



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

Extracción supercrítica de compuestos bioactivos presentes en la quinua
Chenopodium quinoa Willd

ARTICULO ACADÉMICO

AUTOR: Ortiz Narváez, Jairo Patricio.

DIRECTOR: Meneses Chamba, Miguel Ángel, Ph.D.

LOJA – ECUADOR

2018



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2018

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL ARTICULO ACADÉMICO

Doctor.

Miguel Ángel Meneses Chamba

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo del artículo académico: **Extracción supercrítica de compuestos bioactivos presentes en la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)**, realizado por **Jairo Patricio Ortiz Narváez** ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, febrero 2018

F)

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo, **Jairo Patricio Ortiz Narváez** declaro ser autor del presente artículo académico: Extracción supercrítica de compuestos bioactivos presentes en la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), de la titulación de Ingeniero Químico, siendo Dr. Miguel Ángel Meneses Chamba director del presente trabajo, y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

f).....

Autor: Jairo Patricio Ortiz Narváez

Cédula: 1900746809

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi familia, especialmente a mi Madre: Berta Narváez, mi Padre que en paz descanse: Rene Ortiz, quienes han sido mi ejemplo y mi guía, mi inspiración y admiración.

También dedicado a todos mis seres queridos de mi hogar e igualmente a mis maestros que me dieron su enseñanza en todo el periodo académico.

A todos, esperando que siempre se sientan orgullosos de mí.

Jairo.

AGRADECIMIENTO

A mi Dios por confortarme cada día.

Con el apoyo económico y cariño de mis hermanos Edgar, Marcia, Dania, y Yudy, tíos Enrique, Hugo, Norma y Lorgia, primos, con sus consejos me han impulsado a seguir adelante y nunca rendirme.

Al Doc. Miguel Meneses, gracias por enseñarme, alentarme y brindarme su conocimiento académico en la realización de esta tesis.

Al Dr. Eduardo Valarezo como maestro y amigo que me brindó su apoyo, perseverancia y confianza.

Al Dr. Chabaco Armijos por experiencia, y confianza me impulsó a seguir adelante.

A las más queridas mi novia Marivid y mis sobrinas, compañeros Alfredo, Bryan, Paulo, Walter, Cesar, Yohana, Viviana, Gladis, Dayra, Katy y Jenny, amigos Toño, Jorge y Mauricio por su alegría su cariño dándome ánimos para conseguir mi meta.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA.....	i
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
NOMENCLATURA.....	xii
RESUMEN EJECUTIVO.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I.....	5
1. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	5
1.1. Generalidades de la quinua.....	6
1.1.1. Descripción botánica de la quinua	6
1.1.2. Origen y trascendencia de la quinua.....	7
1.1.3. Composición química de la quinua.....	8
1.1.4. Ácidos grasos esenciales de la quinua.....	8
1.1.5. Producción en el mundo.....	9
1.1.6. Producción en el Ecuador.....	9
1.2. Métodos de extracción de compuestos bioactivos.....	10
1.3. Extracción con fluidos supercríticos.....	11
1.3.1. Fluido Supercrítico.....	11
1.3.2. Dióxido carbono como solvente supercrítico.....	13
1.3.3. Proceso de extracción supercrítica.....	13
1.3.4. Ejemplos de extracción supercrítica de compuestos.....	14
1.4. Cromatografía de Gases.....	15
CAPÍTULO II.....	18
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. Objetivo general.....	19
2.2. Objetivo específicos.....	19
CAPÍTULO III.....	20

3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1.	Materia prima.....	21
3.2.	Reactivos.....	21
3.3.	Métodos.....	21
3.3.1.	Tratamiento de la materia prima.....	22
3.3.2.	Extracción supercrítica de la grasa de quinua.....	22
3.3.3.	Determinación de la composición química de la grasa de quinua.....	24
3.3.3.1.	<i>Preparación del estándar.....</i>	24
3.3.3.2.	<i>Tratamiento de extractos.....</i>	24
3.3.3.3.	Análisis cromatográfico.....	25
3.4.	Análisis estadístico.....	26
	CAPÍTULO IV.....	27
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1.	Obtención del tratamiento de la materia prima.....	28
4.2.	Obtención de grasa de quinua mediante extracción supercrítica.....	29
4.2.1.	Análisis estadístico para el rendimiento de la grasa de quinua	30
4.3.	Análisis de ácidos grasos de la grasa de quinua por CG FID.....	31
4.3.1	Análisis estadístico para la concentración de ácidos grasos de quinua.....	34
	CONCLUSIONES.....	35
	RECOMENDACIONES.....	36
	BIBLIOGRAFIA.....	37
	ANEXOS.....	44
1.	ESQUEMA DE MÉTODOS	45
2.	PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR (F.A.M.E. MIX, C ₄ -C ₂₄) PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....	49
3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Contenido de macronutrientes de la semilla de quinua por cada 100 g.....	8
Tabla 2.	Ácidos grasos seleccionados de quinua cruda (g / 100 g de porción comestible).....	8
Tabla 3.	Métodos de Extracción.....	10
Tabla 4.	Propiedades físicas de disolventes supercríticos.....	12
Tabla 5.	Compuestos bioactivos extraídos de algunas especies mediante EFSC....	15
Tabla 6.	Parámetros de estudio para pruebas de extracción supercrítica.....	26
Tabla 7.	Resultados de extracción de grasa de semillas de quinua obtenido por CO ₂ -SC.....	29
Tabla 8.	Resultados de extracción de ácidos grasos de semillas de quinua obtenido por CO ₂ -SC.....	33
Tabla 9.	Valor de P en el análisis de varianza para la composición del aceite de semillas quinua.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Cultivo de Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	7
Figura 2.	Diagrama de fase sólido/líquido/gas/fluido supercrítico.....	12
Figura 3.	Esquema típico de extracción con fluidos supercríticos.....	14
Figura 4.	Diagrama esquemático de un Cromatógrafo de Gases.....	16
Figura 5.	Detector de ionización de llama (FID).....	17
Figura 6.	Semillas de Quinoa (Ina Quinoa)	21
Figura 7.	Diagrama del equipo de extracción de fluidos supercríticos TC , controlador e indicador de temperatura; P , Manómetros; V , válvulas...	23
Figura 8.	Cromatógrafo de Gases Agilen 6890N.....	25
Figura 9.	Condiciones de operación para CG.....	26
Figura 10.	Muestra de extracto de la quinua obtenido por CO ₂ -SC.....	28
Figura 11.	Diagrama de Pareto Estandarizado para el rendimiento de la grasa de quinua.....	30
Figura 13	Diagrama de Interacción para el rendimiento de la grasa de quinua.....	31
Figura 14.	Perfil cromatográfico del Componente F.A.M.E. Mix C ₄ -C ₂₄	31
Figura 15.	Perfil cromatográfico de ácidos grasos presentes la quinua.....	32
Figura 16.	Diagrama de Pareto Estandarizado para la concentración del ácido palmítico, ácido oleico y ácido linoleico en el aceite de quinua	34

NOMENCLATURA

ANOVA	Análisis de varianza
Bar	Presión en bares
CG	Cromatografía de Gases
CG-FID	Cromatografía de Gases con detector FID
N	Concentración normalidad
CO₂	Dióxido de carbono
°C	Grados centígrados
g	Gramos
mg/kg	Concentración, miligramos por kilogramos
NaOH	Hidróxido de sodio
mL/min	Mililitros por minuto
mL	Mililitros
µL	Microlitros
mg	Miligramos
F.A.M.E	Ésteres Metílicos de ácidos grasos
FID	Detector de ionización de llama
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura
LSD	Diferencia mínima significativa
P	Presión
PC	Punto crítico
P-V-T	Presión – Volumen- Temperatura
Pc	Presión crítica
rpm	Revoluciones por minuto
T	Temperatura
Tc	Temperatura crítica
EFSC	Tecnología de extracción con fluidos supercríticos
CO₂-SC	Dióxido de carbono supercrítico

RESUMEN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es un pseudocereal de origen andino, caracterizada por su contenido de compuestos bioactivos. En el presente estudio se utilizó las semillas de quinua de variedad INIAP Tunkahuan para extraer ácidos grasos esenciales aplicando dióxido de carbono supercrítico (CO₂-SC). Los parámetros de temperatura y presión fueron: 40, 50 y 60 °C y de 80, 140 y 200 bares, respectivamente. Los rendimientos de extracción estuvieron comprendidos (%p/p) entre 2.17 ± 0.27 % (P: 200 bar; T: 60°C) y 0.36 ± 0.16 (P: 80 bar; T: 60°C).

La composición química de la grasa de quinua fue analizada en CG-FID, se obtuvo una mayor concentración (P: 200 bar; T: 50°C) de ácidos grasos polinsaturado; enriquecida en ácido linoleico con un contenido de orden del 62.7%, seguido por los ácidos grasos monoinsaturado; oleico 25.2% y palmítico 12.1%.

El rendimiento y la concentración de ácidos grasos encontrados en las semillas de quinua plantean la posibilidad de impulsar al estudio para aplicación en industrias química, farmacéutica, alimentaria y de productos naturales con valor añadido.

Palabras claves: Extracción Supercrítica, Dióxido de Carbono Supercrítico, *Chenopodium quinoa* Willd, Ácidos Grasos Esenciales y Cromatografía de Gases.

ABSTRACT

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) is a pseudocereal of Andean origin, characterized by its content of bioactive compounds. In the present study, INIAP Tunkahuan quinoa seeds were used to extract essential fatty acids by applying supercritical carbon dioxide (CO₂-SC). The temperature and pressure parameters studied were 40, 50 and 60 ° C and 80, 140 and 200 bar, respectively. Extraction yields were included (%p/p) between 2.17 ± 0.27 % (P: 200 bar; T: 60°C) and 0.36 ± 0.16 (P: 80 bar; T: 60°C).

The chemical composition of quinoa fat was analyzed in CG-FID, obtaining a higher concentration (P: 200 bar, T: 50 ° C) of polyunsaturated fatty acids; enriched in linoleic acid with an order content of 62.7%, followed by monounsaturated fatty acids; oleic 25.2% and palmitic 12.1%. The yield and concentration of fatty acids found in quinoa seeds raise the possibility of promoting the study for application in the chemical, pharmaceutical, food and natural products industries with added value.

Keywords: Supercritical Extraction, Supercritical Carbon Dioxide, *Chenopodium quinoa* Willd, Essential Fatty Acids and Gas Chromatography.

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de alimentos funcionales y nutraceuticos en los países en vías de desarrollo, es un desafío para la ciencia y tecnología que se aplica en industrias química, farmacéutica, alimentaria y de productos naturales. En la dieta alimenticia el consumo de los cereales y pseudocereales es aprovechado enormemente por contener compuestos bioactivos que no los puede producir el cuerpo humano. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es un pseudocereal de origen Andino, en el año 2013 en la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (ONU-FAO) lo declaró como el “Año Internacional de la Quinoa” en reconocimiento a las prácticas ancestrales de los pueblos andinos que han sabido conservar la quinua en su estado natural como alimento para las generaciones presentes y futuras.

La quinua contiene compuestos bioactivos como, proteínas, vitaminas y un alto contenido de ácidos grasos esenciales, compuestos que se los considera de gran valor en la alimentación. El alto contenido de ácidos grasos esenciales de la quinua tiene ventaja en comparación con el maíz, arroz y el trigo, contenido de ácidos grasos como son: ácido linoleico, ácido oleico, palmítico y α -linolénico entre otros constituyentes. La proporción de ácidos grasos al tratarse de un alimento vegetal, convierten a la quinua en una alternativa más en el control del aumento del colesterol sanguíneo y la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares.

En la actualidad existen diversas tecnologías para la extracción de compuestos bioactivos favorables en la alimentación. La tecnología de extracción con fluidos supercríticos está registrada como una tecnología limpia y adaptable a este tipo de compuestos que permite conservar las propiedades nutricionales y funcionales intactas. En este proceso supercrítico se utiliza como medio de extracción el dióxido de carbono (CO_2), entre sus ventajas ofrece extractos de mejor calidad e inocuo donde no deja rastros en el producto extraído.

El presente trabajo consiste en el estudio del método de extracción supercrítica para obtener compuestos bioactivos presentes en las semillas de quinua.

El trabajo contiene cuatro capítulos, en el primer capítulo es una recopilación de información y situación actual donde se describen los fundamentos de la investigación. El segundo capítulo, se especifica los objetivos del proyecto; el tercer capítulo, se describe los materiales y el método para la obtención de grasa de la quinua; así como la determinación de la

composición química y de análisis del mismo. Finalmente, el cuarto capítulo, se exhibe los resultados y discusiones en cuanto al rendimiento de extracción y la determinación de ácidos grasos presentes en las semillas de quinua.

Los objetivos fueron cumplidos, se aplicó la tecnología supercrítica para la recuperación de los compuestos bioactivos presentes en las semillas de quinua. Así mismo, se determinó el rendimiento de extracción y la composición química, evaluando el efecto óptimo de presión y temperatura del CO₂-SC.

Este trabajo de titulación se desarrolló en el Laboratorio de la Sección departamental de Ingeniería de Procesos de la Universidad Técnica Particular de Loja, los mismos que se disponen con los equipos de EFSC y Cromatógrafo de Gases facilitando su realización.

CAPITULO 1.
FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1. Generalidades de la quinua.

La palabra quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) proviene de la lengua quechua que significa “grano madre” (FAO, 2014), está asociada a la familia *Chenopodiaceae*, la diversidad de la quinua a escala continental crece en muchas latitudes diferentes, ha sido asociada con 5 grandes ecotipos: Tierras Altas (Perú y Bolivia), Valles Inter-Andinos (Colombia, Ecuador y Perú), Salares (lagos salados; Bolivia, Chile, Argentina), Yungas (Bolivia) y Costa/Tierras Bajas (Chile) (Didier *et al.*, 2014).

