

**CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES *E. guineensis*, *E. oleifera* E HÍBRIDO
(*E. oleifera* X *E. guineensis*) DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE
CENIPALMA, RESPECTO A LA ACTIVIDAD LIPÁSICA Y LA CALIDAD DEL
ACEITE**

TATIANA CADENA CALA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2012

**CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES *E. guineensis*, *E. oleifera* E HÍBRIDO
(*E. oleiferax E. guineensis*) DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE
CENIPALMA, RESPECTO A LA ACTIVIDAD LIPÁSICA Y LA CALIDAD DEL
ACEITE**

TATIANA CADENA CALA

**Trabajo de grado presentado para optar al título de
Magíster en Química**

Directora

Janeth Aidé Perea Villamil

Química, Magister en Química, Doctora en Química

Codirector

Fausto Prada Chaparro

Químico

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2012

DEDICATORIA

“A mis padres Omar y Janneth a quienes debo todo en la vida, a mis queridos hermanos Vladimir y María Fernanda y a mi eterno amor, Juan Fernando”.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que siempre ha guiado mis pasos y ha llenado mi vida de bendiciones,

A Los entes financiadores de este proyecto: Colciencias, Universidad Industrial de Santander y al Fondo de Fomento Palmero administrado por Fedepalma.

A las entidades ejecutoras del Proyecto: Cenipalma y a la UIS a través del (CICTA).

A mis directores: Dra. Aidé Perea y Fausto Prada, quienes me brindaron la oportunidad de desarrollar este proyecto y me acompañaron siempre con su asesoría y dedicación, contribuyendo enormemente en mi formación como investigadora.

Al personal de campo, personal del Laboratorio de Aceites, personal administrativo y personal de investigación de Cenipalma, quienes amablemente colaboraron en la realización de diferentes actividades necesarias para el desarrollo de este proyecto.

A mis Padres, a mis hermanos y a mi esposo, quienes con sus palabras de aliento y amor incondicional, me ayudaron a superar todos los momentos difíciles y a creer en mis capacidades.

A mis amigos del CICTA por brindarme su amistad y apoyo durante estos 5 años en el grupo y mis compañeros de Cenipalma, quienes me acogieron en Barranca haciendo más agradable la estadía.

TATIANA CADENA CALA

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
INTRODUCCIÓN	19
1 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	22
1.1 LA PALMA DE ACEITE	22
1.2 EL FRUTO DE LA PALMA DE ACEITE	23
1.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FRUTO Y DEL ACEITE DE PALMA	25
1.4 REACCIONES DE DETERIORO DEL ACEITE	27
1.5 ACTIVIDAD LIPÁSICA EN EL MESOCARPIO DE LA PALMA DE ACEITE	29
1.5.1 Lipasas y su función biológica	29
1.5.2 Lipasa de la palma de aceite	30
1.5.3 Medición de actividad lipásica en el fruto de la palma de aceite	31
1.5.4 Variación de la actividad lipásica con el genotipo de la palma de aceite	32
1.6 PROGRAMAS DE MEJORAMIENTO GENÉTICO	33
2 DESARROLLO EXPERIMENTAL	36
2.1 EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIAL VEGETAL	36
2.2 DISEÑO METODOLÓGICO	37
2.3 ESTANDARIZACIÓN DEL MUESTREO	37
2.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPÁSICA EN EL EXTRACTO DE MESOCARPIO	40
2.4.1 Obtención del extracto de mesocarpio	40
2.5 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPÁSICA DEL FRUTO MEDIANTE ENSAYO <i>in situ</i>	41
2.6 EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD LIPÁSICA Y CARACTERIZACIÓN DE ACEITES EN LAS COLECTAS	42
2.6.1 Toma de muestras y extracción de aceites	43
2.7 MÉTODOS DE ANÁLISIS	46
2.7.1 Medición de la actividad lipásica por método pH-STAT	46
2.7.2 Medición de actividad lipásica <i>in situ</i>	46
2.7.3 Perfil de triglicéridos	47
2.7.4 Determinación del contenido de aceite en el mesocarpio	47
2.7.5 Determinación del contenido de vitamina E y caroteno por HPLC	48
2.7.6 Determinación del perfil de ácidos grasos	48
2.8 ANALISIS DE DATOS	48

3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
3.1	MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPÁSICA	51
3.1.1	<i>Actividad lipásica en el extracto de mesocarpio</i>	51
3.1.2	Evaluación de actividad lipásica <i>in situ</i>	55
3.1.3	Análisis de triglicéridos	58
3.1.4	Correlación entre las dos metodologías de medición de actividad lipásica	59
3.2	EVALUACIÓN DEL BANCO DE GERMOPLASMA	61
3.2.1	Actividad lipásica	61
3.2.2	Contenido de aceite	66
3.2.3	Caracterización de aceites	73
3.3	CONTRIBUCIÓN AL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE CENIPALMA	87
4	CONCLUSIONES	91
5	RECOMENDACIONES	93
6	BIBLIOGRAFÍA	94
	ANEXOS	100

LISTA DE TABLAS

		Pág
Tabla 1	Composición de ácidos grasos característica del aceite de palma de <i>E. guineensis</i>	26
Tabla 2	Diseño experimental del efecto del muestreo sobre la actividad lipásica	39
Tabla 3	Materiales comerciales <i>E. guineensis</i> y de OxGevaluados en el ensayo de variedades	43
Tabla 4	Promedio de actividad lipásica por sección del racimo.	50
Tabla 5	Contenido de aceite en mesocarpio y en polvo de mesocarpio seco	55
Tabla 6	Actividad lipásica y actividad específica en extractos de <i>E. guineensis</i> , <i>E. oleifera</i> e híbrido (OxG)	55
Tabla 7	Cambio en la composición de los principales triglicéridos en frutos de <i>E. guineensis</i> , <i>E. oleifera</i> y OxG, durante el tratamiento de activación de la enzima por enfriamiento.	58
Tabla 8	Actividad lipásica y actividad <i>in situ</i> en extractos de <i>E. guineensis</i> , <i>E. oleifera</i> e híbrido (OxG).	60
Tabla 9	Contenido de aceite en mesocarpio, aceite en fruto y actividad lipásica en la colecta de <i>E. guineensis</i> (Angola)	67
Tabla 10	Contenido de aceite en fruto, aceite en mesocarpio y actividad lipásica para los materiales del ensayo de variedades	69
Tabla 11	Contenido de aceite en mesocarpio y aceite en fruto en materiales híbridos	70
Tabla 12	Coeficientes de correlación simples entre la actividad lipásica y los contenidos de aceite en fruto y aceite en mesocarpio fresco, en híbridos OxG.	71
Tabla 13	Contenido de aceite en mesocarpio fresco y aceite en fruto para las familias de <i>E. oleifera</i> .	72
Tabla 14	Variación del contenido de aceite en mesocarpio fresco en diferentes colectas de <i>E.oleifera</i>	73
Tabla 15	Valores promedio para principales ácidos grasos del aceite por tipo de palma evaluada	74
Tabla 16	Valores promedio de los principales ácidos grasos para las familias de la colecta de <i>E.guineensis</i> de Angola.	76

Tabla 17	Valores promedio de los principales ácidos grasos para los materiales del ensayo de variedades	78
Tabla 18	Contenidos promedio y rangos de variación para el contenido de los principales ácidos grasos en el aceite de los materiales OxG.	79
Tabla 19	Coeficientes de correlación simples entre la actividad lipásica y la composición de ácidos grasos en la población de híbridos OxG.	79
Tabla 20	Composición de ácidos grasos de Colectas de <i>E. oleifera</i>	80
Tabla 21	Valores promedio y rango de variación de vitamina E y caroteno por tipo de palma evaluada	82
Tabla 22	Variación del contenido de vitamina E y carotenos en las familias de la colecta de <i>E. guineensis</i> de Angola.	83
Tabla 23	ANOVA para el contenido de vitamina E y Caroteno en los materiales de del ensayo de variedades.	84
Tabla 24	Promedio vitamina E y carotenos en materiales OxG	85
Tabla 25	Coeficientes de correlación simples entre la actividad lipásica y el contenido de carotenos y vitamina E en la población de híbridos OxG	86
Tabla 26	Palmas de <i>E.oleifera</i> con elevado contenido de vitamina E y de carotenos	87
Tabla 27	Valores promedio para variables evaluadas en las colectas y ensayos del banco de germoplasma	88
Tabla 28	Familias promisorias en la colecta de Angola	88
Tabla 29	Coeficientes de correlación simple entre las variables evaluadas en la población de híbridos OxG.	89

LISTA DE FIGURAS

		Pág
Figura 1	Fruto de la palma de aceite	24
Figura 2	Estructura química de a) triglicéridos, b) glicerol y c) ácidos grasos	25
Figura 3	Reacción de hidrólisis de TAGs catalizada por lipasas	28
Figura 4	Secciones de muestreo del racimo. A) Posición vertical, B) Posición vertical	39
Figura 5	Proceso de obtención del polvo de mesocarpio	41
Figura 6	Actividad lipásica en extractos con solventes, extracto en buffer fosfato y polvo de mesocarpio.	52
Figura 7	Variación de la actividad lipásica en extractos con solventes después de dos extracciones sucesivas.	53
Figura 8	Hidrólisis de los TG del aceite de oliva en función del tiempo para los diferentes extractos crudos evaluados.	54
Figura 9	Variación de la formación de AGL con la temperatura para frutos de <i>E.guineensis</i> , <i>E.oleífera</i> e híbrido.	56
Figura 10	Variación de la formación de AGL con la temperatura, en frutos de <i>E.guineensis</i> completos y frutos cortados.	57
Figura 11	Variación de la actividad lipásica en las familias de la Colecta de <i>E. guineensis</i> (Angola).	62
Figura 12	Variación de la actividad lipásica en los materiales <i>E.guineensis</i> tenera del ensayo de variedades.	63
Figura 13	Distribución de frecuencias de la actividad lipásica en población de materiales híbridos (OxG).	64
Figura 14	Valores promedio de actividad lipásica por tipo de material evaluado	65
Figura 15	Distribución de frecuencias del (A) contenido de aceite en fruto y B) Contenido de aceite en mesocarpio fresco, en población de materiales híbridos (OxG).	71
Figura 16	Variación del contenido de vitamina E, en los materiales del ensayo de variedades	85

LISTA DE DIAGRAMAS

		Pág
Diagrama 1	Diseño metodológico	38
Diagrama 2	Procedimiento de análisis de racimos	45

LISTA DE ANEXOS

		Pág
Anexo A	Perfil cromatográfico de TAG de lípidos obtenidos de I) Frutos frescos de palma de aceite mantenidos a temperatura ambiente y II) Frutos expuestos a 5°C durante toda la noche.	100
Anexo B	Perfil de ácidos grasos obtenido por GC, acoplado a detector FID, para muestras de aceite crudo de I) <i>E. guineensis</i> , II) híbrido OxG y III) <i>E. oleifera</i> .	101
Anexo C	Perfil de I) carotenos y II) tocoferoles y tocotrienoles, obtenido por cromatografía líquida HPLC, para aceite de <i>E. guineensis</i> .	103
Anexo D	Perfil de I) carotenos y II) tocoferoles y tocotrienoles, obtenido por cromatografía líquida HPLC, para aceite de <i>E. oleifera</i> .	104
Anexo E	Perfil de I) carotenos y II) tocoferoles y tocotrienoles, obtenido por cromatografía líquida HPLC, para aceite de Híbrido OxG	105

LISTA DE ABREVIATURAS

AcF	Aceite en Fruto
ADN	Ácido dexosirribonucleico
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción amplificados).
AGI	Ácidos Grasos Insaturados
AGL	Ácidos Grasos libres
AGMI	Ácidos Grasos Monoinsaturados
AGPI	Ácidos Grasos Poliinsaturados
AGS	Ácidos Grasos Saturados
AMF	Aceite en Mesocarpio Fresco
ANOVA	Analysis of Variance (Análisis de Varianza)
AOCS	American Oil Chemists Society (Sociedad Americana de Químicos de Aceite)
C	Carbonos
CENIPALMA	Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite
CICTA	Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos
CM	Cuadrados Medios
<i>E. guineensis</i>	<i>Eleais guineensis</i>
<i>E. oleifera</i>	<i>Eleais oleifera</i>
FEDEPALMA	Federación Nacional de Palmicultores
FID	Flame Ionization Detector (Detector de ionización en llama)
GC	Gas Chromatography (Cromatografía de Gases)
GL	Grados de Libertad
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía líquida de alta eficiencia).
L	Ácido Linoleico
LU	Lipase Units (Unidades de Lipasa)

M	Ácido Mirístico
MPOB	Malaysian Palm Oil Board (Junta Malaya de Aceite de Palma)
NIFOR	Nigerian Institute for Oil Palm Research (Instituto de Investigación en Palma de Aceite de Nigeria)
O	Ácido Oleico
OxG	<i>Eleais oleifera x Eleais guineensis</i>
P	Ácido Palmítico
p.m	Polvo de mesocarpio seco
PORIM	Palm Oil Research Institute of Malaysia (Instituto de Investigación de Palma de Aceite de Malasia)
S	Ácido Esteárico
SSR	Short Sequence Repeat (microsatélites)
TG	Triglicérido
UV	Ultra Violeta

RESUMEN

TÍTULO:

CARACTERIZACIÓN DE LAS COLECTAS DE *E. guineensis*, *E. oleifera* E HÍBRIDO (*E. oleifera* x *E. guineensis*) DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE CENIPALMA, RESPECTO A LA ACTIVIDAD LIPÁSICA Y LA CALIDAD DEL ACEITE.*

AUTOR:

Cadena Cala, Tatiana**

PALABRAS CLAVES:

Palma de aceite, mesocarpio, lipasa, actividad lipásica, ácidos grasos libres (AGL).

DESCRIPCIÓN:

Uno de los principales criterios de calidad en el aceite crudo de palma es el contenido de ácidos grasos libres (AGL). La formación de AGL en el fruto se debe principalmente a la acción hidrolítica de la lipasa del mesocarpio (EC 3.1.1.3). Con el propósito de seleccionar materiales genéticos de palma de aceite con baja actividad lipásica y que adicionalmente produzcan aceite de mejor calidad, se evaluó la actividad lipásica, el contenido de aceite, el perfil de ácidos grasos y el contenido de vitamina E y carotenos, en las colectas de *E. guineensis*, *E. oleifera* e híbrido (OxG), de Cenipalma. Para la evaluación de la actividad lipásica se optimizó previamente una metodología de análisis, en donde se encontró que la lipasa del mesocarpio presenta una fuerte activación *in situ* a bajas temperaturas (5°C). Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que la mayor actividad lipásica *in situ* la presentan los materiales *E. guineensis* (46,4% AGL), seguida de los híbridos OxG (31,5% AGL) y de los materiales *E. oleifera* (0,5% AGL). Para *E. guineensis* y *E. oleifera* se encontró poca variabilidad entre genotipos de una misma colecta, mientras que para el híbrido OxG se encontraron amplios rangos de variación entre palmas de un mismo origen (0,8%-58,5% AGL). En relación a la calidad del aceite, se destacaron los materiales de *E. oleifera* por presentar el mayor contenido de vitaminas y de ácidos grasos monoinsaturados y los híbridos por presentar el mayor contenido de ácido oleico. También se logró establecer una correlación entre la composición de ácidos grasos y la actividad lipásica en el mesocarpio. Finalmente, la realización de este trabajo permitió la selección de familias promisorias para mejoramiento en la colecta de *E. guineensis*-Angola y la identificación de palmas del híbrido OxG con características sobresalientes.

*Proyecto de grado

**Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Directora: Janeth Aidé Perea Villamil. Codirector: Fausto Prada Chaparro.

ABSTRACT

TITLE:

CHARACTERIZATION OF COLECTIONS OF *E. guineensis*, *E. oleifera* AND HYBRID (*E. oleifera* x *E. guineensis*) FROM THE CENIPALMA GENE BANK IN TERMS OF LIPASE ACTIVITY AND OIL QUALITY.*

AUTHOR:

Cadena Cala, Tatiana**

KEY WORDS:

Oil palm, mesocarp, lipase, lipase activity, Free Fatty Acids (FFA).

DESCRIPTION:

One of the main criteria of quality of crude palm oil is the free fatty acids (FFA) content. Formation of FFA in the fruit is mainly attributed to the hydrolytic action of the mesocarp lipase (EC 3.1.1.3). In order to find genotypes with low lipase activity and high oil quality, we measured lipase activity, oil content, fatty acids profile, vitamin E and carotene content, in samples of *E. guineensis*, *E. oleifera* and hybrid (OxG) from Cenipalma oil palm collections. The previous optimization of lipase activity evaluation was necessary. We found that mesocarp lipase is activated *in situ* at low temperatures (5°C). Results obtained in this study shown that *E. guineensis* materials have the highest lipase activity (46,4% FFA), followed by the hybrid OxG (31,5% FFA) and by *E. oleifera* materials (0,5% FFA). For *E. guineensis* and *E. oleifera*, we found a low variation in lipase activity between genotypes of the same specie, while the hybrid OxG showed a wide variation between palms of the same origin (0,8%-58,5% FFA). In terms of oil quality, *E. oleifera* materials were the most prominent, because they showed the highest content of vitamins and monounsaturated fatty acids. The hybrids OxG exhibited the highest content of oleic acid. We also established an important correlation between lipase activity and mesocarp fatty acid composition. Finally, the development of this work, allowed us the selection of promising *E. guineensis*-Angola families for breeding programs, and the identification of hybrid palms OxG with outstanding features.

*Research Work, Master in Chemistry Thesis

** Faculty of sciences, Department of Chemistry. Directed by: Janeth Aidé Perea Villamil. Co-directed by: Fausto Prada Chaparro.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el consumo de aceite de palma en el mundo ha incrementado notablemente, llegando a 39,3 millones de toneladas en el año 2009. La gran demanda por este producto ha hecho que hoy en día abarque el 30% de la producción mundial de aceites vegetales, superando incluso al aceite de soya [1]. El auge del aceite de palma también se ha visto reflejado a nivel nacional, donde el número de hectáreas sembradas alcanza las 350 mil y la producción anual de aceite supera las 802 mil toneladas, lo que ha permitido ubicar a Colombia como el primer productor de aceite de palma en Latinoamérica y el quinto a nivel mundial después de Malasia, Tailandia, Indonesia y Nigeria [2]

La alta eficiencia de esta agroindustria y factores como la versatilidad y estabilidad del aceite de palma que es considerado como saludable por no requerir procesos de hidrogenación, han contribuido a su posicionamiento en mercados como el de China, la Unión Europea y la India, entre otros [3]. Por esta razón, el mejoramiento y control de la calidad del aceite producido son un reto para los productores y procesadores de aceite de palma que deben mantenerse en el mercado.

Uno de los principales criterios para asegurar la calidad del aceite de palma es el contenido de ácidos grasos libres (AGL), que para el aceite crudo usado en la producción de biodiesel debe ser inferior al 3%, mientras que para el aceite refinado usado para el consumo humano debe ser inferior a 0,3%, según la normatividad internacional [4].

La formación de AGL en el aceite de palma, se da cuando los triglicéridos presentes en el mesocarpio sufren reacciones de hidrólisis por acción de las lipasas que están presentes de forma natural en el fruto [5]. La acidez que puede llegar a ser del 8%, ocasiona enormes pérdidas económicas durante la extracción y refinación del aceite, porque disminuye su rendimiento y hace más difíciles y costosos los procesos.

Estudios llevados a cabo por grupos de investigación en Malasia [6] y en Camerún [7] han establecido que la actividad de la lipasa del fruto de la palma de aceite es dependiente de la variedad genética, lo cual es de gran interés para la selección y mejoramiento de nuevas variedades genéticas, con el fin de producir aceite de mejor calidad.

A nivel nacional, Cenipalma cuenta con un banco de germoplasma con colectas de *E. oleifera* y colectas de *E. guineensis* realizadas en Angola y Camerún, además de híbridos interespecíficos OxG y de diferentes materiales comerciales de *E.guineensis* var. *tenera*. Para contribuir a su caracterización y teniendo en cuenta la aparente variación de la actividad lipásica con el genotipo, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad lipásica y la composición del aceite en las diferentes colectas del banco de germoplasma, con el fin de identificar familias que produzcan aceite de mejor calidad y de establecer posibles correlaciones entre los parámetros evaluados.

Los resultados obtenidos en este estudio, mostraron una amplia diferencia en la actividad lipásica entre las especies *E. oleifera* y *E.guineensis*, más no entre genotipos de una misma especie. En cuanto a los materiales híbridos OxG, se encontró una alta variabilidad, incluso entre palmas de un mismo origen, lo cual es de gran interés teniendo en cuenta la poca información que se tiene sobre estos materiales y su actual propagación en el país.

La evaluación de la actividad lipásica en el recurso biológico de Cenipalma, junto con la evaluación del contenido de aceite y la composición del mismo, permitió conocer el comportamiento de las diferentes colectas y materiales genéticos, así como la identificación de algunas familias promisorias para la posterior evaluación en los programas de mejoramiento. A futuro, esta información podrá ser aplicada en la selección de progenitores que generen un aceite de mayor calidad y con baja formación de AGL; aspectos que ayudarán a mejorar la competitividad del sector palmicultor.

La propagación de materiales genéticos de palma de aceite con baja formación de ácidos grasos libres podría ayudar a reducir el promedio actual de acidez (2,5%) del aceite crudo de palma nacional. En términos económicos, la reducción de la acidez en al menos un punto porcentual, podría significar ganancias para el sector palmicultor de 20 mil millones de pesos al año, asumiendo una producción anual de 770,000 toneladas, con un costo de 1,5 millones de pesos por tonelada de aceite [8].

Resultados parciales de este proyecto, se presentaron en el XVI congreso Latinoamericano de Ciencia y Tecnología de Alimentos ACTA-ALACTA (2010) y en el 43 Congreso mundial de Química de la IUPAC (2011). Adicionalmente los avances del proyecto han sido divulgados en las reuniones semestrales del Fondo de Fomento Palmero (2010-2011), de la Federación nacional de Palmicultores FEDEPALMA.

Este trabajo hace parte del macro proyecto “Selección de genotipos de palma de aceite con baja actividad lipásica orientado a generar materiales con mejor calidad de aceite”, financiado por COLCIENCIAS, la Universidad Industrial de Santander y el Fondo de Fomento Palmero, administrado por Fedepalma. El desarrollo experimental se llevó a cabo en el Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICTA) y en el Laboratorio de Bioquímica y caracterización de aceites de Cenipalma, ubicado en el campo experimental Palmar de la Vizcaína (Barrancabermeja).

1. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

1.1 LA PALMA DE ACEITE

La palma de aceite es un cultivo perenne propio de climas tropicales, que crece en suelos por debajo de los 500 metros sobre el nivel del mar. Esta planta es una monocotiledónea del orden Palmales, perteneciente a la familia Palmaceae y clasificada en el género *Elaeis*. El género *Elaeis* comprende las especies *Elaeis guineensis* y *Elaeis oleifera*, siendo los materiales genéticos de *E. guineensis* los que se cultivan comercialmente a nivel mundial [9, 10].

La especie *E. guineensis* Jacq. es originaria del este de África y comprendeseis tipos de palmas entre los que se encuentran la albescens, ladura, lapisifera, lanigrescens, la teneraylavirescens. El tipo de palma más cultivada en las plantaciones del mundo desde 1961 y a su vez la más cultivada en Colombia, es el híbrido tenera (dura x pisifera), del cual se obtiene el más alto rendimiento de aceite por hectárea de todos los cultivos de oleaginosas (4,5 t de aceite/ Ha) [9, 11].

Por otro lado, la especie *Elaeis oleifera*, comúnmente conocida como Noli o palma americana de aceite, es nativa de países de centro y sur América como Colombia, Panamá, Perú, Ecuador, Brasil y Costa Rica. Esta especie es un pariente cercano de *E. guineensis* y crece tanto en zonas muy húmedas e incluso pantanosas como en las orillas de los ríos. La planta es morfológicamente similar a la palma Africana, principalmente en cuanto a su forma y aspectos de producción; sin embargo, a diferencia de *E. guineensis*, presenta una baja formación de frutos fértiles por racimo (30% frutos fértiles/racimo), así como una baja producción de aceite en el mesocarpio y menor proporción de mesocarpio/fruto, lo que hace que esta especie carezca de interés comercial [9].

A pesar de la baja productividad de *E. oleifera*, esta especie exhibe diferentes ventajas sobre la palma Africana de aceite. Una de sus principales características es la alta calidad de su aceite, rico en ácidos grasos oleico y linoleico, además de

sustancias funcionales como vitaminas (vitamina E y provitamina A) y fitoesteroles (9). Algunas otras ventajas de esta especie son su adaptabilidad a ecosistemas normalmente marginales para la palma africana, su menor crecimiento en altura (5-10 cm.año⁻¹) y su alta tolerancia a plagas y enfermedades registradas comúnmente en *E. guineensis*[12].

Con el fin de aprovechar las ventajas de la palma americana de aceite, una de las principales aplicaciones que se le ha dado recientemente, es en la transmisión de sus caracteres genéticos de interés a través de cruces interespecíficos con *E. guineensis*, esto teniendo en cuenta que las dos especies tienen el mismo número de cromosomas somáticos y pueden hibridar fácilmente [10, 13].

Los híbridos interespecíficos OxG (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*), se han originado a partir de madres *E. oleifera* de origen brasilero (Coarí) y de origen colombiano (Sinú), fecundados con polen de padres *E. guineensis* de la variedad pisifera [12]. Estos cruzamientos presentan características de interés agronómico mejoradas como lo son el lento crecimiento del tallo, la adecuada producción de racimos (30 t de racimos. Ha⁻¹. año⁻¹), la mejor calidad de su aceite y la tolerancia natural a las enfermedades y plagas de América tropical. Especialmente por su resistencia a enfermedades, en países como Colombia y Ecuador, este material se ha presentado como una solución a los diferentes problemas fitosanitarios y de calidad de aceite que tiene el cultivo de la especie *E. guineensis*[12, 14].

1.2 EL FRUTO DE LA PALMA DE ACEITE

El fruto de la palma de aceite está constituido por una capa delgada llamada exocarpio, la cual rodea el mesocarpio (pulpa) de donde se obtiene el aceite crudo de palma y por el endocarpio (cuesco) que encierra el endosperma (almendra) de la que se obtiene el aceite de palmiste (**Figura 1**).

