

**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZONICA DE MADRE DE  
DIOS  
VICE RECTORADO DE INVESTIGACIÓN**



INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN

**“EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES DE LA PULPA  
DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa*) EMPLEANDO DIÓXIDO DE  
CARBONO SUPERCRÍTICO”**

PRESENTADA POR:

**M. Sc. LARRY OSCAR CHAÑI PAUCAR**  
Investigador principal

**Ph. D. JÚLIO CEZAR JOHNER FLORES**  
Co-Investigador

**Br. EDGAR TORRES YALI**  
**Br. DINA GARCÍA ARO**  
Colaboradores

**Ph. D. MARIA ANGELA DE ALMEIDA MEIRELES**  
Asesora

**PUERTO MADONADO, 2019**

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>8</b>
<b>CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>10</b>
<b>1.1.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>10</b>
<b>1.2.JUSTIFICACION E IMPORTACIA</b>	<b>11</b>
<b>1.3.OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION</b>	<b>12</b>
1.3.1. Objetivo general	12
1.3.2. Objetivos específicos	12
<b>CAPITULO II: REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>13</b>
<b>2.1.ANTECEDENTES</b>	<b>13</b>
<b>2.2.DESCRIPCION DEL AGUAJE</b>	<b>15</b>
2.2.1. Descripción botánica	15
2.2.3. Composición nutricional de la pulpa de aguaje	20
<b>2.3.TECNOLOGÍAS CONVENCIONALES DE EXTRACCIÓN DE ACEITES</b>	<b>22</b>
<b>2.4.EXTRACCIÓN POR DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO</b>	<b>23</b>
<b>2.5.ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES</b>	<b>25</b>
<b>CAPITULO III: METODOLOGÍA</b>	<b>28</b>
<b>3.1.MATERIALES</b>	<b>28</b>
3.1.1. Muestras	28
3.1.2. Lugar de ejecución	29
3.1.3. Materiales	29
3.1.4. Equipos	29
3.1.5. Reactivos	29

<b>3.2.MÉTODOS</b>	<b>30</b>
3.2.1. Preparación de las muestras	30
3.2.2. Extracción de aceite por CO <sub>2</sub> supercrítico	31
3.2.3. Identificación y cuantificación de ácidos grasos esenciales	34
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	<b>35</b>
<b>4.1.RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE</b>	<b>35</b>
<b>4.2.ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES</b>	<b>36</b>
<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>39</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>39</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>39</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición proximal de la pulpa de Aguaje .....	20
<b>Tabla 2.</b> Composición de la pulpa de Aguaje de tres variedades de la Amazonia Peruana.....	21
<b>Tabla 3.</b> Perfil de ácidos grasos reportados por varios autores .....	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Palmera de <i>Mauritia flexuosa</i> (Aguaje) con frutos.....	15
<b>Figura 2.</b> Cortes longitudinal y transversal del fruto de Aguaje.....	17
<b>Figura 3.</b> Producción del fruto de Aguaje a nivel Nacional 2006-2016. ....	18
<b>Figura 4.</b> Modelo integral de aprovechamiento sostenible de recursos forestales. .....	19
<b>Figura 5.</b> Colecta de los frutos de Aguaje.....	28
<b>Figura 6.</b> Secado de la pulpa de Aguaje: Acondicionamiento de la pulpa en placas de secado (A), instalación de las placas con pulpa en la estufa (B), pulpa de aguaje después de 16 horas de secado (C).....	31
<b>Figura 7.</b> Equipo SFE-ED .....	32
<b>Figura 8.</b> Empaquetamiento de la muestra en la columna de extracción .....	32
<b>Figura 9.</b> Rendimiento de extracción de aceite de Aguaje con dióxido de carbono supercrítico combinando las presiones de 20, 30 y 40 MPa, con las temperaturas de 40 y 60°C.....	35
<b>Figura 10.</b> Cromatograma del perfil de ácidos grasos del aceite de Aguaje extraído con CO <sub>2</sub> a 40MPa con 40°C.....	36
<b>Figura 11.</b> Cromatograma del perfil de ácidos grasos del aceite de Aguaje extraído con CO <sub>2</sub> a 40MPa con 60°C.....	37
<b>Figura 12.</b> Contenido de ácidos grasos mono-insaturados (AGMI), saturados (AGS), poliinsaturados (AGPI), ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3). ....	38

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la extracción de ácidos grasos esenciales de la pulpa del fruto Aguaje (*Mauritia flexuosa*), empleando dióxido de carbono supercrítico a diferentes de presión (20, 30 y 40 MPa) y temperatura (40 y 60°C). La pulpa de Aguaje fue secada en estufa con circulación forzada de aire a 40°C por 16 horas. Las extracciones se realizaron en un equipo de extracción supercrítica escala laboratorio, con un flujo de CO<sub>2</sub> de 8,9 g/min. El aceite extraído bajo las diferentes condiciones de presión y temperatura fueron analizados por cromatografía de gases acoplado a un detector de ionización de llama (CG-FID) para determinar su composición de ácidos grasos. Los resultados de las extracciones, permitieron verificar que el rendimiento de extracción de aceite de Aguaje se incrementa a medida que se eleva la presión y la temperatura. El mayor rendimiento de aceite de Aguaje fue de 41%, este rendimiento se obtuvo a una presión de 40MPa y una temperatura de 60°C. El perfil de ácidos grasos fue similar en todos los tratamientos, constituido por ácidos grasos saturados (palmítico, esteárico y araquídico), monoinsaturados (palmitoleico y oleico) y poliinsaturados (linoleico y linolénico). Asimismo, la concentración de los ácidos grasos esenciales, linoleico y linolénico fueron próximos en todos los tratamientos, observándose que la mayor concentración de estos dos ácidos grasos esenciales (1,6% para linoleico y 2,2% para linolénico) se obtuvo a 40MPa y 60°C. En conclusión, el rendimiento de extracción de aceite de Aguaje se incrementa conforme se incrementa la temperatura y presión de extracción, logrando obtenerse una máxima extracción de aceite y ácidos grasos esenciales a 40 MPa y 60°C.

**Palabras claves:** Aceite de Aguaje, *Mauritia flexuosa*, ácidos grasos esenciales, extracción por fluidos supercríticos, CO<sub>2</sub> supercrítico.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the extraction of essential fatty acids from the pulp of the Aguaje fruit (*Mauritia flexuosa*), using supercritical carbon dioxide at different pressure (20, 30 and 40 MPa) and temperature (40 and 60 °C). Aguaje pulp was dried in an oven with forced air circulation at 40 °C for 16 hours. Extractions were performed in a laboratory scale supercritical extraction equipment, with a CO<sub>2</sub> flow of 8.9 g/min. The oil extracted under the different conditions of pressure and temperature were analyzed by gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID) to determine its fatty acid composition. The results of the extractions allowed verifying that the Aguaje oil extraction performance increases as the pressure and temperature rise. The highest yield of Aguaje oil was 41%, this yield was obtained at a pressure of 40 MPa and a temperature of 60 °C. The fatty acid profile was similar in all treatments, consisting of saturated fatty acids (palmitic, stearic and arachidic), monounsaturated (palmitoleic and oleic) and polyunsaturated (linoleic and linolenic). Likewise, the concentration of essential fatty acids, linoleic and linolenic acids were close in all treatments, observing that the highest concentration of these two essential fatty acids (1.6% for linoleic and 2.2% for linolenic) was obtained at 40MPa and 60 °C. In conclusion, the Aguaje oil extraction performance increases as the extraction temperature and pressure increases, achieving maximum oil and essential fatty acid extraction at 40 MPa and 60 °C.

**Keywords:** Aguaje oil, *Mauritia flexuosa*, essential fatty acids, supercritical fluid extraction, supercritical CO<sub>2</sub>

## INTRODUCCIÓN

El Aguaje (*Mauritia flexuosa*) es una palmera que produce un fruto altamente apreciado en poblaciones Amazónicas, de donde es originaria. Aguaje es el nombre común con el cual es conocido en la selva Peruana [1], en otros países es conocido como buriti (Brasil) [2] y Moriche (Venezuela) [3].

Según Vásquez-ocmín et al. [4], en la Amazonia del Perú existen tres variedades del fruto de Aguaje, denominados, “Amarillo”, “Color” y “Shambo”, los cuales presentan un peso total próximos de 58,75, 54,59 y 57,11 g, respectivamente. La variedad Shambo fue la que presento la mayor cantidad de pulpa, con 18,97g del peso total del fruto, esta pulpa presento un 25,2% de aceite, siendo la variedad de mayor contenido lipídico [4]. El aceite de Aguaje por lo general presenta una composición de ácidos grasos constituidos por ácidos grasos saturados, insaturados y poliinsaturados, destacándose el ácido oleico, palmítico, linoleico y linolénico [5] [6] [7].

La extracción de aceites y/o grasas a partir de materias primas vegetales se realiza convencionalmente aplicando métodos de extracción mecánica y empleando solventes orgánicos. En la literatura consultada se puede observar que la extracción empleando solventes orgánicos es más eficiente para extraer aceites y/o grasas en comparación a la extracción por prensado mecánico, esto fue observado en la extracción con pulpa del fruto de *Caryocar brasiliense* Camb.[8], *Mauritia flesuosa* [9], *Persea americana* Mill. [10], semillas de *Parinari pachyphylla* Rusby [11] y semillas de *Psidium cattleianum* [12]. Los solventes orgánicos (hexano, acetona, metano, otros) frecuentemente empleados para la extracción, son altamente tóxicos, requiero de un procesos adicional a la extracción para separar el solvente del extracto lipídico, son altamente contaminantes y pueden desencadenar reacciones químicas con los compuestos lipídicos.

En ese contexto, la tecnología supercrítica se presenta como una alternativa viable, permitiendo extraer con eficiencia, libre de compuestos tóxicos y



selectividad compuestos lipídicos de pulpas de frutas de palmeras Amazónicas, como de *Oenocarpus distichus* Mart. [13], *Oenocarpus bacaba* [14] y *Acrocomia aculeata* [15], obteniéndose rendimientos de 45%, 60% y 41,55%, respectivamente. En esos estudios se observó que el incremento de los parámetros de temperatura y presión de extracción conllevaron aun aumento del rendimiento de extracción, consecuentemente hubo una elevación de las proporciones de ácidos grasos. Asimismo, se observó que las mejores condiciones de presión y temperatura que permiten obtener el mayor rendimiento de extracción de extractos lipídicos, varían dependiendo la materia prima, como fue reportado para *O. distichus* Mart. (50°C y 35MPa) [13], *O. bacaba* (60°C y 42MPa) [14] y *A. aculeata* (40 °C y 22MPa).

Por esas consideraciones y porque la pulpa de Aguaje producido en la región Madre de Dios, no presenta estudios aplicando tecnología supercrítica para la producción de aceite de alta calidad que permita su valorización, en ese sentido el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de diversas niveles de presión (20, 30 y 40MPa) y temperatura (40 y 60°C), para determinar la mejor combinación de estas dos variables que permita obtener el mayor rendimiento de aceite y ácidos grasos esenciales a partir de la pulpa de Aguaje.

## CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La pulpa del fruto de aguaje (*Mauritia flexuosa*) presenta en su composición aproximadamente 18% de aceite, el cual fue reportado por contener ácidos grasos esenciales como el  $\omega$ -9,  $\omega$ -7,  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3 [16]. Estos ácidos grasos mono insaturados y poliinsaturados son beneficios para la salud humana, pudiendo prevenir diferentes enfermedades, tales como el cáncer, afecciones cardiovasculares [17] [18], artritis reumatoide, trastorno bipolar [19] y enfermedades inflamatorias [20]. El aceite de aguaje puede ser extraído por métodos convencionales, como el prensado mecánico en frío, en caliente y por medio de la utilización de solventes orgánicos, estos métodos presentan varias desventajas. En el caso del prensado en frío generalmente presenta baja selectividad de extracción y produce extractos lipídicos con partículas en suspensión que requieren de un proceso posterior de filtrado, pero se consigue un menor efecto negativo sobre los componentes del aceite, por otro lado el prensado en caliente, presenta alto rendimiento de extracción, pero la elevada temperatura que emplea en este proceso podría degradar en alguna medida los ácidos grasos insaturados. La extracción de aceites, empleando solventes orgánicos presenta alto rendimiento y se puede realizar a bajas temperaturas, el inconveniente con este método es la toxicidad de los solventes empleados, esto limita el uso de los aceites con fines alimenticios. En ese contexto la extracción de aceites de diversas materias primas oleaginosas por CO<sub>2</sub> en estado supercrítico se presenta como una buena alternativa [21] [22], debido a que el CO<sub>2</sub> en estado supercrítico es considerado un fluido inerte, de fácil eliminación del extracto oleoso y eficiente al extraer compuestos lipídicos [23] [24]. El rendimiento de extracción de aceite empleando dióxido de carbono supercrítico es influenciado por varios factores, de los cuales son generalmente estudiados, el tamaño de partícula, caudal de CO<sub>2</sub>, presión y temperatura de extracción [25] [26], de estas variables la presión y

temperatura, son considerados variables de mayor importancia, por la magnitud del efecto que ejercen sobre el rendimiento de extracción.

Por tanto, el presente proyecto de investigación pretende evaluar la extracción de ácidos grasos esenciales de la pulpa de aguaje a diferentes presiones (200, 300 e 400 bar) y temperaturas (40 y 60 °C), empleando CO<sub>2</sub> en estado supercrítico.

## 1.2. JUSTIFICACION E IMPORTANCIA

*Mauritia flexuosa* es una palmera de clima tropical, distribuida ampliamente en la región Amazónica del Perú, en Madre de Dios esta palmera es aprovechada de diversas formas, como la cosecha de los frutos para consumo *In Natura* o en alguna preparación (refrescos, néctar, licor, entre otras), las hojas son utilizadas en las zonas rurales para la fabricación de techos de campamentos provisionales y la producción de Suri que es la larva de *Rhynchophorus palmarum*, consumida tradicionalmente en esta región y en algunas regiones selváticas del Perú.

La pulpa del fruto de Aguaje provenientes de frutos de la Amazonia Brasileira, presentó un alto contenido de aceite rico en carotenoides, tocoferoles, ácidos grasos saturados e insaturados, siendo los insaturados los que se encuentran en mayor porcentaje y con frecuencia son reportados la presencia ácido oleico, linoleo y linolénico [27]. Un perfil de ácidos grasos más amplio fue reportado por Jacobo et al. [16] en aceite extraído de la pulpa de Aguaje colectado en la región Amazónica norte del Perú, en la cual fue encontrado C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, $\omega$ -9, C18:1, $\omega$ -7, C18:2, $\omega$ -6, C18:3, $\omega$ -3 y C20:1, $\omega$ -9. A partir de la revisión bibliográfica realizada en el presente estudio, se observó que existe deficientes estudios sobre la composición de ácidos grasos del aceite de Aguaje proveniente de la región Madre de Dios, en esta revisión solamente fue encontrado un reporte, en la cual se menciona cuatro ácidos grasos, los cuales son, ácido palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), esteárico (C18:0) y oleico (C18:1).

La producción del fruto de Aguaje ha cobrado gran importancia, debido al incremento de la demanda local, esto ha impulsado una mayor explotación de este recurso en plantaciones naturales. En la actualidad la actividad extractiva de este fruto se está desarrollando de una forma más sostenible, para esto se han desarrollado técnicas de cosecha que buscan evitar la tala de esta palmera y también se promueve la producción agrícola convencional combinada con la producción extractivista del Aguaje en predios agrícolas.

En ese contexto y además tomando en consideración que el fruto de aguaje es comercializado con un mínimo de procesamiento, que permita darle un mayor valor agregado, es por eso que el presente estudio es de gran importancia para la valorización del Aguaje mediante la producción de aceite de alta calidad por medio de la aplicación de la tecnología supercrítica, con potencial para la fabricación de cosméticos, alimentos funcionales, biocombustibles y fármacos.

### **1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION**

#### 1.3.1. Objetivo General

Evaluación del proceso de extracción de ácidos grasos esenciales de la pulpa de aguaje (*Mauritia flexuosa*) empleando CO<sub>2</sub> en estado supercrítico a diferentes temperaturas y presiones.

#### 1.3.2. Objetivos Específicos

- ❖ Determinar las mejores condiciones de temperatura y presión para la extracción de aceite de aguaje por CO<sub>2</sub> supercrítico
- ❖ Modelar las cinéticas de extracción de aceite de la pulpa de aguaje
- ❖ Identificar y cuantificar los componentes del perfil de ácidos grasos del aceite de aguaje.

## CAPITULO II: REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANTECEDENTES

**França et al.** [28], estudiaron la extracción de aceite de Aguaje aplicando dióxido de carbono supercrítico, combinando las presiones de 20 y 30 MPa con dos temperaturas que fueron, 313 y 328K. Los mayores rendimientos fueron observados a 30 MPa combinando con las dos temperaturas estudiadas, pero la extracción a 30 MPa a 313K, permitió obtener el mayor rendimiento que fue de 7,8% (% masa). Se observaron que las curvas de extracción (CE) de aceite de aguaje, en las condiciones de estudio, mostraron se caracterizaron por presentar tres regiones, las cuales son generalmente reportadas en la extracción con fluido supercrítico de productos naturales, inicialmente la extracción presento una velocidad constante de extracción por convección (región I), seguidamente se estableció un periodo de disminución de la velocidad de extracción por convección más difusión (región II) y finalmente se estableció un período de velocidad de extracción por difusión. Los autores concluyeron que es posible extraer eficientemente aceite de Aguaje de alta calidad, empleando dióxido de carbono supercrítico.

**Cunha et al.** [13], evaluaron diversas condiciones de presión y temperatura de extracción supercrítica con dióxido de carbono, con el objetivo de determinar la mejor combinación de estas dos variables para una eficiente extracción del aceite de la pulpa de *Oenocarpus distichus* Mart. Las isotermas del rendimiento global de extracción del aceite fueron realizadas a presiones de 150, 220 y 350 bar a 50°C y en 190, 270 y 420 bar a 60°C. A través de este estudio se determinó que los mayores rendimientos se obtienen a 50°C con 350 bar (45,23%) y a 60°C con 270 bar (45,90%). Los ácidos grasos, oleico, palmítico y linoleico, fueron predominantes en la composición del aceite, independientemente de las

condiciones de extracción, y presentaron una excelente calidad funcional, mostrando posibles aplicaciones con fines nutracéuticos.

**Pinto et al.** [14], estudiaron la extracción de aceite de la pulpa de *Oenocarpus bacaba* con dióxido de carbono supercrítico, con el objetivo de determinar las isotermas de rendimiento global, composición de ácidos grasos, calidad funcional y estabilidad oxidativa. Las extracciones se realizaron a temperaturas de 40 y 60°C combinadas con las presiones de 120 a 420 bar. Los resultados muestran que el aumento de la temperatura y la presión de extracción favorecieron el aumento del rendimiento en masa en el proceso de extracción de aceite de bacaba con CO<sub>2</sub> supercrítico. El mayor rendimiento de extracción fue de 60,39%, observado en la isoterma de 60°C a 420 bar. Los análisis de la composición de ácidos grasos, mostro que el ácido oleico fue él estuvo en mayor proporción, por tanto el aceite de *O. bacaba* presento una mayor predominancia de ácidos grasos insaturados. Estos resultados pueden ser indicativos de que el aceite posee propiedades funcionales, debido al predominio de compuestos bioactivos lipídicos responsables de la prevención de enfermedades crónicas degenerativas. Los índices de aterogenicidad y trombogenicidad sugieren que el aceite de *O. bacaba* puede tener acción cardioprotectora. Esos resultados permitieron concluir aceite de *O. bacaba* presenta buena calidad funcional.

**Johner et al.** [25], reportaron una nueva técnica de extracción supercrítica con dióxidos de carbono como solvente, esta técnica consistió en la fusión del prensado en frío y la extracción supercrítica. El estudio fue desarrollado aplicándose a la extracción de aceite de la pulpa de *Caryocar brasiliense*, a presiones de 20, 25, 30, 35 y 40 MPa, combinándolas con dos temperaturas, 313 y 333K. Los resultados muestran que el rendimiento de extracción de aceite se elevó ocho veces durante el primer minuto con la aplicación de esta nueva técnica, en comparación a la técnica sin la aplicación de prensado en frío. Siendo el rendimiento de extracción supercrítica sin prensado de 48%, en cuanto que a extracción supercrítica con aplicación de prensado en frío con un torque de 40Nm fue de 51%. Además, los perfiles de ácidos grasos de los dos métodos fueron

similares, constituidos principalmente por Omega 9 (58%) y ácido palmítico (34,7%). Los autores concluyeron que el nuevo método incrementa considerablemente el rendimiento de extracción del aceite de *C. brasiliense* sin modificar la composición de ácidos grasos.

## 2.2. DESCRIPCION DEL AGUAJE

### 2.2.1. Descripción botánica



**Figura 1.** Palmera de *Mauritia flexuosa* (Aguaje) con frutos.

Según GBIF ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)) *Mauritia flexuosa*, es una especie de palmera distribuida a lo largo del norte de Sudamérica, oriente de los Andes, donde forma a

menudo grandes asociaciones en tierras ácidas y anegadas. Encontrándose en los países de Bolivia, Norte de Brasil, Noreste de Brasil, Sudeste de Brasil, Brasil centro-oeste, Colombia, Ecuador, Guayana Francesa, Guayana, Perú, Surinam, Trinidad-Tobago y Venezuela, se clasifica taxonómicamente como sigue:

Reino : Plantae  
Filo : Tracheophyta  
Clase : Liliopsida  
Orden : Arecales  
Familia : Arecaceae  
Género : *Mauritia*  
Especie : *Mauritia flexuosa* L.f.

