

EXTRACCIÓN DE ACEITE DE LAS SEMILLAS DE *PLUKENETIA VOLUBILIS* L. "SACHA INCHI" RICO EN ÁCIDOS LINOLÉNICO, LINOLÉICO Y OLÉICO POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC)

REMOVAL OF OIL FROM *PLUKENETIA VOLUBILIS* L. (*SACHA INCHI*) SEEDS RICH IN LINOLENIC, LINOLEIC AND OLEIC ACIDS BY SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION (SFE)

DÁVILA D C., G. & ZANABRIA Y., D.

RESUMEN

El objetivo fue utilizar la técnica de extracción por fluidos supercríticos (FSC), novedosa y limpia para extraer el aceite contenido en las semillas de *Plukenetia volubilis* L. (*Sacha Inchi*), utilizando como solvente el CO₂ en su estado de fluido supercrítico, condición en la cual puede difundir y penetrar en las estructuras vegetales como un gas (efusión) y disolver sustancias como si fuera un líquido, y por su naturaleza apolar, puede extraer moléculas lipofílicas; la extracción por FSC ofrece ventajas en comparación con otros métodos.

Se utilizaron semillas pulverizadas seleccionadas en condiciones saludables, secas, sin rancidez, provenientes de la zona de San Francisco-Ayacucho (VRAE) correspondientes a la cosecha de febrero 2012, las cuales fueron sometidas al proceso de extracción, utilizando un equipo Model SFT-100 de Supercritical Fluid Technologies, usando como solvente CO₂ de alta pureza. Las condiciones óptimas de extracción estandarizadas fueron: T = 50°C, P = 450 bar, Flujo = 8 ml/seg, tiempo de saturación de quince minutos y cuatro horas como tiempo de extracción total; estas condiciones nos permitieron extraer un 39.42% de aceite, de color amarillo claro, limpio, translucido sin ninguna partícula ni resto de solvente o agua, con ligero olor a frijol, sabor agradable característico a almendras frescas.

La cuantificación de ácidos grasos insaturados en el aceite se realizó por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), utilizando una columna octadecilo (C₁₈) de fase reversa; velocidad de flujo: 1.5 ml/min; detector de arreglo de diodos a 205 nm, encontrándose en promedio 1.06 mg/kg de ácido linolénico, 0.353 mg/kg de ácido linoléico y 7.71 mg/kg de ácido oléico.

Palabras clave: Fluido supercrítico, aceite, *Sacha Inchi*, extracción, ácidos grasos

ABSTRACT

The objective of this study was to use supercritical fluid extraction (SFE), a new and clean procedure, to remove oil contained in the seeds of *Plukenetia volubilis* L. (*Sacha Inchi*). This process uses CO₂ as a solvent in its supercritical fluid state, a condition allowing it to spread and penetrate vegetable structures as a gas (effusion) and dissolve substances like a liquid. In addition, due to its apolar nature, lipophilic molecules can be extracted; extraction by SFE provides advantages over other methods.

Healthy, dry, seeds were selected from San Francisco-Ayacucho (VRAE) in February 2012, and were ground into powder. This powder was subjected to an extraction process using Supercritical Fluid Technologies Model SFT-100 extractor with high purity using CO₂ as a solvent. Optimal conditions were standardized for the extraction: T = 50 °C, P = 450 bars, Flow = 8 ml / sec, saturation time 15 minutes and 4 hours of total extraction time, these conditions allowed us to extract 39.42 % oil, of light yellow colour, clean, translucent without any particles or other solvent or water, with a slight odor and a pleasant taste similar to fresh almonds.

The quantification of unsaturated fatty acids in the oil was performed by high performance liquid chromatography (HPLC) using a reverse phase octadecyl C₁₈ column, flow rate of 1.5 ml / min, a diode array detector at 205 nm., finding on average 1.06 mg / kg of linolenic acid, 0.353 mg / kg of linoleic acid and 7.71 mg / kg oleic acid.