La Asamblea General de las Naciones Unidas declaró al 2013 el “Año Internacional de la Quinua”, en virtud de la propuesta presentada en Roma a la FAO por el Estado Plurinacional de Bolivia; de esta manera se reconoció el rol que puede jugar esta planta en la seguridad alimentaria mundial; la declaración oficial del “2013 - Año Internacional de la Quinua” por la ONU-FAO, resalta e insiste sobre el reconocimiento del rol de los pueblos andinos en la creación y la conservación de la biodiversidad de la quinua (Chevarria *et al.*, 2014).

1.1.1. Descripción botánica.

La planta de quinua (Figura 1) se adapta a diversos climas, el cultivo puede crecer con humedades relativas entre 40 y 80 % y soportar temperaturas desde -4 °C hasta 38 °C (Alberto *et al.*, 2014). Su período vegetativo varía desde los 90 hasta los 240 días, se adapta a suelos ácidos de pH 4.5 y alcalinos con pH de 9.0 (Mujica & Jacobsen, 2006).

La planta es erguida, alcanza alturas variables desde 30 a 300 cm dependiendo de los genotipos, de las condiciones ambientales donde crece y de la fertilidad de los suelos. Las que crecen en los valles tienen mayor altura que las que crecen por encima de los 4000 msnm y de zonas frías, en zonas abrigadas y fértiles las plantas alcanzan las mayores alturas, su coloración varía con los genotipos y fases fenológicas. La raíz es vigorosa, profunda, bastante ramificada y fibrosa; posiblemente le da resistencia a la sequía y buena estabilidad a la planta y a pesar de que pareciera ser una gran cabellera alcanza en casos de sequía hasta 180 cm de profundidad (Alberto *et al.*, 2014).



Figura 1. Cultivo de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)
Fuente: Semillas de Quinoa (Alberto *et al.*, 2014).
Elaboración: El Autor.

1.1.2. Origen y trascendencia de la quinua.

La quinua es usada por el hombre desde hace más de 7 000 años, se originó en la región andina de Bolivia y Perú, desde allí se trasmite por migraciones y traspaso a otras culturas antiguas del norte (Venezuela) y los extremos del sur de América del Sur (Argentina y Chile) es por eso que se conoce con diferentes nombres de acuerdo con las voces de diferentes culturas (Didier *et al.*, 2014).

Después de la llegada de los españoles, los europeos no pudieron introducir cereales como el trigo, el centeno y la avena por un fuerte patrón de diferencia genética en comparación del origen de la quinua, esto aseguró la conservación e intercambio de conocimientos de materiales de siembra. Mientras que la quinua es un cultivo muy antiguo, ha sido autorizada para ser sembradas en Europa, América del Norte y Asia con la información técnica disponible con respecto a las propiedades de la composición química y funcional (Vega-Gálvez *et al.*, 2010). Un impacto notable en la difusión y un elevado consumo de la quinua, ha sido valor que le han dado los cocineros y la gastronomía regional en toda la región andina, que han empezado a utilizar este y otros cultivos andinos en la preparación de diversos platos, así como el reconocimiento de potencial alimenticio en la dieta de las personas. En cada uno de estas diferentes etapas de la investigación el cultivo de la quinua se ha reconocido por su alta biodiversidad genética y su potencial de adaptación a diferentes medios ambientes, considerándosele como el “grano de oro” en la alimentación y nutrición a nivel global (Didier *et al.*, 2014).

1.1.3. Composición química de la quinua.

La quinua posee una alta concentración de compuestos bioactivos (Tabla 1), consideradas de valor especialmente por su alto contenido de nutrientes (Alberto *et al.*, 2014).

Tabla 1. Contenido de macronutrientes de la semilla de quinua por cada 100 g.

Componente	Contenido
Energía (Kcal)	399
Proteína (g)	16.5
Grasa (g)	6.3
Total, carbohidratos (g)	69.0
Fibra (g)	13.6 - 16.0
Agua (g)	8.2 - 13.1
Calcio (mg)	148.7
Hierro (mg)	13.2
Magnesio (mg)	249.6
Fosforo (mg)	383.7
Potasio (mg)	926.7
Zinc (mg)	4.4
Tiamina (mg)	0.2 - 0.4
Riboflavina (mg)	0.2 - 0.3
Ácido Fólico (mg)	0.0781
Niacina (mg)	0.5 - 0.7

Fuente: Chemical Composition and Nutritional Evaluation of Quinoa (Kozioł, 1992).

Elaboración: El Autor.

1.1.4. Ácidos grasos esenciales de la quinua.

En la Tabla 2, se indica los principales componentes de ácidos grasos de la quinua, los datos confirman el alto grado de insaturación en la grasa de quinua, tal como la literatura (Alvarez-Jubete *et al.* (2009); Alvarez-Jubete *et al.* (2010); Kozioł, 1992). En comparación con la composición de ácidos grasos del arroz, la quinua contiene 20 veces más ácidos grasos insaturados, especialmente el ácido linoleico (C18: 2) (Nowak *et al.*, 2015).

Tabla 2. Ácidos grasos seleccionados de quinua cruda (g / 100 g de porción comestible).

	Ácido mirístico (C14:0)	Ácido palmítico (C16:0)	Ácido esteárico (C18:0)	Ácido oleico (18:1)	Ácido linoleico (C18:2)	Ácido linolénico (C18:3)
Quinua	0.015	0.008	0.046	1.604	4.256	0.509

Fuente: Assessment of the Nutritional Composition of Quinoa (Nowak *et al.*, 2015).

Elaboración: El Autor.

1.1.5. Producción de quinua en el mundo.

Perú se mantiene como el principal productor mundial de quinua con 79 mil 269 toneladas en 2016, cantidad que representó el 53.3% del volumen total a nivel global y que se mantiene en el presente año.

En materia de rendimientos, la zona productora de Arequipa lideró el ranking con 3.4 toneladas por hectárea. Le siguieron Tacna, Lambayeque, Lima con 2 toneladas/hectárea y Junín (1.9 toneladas/hectárea). El rendimiento promedio nacional fue 1.2 toneladas por hectárea. Por otro lado, en los primeros diez meses del 2017, se produjeron 79.2 miles de toneladas, volumen superior en 2% respecto al mismo periodo del año pasado (77.4 miles de toneladas). Este resultado fue consecuencia de una mayor participación de las zonas productoras de Puno.

Perú obtuvo el primer lugar como exportador de este grano, alcanzando ventas al exterior por aproximadamente 196 millones de dólares, posicionándose en los mercados de Estados Unidos y Canadá, que destacan como los mayores consumidores de quinua. Conforme a las estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Bolivia y Ecuador contribuyeron con el 44% y 2.7% de la producción mundial, ubicándose en el segundo y tercer lugar respectivamente (García, 2016).

1.1.6. Producción de quinua en el Ecuador.

En el año 2017, Ecuador proyecta producir quinua en 16 mil hectáreas, ubicadas en las provincias de Carchi, Chimborazo, Imbabura y Pichincha, afirmó el viceministro de Desarrollo Rural del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), Jamil Ramón.

De acuerdo a las estadísticas del MAGAP, el país siembra alrededor de 2 mil hectáreas de quinua al año, con una producción total de 1.400 toneladas métricas, que se acerca a un promedio de 0.70 toneladas métricas por hectárea (entre 10 y 15 quintales por hectárea).

Según el director del MAGAP de Carchi, el valor de producción promedio de un quintal de quinua en el Ecuador, es de aproximadamente \$ 50 dólares. Actualmente el precio de venta del quintal ronda los \$ 160. Se ha logrado comercializar la semilla hasta en \$ 200 en el

mercado internacional. Pero todo depende la humedad (10% a 12%) y las impurezas (aceptable 1%).

1.2. Métodos de extracción de compuestos bioactivos.

Existen diversas tecnologías para el empleo de extracción de compuestos bioactivos favorables para la dieta alimenticia también aplicadas en la industria farmacéutica y de uso industrial. El proceso de extracción se constituye en fenómenos químicos (comportamiento e interacción molecular del disolvente con los compuestos del vegetal) y físicos (difusión de compuestos de la pared del vegetal) (Vinatoru, 2001). La Tabla 3, se detalla diferentes tecnologías de métodos de extracción que se aplican en la Ingeniería.

Tabla 3. Métodos de extracción.

Método	Detalle	Fuente
Método de extracción con disolventes	Método de extracción con disolventes volátiles, mezclando la muestra seca y molida con disolventes orgánicos permitiendo el intercambio iónico.	Martínez (2003)
Método de extracción por soxhlet	Proceso físico químico que consiste en la recirculación del vapor condensado, el vapor pasa por un sifón a través de la fuente del disolvente que se encuentra en evaporación continua arrastrando los compuestos presentes en la matriz vegetal.	Caldas (2012)
Método de extracción por destilación	Este método separa aceites esenciales de tejidos vegetales, sometiendo a una corriente de vapor en la cual los compuestos son arrastrados por vapor, se requiere varios periodos de tiempo y en algunos casos se obtiene bajos rendimientos.	Da Porto <i>et al.</i> (2009)
Tecnología de extracción por ultrasonido	Se fundamenta en el fenómeno de cavitación, consiste en formación, crecimiento y colapso de burbujas de vapor o gas debido al efecto del campo ultrasonoro dentro del líquido.	Azuola and Vargas Aguilar (2007)
Tecnología por fluidos supercríticos	Técnica que estudia las propiedades solvatantes de un fluido por encima de su punto crítico. Se trata de un proceso flexible debido a la posibilidad de modulación continua del disolvente, el dióxido de carbono (CO ₂) es el más popular, ya que es seguro, de fácil acceso y tiene un bajo costo.	Reverchon and De Marco (2006)

Elaboración: El Autor.

1.3. Extracción con fluidos supercríticos.

La extracción con fluidos supercríticos (EFSC) se orienta principalmente en obtener compuestos libres de solventes contaminantes a partir de matrices naturales. Para el éxito de las extracciones se deben tener en cuenta parámetros como, la solubilidad y ubicación del compuesto de interés en la matriz vegetal. El uso de la extracción con fluidos supercríticos proporciona tiempos de extracción más breves y una eficiencia de extracción mejorada por una mejor penetración en la matriz vegetal. Es importante, el conocimiento de la termodinámica y cinética del proceso, pues estas intervienen de manera directa en la solubilidad y transferencia de masa (Reverchon & De Marco, 2006).

Con el interés de obtener compuestos naturales libres de contaminantes por parte de Industrias química, farmacéutica, alimentaria, se ha favorecido a la extracción supercrítica como uno de los métodos más innovadores para obtener compuestos naturales. Se conoce que entre los solventes supercríticos el más utilizado es el dióxido de carbono (CO_2), su temperatura y presión crítica no son extremas (31.3°C ; 72.9 atm), es fácil de encontrar y de manejo seguro (Herrero *et al.*, 2006).

1.3.1. Fluido Supercrítico.

Se considera un fluido supercrítico (FSC) cuando el valor de la temperatura y presión están por encima del punto crítico (PC). Los valores de presión y temperatura después del PC están representados como temperatura crítica (T_c) y presión crítica (P_c); la temperatura crítica se define como la temperatura más alta a la que un gas se puede convertir en líquido por un aumento en la presión y la presión crítica es la más alta presión a la que se puede convertir un líquido a un gas por un aumento en la temperatura (Martínez, 2008).

En la Figura 2, se muestra un diagrama de fases en donde se puede observar las curvas de fusión, sublimación y vaporización de una sustancia a cualquier valor de presión y temperatura. La curva de vaporización desaparece en un punto del diagrama denominado punto crítico cuando se encuentran a presión y temperaturas "críticas" (P_c y T_c , respectivamente). Al punto crítico se lo define como aquel por encima del cual no se produce licuefacción al presurizar, ni gasificación al calentar; es así que en esta zona del diagrama no se la considera a la sustancia ni como líquido ni como gas, y se dice que se encuentra en estado supercrítico (Luque, 1993).

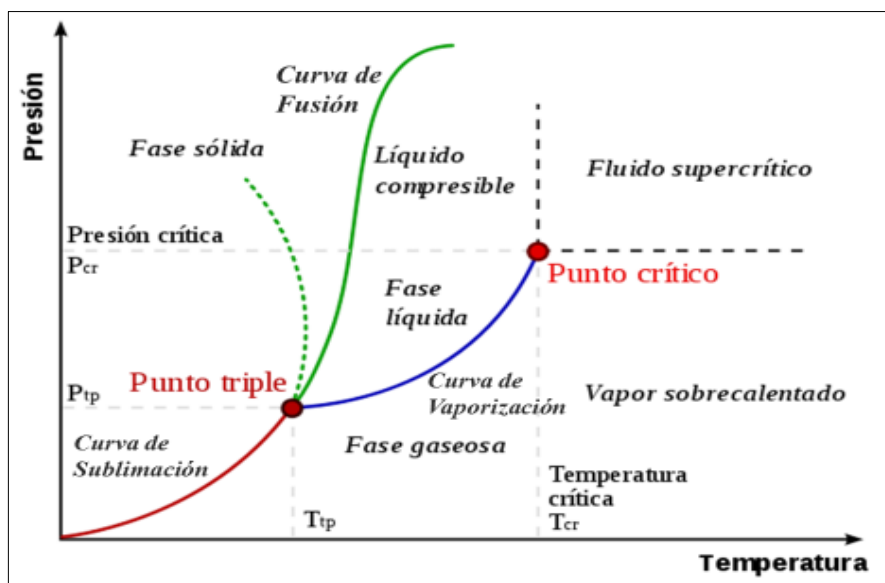


Figura 2. Diagrama de fase sólido/líquido/gas/fluido supercrítico.

Fuente: Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico (Luque, 1993).

Elaboración: El Autor.

Un FSC también debe ser inerte en términos de la materia prima procesada para evitar la reacción durante el proceso de extracción (Martínez, 2008). Los fluidos de bajo nivel de ebullición deben ser preferidos como disolventes supercríticos para la facilidad de eliminación después del procesamiento. El disolvente ideal también debe ser barato, no inflamable, no explosivo, no corrosivo, no tóxico, y fácilmente disponible en alta pureza (Cavalcanti *et al.*, 2012). En Tabla 4, indica las propiedades físicas de algunos disolventes en condiciones supercríticas.