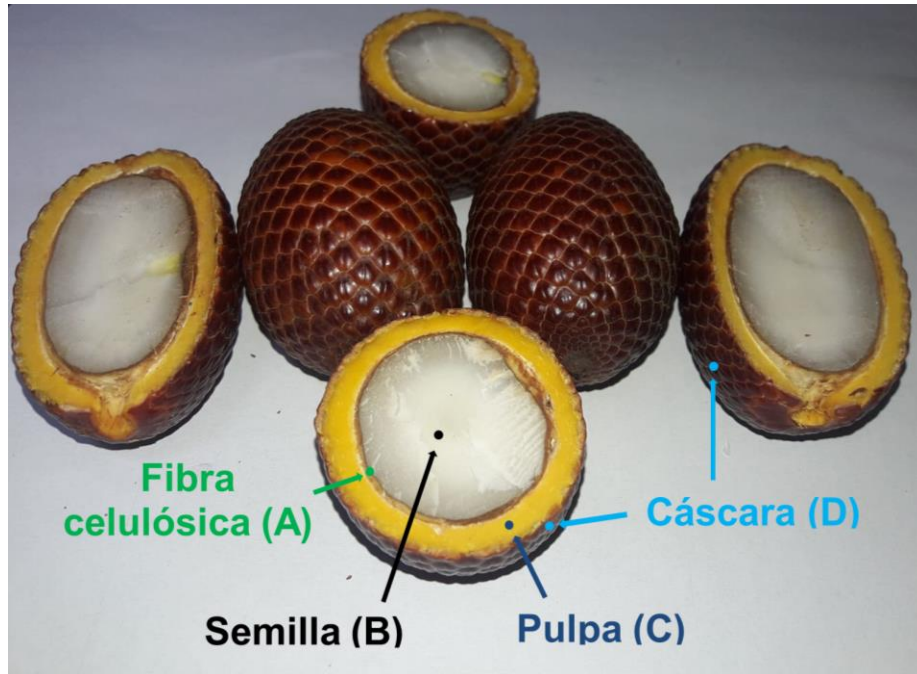
Nombres científicos alternativos (sinónimos) son reportados para denominar a esta especie, los cuales son, *Mauritia flexuosa* var. *venezuelana* Steyererm., *Mauritia minor* Burret, *Mauritia sagus* Schult. & Schult.f., *Mauritia setigera* Griseb. & H.Wendl., *Mauritia sphaerocarpa* Burret, *Mauritia vinifera* Mart., y *Saguerus americanus* H.Wendl.

*M. flexuosa*, es una palmera dioica, arborescente monocaule con una altura máxima aproximada de 40 metros, con un diámetro que varía entre 0,3 a 0,4 m, y finaliza en una corona de 15 a 20 hojas costapalmadas dispuestas en espiral, de 2,5 metros de largo y 4,5 metros de ancho, con sus hojas senescentes persistentes; presentan una vaina que cubre parcialmente el tallo [29].

Las inflorescencias de tanto masculinas como femeninas son de tipo interfoliares. Las inflorescencias masculinas presentan un raquis leñoso y cilíndrico de longitud promedio de 3,23 metros, que puede ir de 2,37 a 4,79 metros. Por otro lado, las inflorescencias femeninas presentan de entre 2 a 8 por raquis por palma, con una longitud media de aproximadamente 2,44 metros, las raquillas puede tener entre 0,20 y 1,37 metros de longitud y se estiman por raquilla 3,612 flores entre 1,7 cm



de ancho por 1,2 centímetros de largo, que producen en promedio 479 frutos [3] [29].



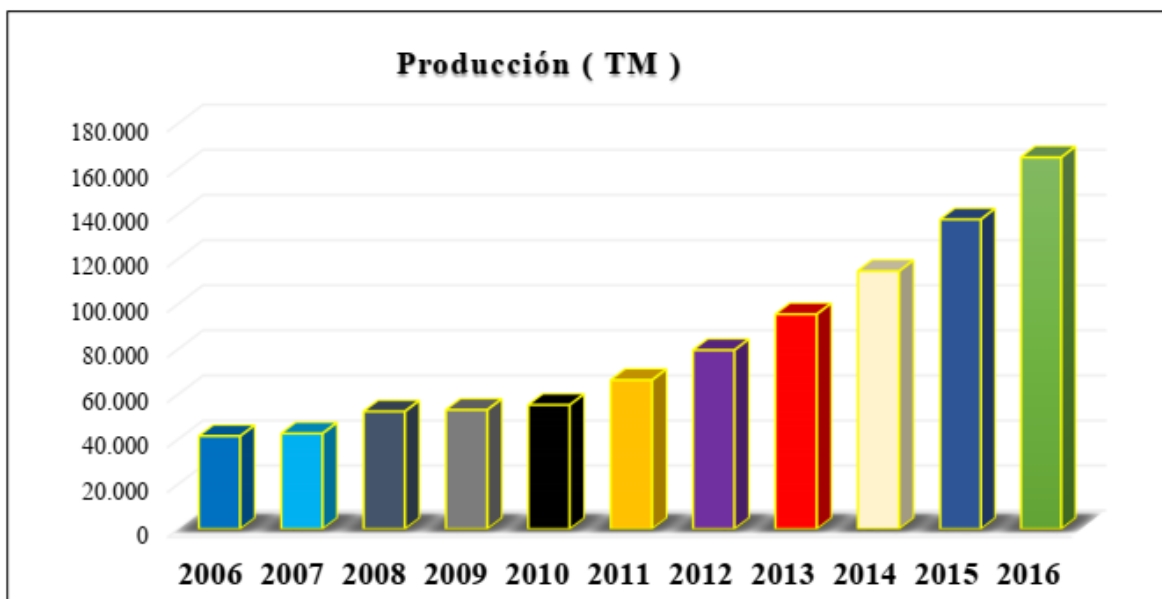
**Figura 2.** Cortes longitudinal y transversal del fruto de Aguaje.

Los frutos del Aguaje son de tipo drupa, elíptica u oblonga de aproximadamente 6 a 7 centímetros de longitud de color café-rojizo cuando alcanzan la madurez (Figura 2), con un peso del fruto *in natura* muy variable que en media alcanza 51 gramos, constituidos por un exocarpio con escamas imbricadas y fuertemente soldadas (Figura 2, ítem D), un mesocarpio carnoso de color anaranjado y espesor variable (Figura 2, ítem C), y endocarpio pergaminado (Figura 2, ítem A). La semilla presenta una forma subglobosa con un endospermo homogéneo (Figura 2, ítem B) [3] [29] [30].

### 2.2.2. Producción

La producción del fruto de Aguaje en la Región Madre de Dios no cuenta con registros del volumen de producción en publicaciones científicas y/o en reportes técnicos [31]. Según el Ministerio de Agricultura del Perú, la producción del fruto de Aguaje a nivel nacional está en crecimiento, esto se puede visualizar

claramente en la Figura 3, en la cual se observa que creció considerablemente de 41,354 a 164,922 millones de toneladas métricas (TM) entre los años 2006 a 2016, estos datos de la producción nacional corresponden a los Departamentos de Huánuco, Junín, Loreto y San Martín [31].

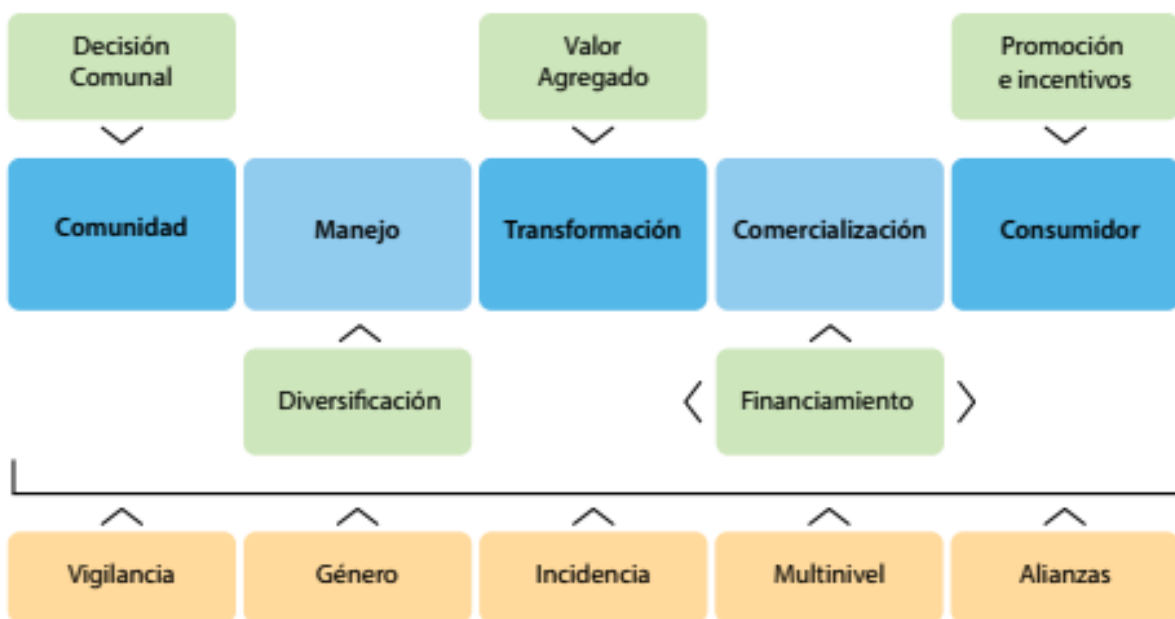


**Figura 3.** Producción del fruto de Aguaje a nivel Nacional 2006-2016 [31].

La producción del fruto varía dependiendo de la edad de la palmera, la primera producción podría suceder entre los 6 a 9 años después de su germinación [32], en los primeros años de producción se puede observar poca producción de frutos, alcanzando su edad de “producción comercial” al tercer a cuarto año de producción, en esta edad la palmera puede producir 5 racimos, con aproximadamente 657 frutos (peso total 30,6 kilogramos) por racimo [33].

Se sabe que la mayor producción por extractivista que frecuentemente se reporta en la literatura pertenece a los Departamentos de la selva norte del Perú [34] [1]. En Madre Dios, existe una creciente promoción por el aprovechamiento de los recursos no forestales de forma sostenible, dentro de ese marco, la producción de Aguaje por extractivista sostenible se está desarrollando, Instituciones como La Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID),

Asociación para la Investigación y Desarrollo Integral (AIDER), Corporación de gestión y derecho ambiental (ECOLEX), Rainforest Alliance e el Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), promueven la consolidación de esta actividad económica como una actividad eco sostenible. Estas instituciones, excepto el IIAP, participarán en un estudio para determinar la fenología del Aguaje, estudio desarrollado en la Comunidad nativa Tres Islas, ubicada en Tambopata, Madre de Dios que posee una superficie de 32 000 hectárea, de esta área, aproximadamente 1 500 hectáreas son zonas inundables o de difícil drenaje, en la cual se desarrollan comunidades de palmeras de Aguaje, denominadas localmente como “Aguajales”, en esta comunidad nativa se viene promoviendo un modelo integral (Figura 4) basado en la auto-organización, practicas responsables de manejo, diversificación del uso y beneficio del bosque, con el objetivo de incrementar o dar valor agregado a productos forestales [1].



**Figura 4.** Modelo integral de aprovechamiento sostenible de recursos forestales [1].

El estudio fenológico del Aguaje mostro que su ciclo productivo dura 2 años, con alternancias de 1 año de descanso, el año productivo iniciando con la floración y concluye con la caída de los frutos a los 9 a 12 meses después de la floración,

pero la población o “Aguajal” es productiva todos los años. El comportamiento fenológico del aguaje responde a ciclos estacionales; es decir, que los ritmos de floración y producción de frutos ocurren de manera regular relacionados con los periodos lluviosos y secos. Iniciando la maduración de los frutos en el mes de septiembre y terminando en febrero del año siguiente, con una mayor incidencia entre octubre a diciembre [1].

