

EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA DE LAS SEMILLAS DE GUANÁBANA (*Annona muricata*) Y LA CHIRIMOYA (*Annona cherimolia*)

Jaime Restrepo
Universidad del Valle

Luz Elena Vinasco
Pontificia Universidad Javeriana

Recibido: julio 23, 2010 Aceptado: octubre 13, 2010

Pág. 117-124

Resumen

Las semillas de guanábana (*Annona muricata*) y chirimoya (*Annona cherimolia*) son residuos del procesamiento industrial de estos frutos, que alcanzan miles de toneladas por año, convirtiéndose en un factor de contaminación ambiental. A pesar de que varios estudios muestran que las Anonáceas tienen efectos farmacológicos benéficos, por ejemplo contra algunos tipos de cáncer, parece que las semillas no tuvieron utilidad alguna. No obstante, esta investigación muestra que poseen un contenido de aceite (22%) similar a las semillas de algodón (23%) y la soya (18%) y más alto que el maíz (5%). Además, los análisis físicoquímicos de los extractos lipídicos, que incluyen la cromatografía de gases, revelan la presencia de ácidos grasos como el oleico, linoleico y linolénico, estos dos últimos esenciales en la dieta humana, en concentraciones equiparables con las de otras oleaginosas comerciales.

Palabras clave: guanábana, *Annona muricata*, chirimoya, *Annona cherimolia*, ácidos grasos, cromatografía de gases.

Abstract

The Soursop's (*Annona muricata*) and Cherimoya's (*Annona cherimolia*) seeds are considered as waste that contributes to environmental contamination, since tons of these by-products are generated every year. Despite many studies on Annonaceae's pharmacological effects, no apparent applications have been found. This study shows that these seeds contain an oil percentage (22%) similar to Cottonseed's (23%) and Soya's (18%) and higher than Corn (5%). Physical and chemical analyses of Soursop's and Cherimoya's oil were also carried out, and its characterization was performed by gas chromatography, allowing identification of fatty acids as oleic, linoleic and linolenic.

Keywords: Soursop, *Annona muricata*, Cherimoya, *Annona cherimolia*, fatty acids, gas chromatography.

1 Introducción

Las semillas de la guanábana (*Annona muricata* L.) y la chirimoya (*Annona cherimolia* Mill.) no poseen valor comercial en la actualidad, y se consideran un material de desperdicio que contribuye a la contaminación ambiental. Colguanabana, antigua

asociación vallecaucana de cultivadores de la guanábana, hoy desaparecida, registró en 1996 un remanente de 877 toneladas de semilla, que se perdieron al no definir una disposición para ellas. Así pues, la semilla es el subproducto más cuantioso después de la cáscara, cuyos desechos, según datos reportados por dicha asociación, alcanzaron las 2284 toneladas en 1996 ¹.

En el mundo existen 130 géneros de Anonáceas y más de 2300 especies, de las cuales 150 especies (7%) y 41 géneros (33%) han sido estudiados ². Entre las investigaciones científicas más recientes realizadas sobre estas anonáceas se encuentran:

- Dos nuevas acetogeninas adyacentes bis-tetrahidrofuránicas, citotóxicas, denominadas molvizarin y motrilin, han sido aisladas del extracto metanólico de las semillas de *Annona cherimolia* (1991) ³.
- Dos nuevas acetogeninas no adyacentes bis-tetrahidrofuránicas, cherimolin-2 y almunequin, han sido aisladas del extracto metanólico bioactivo de las semillas de *Annona cherimolia* (1993) ⁴.
- El extracto de la *Annona muricata* fue el de mayor potencia citotóxica antitumoral entre los extractos de varias Anonáceas estudiadas; este efecto fue medido en el carcinoma de ovario humano SKVO₃, el de faringe humano Fadu, el de útero humano HeLa, el de laringe humano y en el cultivo primario de fibroblasto humano (1998) ⁵.
- La concentración inhibitoria mínima del extracto de *Annona muricata* fue de 1mg/mL, para inhibir el efecto celular del Herpes simplex (HSV-1) en células vero, como indicativo del potencial anti-HSV-1 (1998) ⁶.
- Cuatro acetogeninas han sido extraídas de las semillas de *Annona muricata*: murihexol, antes desconocida, y tres previamente aisladas, donhexocin, annonacin A y annonacin (1998) ⁷.
- Extractos de cáscara de *Annona muricata* en hexano, acetato de etilo y metanol fueron probados in vitro contra *Leishmania braziliensis*, promastigotes de *L. panamensis* y contra la línea celular U-937. El extracto en acetato de etilo resultó más activo que los otros, e incluso que el Glucantime® usado como sustancia de referencia. El fraccionamiento de dicho extracto condujo al aislamiento de tres acetogeninas, annonacin, annonacin A y annomuricin A (2000) ⁸.
- El extracto metanólico de *Annona cherimolia* mostró alta actividad antifúngica contra *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus Niger* y *Candida albicans* (2003) ⁹.
- Un nuevo ciclohexapéptido, el annomuricatin C, fue aislado del extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* (2004) ¹⁰.
- Se extrajo el annomuricatin A, un ciclohexapéptido contenido en las semillas de guanábana (*Annona muricata*) (2007) ¹¹.
- El extracto de la *Annona muricata* mostró actividad contra *Leishmania spp* y *Trypanosoma cruzi*, exhibiendo valores de IC₅₀ por debajo de 25 µg/mL (2007) ¹².

No obstante, las semillas de guanábana y chirimoya son tratadas como desecho y pareciera que no se les puede utilizar en algo provechoso. Por esta razón, este estudio reporta un análisis fisicoquímico detallado de estas semillas, el cual involucra, entre otras cosas, la caracterización del aceite que de ellas se extrae y, además, la identificación y cuantificación de los ácidos grasos que lo componen, con el propósito de determinar su valor nutricional y establecer comparaciones con otras oleaginosas de consumo normal, proponiendo de esta manera una alternativa a la utilización de estos desechos.

2 Materiales y métodos

2.1 Muestras

Las semillas de guanábana y de chirimoya se obtuvieron en la empresa Indupulpas Ltda., ubicada en la ciudad de Cali. Estas se molieron finamente (tamaño de partícula 60 mesh) y secaron a 60° C durante 24 horas, antes de ser empleadas en los análisis fisicoquímicos respectivos.

2.2 Extracción de la fracción lipídica

La fracción lipídica de las semillas de *Annona muricata* y *Annona cherimolia* se extrajo en un aparato Soxhlet, utilizando éter de petróleo (fracción 60-80 °C) y 400 g de la muestra molida y seca. La extracción se realizó durante ocho horas a fin de garantizar la extracción completa del aceite.

En el caso de la guanábana, la extracción del aceite también se llevó a cabo con dióxido de carbono supercrítico en un equipo diseñado en la Universidad del Valle¹⁷.

2.3 Caracterización del extracto lipídico

El aceite obtenido en cada caso se analizó por cromatografía de gases de los ésteres metílicos obtenidos por transesterificación de la grasa usando metanol y trifluoruro de Boro¹⁸, lo que hizo posible la identificación y cuantificación de cada uno de los ácidos grasos presentes en las semillas de ambos frutos. El cromatógrafo de gases empleado fue un Varian 3400 con un sistema de inyección de columnas capilares DB-WAX de 30 m por 0.25 mm y un detector de ionización de llama (FID). La presión del gas de arrastre fue entre 10 y 12 psi. La temperatura inicial de la columna en el análisis fue 120 °C, con una velocidad de calentamiento de 5 °C/min, y al alcanzar 190 °C (a los 12 min) se mantuvo constante durante 4 min. Las temperaturas del inyector y del detector fueron 250 °C y 270 °C, respectivamente. El flujo de hidrógeno fue 30 mL/min, y el de aire 300 mL/min. Los ácidos grasos fueron identificados comparando los tiempos de retención de estándares puros de ácidos grasos y los presentes en las muestras. La cuantificación fue realizada por la normalización de áreas. El software empleado para el análisis cuantitativo fue Konikrom PLUS.