Tabla 4. Propiedades físicas de disolventes supercríticos.

Fluido	Propiedades críticas			
	Punto de ebullición normal (°C)	Presión (MPa)	Temperatura (°C)	Densidad (g/cm ³)
Dióxido de Carbono	- 78.5	7.38	31.1	0.468
Etanol	88.0	4.88	32.2	0.203
Etileno	- 103.7	5.04	9.3	0.200
Propano	- 44.5	4.25	96.7	0.220
Propileo	- 47.7	4.62	91.9	0.230
Benceno	80.1	4.89	289.0	0.302
Tolueno	110.0	4.11	318.6	0.290
Clorotrifluorometano	- 81.4	3.92	28.9	0.580
Triclorofluorometano	23.7	4.41	196.6	0.554
Óxido nitroso	- 89.0	7.10	36.5	0.457
Amoniaco	- 33.4	11.28	132.5	0.240
Agua	100.0	22.531	374.2	0.272

Fuente: Fundamentals of Supercritical Fluid Extraction. Comprehensive Sampling and Sample Preparation (Cavalcanti *et al.*, 2012).

Elaboración: El Autor.

1.3.2. Dióxido carbono como solvente supercrítico.

El empleo de dióxido de carbono (CO_2) para realizar extracciones está registrado como una tecnología limpia que permite conservar las propiedades nutricionales y funcionales intactas. El CO_2 se somete a condiciones de temperatura y presión por encima de su punto crítico ($T_c = 31.08^\circ\text{C}$ y $P_c = 73.8$ bar). A estas condiciones se logra obtener un fluido considerado dióxido de carbono supercrítico ($\text{CO}_2\text{-SC}$) con elevado coeficiente de difusividad, una viscosidad más baja que los líquidos y consiguiendo una mejor penetración en las matrices sólidas aumentando la disolución de componentes químicos durante los procesos de extracción. El CO_2 como fluido supercrítico es el más estudiado a excepción de su polaridad que en principio limita su poder como solvente para extraer sustancias polares (Morillo *et al.*, 2010).

1.3.3. Proceso de extracción supercrítica.

El proceso de extracción, al igual que las extracciones con disolventes líquidos, puede producirse en forma estática o de forma continua. En la extracción estática, la celda de extracción es presurizada con el fluido en estado supercrítico conservando cerrada la válvula de salida del extractor. Una vez concluida la extracción, la misma válvula es abierta, permitiendo el paso de los fluidos con los compuestos extraídos al sistema de colección. En la extracción dinámica, el fluido en estado supercrítico se deja fluir de manera continua a través de la celda de extracción, conservando las válvulas de entrada y salida abiertas del extractor durante todo el tiempo de extracción.

En la Figura 3, se muestra un esquema del proceso típico de extracción de FSC que consiste en: extractor (4), separadores (6), intercambiadores de calor (3), bombas (2), válvulas (5) y condensadores (7). En la implantación de este proceso los materiales de construcción y accesorios deben soportar las condiciones de presión y temperatura a la que estén sometidos dependiendo del proceso.

El proceso inicia con la impulsión del disolvente (CO_2) mediante una bomba de alta presión (2) hacia el extractor (4), donde se encuentra la muestra. La cámara de extracción debe estar termostatazada (3) para controlar que se encuentre en las condiciones de temperatura necesarias, así mismo, la presión debe controlarse con una válvula de control (5). Cuando el CO_2 llega al extractor (4) los componentes de la muestra son disueltos y arrastrados hasta un separador (6) en donde precipitan debido a la disminución del poder solvente del CO_2 al reducir la presión (Meneses *et al.*, 2013).

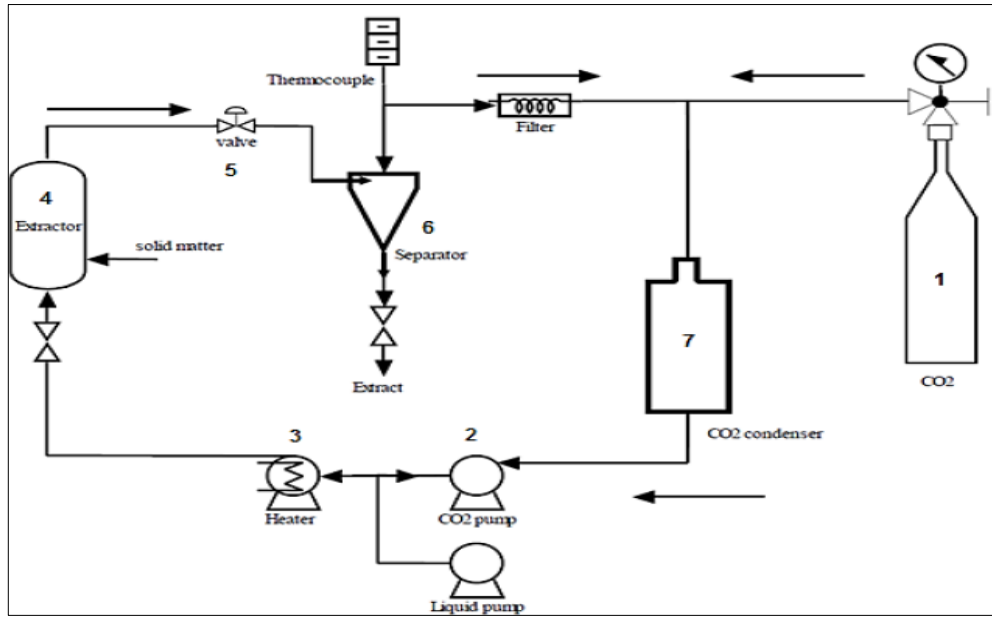


Figura 3. Esquema típico de extracción con fluidos supercríticos.

Fuente: Supercritical antisolvent extraction of bioactive compounds from mango by products (Meneses *et al.*,2013).

Elaboración: El Autor.

1.3.4. Ejemplos de extracción supercrítica de compuestos.

En la Tabla 5, se presentan algunos compuestos obtenidos mediante la extracción supercrítica que tienen gran importancia en alto valor añadido principalmente nutracéuticos y productos farmacéuticos.

Tabla 5. Compuestos bioactivos extraídos de algunas especies mediante EFSC.

Materia prima	Nombre Científico	Compuesto	Fuente
Pecah Kaca (hojas)	<i>Strobilanthes crispus</i>	Compuestos flavonoides; eran (+) - catequina, (-) - epicatequina, rutina, miricetina, luteolina, apigenina, naringenina y kaempferol.	Liza <i>et al.</i> (2010)
Menta y Ajedrea (hojas y tallos)	<i>Mentha pulegium</i> y <i>Satureja montana</i> L.	Pulegona y la Mentona, Carvacrol y Timol.	Palavra <i>et al.</i> (2011)
Romero (hojas y tallos)	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alcanfor (13,4 %) y 1,8-Cineol (10,1%), Aceite esencial (terpenos)	Rodríguez <i>et al.</i> (2012)
Subproductos de guayaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Antioxidantes Lipofílicos.	Jiménez (2015)
Guanábana (semilla)	<i>Annona muricata</i>	Ácidos Grasos; oleico, palmítico y linoleico) y Esteroles.	Dorado <i>et al.</i> (2016)
Chirimoya (cascara)	<i>Annona cherimola</i>	Fenoles totales y actividad antioxidante.	Fierro (2016)
Achiote (semilla)	<i>Bixa Orellana</i> L.	Tocotrienoles.	Araque (2017)

Elaboración: El Autor.

1.4. Cromatografía de Gases.

La Cromatografía de gases es una técnica de separación de compuestos orgánicos e inorgánicos térmicamente estables y volátiles. La técnica de separación que tiene como objetivo separar las mezclas de muestras complejas en fase gaseosa; en la cual una fase se mantiene fija y la otra se mueve a través de ella. La fase móvil está constituida por una mezcla que contiene el compuesto deseado en el solvente que es generalmente un gas inerte como el helio, nitrógeno o hidrogeno a través de una fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. La fase estacionaria retrasa el paso de los componentes de la muestra, de forma que los componentes la atraviesan a diferentes velocidades y se separan en el tiempo. Cada uno de los componentes de la mezcla presenta un tiempo característico de paso por el sistema, denominado tiempo de retención (Gutiérrez & Droguet, 2002).

En la Figura 4, se muestra un diagrama esquemático de un Cromatógrafo de Gases. La muestra de un líquido volátil o de un gas se inyecta a través de un septo (diafragma de silicona), en un inyector caliente, en cuyo interior se evapora rápidamente. El vapor es arrastrado a través de la columna por el gas portador, que puede ser Helio (He), Nitrógeno (N₂) o Hidrogeno (H₂) y los analitos después de separados llegan al detector, cuya respuesta aparece en la pantalla de un ordenador. La columna debe estar lo suficientemente caliente para que los analitos alcancen una presión de vapor adecuada y eluyan en un tiempo razonable. El detector se mantiene a una temperatura más elevada que la columna de forma que los analitos se encuentren en forma gaseosa (Harris, 2012).

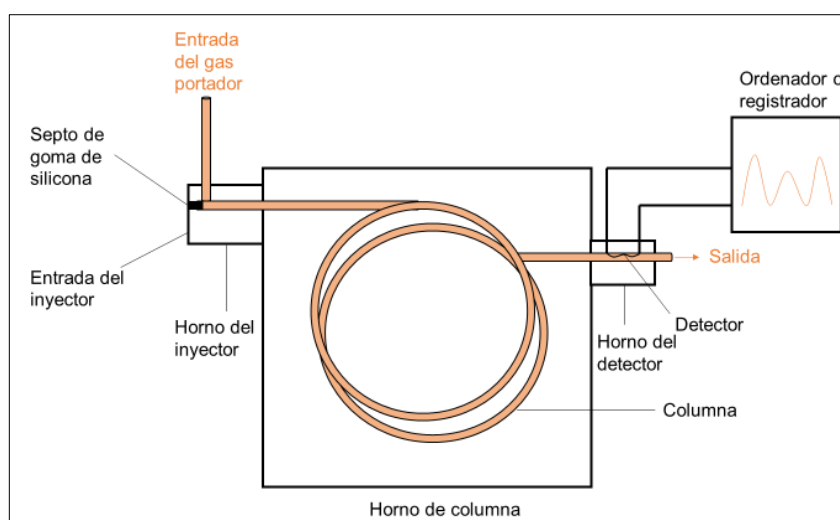


Figura 4. Diagrama esquemático de un cromatógrafo de gases.
Fuente: Análisis químico cuantitativo (Harris, 2012).
Elaboración: El Autor.

Entre los detectores más utilizados en cromatografía de gases está el detector ionización de llamas (FID) que, por su alta versatilidad, hace posible la detección de un elevado tipo de compuestos. Este tipo de detector es de respuesta universal, ya que es selectivo hacia los compuestos que presentan enlaces C-H, por lo que son muy pocos los compuestos que no dan señal en él. En el detector (Figura 5), la muestra que sale de la columna se mezcla con una corriente de gas y luego llega a una llama de aire e hidrógeno, donde se quema y produce iones que son conducidos a un colector de iones, gracias a un campo magnético de entre 200 y 300V, la corriente colectada es amplificada por un circuito de alta impedancia. Este tipo de detectores se operan a más de 250°C para evitar la condensación de agua y de muestras volátiles (Olguín *et al.*, 2004).

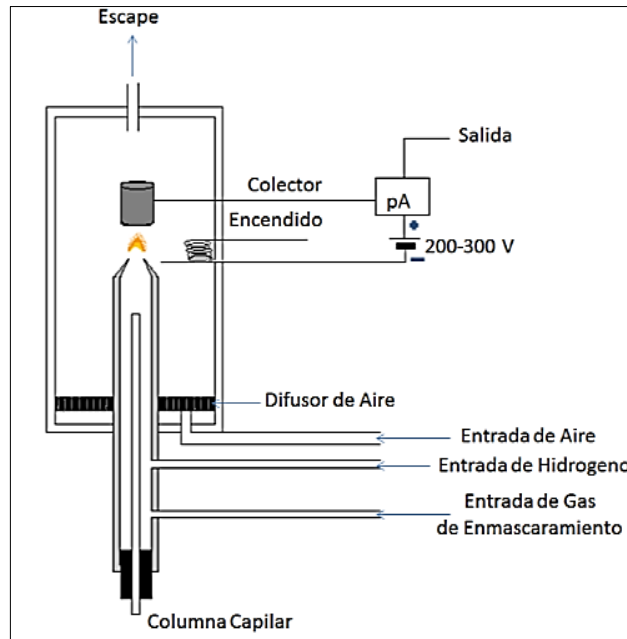


Figura 5. Esquema del detector de ionización de llama (FID).
Fuente: Métodos en biotecnología (Olguín *et al.*, 2004).
Elaboración: El Autor.

CAPITULO 2.
OBJETIVOS DEL PROYECTO

2.1. Objetivo general.

Obtener extractos que contienen ácidos grasos esenciales a partir de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) empleando Tecnología de Extracción Supercrítica.

2.2. Objetivos específicos.

- Extraer la grasa de quinua empleado CO₂ Supercrítico (CO₂-SC) y determinar su rendimiento.
- Determinar la composición química de la grasa de quinua mediante Cromatografía de Gases acoplado a un detector FID.

CAPITULO 3.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima.

En el presente estudio, se utilizó la semilla de quinua de la variedad INIAP Tunkahuan, fue adquirida en el centro comercial Supermaxi de la ciudad de Loja de la marca Ina Quinoa (Figura 6).



Figura 6. Semillas de Quinoa (Ina Quinoa)
Fuente: Centro comercial Supermaxi de la ciudad de Loja.
Elaboración: El Autor.

