

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS BIOQUIMICAS Y
BIOTECNOLOGICAS

PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIO QUIMICA



**EXTRACCIÓN DE ACEITE DE LAS SEMILLAS DE PLUKENETIA
VOLUVILIS L
“SACHA INCHI” POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC) Y
DETERMINACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS LINOLÉNICO, LINOLEICO Y
OLEICO POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO
(HPLC) AREQUIPA 2012**

TESIS PRESENTADA POR EL BACHILLER EN FARMACIA Y

BIO-QUÍMICA:

ZANABRIA YUCRA SERGIO DAVID

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

ASESOR:

DR. GONZALO DÁVILA DEL CARPIO

AREQUIPA – PERU

2012

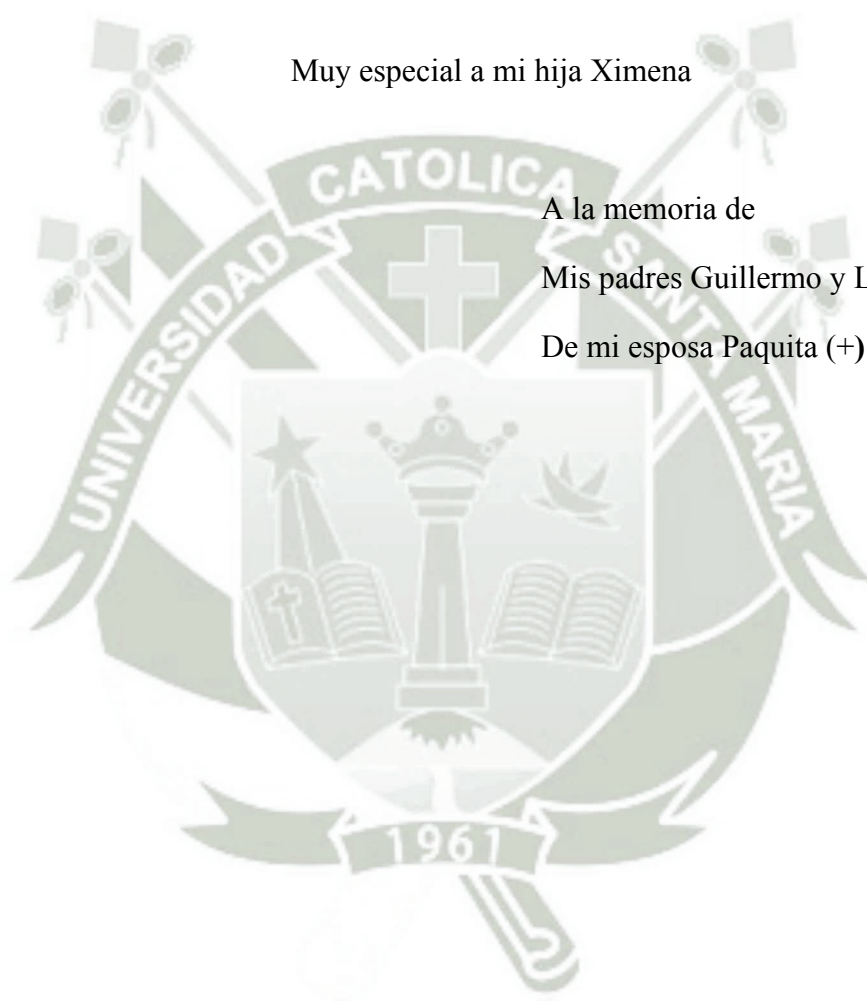
DEDICATORIA

Muy especial a mi hija Ximena

A la memoria de

Mis padres Guillermo y Lucrecia (+)

De mi esposa Paquita (+)



ÍNDICE

	Pág.
GENERALIDADES	
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	4
OBJETIVO.....	5
 I. CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	
1.1. Generalidades del Sacha Inchi.....	7
1.1.1 Ubicación Taxonómica.....	8
1.1.2. Descripción y Morfología.....	9
1.1.3. Aceite de Sacha Inchi.....	10
1.1.4. Composición Química.....	11
1.1.5. Características Físicoquímicas.....	13
1.1.6. Método de Obtención.....	13
1.1.7. Usos del Sacha Inchi.....	15
1.2. Ácidos Grasos.....	15
1.2.1. Ácidos Grasos Insaturados.....	16
1.2.2. Nomenclatura.....	16
1.2.3. Ácidos grasos poliinsaturados y esenciales.....	17
1.2.4. Propiedades beneficios para el aparato circulatorio.....	20
1.2.5. Mecanismo de Acción de los Ácidos Grasos Esenciales.....	22
a.- Omega-3.....	22
b.- Omega-6.....	26

1.3. Fluidos Supercríticos	29
1.3.1. Introducción.....	29
1.3.2. Características de Fluidos Supercríticos.....	29
1.3.3. Punto Crítico.....	31
1.3.4. Concentración en Equilibrio	38
1.3.5. Transferencia de Masa.....	38
1.3.6. Dióxido de Carbono como solv.....	39
1.3.7. Propiedades Físicas del Dióxido de Carbono.....	40
1.3.8. Propiedades termodinámicas del bióxido de carbono.....	42
1.3.9. Beneficios del bióxido de carbono en FSC.....	43
1.3.10. Aplicaciones del FSC en el Perú.....	43
1.3.11. Aplicaciones Actuales de FSC.....	45
1.3.12. Ventajas de la EFC.....	45
1.3.13. Limitaciones de la EFC.....	46
1.3.14. Equipamiento.....	47
1.4. Técnicas Cromatografías.....	50
1.4.1. Introducción.....	50
1.4.2. Cromatografías Líquida de Alto Performance.....	51

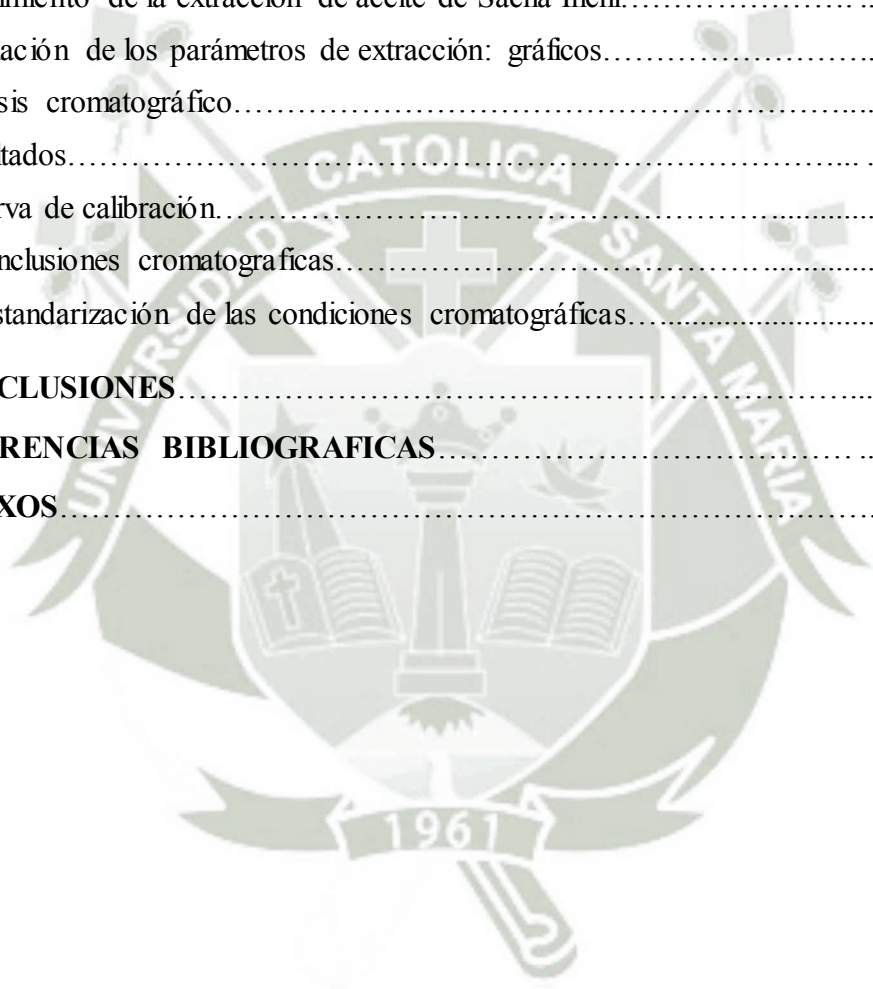
CAPÍTULO II.- MATERIALES Y METODOS.

2.1. Unidades de estudio.....	55
2.1.2. Ámbito geográfico y temporalidad.....	55
2.2. Materiales.....	55
2.2.1 Materiales de laboratorio.....	55
2.2.2. Reactivos.....	56
2.3. Equipos.....	57
2.4. Obtención de aceite de Semillas de Sacha Inchi.....	58
2.4.1. Fundamento del método.....	58
2.4.2... Planteamiento Operacional de la Investigación.....	59
2.4.3. Estudios Previos.....	59
2.4.3.1. Selección de la Muestra.....	59
2.5. Análisis de ácidos grasos por HPLC.....	66

2.5.1. Curva de calibración.....	66
2.5.2. Tratamiento de la muestra.....	66

CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Análisis proximal.....	67
3.2. Extracción del aceite	68
3.3. Características organolépticas.....	68
3.4. Rendimiento de la extracción de aceite de Sacha Inchi.....	69
3.5. Evaluación de los parámetros de extracción: gráficos.....	72
3.6. Análisis cromatográfico.....	77
3.7. Resultados.....	77
3.7.1. Curva de calibración.....	77
3.7.2. Conclusiones cromatograficas.....	77
3.7.2.1 Estandarización de las condiciones cromatográficas.....	77
IV. CONCLUSIONES.....	84
V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	85
VI. ANEXOS.....	88



RESUMEN

El aceite de “Sacha Inchi” por su alto contenido en ácidos grasos insaturados como el ácido linolénico y el ácido linoleico es de relevante importancia en la alimentación (no son sintetizados por el organismo) y en la salud (puede controlar los niveles de grasa en la sangre). Además contiene proteínas, aminoácidos, antioxidantes, menor porcentaje de grasas saturadas. Los ácidos omega-3 y omega-6 forman parte de las membranas de la célula y por eso influyen en su permeabilidad. Se reconocen también efectos benéficos de los ácidos omega-3 sobre enfermedades cardio - vasculares como hipertensión o isquemia.

Un Fluido Supercrítico es cualquier sustancia que se encuentra en condiciones de presión y temperatura superiores a su punto crítico. Es decir se puede difundir como un gas (efusión) y disolver sustancias como un líquido (disolvente). La moderna técnica de extracción por Fluidos Supercríticos (FSC), ofrece ventajas a comparación con otras técnicas de extracción obtenido extractos con mayor frescura y aroma natural libres de residuos provenientes del solvente (CO₂) y contaminantes biológicos lo que le da mayor tiempo de vida, necesita poca temperatura, además es un proceso atóxico.

Se aplicó esta técnica para extraer el aceite de las semillas de Sacha Inchi recolectadas y pesadas, obteniéndose un aceite crudo sin ninguna contaminación, con sabor y olor característicos del ecotipo, con un contenido graso de 39.9% después de cuatro horas de extracción. Las condiciones adecuadas de extracción fueron: temperatura: 50°C, presión: 450 bar, flujo de CO₂ 8ml/seg; Es la segunda hora de extracción un indicador como lo muestra la curva de extracción (gráfico N° 4).

Por el análisis cualitativo de HPLC se determinó en promedio de 1.06 mg/Kg de Ácido Linolénico. En el caso del Ácido Linoleico, el promedio fue de 0.353 mg/Kg.

Para el Ácido Oleico, el promedio fue de 7.71 mg/Kg.

ABSTRACT

Sacha Inchi" oil for its high contents in fatty acids unsaturated linolenic acid and linoleic acid is of relevant importance in food (no are synthesized by the body) and health (can control the levels of fat in the blood). It also contains proteins, amino acids, antioxidants, lower percentage of saturated fats. Omega-3 and omega-6 acids are part of cell membranes and therefore influence its permeability. They are also recognized beneficial effects of omega-3 acids about diseases, cardio - vascular hypertension or ischemia.

A supercritical fluid is any substance that is in conditions of temperature and pressure above its critical point. I.e. you can spread as a gas (effusion) and dissolved substances as a liquid (solvent). The modern technique of extraction by supercritical fluids (FSC), offers advantages in comparison with other extraction techniques obtained extracts with more freshness and natural aroma free from solvent (CO₂) and pollutants biological waste that gives longer life, need low temperature, is also a process toxic.

This technique was applied to extract the oil from the seeds of Sacha Inchi collected and weighed, resulting in a crude oil without any pollution, with taste and odor characteristic of ecotype, with a fat content of 39.9% after four hours of extraction. The conditions of extraction were: temperature: 50 ° C, pressure: 450 bar, flow of CO₂ 8 ml/sec; It is the second time an indicator as shown in the curve of extraction (chart No. 4).

For the qualitative analysis of HPLC was determined by average of 1.06 mg/Kg of linolenic acid. In the case of linoleic avretaged 0.353 mg/Kg. acid For oleic acid, the average was 7.71 mg/Kg.

GENERALIDADES

INTRODUCCION

La reducción en la ingesta de grasa saturada y colesterol en la dieta, el ejercicio, evitar el exceso de calorías y la modificación de otros factores de riesgo continúan siendo la piedra angular del abordaje con dieta como punto de partida que supone un cambio corporal y mental para disminuir el riesgo de enfermedad vascular aterosclerótica. En los últimos años, ha habido un renovado interés en otros componentes de la alimentación que pueden mejorar favorablemente el perfil lipídico y reducir el riesgo de cardiopatía coronaria (CC).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es una de las causas de muerte con mayor porcentaje en las sociedades industriales, la causa de distintas “enfermedades” circulatorias patologías cardiovasculares, cerebro vascular y otras dolencias vasculares.

Las enfermedades vasculares constituyen sin lugar a duda el principal problema de la población adulta sobre todo en mayores de 45 años de edad. Ocupa el cuarto lugar de enfermedad, se ha perdido el 8% del total de AVISA (años de vida saludable perdidos) en nuestro país según el INEI-2010; estas enfermedades son silenciosas y se ha elevado por el alto consumo de grasas junto con la distribución en el consumo de fibra.

La revisión de las referencias bibliográficas relacionadas con los efectos cardiovasculares de los Ácidos Grasos Poliinsaturados Omega-3 muestra que existe una relación dosis dependiente entre la ingesta de estos lípidos y una disminución de la incidencia y severidad de enfermedades cardiovasculares tales como la hiperlipidemias, especialmente las hiper-triglicemias y en infarto agudo de miocardio. En la actualidad hay una gran variedad de estudios prospectivos observacionales que demuestran una reducción del 50% en el riesgo de enfermedad cardiovascular. Este efecto protector coincide con un significativo incremento en las cantidades de AGP Omega-3 de cadena

larga (EPA, DHA) y Omega-6; debido a que el organismo no puede sintetizarlos a partir de los alimentos que ingiere, se le denomina Ácidos Grasos Esenciales. La tasa de síntesis puede no ser suficiente para satisfacer los niveles necesarios para lo que se recomienda que también se incluyan en la dieta fuentes ricas en estos aceites grasos.²⁵

Recientes estudios han reportado que el Aceite de Sacha Inchi Extra Virgen es fuente de elevado porcentaje de grasas poliinsaturadas, maravilloso aceite de origen peruano, ayudando a reducir los niveles de colesterol malo (LDL) en la sangre y tonifica el corazón, colaborando en la disminución de problemas cardiovasculares, tan presentes en la última década.³²

Tal es la importancia del cultivo de esta semilla que por Ley N° 11367/2004-CR declara al Sacha Inchi como:” PATRIMONIO GENETICO NACIONAL Y PRODUCTO ALTERNATIVO EN LA LUCHA CONTRA LA POBREZA” 8-Set-2004.³³

Al ser los ácidos grasos sustancias apolares, es posible que la técnica de extracción por Fluidos Supercríticos permite extraer el aceite de las semillas de Sacha Inchi. Un fluido supercrítico se entiende como tal a una sustancia, mezcla o elemento llevado mediante operaciones mecánicas a condiciones operativas de presión y temperatura por encima del punto crítico. Pero por debajo de la presión requerida para condensarlo en un sólido.

En el punto crítico deja de existir las fases líquidas y gaseosas y aparece otra fase llamada supercrítica.²⁴

La técnica de extracción por fluidos supercríticos (SFC) es un nuevo tipo de separación con la adaptabilidad amplia, que se está llevando a cabo en el mundo moderno, con esta técnica durante el proceso de extracción no hay agente químico necesario, no hay contaminación a la sustancia separada y cumplir los requisitos necesarios para la salud.

17

La mayoría de los métodos de análisis son en los casos más favorables selectivos pero no específicos. Uno de los mejores métodos para conseguir esa separación, y posiblemente el más utilizado es la cromatografía. Este conjunto de técnicas permite la separación de compuestos estrechamente seleccionados en mezclas complejas.³⁰ La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), es un método analítico de primer orden para separar, identificar y cuantificar los compuestos presentes en muestras líquidas, por lo que lo utilizamos para cuantificar los ácidos grasos presentes en el aceite extraído de las semillas de Sacha Inchi por fluidos supercríticos.



HIPOTESIS

Considerando que las semillas de *Plukenetia Voluvilis* L. “Sacha Inchi” son ricas en ácidos grasos insaturados, es probable que la técnica de extracción por Fluidos Supercríticos (FSC), empleando temperatura, presión y bióxido de carbono como disolvente. Nos permita obtener un buen rendimiento de aceite conteniendo al Acido Linolénico, Acido Linoleico y Acido Oleico como principales componentes.

OBJETIVOS

1. Optimizar los parámetros de extracción por Fluidos Supercríticos como: temperatura, presión, flujo y tiempo de saturación para extraer el aceite de las semillas de “Sacha Inchi”.
2. Extraer el aceite de las semillas del *Plukenetia Voluvilis* L. “Sacha Inchi” provenientes del Valle del río Apurímac y Ene (VRAE), comprendidos por los departamentos de Ayacucho-Cuzco-Junín, selva alta de Huanta y La Mar (San Francisco), por el método de extracción de Fluidos Supercríticos (FSC).
3. Cuantificar por Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC), los ácidos grasos insaturados: Linolénico, Linoleico y Oleico en el aceite de “Sacha Inchi” obtenido por extracción con Fluidos Supercríticos (FSC).

CAPÍTULO I

MARCO TEORICO

1.1 GENERALIDADES DEL SACHA INCHI

Las semillas de sacha inchi son alimento proveniente de la selva amazónica, que es utilizado por los pueblos indígenas desde hace siglos.

Se le conoce como; el inchi, sacha inchi, sacha maní, maní del Inca o maní jibaro.¹

La primera mención científica de sacha inchi fue en 1980 a consecuencia de los análisis del contenido graso y proteico realizadas en la Universidad de Cornell en USA, los que demostraron que las semillas del sacha inchi tienen alto contenido de proteínas 33% y aceite 49%, (Licenciada Sara Abu-Sabbah-nutricionista.)²²

El Dr. Santiago Antunez de Mayolo fue el descubridor de sacha inchi en 1976. El erudito más importante sobre la nutrición en el antiguo Perú, que durante un viaje de estudio sobre el “potencial de nuestra amazonia” conoció esta interesante planta cuyas semillas eran consumidas por los habitantes de esa zona, (aguarunas).

Posteriormente en el XII Congreso Peruano de Química (Oct-1980) brindó una conferencia magistral sobre las propiedades químicas y nutricionales de las semillas y aceite obtenidos de estas.

2.1.1 UBICACION TAXONOMICA DEL SACHA INCHI:

REINO	VEGETAL
SUB-REYNO	TRACHEOBIONTA
DIVISION	ANTHOPYTA
CLASE	DICOTILEDONEA
SUB-CLASE	ARCHICHLANIDEAE
ORDEN	GERANIALES
FAMILIA	EUPHORBIACEAE
SUB-FAMILIA	ACALYPHOIDEAE
GENERO	PLUKENETIA
ESPECIE	VOLUVILIS LINNEO
NOMBRE CIENTIFICO	PLUKENETIA VOLUVILIS LINNEO
NOMBRE COMUN	SACHA INCHI, MANI DEL INCA, MANI DEL MONTE, MANI SILVESTRE, SACHA YUCHI
VARIEDADES	PINTO RECODO, TAMBO DE AGUAS, MUYUY, RIO PUTUMAYO, CUMBAZA ¹²

2.1.2. DESCRIPCIÓN Y MORFOLOGÍA

Las semillas de Sacha Inchi se cultivan principalmente en ceja de selva, planta rústica, crece en suelos ácidos francos y aluviales planos, y con alta concentración de aluminio, la encontramos desde los 1000 hasta los 1500 msnm siempre y cuando haya disponibilidad permanente de agua y buen drenaje o cerca de los ríos.

El sachá inchi, es una planta semileñosa y perenne, de la familia de las euforbiáceas. Es una planta hermafrodita de crecimiento voluble, abundantes hojas y ramas, posee una altura de 2 mt; hojas alternas y acorazonadas con bordes dentados, puntiagudos de 10 a 12 cm de largo y 5 a 10 cm de ancho, con peciolo de 2 a 6 cm de largo; flores masculinas pequeñas, blanquecinas en racimos. En la base del racimo y lateralmente se encuentra una o dos flores femeninas, fructificación capsular de 3 a 5 cm de diámetro, dehiscentes (4-5-7 capsulas); fruto de color verde, marrón negrozco al madurar; semillas de color marrón oscuro con notorias nervaduras ovales de 1.5 x 2 cm de diámetro y de 45 a 100 gr de peso requiere tutor que debe tener altura de 2 mt.

A los tres meses de trasplante aparecen las flores masculinas, luego las femeninas. En un periodo de 7 a 19 días, las flores masculinas y femeninas completan su depreciación.

Las flores completan su desarrollo a 4 meses de la floración, luego inician la madurez (de color verde) finalmente se tornan a marrón negro o cobrizo.

El proceso de maduración es de 15 a 20 días. La cosecha se inicia a los 8 meses después de la siembra o trasplante. La producción es a continua, realizándose la cosecha cada 15 días.

Al abrir las semillas están los cotiledones a manera de almendras y cubiertas de una película blanquecina.

El sabor de las semillas es agradable con sabor a nuez ligeramente diferente al maní o almendras que tiene sabor único. El atractivo real de las semillas es el aceite que contiene.^{14,16}



Figura N° 1 IMÁGENES DEL CULTIVO DE SACHA INCHI

Fuente: Sacha+Inchi ingurl=wwwenseman...

