

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCABELICA
(Creada por Ley N° 25265)



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL
TESIS

“Efecto de presión y temperatura en el rendimiento, características físicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico”

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PRESENTADO POR:
Bach. Edison CURASMA POMA
Bach. Rosse Mary INGA SOLANO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

HUANCAVELICA, PERÚ

2019

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la Ciudad Universitaria de Común Era, en la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Huancavelica, a los 18 días del mes de diciembre del año 2019, a las 12:26 pm se reunieron el jurado calificador conformado por:

PRESIDENTE : Mtro. Alfonso RÚIZ RODRÍGUEZ

SECRETARIO : Mtro. Miguel Ángel CASTRO MATTOS

VOCAL : Mtra Carmen TAIPE LUCAS

Designados con resolución N° 335-2019-D-FCA-UNH, del proyecto de tesis "Efecto de presión y temperatura en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico"

Cuyos autores son : Bach. Edison CURASMA POMA.

Bach. Rosse Mary INGA SOLANO.

Asesorado por : M. Sc. Roberto Carlos CHUQUILÍN GOICOCHEA

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación de la tesis antes citada. Finalizada la evaluación; se invitó al sustentante y al público presente a abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente resultado:

APROBADO **MAYORÍA**

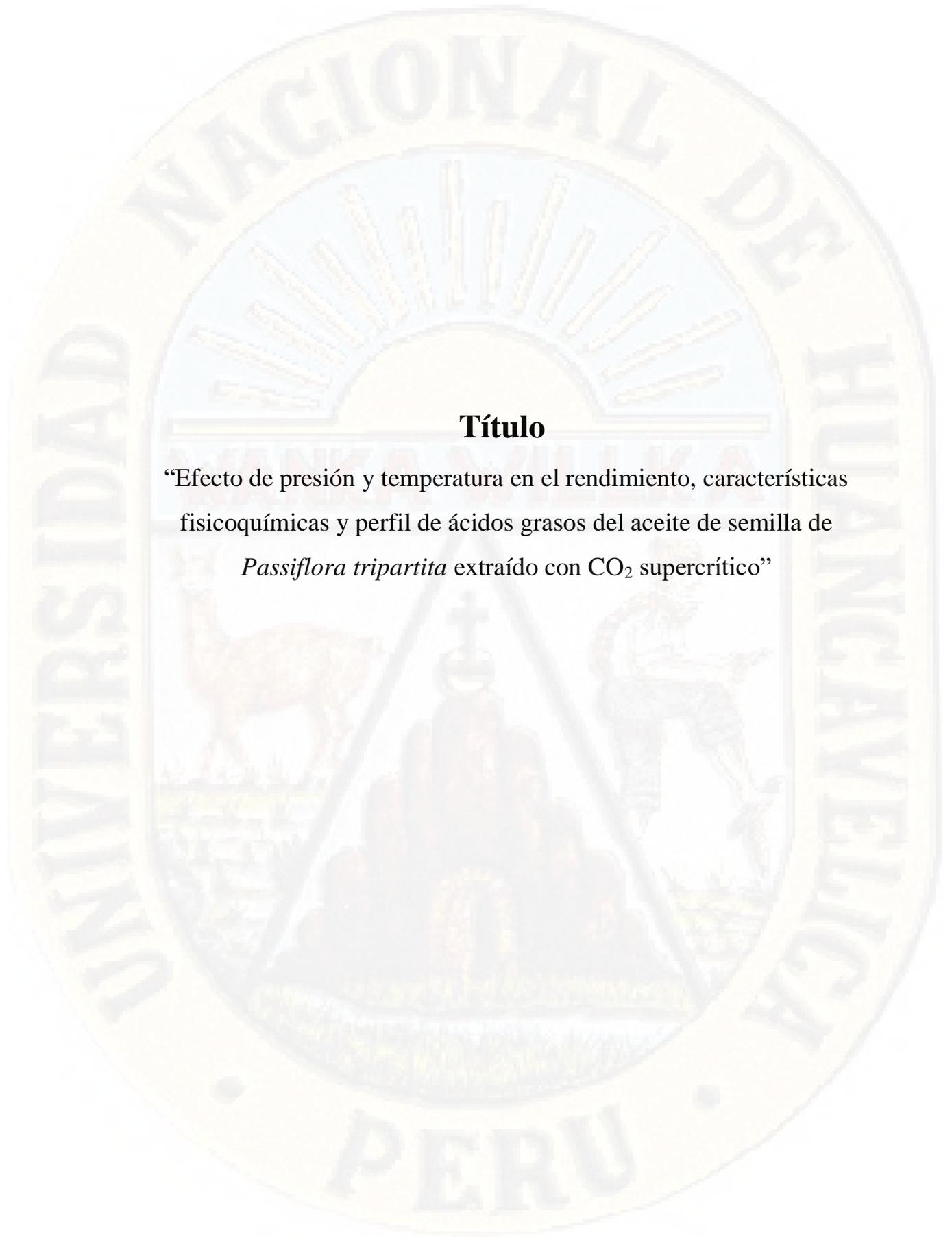
DESAPROBADO

En conformidad de lo actuado firmamos al pie.


