-3.22

δ : Intercepto, Ω : Velocidad de tornillo (rpm), ω : Temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

Función de utilidad. La Figura 8 indica los valores óptimos a utilizar en el procesamiento de la semilla de piñón para obtener un mayor volumen de aceite de buena calidad. Para obtener un mayor rendimiento de aceite y un menor contenido de sedimento se debe de acondicionar la semilla a 60.56°C y configurar las RPM de la prensa a 60.32. Un desplazamiento del valor de temperatura es necesario debido a que el punto axial fue el que expreso la condición que proporciona un mayor rendimiento. Siendo 60.56°C el punto central para evaluar si hubo más rendimiento a mayor temperatura o si este es el valor óptimo a la cual la semilla se debe acondicionar para su procesamiento.

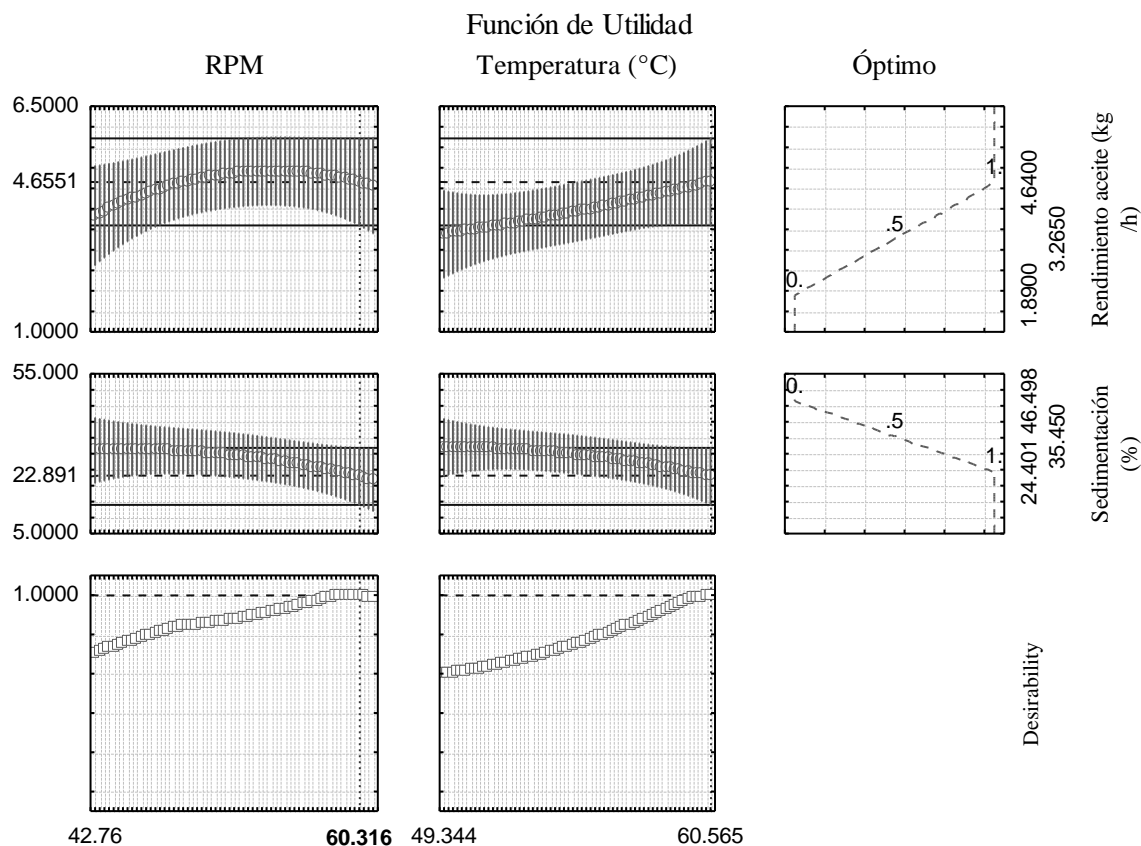


Figura 8. Valores óptimos de las variables independientes sobre el rendimiento y contenido de sedimento en el aceite de semilla de piñón.