Las características externas e internas del fruto dependen principalmente de la especie y de la variedad genética. Para *E.guineensis* el fruto de la variedad tipo

dura tiene un endocarpio de más de 2 mm de espesor, mientras que su mesocarpio es generalmente delgado y contiene fibras dispersas. La variedad *pisifera* no tiene endocarpio, la almendra es desnuda y el mesocarpio que no contiene fibras ocupa gran porción del fruto. Esta última variedad produce pocos frutos por racimo, razón por la cual se emplea sólo para mejorar la variedad *dura* mediante cruzamiento. Finalmente la variedad tipo *tenera*, que es el híbrido del cruce entre *dura* y *pisifera*, tiene un endocarpio delgado de menos de 2 mm de espesor y en el mesocarpio se encuentra un anillo con fibras [10].



Figura 1. Fruto de la palma de aceite de *E. guineensis* Jacq.

Los frutos de la Especie *E. oleifera* existen en dos variedades de acuerdo a su color, estas son la variedad roja y la variedad amarilla. Además de su color, los frutos de esta especie se diferencian de los de *E. guineensis* por su tamaño inferior y por tener menor cantidad de mesocarpio. Por otro lado, los frutos del híbrido OxG exhiben características intermedias entre las dos especies progenitoras. La forma y color de los frutos son retenidas de la madre *E. oleifera*, mientras que las características internas dependen de la variedad genética del padre *E. guineensis*. En cuanto al contenido de mesocarpio, aunque este es mayor en los híbridos que en la palma africana, su contenido promedio de aceite oscila entre 3 y 4%[9].

1.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FRUTO Y DEL ACEITE DE PALMA

El mesocarpio del fruto de la palma de aceite está constituido en un 48% por agua, en un 1% por proteína, en un 20% por fibra y en un 39% por aceite o material lipídico [11]. La composición del mesocarpio, especialmente el contenido de aceite, varía notablemente de acuerdo con el estado de maduración del fruto. Se ha encontrado que la acumulación de lípidos en las células del mesocarpio inicia 15 semanas después de anthesis y continúa durante la maduración del fruto hasta las 20 semanas después de anthesis[15].

El aceite extraído del mesocarpio está constituido en un 95% por triglicéridos (TG), que son lípidos conformados por moléculas de glicerol que tienen esterificados sus grupos hidroxilo con tres ácidos grasos saturados o insaturados (**Figura 2**). Además de los TG, otros lípidos presentes en el aceite son los monoglicéridos, los diglicéridos y los ácidos grasos libres (AGL). Estos compuestos son productos de la biosíntesis de TG y de la actividad lipolítica.

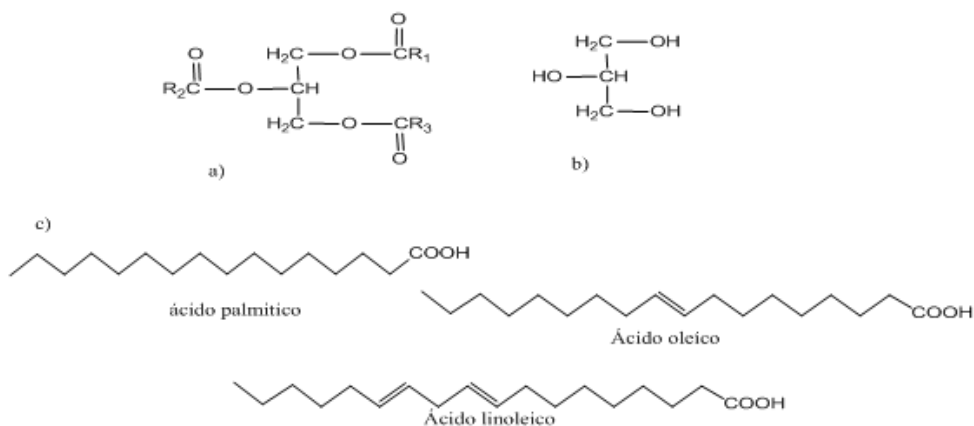


Figura 2. Estructura química de a) triglicéridos, b) glicerol y c) ácidos grasos

Los principales ácidos grasos que constituyen el aceite de palma son el mirístico, el palmítico, el oleico, el linoleico y el esteárico, siendo el oleico y el palmítico los que se encuentran en mayor proporción (**Tabla 1**). Los ácidos grasos palmítico y

esteárico son saturados y le confieren un alto punto de fusión al aceite, mientras que el oleico y el linoleico por ser insaturados confieren un bajo punto de fusión [16]. La relación entre ácidos grasos saturados e insaturados en el aceite de palma obtenido de *E. guineensis* es aproximadamente igual, mientras que el aceite de *E. oleífera* y del híbrido OxG se caracterizan por una mayor proporción de ácidos grasos insaturados [10].

Además de los compuestos derivados de los ácidos grasos, el aceite de palma tiene un grupo de componentes minoritarios conformado por esteroides, triterpenos, alcoholes, tocoferoles, tocotrienoles, fosfolípidos, clorofilas, carotenos y diferentes compuestos volátiles. De este grupo de compuestos, unos de los más importantes debido a su elevado valor nutricional y actividad antioxidante, son los carotenos y la familia de tocoferoles y tocotrienoles asociados a la vitamina E [10, 16].

Tabla 1. Composición de ácidos grasos característica del aceite de palma de *E. guineensis*.

Ácido grasos	Proporción (%)
C14:0 Mirístico	1,1
C16:0 Palmítico	43,5
C18:0 Esteárico	4,3
C18:1 Oleico	39,8
C18:2 Linoleico	10,2
C18:3 Linolénico	0,3

Fuente: Corley y Tinker [16]

El contenido de vitamina E en el aceite crudo de palma varía en un rango entre 600-1000 ppm y corresponde a una mezcla entre tocoferoles (18-22%) y tocotrienoles (78-82%). Los tocotrienoles más abundantes son el α -tocotrienol (22%), el γ -tocotrienol (46%) y el δ -tocotrienol (12%). En cuanto a los carotenos, su concentración en el aceite crudo oscila entre 700 y 800 ppm. Los principales carotenos en el aceite de palma son el α - y el β -caroteno que representan el 90% de los carotenoides totales [16]. La concentración de estos compuestos varía

ampliamente, dependiendo del color del fruto e incluso varían entre un racimo y otro de una misma palma.

A pesar de que el aceite de palma tiene una alta concentración de vitamina E y de carotenos respecto a los demás aceites vegetales, una gran parte de estos compuestos se pierde durante el refinamiento y blanqueamiento del aceite crudo. En el caso del caroteno se puede perder hasta el 100%, mientras que la vitamina E, se pierde en un 30% aproximadamente[16].

1.4 REACCIONES DE DETERIORO DEL ACEITE

Las grasas y aceites pueden sufrir reacciones de deterioro, que generan cambios organolépticos conocidos como rancidez o enranciamiento. Los procesos de rancidez se pueden generar por hidrólisis y por oxidación de los lípidos.

- **Hidrólisis.** La hidrólisis es una de las reacciones más importantes que sufren los grupos éster de los TG. Durante esta reacción, las moléculas de grasa son divididas y los grupos H^+ y OH^- del agua se adicionan a los enlaces hidrolizados para formar glicerol y AGL (**Figura 3**). En presencia de agua, esta reacción puede ser autocatalítica o catalizada por lipasas, que son enzimas presentes en una gran cantidad de microorganismos también presentes en el mesocarpio del fruto de la palma de aceite [10, 11].

La lipólisis microbiana es causada por microorganismos que entran al fruto y liberan la enzima lipasa. Un prolongado e inadecuado almacenamiento de los frutos puede favorecer la multiplicación de los microorganismos causando la hidrólisis del aceite. La hidrólisis enzimática también puede ser generada por la lipasa endógena del mesocarpio, principalmente cuando los frutos son golpeados, cortados o maltratados durante la post-cosecha [10, 17].

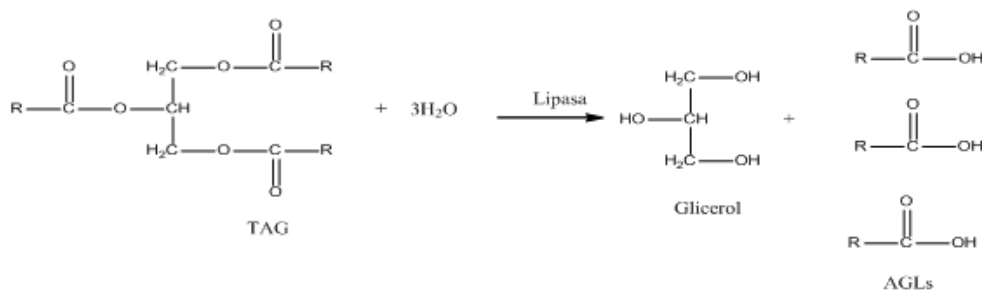


Figura 3. Reacción de hidrólisis de TAGs catalizada por lipasas

Para detener el proceso de hidrólisis del aceite, los frutos son esterilizados al llegar a las plantas de extracción, empleando vapor de agua a alta presión (3kg/cm^2 , 130°C). Este proceso, inactiva la lipasa endógena y elimina todos los microorganismos presentes en el fruto. Posteriormente, durante la refinación del aceite crudo, los AGL son removidos mediante un proceso de destilación con carga al vacío ($2\text{-}5\text{mm Hg}$), empleando vapor de agua entre $240\text{-}270^\circ\text{C}$. Este proceso, permite separar las cetonas, aldehídos y ácidos grasos que tienen un punto de ebullición menor que el de los triglicéridos [9, 18]. Finalmente, el aceite obtenido de este proceso debe tener un contenido de AGL inferior a $0,3\%$, que se considera como apto para el consumo humano [4].

- **Oxidación.** Durante esta reacción, el oxígeno radical en presencia de luz, humedad y trazas de metales, oxida los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados, para formar hidróxidos e hidro-peróxidos que posteriormente se descomponen, dando origen a la formación de aldehídos, cetonas y ácidos de menor peso molecular. Este proceso también es acelerado por la presencia de los AGL generados durante la hidrólisis, los cuales pueden ser oxidados más fácilmente [19].

Los productos de la reacción de oxidación, generan olor, color y sabor desagradable en el aceite, además de ser ligeramente tóxicos para algunas personas; por esta razón, estos compuestos también deben ser removidos durante la refinación del aceite, empleando diferentes procesos de destilación, blanqueamiento, filtrado y desodorizado [18].

1.5 ACTIVIDAD LIPÁSICA EN EL MESOCARPIO DE LA PALMA DE ACEITE

1.5.1 Lipasas y su función biológica. Las lipasas (triacilglicerol acilhidrolasas, E.C. 3.1.1.3) son enzimas ubicuas que se activan cuando son adsorbidas en una interface agua-aceite y participan tanto en reacciones de hidrólisis como de síntesis de lípidos [20]. Estas enzimas se encuentran ampliamente distribuidas en plantas, animales y microorganismos, cumpliendo diferentes funciones en el metabolismo de las grasas. En las plantas están asociadas a los tejidos de reserva de energía de las semillas en crecimiento, especialmente a aquellos que contienen una gran cantidad de TG, como los oleosomas o cuerpos lipídicos [21, 22].

En semillas oleaginosas como el girasol, el maní, la colza, la soya, el maíz y la jatrofa y en cereales como el arroz, la avena y el trigo se han identificado sistemas complejos de lipasas con diferentes actividades catalíticas [20, 23-25]. Estas enzimas, juegan un papel muy importante durante la germinación de las semillas, donde los TAG se convierten en azúcares solubles que son transportados a los tejidos en crecimiento de la planta para suplir la demanda energética y de carbono estructural [20, 21, 26].

Las lipasas, también están presentes en frutos oleaginosos como la oliva y el fruto de la palma de aceite donde la enzima presenta una elevada actividad hidrolítica [27]. Sin embargo, su función fisiológica en los frutos aun no es muy clara, ya que los AGL sintetizados no son empleados como alimento para el embrión en desarrollo. Prueba de ello, es que el mesocarpio de la palma de aceite se descompone varios meses antes de que ocurra la germinación de la semilla, la cual depende únicamente del aceite acumulado en el endosperma [10, 27]. Sambanthamurthi *et al* [10], sugieren que la lipasa del mesocarpio puede participar también en reacciones de esterificación y transesterificación y que su función fisiológica en el fruto podría estar relacionada con la biosíntesis de lípidos. De esta manera, se ha encontrado que la actividad lipásica solo se observa entre las

semana 16 y 21 después de antesis, tiempo durante el cual inicia también la síntesis de lípidos en el fruto [28].

1.5.2 Lipasa de la palma de aceite. Diferentes estudios han demostrado que existe una elevada actividad lipásica en el mesocarpio de la palma de aceite. Sin embargo, la evidencia sobre la naturaleza endógena o exógena de la lipasa ha sido contradictoria. Desassis [29] fue el primero en investigar las causas de la aparición de los AGL en el fruto de la palma de aceite. Su estudio con frutos maduros maltratados, le permitió observar que tan solo 15 minutos son suficientes para hidrolizar el 40% de los TAG del mesocarpio. A partir de estos resultados, el autor sugirió que la alta actividad lipolítica era causada por una lipasa endógena cuya actividad varía con el grado de madurez de los frutos. Sin embargo, ante la falta de evidencias claras sobre la presencia de la enzima, estudios posteriores llevaron a concluir que la degradación del mesocarpio era causada por lipasas exógenas provenientes de agentes microbianos [30].

Hacia la década de los ochenta, algunos autores reportaron la ausencia de lipasas endógenas en el mesocarpio de la palma de aceite y atribuyeron el incremento en los AGL únicamente a la actividad microbiana [31]. Ogundero [32] por su parte, atribuyó esta actividad lipolítica a lipasas exógenas provenientes de hongos termofílicos presentes en el fruto; mientras que Hartley [11] sugirió la presencia de una enzima lipasa endógena muy activa.

Posteriormente, Abigor *et al* [33] describieron la caracterización y purificación parcial de una lipasa endógena presente en el mesocarpio. La lipasa fue parcialmente purificada usando una combinación de fraccionamiento con sulfato de amonio, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de filtración en gel. Adicionalmente se determinó una actividad óptima a pH 4,5 y temperatura de 30°C sobre su sustrato natural, el aceite de palma. El aislamiento de la lipasa a partir de una fracción grasa obtenida de un homogenizado del mesocarpio, permitió a los autores sugerir que esta enzima se encuentra asociada a las

membranas de los oleosomas y que la producción de AGL podría ser parte de una respuesta fisiológica.

Los resultados obtenidos por Mohankumar *et al*[28], quienes reportaron la ubicación histológica de la lipasa del fruto de la palma africana, permitieron confirmar que la lipasa se encuentra asociada a las membranas de los oleosomas y que su actividad incrementa con el tiempo de maduración de los frutos.

Finalmente, el estudio realizado por Sambanthamurthi *et al* [35], permitió concluir que aunque la lipasa endógena es la responsable de la actividad lipásica observada en el mesocarpio de los frutos maduros, la producción de AGL en el fruto sobremaduro (más de 21 semanas después de antesis), es causada por la acción de microorganismos que atacan la pulpa.

1.5.3 Medición de actividad lipásica en el fruto de la palma de aceite. Una de las metodologías más empleadas inicialmente para la medición de actividad lipásica en la palma de aceite fue la propuesta por Kaplan [34], en la cual se monitorea la hidrólisis de sustratos lipídicos radiactivos. Usando esta metodología, Oo y Stumpf [35] reportaron actividad lipásica en plántulas de palma de aceite en germinación. Los autores encontraron una lipasa muy activa en los extractos obtenidos a partir de los cogollos en germinación, con actividad óptima a pH 6,2 sobre diferentes mono-, di- y triglicéridos. La enzima del extracto del cogollo presentó mayor actividad sobre el $[1-^{14}\text{C}]$ monopalmitato ($12,4 \text{ nmol sustrato hidrolizado}\cdot\text{h}^{-1}$).

Posteriormente, Henderson y Osborne [28, 36] midieron la actividad lipásica en frutos maduros de palma de aceite, utilizando el método radiactivo y empleando métodos de activación *in vivo* e *in vitro*. Los autores encontraron que la lipasa se inactiva fácilmente *in vitro* a temperaturas por encima de 0°C y que la actividad *in vivo* incrementa a medida que avanza el proceso de maduración del fruto. Adicionalmente, midieron la actividad lipásica de un extracto obtenido mediante la maceración del mesocarpio congelado en nitrógeno líquido. El polvo de mesocarpio obtenido de frutos mantenidos a 25°C , mostró una actividad de 2830-

25461 nmol de tri-[1-¹⁴C]oleato liberado en 30 minutos. Utilizando esta metodología los autores determinaron que la lipasa es estable a 25°C y que es susceptible a inactivación por enfriamiento a 8°C.

Sambanthamurthi *et al* [37], también evaluaron la actividad lipásica en frutos de palma de aceite empleando dos metodologías diferentes. La máxima actividad *in vitro*, usando tri-[1-¹⁴C] oleato como sustrato, se encontró a 18°C. Sin embargo, al realizar un ensayo *in situ* que consiste en la medición de los AGL totales en el fruto, la máxima actividad se encontró a 5°C. Aunque los resultados en dicho estudio contradicen lo reportado por Henderson y Osborne [36] (inactivación a bajas temperaturas), varios autores han demostrado que el enfriamiento de los frutos a temperaturas inferiores a los 10°C, genera una rápida hidrólisis de los lípidos del mesocarpio [7, 38, 39]. Se ha encontrado, que el contenido de AGL en frutos maduros de *E. guineensis* expuestos una temperatura de 5°C, puede alcanzar el 70% [38].

En el estudio más reciente realizado por Ngando *et al*[40], los autores desarrollaron una nueva metodología para la medición reproducible y confiable de la actividad lipásica en extractos de mesocarpio obtenidos en un medio con solvente, estableciendo como condiciones óptimas de reacción, una temperatura de 35°C, pH 9 y una dependencia directa de la concentración de calcio en el medio de reacción(150 mM CaCl₂). Los resultados obtenidos demostraron que la lipasa del mesocarpio es una serina hidrolasa, inhibida por tetrahidrolipstatina (THL) y con actividad sobre diferentes sustratos como la tributirina, la trioctanoína, el aceite de oliva y el aceite de palma. La máxima actividad se obtuvo al emplear trioctanoína como sustrato (816 μmol AGL liberado·min⁻¹· g⁻¹ mesocarpio seco).

1.5.4 Variación de la actividad lipásica con el genotipo de la palma de aceite.

Con el fin de comprobar la variación de la actividad lipasa con el genotipo, Sambanthamurthi *et al*[41] realizaron un *screening* con cerca de 100 variedades provenientes del banco de germoplasma del Instituto de investigación en Palma de aceite de Malasia. Para la evaluación de la actividad lipásica en dichos materiales,

los autores emplearon el método de activación por enfriamiento a 5°C desarrollado previamente. Los resultados obtenidos mostraron, que las variedades de *E. guineensis* tienen mayor actividad lipásica (3,2% AGL - 66,8 %AGL) que las de *E. oleifera*, las cuales mostraron un contenido de AGL entre 3,1% y 5,8%. Adicionalmente se observó, que *E. guineensis* presentó la mayor variabilidad en la actividad lipásica y que los genotipos de Camerún obtuvieron la más baja actividad (3,4%-29%), seguidos por los de Tanzania (8,5%-40,4%) y Angola (9,7%-66,8%).

En un trabajo posterior, Ngando *et al*[7] también demostraron la variación de la actividad lipásica con el genotipo. Los investigadores evaluaron la actividad lipásica en 46 materiales genéticos de las especies *E. guineensis* y *E. oleifera*, provenientes del banco de germoplasma “La Dibamba”, del Centro especializado en investigación de palma de aceite de Camerún. De las dos especies evaluadas, *E. guineensis* presentó la mayor actividad (850 LU/g), así como la mayor variabilidad dentro de los genotipos (10LU/g-850LU/g). La actividad obtenida se correlacionó con el contenido total de aceite, encontrándose que no hay una relación directa entre estas dos variables; de forma que algunas variedades con altos rendimientos de aceite pueden tener bajos niveles de actividad lipásica. En este último estudio, es de resaltar la evaluación de dos genotipos de *E. oleifera* provenientes de Montería Colombia, los cuales presentaron los niveles más bajos tanto de actividad lipásica (7,5 LU/g) como de AGLs (8,58%) y de cantidad total de aceite (54,4%).

1.6 PROGRAMAS DE MEJORAMIENTO GENÉTICO

A nivel mundial, se han realizado diferentes programas de mejoramiento que buscan la optimización tanto de las características agronómicas de la palma, como de la calidad del aceite que esta produce. En el año 2003, el MPOB (Malaysian Palm Oil Board) estableció el orden de las cuatro características prioritarias en los programas de mejoramiento: alta producción de aceite, baja estatura de las plantas, resistencia a enfermedades (Ganoderma) y alta calidad de aceite [42]. Sin embargo, este orden de prioridades cambia dependiendo del país y de las

necesidades de la región. En el caso de Colombia, el orden de intereses en cuanto a mejoramiento es: resistencia a enfermedades (Pudrición de cogollo), alta productividad y alta calidad de aceite [43]. Aunque las primeras dos características son variables agronómicas de gran importancia por estar directamente relacionadas con el rendimiento y productividad del cultivo, la calidad del aceite es la que determina el precio del mismo.

En cuanto a la calidad del aceite, el orden de prioridades se establece teniendo en cuenta que el aceite de palma es de uso principalmente alimenticio, por lo tanto su calidad nutricional es de vital importancia para los consumidores. Por tal razón, uno de los principales criterios de calidad nutricional es el contenido de grasas saturadas e insaturadas. A pesar de que las grasas saturadas presentes en el aceite de palma son el ácido palmítico y el ácido esteárico, los cuales se consideran no colesterolémicos, el mayor contenido del ácido oleico, ha sido identificado como la característica de calidad prioritaria en los programas de mejoramiento, debido a que este proporciona un aceite líquido saludable, de características similares a las del aceite de oliva. Adicionalmente, el contenido de otros componentes como la vitamina E, el caroteno y otros antioxidantes, que generan valor agregado al aceite por su connotación saludable (anticancerígenos) y por su potencial uso en la industria farmacéutica y cosmética, se han sumado a los parámetros de selección y mejoramiento, relacionados con la calidad [42].

La actividad lipásica y la formación de AGL asociada a esta enzima, se ha comenzado a estudiar recientemente en el recurso genético de Malasia y Camerún, con el propósito de incluirse dentro de las variables de mejoramiento [7, 41].

Una de las principales estrategias de los programas de mejoramiento en Malasia, ha sido la formación de bancos de germoplasma, donde se reúnen familias de diferentes orígenes para evaluar la variabilidad de los parámetros de mejoramiento y su potencial aplicación en la obtención de variedades mejoradas. El MPOB de Malasia y el NIFOR (Nigerian Institute for Oil Palm Research) de Nigeria, fueron

los primeros en realizar expediciones a diferentes regiones de África y Latinoamérica, con el fin de encontrar nuevo germoplasma de *E. guineensis* y *E. oleifera* y conservarlo ex situ para su evaluación. Los estudios genéticos realizados con este recurso, revelaron accesiones de *E. guineensis* con amplias cualidades agronómicas, así como variedades de *E. oleifera* con composiciones inusuales de ácidos grasos y usos potenciales en diferentes mercados. El descubrimiento de poblaciones con características especiales, permitió el posterior desarrollo de nuevas poblaciones con características mejoradas, principalmente de *E. guineensis*, que hoy en día se cultivan y comercializan en todo el mundo [16, 42, 44].

A nivel nacional, Cenipalma cuenta con colectas de *E. guineensis* de Angola y Camerún y con palmas de *E. oleifera*. Adicionalmente, en el banco se evalúan poblaciones mejoradas de progenitores tipo dura seleccionados en diferentes localidades de Colombia. Los ensayos sembrados han mostrado una alta adaptabilidad a las condiciones ambientales nacionales y actualmente se les lleva registro de variables fisiológicas y de productividad [43]. Dentro de los estudios realizados con este recurso, se encuentran las caracterizaciones moleculares de algunas de las accesiones mediante técnicas de AFLP y microsatélites-SSR [46]. Los trabajos han demostrado que existe una alta variabilidad a nivel de ADN en las colectas, lo que permite tener palmas con diferentes comportamientos. Actualmente, Cenipalma también desarrolla programas de mejoramiento genético a partir de estas colectas, teniendo en cuenta criterios agronómicos y de productividad. Sin embargo, aún no se cuenta con suficiente información sobre los criterios de calidad de aceite y este es el primer estudio realizado sobre la variación de la actividad lipásica en las colectas. Por lo tanto, a partir de los resultados obtenidos en este trabajo se podrá suministrar valiosa información al programa de mejoramiento de Cenipalma, relacionada con el criterio de calidad del aceite.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIAL VEGETAL

Reactivos

Los reactivos para la medición de la actividad lipásica: Hidróxido de sodio, Tris (hidroximetil) aminometano clorhidrato y goma arábica fueron adquiridos de Merck (Darmstadt, Alemania). La solución de Bradford-Bioquant empleada en la medición de proteína fue Merck (Darmstadt, Alemania). La oleína de palma comercial empleada como sustrato fue obtenida de SACEITES (Bucaramanga, Colombia). El patrón de FAMES (*Fatty Acid Methyl Ester Mix*) fue adquirido de SUPELCO (Alemania). Los triglicéridos individuales de OLL, PLL, MLP, OOL, POL, PLP, OOO, POO, POP, PPP, SOO, POS (O, oleico; P, palmítico; L, linoleico; M; mirístico; S, esteárico) del 99% de pureza, fueron Sigma (Steinheim, Alemania). Los patrones de α y β -caroteno, $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -tocoferol y $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -tocotrienol (95%) fueron Calbiochem (Darmstadt, Alemania). El metanol, acetonitrilo, 2-propanol y hexano, fueron grado HPLC. El hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, cloroformo, etanol y BF₃/MeOH 20%, fueron Merck (Darmstadt, Alemania) grado analítico. El agua grado HPLC, fue obtenida mediante el sistema de purificación Milipore MiliQ Academic (Sao Paulo, Brasil). El nitrógeno líquido y los gases empleados en cromatografía de gases fueron suministrados por Linde Colombia S.A (Bucaramanga, Colombia).

Equipos

Liofilizador de mesa marca LABOTEC (Missouri, EEUU), espectrofotómetro VIS Genesys20 marca Thermo Spectronic (Rochester, EEUU), centrífuga refrigerada de mesa Rotofix 32 marca Hettich (Alemania), prensa hidráulica manual, titulador automático Graphix DL50 marca Mettler-Toledo (*Schwerzenbach*, Suiza), cromatógrafo de gases acoplado a detector FID marca Agilent Technologies

7890A (EEUU) y cromatógrafo líquido HPLC acoplado a detector UV y detector de fluorescencia marca Merck Hittachi (Japón).