Mtro. Alfonso RÚIZ RODRÍGUEZ
PRESIDENTE

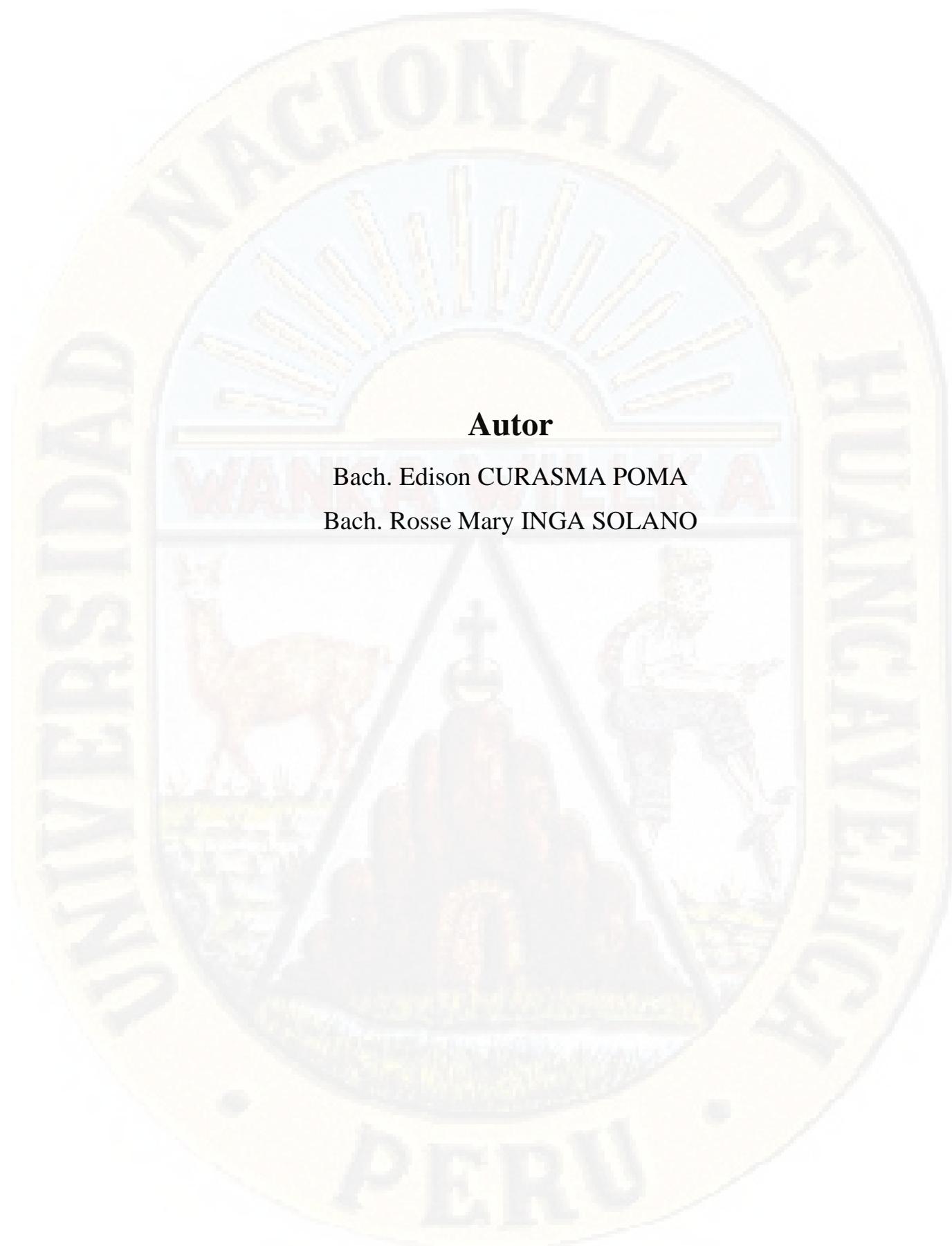

Mtro. Miguel Ángel CASTRO MATTOS
SECRETARIO


Mtra. Carmen TAIPE LUCAS