4. CONCLUSIONES

- La extracción de ésteres de forbol se puede realizar mediante prensado o particionamiento trifásico obteniéndose un mayor contenido para su utilización como insecticida.
- El mejor método evaluado para la extracción de aceite de piñón fue el prensado a 60 °C con respecto a la producción de aceite.
- La optimización determinó que mayores temperaturas en el rango estudiado de semilla tiene impacto positivo en rendimiento y contenido de sedimento en aceite, obteniendo dos modelos matemáticos tendenciosos.

5. RECOMENDACIONES

- Dislocar los valores de temperatura y RPM para determinar los valores óptimos en la extracción de aceite de semilla de piñón en la Planta de Biodiesel de Zamorano.
- Adquirir una clasificadora de semillas para lograr descascarillar la semilla y extraer aceite de semilla de piñón en alto volumen.
- Evaluar el efecto de ésteres de forbol en plagas agronómicas y su residualidad.
- Aplicar un pretratamiento térmico a la semilla de piñón bajo condiciones estables por 30 minutos evaluando su efecto en la producción de aceite
- Evaluar el efecto de las variables independientes de presión y humedad de la semilla mediante la metodología de superficie de respuesta viendo su efecto en la producción y contenido de sedimento en aceite.

6. LITERATURA CITADA

Apiwatanapiwat, W., P. Vaithanomsat, P. Somkliang, y T. Malapant. 2009. Optimization of Protein Hydrolysate Production Process from *Jatropha curcas* Cake. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 3(5):250–253.

Aravinda, A. 2013. Investigations on biochemical and biopesticidal properties of *Jatropha* seed oil and meal. Jawaharlal Nehru Technological University, Anantapuram, India. Thesis Ph. D. Biotechnology. 217p.

Aregheore, E., K. Becker, y H. Makkar. 2003. Detoxification of a toxic variety of *Jatropha curcas* using heat and chemical treatments, and preliminary nutritional evaluation with rats. *South Pacific Journal of Natural Sciences* 21:50–56.

Beerens, P. 2007. Screw-pressing of *Jatropha* seeds for fueling purposes in less developed countries. Department of Sustainable Energy Development, Eindhoven University of Technology. 80p.

Box, G., J. Hunter y W. Hunter. 1978. *Statistics for Experimenters* 2nd ed. P. Bloomfield, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Cedeño, M. 2014. Producción de biodiesel de piñón manso (*Jatropha curcas*) y palma africana (*Elaeis guineensis*) por transesterificación enzimática con Callera Trans L. Escuela Agrícola Panamericana, Francisco Morazán, Honduras. 21p.

Chapuis, A., J. Blin, P. Carré, y D. Lecomte. 2014. Separation efficiency and energy consumption of oil expression using a screw-press : The case of *Jatropha curcas* L. seeds. *Industrial Crops and Products* 52:752–761.

Chen, B., N. Landsman-Roos, R. Naughton y K. Olenyik. 2008. *Jatropha curcas* L.: Biodiesel Solution or All Hype? A Scientific, Economic and Political Analysis of the Future Energy Crop. *Energy and Energy Policy*.

Dennison, C. y R. Lovrien. 1997. Three Phase Partitioning : Concentration and Purification of Proteins. *Protein Expression and Purification* 11:149–161.