3.2. Reactivos.

Extracción supercrítica: Se utilizó CO₂ grado alimenticio 99.9% de pureza suministrado por Indura y Etilenglicol suministrado por Laquin S.A.

Determinación de ácidos grasos: Estándar analítico para el análisis de ésteres metílicos F.A.M.E. mix, C₄ – C₂₄ Cod. 18919-1AMP (Sigma - Aldrich). Gas helio 5.0 % y Gas hidrógeno 5.0 % suministrados por Indura. Los disolventes utilizados fueron de grado HPLC: Hexano, Metanol e Hidróxido de potasio, todos provenientes de Sigma - Aldrich Chemistry.

3.3. Métodos.

A continuación, se presenta el método que incluye el tratamiento de la materia prima, se describe el procedimiento experimental de la extracción supercrítica de la grasa de quinua, la

determinación de la composición química de la grasa de quinua y finalmente se describe el análisis estadístico.

3.3.1. Tratamiento de la materia prima.

Previo a la extracción de grasa, las semillas de quinua se trituraron en un molino de discos ultracentrífuga (Retsch), luego se pasaron por una serie de tamices (10-45, A.S.T.M.) por 5 minutos.

La quinua molida se almacenó a temperatura ambiente hasta su posterior uso. En el Anexo 1 literal A, presenta un diagrama esquemático del tratamiento de la materia prima del procedimiento mencionado.

3.3.2. Extracción supercrítica de la grasa de quinua.

Para la obtención de la grasa de quinua, se utilizó el equipo de fluidos supercríticos aplicando la técnica de extracción CO₂-SC. Se trabajó a presiones de extracción de 80,140 y 200 bares y temperaturas de 40, 50 y 60 °C asegurando la condición supercrítica del CO₂ que es de 73.8 bar y 31.1 °C (Morillo *et al.*, 2010), la temperatura máxima fue de 60 °C para evitar la degradación térmica de compuestos bioactivos de la quinua causada por altas temperaturas (Cervilla *et al.*, 2014; Brady *et al.*, 2007). El tiempo de extracción fue de 2 horas manteniendo constante el flujo de 20000 mL CO₂/min (medidos a condiciones ambientales).

En la Figura 7, se muestra el diagrama del equipo de EFSC. Primeramente, se pesaron 40 gramos de muestra que se alimentaron en el extractor (4), ocupando un volumen correspondiente a la mitad del extractor; la muestra se mezcló con perlas de cristal para evitar la formación de grumos y distribuir uniformemente la presión y el flujo de CO₂, con esto se logró buen contacto entre el CO₂ y las partículas de la muestra de quinua durante el proceso de extracción.

Se conectó correctamente las tuberías y controladores de temperaturas, se estableció la temperatura a trabajar en la estufa y se verificó que la temperatura establecida coincida con controlador (T1). Manteniendo cerrada la válvula (V3), Se abrió la primera válvula (V1) de la parte superior del cilindro de CO₂ (1) para la circulación del gas por la tubería hasta el extractor (4), seguidamente se predio la bomba (3); mediante este sistema de bombeo la presión del flujo CO₂ va aumentando en el extractor.

Se procedió abrir la válvula (V3) de forma controlada supervisando en el manómetro (P3) que se mantenga constante. El flujo de CO₂-SC se reguló con la válvula dosificadora de la bomba (V2) y se supervisó en el medidor de flujo (6). Cuando las condiciones de temperatura, presión y flujo se estabilizaron se comenzó a contabilizar el tiempo de extracción. Los compuestos solubles en CO₂-SC continuamente fueron arrastrados a través de la tubería, pasando por la válvula (V3), en donde ocurrió una caída de presión que provoca la expansión del CO₂, esta corriente de CO₂ y compuestos extraídos se condujo al separador (5) que operó y reguló con la válvula (V5) a presión entre 30-40 bar, aquí el CO₂ se expande a fase de gas y los compuestos dejan de ser solubles.

En el separador se recogieron periódicamente los extractos en tubos centrifuga abriendo la válvula (V4), mientras que el CO₂ gaseoso pasó por el medidor de flujo (6) y se fue a la atmósfera.

Para finalizar se pagó bomba (3), se cerró válvula (V1) de paso del CO₂ del tanque (1), despresurizamos (a las mismas condiciones de flujo y temperatura) y desmontamos el equipo.

El rendimiento de extracción se determinó mediante la Ecuación 1, con el peso acumulado de cada extracción dividido para el peso de la muestra alimentada en el extractor por cien y cada una de las muestras se almacenaron a -20 °C. En el Anexo 1 literal B, muestra el proceso de extracción supercrítica mencionado.

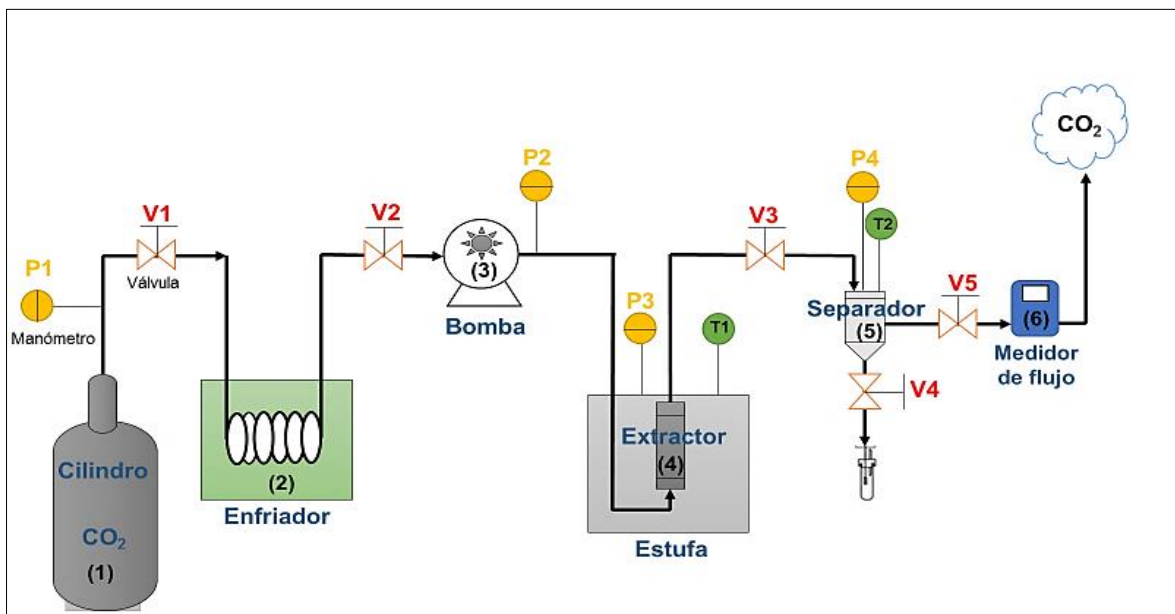


Figura 7. Diagrama del equipo de extracción de fluidos supercríticos. T, Indicador de temperatura P, Manómetros; V, Válvulas.

Fuente: Laboratorio de Alimentos de la UTPL.

Elaboración: El Autor.

$$\text{Rendimiento de extracción (\%)} = \frac{\text{peso del extracto obtenido (gr)}}{\text{peso de muestra inicial alimentada(gr)}} \times 100 \quad \text{(Ecuación 1)}$$

3.3.3. Determinación de la composición química de la grasa de quinua.

3.3.3.1. Preparación del estándar.

La identificación y cuantificación de los ácidos grasos del aceite de quinua se realizó por el método de un estándar interno. La composición se establece por la normalización de áreas, técnica más empleada y de mayor precisión, se refiere a utilizar la altura de pico o el área comparándolo con la del patrón inyectado bajo las mismas condiciones cromatográficas. La comparación de los resultados obtenidos permitirá establecer la naturaleza lipídica del aceite (Sotomayor, 2016).

Se utilizó la mezcla estándar de 37 ácidos grasos en forma de ésteres metílicos. El estándar está disponible en ampollas de 100 mg de mezcla neta (2% - 4% de concentración relativa).

Todo el estándar fue diluido en 10 ml de n-Hexano antes de usar. Una vez preparada, fue conservando una temperatura de -20 °C o inferior para su almacenamiento.

Del estándar inicial se tomaron alícuotas de 10 µl, 50 µl, 125 µl, 250 µl y 500 µl, aforadas a 1000 µl con n-Hexano para posteriormente inyectar al cromatógrafo de gases. En el Anexo 1 literal C, muestra un diagrama esquemático de la preparación del estándar.

3.3.3.2. Tratamiento de extractos.

Los extractos obtenidos mediante EFSC previo a su análisis cromatográfico, se sometieron a una esterificación para transformar los ácidos grasos en ésteres metílicos (FAME) mediante el método AOAC 920.118 (Horwitz, 2000).

Se pesaron 0.1 g de grasa extraída en un tubo de centrifuga, seguidamente se añadieron 2 mL de n-Hexano y agitando hasta disolver la grasa; posteriormente se colocaron 0.2 mL de solución metanólica de KOH 2N (disolver 11.2 g de hidróxido potásico en 1000 mL de metanol) y se agitó en vortex por 30 segundos. Se Centrifugó por 10 minutos a 2 000 rpm hasta observar la separación de fases, después la muestra fue diluida y agitada para homogenizar la dilución e inyectar al Cromatógrafo de Gases.

Luego de la esterificación se colocó la muestra en viales ámbar con su respectiva identificación y se inyectó en el cromatógrafo. Tomando en cuenta que mientras se inyecta una muestra las demás deben mantenerse en congelación hasta que termine la inyección anterior, homogenizamos e inyectamos la siguiente. En el Anexo 1 literal C, muestra un diagrama esquemático de la preparación de la muestra mencionado.

3.3.3.3. Análisis cromatográfico.

La composición química de la grasa de quinua se determinó por cromatografía de gases acoplado a un detector de ionización de llamas (FID). La medición se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent 6890N (Figura 8), constituido con un sistema de datos “MSD-Chesmatom D.01.00SP1”, el cual cuenta con un inyector automático split/splitless serie 7683 (Agilent Technologies, Inc. 2006).



Figura 8. Cromatógrafo de gases Agilent 6890N.

Fuente: Laboratorio de Química Analítica de la UTPL

Elaboración: El Autor

Las condiciones bajo las cuales se inyectó cada muestra en el cromatógrafo de gases se muestran en la Figura 9.

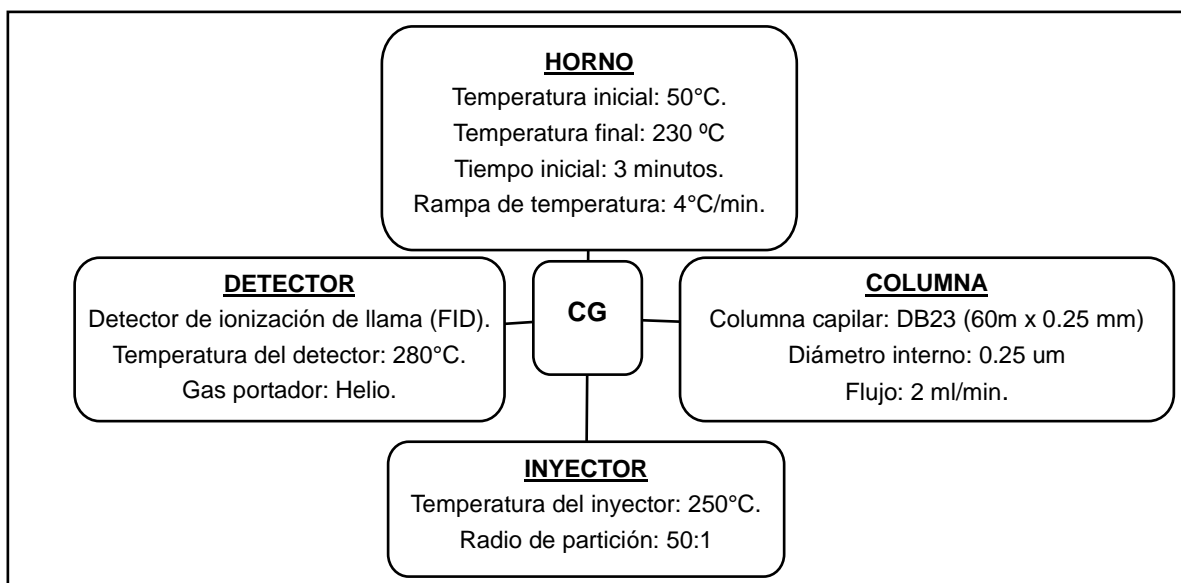


Figura 9. Condiciones de operación para Cromatografía de Gases.

Fuente: La experimentación.

Elaboración: El Autor.

3.3.4. Análisis estadístico.

La experimentación de EFSC se realizó siguiendo un diseño factorial 3² con una repetición y de manera aleatoria (Tabla 6). Se evaluó el efecto de temperatura y presión del CO₂-SC sobre rendimiento. La influencia de cada parámetro se evaluó mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de 95%, adicionalmente se realizó un análisis de diferencia mínima significativa (LSD) para identificar el mejor tratamiento. El análisis se realizó en el software estadístico Stargraphics Centurion v.16®.

Tabla 6. Parámetros de estudio para pruebas de extracción supercrítica.

Diseño factorial 3²		
Experimento (Nº)	Presión (bar)	Temperatura (°C)
1	80	40
2	80	50
3	80	60
4	140	40
5	140	50
6	140	60
7	200	40
8	200	50
9	200	60

Fuente: La experimentación.

Elaboración: El Autor

CAPITULO 4.
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Obtención del tratamiento de la materia prima.

Después el proceso de triturado de la semilla, el tamaño de partícula obtenido de la semilla estuvo entre 250 y 500 μm . La razón por la que el material debe ser molido o triturado es facilitar la extracción, ya que permite obtener mayor área de contacto entre el material y el solvente. Entre más finas sean las partículas, menor la distancia que debe recorrer el aceite y solvente en la semilla (Suárez & Toro, 2012).