2.1.3. ACEITE DE SACHA INCHI

Por su naturaleza, por la tecnología utilizada aplicada para los cultivos ecológicos y su proceso industrial de extracción, es un aceite de alta calidad para la alimentación y la salud (puede controlar los niveles de grasas en sangre). Su consumo no solo es como aceite sino también se preparan en capsulas como suplemento nutricional o tratamiento medicinal.¹³

El aceite de sacha inchi aporta la misma cantidad de calorías que cualquier otro aceite pero es importante también elegir aquellos alimentos con mayor valor nutricional.

Además es importante recalcar que solo contiene 6.19% de ácidos grasos saturados.²²

Recordar que estos son datos informativos y que de ninguna manera reemplazan la opinión de un profesional de la salud.

2.1.4. COMPOSICION QUIMICA

Los principales componentes del sacha inchi son: proteínas, aminoácidos, ácidos grasos esenciales (omega 3, 6,9) y vitamina E (tocoferoles y tocotrioles), en comparación con otras semillas oleaginosas la de sacha inchi superan en mayor porcentaje en ácidos grasos insaturados y en menor porcentaje de grasas saturadas, utilizadas en el mundo para la producción de aceites para consumo humano y en calidad de proteínas para la producción de harinas proteicas.²²

CUADRO N° 1. COMPARATIVO DE ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS

PRODUCTO	%	PRODUCTO	%	PRODUCTO	%
OLIVA	9	NUEZ	56	LINAZA	72
CANOLA	32	SOYA	61	CARTAMO	78
PESCADO	31	GIRASOL	69	SACHA INCHI	83

Fuente: Michael Machuca Capomanes (HamaKer et.al 1992)

CUADRO N° 2. COMPOSICION QUIMICA DEL ACEITE:

COMPOSICION	%
PALMITICO C 16:0	3.65
ESTEARICO C 18:0	2.54
OLEICO OMEGA 9 C 18:1W-9	8.40
LINOLEICO OMEGA 6 C 18:2 W-6	36.80
ALFA LINOLENICO 3 C 18:3 W-3	48.61
PROTEINAS	60
ACEITE TOTAL	54
TOTAL SATURADOS	6.19
TOTAL INSATURADOS	93.81
<u>ANTIOXIDANTES</u>	
VITAMINA A	681ug
VITAMINA E	17 mg/100gr

Fuente; es.scribd.com>NegociosyLeyes>Tecnologia (HamaKer. Al 1992)

2.1.5. CACTERISTICAS FÍSICO QUIMICAS DEL ACEITE DE SACHA INCHI

INDICE DE REFRACCION	1.48
PESO ESPECIFICO (g/ml) a 15°C	0.920852
ÍNDICE DE IODO (g de I ₂ /100g)	189
ÍNDICE DE SAPONIFICACION (mg KOH/g)	229.583
VALOR DE PEROXIDO (meq O ₂ (Kg)	4.139(19)

Fuente de EESALUD, Concurso “Premio Kaelin” seudónimo: AMUI-O
29-04-2011 Lima-Perú.

2.1.6. METODOS DE OBTENCION.

En el Perú, Agroindustrias Amazónicas y Peruvian Fuctional Foods (Nutri Omega) ha seleccionado variedades hasta con 54% de aceite, de semillas extra, virgen seleccionadas y se obtiene por prensado al frio (sin el uso de expulsos). El resultado es un aceite extra virgen, no refinado, orgánico, contenido de proteínas 60%, aminoácidos esenciales y no esenciales; es rico en vitaminas A y E en cantidades suficientes para la salud humana.¹

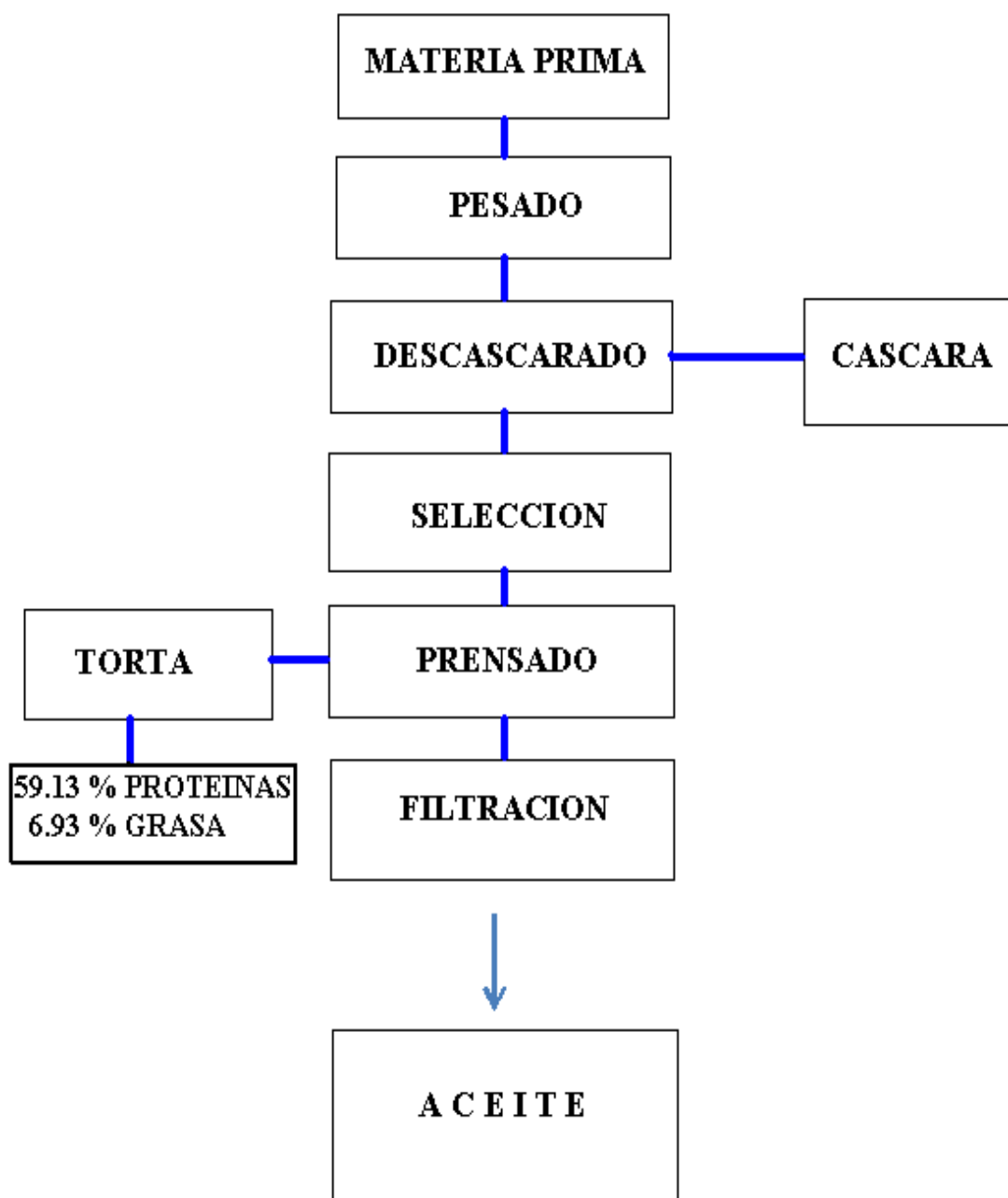


FIGURA N° 2

DIAGRAMA DE PRENSADO AL FRIO

Agroindustrias Amazónicas Olivos del Sur SAC.

2.1.7. USOS DEL SACHA INCHI:

El poder natural del Sacha Inchi en beneficio de la salud resulta imprescindible incluirlo en nuestras comidas ya que favorece el correcto desarrollo y funcionamiento tanto del sistema nervioso como del cerebro pues es rico en Ácidos Grasos Esenciales, como lo son los Omega 3, Omega 6 y Omega 9.²²

Este aceite al ser absorbido y asimilado por nuestro organismo favorece el incremento y la agilización de las diferentes funciones cerebrales que se encuentran estrechamente ligadas a la memoria, la inteligencia y el razonamiento

estimula el fortalecimiento del sistema de defensas, favorece el mejor funcionamiento del sistema digestivo y transporta nutrientes por el torrente sanguíneo, fortifica los huesos y el sistema óseo en general.

Los ácidos grasos forman parte de la composición de las grasas y ejercen diversas funciones fundamentales en el organismo, constituyen una importante fuente de energía, son el componente esencial de las membranas de todas las células e intervienen en el control y regulación de una gran variedad de procesos vitales como la coagulación sanguínea, la respuesta inflamatoria, la regulación de la temperatura del cuerpo, el funcionamiento normal del cerebro, la salud de la piel, uñas y cabello entre otras funciones.^{25,32}

2.2. ACIDOS GRASOS.-

Los ácidos grasos son ácidos orgánicos monoenoicos, que se encuentran presentes en las grasas, raramente libres, y casi siempre esterificando al glicerol y eventualmente a otros alcoholes. Son generalmente de cadena lineal y tienen un número par de átomos de carbono. La razón de esto es que en el metabolismo de los eucariotas, las cadenas de ácido graso se sintetizan y se degradan mediante la adición o eliminación de unidades de acetato. No obstante, hay excepciones, ya que se encuentran ácidos grasos de número

impar de átomos de carbono en la leche y grasa de los rumiantes, procedentes del metabolismo bacteriano del rumen, y también en algunos lípidos de vegetales, que no son utilizados comúnmente para la obtención de aceites.

2.2.1. ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS.-

Los ácidos grasos insaturados tienen en la cadena dobles enlaces, en un número que va de 1 a 6. los que tienen una sola insaturación se llaman mono insaturados, quedando para el resto el término de poliinsaturados.

En los ácidos grasos habituales, es decir, en la inmensa mayoría de los procedentes del metabolismo eucariota que no han sufrido un procesado o alteración químicos, los dobles enlaces están siempre en la configuración *cis*.

2.2.2. NOMENCLATURA

Según las normas de la IUPAC, utilizadas de forma general, la cadena de los ácidos grasos se numera a partir del carbono del carboxilo, que es entonces el número 1. La posición de los dobles enlaces se indica utilizando la letra griega Δ , delta mayúscula. Ahora bien, en las ramas científicas que consideran los ácidos grasos desde el punto de vista biológico y no puramente químico, se utiliza otra nomenclatura, numerado la cadena a partir del metilo. En este caso, la posición de los dobles enlaces se indica con la letra griega ω omega minúscula, o con la letra n. La razón es que en los seres vivos la elongación, insaturación y corte de los ácidos grasos se produce a partir del extremo carboxilo, por lo que numerando desde el metilo se mantiene la relación entre los que pertenecen a la misma serie metabólica. Además, como en los ácidos grasos habituales, y especialmente en las series metabólicas correspondientes al linoleico y linoléico los dobles enlaces están situados siempre con un CH₂ entre ellos, solamente se especifica la posición del primero (contando desde el metilo).¹²

2.2.3. ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS Y ESENCIALES

Los ácidos grasos poliinsaturados más frecuentes pertenecen a las series n-6 y n-3, que tienen como cabezas respectivas al ácido linoleico (18:2 n-6) y al linolénico (18:3 n-3).

En todos los casos, los dobles enlaces se encuentran separados por un carbono, es decir, formando un sistema dieno no conjugado.¹²

CUADRO N° 3. ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS

ESTRUCTURA	NOMBRE COMÚN	PROCEDENCIA
C 18:2 n-6	LINOLEICO	aceites vegetales (girasol, maíz, soja, algodón, cacahuete...)
C 18: 3 n-3	LINOLÉNICO	soja, otros aceites vegetales
C 18:3 n-6	GAMMA LINOLÉNICO	aceite de onagra, borraja
C 18:4 n-3	ESTEARIDÓNICO	aceites de pescado, semillas de borraja, onagra
C 20:4 n-6	ARAQUIDÓNICO	aceites de pescado
C 22:5 n-3	CLUPANODÓNICO	aceites de pescado
C 22:6 n-3	DOCOSAHEXAENOICO	aceites de pescado

Fuente.milksciunigar.es/bioquímica.

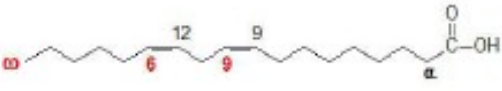
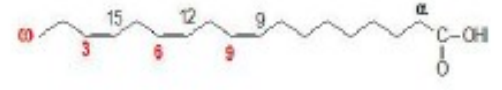
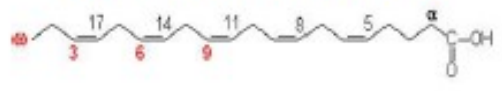

Los ácidos grasos poliinsaturados son fácilmente oxidables, tanto más cuanto mayor sea el número de dobles enlaces. A partir de tres insaturaciones, son francamente inestables.

CUADRO N°4. ACIDOS GRASOS DEL OMEGA- 3

NOMBRE COMÚN	NOMBRE DEL LÍPIDO	NOMBRE QUÍMICO
ÁCIDO ALFA-LINOLÉNICO (ALA)	18:3 (n-3)	OCTADECA-9,12,15-TRIENOICO
ÁCIDO ESTEARIDÓNICO	18:4 (n-3)	OCTADECA-6,9,12,15-TETRAENOICO
ÁCIDO EICOSATETRAENOICO	20:4 (n-3)	EICOSA-8,11,14,17-TETRAENOICO
ÁCIDO EICOSAPENTAENOICO (EPA)	20:5 (n-3)	EICOSA-5,8,11,14,17-PENTAENOICO
ÁCIDO DOCOSAPENTAENOICO	22:5 (n-3)	DOCOSA-7,10,13,16,19-PENTAENOICO
ÁCIDO DOCOSAHEXANOICO (DHA)	22:6 (n-3)	DOCOSA-4,7,10,13,16,19-HEXAENOICO

Fuente: wiki/Acido_graso_omega3

CUADRO N° 5. ESTRUCTURA QUÍMICA DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES FISIOLÓGICAMENTE RELEVANTES

SIMBOLO NUMERICO	NOMBRE COMÚN Y ESTRUCTURA	COMENTARIOS
18:2 ^{Δ9,12}	<p>Ácido Linoleico</p> 	<p>ÁCIDO GRASO ESENCIAL EL OMEGA-6 ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS</p>
18:3 ^{Δ9,12,15}	<p>Ácido linolénico (ALA)</p> 	<p>ÁCIDO GRASO ESENCIAL EL OMEGA-3 ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS</p>
20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	<p>Ácidos eicosapentaenoico (EPA)</p> 	<p>EL OMEGA-3 ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS ENRIQUECIDO EN LOS ACEITES DE PESCADO</p>
22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	<p>Ácidos docosahexanoico (DHA)</p> 	<p>EL OMEGA-3 ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS ENRIQUECIDO EN LOS ACEITES DE PESCADO</p>

Fuente: thermomedicalbiochemistrypage.org/as/lipids-sp-php

El organismo necesita el ácido graso omega 3 para trabajar correctamente. Entre las principales funciones del ácido linolénico se encuentran las siguientes:

- La formación de las membranas celulares.
- La función de las hormonas
- El correcto funcionamiento del sistema inmunológico
- La correcta función de la retina.
- El funcionamiento de las neuronas y las transmisiones químicas.

2.2.4. PROPIEDADES BENEFICIOSAS PARA EL APARATO CIRCULATORIO:

La ingestión de alimentos ricos en ácido linolénico o complementos que contengan este principio rebaja los triglicéridos, disminuye el colesterol, previene la formación de coágulos en las arterias al impedir la agregación plaquetaria y disminuye levemente la presión arterial. En general fluidifica la sangre y protege contra los ataques cardíacos, apoplejías, derrames cerebrales, anginas de pecho, enfermedad de Raynaud, etc. Por otra parte, la función cardioprotectora viene además acentuada por la capacidad de estos aceites para incrementar las transmisiones eléctricas del músculo cardíaco por lo que regularizan el ritmo y previenen enfermedades como las arritmias.²⁷

- **Propiedades anticancerígenas:**

La inclusión de alimentos o complementos ricos en este componente protege contra la aparición de ciertos cánceres, especialmente el cáncer de colon, el cáncer de próstata y el cáncer de mama. Además pueden reducir el tamaño de los tumores, al impedir el crecimiento de las células cancerosas o evitar que estas mediante metástasis, se reproduzcan en alguna otra parte del organismo.

En el cáncer de mama estos ácidos inhiben la acción de los estrógenos que son los causantes del desarrollo de tumores en el pecho.²³

- **Propiedades antiinflamatorias:**

Se ha comprobado que el ácido linolénico tiene propiedades antiinflamatorias en enfermedades de las articulaciones. Por ello los alimentos, o, especialmente los suplementos, pueden ser muy adecuados para rebajar la inflamación y aliviar el dolor en enfermedades como la artritis reumatoide. ²²

- **Enfermedad de Crohn:**

Las propiedades antiinflamatorias del omega-3 pueden aprovecharse para el tratamiento de la enfermedad de Crohn, una inflamación crónica del colon.

- **Dolores en la menstruación:**

De igual manera puede ayudar a disminuir los dolores producidos por la menstruación.

- **Salud mental:**

La ingestión de estos ácidos puede ayudar a mantener el equilibrio mental y evitar o mejorar de la depresión o servir de ayuda en el tratamiento de enfermedades como la esquizofrenia.

- **Embarazo:**

La ingestión de alimentos ricos en omega-3 resulta muy adecuada durante el embarazo para conseguir que el feto tenga un desarrollo cerebral adecuado, favorecía la coordinación motriz de los bebés prematuros. ²⁵

2.2.5. MECANISMOS DE ACCIÓN QUE EXPLICAN LOS EFECTOS CARDIOVASCULARES DE LOS ÁCIDOS GRASOS

a.- OMEGA-3:

Cuando existe hipertrigliceridemia así como hiperglicemia se produce disfunción endotelial, y esto es un marcador de aterosclerosis. En la disfunción endotelial hay un aumento de dimetilarginina que produce una inhibición de la óxido nítrico sinteasa.

Con el consumo de ácidos grasos omega-3 mejora la disfunción endotelial y con ello la producción de óxido nítrico, y además disminuyen los niveles de PCR, IL-6 y E-selectina y VCAM1 y también aumentan el HDL. ⁴

El endotelio normal tiene mediadores, activadores, inhibidores y receptores que aseguran las tres propiedades fundamentales que son: anti plaquetaria, anticoagulante, fibrinolítica y producción de óxido nítrico.

El efecto anti-trombótico producido por los ácidos grasos omega-3 es mediado a través de cambios en la generación de eicosanoides del ácido araquidónico proveniente de los AGO-6. El EPA es incorporado a la membrana fosfolipídica por la fosfolipasa A2 y también actúa como sustrato de la COX-2. A partir de esta incorporación los productos que se forman, como el TXA3 y PGI3 son de menor potencia agregatoria que el TXA2 originado a partir del ácido araquidónico.

Los mecanismos mediante los que los ácidos grasos omega-3 disminuyen los triglicéridos son:

- Por reducción de la disponibilidad del sustrato secundario.
- Por disminución de la actividad de las enzimas de síntesis de triglicéridos como la diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) y la fosfohidrolasa de ácido fosfatídico (PAP).
- Por aumento de la síntesis de fosfolípidos.

A su vez, a nivel hepático, las enzimas que controlan el metabolismo lipídico están bajo control de transcripción, el cual es regulado por factores de transcripción que son

receptores nucleares. Es también mediante la interacción con esos receptores nucleares, que los ácidos grasos omega-3 regulan el metabolismo lipídico, disminuyendo los triglicéridos.

Los receptores de transcripción que los omega-3 estimulan son:

PPAR alfa Receptor X del hígado Factor nuclear hepático 4 alfa (HNF-4). Elemento de unión a la proteína-1c reguladora de esteroides. A dosis de 3-4 gramos de ácidos grasos omega-3 se logra disminuir eficazmente los triglicéridos. Además en la dislipemia post-trasplante renal el uso de omega-3 resulta igualmente eficaz. 3-5 gr.

También existen evidencias que sugieren que los AGO-3 brindan protección contra el stroke, particularmente el stroke isquémico. Los efectos cardioprotectora de los omega 3 también se relacionan con que mejora la presión arterial, la función cardiaca, la compliance arterial y la función vascular, así como mejora el metabolismo lipídico, tiene efectos anti plaquetarios y antiinflamatorios.¹⁰

Entre los mecanismos investigados mediante los que el DHA produce disminución de la presión arterial son:

- -Mejora la función vasodilatadora endotelial por supresión del TXA2 y supresión de endoperoxidos cíclicos.
- Aumenta la compliance vascular
- Estimula la síntesis de ON endotelial.
- -Reduce la reactividad vascular a la angiotensina II y norepinefrina.

Los mecanismos mediante los que los ácidos grasos omega-3 tienen efectos anti-arritmicos son:

- Inhibe la sobrecarga miocárdica de Ca
- Inhibe la producción de TX
- Inhibe la acidosis isquémica⁴.
- Inhibe la isquemia por pérdida de K

Los ácidos grasos poli-insaturados libres y no los ácidos grasos poli-insaturados de la membrana fosfolipídica tienen un efecto inhibitorio sobre el automatismo y excitabilidad eléctrica del miocardio más que la disminución del Ca citosólico.

La incorporación de omega 3 en la célula muscular lisa mejora la fluidez de la membrana celular modificando de esta manera las propiedades de contracción que incluyen: transporte iónico, actividad del receptor y potencial eléctrico.²⁷

El DHA produce una disminución de la presión arterial en relación a su reactividad con la norepinefrina. El mecanismo de acción que explica dicho efecto es:²⁸

- Actúa a nivel del SRAA disminuyendo la síntesis adrenal de aldosterona. Aumentando el flujo a nivel de CML (célula muscular lisa)
- Por activación vascular de los canales ATP-K
- Disminución de la presión arterial
- Disminución del espesor de la pared arterial en coronarias y aorta.
- Mejora de la compliance arterial sistémica.
- El DHA promueve la apoptosis a nivel de la CML.
- Disminución de la síntesis de aldosterona a nivel de las células glomerulares adrenales.
- Aumento de la fluidez de las células endoteliales de la aorta.