### 2.2.3. Composición nutricional de la pulpa de Aguaje

**Tabla 1.** Composición proximal de la pulpa de Aguaje

<b>Composición (%)</b>	<b>Carneiro y Carneiro [35]</b>	<b>Tavares et al. [36]</b>	<b>Restrepo et al. [5]</b>	<b>Darnet et al. [6]</b>	<b>Ribeiro et al. [2]</b>
Humedad	54,35	67,2	10	50,5	62,93
Proteína	1,3	1,5	2,3	3,7	2,10
Lípidos	18,16	3,8	41,09	19,0	13,85
Cenizas	0,66	1,4	1,87	0,6	0,94
Carbohidratos	25,53	12,1	NA	26,2	8,25
totales					
Fibras	NA	14	2,83	22,8	5,15
Azucares reductores	NA	NA	2,70	NA	NA

NA: No analizado

La composición de la pulpa de Aguaje fresca es muy variable, en la Tabla 1 y la Tabla 2, se puede observar la composición centesimal de pulpas de Aguaje provenientes de Colombia, Perú y Brasil. Se puede observar que el contenido de humedad fue mayor a los otros componentes, excepto la pulpa de Aguaje proveniente de Colombiana presento la menor concentración de humedad de aproximadamente de 10%. El contenido de proteína fue próximo para la pulpa de Aguaje provenientes de los diferentes países como se puede observar en la Tabla 1, observándose un mayor contenido en variedades de pulpas de Aguaje provenientes de la Amazonia Peruana, alcanzando un máximo de 6,5%, como se

puede visualizar en la Tabla 2. Un contenido de lipídico bien diferente y superior fue observado en la pulpa de Aguaje fresca reportada por Restrepo et al. [5], un menor contenido lipídico fue reportado por Tavares et al. [36]. El contenido de carbohidratos es muy variable, observándose un máximo de 26,2% en pulpas de Aguaje provenientes de Brasil y un menor contenido de carbohidratos fue reportado en pulpas de tres variedades de Aguaje provenientes de la Amazonia norte del Perú [4].

**Tabla 2.** Composición de la pulpa de Aguaje de tres variedades de la Amazonia Peruana.

<b>Composición (%)</b>	<b>Pulpa de tres variedades de Aguaje [4]</b>		
	<b>Amarillo</b>	<b>Color</b>	<b>Shambo</b>
Humedad	62,85	62,71	63,96
Cenizas	2,94	3,00	2,05
Lípidos	22,80	21,30	25,20
Proteínas	3,90	6,50	6,10
Carbohidratos	7,51	6,49	2,69

En el Perú fue reportado tres variedades de Aguaje, su composición centesimal se muestra en la Tabla 2, el contenido de humedad y cenizas de las tres variedades fueron muy próximas. En cuanto al contenido Lipídico, se puede observar que la variedad *Shambo* presento el mayor contenido, de aproximadamente 25,2%. Las variedades *Color* y *Shambo*, presentaron un contenido de proteínas superiores y próximas, de 6,5 y 6,1%, respectivamente. El contenido de carbohidratos de la pulpa de Aguaje de las variedades *Amarillo* y *Color* fueron superiores al presentado por la Variedad *Shambo* que fue de 2,69%. Las diferencias en la composición centesimal de los macronutrientes (proteína, carbohidratos, lípidos, cenizas y humedad) observados en la pulpa de Aguaje reportados por diversos autores en al Tabla 1, se pueden explicar a la existencia de variedades de palmeras que producen frutos con características diferencias en lo referente a su composición centesimal, como puede observarse en la Tabla 2, en la cual se reportó la composición centesimal de la pulpa de tres variedades de Aguaje

provenientes de una misma zona geográfica, ubicada en la Amazonia norte del Perú.

### 2.3. TECNOLOGÍAS CONVENCIONALES DE EXTRACCIÓN DE ACEITES

Los métodos de extracción mecánica y empleando solventes orgánicos, son las dos tecnologías más usuales empleadas para la extracción de aceites y grasas tanto de origen animal como vegetal.

La extracción mecánica de aceite y/o grasas puede realizarse en frío o en caliente, estas se pueden realizar en forma continua o discontinua. Por otra parte, la extracción empleando solventes orgánicos puede ser realizado en diversas condiciones de temperatura de acuerdo con el solvente orgánico. Diversos estudios han demostrado que la extracción con solventes orgánicos es más eficiente para extraer aceites vegetales en comparación a la extracción mecánica, en ambos métodos los parámetros de temperatura y tamaño de partícula juegan un papel importante en el rendimiento de extracción. La presión de extracción y relación solvente/muestra, son también parámetros de gran importancia que influyen en la eficiencia de extracción en los métodos de extracción mecánica y por solventes, respectivamente [37] [38] [11] [10].

En la extracción mecánica de semillas de *Moringa oleífera*, se reportó un rendimiento de extracción de aceite de 11%, realizado en una prensa hidráulica manual a una presión de  $4,125 \times 10^6$  kg/m<sup>2</sup>, la extracción se realizó con semillas enteras. Un rendimiento superior fue observado en la extracción con hexano, este rendimiento fue de alrededor de 36%, la extracción fue conducida por cuatro horas utilizando semillas molidas de un tamaño de partícula  $\leq 0,149$  mm [39]. En otro estudio con semillas de *Psidium cattleianum* Sabine, se observó que la extracción de aceite empleando hexano como solvente de extracción se obtuvo un 12,5% de rendimiento, este rendimiento fue altamente superior al obtenido por prensado mecánico en frío en cual fue de 3,7% [12]. Efecto similar también fue observado en la extracción de aceite de las semillas de *Passiflora edulis* edulis, con un

rendimiento de 19,5% en la extracción por prensado mecánico a frío y 23,6% en la extracción con hexano [12]. Las referencias bibliográficas muestran que efectivamente la extracción por solventes orgánicos, es más eficiente para la extracción de aceite, en comparación a la extracción mecánica, pero el empleo de solventes orgánicos presenta un aspecto altamente negativo, limitando la aplicación de los compuestos lipídicos extraídos por este método en la elaboración de alimentos funcionales, cosméticos y fármacos, este aspecto negativo es la alta toxicidad de los solventes orgánicos empleados frecuentemente en la extracción.

#### **2.4. EXTRACCIÓN POR DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO**

La aplicación de dióxido de carbono supercrítico para la extracción de aceites y grasas, ha cobrado gran interés en las últimas décadas, debido principalmente a la selectividad de extracción de compuestos lipídicos bioactivos, alta eficiencia de extracción, por ser un solvente inerte, la facilidad de este solvente para ser retirado de los extractos lipídicos y por ser un solvente eco-amigable.

El proceso de extracción por fluidos supercríticos es gobernado por varios parámetros, entre los más estudiados por su efecto son la presión y temperatura de extracción, otros parámetros reportados son el tamaño de partícula de las materias primas, la relación solvente/muestra, flujo del solvente, tiempo de estático de extracción y empleo de co-solventes de extracción. En la extracción supercrítica de aceite de semillas de *C. lanatus* con CO<sub>2</sub>, se estudió el tamaño de partícula, flujo de CO<sub>2</sub>, concentración de co-solvente, temperatura y presión de extracción, observándose que todas las variables estudiadas ejercieron un efecto sobre la eficiencia de extracción, en las mejores condiciones de extracción se obtuvo una eficiencia de extracción de 98,9%, el aceite obtenido en estas condiciones fue rico en ácidos grasos insaturados [40].

En otro estudio, aplicando la metodología de superficie de respuesta para la optimización del proceso de extracción supercrítica de aceite de las semillas de *Portulaca oleracea*, empleando CO<sub>2</sub> como solvente de extracción, se determinó

que a una temperatura de 60°C, una presión de 23,5 MPa, un tiempo de extracción de 3,5 horas, un tamaño de partícula de 0,8 mm y una humedad de la materia prima de 4%, se logró obtener una eficiencia de extracción máxima de 92,94%, con un perfil de ácidos grasos similar al aceite obtenido con hexano, en ambos casos el aceite de *P. oleracea*, presentaron una mayor proporción de ácidos grasos insaturados, con una mayor concentración de ácido linolénico [41].

La extracción supercrítica de aceites a partir de pulpas de frutos de cuatro palmeras Amazónicas fueron reportados recientemente, estas palmeras fueron *Oenocarpus distichus* Mart., *Oenocarpus bacaba*, *Elaeis guineensis* y *Acrocomia aculeata* [13] [14] [15] [42]. En la extracción de *O. distichus*, se determinó dos condiciones óptimas de extracción, obteniéndose un rendimiento de 45,23% y 45,9%, la primera condición optima combinó una temperatura de 50°C y una presión de 35 MPa, en la segunda condición optima combinó una temperatura de 60°C y una presión de 27MPa, en ambas condiciones la extracción tuvo una duración de 3 horas [13].

Un rendimiento de 60,39% de aceite de *O bacaba* fue obtenido en la extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> sin empleo de co-solvente, a una temperatura de 60°C, presión de 42 MPa, un tiempo de extracción dinámica de 3 horas y la pulpa presento un contenido de humedad de 4,2% [14]. Un alto rendimiento de extracción de aceite fue observado a partir de la pulpa de *A. aculeata* empleando dióxido de carbono supercrítico, alcanzando un 41,55%, este rendimiento fue alcanzado a una temperatura de 40°C, presión de 22 MPa, con un tiempo de extracción de 3,3 horas, humedad de la pulpa de 3,3% y un tamaño de partícula de 0,841 mm [15].

La extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> fue empleada eficientemente para una extracción completa de aceites residuales de la torta de *E. guineensis* derivado del proceso industrial de extracción de aceite, en este estudio se logró obtener un 9,2% de rendimiento de aceite, que fue aproximadamente el total de aceite



residual presente en la torta de *E. guineensis*, este rendimiento fue obtenido a 60°C, 25 MPa, con un tiempo de extracción de 2 horas, una relación en masa de solvente/materia prima (S/F) de 48 y un tamaño de partícula de 1,190mm [42].

## 2.5. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES

El aceite de aguaje presenta un perfil de ácidos grasos constituidos por ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI), en la Tabla 3, se puede observar el perfil de ácidos grasos del aceite de aguaje reportado por ocho investigadores diferentes. En general, la composición de los ácidos grasos fue en mayor proporción AGMI, seguido por AGS y en menor contenido se encuentran los AGPI.