El análisis fisicoquímico del extracto lipídico incluyó también el cálculo del porcentaje de extracto etéreo, la medición del índice de refracción (a 30 °C), del índice de yodo, contenido de fósforo, índice de ácidos grasos y la acidez, como porcentaje de ácido oleico. Estos análisis se realizaron con métodos recomendados por la AOAC¹⁶. Tanto los análisis de ácidos grasos marca Merck como el análisis fisicoquímico del extracto lipídico fueron realizados por triplicado.

3 Resultados y discusión

3.1 Análisis fisicoquímicos de los extractos lipídicos

Los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a los extractos lipídicos de las semillas de guanábana y chirimoya se presentan en la Tabla 1. Se puede observar que existen algunas similitudes entre las semillas de estas Anonáceas, en cuanto a porcentaje de extracto etéreo, índice de refracción e índice de yodo, mientras que en lo que respecta al contenido de fósforo, de ácidos grasos y porcentaje de acidez, la chirimoya muestra valores mucho más altos que la guanábana. El contenido de fósforo del aceite de chirimoya, permitiría afirmar que ésta puede ser una fuente potencial de lecitina mucho mejor que la guanábana. Por su parte, el alto índice de acidez del extracto de esta fruta sugeriría una hidrólisis enzimática previa ¹³.

Tabla 1. Análisis fisicoquímico del extracto lipídico de las semillas de Annona muricata y Annona cherimolia

Análisis	Guanábana (Annona muricata)	Chirimoya (Annona cherimolia)
% Extracto etéreo	22 ± 0.9	22 ± 0.4
Índice de refracción (a 30 °C)	1.4587 ± 0.0001	1.4599 ± 0.0001
Índice de yodo	86.4 ± 0.4	84.7 ± 0.8
Fósforo (ppm)	10.0 ± 1.2	289 ± 0.9
Índice de ácidos grasos (mg NaOH /g)	0.7 ± 0.3	5.7 ± 0.2
Acidez (% ácido oleico)	0.5 ± 0.1	4.0 ± 0.7

La Tabla 2 contiene datos comparativos del análisis fisicoquímico del aceite de otras oleaginosas muy comunes como son el maíz, el algodón, la soya y la palma, junto con los reportados aquí para las semillas de chirimoya y guanábana. Llamen la atención el relativamente alto porcentaje de grasa de las semillas investigadas y su índice de yodo, muy similar al del aceite de oliva y bastante superior al del aceite de palma.

Tabla 2 Datos del análisis fisicoquímico de las fracciones lipídicas de las Anonáceas y de otras oleaginosas comunes ^{13,14}

Fruto o semilla	% de grasa	% de acidez	Índice de yodo	Índice de refracción (a 30 °C)
Guanábana	22	0.51	86.4	1.4587
Chirimoya	22	4.03	84.7	1.4599
Maíz	5	1.00	109 -133	1.4772
Algodón	23	0.30	105 – 114	1.4720
Soya	18	0.50	127 – 138	1.4760
Palma	50	3.00	53 – 60	1.4510
Aceituna	22		85	

3.2 Caracterización del extracto lipídico por cromatografía de gases

En la fracción lipídica de las semillas estudiadas se identificaron los siguientes ácidos grasos saturados e insaturados: mirístico, palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico. Estos fueron cuantificados mediante el análisis de los perfiles cromatográficos obtenidos (ver Tabla 3). Los resultados evidencian que la semilla de chirimoya tiene un