Los efectos cardiovasculares adversos de la aldosterona como son los efectos protrombóticos, la injuria e inflamación vascular, la fibrosis miocárdica, la retención de Na y pérdida de K y Mg, la potenciación de las catecolaminas, la disfunción endotelial, los efectos hipertensores centrales y arritmias ventriculares; son todos efectos que pueden disminuirse mediante la incorporación de ácidos grasos omega-3, ya que estos, se ha demostrado disminuyen su síntesis.²⁸

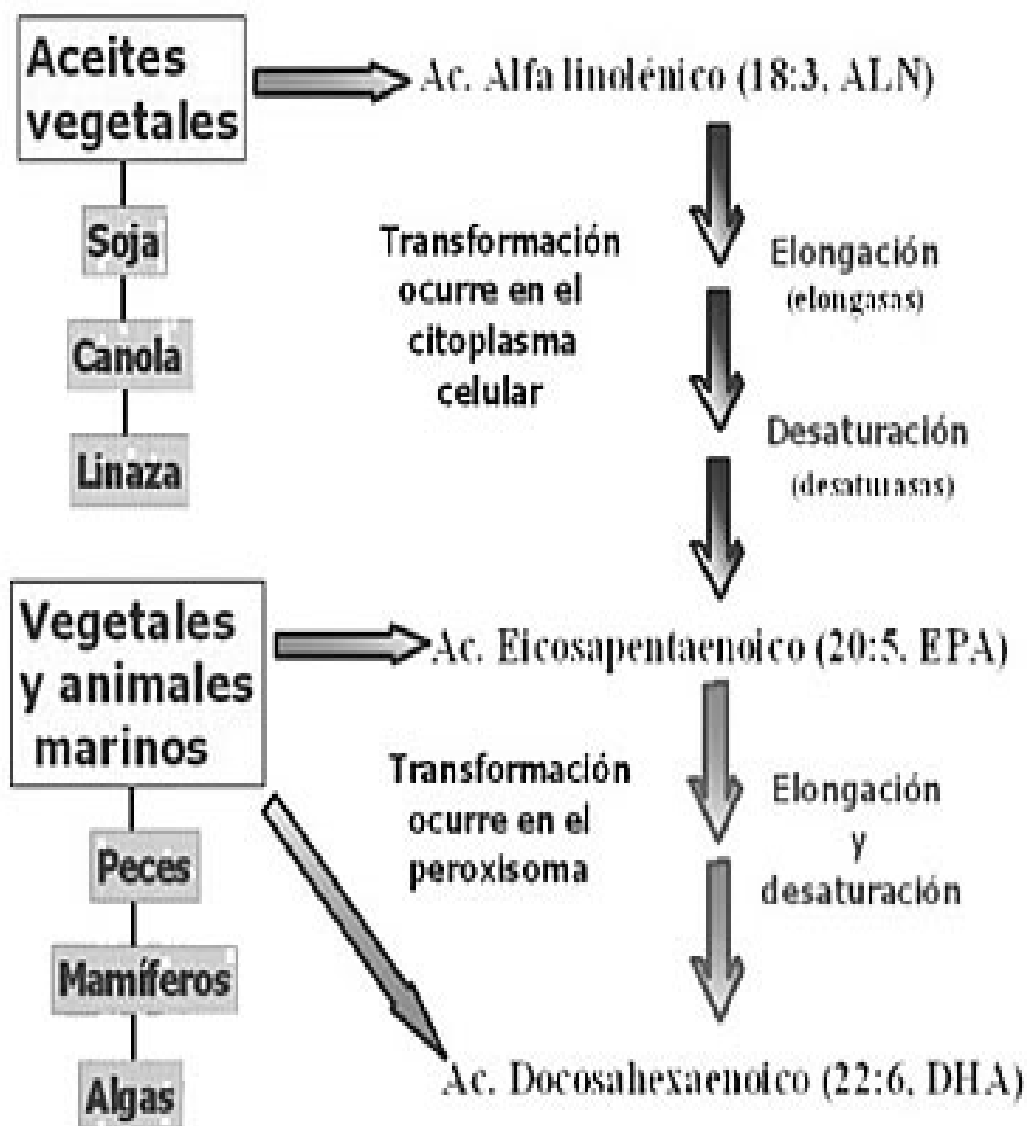


FIGURA N° 3 BIOSINTESIS DEL EPA Y DEL DHA

(Fuente: Alimentos Funcionales y Salud en las etapas infantil y juvenil)

Javier Aranceta, Ángel Gil. Comité de Nutrición AEP (Diciembre 2005- Junio 2009)

b.- OMEGA -6

Los ácidos omega-6 también son esenciales, pero tienen que consumirse en exceso en las dietas modernas, sobre todo por inclusión en productos de comida elaborada.

Recientes estudios publicados en Psychosomatic Medicine, hallaron que cuanto más alto era el nivel de ácidos grasos omega-6 en la sangre más probabilidades de sufrir síntomas de depresión, enfermedades coronarias, asma, artritis y tener altos niveles de sustancias sanguíneas inflamatorias (sustancias que incluyen el factor alfa de necrosis tumoral y la interleukina).²²

TIPOS DE OMEGA-6:

- AL- O ÁCIDO LINOLEICO.- Es un ácido graso omega-6 insaturado. Esta químicamente formado por una cadena de 18 carbonos. El primer doble enlace está ubicado en el sexto carbono desde la punta omega del ácido graso; es por ello que se clasifica como omega-6.
- AA- O ACIDO ARAQUIDÓNICO.- Contiene una cadena de 20 carbonos. Su primer doble enlace está ubicado en el sexto carbono desde la punta del ácido graso.

BENEFICIOS:

- Tienen una acción antiinflamatoria, que mejora los síntomas de la artritis.
- Son cardioprotectores, ya que la hacen la sangre más fluida, reduce el riesgo de coágulos o trombos.
- Ayuda a tener niveles de insulina más estable.
- Intervienen en funciones vitales del organismo como la formación de membranas celulares y hormonas.²²

Como fuentes de Omega 6 tenemos:

- LA: aceite de soya, maíz, cártamo, girasol, maní, semilla de algodón fibra de arroz, sachá inchi, frutos secos, germen de trigo.
- AA: aceite de maní, carnes rojas, huevos, productos lácteos.

- **EQUILIBRO ENTRE OMEGA-3 Y OMEGA-6 EN EL ORGANISMO**

El consumo de Omega-6 debe ir en relación y en equilibrio con el consumo de Omega-3.

Si bien el Omega-6 es necesario para nuestra salud, su consumo excesivo puede generar problemas al corazón, asma, ciertas formas de cáncer, artritis y depresión.

Mientras que Omega-3 reduce las inflamaciones Omega-6 las causa; por ello un desequilibrio en el consumo de ambos resulta perjudicial a la salud.³²

Los siguientes problemas de salud podrían indicar que existe un desequilibrio entre Omega-3 y Omega-6:

- Depresión - Enfermedades cardiovasculares
- Diabetes tipo 2
- Fatiga
- Piel seca, escozor
- Pelo y uñas quebradizos
- Incapacidad para la concentración
- Dolor de articulaciones.

- **RELACION ENTRE EL OMEGA-3 Y EL OMEGA-6**

Para un correcto funcionamiento del organismo se tiene que establecer la relación adecuada entre los ácidos grasos esenciales omega-3 y omega-6.

Actualmente existe una proporción demasiado elevada en la ingestión de omega-6 que suele oscilar entre 10:1 o 20:1, cuando la proporción adecuada se situaría en un 4:1, es decir cuatro partes de omega-6 y una parte de omega-3.²²

La solución consiste en aumentar los alimentos que contengan más omega-3 o tomar suplementos de este componente y disminuir aquellos alimentos muy ricos en omega-6.

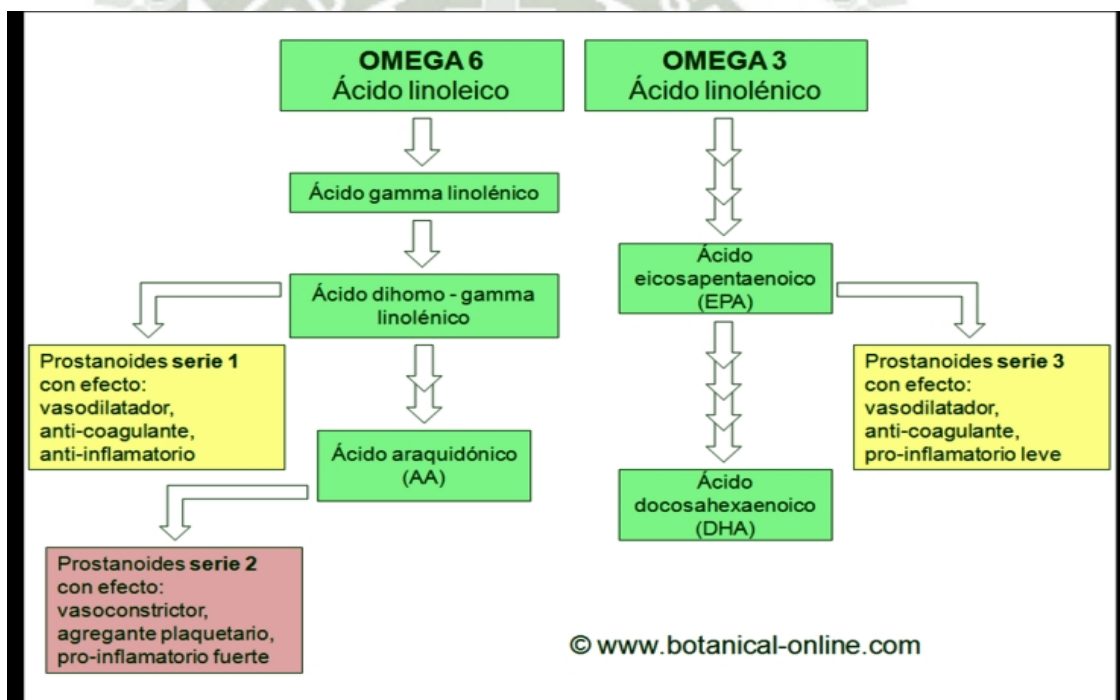


FIGURA N° 4. METABOLISMO DE LOS ACIDOS GRASOS:

Esquema resumido de las rutas metabólicas de los ácidos grasos esenciales y los prostanoides resultantes de su transformación.

http://www.botanical-online.com/metabolismo_de_las_grasas_omega_3_y_6.htm

2.3. FLUIDOS SUPERCRITICOS

2.3.1. INTRODUCCION

La técnica de la extracción fluida crítica estupenda (SCFE o SFE) es un nueva técnica de separación con la adaptabilidad amplia, que se está levantando en el mundo moderno. Con esta técnica, durante el proceso de la extracción no hay agente químico necesario; no se hace ninguna contaminación a la sustancia separada, para cumplir completamente los requisitos de la medicina, el alimento, los productos de la salud, y los cosméticos también, esta técnica se jacta la característica del alto efecto de la extracción, alta calidad, temperatura de poca extracción, consumo de energía baja. Y sin la contaminación, especialmente conveniente para la extracción de sustancias sensibles al calor y activas. Este dispositivo puede extraer extensamente los aceites volátiles, alcaloides, fenoles, otros elementos naturales de animales y de plantas. Constituyendo una operación unitaria alternativa a tradicionales formas de separación fisicoquímicas como son la destilación o las extracciones liquido-liquido y/o solido-solido, modificando temperatura, presión, tasas de flujo, tiempo de procesamiento.⁶

2.3.2. CARACTERISTICAS DE FLUIDOS SUPERCRITICOS.-

Las características fundamentales son.

- El poder de solvatación de un líquido.
- Difusibilidad de un gas.⁷

Un fluido supercrítico posee propiedades de disolvente que se parecen a las de un líquido, pero también exhibe propiedades de transporte parecidas a las de un gas. De esta manera, un fluido supercrítico no solo puede disolver solutos sino que también es miscible con los gases ordinarios y puede penetrar en los poros de los sólidos. Los fluidos supercríticos tienen una viscosidad más baja y un coeficiente de difusión más elevado que los líquidos. La densidad de un fluido supercrítico aumenta al aumentar la presión y, al aumentar la densidad, la solubilidad de un soluto en el fluido supercrítico aumenta de manera espectacular. El hecho de que las propiedades puedan ajustarse variando la presión y la temperatura tiene ventajas para la aplicación de estos fluidos

como agentes de extracción. Utilizar un fluido supercrítico para la extracción de un material determinado a partir de una materia prima supone el reparto del material en el líquido supercrítico, seguido de un cambio de temperatura y presión que tiene como resultado el aislamiento del soluto puro por vaporización del CO₂. Finalmente, el fluido supercrítico puede reciclarse invirtiendo el cambio en las condiciones de temperatura y presión.

La temperatura y presión críticas de compuestos seleccionados que se utilizan como fluidos supercríticos. Junto con su fácil accesibilidad, bajo costo, falta de toxicidad, el hecho de que es inerte químicamente y no inflamable, la temperatura y presión críticas del CO₂ son lo suficientemente adecuadas para hacer que el CO₂ supercrítico (scCO₂) sea de un gran valor como disolvente;²⁴

Un fluido supercrítico es cualquier sustancia que se encuentra en condiciones de presión y temperatura superiores a su punto crítico que se comporta como “un híbrido entre un líquido y gas”

Es decir que se puede difundir como un gas (efusión), y disolver sustancias como un líquido (disolvente). Los FSC se caracterizan por el alto rango de densidades que puede adoptar. Por encima de las condiciones críticas, pequeños cambios de presión y temperatura producen grandes cambios en su densidad.⁹

- Gran poder disolvente junto con una enorme capacidad de penetración en sólidos.
- Puede separarse totalmente de forma sencilla de los extractos, simplemente modificando la presión o la temperatura hasta el extremo, si es necesario de que el fluido pase al estado gaseoso.
- Fluido usado para este caso es el dióxido de carbono.
- No existe interface gas-líquido.

- La compresibilidad isotérmica se hace infinitamente positiva.
- El coeficiente de expansión térmica es infinito y positivo.
- La entalpia de vaporización es cero.
- Si la densidad se mantiene constante e igual a la densidad crítica la capacidad calorífica a volumen contante tiende al infinito.
- La densidad por encima del punto crítico depende básicamente de la presión y la temperatura, pero en cualquier caso está más cercana a la de los líquidos que a la de los gases.
- La densidad aumenta si lo hace la presión a temperatura constante y si disminuye la temperatura a presión constante.
- La viscosidad es mucho más baja que la de los líquidos, lo que le confiere propiedades hidrodinámicas muy favorables.
- La bajísima tensión superficial permite una alta penetrabilidad a través de solidos poros y lechos empaquetados.
- Mayores coeficientes de difusión (difusibilidad) que en líquidos por lo que la transferencia de materia es más favorable.¹⁷

2.3.3. PUNTO CRÍTICO.-

- En termodinámica y en fisicoquímica, un **punto crítico** es aquel límite para el cual el volumen de un líquido es igual al de una masa igual de vapor o, dicho de otro modo, en el cual las densidades del líquido y del vapor son iguales. Si se miden las densidades del líquido y del vapor en función de la temperatura y se representan los resultados, puede determinarse la temperatura crítica a partir del punto de intersección de ambas curvas. Temperatura y presión por encima de la cual no se puede condensar un gas.¹⁷

- **CONDICIONES MATEMÁTICAS DEL PUNTO CRÍTICO**

En el punto crítico se verifica:

$$\left(\frac{\partial P}{\partial v}\right)_{T=T_c} = 0$$

$$\left(\frac{\partial^2 P}{\partial v^2}\right)_{T=T_c} = 0$$

- Siendo P la presión, v el volumen molar, T la temperatura y T_c la temperatura crítica del sistema considerado.
- Aquí deja de existir las fases líquidas y gaseosas y aparece otra fase la llamada fase supercrítica donde el poder del disolvente puede ser bajo o alto sin que se produzca un cambio de fase solo realizando pequeños cambios de presión y temperatura. El poder del disolvente (CO₂) depende de su densidad.
- La densidad de un FSC es similar a la de un líquido y su viscosidad es similar a la de un gas.

CUADRO N° 6. PROPIEDADES CRÍTICAS DE DIFERENTES FLUIDOS (REID ET AL, 1987)

SOLVENTE	PESO MOLECULAR	T° CRÍTICA	PRESIÓN CRÍTICA	DENSIDAD CRÍTICA
	g/mol	K	MPa (atm)	g/cm ³
Dióxido de carbono (CO ₂)	44,01	304,1	7,38 (72,8)	0,469
Agua (H ₂ O)	18,02	647,3	22,12 (218,3)	0,348
Metano (CH ₄)	16,04	190,4	4,60 (45,4)	0,162
Etano (C ₂ H ₆)	30,07	305,3	4,87 (48,1)	0,203
Propano (C ₃ H ₈)	44,09	369,8	4,25 (41,9)	0,217
Etileno (C ₂ H ₄)	28,05	282,4	5,04 (49,7)	0,215
Propileno (C ₃ H ₆)	42,08	364,9	4,60 (45,4)	0,232
Metanol (CH ₃ OH)	32,04	512,6	8,09 (79,8)	0,272
Etanol (C ₂ H ₅ OH)	46,07	513,9	6,14 (60,6)	0,276
Acetona (C ₃ H ₆ O)	58,08	508,1	4,70 (46,4)	0,278

El CO₂ y otros fluidos: curso de FSC Dr. Gonzalo Dávila UCSM.

CUADRO N° 7. COMPARACIÓN DE GASES, FLUIDOS SUPERCRÍTICOS Y LÍQUIDOS¹			
	Densidad (kg/m³)	Viscosidad (μPa·s)	Difusividad (mm²/s)
Gases	1	10	1-10
Fluidos Supercríticos	100-1000	50-100	0,01-0,1
Líquidos	1000	500-1000	0,001

Fuente: ITES CAM. Edu

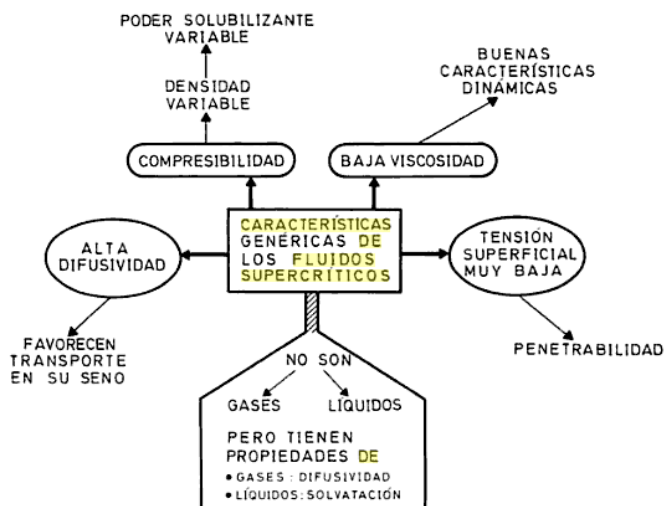


Fig. N° 5. CARACTERÍSTICAS GENÉRICAS DE LOS FSC:

Tomado de: books.google.com.pe/booksisbn

Los valores de viscosidad en la región supercrítica esta entre los que presentan los estados líquidos y gaseosos los que proporcionan unas características hidrodinámicas más favorables y se comparan con los líquidos.⁷

Las solubilidades de una sustancia en un disolvente SC son en general menor que en los líquidos convencionales. Este inconveniente tiene su compensación en el hecho de que cuando se emplean FSC, la separación de soluto y disolvente se logra eficientemente mediante un simple proceso de expansión. Esto evita tener que aumentar la temperatura para eliminar el disolvente por evaporación, como sucede como los disolventes tradicionales.¹⁷

Para que la solubilidad de sustancias sea eficaz muchas veces se hace necesario recurrir al agregado de cosolventes. Estas habitualmente son sustancias volátiles con afinidad por el soluto y se agregan en una concentración mucho mayor que la del soluto pero mucho menor que la del disolvente. Esto permite extender la posibilidad de sintetizar interacciones entre el disolvente y el soluto en un ámbito mayor de interacciones con otras moléculas.¹⁷

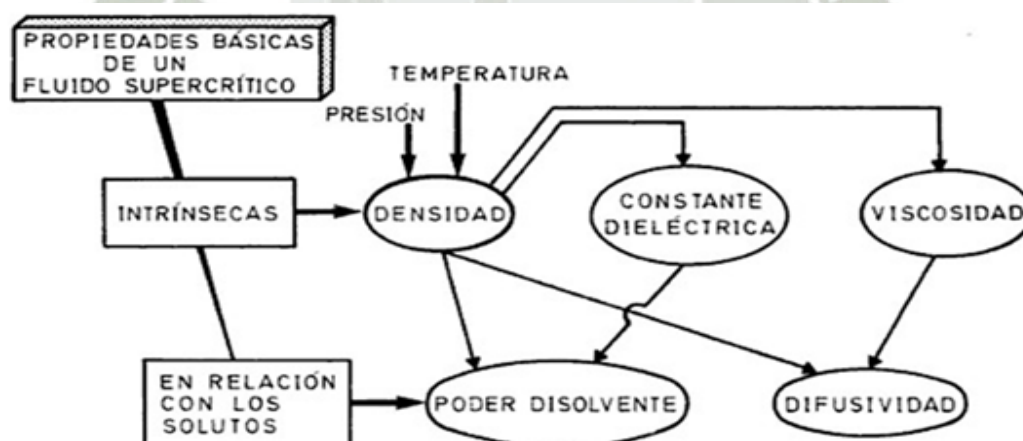


FIG. N° 6. CARACTERISTICAS IDEALES QUE DEBE POSEER EN FSC PARA SU USO CON DISOLVENTE.

(Curso de FSC: Dr. Gonzalo Dávila del C. UCSM)

DIAGRAMA DE FASES:



Fig. N° 7. Esquema representativo del diagrama de presión-temperatura de los estados de la materia correspondiente a una sustancia pura. For CO₂, T_c=31°C, P_c=1100Psi.

Ref.: Extracto del Curso EFC Diseño y Aplicaciones por Ing. Juliana Prado (UCSM-UNICAMP) y del Curso EFC por Dr. Gonzalo Dávila del C. (UCSM).

- La curva roja muestra la variación de la temperatura de sublimación de una sustancia.
- La curva verde marca la variación del punto de congelación (el tramo de curva verde con puntos muestra el comportamiento anómalo del agua).
- La curva azul, la del punto de ebullición. Se muestra como la temperatura de sublimación, la de congelación y la de ebullición varía con la presión. El punto de unión de las tres curvas la roja, la verde y la azul es el triple punto. El punto crítico se ve en extremo derecho de la curva azul.

En un diagrama de fases clásico, las curvas de fusión, sublimación y vaporización muestran las zonas de coexistencia de dos fases. Tan solo hay un punto de coexistencia de tres fases, el llamado punto triple (PT). El cambio de fase se asocia a un cambio brusco de entalpía y densidad. Por encima del punto crítico (PC) este cambio no se produce, por lo tanto podríamos definir este punto como aquel por encima del cual no se produce licuefacción al presurizar, ni gasificación al calentar, y por ende un fluido supercrítico es aquel que se encuentra por encima de dicho punto.