4.2. Obtención de grasa de quinua mediante extracción supercrítica.

En la Figura 10, se muestra uno de los extractos obtenidos mediante extracción supercrítica, estas presentaron coloración amarillenta, olor característico a cereal, su consistencia fue grasoso, viscoso y espeso.

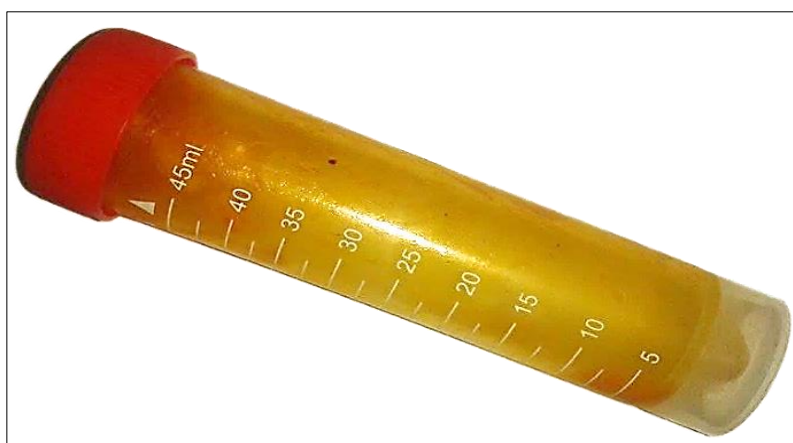


Figura 10. Muestra de extracto de la quinua obtenido por $\text{CO}_2\text{-SC}$ (P: 200 bar; T: 60 °C).

Fuente: La experimentación.

Elaboración: El Autor.

En la Tabla 7, se muestra el peso y rendimiento promedio obtenidos en el proceso EFSC de grasa en cada una de las condiciones de presión y temperatura. El mayor rendimiento (% p/p) fue de $2.17 \pm 0.27\%$ (P: 200 bar; T: 60°C), siendo estas las mejores condiciones experimentales, de tal manera que, al aumentar las condiciones de presión y temperatura en el mismo tiempo de extracción, se obtiene un mayor rendimiento de grasa.

Este rendimiento fue superior al reportado por Grażyna (2014), a diferencia del tiempo (1 hora) quien obtuvo un rendimiento de aceite (%p/p) 1.07 (240 bar; T: 110°C), en la extracción supercrítica de tocoferoles enriquecidos en aceite de la semilla de quinua.

Analizando el rendimiento obtenido de aceite mediante la técnica de extracción Soxhlet aplicada por Grażyna (2014), obtuvo un rendimiento de (%p/p) $7.21 \pm 0.4\%$ utilizando n- hexano por 16 horas a 60 °C. Con el mismo método de extracción Rubio (2005), obtuvo un rendimiento de $6.5 \pm 0.2\%$. Estos rendimientos son superiores al obtenido mediante la ESFC ($2.17 \pm 0.27\%$) aunque esta técnica de extracción Soxhlet aparentemente parece ser favorable al rendimiento de extracción de grasa, pero la posibilidad de observar pequeña cantidad de solvente en la grasa, puede limitar su aplicabilidad y consumo. además, requieren un largo tiempo de extracción.

Tabla 7. Resultados de extracción de grasa de semillas de quinua obtenido por CO₂-SC.

Presión (bar)	Temperatura (°C)	Peso promedio (g)	Rendimiento (%p/p) ± Desviación estándar
80	40	0.19	0.49 ± 0.11
80	60	0.14	0.36 ± 0.16
80	50	0.15	0.36 ± 0.08
140	40	0.46	1.16 ± 0.20
140	50	0.27	0.69 ± 0.32
140	60	0.24	0.59 ± 0.06
200	40	0.21	0.59 ± 0.13
200	50	0.60	1.49 ± 0.52
200	60	0.87	2.17 ± 0.27

Fuente: La experimentación.

Elaboración: El Autor

4.2.1. Análisis estadístico para el rendimiento de la grasa de quinua.

En el análisis de varianza (Anexo 3) del rendimiento del extracto de grasa, se observa que los factores de Presión (A) y la interacción de Presión-Temperatura (AB) tienen un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$), indicando un nivel de confianza del 95% sobre el rendimiento en la extracción de la grasa de quinua utilizando CO₂-SC. Al igual, el diagrama de Pareto (Figura 11) proporciona la variabilidad del rendimiento de grasa de semillas de quinua de acuerdo al nivel de los factores.

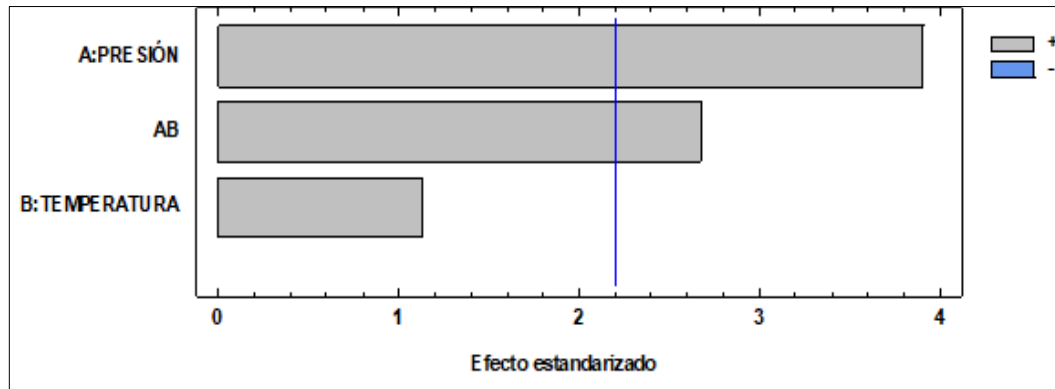


Figura 11. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de la grasa de quinua, **AB:** Interacción entre Presión y Temperatura.
Fuente: La experimentación.
Elaboración: El Autor.

En el diagrama de efectos principales (Figura 12) ilustra que la presión tiene mayor influencia que la temperatura en el rendimiento de grasa. La pendiente muestra un efecto positivo de la presión sobre el rendimiento. Existen comportamientos similares de efectos principales que han sido reportado en la EFSC de aceite de semillas de granada (Liu *et al.*, 2012), de semillas de maracuyá (Cardoso de oliveira *et al.*, 2013), almendra de mango (Jahurul *et al.*, 2014), aceite de café (Hurtado *et al.*, 2016), semillas de guayaba (Cerón *et al.*, 2016) y semillas de guanábana (Dorado *et al.*, 2016).

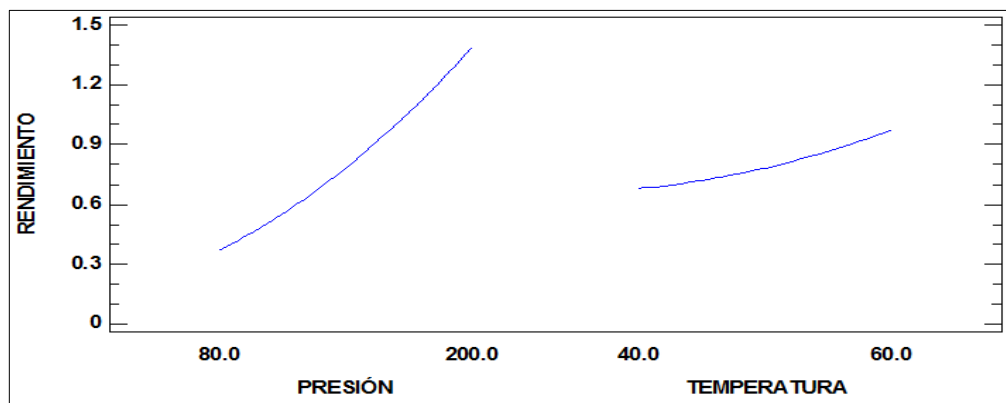


Figura 12. Diagrama de efectos principales para el rendimiento de la grasa de quinua.
Fuente: La experimentación.
Elaboración: El Autor.

La Figura 13, indica una interacción entre la presión y la temperatura en la extracción, el rendimiento del extracto de grasa es mayor a 200 bares cuando se trabaja a 60°C. Por otro lado, cuando la presión es de 80 bares, el rendimiento aumenta muy poco cuando se mantiene la temperatura a 40°C.

Se puede comprobar que al trabajar a presiones bajas (80 bar), al aumentar la temperatura de 40 a 60 °C, se observa una disminución en el rendimiento. Esto se debe a la relación inversa que existe entre la temperatura y la densidad, por lo cual, a una mayor temperatura de extracción, se experimenta una disminución de la densidad del CO₂-SC y en consecuencia en el rendimiento. Sin embargo, al operar a un nivel de presión más alto (200 bar), el rendimiento aumenta, al incrementar los niveles de la temperatura, a pesar de la reducción en la densidad del CO₂-SC (Cerón, 2016).

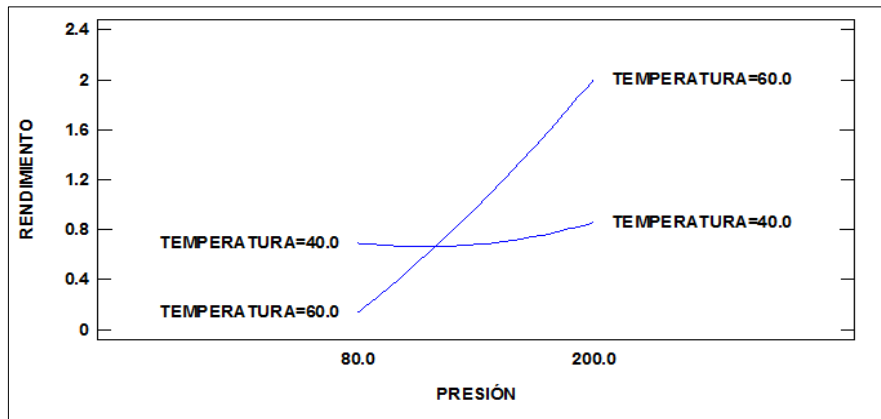


Figura 13. Diagrama de interacción para el rendimiento de la grasa quinua.
Fuente: La experimentación
Elaboración: El Autor.

4.3. Análisis de ácidos grasos de la grasa de quinua por CG-FID.

La corrida cromatográfica del estándar con 37 picos y sus tiempos de retención se observa en la Figura 14. En el Anexo 2 se muestra la hoja de reporte de la corrida cromatográfica del estándar.

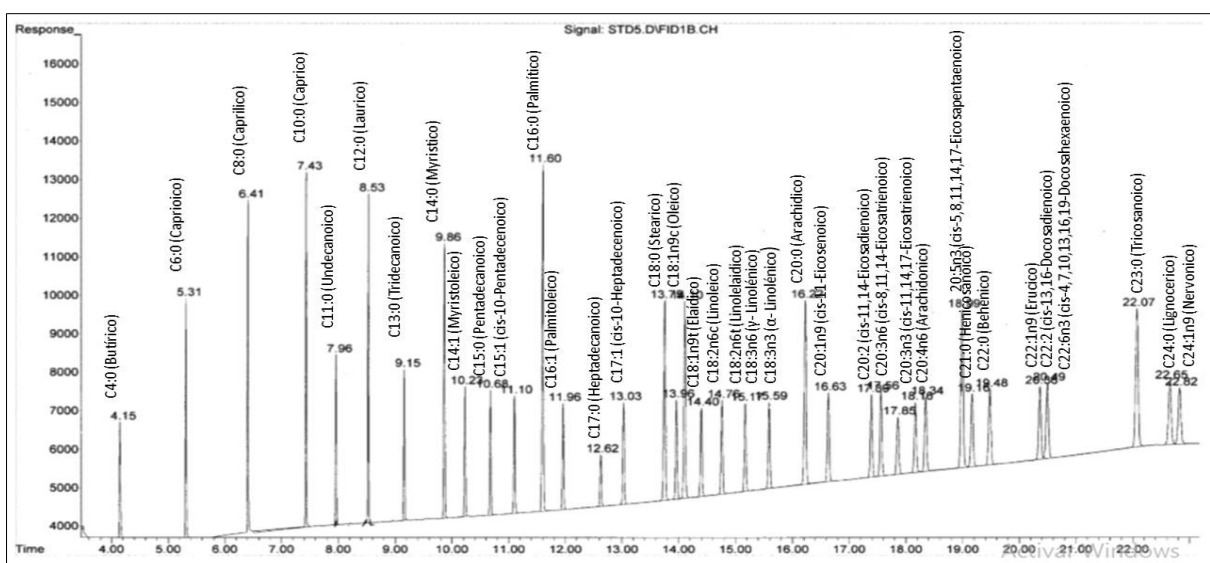


Figura 14. Perfil cromatográfico del Componente F.A.M.E. Mix, C₄-C₂₄.
Fuente: 18919-1AMP (Sigma - Aldrich).
Elaboración: El Autor.

Entre los ácidos grasos identificados por GC-FID, en cada una las muestras se encontraron: ácido linoleico, ácido oleico, ácido palmítico y ácido α -linolénico. En la Figura 15, el ácido graso palmítico se evidencio a 11.58 min, seguido por ácido oleico a 14.09 min, el ácido linoleico a 14.75 min y finalmente el ácido α -linolénico a 15.57 min, todos identificados mediante el estándar interno.