- Devappa, R., H. Makkar y K. Becker. 2011. *Jatropha* diterpenes: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 88(3):301–322.
- Devappa, R., H. Makkar y K. Becker. 2013. Shelf-life of isolated phorbol esters from *Jatropha curcas* oil. *Industrial Crops and Products* 49:454–461.
- Ferchau, E. 2000. Equipment for decentralized cold pressing of oil seeds. Folkcenter for Renewable Energy, Kammersgaardsvej, Denmark.
- Forson, F., Oduro, E. y Hammond-Donkoh, E. 2004. Performance of *jatropha* oil blends in a diesel engine. *Renewable Energy* 29(7):1135–1145.
- Goel, G., H. Makkar, G. Francis y K. Becker. 2007. Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. *International Journal of Toxicology* 26(4):279–288.
- Gogoi, R., U. Niyogi y A. Tyagi. 2014. Reduction of phorbol ester content in *jatropha* cake using high energy gamma radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 1:1-5.
- Hermógenes G., J. Velásquez y A. Cuartas. 2010. Extracción con solventes y purificación de aceite a partir de semillas de *Jatropha curcas*. *Revista de Investigaciones Aplicadas* 4(2):5–6.
- Makkar, H., O. Aderibigbe y K. Becker. 1998. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. *Food Chemistry* 62(2):207–215.
- Makkar, H., J. Martinez-Herrera y K. Becker. 2008. Variations in Seed Number per Fruit, Seed Physical Parameters and Contents of Oil, Protein and Phorbol Ester in Toxic and Non-Toxic Genotypes of *Jatropha curcas*. *Journal of Plant Sciences* 3(4):260–265.
- Openshaw, K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass and Bioenergy* 19(1):1–15.
- Prasad, L., S. Pradhan, L. Das y S. Naik. 2012. Experimental assessment of toxic phorbol ester in oil, biodiesel and seed cake of *Jatropha curcas* and use of biodiesel in diesel engine. *Applied Energy* 93:245–250.
- Punsuvon, V., R. Nokkaew y S. Karnasuta. 2012. Determination of toxic phorbol esters in biofertilizer produced with *Jatropha curcas* seed cake. *ScienceAsia*, 38(2):223–225.
- Rocha, G. 2009. Obtencao e caracterizao de films biodegradáveis a partir de misturas de amido de amndioca e extrato protéico de soja. Tesis, Programa de pos-graduación en Ciencias e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro, Brasil, Universidad Federal Rural do Rio de Janeiro. 70p.
- Saetae, D. y W. Suntornsuk. 2010. Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 20(2):319–324.

Sayyar, S., Z. Zainal, R. Yunus y A. Muhamamad. 2009. Extraction of oil from *Jatropha* seeds-optimization and kinetics. *American Journal of Applied Sciences* 6(7):1390–1395.

Segura, A. 2013. Evaluación del proceso de extracción del aceite de *Jatropha curcas* L. para la producción de biodiesel. Tesis de Maestría en Ingeniería Químicas. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. 103p.

Shah, S., A. Sharma y M. Gupta. 2004. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by enzyme assisted three phase partitioning. *Industrial Crops and Products* 20(3):275–279.

Singh, K., D. Wiesenborn, K. Tostenson, y N. Kangas. 2002. Influence of Moisture Content and Cooking on Screw Pressing of Crambe Seed. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 79(2):165–170.

Siregar, A., J. Ghani, C. Haron, M. Rizal, Z. Yaakob y S. Kamarudin. 2015. Comparison of oil press for *Jatropha* oil – a review. *Res. Agr.Eng.* 61(1):1–13.

Sirisomboon, P. y P. Kitchaiya. 2009. Physical properties of *Jatropha curcas* L. kernels after heat treatments. *Biosystems Engineering* 102(2):244–250.

Sosa, Í. 2012. Cuantificación de ésteres de forbol en la semilla entera y sus componentes estructurales de tres variedades de *Jatropha curcas*. Tesis Ingeniero Agroindustrial, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 23p.

Srinophakun, P., B. Titapiwatanakun, I. Sooksathan y V. Punsuvon. 2011. Prospect of Deoiled *Jatropha curcas* Seedcake as Fertilizer for Vegetables Crops – A Case Study. *Journal of Agricultural Science* 4(3):211–226.