A temperatura y presión por encima de la temperatura y presión críticas (es decir, por encima del punto crítico), una sustancia se convierte en un fluido supercrítico.

Las líneas continuas azules representan los límites entre las fases. La línea discontinua pone de manifiesto la distinción entre vapor y gas; un vapor puede ser licuado aumentando la presión, un gas no. Por encima de la temperatura crítica, T crítica, el gas ya no puede ser licuado independientemente del aumento de la presión. Si se observa una muestra al alcanzar el punto crítico, el menisco de la interface líquido-gas desaparece lo que significa que ya no hay distinción entre las dos fases. A temperatura y presión por encima de la temperatura y presión críticas (es decir, por encima del punto crítico), una sustancia se convierte en un fluido supercrítico^{7,17}

2.3.4. CONCENTRACION EN EQUILIBRIO.-

- Cuando dos fases de composiciones diferentes entran en contacto, ocurre una transformación de masa de los componentes de una fase a la otra.
- Después de un determinado periodo de tiempo de contacto, se logra un estado de equilibrio.
- La solubilidad es un factor que conjuntamente con la selectividad del solvente por determinados compuestos de la mezcla (solutos), representan el factor termodinámico del sistema.
- En general la solubilidad de un soluto está en función de la densidad del solvente y la solubilidad máxima de un soluto se logra cuando los parámetros de solubilidad del soluto y el solvente se igualan.⁷

2.3.5. TRANSFERENCIA DE MASA.-

Es importante definir el mecanismo de transferencia:

- Difusión.
- Convección natural.
- Convección forzada.

Se debe conocer las siguientes variables:

- Tasas de extracción.
- Condiciones de equilibrio.
- Datos de difusibilidad de la sustancia extraída.
- Coeficiente de transferencia de masa.

La transferencia de masa y la tasa de extracción pueden ser controladas por:

- Difusión dentro de la partícula.
- Transferencia de masa de la fase fluida.
- Por la reacción química (cuando ocurre).
- Por la tasa de adsorción-desorción de los componentes en la matriz sólida, conforme las condiciones de operación.⁷

2.3.6. DIOXIDO DE CARBONO COMO SOLVENTE.-

El dióxido de carbono es un gas inodoro, incoloro, ligeramente ácido y no inflamable. Es soluble en agua cuando la presión se mantiene constante, y está formado por una molécula triatómica lineal. Cada enlace C=O es polar porque el O es más electronegativo que el carbono, así que el O es el extremo parcialmente negativo del dipolo del enlace.

Todos los átomos de oxígeno están a la misma distancia del átomo de carbono, ambos tienen la misma distancia del átomo de carbono, ambos tienen la misma carga δ^- , y están dispuestos simétricamente a cada lado del carbono. Por tanto sus dipolos de enlace se cancelan y producen un momento dipolar molecular de cero. Aunque cada enlace C=O es polar, el CO₂ es una molécula no polar.⁷

Aunque scCO₂ es una alternativa “limpia” a los disolventes orgánicos para una serie de procesos de extracción, no es polar. A pesar de que el comportamiento de scCO₂ no es análogo al de un disolvente orgánico no polar típico, su capacidad para extraer compuestos polares es relativamente baja. A la disolución de compuestos polares puede ayudar la introducción de un co-disolvente sub-crítico (un modificador) en el scCO₂, las elecciones comunes son H₂O y MeOH. El uso de surfactantes que poseen una cabeza soluble en agua y una cola compatible con CO₂ permite dispersar “bolsas” de agua en el scCO₂. Como resultado, la química en fase acuosa puede llevarse a cabo en lo que en esencia es un ambiente no acuoso. Una ventaja de este sistema es que reactivos normalmente no solubles en agua, pero solubles en scCO₂ pueden ponerse en estrecho contacto con reactivos solubles en agua.²⁴

2.3.7. PROPIEDADES FÍSICAS DEL DIÓXIDO DE CARBONO.

- Fórmula química: CO₂
- Masa molecular: 44.0 g/mol
- Punto de sublimación: -79° C
- Punto de fusión: -56.6 a 5.2 atmósferas.
- Solubilidad en agua (ml /100 ml a 20° C): 88
- Presión de vapor (Kpa a 20° C): 5720
- Densidad relativa del gas (aire =1g/ml): 1.5 g/ml

CUADRO N° 8. PROPIEDADES DEL GAS CO₂:

CARACTERÍSTICAS	
Peso Molecular	<ul style="list-style-type: none"> • Peso Molecular : 44.01 g/mol
Fase Sólida	<ul style="list-style-type: none"> • Calor latente de fusión (1,013 bar, en el punto triple) : 196.104 kJ/kg • Densidad del sólido : 1562 kg/m³
Fase líquida	<ul style="list-style-type: none"> • Densidad del líquido (a -20 °C (o -4 °F) y 19.7 bar) : 1032 kg/m³ • Equivalente Líquido/Gas (1.013 bar y 15 °C (por kg de sólido)) : 845 vol/vol • Punto de ebullición (Sublimación) : -78.5 °C • Calor latente de vaporización (1.013 bar en el punto de ebullición) : 571.08 kJ/kg • Presión de vapor (a 20 °C o 68 °F) : 58.5 bar

Punto Crítico	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura Crítica : 31 °C • Presión Crítica : 73.825 bar • Densidad Crítica : 464 kg/m³
Punto triple	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura del punto triple : -56.6 °C • Presión del punto triple : 5.185 bar
Fase gaseosa	<ul style="list-style-type: none"> • Densidad del gas (1.013 bar en el punto de sublimación) : 2.814 kg/m³ • Densidad del Gas (1.013 bar y 15 °C (59 °F)) : 1.87 kg/m³ • Factor de Compresibilidad (Z) (1.013 bar y 15 °C (59 °F)) : 0.9942 • Gravedad específica (aire = 1) (1.013 bar y 21 °C (70 °F)) : 1.521 • Volumen Específico (1.013 bar y 21°C (70 °F)) : 0.547m³/kg • Capacidad calorífica a presión constante (Cp) (1.013 bar y 25 °C (77 °F)) : 0.037 kJ/(mol.K) • Capacidad calorífica a volumen constante (Cv) (1.013 bar y 25 °C (77 °F)) : 0.028 kJ/(mol.K) • Razón de calores específicos (Gama:Cp/Cv) (1.013 bar y 25 °C (77 °F)) : 1.293759 • Viscosidad (1.013 bar y 0 °C (32 °F)) : 0.0001372 Poise • Conductividad Térmica (1.013 bar y 0 °C (32 °F)) : 14.65 mW/(m.K)
Misceláneos	<ul style="list-style-type: none"> • Solubilidad en agua (1.013 bar y 0 °C (32 °F)) : 1.7163 vol/vol • Concentración en el aire : 0.03 vol %

Curso: de FSC Dr. Gonzalo Dávila del Carpio-UCSM.

CUADRO N° 9. RESUMEN: PROPIEDADES DEL BIOXIDO DE CARBONO

FLUIDO SUPERCRITICO	Pc bar	Tc ·C	Ppt bar	Dc Kg/m3
CO2 PURO	73.8	31.6	5.185	464

Es un extracto de las propiedades del CO₂ como solvente.

Pc = Presión crítica.

Tc = Temperatura crítica.

Ppt = Presión del punto triple.

Dc = Densidad crítica.

2.3. 8. PROPIEDADES TERMODINÁMICAS DEL DIÓXIDO DE CARBONO.

Para los sistemas conteniendo productos naturales y fluidos presurizados que presentan características específicas, la dificultad de modelación termodinámica aumenta significativamente.

- En condiciones normales, el dióxido de carbono es un gas. Se licua fácilmente por compresión y enfriamiento y puede convertirse en sólido si continúa comprimiéndose y enfriándose. El efecto de los cambios de temperatura y presión sobre el dióxido de carbono es el siguiente:
- Cuando aumenta la temperatura y la presión, aumenta la densidad de la fase de vapor y decrece la de la fase de líquido. A los 31 °C se igualan las densidades de vapor y líquido y desaparece la separación clara entre las dos fases. Por encima de esta temperatura, el dióxido de carbono a alta presión sólo existe en forma

gaseosa, con propiedades intermedias ente los estados normales de líquido y vapor.

- Cuando se reduce la temperatura a los -75 °C puede estar presente en los tres estado en equilibrio entre sí. Esta temperatura se la llama punto triple. Por debajo del punto triple sólo puede existir las fases de vapor y sólido. Por ello cuando el dióxido de carbono a presión atmosférica, una porción se transforma instantáneamente en vapor y el resto se enfría por evaporación y se convierte en nieve carbónica finamente dividida (*hielo seco*) a una temperatura cercana a -79 °C .¹⁸

2.3.9. BENEFICIOS DEL CO₂ COMO SOLVENTE EN FLUIDOS SUPERCRTICOS.-

- Bajo costo.
- Fácil obtención.
- Propiedades críticas bajas (73.8 MPa , 31.6 °C), disminuyendo los costos de bombeo, y evita degradaciones térmicas.
- No es contaminante del medio ambiente.
- Facilidad de separación después de la extracción.
- Se puede controlar propiedades tales como: difusibilidad, viscosidad y densidad del fluido mediante pequeños cambios de presión y temperatura.
- A pesar que el CO₂ se presenta como un solvente apolar, en su estado supercrítico gana cierta polaridad debido al aumento observado en densidad.
- Densidad es una propiedad directamente relacionada con el poder de solubilidad.^{17,24}

2.3.10. APLICACIÓN DE LA EFS EN EL PERÚ

1. Gracias a nuestra situación geográfica, contamos con una de las mayores mega biodiversidades en flora del planeta. De la información compilada, se conocen 300 especies de plantas con potencial de extracción de sus agentes activos, sin embargo, hay unas 3000 especies no catalogadas o desconocidas por la ciencia,

con igual o mayor potencial de industrialización. Esto nos convierte en una fuente de importancia mundial, de materia prima, para esta tecnología.

2. A diferencia de otros países, la aplicación de esta tecnología amerita una proyección múltiple de productos. El Perú no posee suficientes áreas cultivables para abastecer grandes volúmenes de un determinado producto. Razón por la que la EFS deberá aplicarse para exportar una variedad comercial de sub-productos. Ej.: El aceite esencial de orégano se podría obtener con esta tecnología en el Perú y así aprovechar las 6 especies existentes de esta planta, ya que cada una de ellas posee diferente composición en su esencia.

Esta tecnología no crearía puestos de trabajo directos, ya que se necesitan ingenieros especialistas para el control y operación de los equipos. Sin embargo, la generación de empleo se daría por el aumento en el número de áreas cultivadas para las plantas a industrializar y en la mano de obra necesaria para tratar la materia prima antes de su ingreso al proceso de EFS.

3. El uso de esta tecnología nos permitiría aumentar la generación de divisas y brindar un clúster peruano especializado en esta área.
4. Las posibilidades de aplicación más factibles serían:
 - a) Extracción de principios naturales (aromatizantes, esencias, colorantes, etc.);
 - b) Análisis selectivo de muestras sólidas y/o líquidas orgánicas;
 - c) Extracción de aceites vegetales y grasas.

Los procesos de extracción convencionales deberán compararse frecuentemente con los resultados obtenidos por esta tecnología en cualquier aplicación en que se trabaje.¹⁸

Además de usos industriales los FSC se pueden utilizar en cromatografía debido a que se produce un arrastre muy preciso y económico en comparación con los gases usados

convencionalmente, regulando su velocidad y selectividad con el cambio de presión de trabajo, esto permite obtener extractos con una pureza superior al 99.99%.

2.3.11. APLICACIONES ACTUALES DE FLUIDOS SUPERCRITICOS:

1. Esencias de especies y oleorresinas.
2. Aceites esenciales: aromas y fragancias.
3. Extracción o fraccionamiento de aceites comestibles.
4. Medicinas naturales.
5. Pesticidas naturales.
6. Colorantes y preservantes.
7. Tabaco libre de nicotina.
8. Café y té descafeinados.
9. Productos libres de colesterol.
10. Tratamiento de residuos orgánicos industriales.^{7,17}

2.3.12. VENTAJAS DE LA EFS

1. Extractos con mayor frescura y aroma natural.
2. Uso de temperaturas moderadas, lo cual permite evitar la degradación térmica del extracto.
3. No hay presencia del solvente en el extracto.
4. Mayor presencia de agentes activos.
5. Mayor rendimiento por corrida.
6. Extractos libres de contaminantes biológicos: Mayor tiempo de vida.
7. Proceso amigo del ambiente.
8. Flexibilidad en la preparación del solvente.
9. Flexibilidad de las variables del proceso.
10. Equipos automatizados.
11. Proceso estéril.
12. Bajo consumo de energía.¹⁷

2.3.13. LIMITACIONES DE LA FSC.

1. Al igual que los procesos de extracción convencional, es necesario disponer de datos de equilibrio para conocer cómo se distribuye el componente de interés en las distintas fases y determinar la composición del producto extraído para cualquier composición de la mezcla inicial. Este es el mayor problema de la EFS, ya que apenas se disponen de datos experimentales para realizar los cálculos imprescindibles.
2. Los altos costos de los equipos y su relación inversa con el volumen de extracto obtenido por corrida.
3. Desconocimiento del know-how necesario para la investigación y desarrollo de esta tecnología en los países subdesarrollados.
4. Los extractos obtenidos pueden poseer características diferentes a las conseguidas a través de otros procesos de extracción. Esto influye en la predilección del mercado por un determinado producto en vez del obtenido por la nueva tecnología.
5. Los equipos son móviles, pero necesitan una infraestructura segura, limpia y apropiada para las condiciones de operación. Los ambientes húmedos, muy fríos o congestionados no son recomendables. Por ello, instalaciones pre-diseñadas que cumplan normas internacionales de seguridad e higiene son necesarias.
6. Menor rendimiento que LPSE (soxhlet, agitación, percolación, centrifugación, ultrasonido).
7. Compuestos muy polares difícilmente serán extraídos con adición de un co-solvente o que dificulta con ahondar más estudios de equilibrio moderado un aumento de escala.
8. No existe un modelo matemático que pueda ser generalizado para todas las materias primas.¹⁷

2.3.14. EQUIPAMIENTO.-

El equipo de extracción de Fluidos Supercríticos: FSC Model SFT-Supercritical Fluid Techonologicos, INC, pabellón h-105 de la UCSM.

Fig. N° 8. ESQUEMA DE UN PROCESO DE EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.

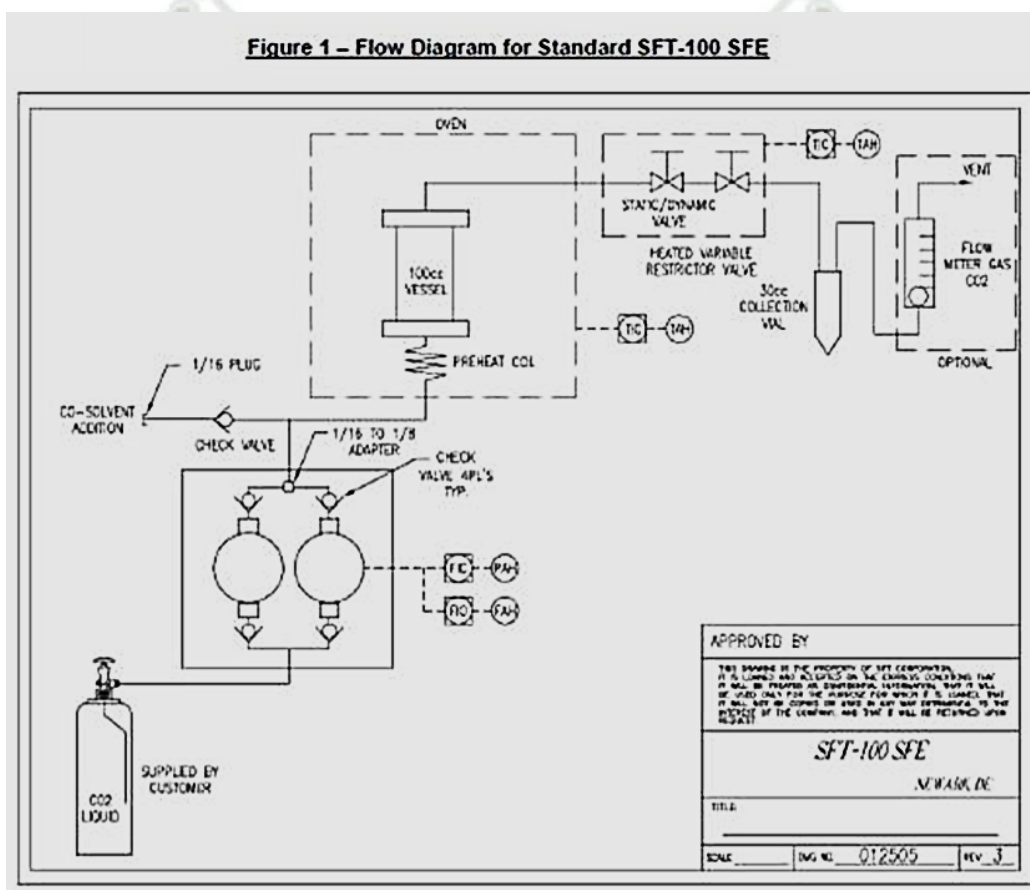
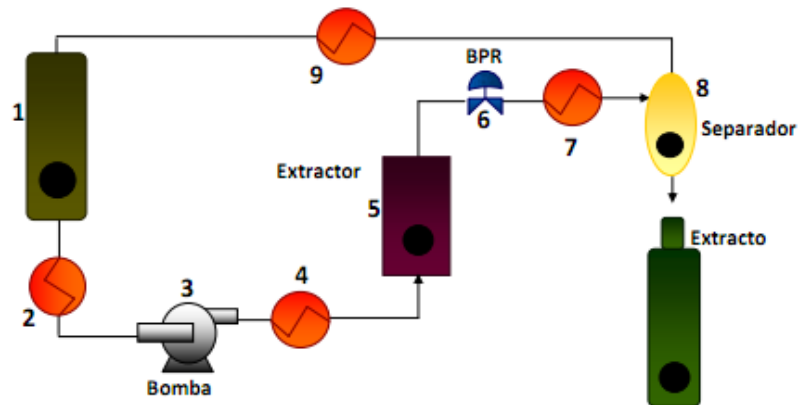


Fig. N° 8. ESQUEMA DE UN PROCESO DE EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.

Diagrama estándar para FSC: curso de FSC DEL Dr. Gonzalo Dávila UCSM

PARTES DEL EQUIPO DE EXTRACCION DE FSC:



1. **TANQUE DE ALMACENAMIENTO.** Se almacena el fluido a utilizar como solvente en condiciones de presión y temperatura normales.
2. **INTERCAMBIADOR DE CALOR.** El fluido se enfría hasta alcanzar una temperatura tal que pueda pasar sin problemas por la bomba, para eso se requiere el solvente en estado líquido.
3. **BOMBA.** Se comprime el fluido hasta una presión por encima de la presión crítica.
4. **INTERCAMBIADOR DE CALOR.** Se calienta el fluido comprimido hasta una temperatura por encima de la crítica, alcanzándose las condiciones necesarias para la extracción.
5. **CÁMARA EXTRACTORA.** El fluido supercrítico pasa a través de la materia prima disolviendo y arrastrando los componentes de interés.
6. **VÁLVULA.** El fluido disminuye su presión por debajo de su presión crítica.
7. **INTERCAMBIADOR DE CALOR.** El fluido expandido se enfría por debajo de su temperatura crítica, de manera tal que pierde sus propiedades como solvente y los componentes extraídos pueden separarse fácilmente.

8. SEPARADOR. Se extrae el gas por la parte superior, y el extracto por la parte inferior.¹⁸



**FIGURA N° 9. EQUIPO DE EXTRACCIÓN DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS
DE LA UCSM.**

2.4. TECNICAS CROMATOGRÁFICAS

2.4.1. INTRODUCCION

La mayoría de los métodos de análisis son en los casos más favorables selectivos pero no específicos. Por ello cuando se trata de muestras complejas la separación del analito de las posibles interferencias es una etapa esencial.

Aun mejor sería la posibilidad de determinar varios analitos después de una separación previa.

Uno de los mejores métodos para conseguir esa separación, y posiblemente el más utilizado es la cromatografía. Este conjunto de técnicas permite la separación de compuestos estrechamente seleccionados en mezclas complejas. La cromatografía se ha convertido en un método analítico de primer orden para separar, identificar y cuantificar los compuestos presentes en muestras líquidas y gaseosas (para muestras sólidas se requiere una etapa de disolución o extracción).³⁰

En cromatografía, los solutos se separan en base a la distinta velocidad de desplazamiento cuando son arrastradas por una fase móvil a través de lecho cromatográfico que contiene a una fase estacionaria (sólido o líquido).

La muestra se disuelve en la fase móvil y se hace pasar a través de una fase estacionaria (inmiscible con la móvil) y se mantiene fija en una columna o sobre una superficie plana. Las dos fases se eligen de tal modo que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre las dos fases.²⁰

Aquellos que son fácilmente retenidos por la fase estacionaria se muestran lentamente con el flujo de fase móvil, mientras que los que se retiene débilmente avanzan con más rapidez.

La fase estacionaria puede ser un material sólido, poroso, de superficie activa a manera de pequeñas partículas, o una película delgada de líquido que cubre un soporte sólido o una columna. La fase móvil es gaseosa o líquida. Por esta razón, si

la fase móvil es gaseosa se le llama cromatografía gaseosa. Mientras que en la cromatografía líquida, la fase móvil es siempre líquida. De este modo, al pasar la fase móvil sobre una fase estacionaria, una mezcla de sustancias puede ser separada en sus componentes.^{20,21}

2.4.2. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PERFORMANCE (HPLC)

Las siglas HPLC hacen referencia a la cromatografía líquida de alta performance o “high performance liquid chromatography”.