Material Vegetal

Los frutos maduros de palma de aceite de las especies *E. guineensis* y *E. oleifera*, así como del híbrido OxG, empleados en este proyecto, se tomaron de las colectas de CENIPALMA, en el campo experimental Palmar de la Vizcaína (Barrancabermeja-Santander). Todas las muestras se obtuvieron de racimos recién cosechados, los cuales se transportaron cuidadosamente desde el campo hasta el laboratorio. Los racimos se desespigaron manualmente y se separaron de las espigas aquellos frutos que no mostraron alteraciones físicas.

2.2 DISEÑO METODOLÓGICO

En el **diagrama 1**, se presenta el diseño metodológico llevado a cabo para el desarrollo de este proyecto. El diseño consistió en una primera etapa de evaluación del efecto del muestreo sobre la actividad lipásica, seguido de una etapa de implementación y selección de metodologías para la evaluación de la actividad lipásica en el fruto y finalmente una etapa de evaluación de la actividad lipásica y caracterización del aceite en las familias seleccionadas en las colectas de Cenipalma.

2.3 ESTANDARIZACIÓN DEL MUESTREO

Para evaluar la variación de la actividad lipásica en las diferentes secciones del racimo (ver **Figura 4**) y estandarizar el proceso de muestreo, se empleó un diseño experimental de tipo multinivel factorial con tres repeticiones y dos factores de variación: posición horizontal del fruto en el racimo y posición vertical del fruto en el racimo (**Tabla 2**). La variable de respuesta evaluada fue la actividad lipásica de los frutos expresada como LU g^{-1} p.m. (p.m.: polvo de mesocarpio). Los análisis se realizaron en tres racimos maduros de *E. guineensis* obtenidos de palmas diferentes.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza ANOVA, el cual permitió determinar diferencias significativas entre los factores de variación.

Diagrama 1. Diseño metodológico

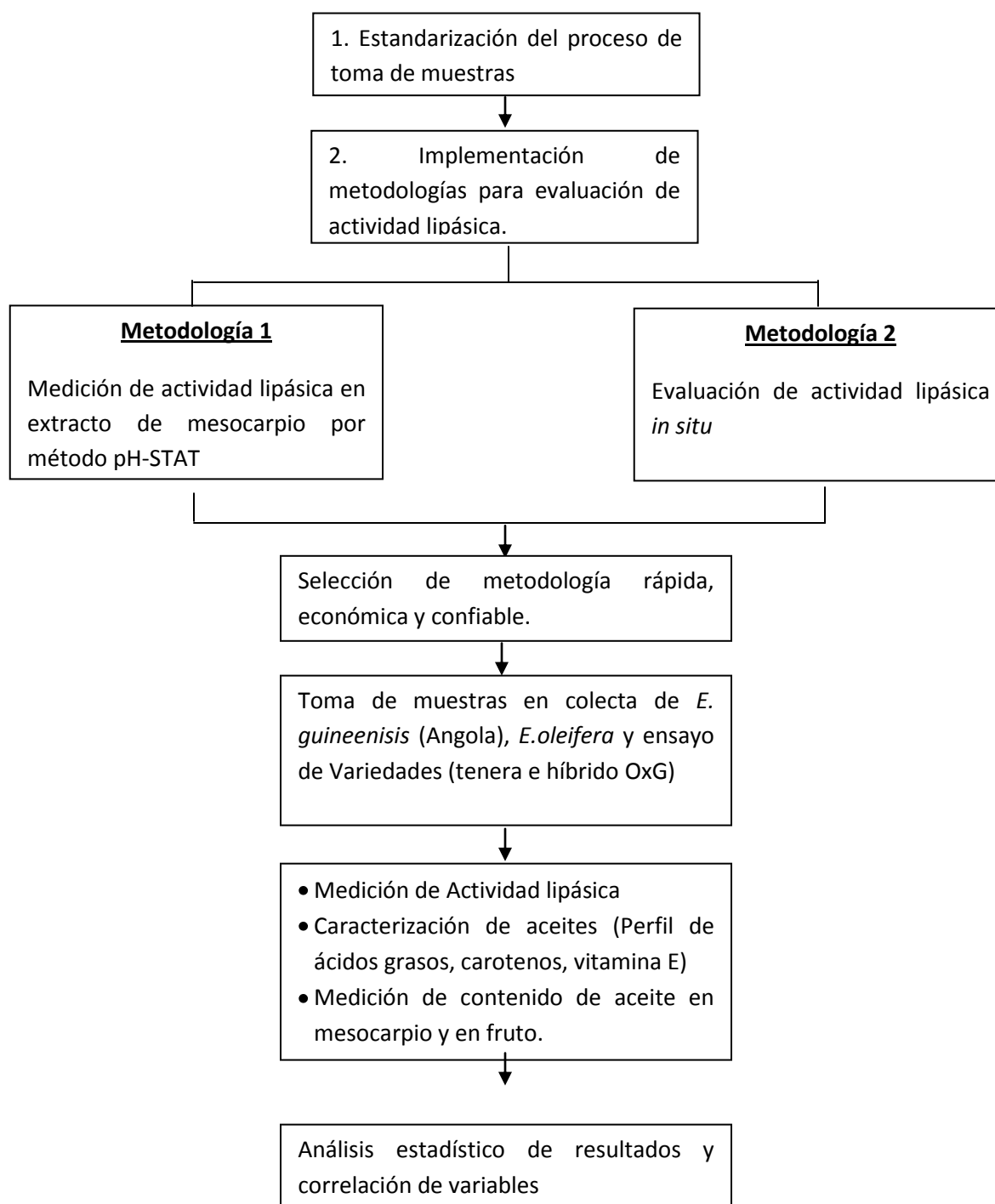


Figura 4. Secciones de muestreo del racimo. A) Posición vertical, B) Posición Horizontal

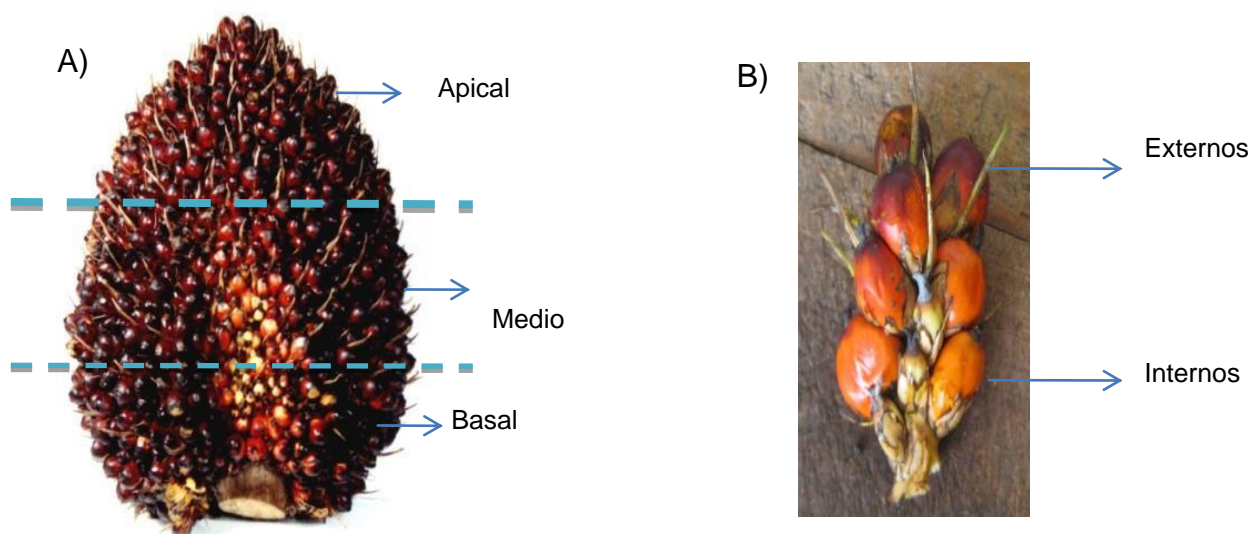


Tabla 2. Diseño experimental del efecto del muestreo sobre la actividad lipásica

FV	GL	GL	Observaciones
PH	(PH-1)	1	Posición horizontal (PH):frutos internos y frutos externos
PV	(PV-1)	2	Posición vertical (PV): Frutos apicales, medios y basales.
PV*PH	(PV-1)*(PH-1)	2	
Error	(r-1)*(PV*PH)	12	Repeticiones = 3
Total	r(t*PV*PH-1)	17	

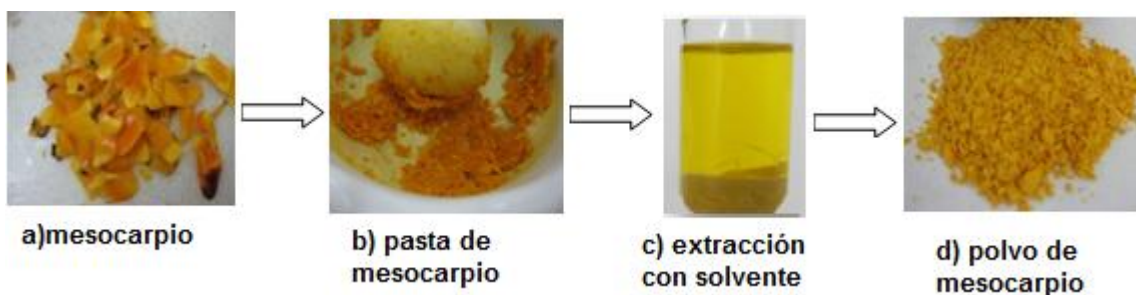
2.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPÁSICA EN EL EXTRACTO DE MESOCARPIO

2.4.1 Obtención del extracto de mesocarpio. La superficie de los frutos se esterilizó con hipoclorito de sodio 0,5% durante 30 min y se lavó con agua destilada para evitar la presencia de lipasas exógenas. Posteriormente, se pelaron los frutos y el mesocarpio se cortó en rodajas de aproximadamente 2g. Las rodajas de mesocarpio se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido y se liofilizaron por 36 h. El material liofilizado se maceró hasta obtener una pasta grasosa. Una vez obtenida la pasta de mesocarpio (ver **Figura 5b**), se evaluaron diferentes métodos de obtención del extracto:

- **Extracto en solventes orgánicos.** 100 mg de pasta de mesocarpio se homogenizaron usando 1 mL de solvente orgánico (etanol, acetona, hexano o éter de petróleo). El homogenizado se centrifugó y se eliminó el sobrenadante. El *pellet* obtenido (Ver **Figura 5c**) se suspendió en 1 mL de solvente y se almacenó a -20°C hasta su análisis.
- **Extracto de mesocarpio en polvo.** La pasta de mesocarpio se sometió a un desengrasado parcial con hexano. Diez mililitros de hexano fueron adicionados por cada gramo de pasta. La mezcla se homogenizó con *vortex* durante 1 min y se centrifugó a 3550 x g por 15 min. Se retiró el sobrenadante y el precipitado se secó usando nitrógeno gaseoso. El polvo seco se tamizó a través de una malla de 300 μm y se almacenó a -20°C. Este polvo (50 mg) se consideró como extracto crudo y se empleó en la evaluación de la actividad lipásica (ver **Figura 5d**).
- **Extracto Homogéneo en Buffer fosfato.** El polvo de mesocarpio obtenido según lo descrito previamente, se extrajo en 100 mM Buffer fosfato pH 7. La mezcla se agitó durante 1 h con agitación magnética (300 rpm) y se mantuvo en un baño de hielo durante el tiempo de extracción. El homogenizado se centrifugó a 6055 x g durante 15 min a 4°C. Se recuperó el sobrenadante y se filtró sobre gasa. El extracto obtenido se almacenó a -20°C hasta su análisis.

El extracto con mayor actividad y estabilidad en las condiciones de ensayo se empleó en todas las mediciones de actividad lipásica pH-STAT.

Figura 5. Proceso de obtención del polvo de mesocarpio.



2.5 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPÁSICA DEL FRUTO MEDIANTE ENSAYO *in situ*

La actividad de la enzima en los frutos frescos se indujo bajo dos tratamientos:

Tratamiento 1: Los frutos frescos se dividieron en grupos de 10 y se almacenaron durante toda la noche a diferentes temperaturas (-20°C, 5°C, 25°C, 45°C y 65°C). Posteriormente, para inactivar la enzima, los frutos se llevaron a una *autoclave* durante 1 hora, usando presión de vapor de 15 psi. El aceite se extrajo por prensado y posteriormente se centrifugó a 3550 x *g* durante 2 minutos para eliminar agua e impurezas. El contenido de AGL en el aceite se midió por titulación con 0,1 M NaOH según el estándar AOCS 5a-40 [47].

Tratamiento 2: Los frutos frescos se dividieron en grupos de 10 y se cortaron en rodajas para separar el mesocarpio de la nuez. El mesocarpio se almacenó durante toda la noche a diferentes temperaturas (-20°C, 5°C, 25°C, 45°C y 65°C) y se procedió igual que en el tratamiento 1 para inactivar la enzima y obtener el aceite crudo.

El almacenamiento de los frutos se llevó a cabo en refrigeradores y estufas a temperatura constante.

La estimación del contenido inicial de AGL en las muestras, se realizó a partir de los frutos frescos, los cuales fueron esterilizados en autoclave por 1 h, tan pronto como fueron llevados al laboratorio. Posteriormente se extrajo el aceite por prensado y se midió el contenido de AGL. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Para evaluar el efecto del tratamiento seleccionado de activación *in situ* sobre los lípidos almacenados en el fruto y entender el comportamiento de la lipasa en las tres especies evaluadas, se midió también el perfil de triglicéridos en el aceite de los frutos frescos y en los frutos sometidos al tratamiento de activación de la enzima.

2.6 EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD LIPÁSICA Y CARACTERIZACIÓN DE ACEITES EN LAS COLECTAS

Para llevar a cabo la caracterización de las colectas de Cenipalma en cuanto a actividad lipásica, contenido de aceite, perfil de ácidos grasos, contenido de vitamina E y contenido de carotenos, se llevó a cabo un muestreo en las colectas de *E.guineensis* (Angola), *E. oleifera* y en el ensayo de variedades. Para la toma de muestras se siguió el diseño experimental de cada ensayo como se describe a continuación:

- **Colecta *E. guineensis* de Angola:**Consta de un diseño de bloques completos al azar, con 26 familias y un testigo. Cada familia cuenta con tres repeticiones y 16 palmas por unidad experimental. Para el propósito de estas mediciones, se muestrearon mínimo 2 palmas por cada unidad experimental, para un total 27 tratamientos.
- ***E. oleifera*:** Se muestrearon cinco familias en un diseño de bloques completos al azar, con tres repeticiones y 9 palmas en cada unidad experimental.

Para el desarrollo de este muestreo se seleccionaron tres palmas en cada unidad experimental, para un total de 9 palmas evaluadas por familia.

- **Ensayo de Variedades:** Este ensayo tiene como objetivo la comparación del comportamiento agronómico de 18 materiales comerciales de palma de aceite. En el ensayo existen 16 materiales tipo tenera y 2 materiales OxG, organizados en un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones y 6 palmas por unidad experimental. Para este muestreo se analizaron dos palmas por cada unidad experimental. Los códigos de los materiales evaluados se presentan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Materiales comerciales *E. guineensis* y de OxG evaluados en el ensayo de variedades

Material	CRUZAMIENTO
1	Deli x Avros Dumpy
2	Deli x (La Mé, Pobe, Yangambi)
3	Deli x Avros
4	Deli x Avros
5	Deli x Avros
6	Deli x Ghana
7	Deli x Nigeria
8	Deli x Yangambi
9	Deli x Avros
10	Deli x Yangambi
11	Deli x Avros Dumpy
12	Deli x La Mé
13	Deli x La Mé
14	Deli x La Mé
15	Coarí x La Mé(OxG)
16	(Dejongo x Ekona) x Yangambi
17	Deli x Avros x Yangambi
18	Coarí x La Mé(OxG)

2.6.1 Toma de muestras y extracción de aceites. La selección de las palmas a muestrear dentro de cada unidad experimental se realizó al azar. De cada palma seleccionada se cosechó un racimo maduro siguiendo el criterio de cosecha establecido por Cenipalma (5-20 frutos sueltos). Para el análisis de los racimos se

siguió el procedimiento descrito en el **Diagrama 2**. Cada racimo se pesó y se desespigó con hacha para separar las espigas del pedúnculo. Las espigas se homogenizaron y se muestrearon mediante un proceso de cuarteo donde se seleccionó una muestra final de 2-5 kg, dependiendo del peso del racimo. Los frutos se removieron de las espigas desde su base, utilizando un cuchillo.

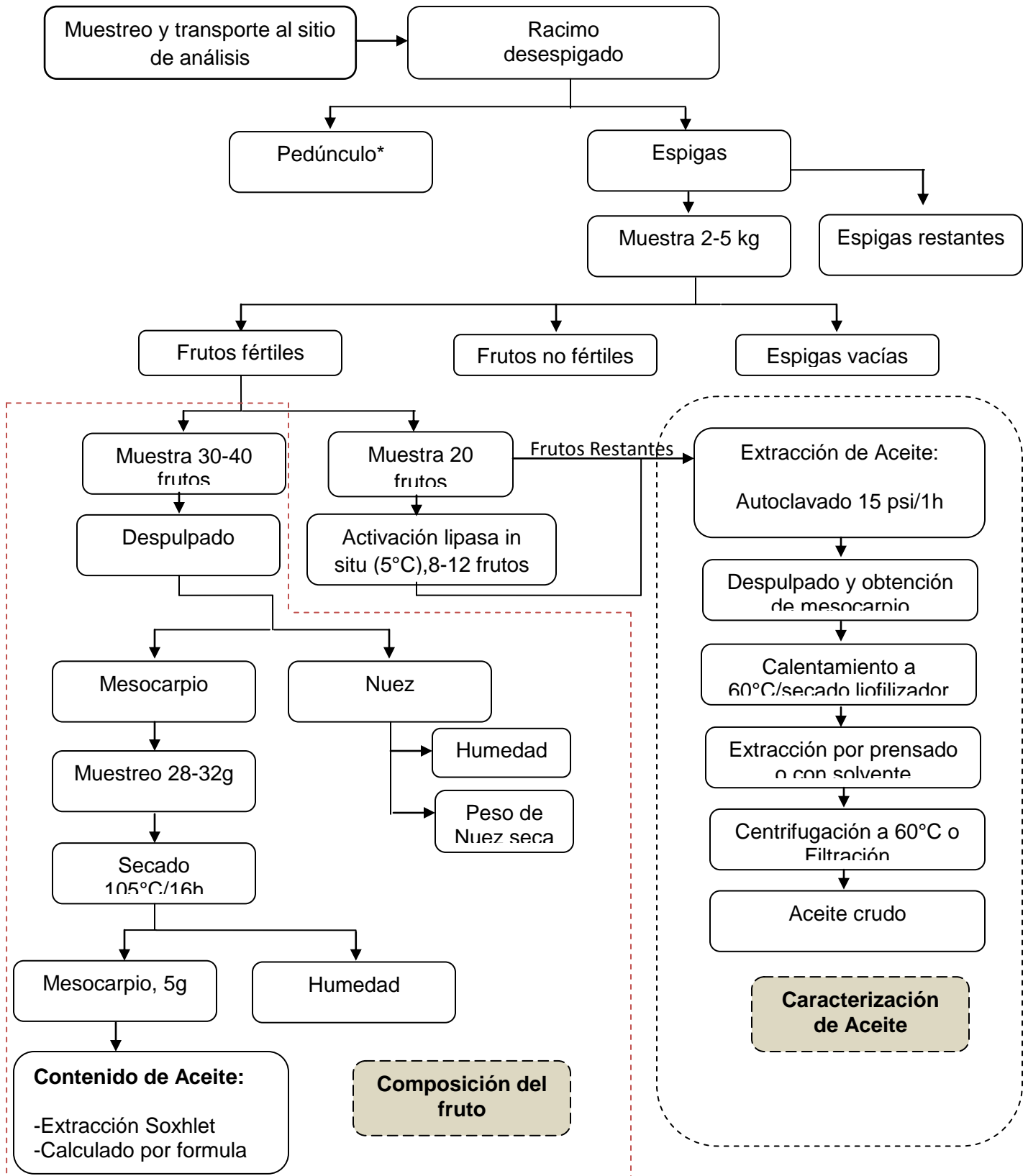
De la muestra de frutos, se tomaron únicamente los frutos fértiles. Los frutos se homogenizaron y se muestrearon mediante cuarteo hasta obtener un total de 30-40 frutos para medir el contenido de aceite. De los frutos restantes, se tomó una submuestra de 20 frutos, conformada únicamente frutos fértiles sin alteraciones físicas, la cual se empleó en la medición de actividad lipásica y caracterización del aceite.

La submuestra de 30-40 frutos, se despulpó de manera manual para obtener el mesocarpio y la nuez. La muestra de mesocarpio se homogenizó y se tomó una submuestra de 30 ± 2 g, la cual se secó a $105^{\circ}\text{C}/16$ h para medir el contenido de aceite y de humedad.

De la submuestra de 20 frutos, 10-12 se destinaron a la medición de actividad lipásica por el tratamiento *in situ*, para lo cual, se esterilizó la superficie de los frutos con hipoclorito de sodio (0,5%) y agua destilada. Los frutos restantes se emplearon en la caracterización del aceite (vitamina E, carotenos, Perfil de ácidos grasos). La extracción del aceite para estos análisis, se realizó por prensado en caliente (60°C), con previa esterilización de los frutos en autoclave (15psi/1h).

Para la extracción de los aceites de *E. oleifera*, el mesocarpio de los frutos esterilizados se liofilizó durante 12 horas, para eliminar humedad sin afectar la muestra. El material liofilizado se homogenizó y se extrajo con hexano durante 15 min en un baño ultrasónico. El solvente se eliminó usando rotoevaporación a 50°C . Los aceites obtenidos por ambos procedimientos, se centrifugaron para eliminar agua e impurezas y se almacenaron a 5°C hasta su análisis.

Diagrama 2. Procedimiento de análisis de racimos



2.7 MÉTODOS DE ANÁLISIS

2.7.1 Medición de la actividad lipásica por método pH-STAT. La actividad lipásica se evaluó por titulación de los ácidos grasos liberados con 0,01M NaOH, usando un titulador automático en función pH-STAT. La reacción de hidrólisis se llevó a cabo bajo las condiciones sugeridas por Ngando *et al* [40]. Como sustrato se empleó oleína de palma emulsificada en goma arábica 1% p/v. El medio de reacción (40 mL) contenía 2 mM buffer Tris-HCL (pH 9), 100 mM NaCl y 20 mM CaCl₂. La actividad lipásica se expresó en unidades internacionales de actividad lipásica sobre gramo de mesocarpio (LU g⁻¹), donde:

$$1 \text{ LU} = 1 \mu\text{mol AGL liberado min}^{-1}.$$

La actividad específica del extracto de mesocarpio se expresó como actividad lipásica por mg de proteína (LU mg⁻¹ de proteína). El contenido de proteína se determinó en el extracto homogéneo en buffer fosfato descrito en la sección 2.4.1. Para la cuantificación se empleó el método colorimétrico de Bradford a 590 nm [48]. Se empleó seroalbúmina bovina como sustancia de referencia. La concentración de las proteínas se expresó en mg de proteína por mL de solución (mg/mL).

2.7.2 Medición de actividad lipásica *in situ*. La metodología optimizada para la medición de la actividad *in situ* en los frutos, consistió en almacenar los frutos frescos (10 frutos) durante toda la noche en la nevera, a una temperatura controlada de 5°C. Al día siguiente, los frutos se esterilizaron en autoclave durante 1 h para inactivar la enzima. El mesocarpio de los frutos esterilizados se removió y se prensó para extraer el aceite crudo. Los ácidos grasos formados se titularon en el aceite según el estándar AOCS 5 a-42 [47].

2.7.3 Perfil de triglicéridos. El análisis de triglicéridos en el aceite se desarrolló según la metodología descrita por Prada *et al* [15]. La determinación y cuantificación de los analitos se llevó a cabo por cromatografía líquida HPLC. Para la separación de los componentes se empleó una columna Chromolith RP-18e

(100 x 4.6 mm d.i., Merck, Darmstadt, Germany). Para la determinación de los triglicéridos, 25 mg del aceite se diluyeron en una mezcla fase móvil:cloroformo 70:30 v/v. Los triglicéridos se eluyeron con 96% solvente A (acetonitrilo:2-propanol: hexano, 55:45:5, v/v) y 4% solvente B (agua), con un flujo de 0,8 mL/min. Los analitos se detectaron a 220 nm empleando un detector de UV-Vis. La identificación de los picos se realizó por comparación con el estándar de tiempos de retención y la cuantificación por normalización de áreas.

2.7.4 Determinación del contenido de aceite en el mesocarpio.

Aproximadamente 5 g de mesocarpio seco, se extrajeron mediante sistema Soxhlet [15] durante 24 horas, empleando hexano como solvente. Los resultados se expresaron como contenido de aceite en mesocarpio fresco y contenido de aceite en frutos, empleando las siguientes ecuaciones:

(1) **%AMF**= Aceite en mesocarpio fresco, %

$$AMF = AMSx \frac{MSA}{MFA}$$

(2) **%AcF**= Aceite en fruto, %

$$AcF = AMFx \frac{PFNm - PNF}{PFNm}$$

Donde:

AMS: Contenido de aceite en mesocarpio seco, determinado por Soxhlet

MSA: Peso de mesocarpio seco aceitoso

MFA: peso de mesocarpio fresco aceitoso

PFNm: Peso de frutos normales proveniente de la muestra de 30-40 frutos.

PNF: Peso de nuez fresca, proveniente de la muestra de 30-40 frutos.

2.7.5 Determinación del contenido de vitamina E y carotenos por HPLC.

El análisis de vitamina E y carotenos se realizó en forma simultánea, siguiendo las condiciones descritas por Prada *et al.*[15]. La vitamina E se cuantificó como el grupo de isómeros liposolubles (α , β , γ , δ -tocoferol y α , β , γ , δ -tocotrienol) usando un detector de fluorescencia con λ emisión 330 nm y λ de excitación 290 nm. Los

carotenos se cuantificaron como los isómeros α y β caroteno usando detector de UV (450 nm). Para la extracción de estos componentes se empleó cloroformo. La separación se llevó a cabo en una columna *Chromolith* RP-18e, 100 x 4.6 mm D.I, empleando como fase móvil un gradiente Agua/Metanol. La cuantificación se realizó por comparación con estándares externos de cada isómero.

2.7.6 Determinación del perfil de ácidos grasos. El análisis del perfil de ácidos grasos se realizó mediante el método de formación de ésteres metílicos FAME. Los metil ésteres de los ácidos grasos se obtuvieron por metilación del aceite con 2N KOH/MeOH, de acuerdo al método AOCS Ce 2-66 [49]. La detección se realizó por cromatografía de gases (GC) con detector de ionización en llama (FID), usando columna capilar DB-23 60m x 0.25 mm D.I., 0.25 m f.e, según las condiciones cromatográficas establecidas en el método de referencia AOCS Ce 1-62 [50]. La identificación de los metilésteres de ácidos grasos se realizó por comparación directa de sus tiempos de retención con un patrón de FAME.