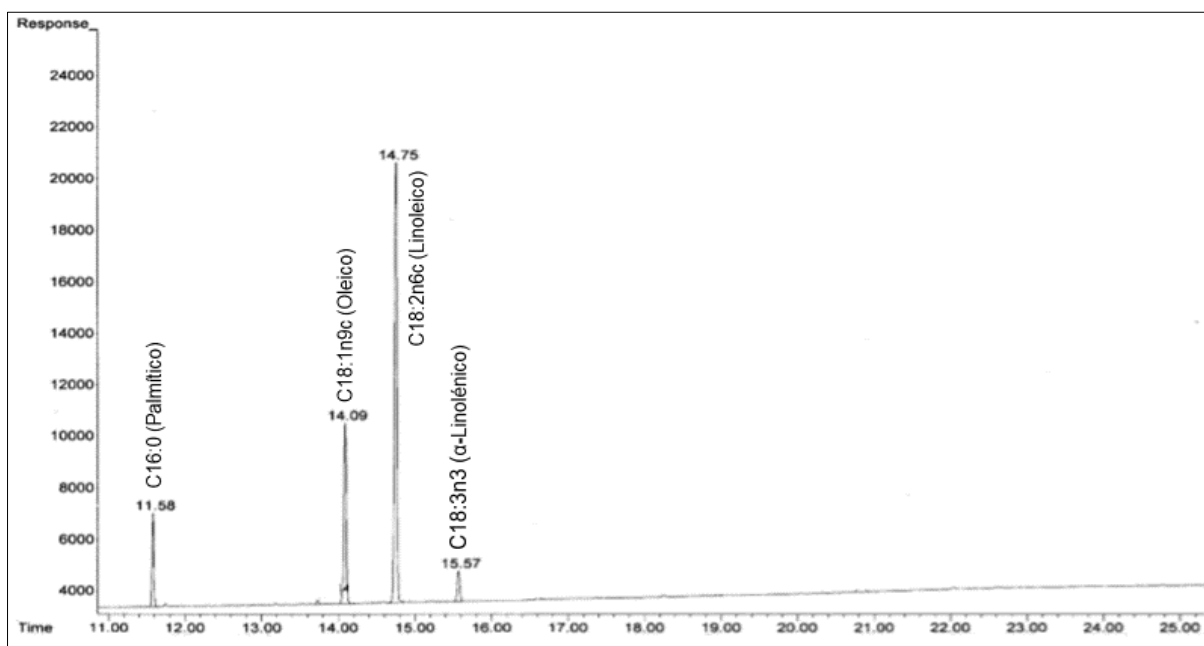


Figura 15. Perfil cromatográfico de ácidos grasos presentes en aceite de la semilla de quinua en condiciones supercríticas (P: 200 bares y T: 50 °C).

Fuente: La experimentación.

Elaboración: El Autor.

En la Tabla 8, se presentan la concentración en mg de ácidos grasos/kilogramo de semilla (mg/kg) que se recupera de la semilla de quinua con su correspondiente desviación estándar, obtenido con CO₂-SC a diferentes condiciones de presión y temperatura. Se puede afirmar que, obtuvo una mayor concentración (P: 200 bar; T: 50°C) de ácidos grasos polinsaturado; ácido linoleico con un contenido de orden del 62.7%, seguido por los ácidos grasos monoinsaturado; oleico 25.2% y palmítico 12.1%.

Así mismo, a la presión de 200 bares y temperatura de 60 °C se puede extraer una gran cantidad de grasa, pero no se identifica una alta concentración de ácido linoleico siendo el ácido en mayor concentración de la semilla. Se puede decir, que posiblemente a estas condiciones se obtiene una mezcla de ácidos grasos con otros compuestos que no corresponden a los ácidos grasos de interés en nuestro estudio. Si se aumenta la presión se aumenta la extracción de compuestos de alto peso molecular (incluyendo polifenoles y los principales antioxidantes en los extractos de plantas) (Esquível et al., 1999; Conde, 2009).

Con el método de extracción Soxhlet aplicado por Rubio (2005) y Mendoza (2015), pudieron concluir que, en el aceite de quinua predominan los ácidos grasos insaturados, destacando el alto contenido de ácido linoleico y ácido oleico. Las proporciones de ácidos grasos encontradas por Rubio (2005), fueron: ácido linoleico (56%) y ácido oleico de (21%). Así mismo, las proporciones de ácidos grasos encontradas por Mendoza (2015), fueron: ácido linoleico (38.3 %) y ácido oleico (21.5%). Por lo tanto, la cantidad de ácido linoleico promedio difieren a los de este estudio por ser menores a las recuperadas mediante la extracción supercrítica (P: 200 bar; T: 50°C). De esta manera se puede establecer que el aceite de semillas de quinua obtenido con ESFC, está compuesto en promedio por una mayor proporción de ácidos grasos insaturados.

Por lo tanto, es posible afirmar que el aceite de la semilla de quinua se constituye como una fuente importante de ácidos grasos polinsaturados y monoinsaturados, independientemente del método de extracción. Se puede observar un contraste con los valores reportados por los autores; estos presentan el mismo orden de abundancia de ácidos, algunos mencionan que el perfil de ácidos grasos puede depender de varios factores climáticos, características del suelo, factores genéticos y ambientales (Fuentes *et al.*, 2008), al igual que de las condiciones ambientales, del cultivar, edad y madurez de la planta (Peiretti *et al.*, 2013).

Tabla 8. Resultados de extracción de ácidos grasos de semillas de quinua obtenido por CO₂-SC.

Presión (bar)	Temperatura (°C)	Concentración Promedio de ácidos grasos (mg/kg) * ± Desviación estándar		
		Linoleico	Oleico	Palmítico
80	40	11819.5 ^a ± 11.00	4736.6 ^b ± 4.21	2515.0 ^c ± 2.08
80	50	783.2 ^a ± 0.42	18044.7 ^b ± 17.40	8257.8 ^c ± 7.68
80	60	1942.9 ^a ± 0.23	983.9 ^b ± 0.08	817.6 ^c ± 0.01
140	40	8936.5 ^a ± 0.04	3443.8 ^b ± 0.02	2005.4 ^c ± 0.01
140	50	13208.4 ^a ± 11.95	5246.6 ^b ± 4.58	2638.8 ^c ± 2.00
140	60	1272.6 ^a ± 0.77	476.0 ^b ± 0.48	614.5 ^c ± 0.17
200	40	3145.6 ^a ± 2.19	1240.9 ^b ± 0.68	980.9 ^c ± 0.36
200	50	15634.3 ^a ± 13.04	6274.9 ^b ± 5.15	3085.1 ^c ± 2.17
200	60	2384.8 ^a ± 0.67	1122.5 ^b ± 0.23	793.3 ^c ± 0.06

Fuente: La experimentación.

* mg aceite/kg de semilla en base húmeda.

Las letras iguales en cada columna no denotan diferencia significativa en los factores de presión y temperatura.

Elaboración: El Autor.

4.3.1. Análisis estadístico para concentración de ácidos grasos de la quinua.

La significancia estadística de la presión y la temperatura sobre la concentración del ácido linoleico, ácido oleico y ácido palmítico en aceite de quinua se realizó empleando un análisis de varianza (ANOVA) como se indican en el Anexo 3, en la cual se puede observar que no existe el efecto estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$) de los factores presión y/o temperatura sobre los ácidos grasos identificados.

La Tabla 9, reporta los valores de p-valor, para las variables sobre las cuales los factores fueron evaluados. La presión y la temperatura y sus interacciones no tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de los ácidos grasos identificados.

Tabla 9. Valor de P en el análisis de varianza para la composición del aceite de semillas quinua.

Factores	Ácido Linoleico	Ácido Palmítico	Ácido Oleico
Presión (A)	0.8670	0.5694	0.9506
Temperatura (B)	0.3817	0.2642	0.7225
AB	0.5658	0.8344	0.5449

Fuente: La experimentación.

Elaboración: El Autor.

En la figura 16, se puede observar en el diagrama de Pareto correspondiente del ácido linoleico, ácido oleico y ácido palmítico, en los tres ácidos no mostró ningún efecto significativo en los factores de presión y temperatura ni de sus interacciones sobre la cantidad de ácido de los extractos.

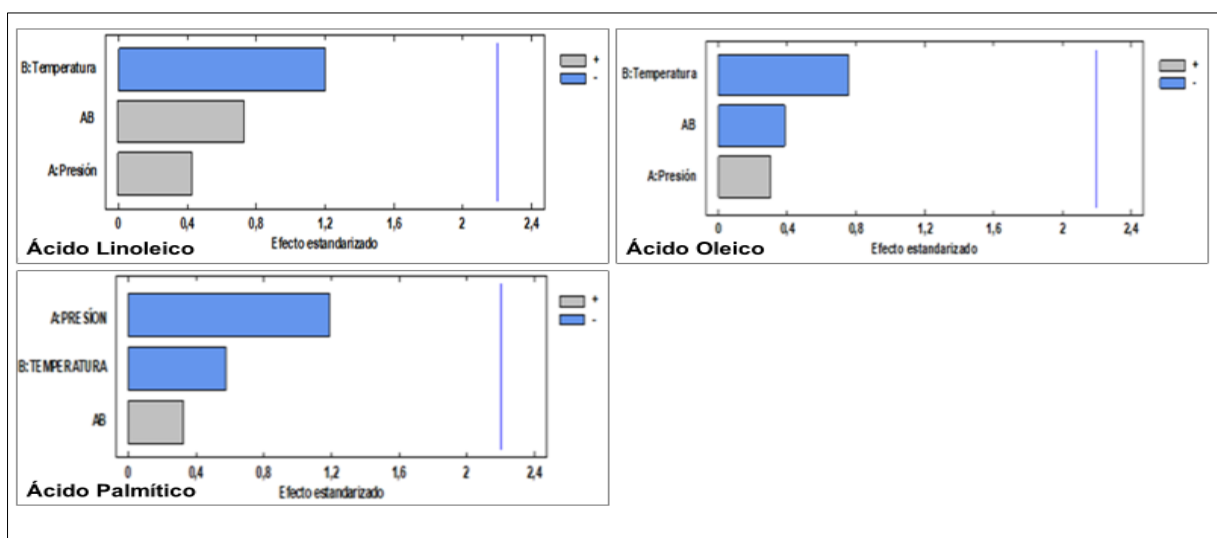


Figura 16. Diagrama de Pareto Estandarizado para la concentración del ácido Linoleico, ácido oleico y ácido palmítico en el aceite de quinua.

Fuente: La experimentación.

Elaboración: El Autor.

CONCLUSIONES

- La tecnología de extracción con fluidos supercríticos fue adecuada para obtener extractos de grasa con compuestos bioactivos a partir de la semilla de quinua, utilizando CO₂-SC como medio de extracción.
- En la experimentación, los rendimientos de ESFC de grasa estuvieron comprendidos (%p/p) entre 2.17 ± 0.27 % (P: 200 bar; T: 60°C) y 0.36 ± 0.16 (P: 80 bar; T: 60°C).
- El aceite de semillas de quinua presentó como ácido graso mayoritario el ácido linoleico 62.7%, seguido del oleico 25.2% y en menor proporción el ácido palmítico 12.1%.
- La presión y temperatura supercríticas no tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de ácido linoleico, palmítico y oleico, de esta manera, la composición en algunos ácidos grasos del aceite puede modificarse por variaciones en la presión y la temperatura.

RECOMENDACIONES

- Prolongar el estudio con métodos de extracción de compuestos bioactivos de la quinua, lo cual permite inferir que los compuestos bioactivos recuperados tienen potencial para ser usado como ingrediente natural en industrias como la alimentaria, farmacéutica o cosmética.
- Realizar estudios posteriores sobre los factores de presión y temperatura en condiciones supercríticas y así encontrar una combinación óptima en la recuperación de ácidos grasos del aceite de la semilla quinua.
- Realizar un análisis económico del proceso de extracción supercrítica para evaluar la factibilidad a mayor escala.

BIBLIOGRAFÍA

- Araque, I. S. (2017). *Recuperación de tocotrienoles de las semillas de Achiote (Bixa orellana L) mediante extracción supercrítica con CO₂* (Tesis de pregrado). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Agilent 6890N Network Gas Chromatograph Data Sheet. (2006). www.agilent.com/chem.
- Alberto, C., Pereira, P., González, O., Isabel, A., Hernández, M., & Valencia, M. (2014). Semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willdenow): composición química y procesamiento. Aspectos relacionados con otras áreas. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5(2), 166-218.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2009). Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(4), 240-257.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 21(2), 106-113.
- Azuola, R., & Vargas-Aguilar, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Revista Tecnología en Marcha*, 20(4). [https://doi.org/ISSN: 0379-3962](https://doi.org/ISSN:0379-3962).
- Brady, Kevin; Ho, Chi-Tang; Rosen, Robert T.; Sang, Shengmin and Karwe, Mukund V. (2007). Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa. *Food Chemistry*. 100(3), 1209-1216.
- Cavalcanti, R. N., & Meireles, M. A. A. (2012). Fundamentals of supercritical fluid extraction. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*; Janusz, P., Ed.; Academic Press: Oxford, UK, 117-133.

- Caldas, A. (2012). *Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido*. Trabajo de Grado de Ingeniería Química. Universidad de Cuenca.
- Cervilla, N.S.; Mufari, J.R.; Calandri, E.L. y Guzmán, C.A. (2014). Pérdidas nutricionales durante la cocción de semillas de *Chenopodium quinoa* Willd bajo presión de vapor. *Nutrición clínica y Dietética Hospitalaria*, 34(1), 72-76.
- Cerón, L. J., Hurtado, A. M., & Ayala, A. A. (2016). Efecto de la Presión y la Temperatura de Extracción con CO₂ Supercrítico Sobre el Rendimiento y Composición de Aceite de Semillas de Guayaba (*Psidium guajava*). *Información tecnológica*, 27(6), 249-258.
- Conde, L.A y Guerrero, J.A. (2009). Extracción supercrítica de antioxidantes naturales a partir de hierbas y especias. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 3(1), 96-110.
- Chevarria-Lazo, Marco; Bazile, Didier; Dessauw, Dominique; Louafi, Selim; Trommetter, Michel y Hocde, Henri. (2014). *Los sistemas que regulan el intercambio de los recursos genéticos: importancia para el acceso, la circulación y la innovación en el caso de la quinua*. Capítulo 1.6. IN: Bazile D. et al (ED). Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013. (pp. 95-123).
- Crażyna, k. P. (2014) Extraction of tocopherol-enriched oils from Quinoa seeds by supercritical fluid extraction, *Industrial Crops and Products*. 63, 41 -47.
- Da Porto, C., Decorti, D. y Kikic, I. (2009). Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*, 112, 1072-1078.
- De Oliveira, R. C., Rossi, R. M., Gimenes, M. L., Jagadevan, S., Giufrida, W. M., & de Barros, S. D. (2013). Extraction of passion fruit seed oil using supercritical CO₂: a study of mass transfer and rheological property by Bayesian inference. *Grasas y Aceites*, 64(4), 400-406.
- Didier Bazile, D. B., & Nieto, C. (2014). *Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013*. FAO Santiago de Chile y CIRAD Montpellier, Francia.