Keywords: Supercritical Fluid, oil, *Sacha Inchi*, extraction, fatty acids

La técnica de extracción con FSC nos permitió obtener el aceite de *Sacha Inchi* de alta pureza, claro, traslúcido con excelentes caracteres organolépticos y un porcentaje de rendimiento muy superior a otras técnicas de extracción; el aceite estuvo libre de residuos de solventes y trazas de agua

La extracción con FSC aprovecha las excelentes propiedades de difusión y capacidad solvente del CO₂ como fluido supercrítico y además trabaja a temperaturas que permite salvaguardar los principios termolábiles y se puede aplicar directamente sobre matrices sólidas naturales, es decir sin ningún tratamiento de la muestra, además de la molienda.

Los componentes del aceite se mantienen estables por las condiciones del método de extracción, lo cual fue demostrado a través de la cuantificación de los ácidos grasos insaturados oléico, linoléico y linolénico, utilizando una técnica por HPLC estandarizada y validada en nuestro laboratorio,

La existencia de estos componentes avala las propiedades del *Sacha Inchi* como reductor del riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Esta técnica de FSC utilizando CO₂ podría servir para la extracción de muchos principios activos de naturaleza lipofílica, entre ellos aceites esenciales con diversas aplicaciones.

Introducción

El aceite de *Sacha Inchi*, por su alto contenido en ácidos grasos insaturados como el ácido linolénico y el ácido linoléico es de relevante importancia en la alimentación y en la salud, ya que puede controlar los niveles de grasa en la sangre; estos ácidos omega-3 y omega-6 forman parte de las membranas celulares e influyen en su permeabilidad, reconociéndoseles efectos benéficos sobre enfermedades cardiovasculares como la hipertensión y la isquemia. Además contiene proteínas, aminoácidos, antioxidantes y un menor porcentaje de grasas saturadas.

Los diversos métodos de extracción como el uso de solventes y la expresión en frío permiten obtener rendimientos promedio del orden del 34% de aceite a partir de las semillas, existiendo referencias en otras especies vegetales de mejores rendimientos con la extracción por fluidos supercríticos.

La técnica de extracción con FSC, utilizando un gas inerte como el CO₂, es novedosa y no genera contaminación del producto obtenido; trabaja directamente con la matriz vegetal, previa molienda, y el comportamiento del CO₂ como fluido supercrítico se logra por encima de su punto crítico, que corresponde a 72.8 atm de presión y 31°C, estado en el cual adquiere el poder de solvatación de un líquido y el de difusibilidad de un gas.



Figura 1: Semillas de *Sacha Inchi*

Con base en estos antecedentes nos propusimos estandarizar los parámetros de extracción con fluidos supercríticos (temperatura, presión, flujo de CO₂ y tiempo de saturación) para obtener el aceite de las semillas de *Plukenetia volubilis L. (Sacha Inchi)* provenientes del valle del río Apurímac y Ene (VRAE), para luego evaluar sus características físicoquímicas y cuantificar por cromatografía líquida de alta eficacia los ácidos grasos insaturados: linolénico, linoléico y oléico en el aceite obtenido.

Materiales y métodos

Se recolectaron las semillas en la zona de San Francisco, Ayacucho (VRAE) y correspondían a la cosecha del 2012. Se les sometió al proceso de descascarado, selección, triturado (molienda) y finalmente, de pesaje.

Luego se colocó la muestra en el equipo de Extracción con Fluidos Supercríticos Modelo SFT-100 Super Critical Technologies, donde se siguieron las siguientes etapas: presurización, ajuste de temperatura, saturación de la muestra, extracción y etapa de separación.



Figura 2: Diagrama de presión-temperatura de los estados del CO₂ Tomado de: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:phase-diag-es.svg>

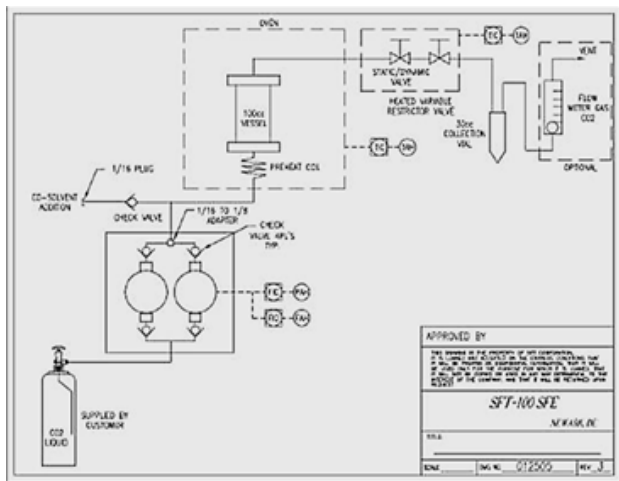


Figura 3: Equipo de extracción con FSC Modelo SFT-100 Super Critical Technologies.