porcentaje de ácidos grasos insaturados mayor que la de guanábana (75.9% y 67.1%, respectivamente) y, por tanto, una concentración menor de ácidos grasos saturados. Con el propósito de evaluar dos métodos diferentes de extracción se realizó el siguiente proceso: solamente para el caso de las semillas de guanábana, la extracción se hizo con dióxido de carbono supercrítico y también por Soxhlet. Aunque hay grandes ventajas en la extracción con FSC CO₂ con respecto a la extracción Soxhlet, tales como la obtención de un aceite libre de contaminantes agregados por el solvente y la inversión de menos tiempo en el proceso de obtención del mismo, en el caso de las semillas de guanábana se aprecia la tendencia a tener porcentajes de ácidos grasos más bajos que al emplear el método Soxhlet, exceptuando los de ácido palmítico y palmitoleico. El porcentaje de ácido mirístico extraído por Soxhlet es el doble que el obtenido por FSC CO₂; el ácido esteárico no se obtiene por FSC CO₂; la concentración de ácido oleico, linoleico y linolénico por fluidos supercríticos es 7.52 %, 14.20% y 40%. 40 % más baja que por Soxhlet, respectivamente. La diferencia podría radicar en que las condiciones de presión y temperatura empleadas no hayan sido las mejores para la extracción FSC CO₂, pues se trabajó a un sólo nivel de estos parámetros.

Tabla 3. Composición de ácidos grasos de las semillas de Annona muricata y Annona cherimolia.

Porcentaje de ácido graso	Guanábana (Annona muricata)		Chirimoya (Annona cherimolia): Extracción Soxhlet
	Por extracción Soxhlet	Por extracción FSC CO ₂	
Mirístico (14:0)	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.3
Palmítico (16:0)	25.3 ± 1.2	31.8 ± 1.2	14.9 ± 0.6
Palmitoleico (16:1)	2.2 ± 0.8	4.5 ± 0.8	0.5 ± 0.2
Esteárico (18:0)	4.2 ± 0.1	-	8.1 ± 0.2
Oleico (18:1)	35.1 ± 0.3	32.5 ± 0.3	50.2 ± 0.8
Linoleico (18:2)	30.5 ± 0.9	26.2 ± 0.9	24.2 ± 0.8
Linolénico (18:3)	1.5 ± 0.4	0.9 ± 0.4	1.6 ± 0.3

De otra parte, similitudes y diferencias en lo que se refiere a contenido de ácidos grasos saturados e insaturados, con otras especies oleaginosas, se pueden establecer a partir de los valores que aparecen en la Tabla 4. Entre las oleaginosas que aparecen en esta tabla, el maíz, el inchi, el girasol, la aceituna y la soya tienen porcentajes totales de ácidos grasos insaturados mayores que las semillas de chirimoya y guanábana; el aceite de palma y el de pulpa de chontaduro, por el contrario, tienen porcentajes de ácidos grasos insaturados menores que éstas semillas Anonáceas. El contenido de ácidos linolénico y linoleico en estas semillas, los cuales son esenciales para el ser humano, las ubica en un punto intermedio entre las oleaginosas más comunes; tanto las semillas de guanábana como las de chirimoya son más ricas en estos compuestos que los aceites de pulpa de chontaduro¹⁵, palma¹³ y oliva¹³, pero menos que los aceites de girasol¹⁴, maíz¹⁴, soya¹⁴ e inchi¹⁴. La concentración de ácido oleico en las semillas de chirimoya, que es mayor que en las semillas de guanábana, se asemeja a la que se ha reportado para el aceite de los ecotipos rojo cauca, rojo costeño y verde costeño del chontaduro¹⁵; las semillas de guanábana tienen un porcentaje de ácido oleico promedio equiparable al encontrado en el aceite de girasol, el de palma y el del ecotipo amarillo costeño de chontaduro¹⁵.

La concentración promedio total de ácidos grasos saturados hallada en las semillas de éstas Anonáceas es menor que la registrada en la literatura para los aceites de palma¹³ y de chontaduro¹⁵ (ver Tabla 4); sin embargo, sobrepasa la de otras oleaginosas como la soya, la aceituna, el inchi, el maíz y el girasol¹⁴, en una proporción relativa alta.