2.8 ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis de los resultados dentro de cada colecta o ensayo se emplearon métodos estadísticos descriptivos como el test de normalidad de Shapiro-Wilk [51]. Los datos que no presentaron normalidad se ajustaron mediante la aplicación de transformadas ($\ln x$). Posteriormente se realizaron análisis de varianza ANOVA por ensayo o colecta, para determinar si existen diferencias significativas entre familias o materiales. Finalmente se aplicó la prueba a posteriori de Tuckey [52], que permitió evaluar las diferencias significativas entre las medias. Las diferencias fueron consideradas a un nivel de $p < 0,05$.

Para la comparación de los promedios entre colectas o especies se empleó la prueba menor significancia LSD de Fisher [51,52], la cual permite comparar entre pares de medias y determina si cada población es estadísticamente diferente de las demás para un nivel de confianza del 95%.

La correlación de variables dentro de una misma colecta o ensayo se realizó de forma descriptiva. Para el análisis correlación de variables en los materiales

híbridos, se emplearon correlaciones lineales simples, empleando las correlaciones de Pearson [52], que permiten la correlación entre pares de variables. La significancia estadística de los coeficientes de correlación se estimó para un nivel de confianza del 95%.

Todos los análisis de los ensayos preliminares se realizaron por triplicado y se expresaron como la media \pm desviación estándar.

Para el análisis computacional de los datos, se empleó el Software STATISTICS 18 (2009), para Windows.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente, fue necesario evaluar la variabilidad de la actividad lipásica en el racimo, con el fin de establecer las condiciones adecuadas de muestreo que permitieran obtener una muestra homogénea y representativa. Para ello, se empleó un diseño experimental de tipo multinivel factorial, que permitió evaluar el efecto de la posición horizontal y vertical del fruto en el racimo sobre la actividad lipásica.

En la **Tabla 4** se presentan los valores promedio de actividad lipásica en cada sección del racimo, los cuales variaron entre $232,4 \pm 20,4$ LU g⁻¹ p.m y $274 \pm 59,5$ LU g⁻¹ p.m. El análisis de varianza ANOVA, mostró que para un nivel de confianza de $p < 0,05$, no existen diferencias significativas en la actividad lipásica. Lo anterior, demuestra que la sección en la que se encuentre el fruto, no afecta el valor de la actividad lipásica; por lo tanto, los frutos tomados de cualquier posición, son representativos en toda la muestra.

Tabla 4. Valores promedio de actividad lipásica por sección del racimo.

Posición Horizontal (PH)	Posición Vertical (PV)	Actividad lipásica (LU/g p.m)
Apical	Externo	$236,2 \pm 16,7$
	Interno	$232,4 \pm 20,4$
Medio	Externo	$273,1 \pm 57,0$
	Interno	$274 \pm 59,5$
Basal	Externo	$254,2 \pm 30,1$
	Interno	$255,8 \pm 34,7$

Los resultados se expresan como valor promedio \pm desviación estándar para $n = 9$.

3.1. MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPÁSICA

Para la selección del método de análisis de la actividad lipásica se usaron dos metodologías:

- Metodología 1. Medición de actividad lipásica en extracto de mesocarpio por método pH-STAT.
- Metodología 2: Evaluación de actividad *in situ*.

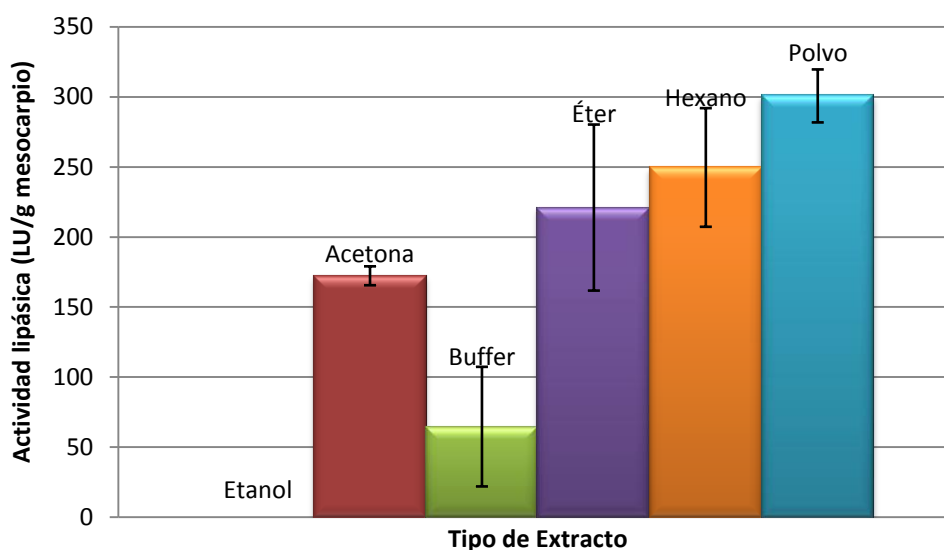
3.1.1 Actividad lipásica en el extracto de mesocarpio. Para la implementación de esta metodología, previamente se evaluó el procedimiento de obtención del extracto crudo empleando diferentes sistemas de extracción: a) solventes orgánicos como hexano, éter de petróleo, acetona y etanol y b) buffer fosfato. De esta manera se obtuvieron tres tipos de extractos, extracto en solventes orgánicos, extracto acuoso y extracto de mesocarpio en polvo. Todos los extractos se prepararon a partir de frutos de *E. guineensis*. En la **Figura 6**, se presenta la variación de la actividad lipásica con el tipo de extracto.

Se encontró que el extracto acuoso en buffer fosfato, presenta menor actividad lipásica que el polvo de mesocarpio y que los extractos en solventes orgánicos, exceptuando el etanol. Adicionalmente, se pudo observar que la actividad de la enzima varía con el tipo de solvente; de esta manera, los extractos obtenidos en solventes apolares como el hexano y el éter de petróleo, mostraron mayor actividad que los extractos de solventes polares como la acetona y el etanol, donde la enzima es inactiva. Por último, la mayor actividad lipásica se obtuvo en el polvo de mesocarpio con $300,6 \pm 18,9 \text{ LU g}^{-1}$, probablemente porque este extracto facilita la distribución homogénea de las partículas en el medio de reacción.

Los anteriores resultados indican que los solventes apolares, además de generar un entorno hidrofóbico que estabiliza la enzima, extraen parte de la grasa presente en la pasta de mesocarpio, facilitando así la interacción de la enzima con el sustrato. Sin embargo, al evaluar el efecto de dos procesos sucesivos de

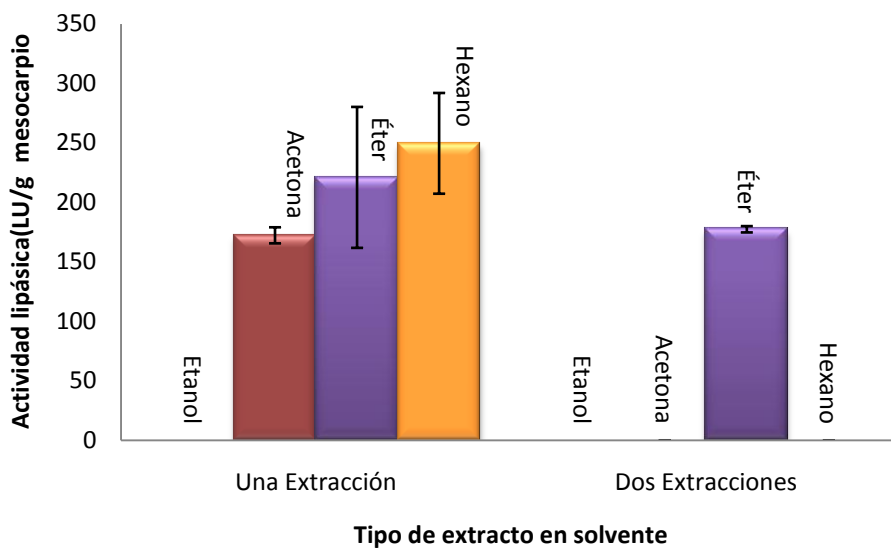
extracción, se encontró que la delipidación total del mesocarpio genera una disminución en la actividad de la enzima en el caso del extracto en éter y produce la inactivación de la misma cuando se emplea hexano como solvente de extracción (**Figura 7**). Resultados similares fueron reportados por Ngando *et al*[40], quienes argumentan, que debido a que la lipasa del mesocarpio está asociada a la membrana de los oleosomas, se debe mantener un entorno parcialmente lipídico en el extracto para conservar la actividad hidrolítica de la enzima.

Figura 6. Actividad lipásica en extractos con solventes, extracto en buffer fosfato y polvo de mesocarpio.



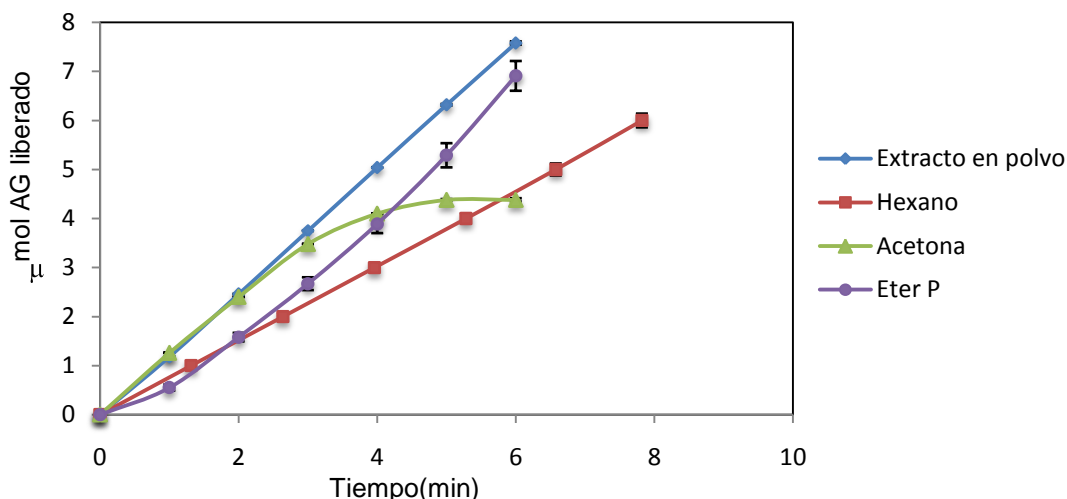
De otra parte, al evaluar la estabilidad de los tres extractos durante la reacción de hidrólisis (**Figura 8**), se observó que en el polvo de mesocarpio y en el extracto en hexano la producción de AGL es lineal durante el tiempo del ensayo (6 min). Sin embargo, el extracto en hexano presentó menor producción de AGL. Entre tanto, la linealidad más baja se obtuvo en los extractos de éter de petróleo y acetona respectivamente.

Figura 7. Variación de la actividad lipásica en extractos con solventes después de dos extracciones sucesivas.



Los anteriores resultados permitieron establecer que bajo las condiciones de ensayo, el extracto más estable y con mayor actividad lipásica fue el polvo de mesocarpio. Teniendo en cuenta lo anterior, se procedió a obtener el polvo de mesocarpio de las otras dos especies bajo estudio (*E. oleifera* e híbrido OxG), midiéndose en cada una de ellas el contenido de grasa residual, ya que como se estableció previamente, la cantidad de material lipídico en el extracto es determinante en la actividad de la enzima.

Figura 8. Hidrólisis de los TG del aceite de oliva en función del tiempo para los diferentes extractos crudos evaluados.



Se encontró, que el mesocarpio de *E. guineensis* y de OxG, tiene un alto contenido de aceite en comparación con el de la especie *E. oleifera* (Tabla 5). En este último caso, el proceso de desengrasado parcial con hexano logra remover el 71,2% del material lipídico, lo cual genera un extracto de *E. oleifera* con contenido de aceite 5 veces inferior al de las otras dos especies. Por lo anterior, se decidió eliminar el desengrasado en la obtención del extracto de *E. oleifera*, debido a que la enzima requiere un entorno medianamente lipídico para estabilizarse y presentar actividad sobre el sustrato.

Una vez obtenidos los polvos de mesocarpio de las tres especies estudiadas, se midió la actividad lipásica y la actividad específica. Se encontró, que el extracto de *E. guineensis* cuenta con la mayor actividad lipásica y mayor actividad específica, mientras que el extracto de *E. oleifera* mostró los valores más bajos para estas dos variables. Para el polvo de mesocarpio del híbrido, se encontraron valores intermedios entre los extractos de las otras dos especies (Tabla 6). Ngando *et al*[7], también encontraron que los frutos de *E. guineensis* presentan valores de actividad lipásica superiores a los de *E. oleifera* (5-10 LU/g p.m). Para

el híbrido no se encuentran en la literatura, reportes de actividad lipásica ni de actividad específica.

Tabla 5. Contenido de aceite en mesocarpio y en polvo de mesocarpio seco

Especie	Aceite inicial en mesocarpio (%)	Aceite residual en polvo de mesocarpio (%)
<i>E.guineensis</i>	78,7±0,4	21,9±0,3
<i>E.oleifera</i>	16,7±0,2	4,5±0,1
Híbrido (OxG)	74,0±0,4	20,6±0,1

Todos los resultados se expresan como la media ± desviación estándar para n=3

Tabla 6. Actividad lipásica y actividad específica en extractos de *E. guineensis*, *E. oleifera* e híbrido (OxG).

Genotipo	Actividad lipásica (LUg⁻¹ p.m)	Actividad específica LU mg⁻¹ proteína
<i>E.guineensis</i>	313,2±3,9	31,8±0,4
<i>E. oleifera</i>	102,3±2,5	11,0±0,3
híbrido(OxG)	255,8±5,5	19,2±0,4

p.m, polvo de mesocarpio. Todos los resultados se expresan como la media ± desviación estándar para n= 3.

En cuanto a la actividad específica, el valor obtenido para el extracto de mesocarpio de *E. guineensis* (31,8±0,4) fue muy similar al reportado por Ngando *et al* [40], (30 LU/mg proteína).

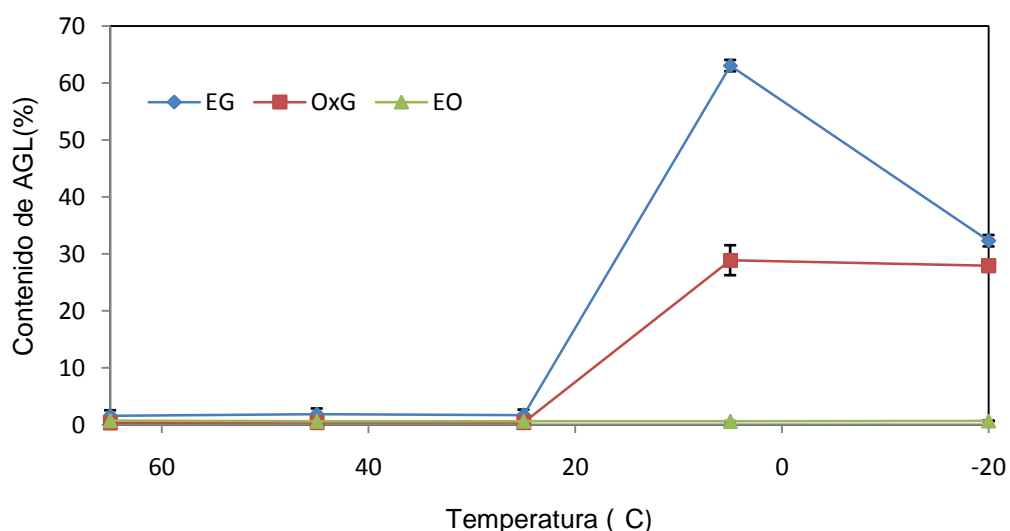
3.1.2 Evaluación de actividad lipásica *in situ*. Como segunda metodología para medir la actividad lipásica, se empleó un ensayo de activación *in situ*, que permitió evaluar de manera directa la formación de AGL en el fruto ocasionada por la activación de la enzima. Con el fin de inducir la máxima activación de la enzima,

se ensayaron diferentes temperaturas de almacenamiento del fruto (-20°C, 5°C, 25°C, 45°C, 60°C) empleando para ello, frutos enteros (tratamiento 1) y frutos cortados en rodajas (tratamiento 2).

En la **Figura 9** se observa el efecto de la temperatura de almacenamiento de los frutos enteros (tratamiento 1), sobre la formación de AGL y se encuentra que a temperatura ambiente (25°C) y a temperaturas superiores (45°C y 60°C), no hay formación significativa de AGL en los frutos de las tres especies. A bajas temperaturas (5°C y -20°C), en cambio, se produjo un notable incremento en el nivel de AGL en el híbrido y en *E. guineensis*, con una máxima formación de AGL a 5°C. En el caso de *E. oleifera* no se observó cambio en la concentración de AGL a estas temperaturas.

Al evaluar el efecto del tratamiento 2 (corte en rodajas) sobre la actividad de la enzima, se halló que a todas las temperaturas evaluadas hay formación de ácidos grasos libres, alcanzándose a 5°C un máximo de 53,9% de AGL para frutos de *E. guineensis* (**Figura 10**).

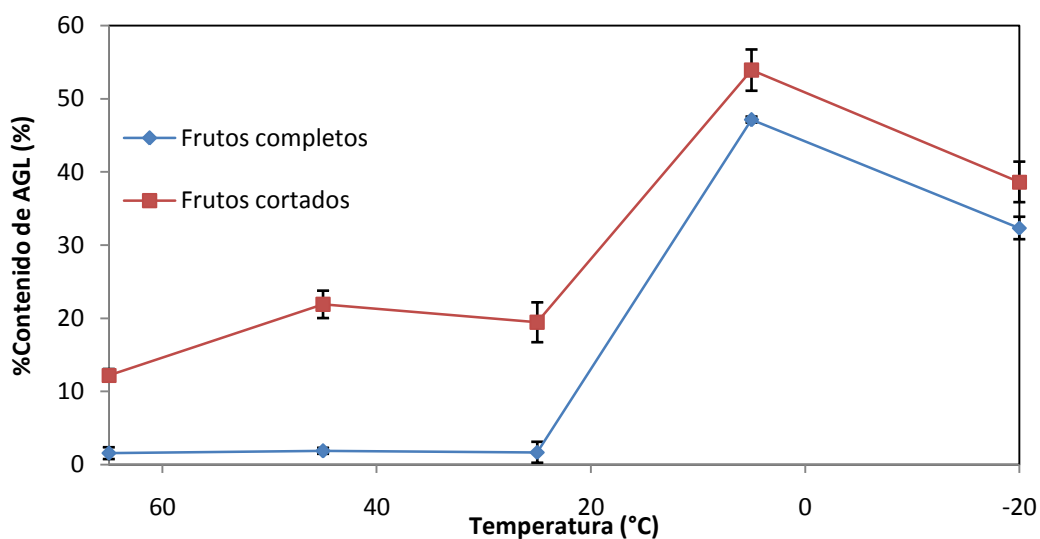
Figura 9. Variación de la formación de AGL con la temperatura para frutos de *E. guineensis* (EG), *E. oleifera* (EO) e híbrido (OxG), bajo el tratamiento 1.



Teniendo en cuenta que los frutos enteros solo presentaron activación a bajas temperaturas, se puede inferir que la formación de AGL observada en los frutos cortados en rodajas, incluso a temperatura ambiente, es causada por el corte o daño del tejido del mesocarpio. Adicionalmente, el máximo observado a 5°C, corresponde al efecto combinado de la activación por frío y la activación por el corte del mesocarpio.

Con base en los anteriores resultados, el tratamiento seleccionado para medir la actividad lipásica *in situ*, fue el almacenamiento de los frutos enteros a 5°C durante toda la noche, debido a que bajo estas condiciones se pueden observar diferencias apreciables en la formación de AGL entre las tres especies a evaluar. Adicionalmente, con el tratamiento seleccionado, la activación de la enzima depende solo de la temperatura de almacenamiento del fruto, lo cual facilita el control del ensayo.

Figura 10. Variación de la formación de AGL con la temperatura, en frutos de *E. guineensis* completos y frutos cortados en rodajas.



3.1.3 Análisis de triglicéridos. Una vez seleccionado el tratamiento de activación *in situ*, se evaluó la acción hidrolítica de la lipasa sobre los triglicéridos almacenados en el fruto y su variación en las tres especies evaluadas. Para tal fin, se comparó la composición de TG de los frutos expuestos a 5°C, con la de los frutos frescos mantenidos a temperatura ambiente (**Tabla 7**). En el **Anexo A** se presentan los perfiles cromatográficos de TG. Se pudo evidenciar, que la exposición de los frutos a 5°C generó una notable disminución en el contenido total de triglicéridos en las muestras de *E. guineensis* (35,1%) e híbrido (28,1%), mientras que los frutos de *E. oleifera* no mostraron un cambio apreciable en el contenido de triglicéridos (0,4%). Lo anterior, confirma que la lipasa del mesocarpio es fuertemente activada a bajas temperaturas y que la actividad de esta enzima varía con el genotipo en el siguiente orden: *E.guineensis*>OxG>*E. oleifera*.

Tabla 7. Cambio en la composición de los principales triglicéridos en frutos de *E. guineensis*, *E. oleifera* y OxG, durante el tratamiento de activación de la enzima por enfriamiento.

Genotipo	Triglicérido	Composición porcentual (% peso)			
		Frutos frescos (25°C)	Frutos refrigerados (25°C)	Diferencia Absoluta	Diferencia relativa
<i>E. guineensis</i>	PLP(C50)	14,0	9,2	4,8	34,5
	POP(C50)	34,3	28,1	6,2	18,0
	PLL(C52)	4,0	1,2	2,9	70,6
	POL(C52)	11,0	3,5	7,5	68,0
	POO(C52)	18,9	7,3	11,5	61,1
	OOL(C54)	1,5	0,8	0,7	46,0
	OOO(C54)	2,1	0,7	1,3	65,1
	Otros	15,5	13,5	2,1	13,3
	Total	99,5	64,4	35,1	35,4
Híbrido (OxG)	PLP(C50)	9,4	6,4	3,0	31,7
	POP(C50)	17,0	11,5	5,5	32,3
	PLL(C52)	6,7	5,1	1,7	24,7

	POL(C52)	17,7	12,9	4,8	26,9
	POO(C52)	23,4	17,0	6,4	27,4
	OOL(C54)	7,6	5,6	2,0	26,2
	OOO(C54)	7,6	5,8	1,9	24,6
	Otros	9,7	6,8	2,9	29,5
	Total	99,2	71,1	28,1	28,3
<i>E.oleifera</i>	PLP(C50)	13,1	13,1	0,0	0,0
	POP(C50)	9,4	9,3	0,1	0,6
	PLL(C52)	14,1	14,1	0,0	0,0
	POL(C52)	23,2	22,9	0,3	1,3
	POO(C52)	14,2	13,9	0,2	1,5
	OOL(C54)	9,9	9,8	0,1	1,1
	OOO(C54)	5,0	5,0	0,0	0,0
	Otros	10,7	10,7	0,0	0,0
	Total	99,2	98,9	0,6	0,6

Abreviaturas: O,oleico; P, palmítico; L, linoleico.

Adicionalmente, se encontró que en los frutos frescos de *E. guineensis*, POP es el triglicérido más abundante, pero los más susceptibles a la reacción de hidrólisis son el PLL y el POL. En el caso del híbrido, el triglicérido más abundante es el POO y los más hidrolizados son el POP y el PLP. A partir de estos resultados, se puede sugerir que la lipasa del mesocarpio no es específica, tal como lo habían establecido Ngando *et al*[40] para *E.guineensis*.

3.1.4 Correlación entre las dos metodologías de medición de actividad lipásica. Una vez optimizado el método de medición de actividad en el extracto de mesocarpio y el método de activación *in situ*, se estableció la correlación entre las dos metodologías, usando muestras de las tres especies. En la **Tabla 8**, se presentan los valores obtenidos, hallándose en los tres casos una correlación positiva ($r^2=0,997$) entre las dos metodologías. Sin embargo, para continuar con los estudios, se seleccionó la metodología de activación *in situ*, porque permite medir en forma directa la formación de AGL ocasionada por el daño en el fruto, evitando así el complicado proceso de extracción de la enzima, que involucra el control de variables como la temperatura, contenido de humedad en el mesocarpio, tiempo de almacenamiento del extracto y contenido de aceite. Este

método además, es más rápido, económico y sencillo de aplicar en la evaluación de un gran número de muestras.

Los resultados presentados en esta sección, además de permitir la selección de una metodología de análisis de actividad lipásica, ofrecieron información importante sobre el mecanismo de activación de la enzima dentro del fruto. De esta manera, se encontró que el daño en el tejido del fruto, ya sea por corte del mesocarpio o por la activación en frío, son la principal causa de activación de la enzima. Según Sambanthamurthi *et al* [38], a bajas temperaturas, especialmente a 5°C, se produce un daño en las membranas de las células del mesocarpio de *E. guineensis*, lo cual aumenta la disponibilidad de sustrato y facilita la liberación de la enzima que se encuentra ligada a las a las membranas de los oleosomas. Para el caso de *E. oleifera* y del híbrido, no se encuentran reportes sobre la temperatura de activación de la enzima y para el híbrido no se reportan valores de actividad lipásica.

Tabla 8. Actividad lipásica y actividad *in situ* en *E. guineensis*, *E. oleifera* e híbrido (OxG).

Especie	Metodología 1	Metodología 2
	Actividad lipásica (LUg ⁻¹ p.m)	Actividad <i>in situ</i> (% AGL)
<i>E. guineensis</i>	313,2±3,9	51,4±0,23
<i>E. oleifera</i>	102,3±2,5	1,8±0,47
híbrido(OxG)	255,8±5,5	45,9±0,28

p.m, polvo de mesocarpio. Todos los resultados se expresan como la media ± desviación estándar para n= 3.

Otros autores han demostrado, que el almacenamiento a temperaturas de refrigeración y no de congelación, causa el deterioro en los tejidos de diferentes frutas y verduras de origen tropical y subtropical [53-56]. Se ha evidenciado que el estrés generado por las bajas temperaturas, induce un notable incremento en la producción de etileno, que es una hormona asociada a diferentes rutas

metabólicas de los procesos de maduración y senescencia de los frutos. En el caso del fruto de la palma de aceite, existen evidencias que demuestran que éste exhibe las características de un fruto climatérico y que el etileno cumple una función importante en los procesos de desarrollo del mesocarpio [57, 58]. Por lo tanto, es necesario establecer la posible relación entre la producción de etileno a bajas temperaturas y la activación de la lipasa. La baja producción de etileno en la especie *E. oleifera* podría ser una herramienta para explicar la mayor resistencia de esta especie al daño por enfriamiento y a su vez la menor formación de AGL.