Con el aceite extraído se realizaron los análisis cualitativos y cuantitativos de los ácidos linolénico, linoléico y oléico, utilizando un Cromatógrafo Líquido de Alta Performance marca Merck Hitachi, modelo Elite Lachrom, equipado con un organizador modelo L-2000, serie 17E16-034; un detector de arreglo de diodos (DAD) modelo L-2450, serie 1726-011; una bomba cuaternaria modelo L-2130, serie 17E01-036 provista de un inyector loop de 20 ul; los datos fueron procesados con el software EZChrom Elite. Las condiciones y parámetros cromatograficos fueron:

- ◆ 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.

Resultados:

Se realizó un análisis físicoquímico proximal de las semillas de *Sacha Inchi*, lo que nos permitió tener una referencia del contenido graso a extraer.

TABLA 1
ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LAS SEMILLAS DE *PLUKENETIA VOLUBILIS L.* (SACHA INCHI)

DETERMINACIÓN	CON CÁSCARA (%)	SIN CÁSCARA (%)
ALIMENTOS DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS (%) FOODS DETERMINATION OF PROTEINS NMX-F-068-S1980. Factor 6.25	20.20	32.10
DETERMINACIÓN DE GRASA (%) Alimentos cocidos de reconstitución instantánea. Determinación de grasa. método gravimétrico NTP 209.263.2001	10.59	34.40
DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (%) Método Rápido de la Termo balanza NMZ-F-428 1982	7.86	5.90
DETERMINACIÓN 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
DETERMINACIÓN DE CENIZAS (%) Alimentos cocidos de reconstitución instantánea. Determinación de cenizas. método gravimétrico NTP 209.265:2001	2.00	2.50

Para la estandarización de las condiciones de extracción se variaron diferentes parámetros, determinándose que las mejores condiciones de extracción fueron 50°C de temperatura, 450 bars de presión, 15 minutos de tiempo de saturación y 8 mL/s de velocidad de flujo, lo que nos permitió extraer un 39.29% de aceite, muy por encima del valor de 34.40%, determinado por extracción con solventes (ver Tabla 2).

TABLA 2
RENDIMIENTO DE ACEITE A LAS DIFERENTES CONDICIONES DE EXTRACCIÓN

MUESTRA (g)	TEMPERATURA (°C)	PRESIÓN (bars)	EXTRACCIÓN (horas)	FLUJO (ml/s)	SATURACIÓN (minutos)	ACEITE (%)
30	40	350	4	4	15	18.47
30	40	400	4	4	15	16.02
30	40	450	4	4	15	20.46
30	50	350	4	4	15	17.61
30	50	400	4	4	15	18.30
30	50	450	4	4	15	20.97
30	60	350	4	4	15	17.34
30	60	400	4	4	15	20.36
30	60	450	4	4	15	22.82
30	50	350	4	8	15	31.19
30	50	400	4	8	15	34.74
30	50	450	4	8	15	39.29
30	60	450	4	8	15	33.78
30	50	450	4	8	20	36.60

El aceite obtenido fue de color amarillo claro, límpido, traslúcido, sin ninguna partícula ni resto de solvente o agua, con ligero olor a frejol; sabor agradable y característico a almendras frescas, propio de la variedad. Transcurridos sesenta días después de su extracción, una evaluación organoléptica nos permitió determinar que el aceite 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.

Los gráficos que se muestran a continuación permiten evaluar la relación entre los parámetros estandarizados para la extracción:

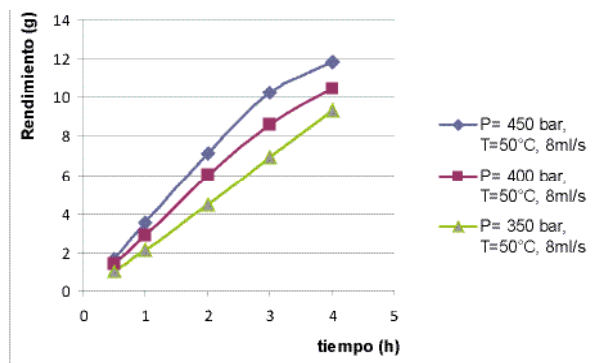


Figura 4: Rendimiento del aceite extraído en función de t a diferentes P y T constante.