VOCAL



Título

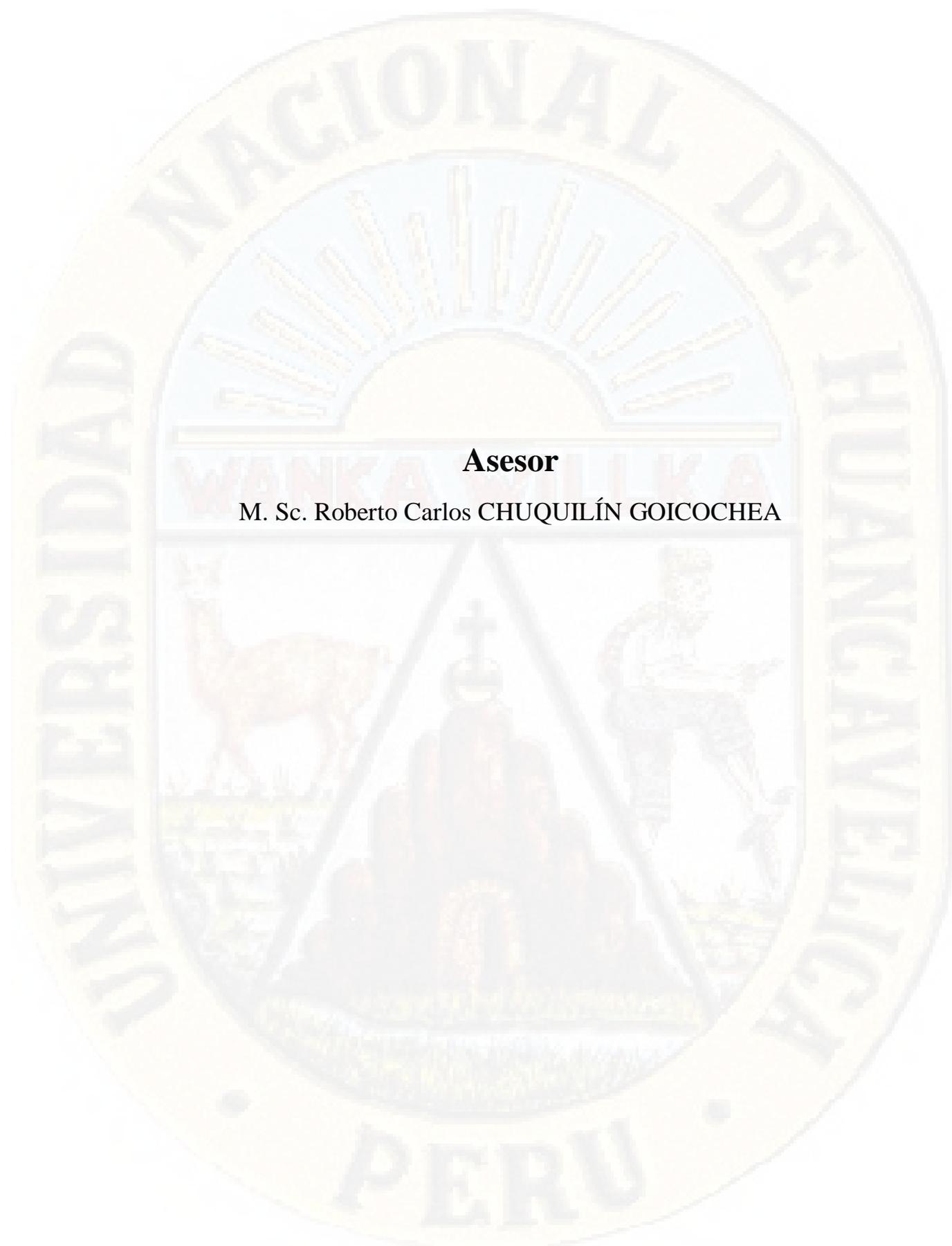
“Efecto de presión y temperatura en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico”