3.2 EVALUACIÓN DE LAS COLECTAS

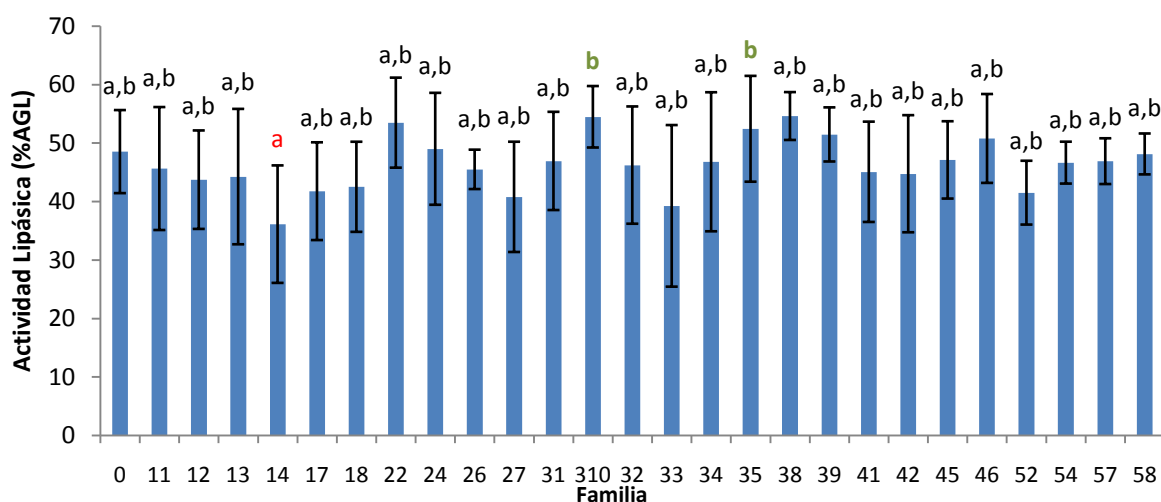
Una vez establecidas las condiciones de muestreo y definido el método de medición de la actividad lipásica, se procedió a evaluar su variación en las colectas que tiene Cenipalma de *E. guineensis* y *E. oleifera*, además del ensayo de variedades donde se muestrearon materiales comerciales de *E. guineensis* tipo tenera y el híbrido OxG. Adicionalmente, también se evaluó la variación del contenido de aceite, composición de ácidos grasos, contenido de vitamina E y de carotenos, en los diferentes materiales de las colectas. Los valores obtenidos se correlacionaron con los de actividad lipásica con el fin de encontrar posibles asociaciones que ayuden a la selección de genotipos que produzcan aceite de mejor calidad.

3.2.1 Actividad lipásica

- **Colecta *E. guineensis* de Angola.** La actividad lipásica promedio de cada una de las 26 familias evaluadas en la colecta de *E. guineensis* de Angola, incluyendo el testigo comercial ("0"), se presenta en la **Figura 11**. Se observó, que el valor promedio de formación de AGL fue de $46,4 \pm 9,0$ %, con un rango de variación entre 36,1% y 54,5%. Adicionalmente, tres familias de la colecta mostraron diferencias estadísticamente significativas para esta variable. La familia **14** presentó la actividad lipásica más baja ($36,1 \pm 10,0$ %AGL), mientras que las familias **310** y **38** mostraron los valores más altos de formación de AGL, con $54,5 \pm 5,2$ % y $54,6 \pm 4,1$ % respectivamente.

En comparación con los resultados encontrados en el banco de germoplasma de Malasia [41], donde los genotipos de *E. guineensis* de Angola presentaron una variación entre 9,7%AGL y 66,8 %AGL; la colecta de Cenipalma mostró menor variabilidad. En el caso del presente trabajo, no se encontraron familias o palmas individuales con una actividad lipásica tan baja como la reportada en los materiales de Malasia, empleando la misma metodología de activación *in situ*. Lo anterior puede deberse a diferencias en la variabilidad genética de la colecta, factores climáticos, entre otros, que pueden influir en la bioquímica de las palmas.

Figura 11. Variación de la actividad lipásica en las familias de la Colecta de *E. guineensis* (Angola).

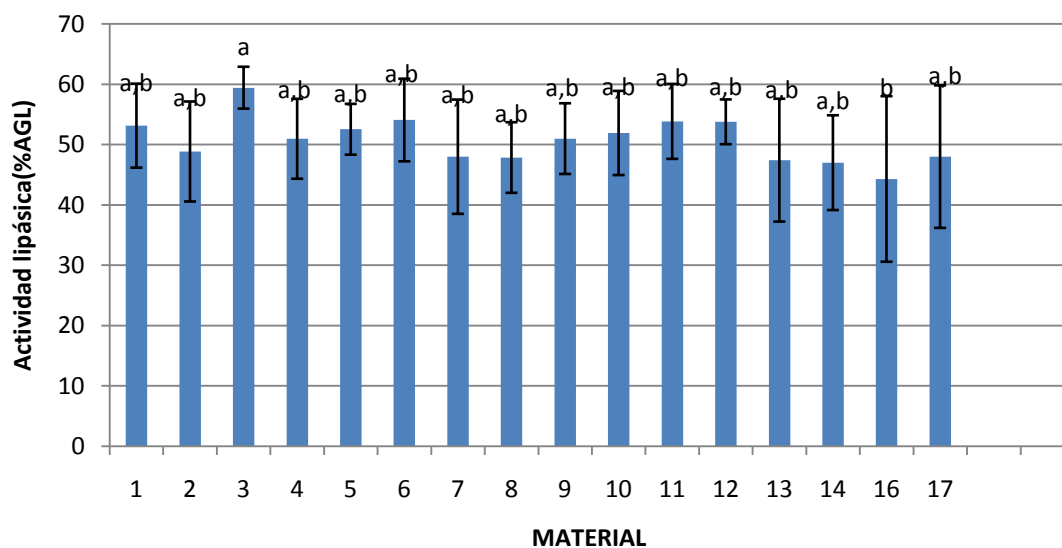


Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar para $n=6$. Las letras expresan diferencias significativas a un nivel de confianza $p<0,05$.

- **Ensayo de Variedades *E.guineensis* tipoTenera.** En la **Figura 12**, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad lipásica en 16 materiales comerciales de *E.guineensis* tipo tenera. Se encontró, que la mayor formación de AGL se da en el material**3**, con $59,4\pm 3,5\%$, mientras que la menor formación de AGL, se observó en el material**16**, con $44,3\pm 13,7\%$. Los otros 14 materiales se clasificaron en un grupo con actividad lipásica intermedia.

Los valores de actividad lipásica encontrados en las variedades comerciales de Cenipalma, fueron más altos que los reportados para algunas variedades de Camerún [7]. Sin embargo, las condiciones de activación *in situ* fueron diferentes a las empleadas en este estudio. Para cruzamientos Deli x La Mé, como los evaluados en los materiales 12, 13 y 14, la literatura reporta porcentajes de AGL entre 5,34% y 44,85%, mientras que los encontrados en este trabajo variaron entre 47,0% y 53,8%. De igual manera, para el cruzamiento Déli x Yagambi, los dos materiales evaluados en Camerún presentaron menor actividad lipásica (24,2% AGL y 28,6% AGL) que los del ensayo de variedades de Cenipalma (47,9% y 51,9 % AGL).

Figura 12 Variación de la actividad lipásica en los materiales *E.guineensis* tenera del ensayo de variedades.

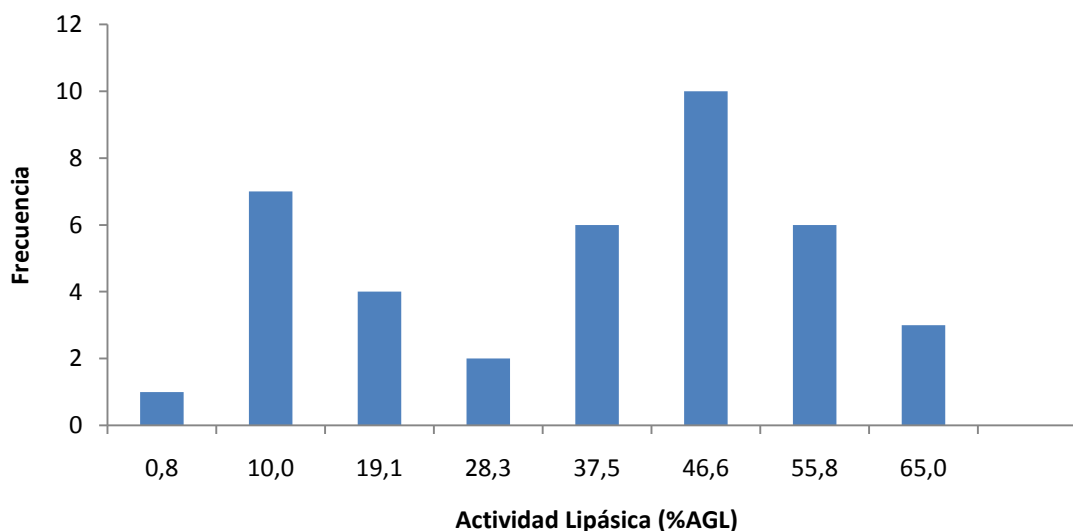


Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar para n=6. Las letras indican diferencias significativas para un nivel de confianza $p < 0,05$.

- **Materiales híbridos:** En los materiales híbridos del ensayo de variedades (materiales 15 y 18), aunque el valor promedio de actividad lipásica fue muy similar (31,0% AGL y 30,4% AGL), se encontró una amplia variabilidad entre

palmas individuales, cuyos porcentajes de formación de AGL oscilaron entre 0,80% y 58,5%. La distribución de la actividad lipásica en la población de 39 individuos (**Figura 13**) mostró que el 64% de las palmas evaluadas tiene valores de formación de AGL entre 37,5% y 55,8%, los cuales se pueden considerar como de alta actividad lipásica, por ser similares a los encontrados en los materiales comerciales de *E. guineensis* (36,1-54,5% AGL). Por otro lado, el diagrama permite observar, que un porcentaje minoritario de la población (26%), presentó valores de actividad lipásica entre intermedios y bajos (0,8%-28,3%AGL). Algunas palmas mostraron porcentajes de formación de AGL, similares a los encontrados en la especie *E.oleifera* (<1% AGL).

Figura 13. Distribución de frecuencias de la actividad lipásica en población de materiales híbridos (OxG).



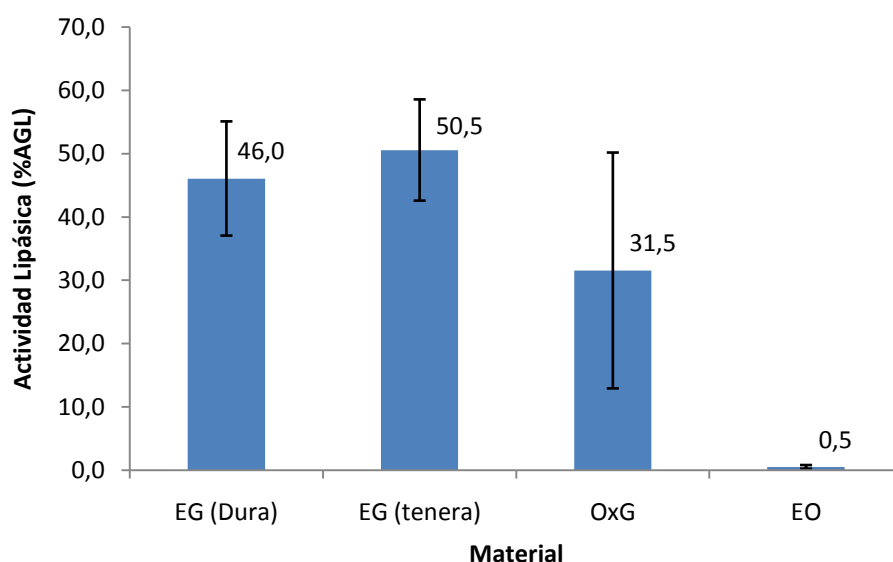
Teniendo en cuenta esta distribución, se puede sugerir que en el cruzamiento OxG es dominante el carácter genético de alta actividad lipásica heredado de la especie *E. guineensis*, sobre el carácter de actividad lipásica baja heredado de la especie *E. oleifera*. Sin embargo, para poder comprobar esta hipótesis, sería necesario realizar análisis moleculares y evaluar otros cruzamientos OxG, diferentes al Coarí x La Mé.

- ***E. oleifera***. En cuanto a la especie *E. oleifera*, el promedio de actividad lipásica obtenido en todas las familias fue inferior al 1% AGL, lo que demuestra que ninguno de los genotipos evaluados presenta una formación significativa de AGL frente al tratamiento de activación de la enzima *in situ*. Por lo anterior, se puede sugerir que cualquiera de las familias evaluadas, podría llegar a transferir las características de baja actividad lipásica a los nuevos cruzamientos interespecíficos OxG.

La actividad lipásica de las familias de *E. oleifera* evaluadas en este trabajo, fue inferior a la encontrada en palmas procedentes del banco de germoplasma de Malasia (2,8%-6,2% AGL), donde se evaluaron colectas de *E. oleifera* de Brasil, Honduras y Surinam, empleando la misma metodología de análisis *in situ*[41].

Por último, se determinó el valor promedio de actividad lipásica en las poblaciones de *E. guineensis* dura, *E. guineensis* tenera, *E. oleifera* e híbrido OxG y se realizó la comparación entre pares de medias usando la prueba de menor significancia LSD de Fisher. La prueba mostró que el valor promedio de cada población, es estadísticamente diferente de las demás para un nivel de confianza del 95%.**(Figura 14)**.

Figura 14. Valores promedio de actividad lipásica por tipo de material evaluado



EG: *E.guineensis*, OxG: *E.oleifera* x *E.guineensis*, EO: *E.oleifera*. Los resultados se presentan como la media desviación estándar para n=157 EG (Dura), n=112 en EG(tenera), n=39 en OxG y n=46 en EO.

Teniendo en cuenta lo anterior, se estableció que la especie *E. guineensis* presenta la mayor actividad lipásica y que para esta misma especie, la variedad tenera muestra mayor formación de AGL que la variedad dura. Adicionalmente, se puede observar que la actividad lipásica de los materiales tenera, que son los que se cultivan en el país, es 1,6 veces superior al promedio de los híbrido y 77 veces superior a la de la especie *E. oleifera*.

3.2.2 Contenido de aceite. El contenido de aceite en el fruto y en el mesocarpio fresco, son parámetros de productividad de gran importancia para la selección de materiales genéticos. Una palma con buena producción de aceite en mesocarpio y que a su vez tenga una buena relación de mesocarpio en fruto, es de gran interés, para los propósitos de mejoramiento [16, 42-44].

- **Colecta *E. guineensis* de Angola:** En la **Tabla 9**, se presentan los valores promedio de aceite en mesocarpio fresco y aceite en fruto, para las 27 familias de la colecta de *E. guineensis* de Angola. Se observó, que el aceite en mesocarpio varió desde 47,9% hasta 58,2% y el contenido de aceite en fruto varió entre 20,7% y 43,3%. Sin embargo, el análisis ANOVA, mostró que solo existen diferencias significativas entre familias, para la variable de aceite en fruto y no para el aceite en mesocarpio fresco; lo cual demuestra que la proporción de nuez en el fruto puede ser muy variable en la colecta.

Tabla 9. Contenido de aceite en mesocarpio, aceite en fruto y actividad lipásica en la colecta de *E. guineensis* (Angola).

Familia	Aceite en mesocarpio fresco (%)	Aceite en fruto (%)	Actividad lipásica (% AGL)
0	55,3±5,8	43,4±8,1 ^a	48,5±7,1 ^{ab}
11	54,1±6,5	32,0±7,3 ^{abc}	45,6±10,5 ^{ab}
12	55,8±4,7	27,8±4,8 ^{bcd}	43,7±8,4 ^{ab}
13	54,1±4,6	28,5±5,9 ^{bcd}	44,2±11,6 ^{ab}
14	56,5±3,1	29,9±3,6 ^{abcd}	36,1±10,0 ^a
17	55,3±6,2	27,7±4,3 ^{bcd}	41,8±8,3 ^{ab}
18	48,7±7,2	21,8±4,2 ^{cd}	42,5±7,7 ^{ab}
22	55,4±2,3	37,4±4,9 ^{ab}	53,5±7,7 ^{ab}
24	55,0±3,9	32,1±4,5 ^{abc}	49,0±9,6 ^{ab}
26	52,7±5,3	26,2±3,6 ^{bcd}	45,5±3,4 ^{ab}
27	58,8±4,6	29,8±4,3 ^{abcd}	40,8±9,4 ^{ab}
31	50,0±7,9	22,7±5,1 ^{cd}	46,9±8,4 ^{ab}
32	52,9±6,4	31,3±7,0 ^{abc}	46,2±10,0 ^{ab}
33	47,9±5,2	21,4±3,1 ^{cd}	39,2±13,8 ^{ab}
34	55,4±4,0	27,6±4,7 ^{bcd}	46,8±11,9 ^{ab}
35	53,8±3,0	31,4±9,6 ^{abc}	52,4±9,0 ^{ab}
38	55,3±7,5	24,0±4,6 ^{cd}	54,6±4,1 ^b
39	50,9±6,7	24,5±3,3 ^{cd}	51,5±4,6 ^{ab}
41	57,4±2,9	31,3±3,4 ^{abc}	45,1±8,6 ^{ab}
42	55,4±7,1	28,1±4,4 ^{abcd}	44,7±10,0 ^{ab}
45	50,9±6,7	27,5±5,4 ^{bcd}	47,1±6,6 ^{ab}
46	58,2±10,8	31,6±8,2 ^{abc}	50,8±7,6 ^{ab}
52	53,3±3,6	23,0±1,9 ^{cd}	41,5±5,4 ^{ab}
54	54,8±4,7	27,5±3,1 ^{bcd}	46,6±3,6 ^{ab}
57	51,1±6,9	25,3±5,3 ^{cd}	46,9±3,9 ^{ab}
58	53,1±4,8	20,7±2,7 ^d	48,1±3,5 ^{ab}
310	51,8±2,9	24,7±6,4 ^{cd}	54,5±5,2 ^b
Promedio (Familias)	53,7±5,9	28,0±7,0	

Los valores se presentan como la media ± desviación estándar para n=6. Las letras en cada columna representan diferencias significativas para un nivel de confianza p<0,05, los demás promedios no son significativos para p<0,05.

Entre tanto, la prueba de *Tuckey* permitió clasificar las familias de la colecta de Angola en 8 grupos respecto al contenido de aceite en fruto. El testigo comercial “0”, conformado por palmas *E. guineensis* tenera, fue estadísticamente superior a las demás familias de la colecta, con 43,4±8,1% de aceite en fruto. Lo anterior,

debido a que la variedad tenera posee aproximadamente 2 veces más mesocarpio en fruto que las variedades dura presentes en las demás familias de la colecta. Apartando el testigo comercial, la familia **22**, clasificada en el grupo ab, presentó el mayor contenido de aceite en fruto con 37,4%, mientras que el contenido más bajo lo presentó la familia **58** con 20,7%.

De otra parte, aun cuando no se observó una correlación directa entre el contenido de aceite y la actividad lipásica, se puede resaltar que la familia con menor actividad lipásica (**14**), presentó un contenido de aceite en fruto de $29,9 \pm 3,6$ %, el cual es superior al valor promedio obtenido de todas las familias de la colecta (28,0%). Entre tanto, las familias **310** y **38**, clasificadas como de alta actividad lipásica, mostraron contenidos de aceite inferiores al valor promedio con 24,7% y 24,8% respectivamente.

- **Ensayo de Variedades *E.guineensis* tipotenera** Los 16 materiales comerciales tenera evaluados en este ensayo, mostraron contenidos de aceite en mesocarpio fresco entre 52,5% y 59,0% y contenidos de aceite en fruto entre 40,4% y 47,0%, como se observa en la **Tabla 10**. El análisis de varianza ANOVA, mostró que entre los diferentes materiales de este ensayo, no existen diferencias significativas para ninguna de las dos variables. Los valores promedio de aceite en fruto (44,7%) y aceite en mesocarpio fresco (55,4%) para todos los materiales del ensayo, fueron superiores a los encontrados en la colecta de Angola.

De otra parte, al igual que en la colecta de Angola, tampoco se encontró correlación directa entre el contenido de aceite y la actividad lipásica. Sin embargo, el material **16**, que presentó la menor formación inducida de AGL, mostró un contenido promedio de aceite en fruto de 46,5%. Este valor fue superior en 1,8%, al valor promedio de aceite obtenido en los demás materiales evaluados, lo cual hace interesante esta variedad, porque además de presentar buena producción de aceite en fruto, presenta la menor actividad lipásica dentro del ensayo.

Tabla 10. Contenido de aceite en fruto, aceite en mesocarpio y actividad lipásica para los materiales del ensayo de variedades

Material	Aceite en fruto (%)	Aceite en mesocarpio (%)	Actividad lipásica (%)
1	45,5±4,1 ^a	58,3±3,4 ^a	53,1±7,0 ^{ab}
2	42,8±8,2 ^a	53,3±7,2 ^a	48,9±8,3 ^{ab}
3	45,8±2,7 ^a	55,5±3,0 ^a	59,4±3,5 ^a
4	45,0±2,6 ^a	57,3±3,3 ^a	51,0±6,6 ^{ab}
5	45,0±4,6 ^a	56,4±2,6 ^a	52,5±4,2 ^{ab}
6	40,4±5,1 ^a	52,5±4,0 ^a	54,1±6,8 ^{ab}
7	42,0±2,7 ^a	53,2±3,8 ^a	48,0±9,5 ^{ab}
8	45,3±5,9 ^a	54,8±6,2 ^a	47,9±5,8 ^{ab}
9	44,8±4,7 ^a	56,6±1,1 ^a	51,0±5,9 ^{ab}
10	44,6±3,8 ^a	52,4±3,1 ^a	51,9±7,0 ^{ab}
11	42,5±5,5 ^a	53,5±4,4 ^a	53,8±6,2 ^{ab}
12	44,8±3,2 ^a	53,8±2,6	53,8±3,7 ^{ab}
13	46,1±2,6 ^a	56,9±3,1 ^a	47,4±10,2 ^{ab}
14	47,0±5,2 ^a	55,2±3,6 ^a	47,0±7,8 ^{ab}
16	46,5±3,1 ^a	57,1±4,2 ^a	44,3±13,7 ^b
17	46,3±3,3 ^a	59,0±1,5 ^a	48,0±11,8 ^{ab}
Promedio materiales	44,7±1,8	55,4±2,1	

Los resultados se presentan como la media ± desviación estándar para n=6. Las medias con las mismas letras en cada columna indican que no hay diferencias significativas para p<0,05.

- **Materiales híbridos (OxG).** En el caso de los materiales híbridos, los valores promedio de aceite en mesocarpio fresco y aceite en fruto, fueron muy similares en los do materiales evaluados (**Tabla 11**). En comparación con los valores obtenidos para estas mismas variables en los materiales tenera, los híbridos OxG presentaron 12% menos de aceite en mesocarpio y 14% menos de aceite en fruto. Respecto a la colecta de Angola, los híbridos presentaron mayor contenido de aceite en fruto.

Tabla 11. Contenido de aceite en mesocarpio y aceite en fruto en materiales híbridos

Material	Contenido de aceite en mesocarpio fresco (%)	Contenido de aceite en fruto (%)
15	41,3±6,2	29,0±5,0
18	46,7±3,5	32,1±4,9
Total	43,3±5,930	30,3±5,2

Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar para n=6

Adicionalmente, dentro de la población de híbridos evaluada, los contenidos de aceite en fruto y en mesocarpio fresco, presentaron rangos de variación entre 18,8% y 41,5% y entre 29,5% y 52,7% respectivamente. La distribución de la población respecto a estas variables se presenta en la **Figura 15**, donde se observa que la mayoría de palmas presentó contenidos de aceite en fruto entre 30,0% y 33,7% y contenidos de aceite en mesocarpio entre 40,9% y 52,2%.

En la **Tabla 12** se presentan los coeficientes de correlación lineal de Pearson entre la actividad lipásica y el contenido de aceite en la población de híbridos OxG. Se encontró que tanto el contenido de aceite en fruto, como el contenido de aceite en mesocarpio fresco, presentan poca correlación con la actividad lipásica. Sin embargo, la correlación inversa encontrada entre el aceite en fruto y la actividad lipásica, fue significativa a $p < 0,05$, por lo tanto es un parámetro que sería necesario evaluar en un mayor número de muestras, con el fin de comprobar la relación entre estas variables.

Figura 15. Distribución de frecuencias del (A) contenido de aceite en fruto y B) Contenido de aceite en mesocarpio fresco, en población de materiales híbridos (OxG).