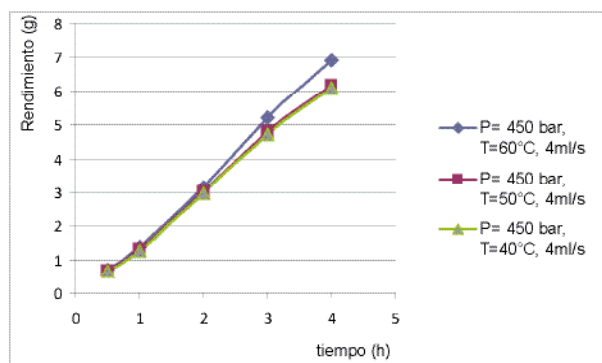


Figura 5: Rendimiento del aceite extraído en función de t a diferentes T y P constante.

Las relaciones establecidas en la Figura 4 nos permiten establecer que a la presión de 450 bar se obtiene el mejor rendimiento de extracción, mientras que la 5, nos indica que al aumentar la temperatura mejora el rendimiento, sin embargo, al no haber diferencias significativas entre el porcentaje de extracción de aceite entre los 50 y 60°C, y con el objeto de preservar la estabilidad de los principios termolábiles contenidos en el aceite, se eligió la temperatura de 50°C para el proceso de extracción; la Figura 6, nos indica que la velocidad de flujo de 8 mL/s da mejores resultados de rendimiento de extracción. En la Figura 7 se aprecia el período en el que se obtiene el mejor rendimiento, estando este alrededor de las dos horas para todas las muestras ensayadas a las condiciones óptimas de extracción.

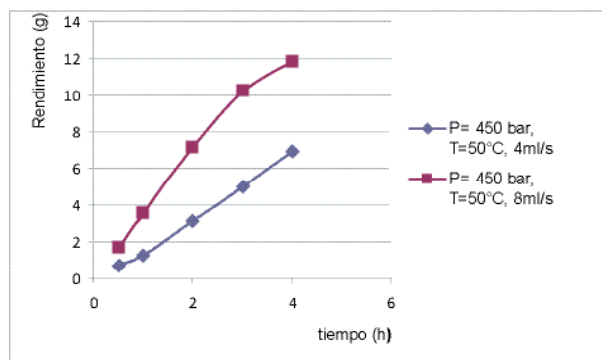


Figura 6: Rendimiento de aceite extraído en función de t a diferentes flujos y T y P constantes.

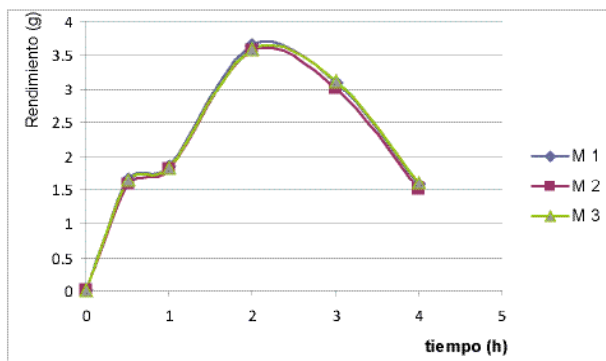


Figura 7: Curva de extracción de aceite en función de t, a P= 450 bar, T= 50°C y 8mL/s.

El análisis del aceite por HPLC nos permitió determinar los siguientes contenidos de ácidos grasos insaturados:

TABLA 3
DATOS EXPERIMENTALES DEL CONTENIDO EN ÁCIDOS GRASOS EN EL ACEITE EXTRAÍDO DE LA SEMILLA DE *SACHA INCHI*

CONDICIONES DE EXTRACCIÓN (°C/BAR)	TY (%)	ÁCIDO OLÉICO C _{18:1} (mg/kg)	ÁCIDO LINOLÉICO C _{18:2} (mg/kg)	ÁCIDO LINOLÉNICO C _{18:3} (mg/kg)
SC-CO ₂ 50/450	39.42	7.71	0.35	1.06