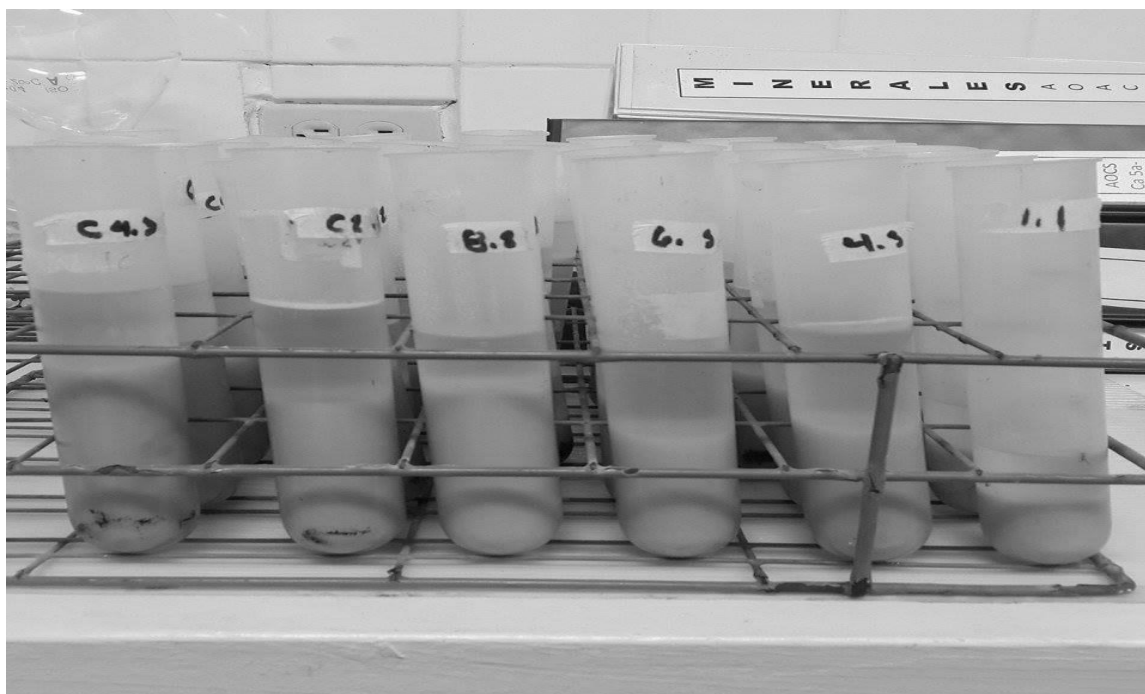
Subroto, E., R. Manurung, H. Heerens y A. Broekhuis. 2015a. Mechanical extraction of oil from *Jatropha curcas* L. kernel: Effect of processing parameters. *Industrial Crops and Products* 63:303–310.

Subroto, E., R. Manurung, H. Heerens y A. Broekhuis. 2015b. Optimization of mechanical oil extraction from *Jatropha curcas* L. kernel using response surface method. *Industrial Crops and Products* 63:294–302.

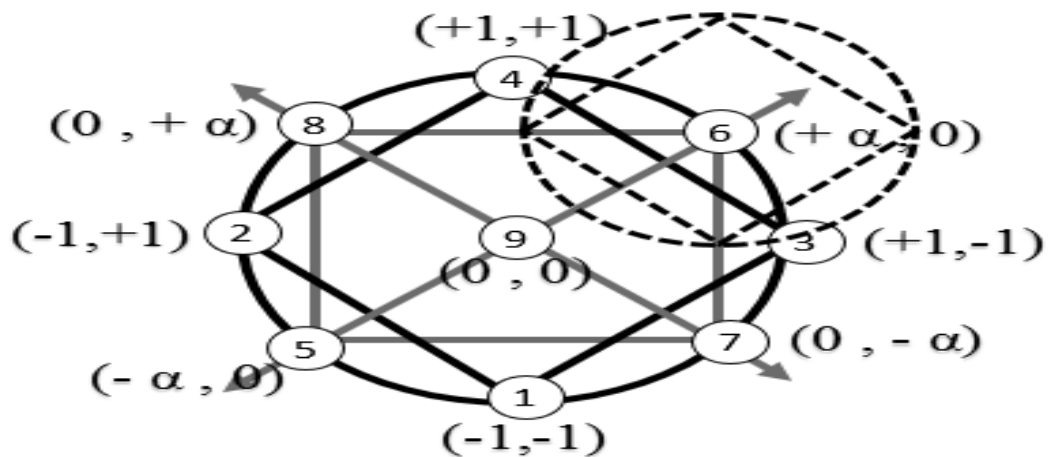
Tambunan, A., J. Situmorang, J. Silip, A. Joelianingsih y T. Araki. 2012. Yield and physicochemical properties of mechanically extracted crude *Jatropha curcas* L oil. *Biomass and Bioenergy* 43:12–17.