Se suele denominar HPLC, y es una forma de cromatografía en columna que se utiliza a menudo en bioquímica y química analítica. La muestra problema es forzada a pasar a través de una columna (fase estacionaria) por un líquido (fase móvil) a elevada presión, lo que disminuye el tiempo que los componentes separados permanecen en la fase estacionaria, y por lo tanto, el tiempo de difusión dentro la columna. Este proceso de difusión dentro la columna comporta la aparición de picos anchos y pérdida de resolución. El hecho de estar menos tiempo en la columna se traduce en picos más estrechos en el cromatograma resultante así como una mayor resolución y sensibilidad.³⁰

Otra manera de disminuir el tiempo que la muestra está dentro de la columna es utilizar un gradiente de disolventes, que consiste en cambiar la composición de la fase móvil a fin de acelerar la salida de la muestra del interior de la columna. Se pueden considerar dos tipos:

Fase normal

Se utiliza una fase estacionaria polar y una fase móvil apolar, y se usa principalmente cuando la muestra a analizar es de naturaleza apolar. Fue el primer tipo de HPLC, pero hoy en día ha sido muy desplazado por la fase reversa.

Fase reversa

Se desarrolló debido al elevado número de biomoléculas polares. La fase estacionaria es apolar y la fase móvil polar. Una de las fases estacionarias más empleadas es sílice tratada con RMe_2SiCl , donde R es una cadena alquílica como $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$ o C_8H_{17} . En este caso, para una determinada sustancia, el tiempo de retención aumenta con la polaridad de la fase móvil.³⁰

El equipo de HPLC está compuesto de las siguientes partes:

- **Reservorio de solvente:** El cual alimenta al sistema con la fase móvil.
- **Bomba:** Fuerza el, pasaje de la muestra y de la fase móvil a través de la columna, impulsando la fase móvil proveniente del reservorio de solvente hacia el inyector y desde allí hasta la columna.
- **Inyector:** Permite la introducción de la muestra, sin interrumpir el flujo del solvente a través del sistema.
- **Columna analítica:** Es el lugar donde se produce la separación, es el corazón del sistema cromatográfico. Las columnas analíticas eficientes deben tener una fase estacionaria homogénea y de tamaño de partícula pequeña.
- **Detector:** Sistema de monitoreo de la solución que emerge de la solución, debe ser capaz de reconocer una sustancia cuando eluyen de la columna, convertir esto en una señal eléctrica y transmitirla al display, donde es mostrada como una desviación de la línea base.
- **Sistema de registro:** El registro de los datos provenientes del detector y su eventual manipulación se obtienen a partir de un sistema de toma y procesamiento de datos, constituido por un registrador gráfico, integrador y computadora.¹⁸

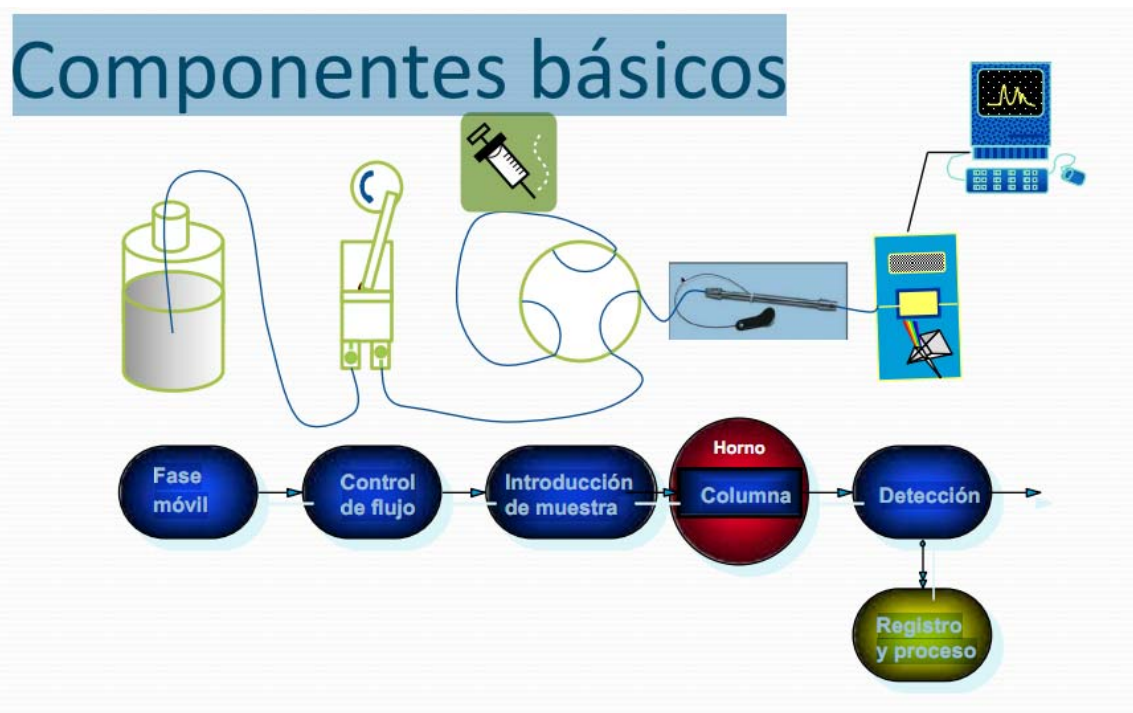


FIG. N° 10. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTO PERFORMANCE

<http://depa.fquim.unam.mx/amyd/docs.php?curso=206>

CAPÍTULO II

MATERIALES Y METODOS

2.1. UNIDADES DE ESTUDIO.

En el presente trabajo de investigación como es la extracción de aceite a partir de la semillas de sacha inchi, se usaron semillas en condiciones saludables, seleccionadas, secas, sin rancidez; provenientes de la zona de San Francisco-Ayacucho (VRAE) y la cosecha de este año en febrero para ser más exacto.

2.1.2 AMBITO GEOGRAFICO Y TEMPORABILIDAD.

Este trabajo de investigación se desarrolló con el equipo de extracción de fluidos supercríticos que está instalado en el laboratorio H-104. La cromatografía líquida de alto desempeño se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad en el laboratorio H-205, de las instalaciones de la UCSM de la ciudad de Arequipa – Perú, durante los meses de marzo, abril y mayo del 2012.

2.2. MATERIALES

2.2.1 MATERIALES DE LABORATORIO

- Balones de 100, 250 ml.
- Vasos de precipitados de 20, 100, 250 ml.
- Probetas de 100 ml.
- Pipetas volumétricas de 0.5, 1.0, 2.0 y 5 ml.
- Micropipetas graduadas de 0.5, 1 ml.
- Mortero de porcelana.
- Micropipetas automáticas 25, 250 ul.
- Baguetas.
- Espátula
- Tubos de vidrio con rosca (receptor del aceite).

- Buretas graduadas de 10, 25 ml.
- Papel filtro.
- Algodón.
- Filtros Anotop (Filtro Millipore Millex-PUDF 0.45um).
- Jeringas de 5 ml.
- Balanzas.
- Filtro de membrana Nylon de 0.45um, 0.47 nm.
- Frascos ámbar con tapa rosca.
- Viales para la muestra.
- Columna analítica Lichrocart 250-4,6 Purospher Sart (5nm) Merck Peruana S.A.

2.2.2. REACTIVOS:

- Acetonitrilo 85% grado gradient HPLC marca Lichrosolv (Merck).
- Metanol 5% marca Lichrosolv HPLC, reagent Ph. Eur. (Merck).
- Ácido Acético 1% p.a. al 99% de pureza, AC.S. ISO reag Ph. Eur (Merck).
- Agua Ultra pura, purificada en un sistema Easy Pure II (Barnstead).
- Estándares primarios: Química Service S.R.L.con las siguientes características: estándar primario de ácido linolénico, marca Sigma > 99% GC de pureza, L 2376; ácido linoleico, marca Sigma > 99% de pureza, L 1376 y ácido oleico, marca SIAL > 99% de pureza, O 1008.

2.3. EQUIPOS

- Balanza Analítica (Ohaus): Modelo: 827 ph LB.
- Potenciómetro, modelo ORION 525-A, CODIGO 030050302. RANGO 0-14.
- Baño de Ultrasonido JP Selecta Cód. 030050760, Mod. 3000683, Frec. 40 KHz.
- Equipo de Extracción de Fluidos Supercríticos : FSC Model SFT-Supercritical Fluid Technologicos, INC, compuesto por:
 - EXTRACTOR
 - BOMBA.
 - HORNO.
 - CONTENEDOR.
 - BALON DE DIOXIDO DE CARBONO.
- Cromatografo Líquido de Alta Performance-HPLC (Merck Elite Lachrom VWR Hitachi con los módulos:
 - ORGANIZADOR (Modelo: L-2000; Serie 17 E016-034).
 - BOMBA (Modelo: L-2130; Serie 17E01-036).
 - DETECTOR ARREGLO DIODOS (Modelo: L-2450; Serie 1726-011).
 - SOFTWARE: EZchrom Elite.

Las condiciones y parámetros cromatográficos fueron:

- Equipo: Cromatografo Líquido de Alta Performance marca Merck Elite Lachrom VWR Hitachi, con una bomba cuaternaria provista de un inyector loop.
- Columna: Lichrocart 250-4, 6 Purospher Star RP-18 (5nm).
- Fase móvil: Acetonitrilo. Metanol, solución acuosa de ácido acético al 1 %.
- Temperatura ambiente.
- Velocidad de flujo: 1.5 ml.
- Volumen de inyección. 20 ul.
- Detección: Detector DAD a una longitud de onda de 205 nm.

2.4. OBTENCION DE ACEITE DE SACHA INCHI.-

2.4.1. FUNDAMENTO DEL METODO

El proceso de extracción de aceite de semillas de Sacha Inchi está basado en la capacidad de extracción del equipo de Extracción de Fluidos Supercríticos (FSC). Model SFT-100 Super Critical Technologies, INC.

Los cuatro pasos primarios involucrados son:

1. **Etapa de presurización.-** Con el fin de alcanzar la presión necesaria del solvente para la extracción que se requiere ya sea por medio de un compresor o de una bomba.
2. **Etapa de ajuste de la temperatura.-** Reducción o adición de energía térmica, ya sea con un intercambiador de calor, baños térmicos o resistencias eléctricas para llevar el fluido comprimido a la temperatura de extracción requerida.
3. **Etapa de extracción.-** Es llevado a cabo en un recipiente extractor de alta presión, el cual contiene la matriz que será procesada. En esta etapa el fluido entra en contacto con la matriz y arrastra el soluto deseado.
4. **Etapa de separación.-** Es mediante la cual se separa la sustancia extraída del solvente. Se calienta para alcanzar una temperatura por encima del punto crítico (depende del compuesto por extraer). Al tener el solvente como un fluido supercrítico este se pone en contacto con el soluto o matriz que posee el compuesto que se requiere extraer, una vez que se ha efectuado la extracción se procede a separar el compuesto de interés, del solvente.

La separación del compuesto extraído del solvente se puede lograr mediante cambios de temperatura y presión, generando de esta manera que el compuesto extraído pierda su solubilidad en el solvente y se separe.

Es muy importante controlar los parámetros y el flujo del solvente (CO₂), estos son los que determinaran cual es el compuesto que se va extraer, al modificar estos parámetros, se modifica la selectividad del solvente.

LAS VARIABLES A DETERMINAR EN LA EXTRACCIÓN SON:

VARIABLES DEPENDIENTES DE LAS SEMILLAS:

- **Tipo de cultivo de semilla de sachá inchi:** artesanal.
- **Variedad de la semilla:** ecotipo de la zona.
- **Zona de cultivo:** San Francisco-Ayacucho (VRAE).
- **Época de la siembra y cosecha:** de lluvia en terreno arcilloso en agosto del 2011 y cosecha en febrero del 2012.

VARIABLES INDEPENDIENTES DEL MÉTODO:

- **Presión:** Conforme avanza la presión, es más elevada la densidad del dióxido de carbono (disminuyendo la distancia intermolecular y aumentando las interacciones específicas entre soluto y solvente), hasta alcanzar el punto en que la solubilidad de la muestra aumenta.
- **Temperatura:** Con el aumento de la temperatura ocurre una elevación de la presión de vapor del soluto. El efecto de la temperatura en la solubilidad de un soluto en un fluido presurizado depende básicamente de la densidad del solvente y la presión de vapor del soluto.
- **Flujo de dióxido de carbono:** El dióxido de carbono se comporta como un gas en el aire, como sólido al ser congelado y por encima de la temperatura y presión crítica se comporta como un fluido supercrítico y puede adoptar propiedades como gas y como líquido. Se estandariza las condiciones óptimas de flujo (8ml/seg).
- **Tiempo de saturación:** La muestra a extraer 30 gr estará en contacto con el flujo (15 minutos), en el cual se tiene el estado de equilibrio estático y dinámico.

2.4.2. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL DE LA INVESTIGACION**2.4.3. ESTUDIOS PREVIOS:****2.4.3.1. SELECCIÓN DE LA MUESTRA**

La siembra de la semilla en terreno arcilloso en época de lluvia, para garantizar una buena germinación es de 1 – 1.5 Kg/Ha y el rendimiento de 0.7 – 2 T/Ha. La siembra en el mes de agosto-2011.

La cosecha se ejecutó después de 6.5 meses (febrero 2012) de sembrado en la zona del VRAE: San Francisco-Ayacucho-Perú, seleccionando el ecotipo de la zona, seco para mayor rendimiento, esta variedad de sachá inchi secado de manera natural y la trilla consiste en el descascarado de los frutos, alrededor de 52-55% es semilla y 45-48% es cascara, almacenada en sacos de yute (50-60 Kg) en ambiente seco.



FIGURA N° 11. UBICACIÓN DE LA ZONA DE HUANTA-AYACUCHO.

Mapa político del VRAE (zona de cultivo de la muestra).

CUADRO N° 10. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA: SEMILLAS DE SACHA INCHI.

MUESTRA	1	2	3	4	5
C/CASCARA	0.844	0.888	0.997	0.651	1.293
S/CASCARA	0.487	0.594	0.600	0.401	0.836
% CASCARA	0.357	0.324	0.397	0.250	0.457
LARGO (mm)	21.00	21.00	20.00	21.00	18.00
ANCHO (mm)	17.00	16.00	15.00	16.00	15.00
ALTURA (mm)	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4

ETAPAS EN LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE SACHA INCHI:

1. **DESCASCARADO.-** Con ayuda de un pequeño mango al golpear ligeramente las semillas se observa los dos cotiledones blancos, se va pelando la cascara de color marrón oscuro aproximadamente 42 semillas.
2. **SELECCIÓN.-** Una vez descascarada se va seleccionando las semillas que estén en condiciones óptimas: sin manchas oscuras, de color claro, limpias, que no estén muy secas ni arrugadas.
3. **TRITURADO.-** En un mortero de porcelana, se va triturando las semillas escogidas, poco a poco hasta tener la molienda compacta, recoger en una lámina de aluminio (previamente tarada en la balanza) para el pesado.
4. **PESADO.-** Para la extracción de aceite se pesó 30gr de muestra molida que estará en contacto con el disolvente (CO₂) en la cámara de extracción por 15 y 30 minutos según sea el requerimiento del ensayo, este lapso es el tiempo de saturación en el cual se tiene el equilibrio estático y dinámico.

No fue necesario el secado en la estufa por cuanto la semilla de Sacha Inchi está seca, en buenas condiciones de humedad, sin alteración enzimática y el medio ambiente (18°C) apropiado del laboratorio H-105 de la UCSM.

METODOLOGIA.-

OPERACIONES BASICAS PARA LA EXTRACCION DEL ACEITE DE SACHA INCHI CON EL EQUIPO DE FLUIDOS SUPERCRITICOS

1. Asegurar que los botones en la parte de atrás del extractor y de la bomba estén en OFF así como el botón que está debajo de la pantalla de visualización en la parte delantera de la bomba este en OFF. Las válvulas (manijas de color ROJO y NEGRO) deben estar cerradas, se encuentran en parte delantera del extractor, se cierran girándolas hacia

la derecha del manipulador. Las palancas de la temperatura del horno y de restricción deben estar también en OFF se encuentran en la parte delantera del extractor.

2. Enchufar el extractor y la bomba, luego presionar el botón en ON en la parte posterior del extractor y de la bomba. Presionar en ON el botón debajo del visualizador en la parte delantera de la bomba. Finalmente mover hacia arriba la palanca de la temperatura de restricción para que cargue hacia la temperatura programada que debe ser 80·C.
3. Una vez encendido el equipo, debe permanecer así durante 30 minutos, para que la bomba pueda enfriar el tubo de entrada de CO₂ y los cabezales de la bomba, también previene la vaporización del CO₂ líquido. Mientras ocurren estos 30 minutos programar los parámetros de la investigación: temperatura del horno, presión y flujo; y también se puede ir colocando la muestra en el contenedor.
4. Programar la temperatura del horno, manteniendo presionado el botón izquierdo y presionando al mismo tiempo el botón con la flecha hacia arriba o el botón con la flecha hacia abajo para aumentar o disminuir, respectivamente, la temperatura según los parámetros de la investigación. Estos botones se encuentran en la pantalla que corresponde a la visualización de la temperatura del horno en la parte delantera del extractor.
5. Programar la presión, en la parte delantera de la bomba en el visualizador, presionar el botón MODE hasta que la luz naranja se desplace a la segunda ubicación en la que la luz permanece constante al costado de psi. Luego presionar el botón con la flecha hacia arriba o el botón con la flecha hacia abajo para que aumente o disminuya, respectivamente, la presión programada.

6. Procedimiento como colocar la muestra dentro del contenedor:
 - a) El contenedor de alta presión debe estar a una presión ambiente antes de ser abierto. Para asegurarse, presionar el MODE. La presión debe indicar cero (0) psi.
 - b) Par acceder al contenedor, elevar la cubierta del horno en el extractor y retirar los tornillos de forma manual que están en el lateral derecho del gabinete del horno para retirar la tapa cuadrada. Cuidadosamente desconectar las líneas de entrada y salida del gas del contenedor, desconectando primero la “tapa” superior por completo. Luego mover cuidadosamente esta “tapa” superior hacia un lado del contenedor para desenroscar la “tapa” inferior por completo. Retirar cuidadosamente el contenedor del gabinete por la entrada lateral derecha del horno para limpiarlo.
 - c) Ingresar el contenedor por la parte lateral derecha del horno y cuidadosamente enroscar la “tapa” inferior de forma manual, hasta cerrar esa entrada por completo. Luego colocar un trozo pequeño de algodón por el extremo abierto del contenedor, y empujarlo hacia abajo. Colocar la muestra presionando poco a poco para que la muestra sea compacta, para una buena extracción. Colocar otro pedazo de algodón en la parte superior del contenedor. Enroscar cuidadosamente la “tapa” superior de manera manual.
 - d) Cerrar la cubierta del horno. Cerrar la tapa lateral del horno.
7. Transcurridos los 30 minutos iniciales y después de haber hecho todas las operaciones de programación de parámetros y colocar la muestra de sachá inchi, dirigirse hacia el visualizador de la bomba. Presionar el botón MODE y seleccionar la presión real en psi (luz intermitente naranja) que debe indicar cero (0) psi.

8. Abrir la válvula del tanque de CO₂ para que ingrese a la bomba. La presión real en psi se incrementara poco a poco.
9. Después de haber alcanzado una presión real mayor a 740 psi, presionar el botón RUN del visualizador de la bomba, se encenderá una luz verde en la parte superior del mismo botón. La presión real se incrementara poco a poco hasta la presión programada inicialmente.
10. Una vez alcanzada la presión programada, contar el tiempo de saturación de la muestra con CO₂ que fue de 15 minutos para todas las extracciones.
11. Colocar el recipiente receptor del aceite en la parte frontal del extractor. En esta zona se encuentra un tubo delgado que proviene del interior del horno, que expulsara el aceite de sachá inchi y CO₂ gaseoso residual. Conectar el recipiente receptor con este tubo delgado y con el tubo en 90 grados que viene del flujo metro externo.
12. Finalizado el tiempo de saturación, comienza la extracción. Cuidadosamente abrir la válvula STATIC/DINAMIC (MANIJA NEGRA) girándola por completo hacia la izquierda del manipulador. Luego con mayor cuidado aun, abrir lentamente la válvula RESTRICTOR hacia la izquierda del manipulador (MANIJA ROJA) para que pueda salir el aceite y el CO₂ residual: NO abrir por completo porque ocasionaría accidentes.
13. Presionar el botón MODE para tomar nota del caudal real y de la presión real al principio fue cada media hora, pero en las últimas tres extracciones fue cada hora. También se tomara nota de la temperatura real.
14. Pesar el receptor con el aceite de sachá inchi, tomar nota para los cálculos respectivos.
15. Nuevamente colocar el recipiente receptor del aceite en la parte frontal del extractor; repetir los pasos 14 y 15 hasta agotar la extracción durante 4 horas.

16. Finalizado el tiempo de extracción, cerrar primero la válvula del tanque de CO₂, luego presionar RUN, se apagará la luz verde.
17. Retirar el recipiente receptor con el aceite obtenido. Colocar otro recipiente receptor.
18. Cuidadosamente abrir lentamente la válvula RESTRUCTOR (MANIJA ROJA) girándola hacia la izquierda del manipulador. Esto sirve para eliminar residuos y para descargar el CO₂ residual del contenedor, poco a poco disminuirá la presión real del sistema.
19. Debe llegar a cero (0) psi la presión real y después de 2 minutos de estar así, presionar a OFF el botón que está debajo del visualizador en la bomba.
20. Mover las palancas a OFF de la temperatura del horno y restricción.
21. Descargar la muestra del contenedor de la misma manera que se hizo para limpiar el contenedor.
22. Limpiar el contenedor antes de colocarlo de nuevo al horno.
23. Cerrar las válvulas del extractor.
24. Presionar en OFF el botón en la parte posterior del extractor y de la bomba.
25. Desenchufar el extractor y la bomba.

Los parámetros como: la temperatura, la presión, tiempo de saturación y flujo de CO₂, necesarios a investigar se programó para la extracción según siguiente cuadro:

CUADRO N° 11 PARAMETROS UTILIZADOS EN LA EXTRACCION POR FLUIDOS SUPERCRITICOS:

MUESTRA (gr)	TEMPERATURA (°C)	PRESION (BAR)	TIEMPO DE SATURACION (MINUTOS)	FLUJO CO ₂ (ml/seg)	TIEMPO DE EXTRACCION (HORAS)
30	40	350-400-450	15 - 30	4 - 8	4
30	50	350-400-450	15 - 30	4 - 8	4
30	60	350-400-450	15 - 30	4 - 8	4

2.5. ANALISIS DE ACIDOS GRASOS POR HPLC.-

La metodología a seguir fue estandarizada por el Dr. Gonzalo Dávila del Carpio en el marco del desarrollo del proyecto: “INDUSTRIALIZACION DEL ACEITE DE ARROZ A TRAVEZ DE LA TECNOLOGÍA DE FSC EN EL VALLE DE MAJES” financiado por el FINCYT.