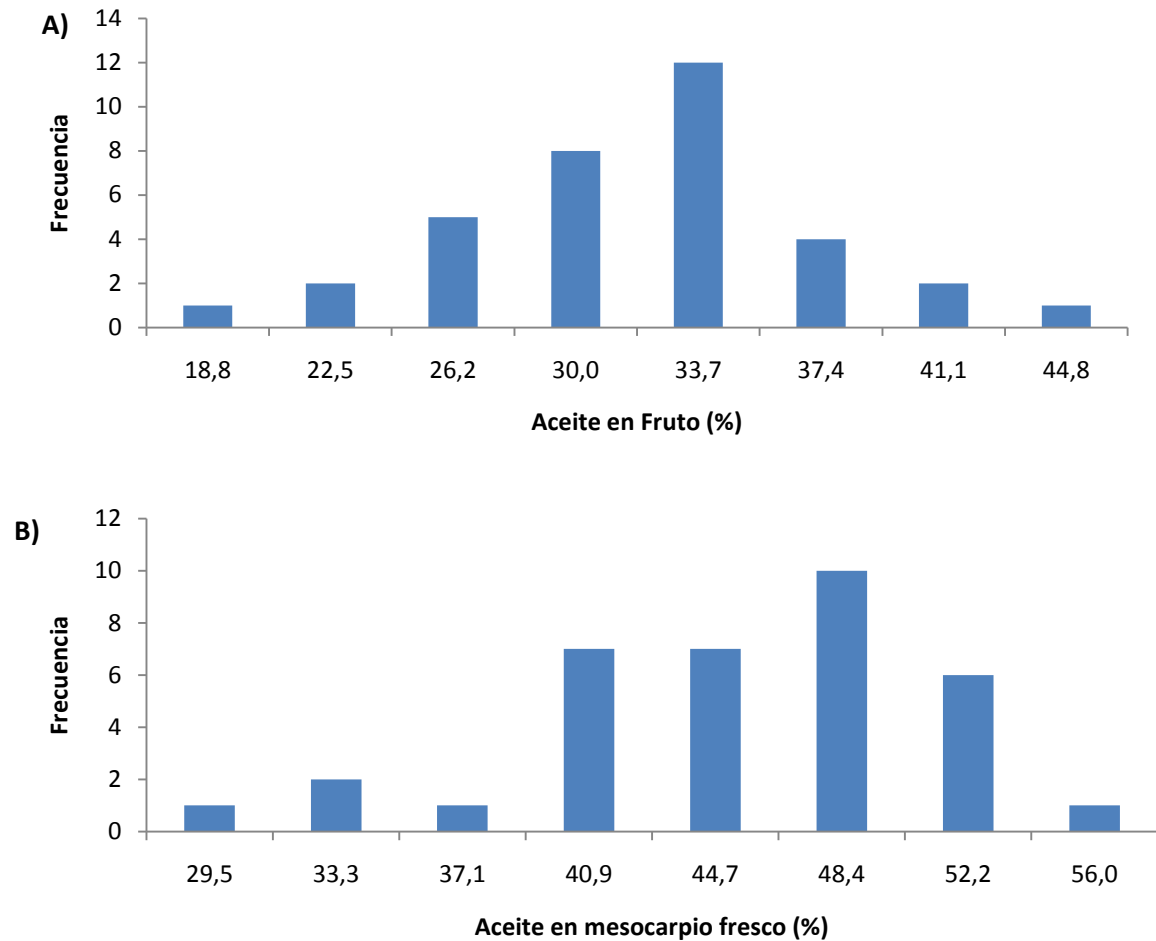


Tabla 12. Coeficientes de correlación simples entre la actividad lipásica y los contenidos de aceite en fruto y aceite en mesocarpio fresco, de la población en híbridos OxG.

	Aceite en mesocarpio fresco	Aceite en Fruto
Actividad Lipásica	0,2047	0,3403*

** Significativo a $p < 0,05$. *Significativo a $p < 0,01$. Tamaño de población (n)=39.

- ***E. oleifera***. Finalmente, la evaluación del contenido de aceite en mesocarpio fresco y de aceite en fruto en las familias de *E. oleifera*, mostró que para estos parámetros no existe variabilidad significativa entre familias. El valor promedio de aceite en mesocarpio fresco fue de $13,7\pm 4,1\%$ y el de aceite en fruto de $6,7\pm 1,9\%$ (**Tabla 13**). Estos valores, comparados con los encontrados para las variedades *E. guineensis* y para los híbridos (Ver tablas 11 y 12), demuestran la baja productividad de esta especie. Entre tanto, el análisis por palmas individuales mostró que las dos palmas con mayor contenido de aceite en fruto (11,9%) y de aceite en mesocarpio fresco (19,7% y 19,9%) pertenecen a la familia 1, lo cual indica que estas palmas se pueden tener en cuenta para futuras evaluaciones.

Tabla 13. Contenido de aceite en mesocarpio fresco y aceite en fruto para las familias de *E.oleifera*.

Familia	Aceite en mesocarpio	
	Fresco (%)	Aceite en Fruto (%)
1	16,1±3,7 ^a	7,9±2,2 ^a
2	11,7±1,8 ^a	6,4±1,3 ^a
3	15,6±2,7 ^a	7,0±1,0 ^a
4	10,9±5,3 ^a	5,3±2,4 ^a
5	13,8±3,8 ^a	6,7±1,4 ^a

Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar para $n= 9$. Las medias con la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes para $p<0,05$.

Al comparar el valor promedio y el rango de variación para el contenido de aceite en las familias de *E. oleifera* de Cenipalma, con el encontrado en otras colectas de *E. oleifera* del banco de germoplasma del PORIM-Malasia (Tabla 14); se pudo observar que las familias de Cenipalma, junto con la colecta de Honduras, presentan el valor promedio más bajo de aceite en mesocarpio y el menor rango de variación entre familias. Sin embargo, es importante tener en cuenta que las colectas de Colombia, Panamá y Costa Rica, evaluadas en el PORIM, involucran mayor número de familias, lo cual puede influir en la alta variabilidad encontrada dentro de las colectas.

Tabla 14. Variación del contenido de aceite en mesocarpio fresco en diferentes colectas de *E.oleifera*

Colecta	Aceite en mesocarpio fresco (%)		
	Media	Rango	DE
Colombia*	14,3	5,9-22,3	5,1
Panamá*	17,2	6,0-32,2	5,8
Costa Rica*	17,1	8,5-26,9	4,5
Honduras*	13,8	—	—
Cenipalma	13,7	10,9-16,1	4,1

*Datos obtenidos de Mohd Din, *et al*(44)] Número de familias (n): 22,18, 21, 1 y 5 para Colombia, Panamá, Costa Rica, Honduras y Amazonas respectivamente.

3.2.3 Caracterización de aceites. La caracterización de los aceites comprendió la evaluación de algunos de los principales parámetros de calidad del aceite crudo, como el perfil de ácidos grasos, el contenido de vitamina E y el contenido de carotenos.

- **Composición de ácidos grasos.** En la **Tabla 15** se presentan los valores promedio de los principales ácidos grasos y sus sumatorias (AGS, AGMI, AGPI), en los materiales *E. guineensis* dura, *E. guineensis* tenera, *E. oleifera* e híbrido. En el **Anexo B** se muestran los perfiles cromatográficos típicos para estas muestras.

Los resultados obtenidos, indican que los ácidos grasos más abundantes en los cuatro tipos de materiales evaluados, son el oleico y el palmítico y que la proporción en la que estos se encuentran en el aceite de cada material es variable. Por ejemplo, la proporción entre ácido oleico y palmítico en las palmas *E. guineensis* fue 50:50, mientras que en el híbrido fue 64:36 y en *E. oleifera* fue 59:41.

Para los demás ácidos grasos, las palmas *E. guineensis*, tanto dura como tenera, se caracterizaron por tener mayor contenido de AGS, de ácido palmítico y de

ácido esteárico, así como el contenido más bajo de AGI, respecto a los otros materiales. Por su parte, el aceite del híbrido OxG, se destacó por su elevado contenido de AGMI (53,6%), el cual fue superior al de las otras dos especies. El aceite de *E. oleifera*, aunque presentó un contenido bajo de AGMI, en comparación con el híbrido OxG y con los valores reportados en la literatura (54%-69%) [9, 12], mostró mayor concentración de otros AGPI como el ácido linoleico y linolénico, que le confieren un elevado valor nutricional.

Tabla 15. Valores promedio para los principales ácidos grasos del aceite por tipo de palma evaluada.

Ácido graso	<i>E.guineensis</i> Dura (Angola)	<i>E.guineensis</i> tenera (variedades)	Híbrido (OxG)	<i>E.oleifera</i>
Mirístico	0,78±0,28	0,79±0,39	0,27±0,09	0,29±0,07
Palmítico	40,87±3,81	40,60±6,89	30,19±3,30	29,57±2,49
Palmitoleico	0,11±0,05	0,14±0,10	0,20±0,14	1,48±0,43
Margárico	0,10±0,04	0,09±0,08	0,13±0,12	ND
Steárico	5,72±1,40	4,75±1,44	3,15±0,64	1,47±0,14
Oleico	40,86±4,10	41,25±7,75	53,67±4,02	43,77±4,28
Vacénico	0,58±0,16	0,74±0,28	1,11±0,23	3,00±0,44
Linoleico	9,54±1,78	9,53±1,56	9,59±1,12	18,66±1,88
Linolénico	0,28±0,08	0,22±0,07	0,29±0,04	1,01±0,28
ΣAGS	47,20±4,83	46,23±7,71	32,87±6,45	31,32±2,55
ΣAGMI	41,34±4,99	42,12±7,89	53,57±9,65	48,25±3,83
ΣAGPI	9,77±1,90	9,75±1,56	9,63±1,95	19,67±2,11

Los resultados se presentan como la media ± desviación estándar, para el total de palmas evaluadas en cada población (n): 157, 112, 39 y 46 para *E.guineensis* vardura, *E. guineensis* var tenera, OxG y *E.oleifera*, respectivamente.

La concentración del ácido esteárico, otro ácido graso de interés por conferir a la fracción sólida del aceite de palma (estearina), potencial aplicación en la sustitución de grasas de alto valor comercial, también mostró variabilidad entre los materiales. La mayor concentración de este ácido graso se encontró en *E. guineensis* dura, seguido por las palmas tenera. Los materiales híbridos, a pesar de tener un contenido de AGS similar al de la especie *E. oleifera*, mostraron un

contenido de ácido esteárico superior al de dicha especie, lo cual es favorable, teniendo en cuenta el interés comercial de este ácido graso.

Adicionalmente, se evaluó la variación de los principales ácidos grasos dentro de las familias o materiales de un mismo ensayo. Para la colecta de *E. guineensis* de Angola, se encontró que la composición de ácidos grasos es muy homogénea en toda la colecta y que la única variable que mostró diferencias significativas entre familias fue el ácido palmítico. La familia con el contenido más alto de este ácido graso, fue la **57** con $44,51 \pm 5,66\%$. En el grupo intermedio ab, se clasificaron 25 familias, cuyos valores de ácido palmítico oscilaron entre $38,20\%$ y $43,40\%$. Finalmente, las familias **14** y **35** presentaron los valores significativamente más bajos para esta variable con $37,32 \pm 3,08\%$ y $37,67 \pm 2,10\%$ respectivamente (**Tabla 16**).

Es de resaltar que la familia **14**, además de presentar la menor actividad lipásica de toda la colecta, exhibe características interesantes en cuanto a su composición de ácidos grasos, como un bajo contenido de ácido palmítico y el valor promedio de ácido oleico más alto de todas las familias evaluadas ($45,00 \pm 4,44\%$). Adicionalmente, esta familia tuvo el valor más alto de AGMI y AGPI, junto con una buena proporción entre ácidos grasos saturados e insaturados, lo cual favorece el valor comercial de su aceite.

Tabla 16. Valores promedio de los principales ácidos grasos para las familias de la colecta de *E.guineensis* de Angola.

Familia	Oleico (%)	Palmítico (%)	ΣAGS (%)	ΣAGMI (%)	ΣAGPI (%)
0	39,85±4,08 ^a	40,98±4,53 ^{ab}	47,73±3,79 ^a	40,42±3,95 ^a	9,93±1,60 ^a
11	42,93±3,89 ^a	39,44±4,06 ^{ab}	46,25±3,43 ^a	43,55±3,84 ^a	8,56±2,37 ^a
12	41,57±4,26 ^a	39,76±4,53 ^{ab}	47,34±3,88 ^a	42,15±4,21 ^a	9,42±1,66 ^a
13	41,69±3,10 ^a	39,50±2,62 ^{ab}	46,80±2,16 ^a	42,31±3,13 ^a	9,57±1,79 ^a
14	45,00±4,44 ^a	37,32±3,08 ^b	44,53±3,15 ^a	45,60±4,45 ^a	8,85±2,27 ^a
17	39,75±2,28 ^a	41,53±2,84 ^{ab}	48,26±2,28 ^a	40,30±2,09 ^a	10,40±1,02 ^a
18	39,77±3,98 ^a	41,51±4,05 ^{ab}	43,80±14,98 ^a	36,80±12,77 ^a	9,41±3,43 ^a
22	38,63±4,75 ^a	43,31±4,15 ^{ab}	49,07±4,09 ^a	39,45±4,71 ^a	10,07±1,32 ^a
24	44,51±3,10 ^a	38,20±3,25 ^{ab}	44,11±3,02 ^a	45,15±3,01	9,34±1,12 ^a
26	38,26±3,23 ^a	43,24±2,20 ^{ab}	48,98±2,55 ^a	39,09±3,20 ^a	10,98±1,15 ^a
27	44,25±1,71 ^a	39,53±2,36 ^{ab}	45,18±2,04 ^a	44,95±1,75 ^a	9,13±0,49 ^a
31	39,98±2,80 ^a	41,71±1,90 ^{ab}	47,89±2,65 ^a	40,71±2,92 ^a	10,12±1,30 ^a
32	41,09±3,70 ^a	39,75±3,71 ^{ab}	45,89±3,17 ^a	41,80±3,68 ^a	11,29±2,25 ^a
33	39,99±6,33 ^a	40,96±4,26 ^{ab}	48,12±4,17 ^a	40,56±6,20 ^a	9,84±2,76 ^a
34	42,99±3,10 ^a	37,27±2,73 ^{ab}	46,34±1,93	43,48±3,06 ^a	8,86±1,31 ^a
35	43,87±2,34 ^a	37,67±2,10 ^b	44,58±2,63 ^a	44,53±2,44 ^a	9,96±1,86 ^a
38	42,65±2,10 ^a	41,30±1,42 ^{ab}	47,28±1,68 ^a	43,44±2,75 ^a	8,33±1,58 ^a
39	37,86±1,78 ^a	42,45±1,50 ^{ab}	49,10±1,22 ^a	38,57±1,82 ^a	10,71±1,05 ^a
41	40,63±4,88 ^a	39,47±5,19 ^{ab}	46,10±3,77 ^a	41,41±4,60 ^a	11,65±1,64 ^a
42	38,80±2,95 ^a	42,93±2,77 ^{ab}	49,12±2,18 ^a	39,51±2,88 ^a	10,71±1,67 ^a
45	39,19±7,02 ^a	41,19±5,81 ^{ab}	47,83±4,63 ^a	39,86±6,92 ^a	11,26±2,59 ^a
46	40,00±2,74 ^a	42,35±1,89 ^{ab}	48,53±1,44 ^a	40,77±2,73 ^a	9,51±1,53 ^a
52	39,86±3,65 ^a	42,91±2,89 ^{ab}	49,67±2,99 ^a	40,56±3,64 ^a	8,76±1,49 ^a
54	39,38±4,23 ^a	43,09±3,38 ^{ab}	48,94±3,42 ^a	40,24±4,25 ^a	9,73±1,35 ^a
57	38,93±5,50 ^a	44,51±5,66 ^a	50,93±6,22 ^a	39,65±5,60 ^a	8,59±1,62 ^a
58	38,44±2,85 ^a	43,40±2,78 ^{ab}	49,75±2,88 ^a	39,13±2,86 ^a	10,40±1,07 ^a
310	41,42±0,67 ^a	40,28±2,34 ^{ab}	45,84±2,39 ^a	42,23±0,86 ^a	9,61±0,89 ^a

Los resultados se presentan como la media ± desviación estándar para n= 6. Las letras en cada columna indican diferencias significativas para un nivel de confianza de p<0,05.

En comparación con los resultados encontrados previamente en la colecta de Angola del banco de germoplasma de Malasia [59], la colecta de Cenipalma presentó un rango de variación más amplio para los valores promedio de los

ácidos oleico y palmítico. En el caso del ácido oleico, la colecta de Malasia mostró una variación entre 37,8% y 43,8%, mientras que la de Cenipalma varió entre 37,9% y 45%. Para el ácido palmítico, la colecta de Malasia tuvo un rango de variación de 37,3 % a 42,6% y el de Cenipalma fue de 37,3% a 44,5. La mayor variabilidad observada en la colecta de Cenipalma, especialmente en el contenido de ácido palmítico, es favorable, ya que permite la selección de materiales con bajo contenido de este ácido graso saturado.

En cuanto a la evaluación del perfil de ácidos grasos en el ensayo de variedades (**Tabla 17**), se encontraron diferencias significativas en el contenido de ácido oleico, AGS, AGMI y AGPI, pero no en el contenido de ácido palmítico. El material **2**, correspondiente al cruzamiento Deli x (La Mé,Pobe,Yangambi), presentó el mayor contenido tanto de ácido oleico como de AGMI y se ubicó en el grupo minoritario para AGS. El rango de variación para el contenido de ácido oleico en estos materiales comerciales (29,4%-44,4%), fue superior al encontrado en la colecta de Angola y superior a la encontrada por Tan y Oh [60] para diferentes materiales tenera (37,8%-43,8%).

En cuanto a la actividad lipásica, para este ensayo no se encontró correlación entre esta variable y el perfil de ácidos grasos. Los materiales **2** y **16**, caracterizados por presentar la actividad lipásica más alta y la más baja, respectivamente, se ubicaron en el mismo grupo intermedio para el contenido de ácido oleico y de AGS.

Tabla 17. Valores promedio de los principales ácidos grasos para los materiales del ensayo de variedades

Tto	Oleico (%)	Palmítico (%)	ΣAGS (%)	ΣAGMI (%)	ΣAGPI (%)
1	36,44±1,86 ^{bc}	44,45±3,00 ^a	52,03±2,13 ^{ab}	37,01±1,76 ^b	9,86±1,04 ^{ab}
2	44,14±4,04 ^a	40,89±4,00 ^a	46,41±3,78 ^c	44,79±4,01 ^a	7,58±2,00 ^b
3	37,12±1,27 ^{bc}	44,42±0,94 ^a	50,04±0,87 ^{abc}	37,99±1,32 ^b	10,57±1,31 ^{ab}
4	38,02±1,21 ^{abc}	44,06±1,23 ^a	50,19±0,92 ^{abc}	38,87±1,18 ^{a,b}	9,57±0,57 ^{ab}
5	37,93±2,61 ^{abc}	44,15±1,94 ^a	49,97±1,75 ^{abc}	38,77±2,56 ^{ab}	10,01±1,32 ^{ab}
6	37,89±3,54 ^{abc}	44,77±3,02 ^a	51,37±3,10 ^{abc}	38,60±3,53 ^{ab}	8,64±1,00 ^{ab}
7	38,70±2,18 ^{abc}	43,66±1,65 ^a	50,50±1,77 ^{abc}	39,40±2,19 ^{ab}	8,62±0,74 ^{ab}
8	34,58±2,48 ^{bc}	46,01±3,61 ^a	52,39±2,16 ^{ab}	35,36±2,23 ^{ba}	11,00±0,89 ^{ab}
9	29,36±5,23 ^c	41,21±5,35 ^a	53,31±3,86 ^{ab}	34,68±4,86 ^b	10,62±2,47 ^{ab}
10	40,40±2,12 ^{abc}	41,94±0,99 ^a	48,34±1,48 ^{abc}	41,14±2,26 ^{ab}	9,34±0,85 ^{ab}
11	38,91±3,26 ^{abc}	43,75±3,62 ^a	49,73±3,68 ^{abc}	39,64±3,19 ^{ab}	9,45±1,28 ^{ab}
12	40,49±2,30 ^{abc}	42,00±2,57 ^a	48,00±2,13 ^{abc}	41,19±2,23 ^{ab}	9,42±0,94 ^{ab}
13	40,86±1,64 ^{ab}	40,64±1,94 ^a	46,96±1,71 ^{abc}	41,38±1,64 ^{ab}	10,53±1,01 ^{ab}
14	40,35±3,30 ^{abc}	41,91±3,42 ^a	48,75±2,95 ^{abc}	40,96±3,26 ^{ab}	8,82±0,74 ^{ab}
16	35,32±2,17 ^{bc}	46,73±2,57 ^a	51,64±2,31 ^{abc}	36,45±2,01 ^b	11,08±2,01 ^a
17	36,58±2,77 ^{bc}	44,92±1,92 ^a	50,80±1,72 ^{abc}	37,38±2,74 ^b	10,25±1,58 ^{ab}

Los resultados se presentan como la media ± desviación estándar para n=6. Las letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas para un nivel de confianza p<0,05.

Para los dos materiales híbridos evaluados, se observó un contenido promedio de los principales ácidos grasos muy similar, encontrándose en ambos, mayor contenido de ácido oleico que de ácido palmítico y mayor proporción de AGMI que de AGS (**Tabla 18**). Los valores promedio encontrados para este cruzamiento (Coarí x La Mé), coinciden con lo reportado previamente por otros autores: 56% de ácido oleico, 27% de ácido palmítico, 68% de AGMI-AGPI y 32% de AGS [61-63]. Sin embargo, el contenido promedio de ácidos grasos insaturados (64,9%) observado en los híbridos sembrados en Cenipalma, fue superior al reportado para el híbrido Noli Colombia x Nigeria, con 58,9% [64].

Tabla 18. Contenidos promedio y rangos de variación para el contenido de los principales ácidos grasos en el aceite de los materiales OxG

	OxG (15)		OxG (18)		Total	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
%Ácido oleico	53,3	46,3-58,8	54,1	47,7-61,8	53,7	46,3-61,8
%Ácido palmítico	30,3	25,7-36,4	30,0	23,5-34,7	30,2	23,5-36,4
%AGS	33,8	29,3-40,0	33,7	26,9-38,7	33,7	26,9-40,0
%AGMI	54,7	48,0-60,4	55,4	48,9-62,9	55,0	48,0-62,9
%AGPI	10,3	8,3-12,2	9,3	7,5-11,3	9,9	7,5-12,2

Con el propósito de analizar la relación entre la composición de ácidos grasos y la actividad lipásica en la población de materiales híbridos, se determinaron los coeficientes de correlación simple para estas variables (**Tabla 19**). Se encontró, que la actividad lipásica presenta una correlación significativa ($p < 0,01$) con los contenidos de ácido oleico, palmítico, AGS y AGPI. Por lo tanto, las palmas con baja actividad lipásica mostraron los valores más altos de ácido oleico y de AGMI, así como los valores más bajos de ácido palmítico y de AGS. Lo anterior, podría ser favorable teniendo en cuenta que las palmas con baja formación de AGL, podrían generar también un aceite de mayor calidad, rico en ácido oleico y otros ácidos grasos monoinsaturados que tienen mayor valor nutricional y comercial.

Tabla 19. Coeficientes de correlación simples entre la actividad lipásica y la composición de ácidos grasos en la población de híbridos OxG.

	Ácido oleico	Ácido Palmítico	AGS	Σ AGMI	Σ AGPI
Actividad lipásica	-0,7111**	0,6939**	0,6844**	-0,7066**	0,2815

** Significativo a $p < 0,01$. *Significativo a $p < 0,05$. Tamaño de población (n)=39.

Las correlaciones observadas en el híbrido OxG, confirman también lo obtenido en la colecta de Angola, donde se encontró que la familia con menor actividad lipásica, presentaba a su vez el contenido más bajo de ácido palmítico y los mayores contenidos de ácido oleico y AGMI en toda la colecta. Teniendo en cuenta estas observaciones, es posible sugerir que existe una correlación entre la actividad lipásica y la composición de ácidos grasos. Sin embargo, para poder dar una explicación bioquímica a este fenómeno, sería necesario evaluar con más detalle el papel de la lipasa en los procesos de síntesis o hidrólisis de los diferentes de ácidos grasos que constituyen el aceite de palma.

Finalmente, para *E. oleifera* el ANOVA mostró que no existen diferencias significativas entre familias para el contenido de los principales ácidos grasos, lo que demuestra que la composición de ácidos grasos en estas muestras es muy homogénea. Los resultados encontrados en otras colectas de *E. oleifera*, provenientes de Colombia y Honduras, evaluadas en el PORIM-Malasia [44], también muestran poca variabilidad entre familias para los principales ácidos grasos (Tabla 20).

Tabla 20. Composición de ácidos grasos de Colectas de *E. oleifera*

	Oleico		Palmítico		AGS		AGI	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
Colombia	62,9	58,1-68,0	16,9	15,0-19,8	17,9	15,5-21,6	82,5	73,3-90,7
Panamá	50,1	53,7-65,2	18,6	12,3-24,1	19,9	13,4-27,6	80,8	67,8-94,5
Costa Rica	60,4	56,4-68,7	17,8	16,4-24,1	19,8	16,9-26,8	81,6	69,0-95,6
Honduras	55,5	53,5-57,3	20,7	19,4-21,7	22,2	20,7-23,6	78,2	73,9-81,7
Cenipalma	43,8	41,3-47,9	29,6	27,0-30,9	31,3	28,7-32,8	68,0	67,4-70,5

*Datos obtenidos de Mohd Din, *et al*(44)]

Número de familias(n): 22, 24, 30, 4 y 5 para Colombia, Panamá, Costa Rica, Honduras y Cenipalma respectivamente.

En comparación con los valores encontrados previamente para otras colectas de *E. oleifera*[44], las palmas evaluadas en este estudio presentan el menor contenido de ácido oleico y de ácidos grasos insaturados, así como el contenido más alto de ácido palmítico. Lo anterior, muestra que algunos orígenes de *E. oleifera*, tienen características inusuales en cuanto a la composición de ácidos grasos. Sin embargo, para confirmar estas características, es necesario realizar un mayor número de evaluaciones en el tiempo, que permitan comprobar la estabilidad de estas variables.

- **Contenido de vitamina E y carotenos.** El contenido promedio de vitamina E y carotenos en los materiales *E.guineensis* var dura, *E.guineensis* var tenera, híbrido (OxG) y *E.oleifera*, se resume en la **Tabla 21** y en los Anexos C,D y E se presentan los perfiles cromatográficos. Los resultados globales, muestran que las variedades dura y tenera presentan el contenido más bajo de carotenos, seguido por el híbrido OxG, que a su vez presentó menor concentración de vitamina E que las variedades de *E. guineensis*. Por su parte, la especie *E.oleifera* mostró los valores promedio más altos para estas dos variables, con aproximadamente el doble de vitamina E que las otras variedades evaluadas y 4 veces más carotenos que el híbrido OxG, lo que demuestra la calidad superior del aceite de *E. oleifera*.

Los valores promedio de carotenos, obtenidos para los materiales evaluados en este estudio, fueron inferiores a los encontrados por Yap *et al*[65] para materiales cultivados en Malasia. Los autores reportaron concentraciones de carotenos de 997 mg/kg para *E. guineensis* dura, 673 mg/kg para *E.guineensis* tenera y 4592 mg/kg para *E. oleifera*. En cuanto a los materiales híbridos, estudios realizados a nivel nacional han reportado también contenidos superiores de carotenos a los encontrados en este trabajo: 975 mg/kg-1234 mg/kg para Coarí x La Mé [63] y 1200-2400 mg/kg para Noli x Nigeria [62].

Para el contenido de vitamina E, se conoce que el valor promedio en el aceite crudo de palma Africana oscila entre 600 mg/kg y 1000 mg/kg, mientras que en *E. oleifera* se encuentra entre 700 mg/kg y 1000 mg/kg [10]. En cuanto al híbrido

OxG se han reportado valores que oscilan entre 1320 mg/kg y 1867 mg/kg para Coarí x La Mé [63] y entre 1200 mg/kg y 1000 mg/kg para Noli x Nigeria [62]. En comparación con los valores reportados, las concentraciones de vitamina E encontradas en nuestro trabajo, fueron superiores para *E. guineensis* y *E. oleifera*.