Discusión

La extracción del aceite de las semillas de *Sacha Inchi* a través de la técnica de fluidos supercríticos nos permitió obtener un aceite de alta pureza, con un mayor rendimiento (alrededor de 18% más) que los procesos por expresión en frío y extracción por solventes, además de estar libre de humedad y residuos de solventes, ya que el CO₂ utilizado en estado supercrítico es una sustancia inerte y al salir a las condiciones atmosféricas se vuelve gas y se separa fácilmente del aceite extraído. Si bien es cierto el CO₂ es un compuesto con enlaces covalentes polares, la simetría de la molécula hace que su momento dipolar sea muy cercano a cero, lo que permite que disuelva y extraiga fácilmente sustancias de carácter lipofílico, como los ácidos grasos insaturados y otros componentes de baja polaridad.

Trabajando por encima de 31°C se llega al punto crítico del CO₂, por lo que este hecho permite trabajar a temperaturas próximas a ese valor, preservando la estabilidad de las sustancias termolábiles, además que ofrece una gran ventaja en poder trabajar con muestras en sus matrices en estado natural, sin tratamientos previos, salvo la molienda.

Esta técnica tiene muchas perspectivas y se abren grandes horizontes con relación a la extracción de esencias de especies y oleorresinas, aceites esenciales: aromas y fragancias, extracción o fraccionamiento de aceites comestibles, principios activos con aplicación en medicina natural, colorantes y preservantes, pesticidas naturales, tratamiento de residuos orgánicos industriales, etcétera.

Conclusiones

- ♦ La técnica de extracción con fluidos supercríticos utilizando CO₂ nos permitió obtener en promedio 39.42% de aceite de semillas de *Sacha Inchi*, con excelentes caracteres organolépticos.
- ♦ Las condiciones óptimas de extracción estandarizadas fueron: T= 50°C, P= 450 bars, Flujo= 8 mL/s, tiempo de saturación de 15 minutos y 4 horas como tiempo de extracción total.
- ♦ Se determinó en promedio la existencia de 1.06 mg/kg de ácido linolénico, 0.353 mg/kg de ácido linoléico y 7.71 mg/kg de ácido oléico.

Referencia

- ALTAR-BASHI, N. M., LI, D., SINCLAIR, A. (2004). Acido alfa-linolénico y el riesgo de cáncer de próstata. *Lípidos*, 39 (9): 929-32.
- ANAYA YÁBAR, J. (2005). *Investigación, cultivo, industria y comercio del Sacha Inchi*. Agroindustrias Amazónicas S. A. Tarapoto, Perú.
- BALACHANDRAN, C. *et al.* (2008). An ecofriendly approach to process rice bran for high quality rice bran oil using supercritical carbon dioxide for nutraceutical applications. *Bioresource Technology*, 99: 2905-2912.
- BLIESNER D. M. (2006). *Validating Chromatographic Methods: A Practical Guide*. EE. UU.: Wiley Interscience.
- CHAO-RUI CHEN *et al.* (2008). Supercritical carbon dioxide extraction and deacidification of rice bran oil. *Journal of Supercritical Fluids*, 45: 322-331.
- DE ALMEIDA MEIRELES, M. Á. (2007). *Processos de Obtencao de Produtos naturais a partir de Tuberosos Tropicais*. Brasil: UNICAMP.
- ESQUIVEL, F. A. y VARGAS, P. (2007). Uso de aceites esenciales extraídos por procesos supercríticos en la elaboración de alimentos. Posgrado en Ciencias de los alimentos Universidad de Costa Rica, San Pedro.
- FOLLEGATTI, R. L., PIANTINO, C., ROMERO-GRIMALDI, R., CABRAL F. (2009) *Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) seeds*. *J. of Supercritical Fluids*, 49:323-329.

PASCUAL, G. y MEJÍA, M. (2003) Extracción y caracterización de aceite de semilla de Sacha Inchi. *Anales Científicos*. Lima-Perú: Universidad Agraria La Molina.

PRADO, J. (2011). *Apuntes del Curso Internacional Teórico Practico de extracción de Fluidos Supercríticos Diseño y Aplicaciones*. Sao Paulo, Brasil: UCSM-UNICAMP.

SHIGE H., POMEROY S., CEHUN, M., ABBEY, M., RAEDERSTORFF D. (2002). The n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid increase systemic arterial compliance in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 76: 326-330.