Tabla 4 Contenido de ácidos grasos saturados e insaturados de las Anonáceas y de otras oleaginosas comunes ^{13, 14, 15}

Fruto o semilla	% ácidos grasos insaturados	% oleico	% linoleico	% linolénico	% ácidos grasos saturados	% palmítico	% esteárico
Guanábana	67.1	35.1 ± 0.3	30.5 ± 0.9	1.5 ± 0.4	33.7	29.5 ± 1.2	4.2 ± 0.1
Chirimoya	75.9	50.2 ± 0.8	24.2 ± 0.8	1.5 ± 0.3	22.9	14.8 ± 0.6	8.1 ± 0.2
Maíz	86.1	26.6 ± 1.3	58.7 ± 1.3	1.8 ± 0.9	13.9	11.5 ± 1.0	2.2 ± 0.4
Soya	84.6	26.7 ± 0.1	51.4 ± 0.3	6.5 ± 1.2	15.4	11.3 ± 0.8	4.1 ± 0.6
Inchi	89.4	14.2 ± 0.4	72.7 ± 1.6	2.5 ± 0.6	10.6	6.9 ± 0.7	3.7 ± 0.7
Oliva	88.0	67.0-81.0	3.5-14.5	0.3-1.2	12.0		
Girasol	90.0	30.0 ± 1.2	60.0 ± 0.9	4.0 ± 0.5	10.0		
Palma	49.8	39.0 ± 0.4	10.5 ± 0.7	0.1-0.3	50.2		
Chontaduro (pulpa)	58.3-63.9	38.0-51.9	2.4-8.6	0.2-1.5	36.1-41.7	34.0-39.9	1.0-1.6

4 Conclusiones

Los análisis fisicoquímicos de los aceites de semilla de guanábana y semilla de chirimoya revelan similitudes entre estas, en cuanto a porcentaje de extracto etéreo, índice de refracción e índice de yodo; y diferencias en cuanto al contenido de fósforo, de ácidos grasos y porcentaje de acidez, en los que la chirimoya muestra valores mucho más altos que la guanábana. Incluso, la cantidad de fósforo presente en las semillas de chirimoya indica que éstas serían una fuente potencial de lecitina mucho mejor que las de guanábana.

El análisis cromatográfico de los aceites de estas semillas permitió identificar en ellos los ácidos grasos mirístico, palmítico, esteárico, palmitoleico, oleico, linoleico y linolénico. Es de resaltar que el contenido de ácidos linolénico y linoleico en estas semillas, los cuales son esenciales, las ubica con contenidos similares entre las oleaginosas más comunes: las semillas de guanábana y las de chirimoya son más ricas en estos compuestos que los aceites de pulpa de chontaduro, palma y oliva, pero menos que los aceites de girasol, maíz, soya e inchi. De otro lado, la concentración de ácido oleico, importante ácido graso monoinsaturado, es más alta en las semillas de chirimoya que en las de guanábana y, en ambos casos, no supera la del aceite de oliva; pero, en lo que se refiere a la guanábana, ésta es muy similar a la del aceite de palma y girasol y, en la chirimoya, a la del aceite de los ecotipos rojo cauca, rojo costeño y verde costeño del chontaduro (pulpa).

En ese orden de ideas, sería interesante estudiar la posibilidad de utilizar estas semillas, que actualmente constituyen un subproducto industrial, en la extracción de su aceite y determinar sus efectos nutricionales, así como sus posibilidades en el mercado de las oleaginosas.