2.5. 1. CURVA DE CALIBRACION.-

Se pesaron cantidades determinadas del estándar de ácido linolénico, de ácido linoleico y ácido oleico, los cuales fueron disueltos en una mezcla de solventes compuesta por 85% de Acetonitrilo, 5% de Metanol y 10% de una solución de Ácido Acético al 1% en agua ultra pura; se llevaron a fioles de 10ml, se enrasaron con la mezcla de solventes, y en función de su grado de pureza se obtuvieron soluciones stock conteniendo diferentes concentraciones de los ácidos en mención.

Luego se procedió a filtrar los estándares a través de filtros Anotop y se colocaron en viales listos para la inyección en el equipo de HPLC. Se preparó una curva de calibración a partir de las soluciones estándar, a las concentraciones señaladas, con objeto de realizar el análisis, el que se hizo por duplicado, y así poder validar el método analítico.

2.5.2. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.-

Las muestras del aceite de Sacha Inchi extraído por Fluidos Supercríticos a diferentes condiciones fueron pesadas en una cantidad aproximada a 50mg y se colocaron en fioles de 10 ml, procediéndose a extraer los ácidos grasos con la mezcla de acetonitrilo, metanol y ácido acético al 1%, utilizando un sonicador durante el periodo de 20 minutos; se procedió a filtrar en dos ocasiones a través de los filtros Anotop, colocándose luego en los viales, teniendo lista la muestra para inyectar en el equipo de HPLC.

CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ANALISIS PROXIMAL DE SEMILLAS DE SACHA INCHI.

Este análisis es muy importante para seguir con la extracción de aceite de Sacha Inchi porque nos permitirá tener como referencia el porcentaje de grasa que tiene la muestra a extraer.

El análisis proximal se realizó en los Laboratorios de Control de Calidad H-205 de la UCSM

INFORME DE ENSAYO N° DE INFORME: ANA02D12.000510B

Descripción	: Sacha Inchi (Plukenetia Voluvilis Linneo)
Fecha de Recepción	: 02/04/2012
Fecha de Emisión de Reporte	: 19/04/2012

I. ANALISIS FISICOQUIMICO

DETERMINACION	CON CASCARA	SIN CASCARA
ALIMENTOS DETERMINACION DE PROTEINAS (%) FOODS DETERMINATION OF PROTEINS NMX-F-068-S1980. Factor 6.25	20.2	32.1
DETERMINACION DE GRASA (%) Alimentos cocidos de reconstitución instantánea. determinación de grasa. método gravimétrico NTP 209.263.2001	10.59	34.4
DETERMINACION DE HUMEDAD (%) Método Rápido de la Termo balanzaNMZ-F-428 1982	7.86	5.9
DETERMINACION DE FIBRA CRUDA (%), alimentos cocidos de reconstitución instantánea adaptado de cereales y menestras determinación de fibra cruda, NTP 205-003:1980	32.07	4.79
DETERMINACION DE CENIZAS (%) Alimentos cocidos de reconstitución instantánea. Determinación de cenizas. método gravimétrico ntp 209.265:2001	2	2.5

3.2. EXTRACCION DEL ACEITE.-

Se obtuvo aceite crudo por extracción con FSC, de las semillas de Sacha Inchi, muy característico en su aspecto, de buena calidad...

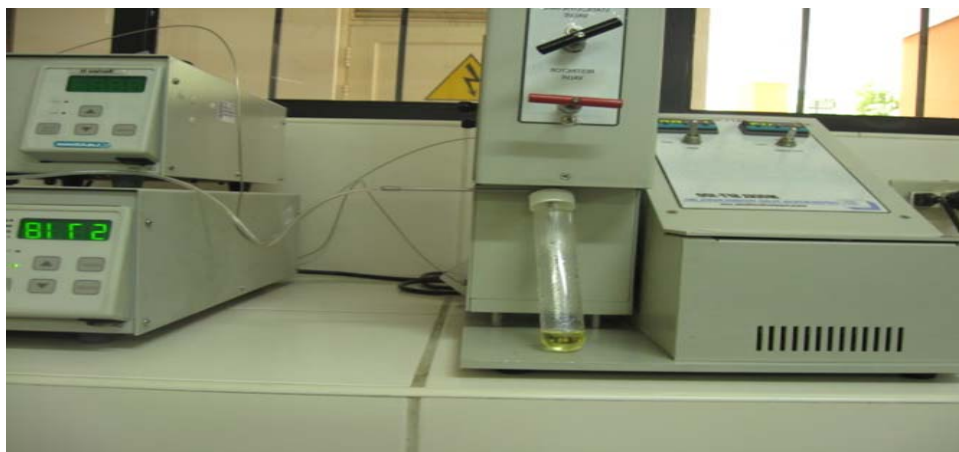


FIG. N° 13. ACEITE DE SACHA INCHI EXTRAÍDO POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS: UCSM PABELLÓN H-105

3.3. CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS:

COLOR: Amarillo claro, limpio, translucido sin ninguna partícula ni resto de solvente o agua.

OLOR: Ligeramente a frijol y característico de la variedad.

SABOR: Agradable característico a las almendras frescas, propio de la variedad.

Se recolecto y guardo en frascos color ámbar y llevados a refrigeración a -4°C .

Transcurridos unos días (60 días) antes de evaluación analítica, el aceite de Sacha Inchi obtenido por FSC, mantenía sus características propias, no hubo alteración enzimática (ranciado), no se enturbió, no cambio de coloración, ni hubo residuos, evidenciando lo óptimo de esta técnica de extracción en este tipo de trabajos, sobre todo para la investigación de otras muestras vegetales o hídricas, etc.

3.4. RENDIMIENTO DE LA EXTRACCION DE ACEITE DE SACHA INCHI:

Considerando los parámetros: presión temperatura, flujo y tiempo de saturación, se realizaron 12 ensayos combinando estos parámetros para determinar las condiciones óptimas de extracción evaluando el porcentaje de rendimiento del aceite obtenido por FSC. La extracción se inició el 27-03-2012 al 17-04-2012.

FSCFSC. La extracción empezó el 27-03-2012 al 17-04-2012.

FECHA	MUESTRA (gr)	TEMPERATURA (°C)	PRESION (bar)	EXTRACCION (horas)	FLUJO (ml/seg)	SATURACION (min utos)	ACEITTE (%)
27-03	30	40	350	4	4	15	18.47
28-03	30	40	400	4	4	15	16.02
29-03	30	40	450	4	4	15	20.46
30-03	30	50	350	4	4	15	17.61
02-04	30	50	400	4	4	15	18.30
04-04	30	50	450	4	4	15	20.97
09-04	30	60	350	4	4	15	17.34
10-04	30	60	400	4	4	15	20.36
11-04	30	60	450	4	4	15	22.82
13-04	30	50	350	4	8	15	31.19
16-04	30	50	400	4	8	15	34.74
17-04	30	50	450	4	8	15	39.29
18-04	30	60	450	4	8	15	33.78
19-04	30	50	450	4	8	20	36.60

CUADRO N° 12. RENDIMIENTO DE LA EXTRACCION DE ACEITE DE SACHA INCHI POR FCS

Las condiciones óptimas de extracción nos permitió obtener un porcentaje de contenido graso de 39.29% (sombreado rojo) que comparando con el análisis proximal (34.4 % de grasa) se tomó como el más óptimo de la extracción.

Los parámetros óptimos para la extracción de aceite de Sacha Inchi por FSC son:

CUADRO N° 13. PARAMETROS OPTIMOS PARA EXTARCCION DE ACEITE DE SACHA INCHI POR FLUIDOS SUPERCRITICOS:

MUESTRA (gr)	TEMPERATURA · C	PRESSION bar	TIEMPO DE EXTRACCION (horas)	FLUJO (ml/seg)	SATURACION (minutos)	ACEITE (%)
30	50	450	4	8	15	40.23

Para comprobar los parámetros óptimos se repitió tres veces más la extracción obteniendo porcentajes de: 39.09, 39.06 y 40.23% respectivamente, cercanos al 39.29 % de la extracción inicial.

CUADRO N° 13. RENDIMIENTO DE LA EXTRACCION DE ACEITE DE SACHA INCHI POR FSC CON LOS PARAMETROS OPTIMOS...

FECHA	MUESTRA (gr)	T (°C)	P (bar)	EXTRACCION (horas)	FLUJO ml/seg	SATUR. Minutos	ACEITE (%)
02-05	30	50	450	4	8	15	39.09
03-05	30	50	450	4	8	15	40.23
04-05	30	50	450	4	8	15	39.06

PORCENTAJE DE ACEITE:

$$X = 39.42$$

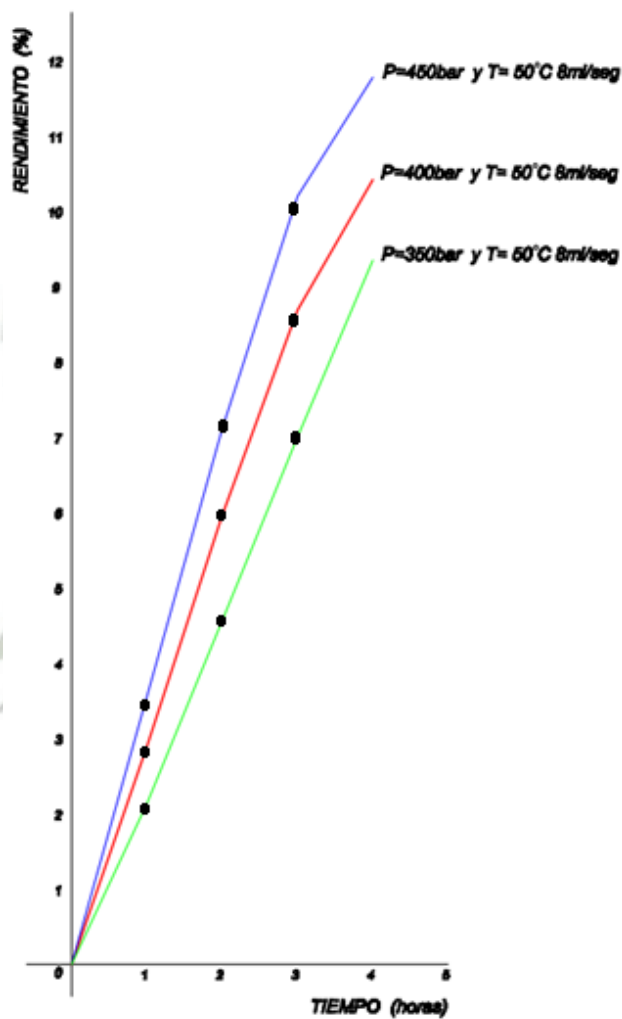
$$\sigma_{\bar{x}} = 0.5512$$

$$C.V. = 1.40\%$$

Donde X es la desviación estándar, $\sigma_{\bar{x}}$ es el error estándar y C.V. es el coeficiente de variabilidad.

3.5.EVALUACION DE LOS PARAMETROS DE EXTRACCION CON DIFERENTES GRAFICOS.

DETERMINACION DE LA TEMPERATURA ÓPTIMA A DIFERENTES PRESIONES



4.

5.

GRAFICO N° 1. Rendimiento del aceite extraído en función del tiempo a diferentes presiones a una misma temperatura.

El tiempo de extracción de 4 horas frente al rendimiento en gr., a la temperatura de 50°C, flujo de 8ml/seg y 15 minutos de saturación, la presión de 350 bar con rendimiento de 31.19%. (línea verde); presión de 400 bar con rendimiento de 34.74% (línea roja) y presión de 450 bar con rendimiento de 39.29% que es el porcentaje más alto de la extracción.

.DETERMINACION DE LA PRESION ÓPTIMA A DIFERENTES TEMPERATURAS.

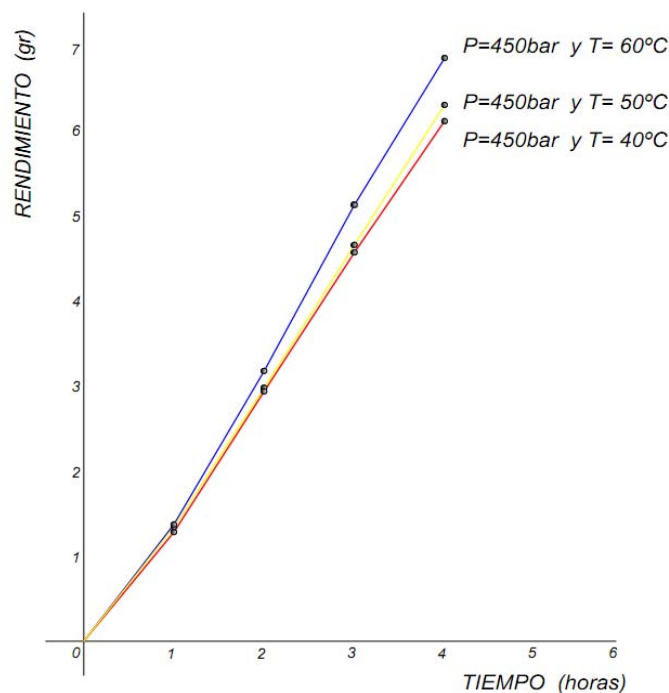


GRAFICO N° 2: Tiempo de extracción frente al rendimiento, a diferentes temperaturas.

El tiempo de extracción de 4 horas frente al rendimiento en gr. A presión de 450 bar temperaturas de 40°C, rendimiento de 20.46% (línea roja), 50°C, rendimiento de 20.97% (línea amarilla) y 60°C, rendimiento de 22.82% (línea azul), flujo de 4ml/seg con 15 minutos de saturación.

DETERMINACION DEL FLUJO ÓPTIMO

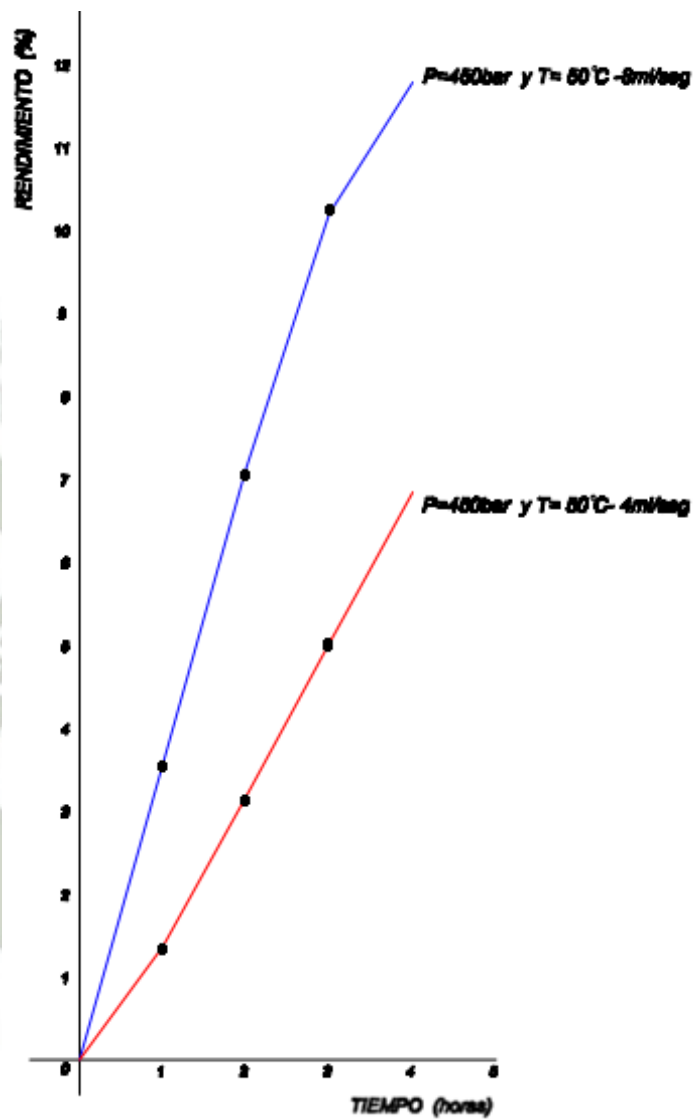


GRAFICO N° 3. Relación entre el rendimiento frente al tiempo de extracción, a diferente flujo a la misma presión y temperatura.

Se refiere al efecto del flujo de CO₂ en la extracción por FSC, a presión de 450 bar y 50°C y 4ml/seg de flujo, línea roja (20.97%), frente a 8ml/seg de flujo, presión de 450 bar y 50°C de temperatura, línea celeste (39.29%) de rendimiento respectivamente.

DETERMINACIÓN DEL PERIODO DE EXTRACCIÓN DEL MEJOR RENDIMIENTO.

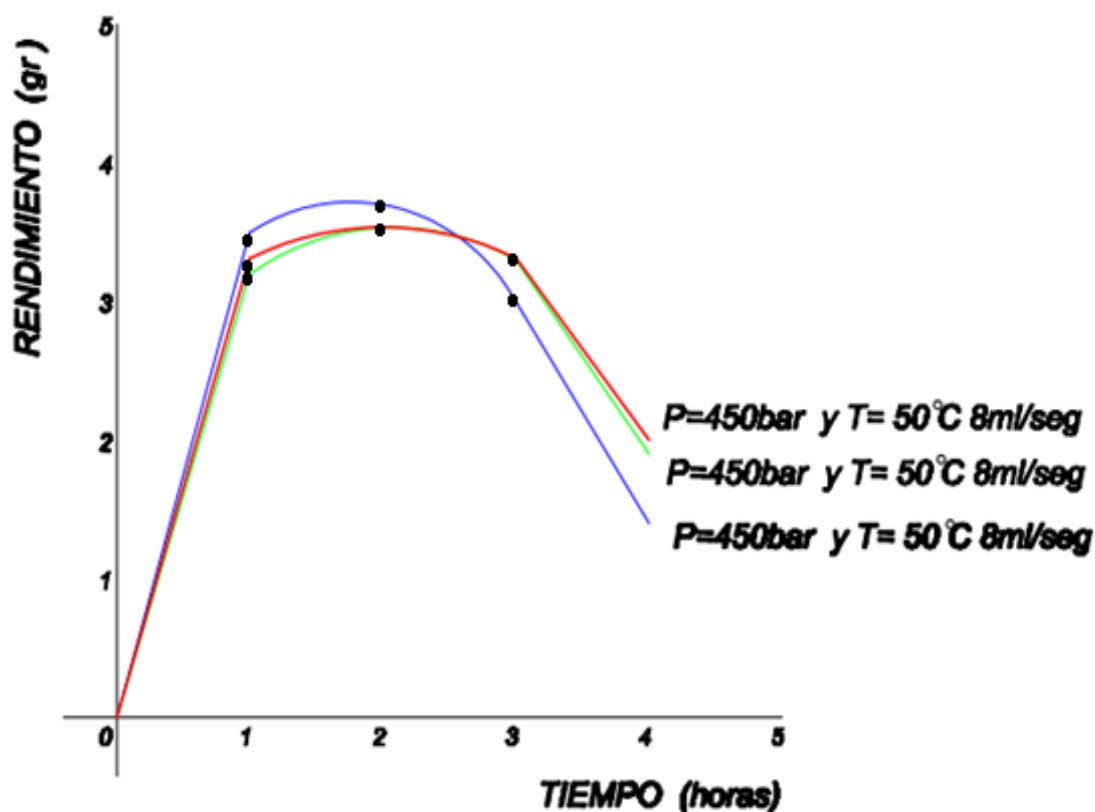
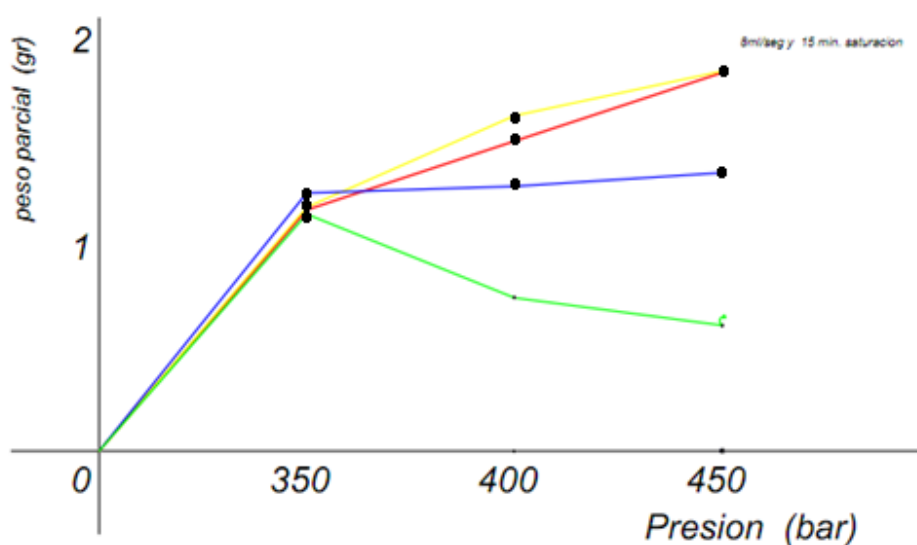


GRAFICO N° 4. Curva de extracción que relaciona el rendimiento frente al tiempo de extracción

Con los parámetros óptimos de extracción de aceite por FSC según cuadro N° 13. La curva de extracción nos demuestra que es la segunda hora la de mayor rendimiento (0.659gr peso parcial); como en todos los otros casos, también tenemos el mayor rendimiento porcentual de 39.06 % (línea verde), 39.09% (línea amarilla) y 40.13% (línea roja).

**DETERMINACION DE LA PRIMERA HORA DE EXTRACCION A
DIFERENTES PRESIONES Y UNA MISMA TEMPERATURA.**



GRAFICA N° 5. Relación entre la presión y el peso parcial por hora de extracción, a un flujo de 8ml/seg y 15 minutos de saturación.

La línea amarilla corresponde a la primera hora de extracción (1.834 gr peso parcial), la línea roja corresponde a la segunda hora de extracción (1.826 gr peso parcial), la línea azul corresponde a la tercera hora de extracción (1.343 gr peso parcial) y la línea verde a la cuarta hora de extracción (0.606 gr peso parcial).

3.6. ANALISIS CROMATOGRAFICO.

Los análisis en HPLC fueron llevados a cabo en un Cromatografo Liquido de Alto Perfomance marca Merck Hitachi modelo Elite Lechrom.

El procedimiento analítico, la estandarización de las condiciones cromatografias y las curvas de calibración para los estándares de los Ácidos linolénico, linoleico y oleico, para este análisis porcentual fue tomado con autorización expresa del trabajo de investigación “INDUSTRIALIZACION DE ACEITE DE ARROZ A TRAVEZ DE LA TECNOLOGIA DE FSC EN EL VALLE MAJES” realizado por el Dr. Gonzalo Dávila del Carpio en laboratorios de UCSM.