Zheng, Y., D. Wiesenborn, K. Tostenson y N. Kangas. 2003. Screw Pressing of Whole and Dehulled Flaxseed for Organic Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 80(10):1039-1045.

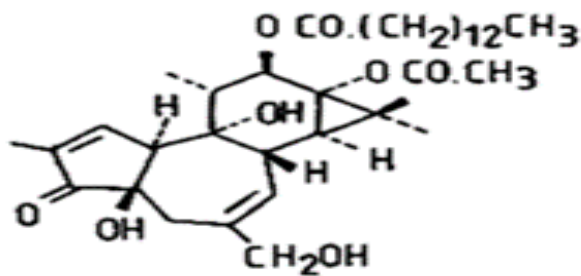
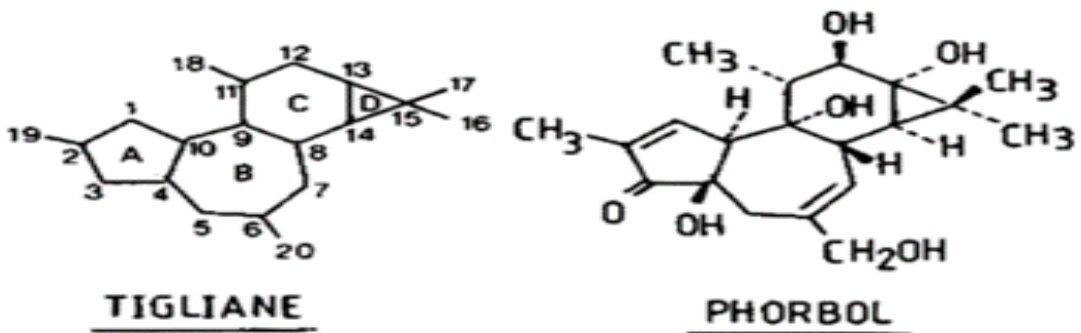
7. ANEXOS



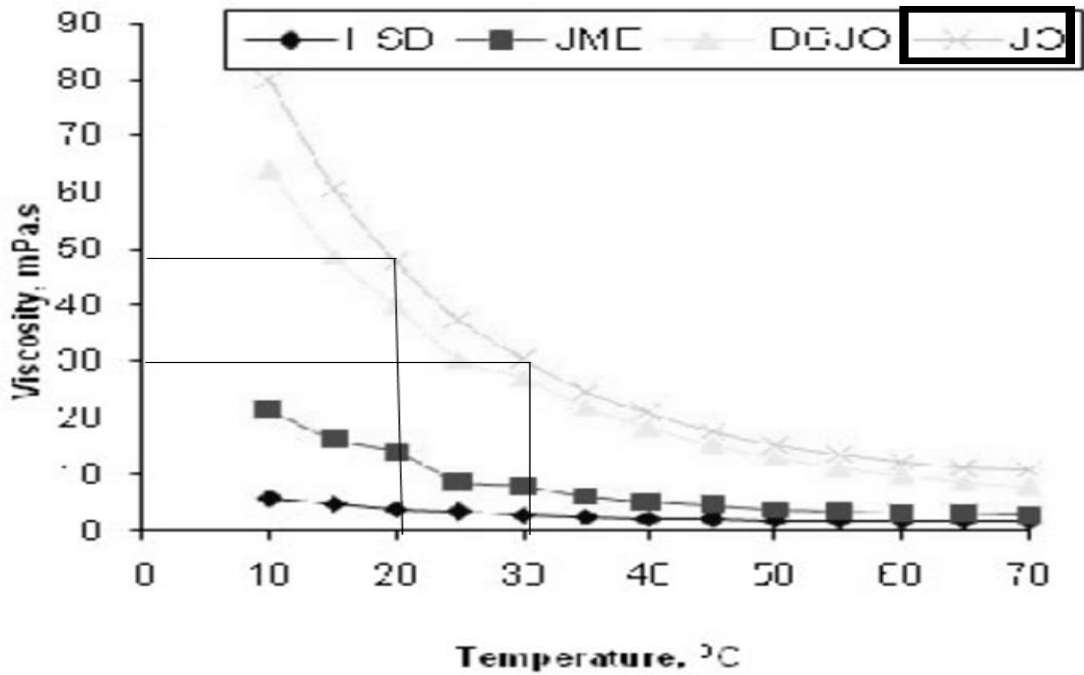
Anexo 1. Sedimentación del aceite crudo obtenido por el prensado de semilla caliente utilizando la MPE 40.