Autor

Bach. Edison CURASMA POMA

Bach. Rosse Mary INGA SOLANO



Asesor

M. Sc. Roberto Carlos CHUQUILÍN GOICOCHEA

Dedicatoria

A MIS PADRES:

Hipólito CURASMA RAMOS, que desde el cielo guía mis pasos, **Matilde POMA HUAMÁN** por su confianza, paciencia, fortaleza y amor que me impulsa a seguir adelante.

A MIS HERMANOS:

Rigo y Freddy por ser luchadores en el día a día y alegrarme siempre con sus locuras en las buenas y malas.

A MIS PRIMOS:

Por ser personas maravillosas alegres, renegonas, impulsores y motivadores.

A MIS TIOS: por sus bellas palabras, consejos, llantos, tristezas y euforia, en especial a mi tía María (que está en paraíso llamado cielo gracias por enseñarnos unión, humildad, amor y nunca rendirnos).

Bach. Edison Curasma Poma

A DIOS:

Que encamina mis pasos para conseguir las metas anheladas.

A MIS PADRES Y HERMANOS:

A mi madre y sobre todo a mi padre Humberto Inga que desde el cielo guía mis pasos.

Bach. Rosse Mary Inga Solano

Agradecimiento

A la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por ser mi segundo hogar, y albergarme en ella, dándome conocimientos en mi vida profesional.

A mi asesor M. Sc Roberto Carlos Chuquilín Goicochea por ser una persona motivadora, con sus alumnos, amigos y ser una excelente persona.

A mis Docentes que dieron lo mejor de ellos para mi superación personal y profesional, siempre tuvieron las palabras idóneas para conmigo.

Bach. Edison Curasma Poma

Al M. Sc. Roberto Carlos Chuquilín Goicochea, como buen maestro que incentiva la investigación como medio de desarrollo y por su aporte en mi formación universitaria y personal.

A la Pontificia Universidad Católica del Perú y E. P. de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Huancavelica, por el apoyo en la elaboración y ejecución del presente trabajo de investigación, a través de sus docentes.

A todos aquellos que aportaron en mi desarrollo como profesional y sobre todo como ser humano.

Bach. Rosse Mary Inga Solano

Un agradecimiento muy especial a: **Mg. Henry Alcibíades Obregón Tinoco, Mg. Fredy Vicente Huayta Socantaype y Dra. Fiorella Patricia Cárdenas Toro**, por su invaluable apoyo y predisposición de servicio, que hicieron posible la ejecución y publicación de esta investigación.