El aceite extraído “crudo” por FSC cada hora, fue guardado en 12 frascos ámbar tal como se obtuvo del equipo de FSC sin ningún tratamiento solo refrigeración, después de 2.5 meses se procedió al análisis por HPLC.

3.7.RESULTADOS.-

3.7.1. CURVAS DE CALIBRACION.

Con el método descrito se procedió a construir las curvas de calibración para los ácidos linolénico, linoleico y oleico, los ensayos se realizaron por duplicada los resultados se encuentran en las GRAFICAS 1, 2,3. Los cuales indican una mínima dispersión de los datos, lo cual valida el método analítico.

3.7.2. CONCLUSIONES CROMATOGRAFICAS.-

3.7.3. Estandarización de condiciones cromatografias.

La selección de la fase estacionaria se hizo utilizando una columna de fase reversa con grupos octadecilo (RP-18) de baja polaridad, los cuales muestran teóricamente afinidad con las extensas cadenas hidrocarbonadas de los ácidos linoleico, linolénico y oleico (18 átomos de carbono), a través de interacciones dipolo inducido-dipolo inducido (fuerzas de London) lo que permite que las moléculas de los ácidos grasos sean retenidas en la fase estacionaria, permitiendo separar estos componentes de otras sustancias presentes

en el aceite de Sacha Inchi obtenido, igualmente se pudo notar una adecuada separación entre las moléculas de los ácidos grasos analizados.

Hubo una adecuada resolución de los componentes en el cromatograma, lo que puede notar claramente con picos separados, bien definidos, con una línea de base óptima y limpia, con un tiempo de retención de 4.57 minutos para el ácido linolénico, 6.29 minutos para el ácido linoleico y 9.56 minutos para el ácido oleico con una absorbancia de 205 nm, como se aprecia en la fig. N° 12.

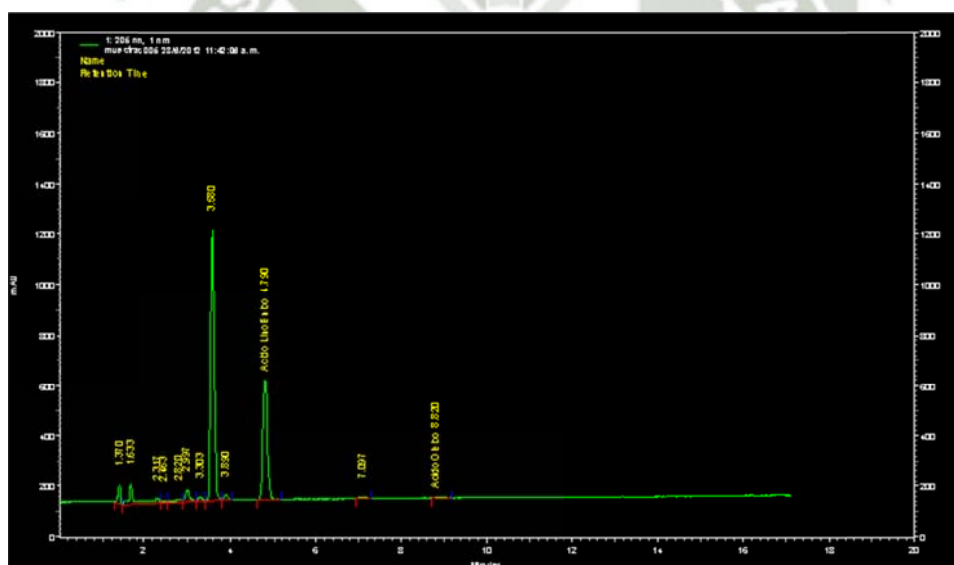
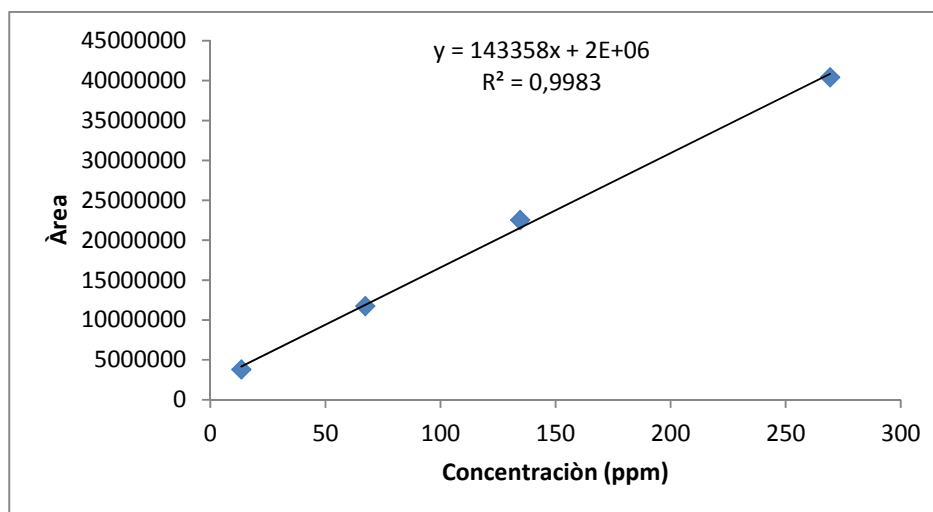


FIGURA N° 12. CROMATOGRAMA DE ESTÁNDARES DE ÁCIDOS: LINOLÉNICO, LINOLEICO Y OLEICO.



GRAFICA N° 1: CURVA DE CALIBRACION DEL ACIDO LINOLENICO

La ecuación matemática que describe la correlación lineal entre las áreas de los picos en los cromatogramas y la concentración del ácido linolénico es:

$$y = 2237838 + 143357.86x$$

CUADRO N° 14. Concentración de ÁCIDO LINOLÉNICO en las diferentes muestras obtenidas en la segunda hora de extracción.

MUESTRA	AREA	CC(ppm)	PESO MUESTRA (gr)	CONTENIDO (mg/Kg)
I	13342852	77.46	0.1947	0.40
II	3926790	11.78	0.1123	0.10

- **CUADRO N° 15.** Concentración de ÁCIDO LINOLÉNICO en las diferentes muestras obtenidas en la tercera hora de extracción. *

MUESTRA	AREA	CC (ppm)	PESO MUESTRA (gr)	CONTENIDO (mg/Kg)
I	2646023	2.84	0.1123	0.23
II	7727594	38.29	0.1471	0.26

- **CUADRO N° 16.** Concentración de ÁCIDO LINOLÉNICO en las diferentes muestras obtenidas en la cuarta hora de extracción.*

MUESTRA	AREA	CC (ppm)	PESO MUESTRA (gr)	CONTENIDO (mg/Kg)
II	3537784	9.06	0.1303	0.07

CONCENTRACION ACUMULADA DE ACIDO LINOLENICO:*

MUESTRA	CONTENIDO (mg/Kg)
I	0.63
II	0.43

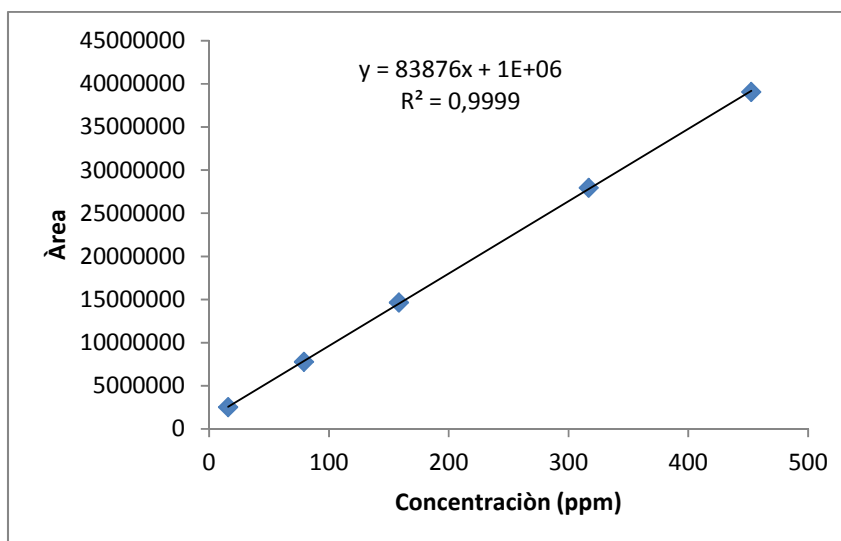


GRAFICO N° 2. CURVA DE CALIBRACION DE ACIDO LINOLEICO.

La ecuación matemática que describe la correlación lineal entre las áreas de los picos en los cromatogramas y la concentración del Ácido Linoleico es:

$$y = 1229113.15 + 83875.97x$$

- **CUADRO N° 17.** Concentración de ÁCIDO LINOLEICO en las diferentes muestras obtenidas en la segunda hora de extracción.*

MUESTRA	AREA	CC (ppm)	PESO MUESTRA (gr)	CONTENIDO mg/Kg
I	1809726	6.92	0.1311	0.053
II	2233363	11.85	0.1125	0.11

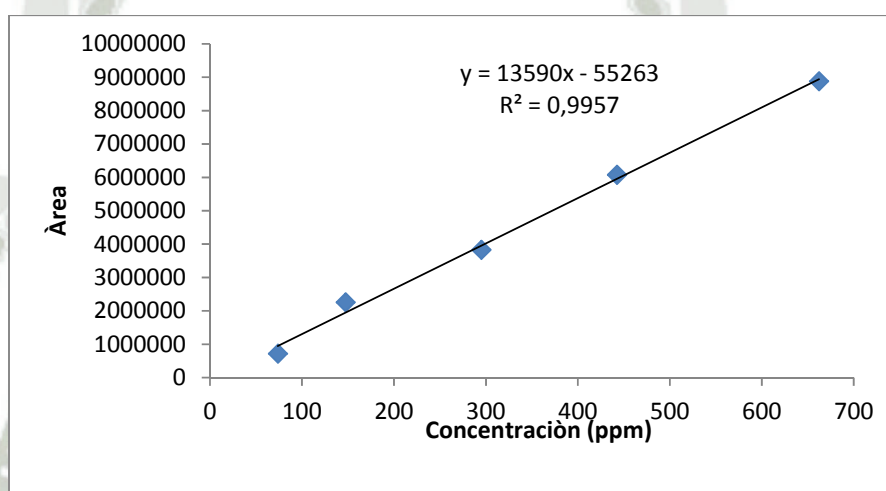
- **CUADRO N° 18.** Concentración de ÁCIDO LINOLEICO en las diferentes muestras obtenidas en la tercera hora de extracción.*

MUESTRA	AREA	CC (ppm)	PESO MUESTRA (gr)	CONTENIDO mg/Kg
II	2619989	16.58	0.0884	0.19

: CONCENTRACION ACUMULADA DE ACIO LINOLEICO.*

MUESTRA	CONTENIDO (mg/Kg)
I	0.053
II	0.30

GRAFICO N° 3. CURVA DE CALIBRACION DEL ACIDO OLEICO.



La ecuación matemática que describe la correlación lineal entre las áreas de los picos en los cromatogramas y la concentración del Ácido Oleico es:

$$y = -55262.55 + 13589.66x$$

- **CUADRO N° 19.** Concentración de ÁCIDO OLEICO en las diferentes muestras en la segunda hora de extracción.*

MUESTRA	AREA	CC (ppm)	PESO MUESTRA (gr)	CONTENIDO (mg/Kg)
I	4014327	2994.62	0.1311	2.29
II	1379763	1055.97	0.1125	0.94

- **CUADRO N° 20.** Concentración de ÁCIDO OLEICO en las diferentes muestras, obtenidas en la tercera hora de extracción.*

MUESTRA	AREA	CC (ppm)	PESO MUESTRA (gr)	CONTENIDO (mg/Kg)
I	868050	67.94	0.1471	0.46
II	3509065	262.29	0.0884	2.97

- **CUADRO N°21.** Concentración de ÁCIDO OLEICO en las diferentes muestras obtenidas en la cuarta hora de extracción.*

MUESTRA	AREA	CC (ppm)	PESO MUESTRA (gr)	CONTENIDO (mg/Kg)
III	1506675	114.94	0.1613	0.71

CONCENTRACIÓN ACULULADA DE ACIDO OLEICO.*

MUESTRA	CONTENIDO (mg/Kg)
I	2.29
II	3.71
III	0.71

Las curvas 1, 2 y 3 nos permiten visualizar las curvas de calibración para el ácido linolénico, linoleico y oleico, observando la correlación lineal entre las concentraciones de los ácidos y las áreas de los cromatogramas. Para el ácido linolénico tenemos un coeficiente determinación $R = 0.9983$.

En la curva para el ácido linoleico tenemos un coeficiente determinación $R = 0.9999$.

*Estos cuadros son de mi autoría como resultado del análisis cromatográfico.

CONCLUSIONES

1.- Se estableció los parámetros óptimos para la técnica de extracción de aceite por Fluidos Supercríticos siendo los siguientes:

PRESION 450 bar ($450 * 14.5\text{Psi} = 6530 \text{Psi}$).

TEMPERATURA 50°C.

FLUJO de CO₂ 8ml/seg.

TIEMPO DE SATURACION 15 minutos.

2.- Mediante la técnica de extracción de Fluidos Supercríticos se obtuvo 39.9% de aceite crudo de las semillas de “Sacha Inchi” provenientes de la zona del VRAE. Las características organolépticas: olor propio del ecotipo, color amarillo claro limpio, de sabor agradable, libre de contaminación y residuos del disolvente.

3.- Mediante el método de Cromatografía Líquida de Alto Performance (HPLC), se cuantificó los ácidos grasos del aceite de “Sacha Inchi” como son:

Ácido Linolénico (omega-3): 1.06 mg/Kg.

Ácido Linoleico (omega-6): 0.353 mg/Kg.

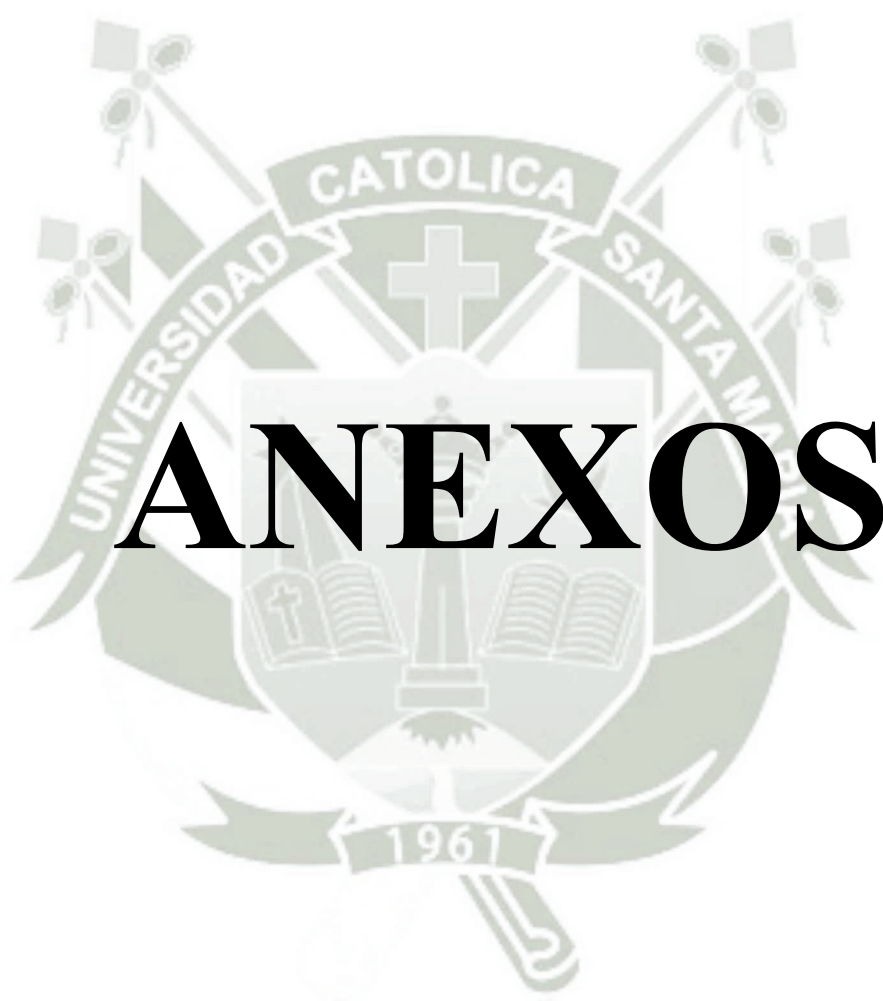
Ácido Oleico (omega-9): 6.91 mg/Kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Amanda C. U. Nurmatov, el jeque A. Omega 3 y 6 los aceites para la prevención Primaria de la enfermedad alérgica: revisión sistemática y meta-análisis .Alergia- ; 64(6):840-8, Epub 2009, 07 Abril.
2. Amazon Omega. Agroindustrias Amazónica Biblioteca Agrícola Nacional UNA.
3. Anaya Yábar, José. Investigación, Cultivo, Industria y Comercio del Sacha Inchi- Agroindustrias Amazónicas S.A. (Tarapoto 2005-23-03).
4. Altar-Bashi N M, Li D, Sinclair Aj. Acido alfa-linolénico y el riesgo de cáncer de próstata. Lípidos. 2004; 39 (9): 929-32.
5. Aranda Ventura José. Monografía de Sacha Inchi (15-09-2009).
6. Bakkali F, et,al, Biological effect of esencial oil-Aserview, Food and Chemical Toxicology, Volume 46, February 2008
7. Bliesner, Valiating Chromatographic method-A Practical Guide, Wiley-Intercience, USA, 2006.
8. Cabieses, F. Apuntes de Medicina Tradicional (A&BSA-1993).
9. Cerpa Chávez, Manuel. Extracto de Productos Naturales Mediante Fluidos Supercríticos: Fundamentos y Posibilidades de uso en el Perú.
10. Dávila del Carpio Gonzalo Curso Extracción con Fluidos Supercríticos UCSM- Arequipa.
11. De Almeida Meireles María Ángela. Processos de Obtencao de Productos naturais a partir de Tuberosos Tropicais (INICAMP-Brasil-2007).
12. De Almeida Meireles María Ángela. Supercritical Extractions from Solid- (Brasil-2003).
13. Delvin, T, M, Bioquímica 4º Edición Reverte, Barcelona 2004.
14. Diario Oficial El Peruano, LEY QUE DECLARA AL SACHA INCHI COMO PATRIMONIO GENETICO NACIONAL Y PRODUCTO ALTERNATIVO EN LA LUCHA CONTRA LA POBREZA. Proyecto Ley N° 11367/2004-CR. Lima, 8 de Setiembre 2004.

15. Esquivel F. Angélica, Vargas Pedro. Uso de aceites esenciales extraídos por procesos supercríticos en la elaboración de alimentos. Post-grado en Ciencias de alimentos (Universidad de Costa Rica – San Pedro 2007).
16. Follegatti Romero, L y Piantino, C; Romero-Grimaldi, R; Cabral, F. Supercritical CO₂, Extraction of omega-3 rich oil from Sacha Inchi (*Plukenetia Voluvilis* Linneo) seeds, *J. of Supercritical Fluids* 49:323-329. 2009.
17. Fried B. Sherma J. Thin-Layer Chromatography, Fourth Edition, Marcel Dekker, (INC USA 1999)
18. Gomez-Sanchez, Ivan y otros. Estudio de la calidad proteica del Sacha Inchi. Instituto de Nutrición, Lima-Perú.
19. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y la Protección de la Propiedad Intelectual-2 INDECOPI, Aceite de Sacha Inchi, Buenas Prácticas de Manufactura.
Código NTP 151 401. -04-2012.18
20. Johansen, O. et al. The effect of supplementation with omega-3 fatty acids on soluble markers of endothelial function in patients with coronary heart disease.
21. Leninger, Al, Curso breve de Bioquímica, Omega Barcelona 1976.
22. Lock de Ugaz, Olga. Investigación Fito química 2º Ed. PUCP.
23. Lunn, J, Hannah E. “Nutrición durante el embarazo” British Nutrition Foundation.4p 2006
24. Manco Céspedes Enma I. Cultivo de Sacha Inchi. Instituto Nacional de investigación y Extensión Agraria INIA (Junio-2006 San Martin-Perú).
25. Mejía Lobatón, Margarita Roció. Extracción y Refinación de Aceite de Sacha Inchi. UNACM, Facultad de Ciencias Alimentarias.
26. Meyer V. Practical High-Performance Liquid Chromatography Four Edition Wiley-UCH (Germany 2007).
27. Otto S J. Houwelingen A C. Maternal and neonatal essential fatty acid status in phospholipids: an international comparative study. *Eur J Clin Nutr.* 51(4):232-42. 1997. 89

28. Palacios, Julio. Plantas Medicinales Nativas del Perú CONCYTEC.
29. Pascual, G. y Mejía M. Extracción y Caracterización de Aceite de Semilla de Sacha Inchi. Anales Científicos- (La Molina Lima-Perú 2003). 88
30. Prado, Juliana Ing. de Alimentos. Curso Internacional Teórico Practico de extracción de Fluidos Supercríticos Diseño y Aplicaciones (29-Nov-02 Dic UCSM-UNICAMP Sao Paulo- Brasil)
31. P, Shige H, Pomeroy S, Cehun M, Abbey M, Raederstorff D. The n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid increase systemic arterial compliace in humans. Am. J. Clin. Nutr.76:326-30 Mori, 2002.
32. Quattrocchi, Abelaira, Lala. Inducción a la HPLC, Aplicación y Práctica. Buenos Aires, 1992.
33. Sánchez Castellanos, Francisco J. Extracción con Fluidos Supercríticos.
34. Saravia Gallardo, Marcelo Andrés Metodología de Investigación Científica.
35. Zegarra Ganoza, Marianella. Extracción de Sacha Inchi. Industria Alimentaria 26/06/11.