**Tabla 3.** Perfil de ácidos grasos del aceite de Aguaje reportado por varios autores

Ácidos grasos (%)	Tavares et al. [36]	Darnet et al. [6]	Ribeiro et al. [2]	Restrepo et al. [5]	Freitas et al. [43]	França et al. [28]	Nobre et al. [44]	Jaramillo et al. [7]
C8:0			0,59					
C12:0					0,06		0,05	
C14:0				0,06	0,11		0,08	
C14:1								13,61
C15:0					0,06			
C16:0	18	18,9	19,31	21,27	17,35	17,34	19,73	22,87
C16:1	0,5	0,3		0,29	0,24		0,41	
C17:0					0,09			
C17:1					0,07			
C18:0	2,1	1,3	1,86	4,19	3,32		1,95	
C18:1	73,5	75,7	73,32	68,69	69,58	78,73	72,14	63,52
C18:2	2,7	2,1	2,69	2,05	7,31	3,93	2,8	
C18:3	2,1		2,17	0,87	0,98		2,16	
C20:0		1,7			0,2		0,11	
C20:1					0,45		0,57	

C22:0						0,07		
C24:0						0,11		
AGS	20	21,9	21,76	25,52	21,37	17,34	21,92	22,87
AGMI	74	76	73,32	68,98	70,34	78,73	73,12	77,13
AGPI	4,8	2,1	4,86	2,92	8,29	3,93	4,96	0

Ácido caprílico (C8:0); Ácido láurico (C12:0); Ácido mirístico (C14:0); Ácido miristoleico (C14:1); Ácido pentadecanoico (C15:0); Ácido palmítico (C16:0); Ácido palmitoleico (C16:1); Ácido margárico (C17:0); Ácido margaroleico (C17:1); Ácido esteárico (C18:0); Ácido oleico (C18:1); Ácido linoleico (C18:2); Ácido linolénico (C18:3); Ácido araquídico (C20:0); Ácido behénico (C22:0); Ácido lignocérico (C24:0); AGS: Ácidos grasos saturados; AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: Ácidos grasos poli-insaturados.

Los AGMIs frecuentemente reportados son el ácido oleico (C18:1) que vario de 63,52% a 78,73% y palmitoleico (C16:1) con una variación que va de 0,24% a 0,5%. Otros AGMIs menos comunes y en concentraciones bajas fueron reportados entre ellos se encuentran el ácido miristoleico (C14:1), ácido margaroleico (C17:1) y el ácido graso C20:1 (no fue reportado cual fue el nombre común).

El ácido palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0), son los principales AGS encontrados en el aceite de Aguaje, su concentración varía entre 17,34% a 22,87% para el palmítico y de 1,3% a 4,19% para el esteárico. Otros AGSs no tan comunes fueron reportados en menor concentración, estos fueron, el ácido caprílico (C8:0), láurico (C12:0), mirístico (C14:0), pentadecanoico (C15:0), margárico (C17:0), araquídico (C20:0), behénico (C22:0) y lignocérico (C24:0).

Los ácidos grasos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3), son dos ácidos grasos esenciales reportados en el aceite de Aguaje, ambos ácidos grasos presentan una estructura molecular con 2 a 3 dobles enlaces, eso por eso que son también denominados ácidos grasos poliinsaturados. Estos dos AGPIs son denominados como esenciales, esto quiere decir que no pueden ser sintetizados por el organismo humano, por tanto, tienen que ser suministrados a través de la alimentación. El ácido linoleico se encuentra en diferentes concentraciones, variando de 2,1% a 7,31%, de los autores citados en la Tabla 3, apenas uno de ellos no reporto la presencia de este ácido graso. El ácido linolénico también

presento concentraciones variables (de 0,87% a 2,17%), pero en menor proporción que el ácido linoleico. Estos dos ácidos grasos constituyen la totalidad de los AGPIs presente en el aceite de Aguaje, variando desde 2,1% hasta 8,29%.

## CAPITULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. MATERIALES

#### 3.1.1. Muestras

Las muestras estuvieron constituidos por frutos de Aguaje (*Mauritia flexuosa*) fisiológicamente maduras, estas fueron cosechadas de la palmera mediante una técnica adaptada por los agricultores locales, la cual consiste en trepar la palmera con un arnés de seguridad (Figura 5, ítem A y B), una vez que la persona ha llegado hasta los racimos de los frutos de Aguaje este es cortado con un machete y es dejado caer al suelo. Con los racimos de Aguaje ya en el suelo (Figura 5, ítem D) se procede a separar los frutos de los racimos manualmente con la ayuda de un machete (Figura 5, ítem C).



**Figura 5.** Cosecha de los frutos de Aguaje

La cosecha de los frutos fue realizada en la propiedad agrícola de un pequeño agricultor, localizado al pie de la carretera denominado “Corredor Turístico Chonta – Infierno” en el kilómetro 5, del distrito La Joya, provincia Tambopata, departamento Madre de Dios, Perú.

### 3.1.2. Lugar de ejecución

La investigación fue desarrollada en dos momentos, el primer momento fue la preparación de las materias primas y el segundo fue los experimentos de extracción supercrítica, estas dos etapas fueron desarrolladas en los lugares diferentes. La preparación de las muestras fue desarrollada en las instalaciones del Laboratorio de Procesos de la Carrera Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Amazónica de Madre de Dios (UNAMAD). Los experimentos de extracción e identificación de los ácidos grasos esenciales fueron desarrollados en el Laboratorio de Tecnología Supercrítica (LASEFI), Departamento de Ingeniería de Alimentos de la Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brasil.

### 3.1.3. Materiales

- ❖ Columna de extracción de acero inoxidable de 25 mL
- ❖ Lana de vidrio
- ❖ Vaso de precipitados de 250 y 500 mL
- ❖ Vials de cromatografía de 2,5 mL
- ❖ Frascos de vidrio de 100 mL
- ❖ Papel aluminio

### 3.1.4. Equipos

- ❖ Extractor SFE-Spe-ed (Applied Separations, model 7071, Allentown, USA)
- ❖ Cromatógrafo a gases (Agilent 6890) acoplado a un detector de ionización de llama (CG-FID).

### 3.1.5. Reactivos

- ❖ Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) 99,9% de pureza
- ❖ Etanol 70%

- ❖ Hexano grado HPLC
- ❖ Ácido sulfúrico
- ❖ Metanol
- ❖ Estándares esteres metílicos de ácidos grasos (Supelco, C8-C24 p/n CRM18918, EUA)

## **3.2. MÉTODOS**

### **3.2.1. Preparación de las muestras**

Después de la cosecha, los frutos fueron lavados para retirar cualquier residuo vegetal, tierra o cualquier otro residuo. Los frutos limpios fueron sometidos a un proceso de maduración inducida de forma casera, esto se realizó dejando los frutos sumergidos y en reposo por un periodo de aproximadamente 30 minutos, la temperatura del agua fue aproximadamente de 40°C. La maduración del fruto fue verificado utilizando dos criterios empíricos empleados por los procesadores artesanales de Aguaje, el primer criterio fue la facilidad para retirar manualmente las cascara, el segundo criterio fue el grado de ablandamiento de la pulpa del fruto, cuando estos dos criterios son corroborados, el proceso de maduración es finalizado y los frutos son retirados del agua de maduración. Los frutos maduros fueron descascarados y despulpados manualmente con la ayuda de una cuchara de acero inoxidable. La pulpa fue embalada en bolsas de polietileno de media densidad y fueron almacenadas a temperatura de congelación de -20°C, hasta la ejecución del proceso de secado.

La pulpa de Aguaje fue descongelada a temperatura ambiental, para posteriormente ser sometida a secado en una estufa con circulación forzada de aire, a una temperatura de 40 °C por un periodo de 16 horas. Después del secado, la pulpa fue embalada en bolsas plásticas de polietileno de un kilogramo de capacidad y fueron almacenadas protegidas de la luz a una temperatura de congelamiento de -20°C, hasta ser transportado al Laboratorio de Tecnología supercrítica (LASEFI) de la Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),

donde fueron realizados todos los experimentos de extracción e identificación de los ácidos grasos esenciales.



**Figura 6.** Secado de la pulpa de Aguaje: Acondicionamiento de la pulpa en placas de secado (A), instalación de las placas con pulpa en la estufa (B), pulpa de aguaje después de 16 horas de secado (C)

### 3.2.2. Extracción de aceite por CO<sub>2</sub> supercrítico

Las extracciones fueron realizadas en un equipo escala laboratorio SFE Spe-ed (Applied Separations, model 7071, Allentown, USA), con un sistema casero de calentamiento de la válvula micrométrica (Figura 7, ítem A), compuesta de una resistencia eléctrica, un controlador de temperatura, un sensor de temperatura e una cuba que contiene el agua destilada en la cual se encuentra sumergida la válvula micrométrica, la temperatura del agua fue mantenida a 55°C aproximadamente.

Los experimentos se realizaron combinando las temperaturas de 40 y 60 °C con las presiones de 200, 300 y 400 bar, haciendo un total de 6 tratamientos. Aproximadamente 23g de la pulpa de Aguaje deshidratada fue utilizada para las

extracciones, la pulpa es introducida en la columna de extracción de acero inoxidable de 25 mL como se muestra en la Figura 8.