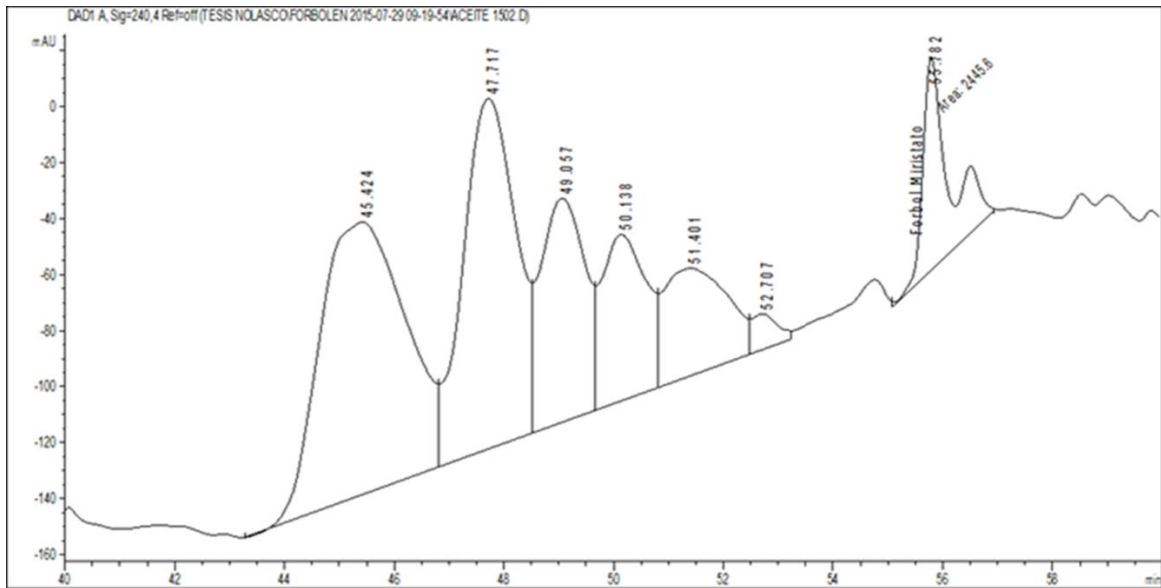
Anexo 2. Dislocación del punto central hacia el axial en la metodología de superficie de respuesta.



Anexo 3. Estructura química del éster de forbol presente en la semilla de piñón.
Fuente: Goel *et al.* (2007).



Anexo 4. Viscosidad del aceite y biodiesel de piñón a diferentes temperaturas.
Fuente: Beerens (2007).



Anexo 5. Cromatograma de la cuantificación del éster de forbol en la muestra de aceite de piñón.

Item	Variety				
	Cape Verde	Nicaragua	Ife-Nigeria	Non-toxic Mexico	Soyabean meal ^a
Trypsin inhibitor activity (TIA, mg g ⁻¹ meal) ^b	21.3	21.1	18.4	26.5	3.9
Lectin [1/(minimum amount of meal in mg ml ⁻¹ assay which produced haemagglutination)] ^b	102	102	102	51.0	0.32
Saponin (% diosgenin equivalent in meal) ^b	2.6	2.0	2.0	3.4	4.7
Phytate (% in meal) ^b	9.4	10.1	7.2	8.9	1.5
Phorbol esters (mg g ⁻¹ kernel) ^c	2.70	2.17	2.30	0.11	–

Anexo 6. Compuestos antinutricionales en diferentes variedades de semilla de piñón. Fuente: Makkar (1998).