Tabla 21. Valores promedio y rango de variación de vitamina E y caroteno por tipo de palma evaluada

Tipo de palma	Concentración promedio (mg/kg) y rango de variación					
	Vitamina E			Carotenos		
	promedio	Min	Max	Promedio	Min	Max
<i>E.guineensis</i> -Dura (Angola)	1056	338	2337	536	63	1983
<i>E.guineensis</i> -tenera (Variedades)	998	458	2046	606	92	1932
Híbrido (OxG)	965	681	1747	868	326	2383
<i>E. oleifera</i>	1989	710	3783	3675	1523	6747

Los resultados se presentan como la media, valor mínimo y valor máximo dentro del total de palmas (n) evaluadas en cada población. n: 157,112,39 y 46 para *E. guineensis* Dura, *E. guineensis* tenera, OxG y *E.oleifera* respectivamente.

El análisis de la variación de estos componentes en las diferentes familias de la colecta de Angola (**Tabla 22**), mostró que existen diferencias significativas para ambas variables. El contenido de vitamina E se clasificó en 7 grupos, donde el contenido mayoritario lo presentaron las familias **58** y **17** y el minoritario las familias **45** y **41**. Por su parte, el contenido de carotenos se clasificó en tres grupos, donde la mayor concentración se encontró en la familia **31** y el menor contenido se observó en la familia **26**. Las otras 25 familias de la colecta, no fueron estadísticamente diferentes para esta variable. Adicionalmente, no se observó correlación entre el contenido de vitamina E y Caroteno entre familias. La familia **14**, caracterizada por presentar la menor actividad lipásica, presentó contenidos intermedios tanto de vitamina E como de carotenos, los cuales no se

diferenciaron significativamente de los obtenidos en las familias **310** y **35**, clasificadas como de baja actividad lipásica, de modo que no se encontró correlación entre estas variables.

Tabla 22. Variación del contenido de vitamina E y carotenos en las familias de la colecta de *E. guineensis* de Angola.

Familia	Contenido de Vitamina E (mg/kg)	Contenido de Carotenos (mg/kg)
58	1437±373 ^a	1129±452 ^{a,b}
17	1059±254 ^a	954±363 ^{a,b}
34	947±254 ^{a,b}	954±363 ^{a,b}
13	972±281 ^{a,b}	831±539 ^{a,b}
31	1409±379 ^{a,b,c}	769±348 ^a
57	1027±174 ^{a,b,c,d}	654±266 ^{a,b}
52	1080±477 ^{a,b,c,d}	651±127 ^{a,b}
54	1100±676 ^{a,b,c,d}	640±331 ^{a,b}
0	1299±337 ^{a,b,c,d}	587±270 ^{a,b}
18	803±209 ^{a,b,c,d}	560±261 ^{a,b}
22	1258±459 ^{a,b,c,d}	583±442 ^{a,b}
11	1149±387 ^{a,b,c,d}	484±286 ^{a,b}
39	1153±171 ^{a,b,c,d}	454±90 ^{a,b}
38	1203±182 ^{a,b,c,d}	457±204 ^{a,b}
14	788±185 ^{a,b,c,d}	457±221 ^{a,b}
27	1207±311 ^{a,b,c,d}	415±154 ^{a,b}
310	1047±272 ^{a,b,c,d}	429±229 ^{a,b}
35	1081±360 ^{a,b,c,d}	401±103 ^{a,b}
33	1072±255 ^{a,b,c,d}	352±118 ^{a,b}
32	1035±205 ^{a,b,c,d}	342±152 ^{a,b}
24	720±290 ^{a,b,c,d}	350±192 ^{a,b}
12	1139±377 ^{a,b,c,d}	347±126 ^{a,b}
42	866±209 ^{a,b,c,d}	343±149 ^{a,b}
26	693±220 ^{b,c,d}	322±250 ^b
46	1011±134 ^{c,d}	274±141 ^{a,b}
45	825±117 ^d	247±112 ^{a,b}
41	818±247 ^d	270±99 ^{a,b}

Los resultados se presentan como la media ± desviación estándar para n= 6. Las letras en cada columna indican diferencias significativas para un nivel de confianza de p<0,05.

Los resultados obtenidos por Noh *et al*[59] para la colecta de Angola del MPOB, mostraron para el contenido de carotenos, una variación entre familias de 409 mg/kg a 1280 mg/kg y un valor promedio en la colecta de 785 mg/kg. En relación con estos resultados, la colecta de Angola de Cenipalma, mostró un rango de variación más amplio entre familias para esta variable (247 mg/kg y 1129 mg/kg) y un valor promedio de caroteno inferior (536 mg/kg). La evaluación de la colecta de Angola del MPOB no incluyó la medición de la vitamina E.

El análisis de varianza (ANOVA) para el contenido de vitamina E y de carotenos en los materiales tenera del ensayo de variedades (**Tabla 23**), mostró diferencias significativas entre materiales para la vitamina E, pero no para los carotenos. Adicionalmente, la prueba de Tukey permitió clasificar los materiales en 3 grupos respecto al contenido de vitamina E. En el grupo mayoritario para esta variable se clasificó el material **10**, correspondiente al cruzamiento (Deli x Yangambi) con 1554 mg/kg y en el minoritario se clasificaron 6 materiales con concentraciones de vitamina E entre 749 mg/kg y 876 mg/kg. Los otros 8 materiales se clasificaron en el grupo intermedio **a,b(Figura 16)**.

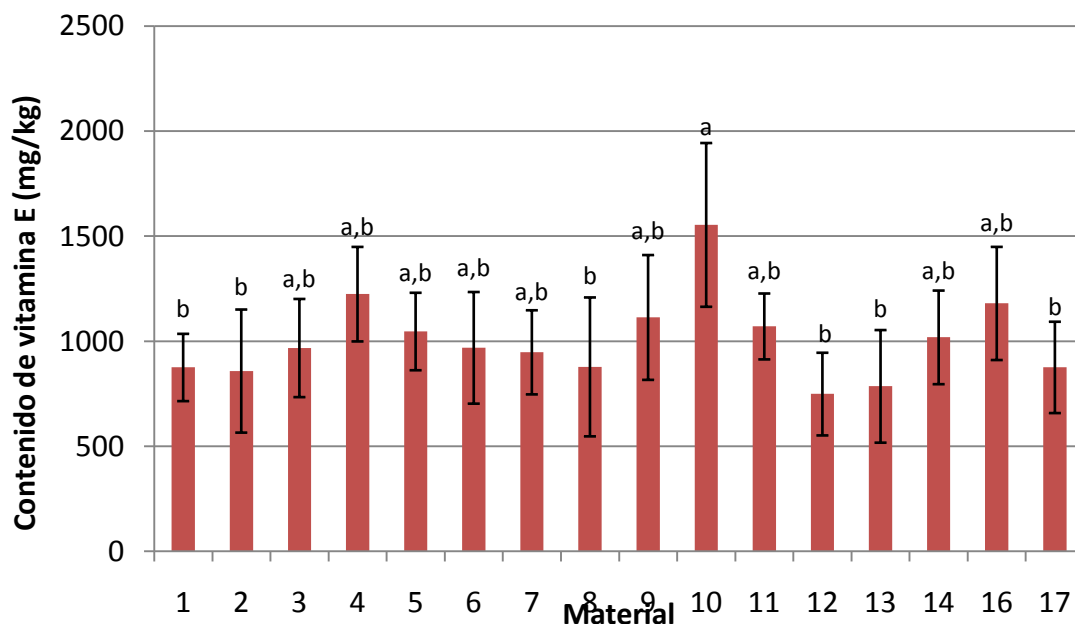
Los materiales **3** y **16**, correspondientes a los cruzamientos con mayor y menor actividad lipásica, no presentaron diferencias significativas entre ellos para el contenido de vitamina E y caroteno. Por lo tanto, se pudo observar que en los materiales comerciales del ensayo de variedades tampoco existe relación entre estas variables.

Tabla 23. ANOVA para el contenido de vitamina E y caroteno en los materiales del ensayo de variedades.

Fuente de variación	G.L	Vitamina E			Carotenos		
		CM	F	P	CM	F	P
Material	15	0,9935	3,03	0.048*	0,1346	1,57	0,1415
Error	30	0,03282			0,17185		

Valores de $p < 0,05$ indican diferencias significativas para una nivel de confianza de 95%.

Figura 16. Variación del contenido de vitamina E, en los materiales del ensayo de variedades.



Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar para $n=6$. Las letras indican diferencias significativas para un nivel de confianza $p < 0,05$.

Los valores promedio de vitamina E y carotenos, medidos en los dos materiales híbridos se presentan en la **Tabla 24**, donde se observa que el material 18 presenta mayor contenido de vitamina E y de carotenos que el material 15. Adicionalmente, el análisis por palmas individuales, mostró un amplio rango de variación tanto para el contenido de carotenos (326 mg/kg - 2383 mg/kg), como para la vitamina E, la cual osciló entre 681 mg/kg y 1747 mg/kg.

Tabla 24. Promedio vitamina E y carotenos en materiales OxG

Material	Contenido de vitamina E (mg/kg)	Contenido de carotenos (mg/kg)
15	965 \pm 256	868 \pm 414
18	991 \pm 214	891 \pm 432

Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar. Número de palmas evaluadas (n): 18 y 22, para materiales 15 y 18 respectivamente.

La correlación entre la actividad lipásica y los contenidos de vitamina E y carotenos en la población de 39 híbridos, se presenta en la **Tabla 25**. A pesar de que los coeficientes de correlación lineal obtenidos entre cada par de variables fueron muy bajos, se puede observar que la actividad lipásica presenta una relación inversa con el contenido de carotenos, en un nivel de confianza de $p < 0,05$. Teniendo en cuenta lo anterior, parte de las palmas alto contenido de carotenos, presentaron a su vez la menor formación de AGL, lo cual es favorable, teniendo en cuenta que permite la correlación de dos parámetros relacionados con la calidad del híbrido. Sin embargo, sería necesario realizar un mayor número de evaluaciones que permitan comprobar la relación existente entre estas dos variables.

Tabla 25. Coeficientes de correlación simples entre la actividad lipásica y el contenido de carotenos y vitamina E en la población de híbridos OxG

	Actividad Lipásica
Vitamina E	0,0403
Caroteno	-0,3961*

* Significativo a $p < 0,05$; tamaño de población (n)=39

Por último, la colecta de *E. oleifera* no presentó diferencias significativas entre familias, ni para el contenido de vitamina E, ni para el contenido de carotenos. Sin embargo, se pudieron destacar algunas palmas individuales dentro de las familias **1, 2 y 5** que se caracterizaron por tener los valores más altos para estas dos variables(**Tabla 26**).

Tabla 26. Palmas de *E.oleifera* con elevado contenido de vitamina E y de carotenos

Palma	Contenido de vitamina E (mg/kg)	Contenido de carotenos (mg/kg)
F2/R3/P4	3783	4783
F1/R1/P4	3529	4024
F5/R3/P3	3448	3031
F5/R3/P1	2968	3951

3.3 CONTRIBUCIÓN AL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE CENIPALMA

Teniendo en cuenta los criterios de mejoramiento, que buscan alto contenido de aceite, alto contenido de ácido oleico, bajo contenido de ácido palmítico, alta concentración tanto de carotenos, como de vitamina E y baja actividad lipásica; fue posible establecer características diferenciadoras entre los materiales genéticos evaluados en las colectas. De la **Tabla 27**, se puede establecer que la especie *E. oleifera* presenta la actividad lipásica más baja, además de mostrar las mejores características relacionadas con la calidad de aceite. Estas características superiores, confirman el potencial en la generación de híbridos interespecíficos, los cuales mejoran la característica de baja producción y retienen parte de las características relacionadas con la buena calidad de aceite.

A partir de la información obtenida dentro de las colectas, también fue posible identificar familias promisorias principalmente en la colecta de Angola, donde se encontró variación para las características presentadas en la **Tabla 28**. De estas familias, la **14** se destacó por presentar la menor actividad lipásica de la colecta y el menor contenido de ácido palmítico. Adicionalmente, como se discutió en la sección (3.4.2), a pesar de que esta familia no se ubicó en el grupo mayoritario para aceite en fruto, sí presentó un contenido de aceite superior al valor promedio de la colecta. Teniendo en cuenta estas características, se puede proponer esta

familia para futuras investigaciones en las que se confirme la estabilidad de estas variables en el tiempo y de esta manera poder seleccionar las mejores palmas dentro de la misma.

Tabla 27. Valores promedio para variables evaluadas en las colectas

	Colecta <i>E. guineensis</i> Angola	Ensayo Variedades <i>E. guineensis-</i> <i>tenera</i>	<i>E. oleifera</i>	Híbrido (OxG)
AMF ¹	53,7±5,9	55,4±2,1	13,7±2,3	43,6±3,8
AcF ²	28,0±7,0	44,7±1,8	6,7±1,0	30,3±2,2
Oleico	40,8±2,1	38,3±2,7	43,8±2,6	53,7±0,6
Palmítico	40,9±2,0	43,9±1,9	29,6±1,5	30,2±0,2
VitaminaE	1056±354	1011±299	1989±686	965±255
Carotenos	536±333	557±279	3675±1186	868±414
Lipasa	46,6±4,5	50,7±3,7	0,5±0,06	31,5±18,6

¹AMF: Aceite en mesocarpio fresco; ²AcF: Aceite en fruto. Los datos se presentan como la media ± desviación estándar. Número de familias o materiales (n):26, 16, 5, 2, para Colecta de Angola, ensayo de variedades, *E. oleifera* e híbrido (OxG), respectivamente.

Tabla 28. Familias promisorias en la colecta de Angola

Característica	Familias promisorias
Alto aceite en fruto	22
Bajo palmítico	14
Alta vitamimaE	58, 17
Altos carotenos	31
Baja lipasa	14

En cuanto a *E. oleifera*, no se encontró variabilidad entre familias para las variables evaluadas; sin embargo, se puede considerar que la especie presenta características de interés, para su posterior uso en el programa de mejoramiento genético.

Los resultados obtenidos en este trabajo, también permitieron la identificación de tendencias y características muy importantes en los materiales híbridos OxG, las cuales demuestran que estos cruzamientos, por heredar características genéticas de la madre *E. oleifera* y del padre *E. guineensis*, presentan mayor variabilidad tanto en la actividad lipásica como en el contenido de aceite y en la composición del mismo. De esta manera, mediante la correlación de estas variables, se pudo comprobar que aquellas palmas con baja actividad lipásica, exhiben otras características en común con la especie *E. oleifera*, principalmente en la composición de ácidos grasos, donde se encuentra menor contenido de ácidos grasos saturados y mayor contenido de ácidos grasos insaturados, principalmente, de ácido oleico. En cuanto al contenido de carotenos y de aceite en fruto, aunque también se hallaron correlaciones significativas, los coeficientes encontrados no mostraron una tendencia lineal tan marcada, como las encontradas en el perfil de ácidos grasos (**Tabla 29**).

Tabla 29. Coeficientes de correlación simple entre las variables evaluadas en la población de híbridos OxG.

	AMF	AcF	Oleico	Palmítico	Caroteno	Vitamina E	Lipasa
AMF	-	0,8947**	-0,1953	0,2034	0,0980	0,2486	0,2047
AcF	-	-	-0,3681*	0,3491*	-0,0559	0,1484	0,3403*
Oleico	-	-	-	-0,9693**	0,2667	-0,1614	-0,7111**
Palmítico	-	-	-	-	-0,2395	0,1862	0,6939**
Caroteno	-	-	-	-	-	0,6626**	-0,3976*
VitaminaE	-	-	-	-	-	-	0,0403
Lipasa	-	-	-	-	-	-	-

Abreviaturas: AMF, aceite en mesocarpio fresco; AcF, Aceite en fruto.

**significancia para $p < 0,01$; *Significancia para $p < 0,05$. n=39

La correlación de todas las variables evaluadas en OxG, también demuestra que aquellas características asociadas con la productividad, como lo es el contenido de aceite en mesocarpio y aceite en fruto, no se correlacionan positivamente con las principales características asociadas a la calidad de aceite. Prueba de ello, es que el contenido de aceite en fruto, presenta un coeficiente de correlación positivo con el contenido de ácido palmítico y negativo con el de ácido oleico. Por lo anterior, es claro que aún existen características por mejorar en estos materiales y que es necesario realizar futuras evaluaciones en otros cruzamientos OxG, que permitan confirmar las tendencias y correlaciones observadas.

4. CONCLUSIONES

- Se implementó una metodología para la evaluación de actividad lipásica *in situ* en frutos de palma de aceite, la cual es rápida, económica y sencilla de aplicar, sirviendo así como herramienta para futuras mediciones en el programa de mejoramiento genético.
- Se encontró que la actividad lipásica varía ampliamente entre las especies *E. oleifera* y *E. guineensis*, mas no entre genotipos de una misma especie. En el caso de los materiales híbridos OxG, se encontró una alta variabilidad, incluso entre palmas de un mismo origen, lo cual es de gran interés teniendo en cuenta la poca información que se tiene sobre estos materiales y su actual propagación en el país.
- La especie *E. oleifera* presenta el contenido más bajo de aceite, pero posee algunas de las características más sobresalientes en cuanto a calidad de aceite: mayor contenido de carotenos, mayor contenido de vitamina E y mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados como el linoleico y linolénico.
- La especie *E. guineensis*, especialmente la variedad tenera, aunque produce mayor cantidad de aceite por fruto, mostró menor calidad de aceite, representada en el contenido más bajo de carotenos y vitamina E y el mayor contenido de ácidos grasos saturados, principalmente de ácido palmítico.
- El híbrido OxG, se caracterizó por un elevado contenido de ácido oleico y una buena producción de aceite en fruto, siendo superior a la de *E. guineensis* var dura.
- En las colectas de *E. guineensis* y de *E. oleifera*, no se encontró correlación entre la actividad lipásica y las variables cantidad y calidad de aceite. Sin

embargo, para el perfil de ácidos grasos, en la colecta de Angola se encontró que las 2 familias con mayor contenido de ácido palmítico mostraron los valores más altos de actividad lipásica, mientras que la familia con menor concentración de ácido palmítico, presentó la menor actividad lipásica.

- En los materiales híbridos OxG, la actividad lipásica mostró una correlación significativa con la composición de ácidos grasos libres, relacionándose de forma positiva con el contenido de de ácido palmítico y de ácidos grasos saturados; y de forma negativa con el contenido de ácido oleico y de ácidos grasos monoinsaturados.
- El desarrollo de este trabajo permitió identificar las familias de la colecta de *E. oleífera* y algunas de las familias de la colecta de Angola, especialmente la **14**, como promisorias en la generación de nuevos materiales genéticos que produzcan aceite de mejor calidad.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar la relación entre la producción de etileno en los frutos de palma de aceite y la actividad de la lipasa, lo cual permitiría, mediante el uso de inhibidores de etileno, encontrar tratamientos para detener el deterioro de los frutos y por ende la producción de AGL durante la post-cosecha.
- Evaluar nuevas mediciones de actividad lipásica en diferentes épocas del año, especialmente en los materiales promisorios, con el fin de establecer la estabilidad de esta variable en el tiempo.
- Se sugiere la evaluación de otros cruzamientos OxG, diferentes al Coarí x La Mé, con el propósito de confirmar las tendencias observadas o de identificar características diferenciadoras entre ellos.
- Se recomienda evaluar nuevos materiales *E. guineensis*, provenientes de otras colectas como la de Camerún, a fin de encontrar palmas de esta especie, con baja actividad lipásica, tal como lo reportan los estudios realizados previamente en Malasia.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. **ISTA.** Global analysis of major oilseeds, oils and oilmeals. Supply, demand and price outlook. 06. 2010. Alemania. Oil world Annual Report.
2. **FEDEPALMA.**(2010). La agroindustria de la palma de aceite en Colombia y en el mundo 2005-2009. En: *Anuario estadístico 2010* Fedepalma. Bogotá (Colombia).
3. **Mesa,J.** Nuevas oportunidades para un posicionamiento estratégico del aceite de palma en el mercado global. *Palmas* 28, 11-30. 2007.
4. **Codex Alimentarius.** Standard for Named Vegetable Oils. Codex Stand 210. 1999.
5. **Chong,C.** y Sambanthamurthi,R. Effects of mesocarp bruising on the rate of free fatty acid release in oil palm fruits . *International Biodeterioration & Biodegradation* 31[1], 65-70. 1993.
6. **Sambanthamurthi,R.,** Rajanaidu,N., y Hasnah,S. Screening for the lipase activity in the oil palm. *Biochemical Society Transactions* 28, 769-770. 2000.
7. **Ngando-Ebongue,G.,** Koonna,P., Nouy,B., Carrière,F., Zollo,P., y Arondel,V. Identification of oil palm breeding lines producing oil with low acid values. *Journal of Lipid Science and Technology* 110, 505-509. 2008.
8. **Fedepalma. (2009).** Oferta y consumo aparente del aceite de palma en Colombia y en el mundo 2005-2008. En: *Anuario Estadístico 2009* Fedepalma, Bogotá (Colombia).
9. **Corley,R.** y Tinker,P. (2003) The Clasification and morphology of the oil palm, En: *The Oil Palm*, pp. 27-50, Blackwell Science Ltd, Oxford.
10. **Sambanthamurthi,R.,** Kalyana,S., y Tan,Y. Chemistry and biochemistry of palm oil. *Progress in Lipid Research* 39, 507-558. 2000.
11. **Hartley,C.** (1988) *The oil palm; Elaeis guineensis Jacq.*, 3 edn., pp.761 London (UK).

12. **Bastidas**,S. y Hurtado,L. Evaluación de palmas prolíficas en la especie *Elaeis oleifera* e híbridos interespecíficos *E.oleifera* x *E.guineensis*. *Palmas* 14(4), 55-60. 1993.
13. **Evans**,S. Notas taxonómicas, etnobotánicas y de nomenclatura sobre la *Eleais Guinennsis* . *Palmas* 12, 17-21. 2000.
14. **Zambrano**,J. Híbridos interespecíficos *Elaeis oliefera* x *Elaeis guineensis*. Una alternativa de renovación para la zona oriental de Colombia. *Palmas* 25, 339-349. 2004.
15. **Prada**,F., Ayala-Diaz,I., Delgado,W., Ruiz,R., and Romero,H. Effect of fruit ripening on content and chemical composition of oil from three oil palm cultivars (*Elaeis guineensis*. Jacq) grown in Colombia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(18), 10136-10142. 2011.
16. **Corley**,R. y Tinker,P. (2003) Selection and Breeding, in *The Oil Palm*, pp. 180-182, Blackwell Science, Oxford.
17. **Chong**,C. y Sambanthamurthi,R. Effects of mesocarp bruising on the rate of free fatty acid release in oil palm fruits. *International Biodeterioration and Biodegradation* 31, 65-70. 1993.
18. **Rossi**,M. The effect of bleaching and physical refining on color and minor components of palm oil. *Journal of the American Oil Chemical Society* 78(10), 1051-1055. 2001.
19. **Valenzuela**,A. y Nieto,S. Antioxidantes sintéticos y naturales: protectores de la calidad de los alimentos. *Grasas y Aceites* 47(3), 186-196. 1996.
20. **Vajanti**,M. y Mumtaz,A. A review of enzimatic properties of lipase in plants, animals and microorganisms. *Pakistan Journal of Applied Science publications* 4, 274-284. 2002.
21. **Hill**,M. y Beevers,H. An antibody to the castor bean glyoxysomal lipase (62 kDa) also beands to a 62kDa proteins in extracts from young oil seed plant. *Plant Physiology* 85, 1084-1089. 1987.
22. **Yatsu**,L. y Jacks,T. Spherosome membranes half unit-membranes. *Plant Physiology* 39, 937-943. 1972.

23. **Bhardwaj**,K., Raju,A., y Rajasekharan,R. Identification, purification, and characterization of a thermally stable lipase from rice bran. A new member of the (phospho)lipase family. *Plant Physiology* 127, 1728-1738. 2001.
24. **Isbilir**,S. y Oscan,H. Some biochemical properties of lipase from bay Laurel (*Laurus nobilis L.*) seeds. *Journal of the American Oil Chemical Society* 85, 227-233. 2008.
25. **Staubmann**,R., Ncube,I., Gubitz,G., Steiner,W., y Read,J. Esterase and lipase activity in *Jatropha curcas L.* Seeds. *Journal of Biotechnology* 75, 117-126. 1999.
26. **Gaillar**,T. (1980) Degradation of acyl lipids: Hydrolitic and oxidative enzymes. *The Biochemistry of lipids and plants: Structures and Functions*, pp. 10-88, Academic Press, New York.
27. **Salas**,J., Sánchez,J., Ramli,U., Manaf,A., Williams,M., y Hardwood,J. Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Progress in Lipid Research* 39, 151-180. 2000.
28. **Mohankumar**,C., Arumughan,C., y Kaleysaraj,R. Histological localization of oil palm fruit lipase. *Journal of the American Oil chemical society* 67, 665-6690. 1990.
29. **Desassis**,S. Palm oil acidification. *Oleagineux* 21, 525-534. 1957.
30. **Coursey**,A. The deterioration of oil palm during storage. *J. W Africa of Science Association* 7, 101-114. 1963.
31. **Tombs**,M. y Stubbs,J. The absence of endogenous lipase from oil palm mesocarp. *Journal of Science and Food Agriculture* 33, 892-897. 1982.
32. **Ogundero**,V. Degradation of Nigerian palm products by thermophilic fungi. *Transactions of the British Mycological Society* 77, 267-271. 1981.
33. **Abigor**,D., Opute,F., opuku,A., y Osagie,A. Partial purification and some properties of the lipase present in oil palm (*Eleaeis guineensis*) mesocarp. *Journal of Science and Food Agriculture* 36, 599-606. 1985.
34. **Kaplan**,A. A simple radioactive assay for triglyceride lipase. *Analytical Biochemistry* 33, 218-225. 1970.