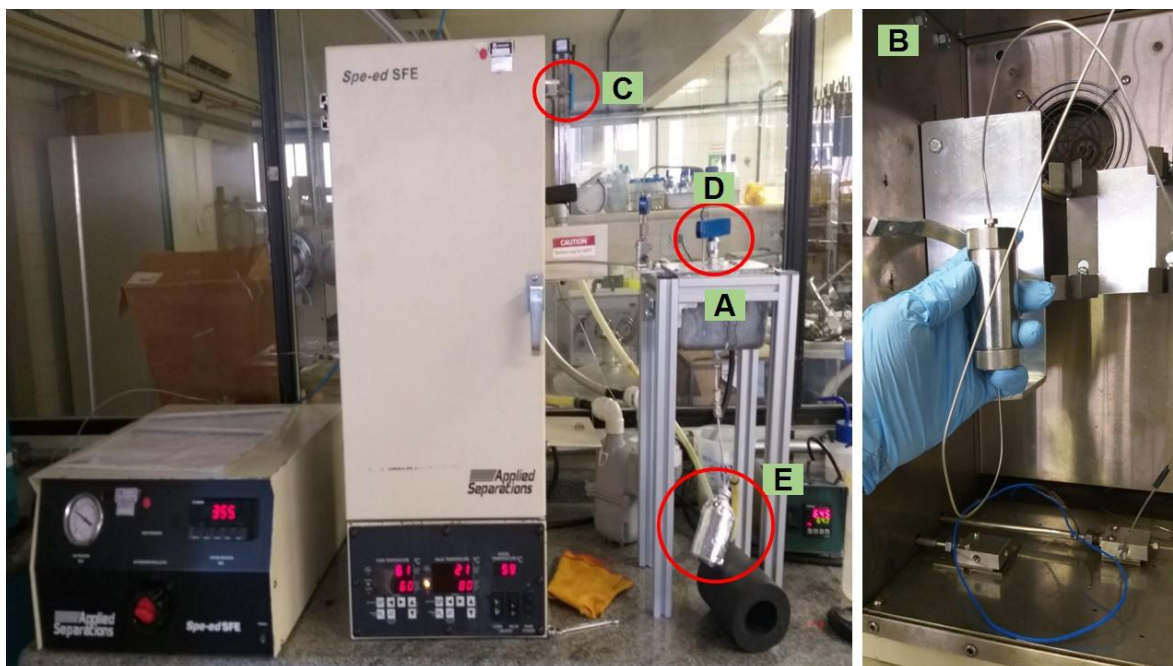


Figura 7. Equipo SFE-ED

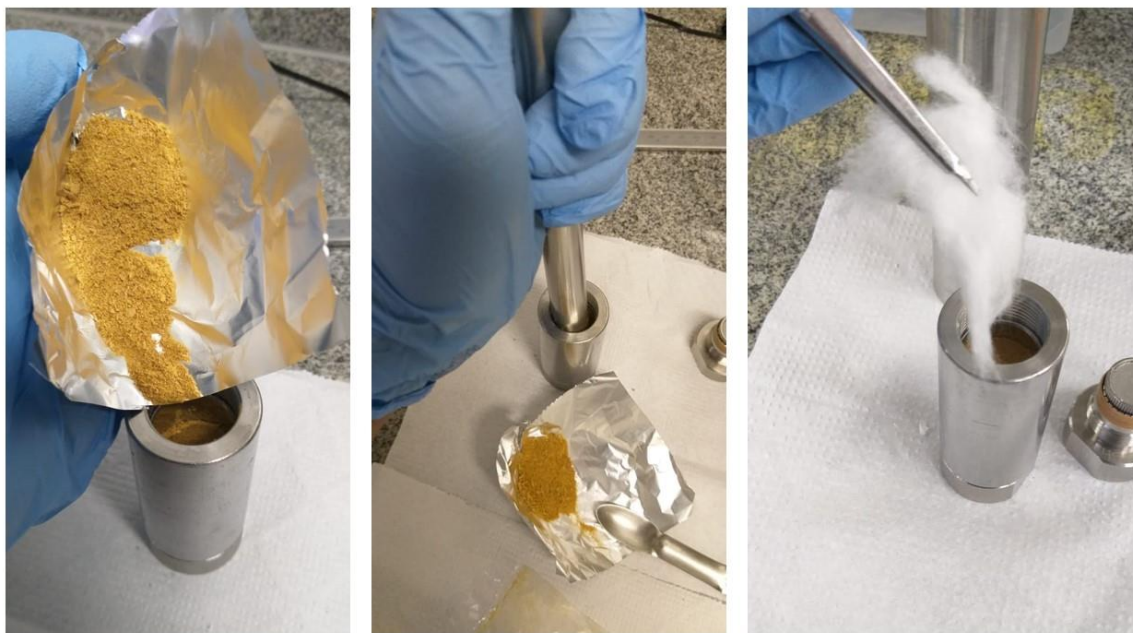


Figura 8. Empaquetamiento de la muestra en la columna de extracción



Después de empacar la muestra en la columna se procedió a instalarla en el equipo de extracción (Figura 7, ítem B), seguidamente la válvula de bloqueo del cilindro que contiene el CO<sub>2</sub> (99,9% de pureza, White Martins, Brasil) es abierto, también fue abierto la válvula de bloqueo que se encuentra localizado antes de la columna de extracción, manteniéndose cerrada la válvula de bloqueo localizado después de la columna de extracción (Figura 7, ítem C) y ligeramente abierta la válvula micrométrica (Figura 7, ítem D), estas dos válvulas se mantienen así por un periodo de 10 minutos, este tiempo se contabiliza cuando la presión y la temperatura dentro de la columna de extracción alcanzaron el nivel adecuado para cada tratamiento, este tiempo es considerado o conocido como tiempo estático de extracción.

Después del periodo de extracción estática, la válvula de bloqueo de la salida de la columna de extracción (Figura 7, ítem C) fue abierta, iniciando-se así el periodo de extracción dinámica, con un duración de aproximadamente 30 minutos. El flujo de CO<sub>2</sub> se regulo para ser constante en 8,9 g/min, la regulación se hizo manualmente con la válvula micrométrica (Figura 7, ítem D). El aceite de Aguaje fue colectado en frascos de vidrio de 100 mL (Figura 7, ítem E), estos frascos estuvieron envueltas con papel aluminio para protegerlos de la luz y evitar así la degradación de los compuestos bioactivos durante y después de la extracción, una vez finalizada la extracción los frascos fueron cerrados herméticamente y almacenadas a -20°C, hasta que los análisis fueron realizados.

El efecto de las condiciones de extracción de aceite de Aguaje fue evaluado a través de la determinación del rendimiento de extracción, calculado como rendimiento global (%) con la Ecuación  $Y(\%) = \frac{m_{\text{aceite}}(\text{g})}{m_{\text{pulpa seca}}(\text{g})} * 100\%$  (1, donde,

Y es el rendimiento de extracción expresado en porcentaje,  $m_{\text{aceite}}$  es la masa en gramos de aceite extraído,  $m_{\text{pulpa seca}}$  es la masa en gramos de pulpa seca de Aguaje que fue utilizada para la extracción

$$Y(\%) = \frac{m_{\text{aceite}} (\text{g})}{m_{\text{Pulpa seca}} (\text{g})} * 100\% \quad (1)$$

### 3.2.3. Identificación y cuantificación de ácidos grasos esenciales

El aceite de Aguaje extraído de acuerdo con las diversas condiciones de presión y temperatura, fueron analizadas para determinar su composición en ácidos grasos esenciales. El aceite fue esterificado para obtener esteres metílicos de los ácidos grasos (FAME), con 0,5 g de Aceite, 10 mL de metanol y 2 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en reflujo por 2 horas [45].

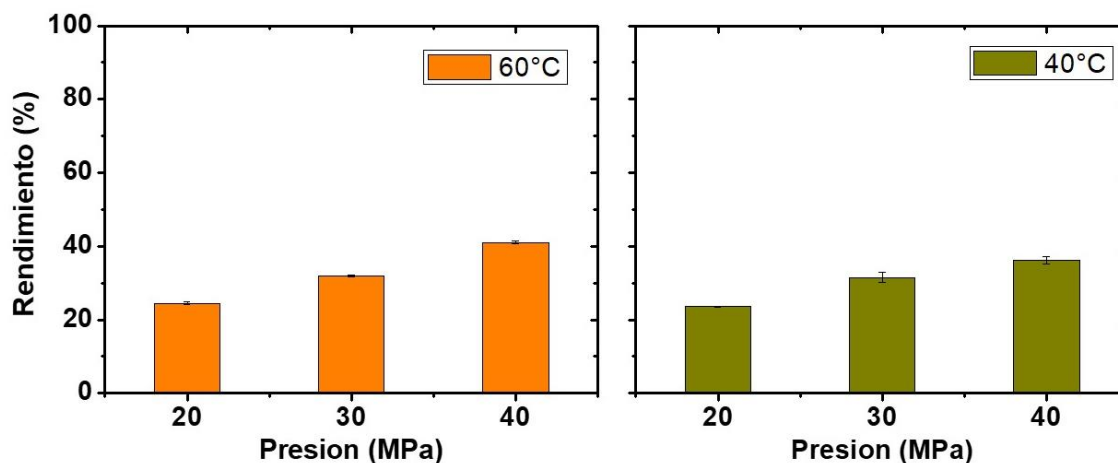
Los FAMEs fueron extraídos con hexano e inyección en fase orgánica en un cromatógrafo a gases Agilent 6890. El cromatógrafo estaba equipado con una columna stabilxax (30 m x 0,25 mm; 0,25 µl) y un detector de ionización en llama (FID). Helio fue utilizado como gas de arrastre y la temperatura fue programado de la siguiente forma: 45°C por 2 minutos, 5°C/min hasta 50 °C, 30 °C/min hasta 250 °C, isoterma por 10 minutos. Las temperaturas del inyector y del detector fueron ajustadas para 250 °C, respectivamente.

La identificación de los ácidos grasos fue realizada comparando los tiempos de retención (TR) de los FAMEs obtenidos del aceite de Aguaje, con el perfil de composición de un estándar FAME (Supelco, C8-C24 p/n CRM18918, EUA), analizado en las mismas condiciones cromatográficas. Los ácidos grasos fueron cuantificados calculando los porcentajes de las áreas de los picos de cada FAME, reportándose como porcentaje relativa (%) [46].

## CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE

En la Figura 9, se puede observar el rendimiento de extracción de aceite de Aguaje extraída a las diferentes presiones (20, 30 y 40 MPa) y temperaturas (40 y 60°C) del presente estudio.



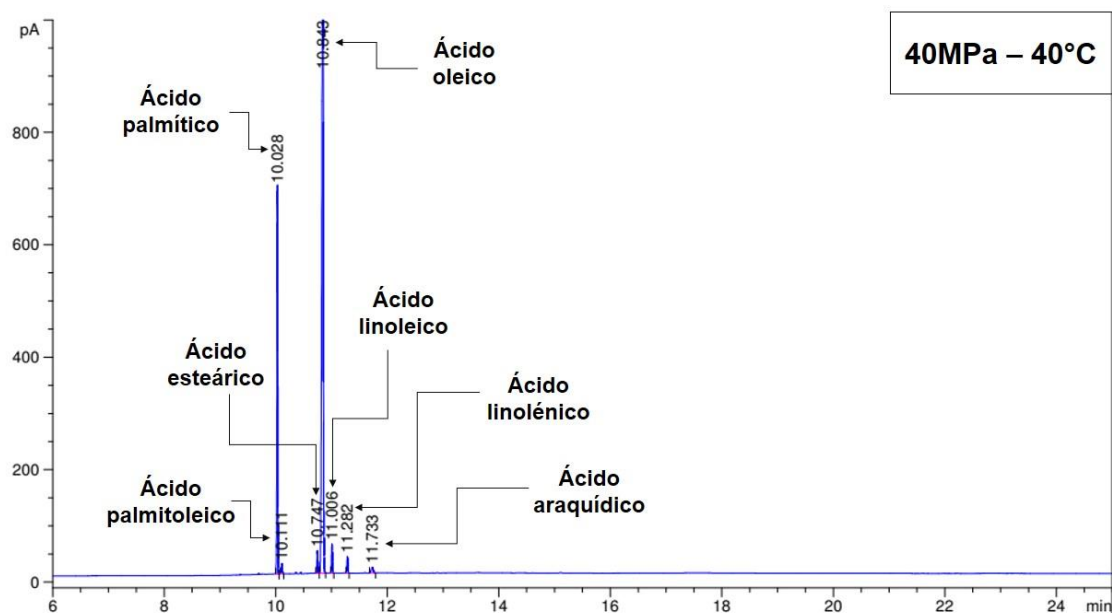
**Figura 9.** Rendimiento de extracción de aceite de Aguaje con dióxido de carbono supercrítico combinando las presiones de 20, 30 y 40 MPa, con las temperaturas de 40 y 60°C.

Los resultados del presente estudio muestran que un incremento de la presión y de la temperatura de extracción conllevaron a un incremento del rendimiento de extracción de aceite de Aguaje (Figura 9). Un efecto similar fue observado cuando se incrementó la presión y la temperatura de extracción, empleando CO<sub>2</sub> supercrítico, sobre el rendimiento de extracción de aceite de la pulpa de *Oenocarpus distichus* Mart. [13], *Oenocarpus bacaba* [14], *Elaeis guineensis* [42] y *Acrocomia aculeata* [15].