ANEXO 1

RENDIMIENTO DE EXTRACCION POR FSC DE MENOR EFICACIA

TIEMPO DE EXT.	MUESTRA gr	PESO DE TUBO	FLUJO ml/seg	TIEMPO DE SATUR.	TEMPERATURA 40.C	PRESION 6525 Psi	PESO TOTAL	PESO ACEITE	PESO PARCIAL
10:34	30	37.744	4	15	40	5585	---	---	---
11:04	30	37.744	4	15	40	5585	38.317	0.573	1.109
11:34	30	37.744	4	15	41	5532	39.426	1.682	0.1
12:04	30	37.744	4	15	42	5563	39.526	1.782	0.604
12:34	30	37.744	4	15	41	5586	40.13	2.386	0.612
01:04	30	37.744	4	15	40	5573	40.742	2.998	0.621
01:34	30	37.744	4	15	39	5551	41.363	3.619	0.621
02:04	30	37.744	4	15	39	5557	41.957	4.213	0.609
02:34	30	37.744	4	15	39	5589	42,566	4.822	0

CALCULO DEL RENDIMIENTO DE ACEITE DE SACHA INCHI POR EXTRACCION CON FLUIDOS SUPERCRITICOS:

PESO TOTAL gr. = PESO TUBO + PESO ACEITE gr.

PESO TOTAL gr. = 37.744 + 0.573 = 38.317 gr.

PESO ACEITE = PESO TOTAL - PESO TUBO

PESO ACEITE = 0.573 gr.

PESO PARCIAL = PESO ACEITE (1º HORA) - PESO ACEITE (0.5 HORA)

PESO PARCIAL = 1.682 - 0.573 = 1.109 gr.

CALCULO % DE ACEITE:

$$\% = \frac{\text{Peso de aceite}}{\text{30gr. de muestra}} * 100$$

30gr. de muestra

$$\% = \frac{4.822 \text{ gr.}}{30 \text{ gr.}} * 100$$

30 gr.

$$\% = 16.02 \%$$

PESO DE ACEITE AL FINAL DE LA EXTRACCION: 4.822 gr.

PESO DE LA MUESTRA PARA LA EXTRACCION: 30.000 gr.

RENDIMIENTO DE CEITE 4 HORAS DE EXTRACCION: **16.02 %**

RENDIMIENTO DE EXTRACCION POR FSC DE MAYOR EFICACIA

TIEMPO DE EXTRAC.	MUESTRA gr.	PESO DE TUBO gr.	FLUJO ml/seg	TIEMPO DE SATUR.	TEMPERATURA 50·C	PRESION 6525 Psi	PESO TOTAL	PESO ACEITE	PESO PARCIAL
11:08	30	37.739	8	15	49	6542	---	---	---
11:38	30	37.739	8	15	50	5904	39.397	1.658	1.834
12:08	30	37.739	8	15	49	5856	41.231	3.492	1.808
12:38	30	37.739	8	15	51	5792	43.039	5.3	1.826
01:08	30	37.739	8	15	50	5783	44.865	7.126	1.74
01:38	30	37.739	8	15	51	5838	46.605	8.866	1.343
02:08	30	37.739	8	15	51	5706	47.948	10.21	0.972
02:38	30	37.739	8	15	49	5687	48.92	11.18	0.606
03:08	30	37.739	8	15	48	5606	49.526	11.79	0

**CALCULO DEL MEJOR RENDIMIENTO DE ACEITE DE SACHA INCHI
POR EXTRACCION CON FLUIDOS SUPERCRITICOS:**

PESO TOTAL gr. = PESO DEL TUBO + PESO DE ACEITE gr.

PESO TOTAL gr. = 37,739 + 1.658 = 39.397 gr.

PESO ACEITE gr. = PESO TOTAL - PESO TUBO

PESO ACEITE gr. = 39.397 - 37.739 = 1.658 gr.

PESO PARCIAL = PESO ACEITE (1º HORA) - PESO ACEITE (0.5 HORA)

PESO PARCIAL = 3.492 - 1.658 = 1.834 gr.

CALCULO % DE ACEITE:

$$\% = \frac{\text{Peso de aceite}}{\text{30gr. de muestra}} * 100$$

30gr. de muestra

$$\% = \frac{11.787 \text{ gr.}}{30 \text{ gr.}} * 100$$

30 gr.

$$\% = 39.29$$

PESO DE ACEITE AL FINAL DE LA EXTRACCION: 11.787 gr.

PESO DE LA MUESTRA PARA LA EXTRACCION: 30.00 gr.

RENDIMIENTO DE ACEITE 4 HRS. DE EXTRACCION: **39.29%**

PRESION.-

Se denomina presión a la magnitud que mide la fuerza que se ejerce por unidad de superficie. Se mide en macro metros y barómetros.

Psi: procede “Pund – Force per Square Inde”= libra-fuerza por pulgada cuadrada.

$$1 \text{ Psi} = 68.948 \times 10^{-5} \text{ bar}$$

$$1 \text{ PSI} = 1 \text{ lbf/ m}^2$$

$$1 \text{ bar} = 14.5037744 \text{ Psi}$$

$$1 \text{ atm} = 14.223 \text{ Psi (atmosférica)}$$

$$1 \text{ atm} = 14.696 \text{ Psi}$$

Para calcular la presión de la extracción:

$$350 \text{ bar} \times 14.5 = 5336 \text{ Psi}$$

$$450 \text{ bar} \times 14.5 = 5800 \text{ Psi}$$

$$450 \text{ bar} \times 14.5 = 6525 \text{ Psi}$$

ANEXO 2

EMBARAZO Y DESARROLLO FETAL

El crecimiento y desarrollo del feto dependen del aporte materno de ácidos grasos esenciales.⁴ La dieta de la madre antes de la gestación determina el estado nutricional materno en cuanto a ácidos grasos esenciales, porque esos

nutrimentos se almacenan en el tejido adiposo y pueden utilizarse por medio de lipólisis. El feto humano, lo mismo que la persona adulta, es incapaz de sintetizar los ácidos grasos esenciales y por tanto deben proceder de la circulación materna y atravesar la placenta.

Existen discrepancias entre los autores acerca de la influencia del estado nutricional materno y la acreción de nutrientes durante el embarazo. En un estudio realizado por *Crawford* en la población de Hackney, donde la incidencia de bajo peso al nacer era alta, encontró ingestiones bajas de vitaminas y ácidos grasos en estas madres, en relación con un grupo control de mujeres que tuvieron niños de buen peso al nacer.

Otros estudios no observaron correlación entre la nutrición materna durante el tercer trimestre y los lípidos séricos de sus descendientes, y enfatizaron en la necesidad de una adecuada nutrición y un buen estado nutricional de ácidos grasos desde etapas tempranas del embarazo y durante la lactancia, para lograr una buena transferencia de grasa y ácidos grasos al feto y al recién nacido.

Jarocka-Cyrta y otros estudiaron el transporte placentario de ω -3 y ω -6 en ratas alimentadas con dietas semisintéticas enriquecidas con estos ácidos grasos y otras con dietas deficitarias, y examinaron el crecimiento y desarrollo de la mucosa intestinal de sus descendientes. Comprobaron que las dietas pobres en ω -6/ ω -3 durante el embarazo, se relacionaban con aumento del flujo y absorción de 18:0 y 18:3 ω -3 al nivel de íleon y

con pobre desarrollo y crecimiento de la mucosa intestinal del feto. Concluyeron que la ontogenia del intestino estaba críticamente influida por la dieta materna durante la gestación, y modificaba poco durante la lactancia y por lo tanto cualquier cambio en la dieta para favorecer un adecuado desarrollo intestinal deberá ser introducido antes del nacimiento.

La malnutrición materna afecta la calidad del huevo o embrión al igual que ocurre en otras especies animales en las que la naturaleza prepara al individuo para la concepción. El huevo de un pájaro se pone con el 100 % de los nutrientes necesarios para convertir la célula fertilizada en un pollo. En el embarazo humano, la secreción del óvulo se suprime por debajo de un determinado nivel de grasa corporal.⁸ El crecimiento placentario se genera durante la primera mitad del embarazo y el crecimiento fetal se produce en la última mitad. Ese es el mecanismo para la nutrición fetal que se crea por delante de las necesidades.

El ácido linoleico parece que atraviesa la placenta, porque es mayor su concentración en la madre que en el feto de forma continua durante el embarazo; sin embargo, el ácido araquidónico (AA) está aumentado en el feto probablemente por un transporte preferencial desde la placenta a finales del tercer trimestre o por metabolismo fetal con de saturación y elongación.⁹ *Uauy-Dagach* plantea que la placenta transporta de forma selectiva AA y docosahexanoico (DHA) desde el compartimento materno hacia el feto, lo que da por resultado enriquecimiento de esos ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA) en los lípidos circulantes del feto. Esto ocurre durante el tercer trimestre, cuando las demandas fetales para el crecimiento neural y vascular son mayores. Estas reservas hepáticas fetales sólo bastan para apoyar el crecimiento del cerebro 2 ó 3 días sin aporte exógeno.

Rodríguez y otros midieron la composición de ácidos grasos de fosfolípidos en hígados fetales entre las 17 y 36 semanas de EG y hallaron de forma significativa la presencia de \square -3 y \square -6 y de actividad de las enzimas delta-5 y delta-6 tan temprano como las 17 semanas de EG, y su actividad se incrementaba y estabilizaba durante el 3er trimestre.

Estudios realizados por *Ballabriga* en Barcelona con fetos humanos fallecidos entre 22 y 45 semanas de EG, comprobaron la relación entre ácidos grasos esenciales ω -3 y ω -6 y la maduración cerebral en fetos durante el último trimestre del embarazo. Los principales cambios observados en el pro encéfalo, en este estudio, sugieren que el índice de elongación del AA aumenta significativamente durante el tercer trimestre de la gestación; que a medida que la maduración progresa, el AA disminuye en el fosfoglicérido de etanolamina en el pro encéfalo y aumenta en el fosfoglicérido de colina como resultado de la activación o inhibición de la elongación, hasta los miembros más grandes de la serie. Hay un incremento de la proporción 22:4 ω -6/22:5 ω -6 que sigue un perfil parabólico durante el último trimestre de la gestación.

El contenido total de LCPUFA de la familia ω -3 es mayor en el cerebelo que en el pro encéfalo, probablemente dependiendo de la mayor concentración celular del cerebelo y consiguientemente de la existencia de más membranas enriquecidas con DHA.

Estos datos indican que cualquier intervención para reducir el bajo peso al nacer y los trastornos asociados del desarrollo neurológico, se debe iniciar antes de la concepción. Debemos recordar que la diferenciación y división celular, se producen en el embrión incluso antes de que la madre sepa que está embarazada e incluso antes de que la placenta pueda desempeñar un papel protector sobre el feto, pues aún no está formada y que una vez nacidos, la necesidad de aportar estos ácidos grasos es indiscutible.^{13,14}

Como se planteó anteriormente, el 70 % del número total de neuronas se divide antes del nacimiento y para ellos los ácidos grasos esenciales tienen un papel determinante. Cualquier proceso que dificulte el flujo placentario o que provoque un nacimiento pre término, favorecerá la no acreción de lípidos y otros nutrimentos, los cuales incrementan el flujo placentario durante el último trimestre del embarazo.

PARTICIPACIÓN NUTRICIONAL DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES EN PREMATUROS

Los principales componentes de los ácidos grasos cerebrales son el DHA y el AA. El 60% del material estructural cerebral está compuesto por lípidos. El fosfoglicérido de colina es cuantitativamente el fosfolípido más abundante del cerebro humano y el fosfoglicérido de etanolamina tiene un alto contenido en LCPUFA derivados de los ácidos grasos esenciales de la dieta.

La vulnerabilidad especial para tener deficiencia de ácidos grasos esenciales la tiene el prematuro, y aumenta inversamente proporcional con la EG al nacer, dada la falta virtual de reservas de tejido adiposo al nacer, la inmadurez de la vía metabólica para el alargamiento y la desaturación de ácidos grasos y los ingresos inadecuados de ácido linoleico y ácido linolénico proporcionados por fórmulas industriales.

Dentro del SNC, la retina muestra niveles elevados de DHA que es captado preferentemente por la retina en desarrollo durante la última parte de la gestación, al mismo tiempo que el AA disminuye con la maduración retiniana, sobre todo en el fosfoglicérido de etanolamina. Los cambios competitivos entre las familias ω -3 y ω -6 se expresan por el índice DHA/AA que aumenta siguiendo un perfil parabólico durante la maduración de la retina humana, igual que ocurre en el pro encéfalo e hígados humanos.

A medida que disminuye la edad gestacional al nacer, la inmadurez cerebral al igual que de otros tejidos aumenta de manera inversamente proporcional. El recién nacido dependerá entonces del aporte exógeno de nutrientes y nunca llegará a alcanzar una acreción de éstos similar a la que lograría en el útero materno. Es este el principal reto del neonatólogo en la nutrición de estos pequeños, y tratar de disminuir los daños que a largo plazo siempre ocasiona una nutrición inadecuada en este período crítico de la vida.

Los PUFA de cadena larga son condicionalmente esenciales en pre términos al nacer con poca reserva de lípidos en sus depósitos y la leche materna a pesar de cubrir las necesidades del RN a término, no logra en el menor de 1 500 g aportar las cantidades necesarias para un crecimiento y diferenciación acelerados.

DIFECIENCIA DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA EN PREMATUROS DE MUY BAJO PESO AL NACER

Los RN más vulnerables de presentar esta deficiencia, por supuesto que son los pre términos de muy bajo peso, aunque no podemos descartar este déficit en RN a término que han sido alimentados con fórmulas pobres en grasas o que por alguna afección han mantenido una alimentación parenteral prolongada carente de lípidos, o presentan un síndrome de malabsorción intestinal sobre todo posquirúrgico.

Las manifestaciones clínicas no son inmediatas al nacimiento, a pesar de que se interrumpe el suministro de ácidos grasos durante la etapa fetal de mayor acreción, el RN conserva algunas reservas para pasar los primeros días de vida. Si es alimentado con leche materna biológica, ésta le aportará cantidades aceptables que permiten continuar el desarrollo y diferenciación celular. En el caso que no haya un suplemento adicional, sobre todo en los más pequeños, dígame menores de 1 000 g o 28 semanas de EG, el riesgo de presentar una deficiencia de ácidos grasos esenciales es mayor.

La deficiencia de ácidos grasos esenciales descrita por primera vez en los años 30, se ha demostrado en niños con nutrición parenteral prolongada exenta de grasas y en RN alimentados con fórmulas pobres en ácidos grasos esenciales o con relación inadecuada de las series $\square 3/\square 6$, con los escasos depósitos de ácidos grasos esenciales y en el prematuro, con la baja tasa de incorporación de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga a partir de los precursores.

Un RN inmaduro de 1 000 g de peso requiere alrededor de 50 a 75 kcal/kg/día para mantener una tasa metabólica en reposo si se tienen en cuenta los incrementos por dificultad respiratoria, trastornos de la natremia, asfíxia, trastornos en la regulación térmica, infección, etcétera. Por su reserva calórica no proteica limitada, estos lactantes deberán movilizar pronto los ácidos grasos cuando no tienen un aporte exógeno adecuado.

Generalmente durante los primeros días de vida el aporte parenteral se limita a la administración de glucosa y proteína, con un incremento en los niveles de insulina que bloquean la salida del ácido linoleico del tejido adiposo. En estos casos el déficit puede aparecer de forma precoz.

A corto plazo se caracteriza por crecimiento inadecuado, dermatitis, hipo pigmentación, hipotonía, incremento del índice metabólico, alteraciones del equilibrio del agua, fragilidad y permeabilidad aumentadas de membranas celulares, cambios electroencefalográficos y electrocardiográficos, e incremento en la susceptibilidad a infecciones. Estas manifestaciones desaparecen casi todas cuando se administra una dieta que proporcione el 2 % de las calorías como ácido linoleico.

Los síntomas de deficiencia de ácidos grasos esenciales ω -3 son más leves, e incluyen: dermatitis que no cede con complementos de ácido linoleico, función visual anormal y neuropatía periférica.

Estudios sobre los valores ω -3 de cadena larga en la retina y en diferentes órganos después de la nutrición parenteral total, sugieren que una deficiencia relativa de ácidos grasos ω -3 puede aparecer no sólo por un déficit de su aporte, sino por un aumento de la dosis de linoleato en las fórmulas adaptadas que favorezca la elección de las enzimas ω -6 desaturasas por la familia ω -6, e induzcan una deficiencia relativa de ácidos grasos ω -3 debido al exceso de ácidos grasos ω -6.

Las manifestaciones de déficit de ácidos grasos esenciales se extiende a los elementos formes. La composición en ácidos grasos de los hematíes cambia con el linoleato de la dieta lo mismo que la del plasma, pero los cambios se evidencia con más lentitud. El sangramiento de origen desconocido en los pre términos y sobre todo en los malnutridos no es infrecuente y puede estar en relación con un déficit de AA precursor del tromboxán A², pues un bloqueo de su síntesis da lugar a un trastorno de la agregación plaquetaria. *Friedman* estudió a prematuros que recibían alimentación parenteral y presentaban precozmente deficiencia clínica de ácidos grasos esenciales, y observó

trastornos de la agregación plaquetaria y signos claros de desagregación en relación con controles normales. El déficit de ácidos grasos esenciales quizás reduzca la disponibilidad de AA para los fosfolípidos de membrana plaquetarios, los cuales son importantes en el fenómeno de agregación.

Se ha observado una disminución de la síntesis de prostaglandinas en lactantes con déficit de ácidos grasos esenciales, lo que no puede corroborarse inequívocamente. Se puede evaluar la disminución de dicha síntesis a través de la determinación del metabolito urinario principal de las prostaglandinas E¹ y E²: ácido 7- α -hidroxi-5,11-dicetotetranorprostano 1,16-diolo (PGE-M). Dado que el PGE-M es el producto terminal de una secuencia de 15-hidroxigenación, reducción y α y β -oxidación de las prostaglandinas E¹ y E² toda disminución de su excreción refleja disminución de la síntesis de prostaglandinas y de su ciclo metabólico en el organismo.

La hemorragia peri ventricular que se observa con frecuencia entre los RN de MBPN puede estar relacionada con la deficiencia en éstos de DHA. Es probable que una reducción del aporte de precursores para el crecimiento de las membranas, contribuya a la fragilidad del sistema vascular e interviene en la hemorragia. La red vascular que nutre al cerebro en desarrollo, necesariamente tiene que desarrollarse a gran velocidad para acomodarse al crecimiento cerebral que tiene lugar en ese momento; sin embargo, en el pre término los niveles de AA y DHA pueden disminuir a los 5 a 6 días de nacido, a la 5ta parte de los encontrados en el aporte placentario fetal. Estos 2 ácidos grasos además de ser componentes claves de las membranas neural y vascular, influyen en la regulación del flujo sanguíneo y la coagulación a través de los eicosanoides.

La especie molecular principal de la fosfatidilcolina del tejido pulmonar es la dipalmitoilfosfatidilcolina. Se considera que esta especie desaturada de fosfatidilcolina desempeña un papel importante en la determinación de las propiedades de superficie del surfactante pulmonar, el cual tiene además en su composición otros componentes fosfolípidicos muy característicos. En el RN con EMH, el déficit de ácidos grasos esenciales puede empeorar el cuadro clínico, deteriorar las propiedades tensioactivas

superficiales del surfactante, y contribuir al desarrollo de la DBP. A su vez la nutrición en estos pacientes se ve seriamente afectada y requiere de suplementos energéticos, de ácidos grasos esenciales y antioxidantes.

Desde hace algún tiempo se sabe que la deficiencia ω -3 específica puede conducir a deficiencias en la capacidad de aprendizaje. Los segmentos externos de los bastones foto receptores del ojo, son el sistema receptor celular más sensible, y poseen el proceso de amplificación de señal más activo. El gran empleo de DHA por los segmentos externos del foto receptor ha planteado la captación altamente selectiva de DHA por éste, y desempeña un papel posiblemente importante en la patogenia de la retinopatía del pre término y otros trastornos visuales comunes en este grupo de RN.

En RN a término alimentados con fórmulas carentes de ácidos grasos poliinsaturados, se ha demostrado que las puntuaciones de las pruebas visuales y del desarrollo son más bajas que en los amamantados. Las fórmulas que utilizaban sólo aceites de pescado como fuente de ácidos grasos esenciales, redujeron los niveles de AA en plasma y fosfolípidos eritrocitarios. Varios estudios, entre los que se encuentran los de *Carlson* y otros, hallaron correlación positiva entre el contenido de AA, el crecimiento y resultados de las pruebas cognoscitivas.

Una adecuada suplementación de ácidos grasos esenciales en el neonato es vital para el desarrollo óptimo del SNC y la retina. Deberá adecuarse según las recomendaciones la relación ω -6/ ω -3 y adicionar a la suplementación elementos antioxidantes como vitaminas C y E.



CONGRESO DE LA REPÚBLICA

ANEXO 3

LEY QUE DECLARA AL SACHA INCHI COMO PATRIMONIO GENETICO NACIONAL Y PRODUCTO ALTERNATIVO EN LA LUCHA CONTRA LA POBREZA.

Artículo 1°.- Del objeto de la Ley.

Declárase el *Sacha Inchi*, *Maní del Inca* o *Inca Inchi* (*Plukenetia volúbilis* Linneo) como patrimonio genético nacional, por su calidad y composición alimenticia, producto de nuestra diversidad biológica, de ancestral uso desde tiempos prehispánicos.

Artículo 2°.- Su estudio y análisis oficial.

Encárgase al Ministerio de Agricultura y al Instituto Nacional de Investigación Agraria INIA, el estudio, análisis, proyección y cálculo de inversión para el cultivo y expansión del *Sacha Inchi* (*Plukenetia Volúbilis* Linneo). Los aportes de la cooperación internacional serán destinados con carácter de prioridad a los proyectos de inversión de cultivo de dicha planta en las cuencas cocaleras.

Artículo 3°.- Sobre la necesidad de irradiación radioisótopa para la exportación.

La exportación del *Sacha Inchi* (*Plukenetia Volúbilis* Linneo) tendrá como condición indispensable la irradiación radioisótopa, irradiación que no permita ser reproducida ni manipulada genéticamente en otras partes del mundo, salvo permiso expreso y por razones estrictamente científicas. Se crearán marcadores moleculares que lo identifiquen en mercados externos, para garantizar la patente que el Estado Peruano tiene sobre ella.

Artículo 4°.- De las ganancias extraordinarias.

La exportación del *Sacha Inchi* (*Plukenetia Volubilis* Linneo) y/o sus derivados, generará un impuesto extraordinario.

Artículo 5°.- La propiedad intelectual.

Encárgase al Ministerio de Relaciones Exteriores establecer un pacto de propiedad intelectual por biodiversidad con otros países, potencialmente compradores de *Sacha Inchi* (*Plukenetia Volúbilis* Linneo) o sus derivados, acorde a los convenios internacionales sobre diversidad biológica.

Artículo 6°.- Los proyectos de inversión.