- Dorado, D. J., Hurtado-Benavides, A. M., & Martínez-Correa, H. A. (2016). Extracción con CO₂ Supercrítico de Aceite de Semillas de Guanábana (*Annona muricata*): Cinética, Perfil de Ácidos Grasos y Esteroles. *Información tecnológica*, 27(5), 37-48. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642016000500005>.
- Esquível, M. M., Ribeiro, M. A. y Bernardo-Gil, M. G. (1999). Supercritical extraction of savory oil: Study of antioxidant activity and extract characterization, *The Journal of Supercritical Fluids*. 14(2):129-138.
- FAO. (2014). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Recetario internacional de la quinua: tradición y vanguardia*. E-ISBN 978-92-5-308058-8.
- Fierro, C. S. (2016). *Extracción supercrítica de compuestos bioactivos antioxidantes presentes en la cáscara de chirimoya (Annona cherimola)*. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Fuentes, F.F., Martínez, E.A., Hinrichsen, P.V., Jellen, E.N y Maughan, P.J. (2008). Assessment of genetic diversity patterns in Chilean quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) *Germoplasm using multiplex fluorescent microsatellite markers*. 10: 369-377.
- García, C. (03 de marzo de 2016). Perú es el primer exportador de quinua a nivel mundial. *El comercio*, pág. 2.
- Gutiérrez, M. C., & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter Del Instituto de Investigación Textil Y de Cooperación Industrial*, 122, 35–41.
- Harris, D. (2012). *Análisis químico cuantitativo. 3a Edición (Sexta edición original)*. España: Reverté.
- Herrero, M., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2006). Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae. *Food chemistry*, 98(1), 136-148.

- Horwitz, W. (2000). *Official methods of analysis of AOAC International*. 17th Edición. Gaithersburg, Md.: AOAC International, 2000.
- Hurtado, A., D. Dorado y A. Sánchez. (2016) Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction, *The Journal of Supercritical Fluids*, 113, 44–52.
- Jahurul, M., I. Zaidul., N. Norulaini., F. Sahenaa., J. Jaffri y A. Omar. (2014) Supercritical carbon dioxide extraction and studies of mango seed kernel for cocoa butter analogy fats. *Journal of Food*, 12(1), 97-103.
- Jiménez, G. E. (2015). *Extracción Supercrítica de Antioxidantes lipofílicos en Sudproductos de guayaba (Psidium gajava L.)* (Tesis de pregrado). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Kozioł, M. J. (1992). Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 5(1), 35–68. [http://dx.doi.org/10.1016/0889-1575\(92\)90006-6](http://dx.doi.org/10.1016/0889-1575(92)90006-6).
- Liza, M. S., Rahman, R. A., Mandana, B., Jinap, S., Rahmat, A., Zaidul, I. S. M., & Hamid, A. (2010). Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid from *Strobilanthes crispus* (Pecah Kaca). *Food and Bioproducts Processing*, 88(2), 319-326.
- Liu, G., Xu, X., Gong, Y., He, L. y Y. Gao. (2012). Effects of supercritical CO₂ extraction parameters on chemical composition and free radical-scavenging activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Food and Bioproducts Processing*: 90, 573-578
- Luque de Castro, M.; Valcárcel, M.; Tena, M. (1st Ed.). (1993). *Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico*. Barcelona, España: Editorial Reverté S.A.
- Martinez, J. L. (Ed.). (2008). *Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds*. Boca Raton, London, New York, Estados Unidos: CRC Press.

Martínez, A. (2003). *Aceites esenciales*. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. <http://farmacia.udea.edu.co/-ff/esencias2001bpdf>, accesada.04/12/2008.

Mendoza, J. R. (2015). *Compuestos fenólicos, ácidos grasos y capacidad antioxidante en quinua (Cheponium quinoa Willd.)*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Perú.

Meneses, M., Guamán, M., Adami, R., Scognamiglio, M., Caputo, G., & Reverchon, E. (2013). Supercritical antisolvent fractionation of bioactive compounds from mango by-products. *In III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias (Colombia)* (pp. 1-7).

Morillo, O., Fernández, S., Hernández, H., Castillo, G., & Marquina, G. (2010). Optimización de los parámetros de extracción de aceite de Palma Africana utilizando CO₂ supercrítico. *Bioagro*, 22(2), 89–94.

Mujica, A., & Jacobsen, S. (2006). La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. *Botánica Económica de Los Andes Centrales*, 449–457. Recuperado de [http://www.beisa.dk/Publications/BEISA Book pdfer/Capitulo 27.pdf](http://www.beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2027.pdf).

Nowak, V., Du, J., y Charrondièrre, U. R. (2015). Assessment of the nutritional composition of quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Chemistry*, 193, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.111>.

Olguín, L. P., Magadán, H., & Rodríguez, M. (2004). Métodos en biotecnología. *Instituto de Biotecnología*, 3–45.

Palavra, A. M. F., Coelho, J. P., Barroso, J. G., Rauter, A. P., Fareleira, J. M. N. A., Mainar, A., & Cabral, J. M. S. (2011). Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from microalgae and volatile oils from aromatic plants. *The Journal of Supercritical Fluids*, 60, 21-27.

- Peiretti, P.G., Gai, F., y Tassone, S. (2013). Fatty acid profile and nutritive value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds and plants at different growth stages. *Animal Feed Science and Technology* 183(1-2): 56-61.
- Reverchon, E., y De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical Fluids*, 38(2), 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.03.020>.
- Rodríguez, E. A., Vásquez, E. G., Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2012). Rendimiento y capacidad antioxidante de extractos de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Psidium guajava* obtenidos con CO₂ supercrítico. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 36(140), 305-316.
- Rubio, Y.P. (2005). “Extracción de aceite de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) y su caracterización de dos ecotipos provenientes del secano costero de la región VI de Chile” (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Chile.
- Sotomayor Recalde, Diana Soledad (2016). *Caracterización y cuantificación de ácidos grasos presentes en chíá (Salvia Hiispánica I.), por cromatografía de gases con Detector FID.* (Tesis de pregrado). Facultad de Ingenierías y Ciencias Agropecuarias. UDLA. Quito. 102 p.
- Suárez, L., y Toro, N. (2012). Obtención y caracterización del aceite de las semillas de *Vitis labrusca* L. (Uva isabela) y evaluación de su actividad antioxidante. Universidad Tecnológica de Pereira.
- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., y Martínez, E. A. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2541–2547. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4158>.

Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3), 303–313. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(01\)00071-2](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(01)00071-2).

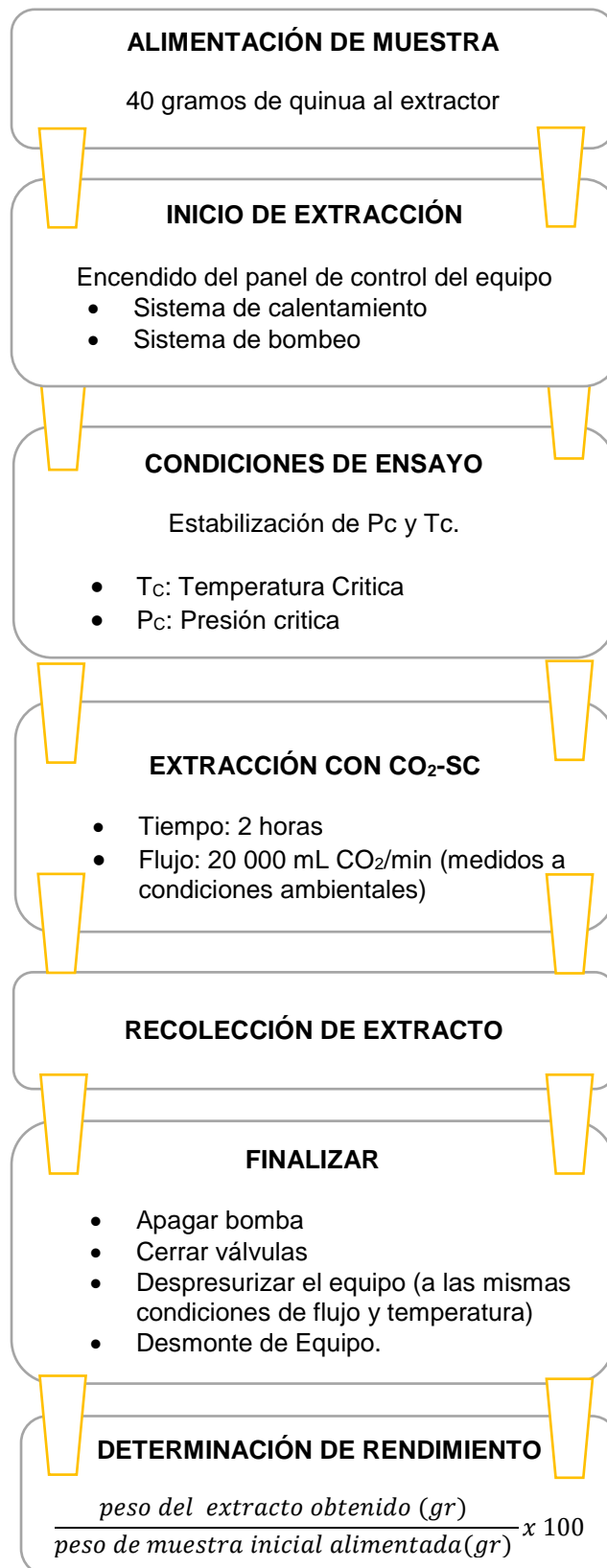
ANEXOS

ANEXO 1.
ESQUEMAS DE MÉTODOS

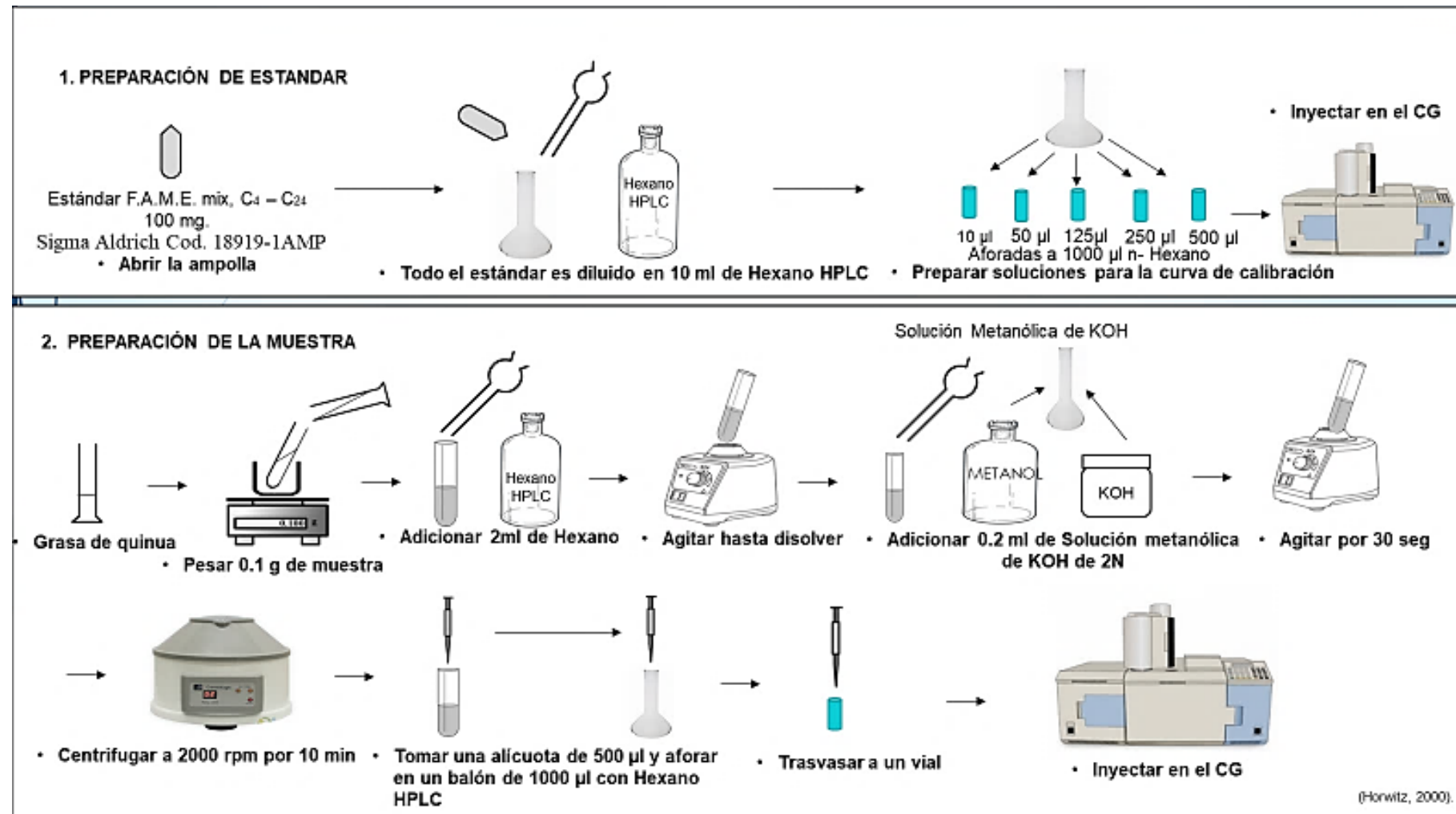
A. Esquema del tratamiento de la materia prima.