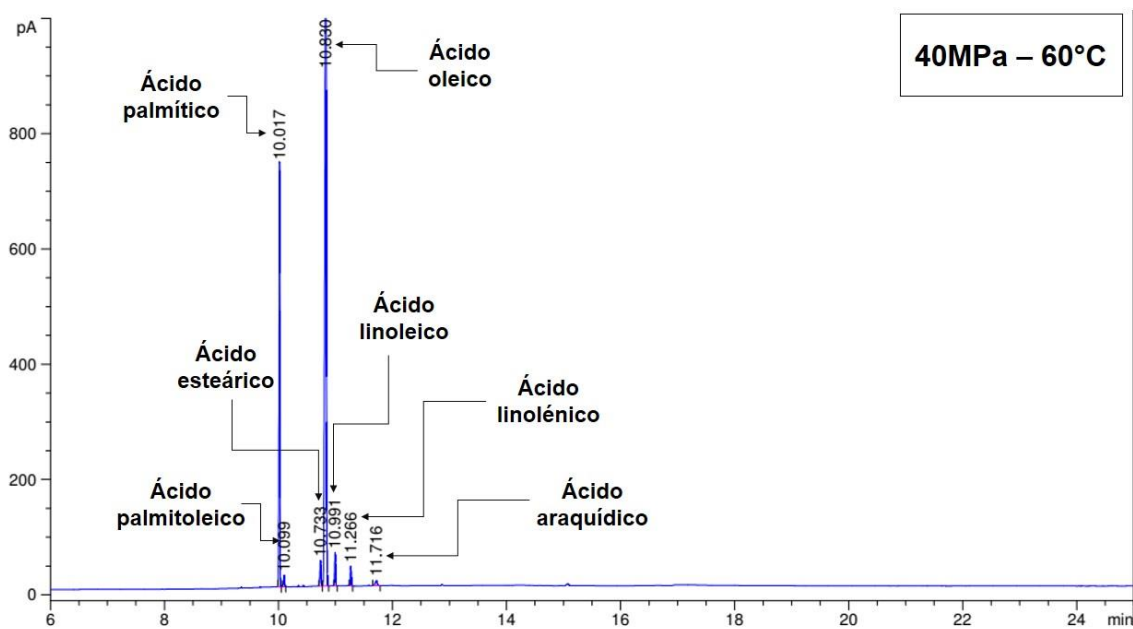
Los mayores rendimientos obtenidos en el presente estudio fueron de 36,18% y 41,06%, estos se obtuvieron cambiando 40MPa con la temperatura de 40°C y 60°C, respectivamente. Condiciones más elevadas de temperatura combinada con presiones más bajas fueron aplicadas en la extracción de aceite del fruto de la palmera de *Oenocarpus distichus*, empleando CO<sub>2</sub> supercrítico, obteniéndose rendimientos de 45,23% (50°C y 35MPa) y 45,9% (60°C y 27MPa) [13]. En otro estudio, se empleó una presión (42 MPa) y temperatura (60 °C) más elevada para la extracción de aceite del fruto de *Oenocarpus bacaba*, obteniéndose un alto rendimiento de extracción de 60,39% [14]. En contraste, se reportó condiciones más bajas de presión (40°C) y temperatura (22MPa) de extracción, como condiciones óptimas de extracción de aceite de *Acrocomia aculeata*, obteniendo el rendimiento de 41,55% [15]. Estos reportes científicos corroboran que el efecto de la presión y la temperatura de extracción, observado en el presente estudio.

#### **4.2. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES**

El aceite de Aguaje obtenido bajo las diversas condiciones de extracción reportadas en el presente estudio, presentaron un perfil de ácidos grasos similar (Figura 10 y Figura 11), constituidos por los ácidos grasos, palmitoleico, esteárico, palmítico, oleico, linoleico, linolénico y araquídico.



**Figura 10.** Cromatograma del perfil de ácidos grasos del aceite de Aguaje extraído con CO<sub>2</sub> a 40MPa con 40°C.



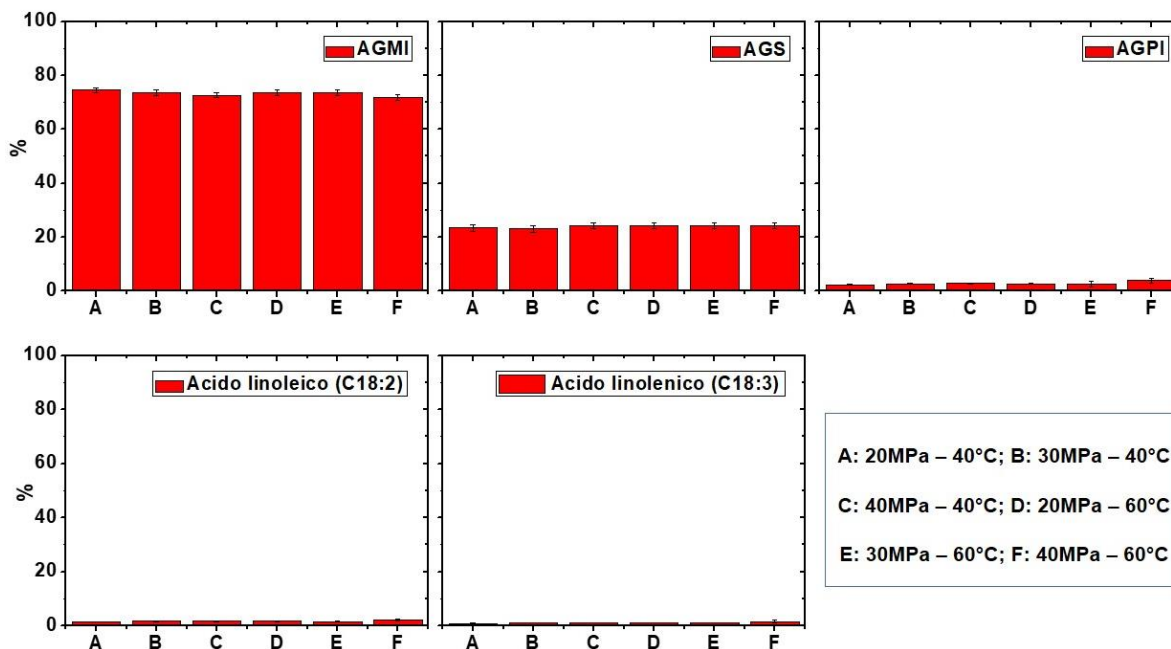
**Figura 11.** Cromatograma del perfil de ácidos grasos del aceite de Aguaje extraído con CO<sub>2</sub> a 40MPa con 60°C.

Otros autores reportaron un efecto similar de las condiciones de extracción supercrítica sobre el perfil de ácidos grasos, observándose que el incremento

tanto de la temperatura como de la presión de extracción no ejerció efecto en el perfil de ácidos grasos [47] [14].

Los ácidos grasos encontrados en el presente estudio, son según la literatura los que frecuentemente son encontrados en el aceite de Aguaje proveniente de diferentes zonas geográficas, encontrándose en mayor concentración ácido oleico, palmítico [25] [26] [28] [27]. Otros ácidos grasos menos frecuentes fueron reportados en el aceite de Aguaje, tales como, el ácido caprílico (C8:0), ácido láurico (C12:0), ácido mirístico (C14:0), ácido miristoleico (C14:1), ácido pentadecanoico (C15:0), ácido araquídico (C20:0), ácido behénico (C22:0) y ácido lignocérico (C24:0) [28] [26] [30] [31] [32].

En la Figura 12, se puede observar la distribución cuantitativa de los ácidos grasos encontrados en el presente estudios bajo las diversas condiciones estudiadas. En dicho grafico se puede observar que los AGMIs son los que se encuentran en mayor proporción, seguida por las AGS y los AGPIs, variando de 71,67 % a 74,53%, de 23,03% a 24,35% y de 2,37% a 3,8%, respectivamente. Esta proporción de AGMIs, AGS y AGPIs es consistente con la literatura científica disponible, como se puede observar en la Tabla 3, en la cual se muestra que los AGMIs variaron de 68,98% a 78,73%, los AGS variaron de 17,34% a 25,52% y los AGPIs variaron de 2,1% a 8,29%.



**Figura 12.** Contenido de ácidos grasos mono-insaturados (AGMI), saturados (AGS), poliinsaturados (AGPI), ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3).

Los ácidos grasos esenciales linoleico y linolénico constituyeron la totalidad de los AGPIs encontrados en el aceite de Aguaje en el presente estudio. El ácido graso linoleico estuvo en mayor concentración en comparación al linolénico, en todos los tratamientos, variando de 1,5% a 2,2%, en cuanto que el ácido linolénico varió de 0,87% a 1,6%. Como se puede observar en la Figura 12, la mayor concentración de estos dos ácidos grasos esenciales se encontró en el aceite de Aguaje extraído a una presión de 40MPa y una temperatura de 60°C. El rendimiento de extracción de estos dos ácidos grasos esenciales estuvo dentro del contenido observado en diversos estudios, reportados por Darnet et al. [6] y Restrepo et al. [26], como se puede observar en la Tabla 3.

## CONCLUSIÓN

Los resultados permiten concluir que cuando se incrementan tanto la presión como la temperatura de extracción supercrítica con dióxido de carbono, el rendimiento de extracción de aceite de Aguaje también se incrementa. Observándose que el mayor rendimiento de extracción se obtuvo a una presión de

40 MPa con una temperatura de 60°C. El aceite de Aguaje presento una mayor proporción de ácidos grasos mono insaturados, seguido de ácidos grasos saturados y poliinsaturados. Dos ácidos grasos esenciales fueron identificados y cuantificados, estos fueron el ácido linoleico (2,2%) y linolénico (1,6%), los cuales estuvieron en mayor concentración en el aceite de Aguaje extraído a 40MPa con 60°C.

## AGRADECIMIENTOS

Larry Oscar Chañi Paucar, agradece muy especialmente al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT) por la beca de pasantía otorgada con el **Contrato N° 156-2018-FONDECYT**, que permitió la movilización hacia el Laboratorio de Tecnología Supercrítica (LASEFI) de la Universidad Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo - Brasil, lugar donde se realizó la mayor parte del estudio reportado en el presente informe de investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Rainforest Alliance, "Evaluación participativa de la fenología de las palmeras aguaje (*Mauritia flexuosa*) y unguahui (*Oenacarpus bataua*) en la comunidad nativa Tres Islas, Madre de Dios," Lima, 2015.
- [2] L. Ribeiro, T. Manh, and A. U. O. Sabaa-srur, "Centesimal composition and bioactive compounds in fruits of buriti collected in Pará," vol. 31, no. 4, pp. 856–863, 2011.
- [3] J. M. Trujillo - Gonzalez, M. A. Torres Mora, and E. Santana - Castañeda, "La palma de Moriche (*Mauritia flexuosa* L.f;) un ecosistema estratégico," *Orinoquia*, vol. 15, no. 1, p. 62, 2011.
- [4] P. G. Vásquez-ocmín, V. E. S. Solís, D. D. C. Torres, L. F. Alvarado, and M. M. M. Luján, "Diferenciación química de tres morfotipos de *Mauritia flexuosa* L. f. de la Amazonía Peruana," *Rev. la Soc. Química del Perú*, vol. 75, no. 3,



pp. 320–328, 2009.