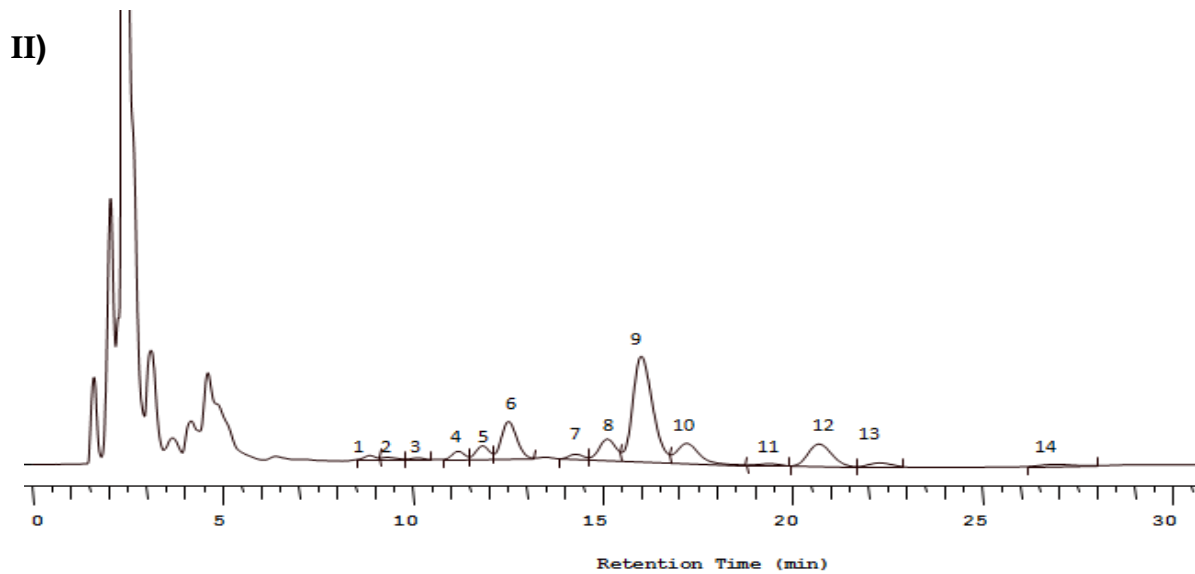
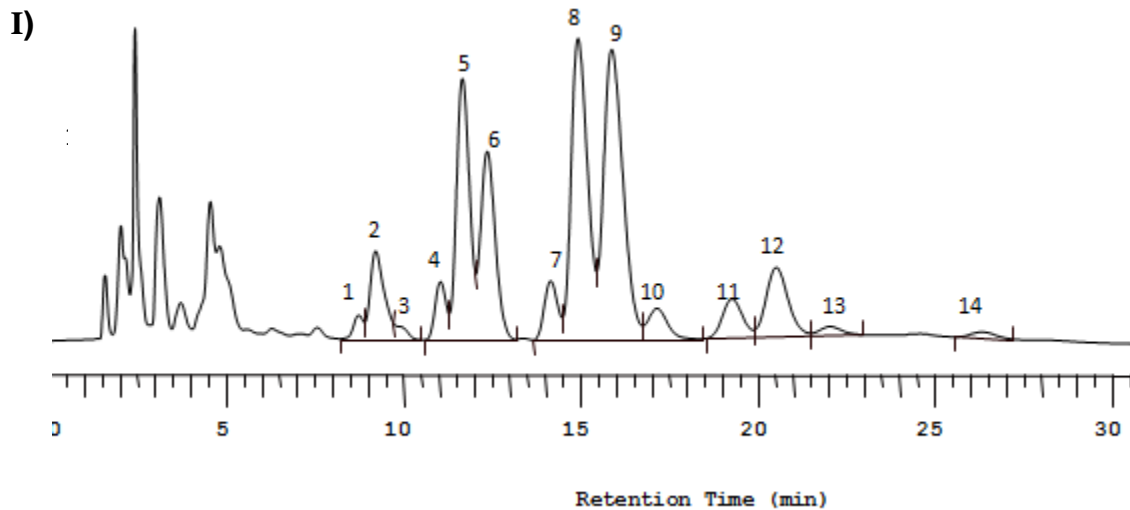
35. **Oo,K.** y Stumpf,P. Some enzymic activities in the germinating oil palm. *Plant Physiology* 73, 1028-1032. 1983.
36. **Henderson,J.** y Osborne,D. Lipase activity in ripening and mature fruit of the oil palm. Stability in vivo and in vitro. *Phytochemistry* 30, 1073-1078. 1991.
37. **Sambanthamurthi,R.,** Oo,K., y Parman,S. Factors affecting lipase activity in *Elaeis guineensis* mesocarp. *Plant Physiological Biochemistry* 33, 353-359. 1995.
38. **Sambanthamurthi,R.,** Let,C., Cheang,O., Huat,K., y Rajan,P. Chilling-induced lipid hydrolysis in the oil palm (*Elaeis guineensis*) mesocarp. *Journal of Experimental Botany* 42, 1199-1205. 1991.
39. **Siew,W.** y Mohamad,N. The effect of fruit storage on palm oil bleachability. *Journal of the American Oil Chemical Society* 69(12), 1266-1268. 1992.
40. **Ngando-Ebongue,G.,** Dhouib,R., y Carrière,F. Assaying lipase activity from oil palm fruit (*Elaeis guineensis* Jacq.) mesocarp. *Plant Physiological Biochemistry* 44, 611-617. 2006.
41. **Sambanthamurthi,R.,** Rajanaidu,N., y Hasnah,S. Screening for lipase activity in the oil palm. *Biochemical Society Transactions* 28, 769-770. 2000.
42. **Soh,A.,** Wong,C., Wah-Ho,Y., y Choong,C. (2010) Oil Palm, in *Oil Crops: Handbook of plant breeding* (Volman,J. and Rajcan,N., eds.), Vol. 4, pp. 333-364, SpringerLink, New York.
43. **Rey,L.,** Gómez,P., Ayala,I., Delgado,W., y Rocha,P. Colecciones genéticas de palma de aceite *Elaeis guineensis* (Jacq) y *Elaeis oleifera*(H.B.K.) de cenipalma: características de importancia para el sector palmicultor. *Palmas* 25, 10-15. 2004.
44. **Mohd,A.,** Rajanaidu,N., y Jalani,B. Performance of *Elaeis Oleifera* from Panama, Costa Rica, Colombia and Honduras in Malaysia. *Journal of Palm Oil Research* 12(1), 71-80. 2000.
45. **Prada,F.** y Rey,L. (2010) Cambios en la composición de los frutos de palma durante su formación en el recurso genético de Cenipalma, *Palmas*, in press.

46. **Rocha,P.** Marcadores moleculares, una herramienta útil para la selección genética de palma de aceite. *Palmas* 24, 12-25. 2003.
47. **AOCS.** AOCS Official Method Ca 5a-40. 1993. Free Fatty Acids.
48. **Bradfort,M.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254. 1946.
49. **AOCS.** AOCS Official Method Ce2-66. 1998. Preparation of Methyl Esters of Long-Chain Fatty Acids.
50. **AOCS.** AOCS Official Method Ce 1-62. 1998. Fatty Acid Composition by Gas Chromatography.
51. **Zar,J.** (1999) *Bioestatistical analysis*, 2 edn., pp. 237-250, Prentice Hall, New Jersey (EU).
52. **Hinkelman,K.,Kempthorne,O.** (2008). *Design and analysis of experiments: introduction to experimental design*, 2 edn.,pp 637, John Wiley & Sons, New Jersey (EU).
53. **Parkin,K. y Kuo,S.** Chilling-Induced lipid degradation in cucumber (*Cucumis sativa* L. cv hybrid C) fruit. *Plant Physiology* 90, 1049-1056. 1989.
54. **Pech,J., Bouzayen,M., y Latché,A.** Climateric fruit ripening: Ethylene-dependent and independent regulation of ripening pathways in melon fruit. *Plant Science* 1, 114-120. 2008.
55. **Pesis,E., Ackerman,M., y Ben-Arie,R.** Ethylene involvement of chilling injury symptoms of avocado during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 24, 171-178. 2002.
56. **Selvarajah,S., Bauchot,A., y Jhon,P.** Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a post-harvest application of 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology* 23, 167-170. 2001.
57. **Corbineau,F., Engelmann,F., y Côme,D.** Ethylene production as an indicator of chilling injury in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) somatic embryos. *Plant Science* 71, 29-34. 1990.

58. **Trambarger**,T., Dussert,S., Jöet,T., y et al. Regulatory mechanisms underlying oil palm fruit mesocarp maturation, ripening and functional specialization in lipid and carotenoid metabolism. *Plant Physiology* 156, 564-584. 2011.
59. **Noh**,A., Rajanaidu,N., Kushairi,A., Mohd Rafil,Y., Mohd Din,A., Mohd Isa,Z., y Salen,G. Variability in fatty acid composition, iodine value and carotene content in the MPOB oil palm germoplasm collection from Angola. *Journal of Palm Oil Research* 14(2), 18-23. 2002.
60. **Tan**,B. y OH,C. Malaysian palm oil chemical and physical characteristics. *PORIM Technology* 3, 3-5. 1981.
61. **Bastidas**,S., Peña,E., Reyes,R., y Tolosa,W. Comportamiento agronómico del cultivar híbrido RC1 de palma de aceite (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*)x *Elaeis guineensis* . *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 8(5), 1-11. 2007.
62. **Choo**,Y., Maa,A., y Yap,S. (1998) Carotenos, vitamina E y esteroides de *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera* y sus híbridos, *Palmas*19, 79-85.
63. **Rivera**,Y. (2009) Caracterización fisiológica y morfológica de palmas americanas de aceite (*Elaeioleifera* H.B.K. cortes) y sus híbridos interespecíficos (*Elaeis oleifera* H.B.K. cortes x *Elaeis guineensis* Jacq.) en la plantación INDUPALMA en San Alberto (Cesar), Tesis de grado, Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional de Colombia.
64. **Sharma**,M. Utilization of Nigerian PS1 and PS2 selection in oil palm breeding programs at UP Bhd. 18-29. 1999. Malaysia, Palm Oil Research Institute of Malaysia. Proceedings of the seminar on PS1 and PS2 oil palm planting materials.
65. **Yap**,S., Choo,Y., Ooi,C., Ong,A., y Goh,S. Quantitative analysis of carotenos in the oil from different palm species. *Elaeis* 3[2], 369-378. 1991.

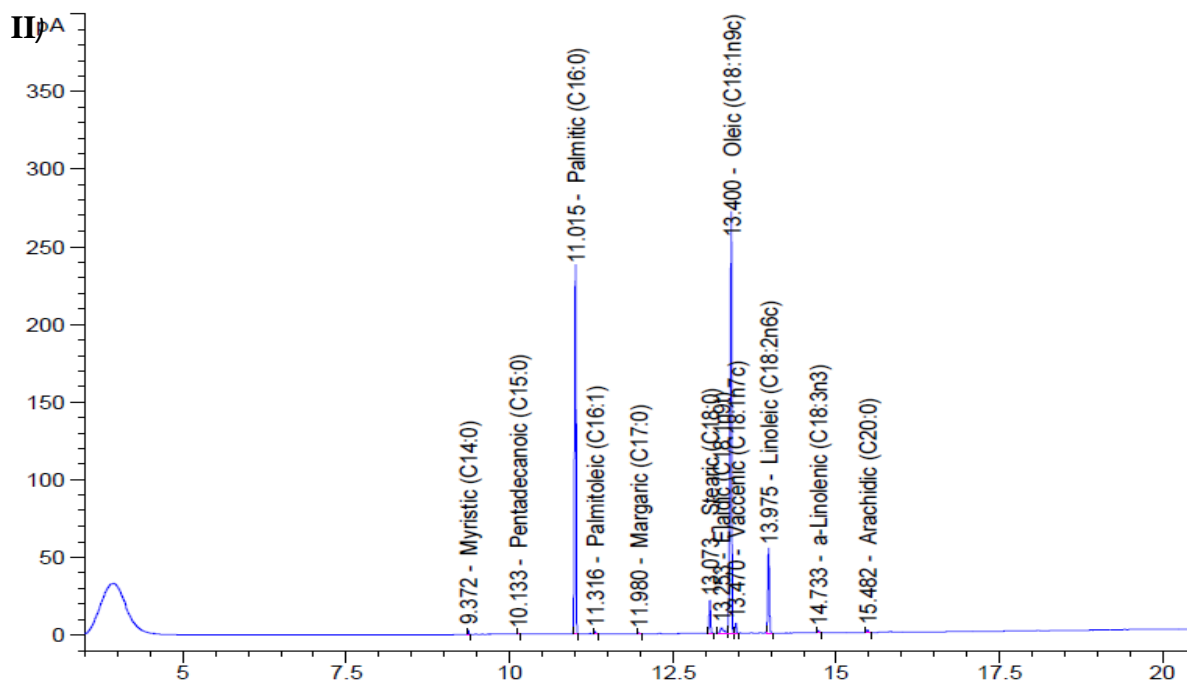
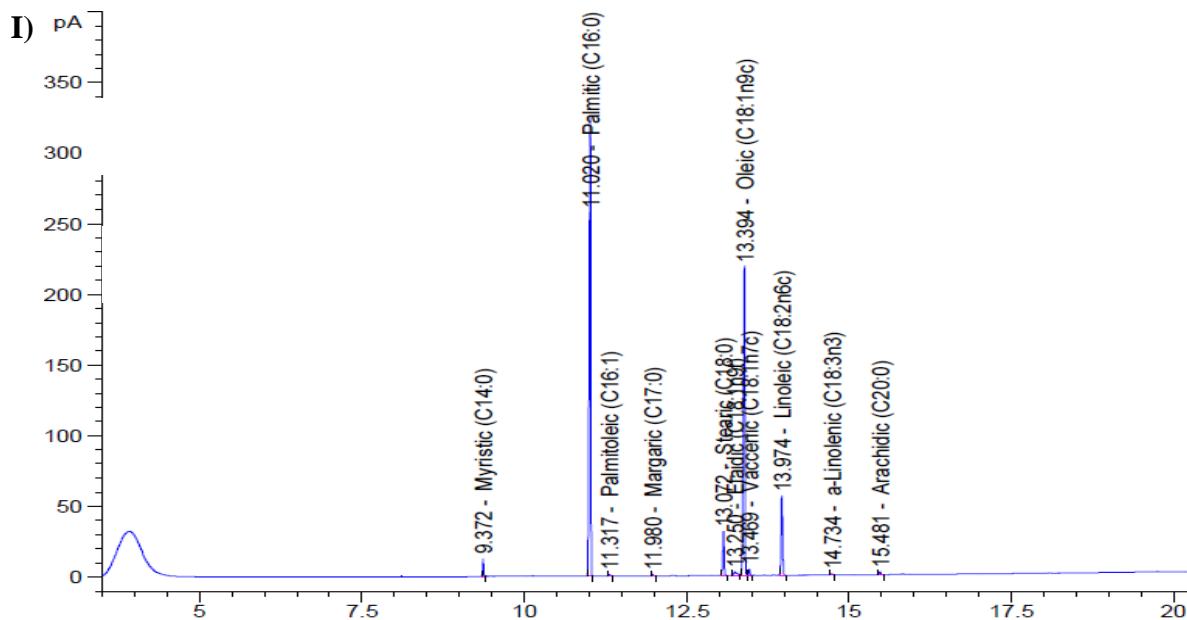
ANEXOS

ANEXO A. Perfil cromatográfico de TAG de lípidos obtenidos de **I)** Frutos frescos de palma de aceite mantenidos a temperatura ambiente y **II)** Frutos expuestos a 5°C durante toda la noche

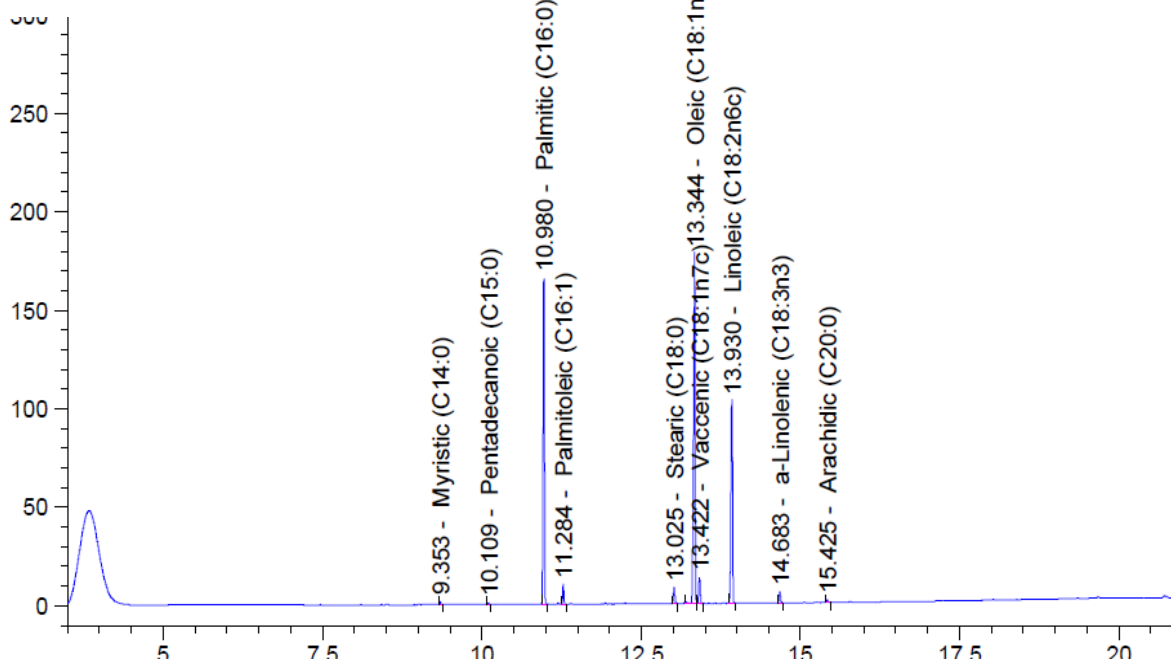


Donde: 1, OLL; 2, PLL; 3, MLP; 4, OOL; 5, POL; 6, PLP; 7, OOO; 8, POO; 9, POP; 10, PPP; 11, SOO; 12, POS; 13, PPS; 14, SOS

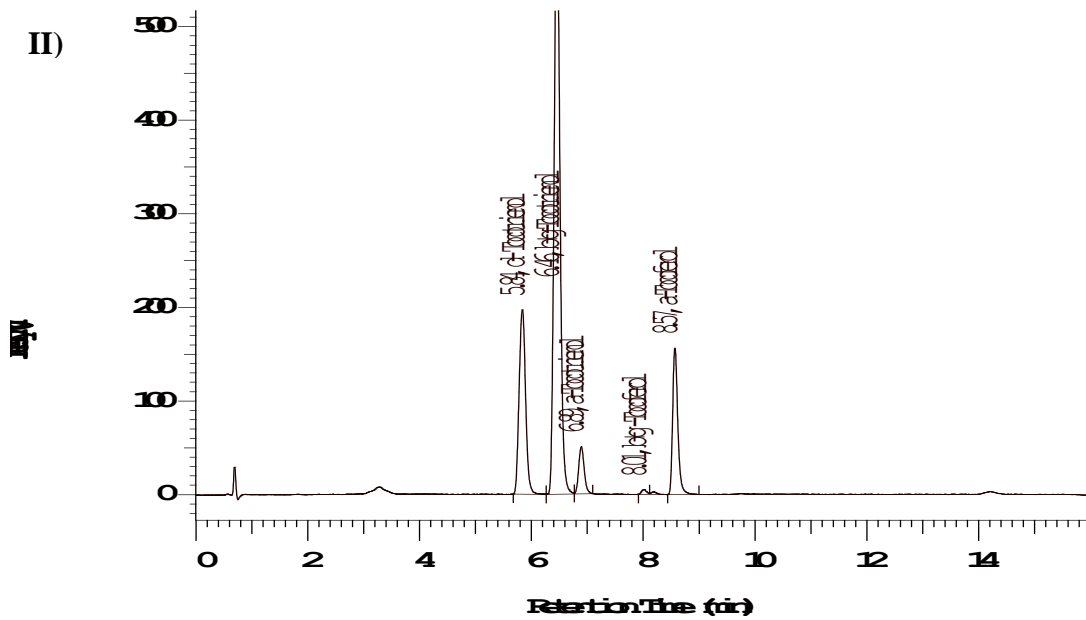
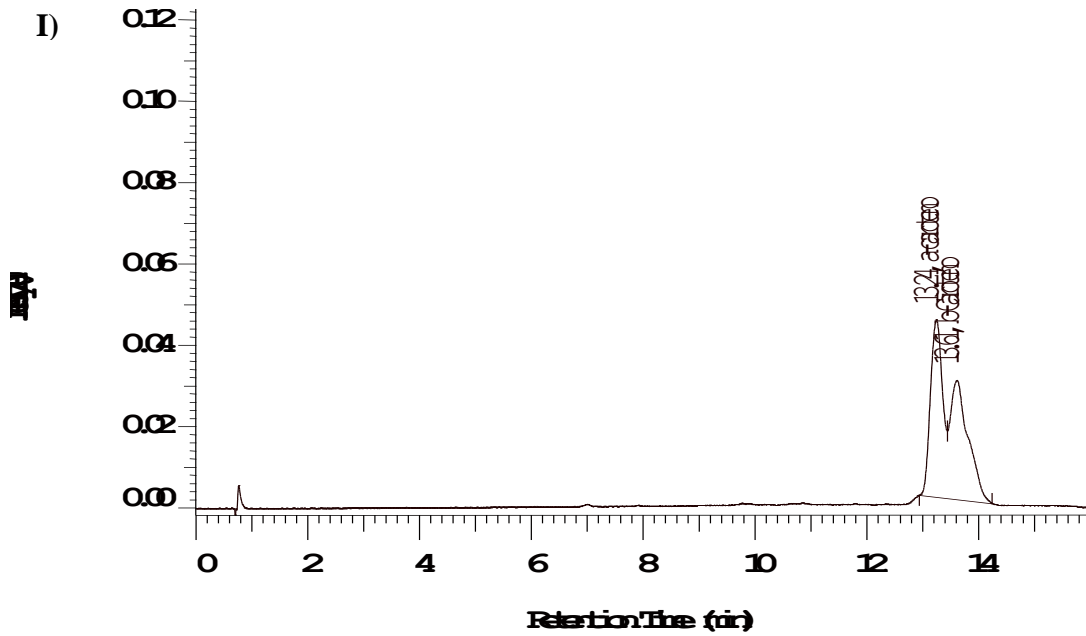
ANEXO B). Perfil de ácidos grasos obtenido por GC, acoplado a detector FID, para muestras de aceite crudo de **I) *E. guineensis***, **II) híbrido OxG** y **III) *E. oleifera***.



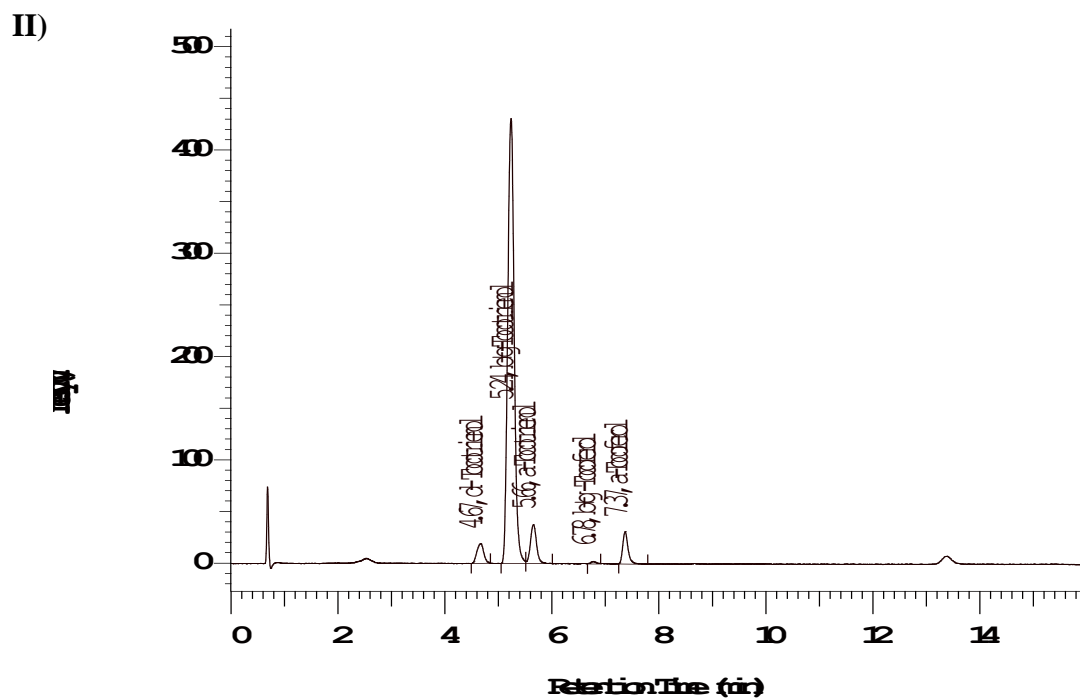
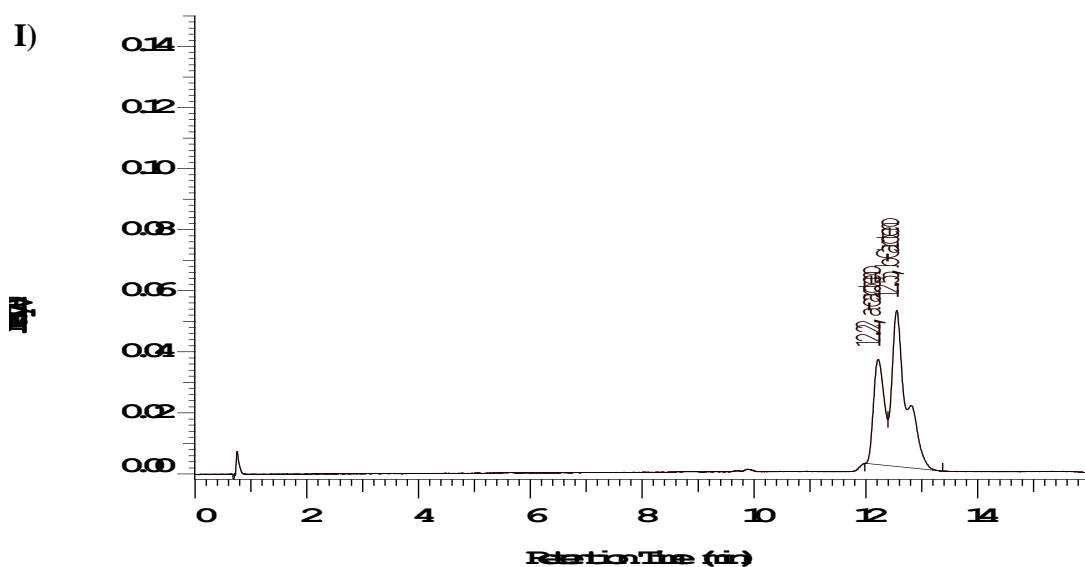
III)



ANEXO C. Perfil de **I)** carotenos y **II)** tocoferoles y tocotrienoles, obtenido por cromatografía líquida HPLC, para aceite de *E. guineensis*



ANEXO D. Perfil de **I)** carotenos y **II)** tocoferoles y tocotrienoles, obtenido por cromatografía líquida HPLC, para aceite de *E. oleifera*



ANEXO E. Perfil de **I)** carotenos y **II)** tocoferoles y tocotrienoles, obtenido por cromatografía líquida HPLC, para aceite de híbrido (OxG).