B. Esquema de extracción supercrítica de ácidos grasos de la semilla de quinua.



C. Diagrama esquemático para la determinación de la composición química de la grasa de quinua.



ANEXO 2.

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR (F.A.M.E. mix, C₄-C₂₄) PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

A. CONCENTRACIÓN DEL ESTÁNDAR.

Ejemplo: Ácido Palmítico

Ácido Graso	# Carbonos	Pureza %	Peso %	Cnt. Total mg	mg	mg real	C. final mg/ml
Ácido Palmítico	C16:0	99.90	5.9	100	5.9	5.9	0.6

$$100 \text{ mg} * 5.9\% = 6 \text{ mg}$$

$$6 \text{ mg} * 99.90\% = 5.9 \text{ mg}$$

$$\frac{5.9 \text{ mg}}{10 \text{ ml de hexano}} = 0.6$$

Concentración 1. (10 μ l)

$$V1 = 10 \mu\text{l} \quad C1 = 0.6 \text{ mg/ml}$$

$$V2 = 1000 \mu\text{l} \quad C2 = x$$

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

$$0.6 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} * 10 \mu\text{l} = C2 * 1000 \mu\text{l}$$

$$C2 = 0.006 \text{ mg/ml}$$

Concentración 2. (50 μ l)

$$V1 = 50 \mu\text{l} \quad C1 = 0.6 \text{ mg/ml}$$

$$V2 = 1000 \mu\text{l} \quad C2 = x$$

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

$$0.6 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} * 50 \mu\text{l} = C2 * 1000 \mu\text{l}$$

$$C2 = 0.03 \text{ mg/ml}$$

Concentración 3. (125 µl)

$$V1 = 125 \mu l \quad C1 = 0.6 \text{ mg/ml}$$

$$V2 = 1000 \mu l \quad C2 = x$$

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

$$0.6 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} * 125 \mu l = C2 * 1000 \mu l$$

$$C2 = 0.075 \text{ mg/ml}$$

Concentración 4. (250 µl)

$$V1 = 250 \mu l \quad C1 = 0.6 \text{ mg/ml}$$

$$V2 = 1000 \mu l \quad C2 = x$$

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

$$0.6 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} * 250 \mu l = C2 * 1000 \mu l$$

$$C2 = 0.15 \text{ mg/ml}$$

Concentración 5. (500 µl)

$$V1 = 500 \mu l \quad C1 = 0.6 \text{ mg/ml}$$

$$V2 = 1000 \mu l \quad C2 = x$$

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

$$0.6 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} * 500 \mu l = C2 * 1000 \mu l$$

$$C2 = 0.3 \text{ mg/ml}$$

Reporte del estándar.

Concentración 5. (500 µl)

```

Data Path : D:\MSDCHEM\DATA\2018\JAIRO\
Data File : STD5.D
Signal(s) : Signal #1: FID1B.CH Signal #2: FID2B.CH
Acq On    : 17 Jan 2018  14:13
Sample    : 5
Misc      :
ALS Vial  : 5 Sample Multiplier: 1

Integration File signal 1: autoint1.e
Integration File signal 2: autoint2.e

Method    : D:\CHEMST\METHODS\ALCOHOLES RICARDO.M
Title     : CALIBRACION MEZCLA BENCENO TOLUENO

Signal #1 : FID1B.CH

```

Peak #	R.T. min	Start min	End min	PK TY	peak height	peak area	peak % max.	% of total
1	4.148	4.082	4.322	BB	3156	47075	32.07%	1.962%
2	5.311	4.988	5.435	BB	6266	70809	48.25%	2.951%
3	6.407	5.478	6.508	BV	8595	92246	62.85%	3.844%
4	7.433	6.508	7.508	VB	9177	100434	68.43%	4.186%
5	7.960	7.782	8.032	BB	4406	44509	30.33%	1.855%
6	8.526	8.372	8.608	BB	8532	90419	61.61%	3.768%
7	9.154	8.988	9.189	BV	3899	44612	30.40%	1.859%
8	9.865	9.772	9.928	BB	7134	93127	63.45%	3.881%
9	10.228	10.008	10.268	BV	3364	44680	30.44%	1.862%
10	10.675	10.518	10.748	BB	3242	47444	32.33%	1.977%
11	11.099	10.845	11.165	BB	3048	46879	31.94%	1.954%
12	11.596	11.282	11.698	BB	8999	146768	100.00%	6.117%
13	11.957	11.872	12.022	BB	2753	46735	31.84%	1.948%
14	12.621	12.088	12.675	BB	1342	24077	16.40%	1.003%
15	13.029	12.698	13.102	BB	2641	49880	33.99%	2.079%
16	13.748	13.108	13.858	BB	5180	103307	70.39%	4.305%
17	13.959	13.858	14.038	BV	2567	51164	34.86%	2.132%
18	14.104	14.038	14.188	PB	5110	103332	70.41%	4.306%
19	14.395	14.295	14.462	BB	2293	47206	32.16%	1.967%
20	14.759	14.608	14.828	BV	2423	51076	34.80%	2.129%
21	15.169	14.828	15.225	PB	2271	47152	32.13%	1.965%
22	15.588	15.265	15.672	BB	2233	47445	32.33%	1.977%
23	16.219	15.698	16.302	BV	4766	110408	75.23%	4.601%
24	16.628	16.302	16.715	VB	2294	54226	36.95%	2.260%
25	17.388	16.768	17.465	BV	2129	51483	35.08%	2.146%
26	17.559	17.465	17.635	PV	2172	55710	37.96%	2.322%
27	17.854	17.635	17.942	VB	1467	37190	25.34%	1.550%
28	18.161	17.965	18.242	BV	1802	46750	31.85%	1.948%
29	18.343	18.242	18.417	VV	1922	50838	34.64%	2.119%
30	18.988	18.417	19.075	VV	4081	114628	78.10%	4.777%
31	19.162	19.075	19.272	VV	1874	51498	35.09%	2.146%
32	19.477	19.272	19.565	PV	1947	55246	37.64%	2.302%
33	20.359	19.565	20.424	PV	1882	52866	36.02%	2.203%
34	20.492	20.424	20.569	VB	1944	57019	38.85%	2.376%
35	22.070	20.635	22.202	BB	3589	114745	78.18%	4.782%
36	22.650	22.522	22.742	BV	1632	56956	38.81%	2.374%
37	22.822	22.742	22.968	VB	1451	49567	33.77%	2.066%
Sum of corrected areas:							2399506	

B. LINEALIDAD.

Ejemplo: Ácido Palmítico del estándar.

Cálculo de la pendiente e Intercepto.

Nivel μl	X(conc) mg/ml	Y (Área media)	X*Y	X*X
10	0.006	2503	15.018	3.6(10)-5
50	0.03	13479	404.37	9(10)-4
125	0.075	23076	1730.7	5.625(10)-3
250	0.15	64617	9692.55	0.00225
500	0.3	146768	44030.4	9(10)-2
Sumatoria	0.6	250443	55873.038	0.119061
n	5			
Pendiente	548647			
Intersección con el eje X	-15749			
r (Coeficiente de correlación)	0.98			

$$\text{Pendiente: } b = \frac{n\sum XY - (\sum X * \sum Y)}{n\sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$b = \frac{5 * (55873.038) - (0.6 * 250443)}{5 * 0.119061 - (0.6)^2}$$

$$b = 548647$$

$$\text{Intercepto: } a = \frac{(\sum Y * \sum X^2) - (\sum X * \sum XY)}{n\sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$a = \frac{(\sum 250443 * 0.119061) - (\sum 0.6 * \sum 55873.038)}{5 * 0.119061 - (0.6)^2}$$

$$a = -15749$$

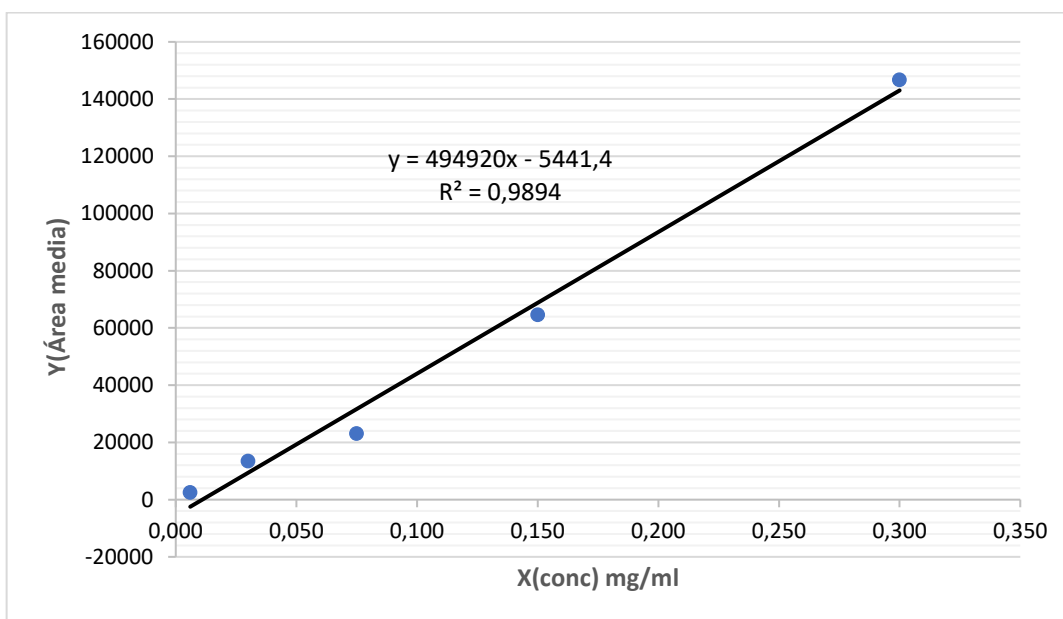
Nivel μl	X(conc)	X - x	(X - x) ^2	Y	Y - y	(Y-y) ^2	(X -x) (Y-y)
10	0.006	-0.114	0.013	2503	-47586	2264427396	5424.8
50	0.03	-0.09	0.008	13479	-36610	1340292100	3294.9
125	0.075	-0.04	0.002	23076	-27013	729702169	1080.5
250	0.15	0.03	0.0009	64617	14528	211062784	435.8
500	0.3	0.18	0.0324	146768	96679	9346829041	17402.2
Σ= 0.6			0.0743	Σ= 250443		1.38923134 (10) ¹⁰	27638.2
x= 0.12				y= 50089			

Coefficiente de correlación: $r = \frac{\sum (X-x)(Y-y)}{\sqrt{\sum (X-x)^2 * \sum (Y-y)^2}}$

$$r = \frac{27638.2}{\sqrt{0.0743 * 1.38923134(10)^{10}}}$$

r = 0.98

Recta del calibrado obtenido de la tabla



C. EXPRESIÓN DE RESULTADO Y FÓRMULA DE CÁLCULO.

Ejemplo: Ácido Palmítico de la grasa de quinua.

Ecuación de la recta:

$$\begin{array}{l} y = 494920x - 5441.4 \\ R^2 = 0.9894 \end{array}$$

x = Concentración de la curva de calibración (mg/ml)

y = Área de pico de la muestra: 8314.

R = Coeficiente de correlación.

- **Concentración de la curva de calibración.**

$$y = 494920x - 5441.4$$

Despeje de **x**:

$$x = \frac{8314 + 5441.4}{494920}$$

$$x = 0.027 \text{ mg/ml}$$

- **Cálculo de la concentración final del ácido graso.**

$$ci = \frac{Co * aforo\ original * fd}{w}$$

Ci = Concentración del ácido graso (mg/kg)

Co = Concentración obtenida de la curva de calibración (mg/ml)

Aforo original = Hexano en que se disuelve la muestra (2 ml)

fd = Factor de dilución (2)

w = Peso muestra (0.0001 kg)

$$ci = \frac{0.027 \frac{mg}{ml} * 2\ ml * 2}{0.0001\ kg}$$

$$ci = 1080\ \text{mg/kg}^*$$

* 1080 mg de ácido palmítico en 1 kg de semilla de quinua.

ANEXO 3.
ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A. ANOVA Rendimiento.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Presión	3.10287	1	3.10287	15.27	0.0024
B: Temperatura	0.26137	1	0.26137	1.29	0.2809
AB	1.45266	1	1.45266	7.15	0.0216
Bloques	0.0171742	1	0.0171742	0.08	0.7767
Error total	2.23522	11	0.203202		
Total (corr.)	7.11455	17			

AB: Interacción cuadrática entre Presión y Temperatura.

B. ANOVA Concentración.

Análisis de varianza para la concentración de Ácido Palmítico.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Presión	1.8329E7	2	9.16452E6	0.60	0.5694
B: Temperatura	4.73148E7	2	2.36574E7	1.55	0.2642
AB	2.16883E7	4	5.42206E6	0.35	0.8344
Residuos	1.37472E8	9	1.52747E7		
Total (corr.)	2.24804E8	17			

AB: Interacción cuadrática entre Presión y Temperatura.

Análisis de varianza para la concentración de Ácido Oleico.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Presión	78474,6	2	39237,3	0,05	0,9506
B: Temperatura	518756,	2	259378,	0,34	0,7225
AB	2,5179E6	4	629476,	0,82	0,5449
Residuos	6,92442E6	9	769380,		
Total (corr.)	1,00396E7	17			

AB: Interacción cuadrática entre Presión y Temperatura.

Análisis de varianza para la concentración de ácido linoleico

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Presión	2,83554E7	2	1,41777E7	0,15	0,8670
B: Temperatura	2,09984E8	2	1,04992E8	1,07	0,3817
AB	3,04838E8	4	7,62094E7	0,78	0,5658
Residuos	8,79813E8	9	9,7757E7		
Total (corr.)	1,42299E9	17			

AB: Interacción cuadrática entre Presión y Temperatura.