Referencias bibliográficas

- [1] Garzón, Sandra Patricia. 1996, Tesis Obtención de Metabolitos Secundarios del Extracto Polar de la Semilla de *Annona muricata* (Guanábana). Departamento de Química- Facultad de Ciencias- Universidad del Valle - Cali. pp. 1-10.
- [2] Chen, Weichiu. 1995, An introduction to several methods of vicarism biogeography, *Journal of Tropical and Subtropical Botany* (ISSN: 1005-3395), 3(2): 19-35
- [3] Cortés, Diego; Myint, Saw H.; Hocquemiller, Reynald. 1991 Molvizarin and motrilin: Two novel cytotoxic bis-tetrahydro-furanic γ -lactone acetogenins from *Annona cherimolia*, *Tetrahedron* (ISSN: 0040-4020), 47 (38) : 8195-8202.
- [4] Cortés, Diego; Myint, Saw H. ; Dupont, Béatrice; Davoust, Daniel. 1993, Bioactive acetogenins from seeds of *Annona cherimolia*, *Phytochemistry*, (ISSN: 0031-9422), 32 (6): 1475-1482.
- [5] Amaro, M.I.; Orfila, L.; Colman, T., 1998 Cytotoxic effects in vitro of the extracts of plants from Annonaceae in tumoral and normal cell-Poster *Toxicology Letters* (ISSN: 0378-4274), 95 (supplement 1): 153.
- [6] Padman, P.; Pramod, N.P.; Thyagarajan, P.; Khosa, R.L., 1998 Effect of the extract of *Annona muricata* and *Petunia nyctaginiflora* on Herpes simplex virus *Journal of Ethnopharmacology* (ISSN: 0378-874), 61 (1): 81-83.
- [7] Jing-Guang, Yu.; Hua-Qing, Gui.; Xiu-Zhen, Luo and Sun, Lan, 1998 Murihexol, a linear acetogenin from *Annona muricata* *Phytochemistry*, (ISSN: 0031-9422), 49 (6): 1689-1692.
- [8] Jaramillo, M.C.; Arango, G.J.; González, M.C.; Robledo, S.M.; Vélez, L.D., 2000 Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* pericarp *Fitoterapia* (ISSN: 0367-326X), 71 (2) : 183-186.
- [9] Navarro García, V.M.; González A.; Fuentes M.; Aviles, M.; Rios, Y. ; Zepeda, G. and Rojas, M.G., et al. 2003, Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants *Journal of Ethnopharmacology* (ISSN: 0378-8741), 87 (1): 85-88
- [10] Wélé, Alassane; Yanjun, Zhang; Caux, Christelle; Brouard, Jean-Paul; Pousset Jean-Louis and Bodo, Bernard, 2004, Annomuricatin C, a novel cyclohexapeptide from the seeds of *Annona muricata*, *Comptes Rendus Chimie* (ISSN: 1631-0748), 7 (10-11): 981-988
- [11] Wu, Li; Lu, Yang, Zheng; Qi-Tai; Tan, Ning-Hua; Li, Chao-Ming; and Zhou, Jun, 2007, Study on the spatial structure of annomuricatin A, a cyclohexapeptide from the seeds of *Annona muricata* *Journal of Molecular Structure* (ISSN: 0022-2860), 827 (1-3): 145-148.

- [12] Osorio, Edison; Arango, Gabriel Jaime; Jiménez, Nora; Alzate, Fernando; Ruiz, Grace; Gutiérrez, David; Paco, Marco Antonio; Giménez, Alberto and Robledo, Sara, 2007, Antiprotozoal and cytotoxic activities *in vitro* of Colombian Annonaceae *Journal of Ethnopharmacology (ISSN: 0378-874)*, 111 (3): 630-635
- [13] Primo Yúfera, Eduardo, 1979: Química Agrícola III, Alimentos. Editorial Alhambra, p. 161, 178-179
- [14] Kirk, Ronald S.; Sawyer, Ronald; Egan, Harold, 1996, Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. 2ª ed. (ISBN 9682612640), Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V.: México
- [15] Restrepo, Jaime.; Estupiñán, Jaime Andrés, 2007, Potencial del chontaduro (*Bactis gasipeas* H.B.K.) como fuente alimenticia de alto valor nutricional en países tropicales, *Revista de Ciencias(0120-1935) 11:1-8*
- [16] AOAC. Moisture in nuts and nut products. Method 925.40. In: Official methods of analysis, 16th edition. Software ® Adobe and E-DOC/CJS. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists International, 1997.
- [17] Restrepo, Jaime; Vinasco, Luz Elena; Jaramillo, Lorena; Colmenares, Ana Julia, 2009, Ingeniería y Competitividad, 11(2):9-19
- [18] Thompson A. Comparison of different methods for preparation of fatty acid methyl esters from fish lipids, Torry document 1457. Aberdeen, Scotland: Torry Research Station, 1980.

Dirección de los autores

Jaime Restrepo

Departamento de Química- Universidad del Valle, Cali - Colombia

jarestre@univalle.edu.co

Luz Elena Vinasco

Departamento de Ingenierías

Pontificia Universidad Javeriana, Cali - Colombia

levinasco@puj.edu.co