- [5] J. Restrepo, N. Arias, and C. Madriñán, “Determination of the Nutritional Value, Fatty Acid Profile and Antioxidant Capacity of Aguaje Pulp (*Mauritia flexuosa*),” *Revista de Ciencias*, vol. 20, no. 1, pp. 71–78, 2016.
- [6] S. H. Darnet, L. Helena, A. Manoel, and R. T. Lins, “Nutritional composition , fatty acid and tocopherol contents of buriti ( *Mauritia flexuosa* ) and patawa ( *Oenocarpus bataua* ) fruit pulp from the Amazon region,” vol. 31, no. 2, pp. 488–491, 2011.
- [7] J. E. C. C. Jaramillo, M. P. C. Bautista, O. A. A. Solano, L. E. K. Achenie, and A. F. G. Barrios, “Impact of the Mode of Extraction on the Lipidomic Profile of Oils Obtained from Selected Amazonian Fruits,” *Biomolecules*, vol. 9, no. 8, p. 329, Aug. 2019.
- [8] C. R. Malacrida, I. C. F. Moraes, V. V. de Rosso, C. E. da C. Rodrigues, and A. C. de Souza, “Effect of the application of an enzymatic pretreatment on bioactive compounds of *Caryocar brasiliense* Camb pulp oil,” *J. Food Process. Preserv.*, vol. 42, no. 12, Dec. 2018.
- [9] J. E. C. Cardona Jaramillo, M. P. Carrillo Bautista, O. A. Alvarez Solano, L. E. K. Achenie, and A. F. González Barrios, “Impact of the Mode of Extraction on the Lipidomic Profile of Oils Obtained from Selected Amazonian Fruits,” *Biomolecules*, vol. 9, no. 8, p. 329, Aug. 2019.
- [10] F. D. Krumreich, C. D. Borges, C. R. B. Mendonça, C. Jansen-Alves, and R. C. Zambiasi, “Bioactive compounds and quality parameters of avocado oil obtained by different processes,” *Food Chem.*, vol. 257, pp. 376–381, Aug. 2018.
- [11] J. J. Lafont-Mendoza, E. A. Espinosa-Fuentes, C. A. Severiche-Sierra, J. Jaimes-Morales, and Y. A. Marrugo-Ligardo, “Proximal analysis of the residual cake obtained with extraction by pressing seeds of *Perehuetano*,” *ARPN J. Eng. Appl. Sci.*, vol. 13, no. 19, pp. 8069–8072, Oct. 2018.
- [12] A. Delvar, P. de Caro, Y. Caro, A. Shum Cheong Sing, R. Thomas, and C. Raynaud, “Semi-Siccative Oils and Bioactive Fractions Isolated from Reunion Island Fruit Co-Product: Two Case Studies,” *Eur. J. Lipid Sci.*

*Technol.*, vol. 121, no. 4, Apr. 2019.

- [13] V. M. B. Cunha *et al.*, “Bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.) oil extraction using supercritical CO<sub>2</sub> and bioactive compounds determination in the residual pulp,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 144, pp. 81–90, Feb. 2019.
- [14] R. H. H. Pinto, C. Sena, O. V. Santos, W. A. Da Costa, A. M. C. Rodrigues, and R. N. Carvalho, “Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO<sub>2</sub>: Global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity,” *Grasas y Aceites*, vol. 69, no. 2, Apr. 2018.
- [15] C. P. Trentini, R. P. Cuco, L. Cardozo-Filho, and C. da Silva, “Extraction of macauba kernel oil using supercritical carbon dioxide and compressed propane,” *Can. J. Chem. Eng.*, vol. 97, no. 3, pp. 785–792, Mar. 2019.
- [16] F. Jacobo, M. Rojas, G. I. Reyes, and E. L. Pino, “Caracterización de aceites, tortas y harinas de frutos de Ungurahui (*Jessenia polycarpa*) y Aguaje (*Mauritia flexuosa*) de la Amazonía Peruana,” *Rev. la Soc. Química del Perú*, vol. 75, pp. 243–253, 2009.
- [17] M. B. Engler, “Effects of omega-3, omega-6 and omega-9 fatty acids on vascular smooth muscle tone,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 215, pp. 325–328, 1992.
- [18] P. M. Kris-Etherton, W. S. Harris, and L. J. Appel, “Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease,” *Am. Hear. Assoc.*, vol. 106, pp. 2747–2757, 2002.
- [19] A. Stoll *et al.*, “Omega 3 fatty acids in bipolar disorder: A preliminary double-blind, placebo-controlled trial,” *Arch Gen Psychiatry*, vol. 56, pp. 407–412, 1999.
- [20] M. Asif, “Health effects of omega-3,6,9 fatty acids: *Perilla frutescens* is a good example of plant oils,” *Farmácia Orient. e Med. Exp.*, vol. 11, no. 1, pp. 51–59, 2011.
- [21] D. Triana-Maldonado, S. Torijano-Gutiérrez, and C. Giraldo-Estrada, “Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil and omega-3 concentrate from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) from Antioquia,” *Grasas y Aceites*, vol. 68, pp.

- 1–11, 2017.
- [22] F. Sahena *et al.*, “Application of supercritical CO<sub>2</sub> in lipid extraction – A review,” *J. Food Eng.*, vol. 95, pp. 240–253, 2009.
- [23] M. A. A. Meireles, “Extraction of bioactive compounds from Latin American plants,” in *Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds*, J. Martinez, Ed. USA: CRC Press – Taylor & Francis Group, 2008, pp. 243–274.
- [24] J. C. F. Jodhner and M. A. de A. Meireles, “Construction of a supercritical fluid extraction (SFE) equipment: Validation using annatto and fennel and extract analysis by thin layer chromatography coupled to image,” *Food Sci. Technol.*, vol. 36, no. 2, pp. 210–247, Apr. 2016.
- [25] J. C. F. Johner, T. Hatami, and M. A. A. Meireles, “Developing a supercritical fluid extraction method assisted by cold pressing for extraction of pequi (*Caryocar brasiliense*),” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 137, pp. 34–39, Jul. 2018.
- [26] T. Hatami, J. Cezar, F. Johner, and M. A. A. Meireles, “Extraction and fractionation of fennel using supercritical fluid extraction assisted by cold pressing,” *Ind. Crop. Prod.*, vol. 123, no. April, pp. 661–666, 2018.
- [27] M. L. S. Albuquerque *et al.*, “Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) Oil by Absorption and Emission Spectroscopies,” vol. 16, no. 6, pp. 1113–1117, 2005.
- [28] L. F. de França, G. Reber, M. A. A. Meireles, N. T. Machado, and G. Brunner, “Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 14, no. 3, pp. 247–256, Mar. 1999.
- [29] E. Fernandez Storti, “Biologia floral de *Mauritia flexuosa* LIN.FIL, na região de Manaus, Am, Brasil.,” *Acta Amazonica*, vol. 23, no. 4. pp. 371–381, 1993.
- [30] R. I. Barbosa, A. D. Lima, and M. M. Junior, “Biometria de frutos do buriti (*mauritia flexuosa* l.f. - arecaceae) : Produção de polpa e óleo em uma área de savana em Roraima,” *Amaz. Ciência desenvolvimento, Belém, PA*, vol. 5, no. 10, pp. 71–85, 2010.
- [31] B. N. N. Pretell, “Estrategias comerciales para la exportación de Aguaje

- (*Mauritia flexuosa*) de la región de Loreto a Estados Unidos.,” Unicersidad Nacional Agraria la Molina, 2019.
- [32] L. F. Alvarado, R. Z. Gómez, R. B. Lozano, and D. D. C. Torres, “Efecto de la densidad de siembra en el desarrollo vegetativo del aguaje ( *Mauritia flexuosa* L . f .) en plantaciones forestales,” *Rev. Peru. Biol.*, vol. 26, no. 2, pp. 227–234, 2019.
- [33] IIAP, “Manual Cultivo de Aguaje,” Iquitos, 2010.
- [34] B. A. Endress, M. P. Gilmore, V. H. Vargas Paredes, and C. M. Horn, “Data on spatio-temporal patterns of wild fruit harvest from the economically important palm *Mauritia flexuosa* in the Peruvian Amazon,” *Data Br.*, vol. 20, pp. 132–139, Oct. 2018.
- [35] T. B. Carneiro and J. G. M. Carneiro, “Frutos e polpa desidratada buriti (*Mauritia flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos,” *Rev. Verde*, vol. 6, no. 2, pp. 105–111, 2011.
- [36] M. Tavares, S. Aued-Pimentel, L. C. A. Lamardo, N. C. Campos, L. I. F. Jorge, and E. Gonzalez, “Composição química e estudo anatômico dos frutos de buriti do Município de Buritizal , Estado de São Paulo,” *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, vol. 62, no. 3, pp. 227–232, 2003.
- [37] J. J. Reyes Mera, R. Abreu-Naranjo, J. M. Alvarez-Suarez, and D. Viafara, “Chemical characterization, fatty acid profile and antioxidant activity of *Gustavia macarenensis* fruit mesocarp and its oil from the amazonian region of Ecuador as an unconventional source of vegetable oil,” *Grasas y Aceites*, vol. 70, no. 2, Apr. 2019.
- [38] C. P. Trentini, K. A. Santos, E. Antonio da Silva, V. A. dos S. Garcia, L. Cardozo-Filho, and C. da Silva, “Oil extraction from macauba pulp using compressed propane,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 126, pp. 72–78, 2017.
- [39] F. S. G. Pereira, A. D. De Sobral, A. M. R. B. Da Silva, and M. A. G. Da Rocha, “*Moringa oleifera*: A promising agricultural crop and of social inclusion for Brazil and semi-Arid regions for the production of energetic biomass (biodiesel and briquettes),” *OCL - Oilseeds fats, Crop. Lipids*, vol. 25, no. 1, Jan. 2018.

- [40] A. Rai, B. Mohanty, and R. Bhargava, "Optimization of parameters for supercritical extraction of watermelon seed oil," *Sep. Sci. Technol.*, vol. 53, no. 4, pp. 671–682, Mar. 2018.
- [41] G. Sodeifian, N. S. Ardestani, S. A. Sajadian, and K. Moghadamian, "Properties of *Portulaca oleracea* seed oil via supercritical fluid extraction: Experimental and optimization," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 135, pp. 34–44, May 2018.
- [42] V. Dal Prá *et al.*, "Comparison of Different Compressed Fluids for Residual Oil Extraction from Palm Kernel Cake," *Waste and Biomass Valorization*, vol. 9, no. 2, pp. 265–271, Feb. 2018.
- [43] M. L. F. Freitas *et al.*, "Quality characteristics and thermal behavior of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil," *Grasas y Aceites*, vol. 68, no. 4, Oct. 2017.
- [44] C. B. Nobre, E. O. de Sousa, J. M. F. de Lima Silva, H. D. Melo Coutinho, and J. G. M. da Costa, "Chemical composition and antibacterial activity of fixed oils of *Mauritia flexuosa* and *Orbignya speciosa* associated with aminoglycosides," *Eur. J. Integr. Med.*, vol. 23, pp. 84–89, Oct. 2018.
- [45] L. R. C. Hartman L, "Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids," *Lab. Pract.*, vol. 22, no. 6, pp. 475–6 passim, 1973.
- [46] J. L. Serra, A. M. da C. Rodrigues, R. A. de Freitas, A. J. de A. Meirelles, S. H. Darnet, and L. H. M. da Silva, "Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocopherols, total carotenoids and chemical composition," *Food Res. Int.*, vol. 116, pp. 12–19, Feb. 2019.
- [47] P. dos Santos, A. C. de Aguiar, J. Viganó, J. S. Boeing, J. V. Visentainer, and J. Martínez, "Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of cumbaru oil (*Dipteryx alata* Vogel) assisted by ultrasound: Global yield, kinetics and fatty acid composition," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 107, pp. 75–83, 2016.