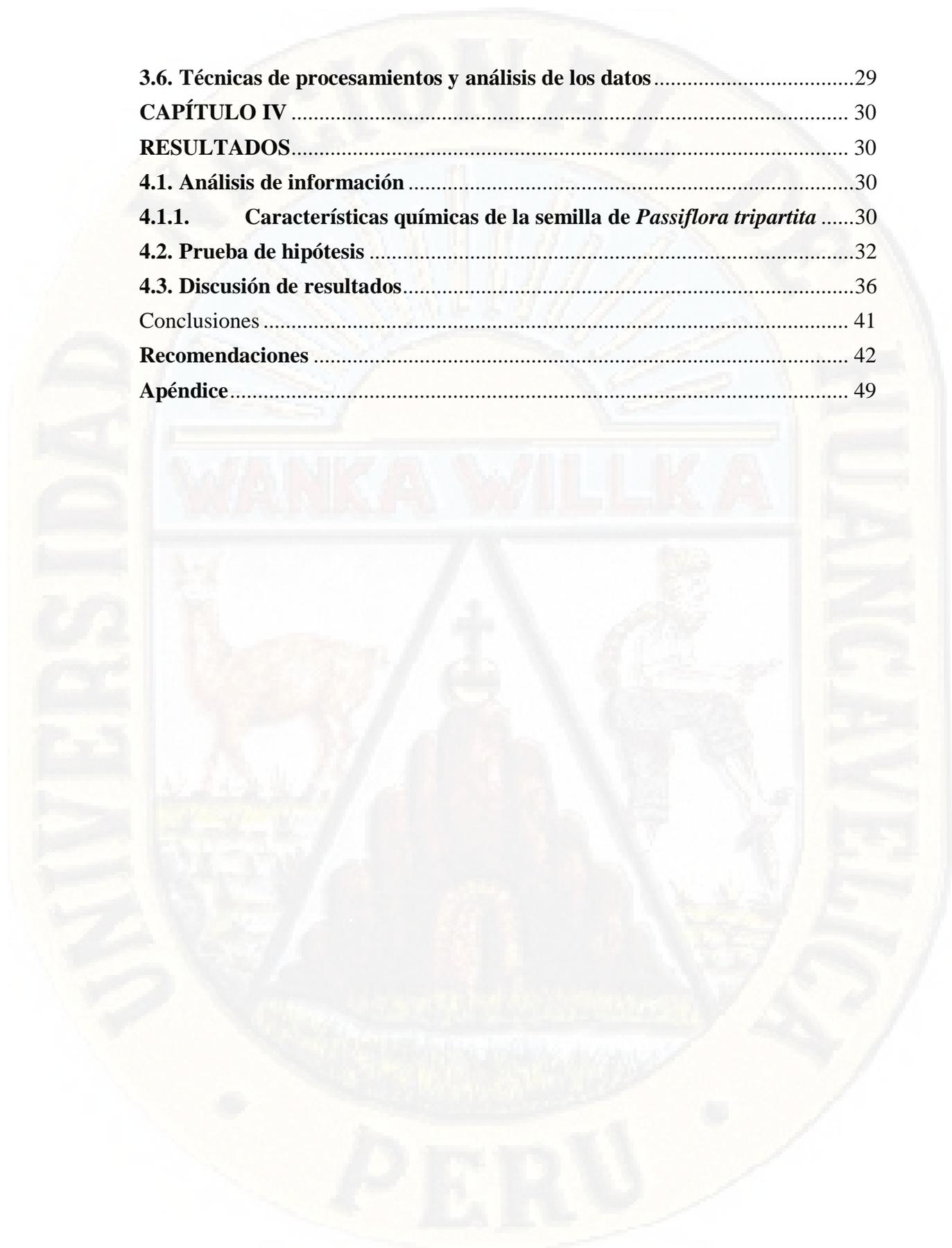
Bach. Edison Curasma Poma

Bach. Rosse Mary Inga Solano

Índice

Título.....	i
Autor	ii
Asesor.....	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimiento.....	v
Índice.....	vi
Resumen.....	viii
Abstract	ix
Introducción	x
CAPÍTULO I.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.1. Descripción del problema	1
1.2. Formulación del problema	2
1.3. Objetivos	2
1.3.1. Objetivo General	2
1.3.2. Objetivos Específicos	2
1.4. Justificación	2
1.5. Limitaciones.....	3
MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	10
2.3. Bases conceptuales	16
2.4. Definición de términos	21
2.5. Hipótesis.....	22
2.6. Variables	22
2.7. Operacionalización de variables	23
CAPÍTULO III.....	24
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN.....	24
3.1. Ámbito temporal y espacial.....	24
3.2. Tipo de Investigación.....	24
3.3. Nivel de Investigación	24
3.4. Población, muestra y muestreo	24
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	24

3.6. Técnicas de procesamientos y análisis de los datos	29
CAPÍTULO IV	30
RESULTADOS	30
4.1. Análisis de información	30
4.1.1. Características químicas de la semilla de <i>Passiflora tripartita</i>	30
4.2. Prueba de hipótesis	32
4.3. Discusión de resultados	36
Conclusiones	41
Recomendaciones	42
Apéndice.....	49



Resumen

Se evaluó el efecto de la presión y temperatura en el rendimiento de aceite de semilla de *Passiflora tripartita* (Pt) y se caracterizó el aceite y la semilla, a nivel fisicoquímico. Se encontró que existe efecto significativo ($p < 0,05$) del término lineal de la temperatura, el término cuadrático de la presión, y de la interacción de la temperatura y presión en el rendimiento del aceite de semilla de Pt extraído con CO₂ supercrítico. El modelo cuadrático estableció que la temperatura y la presión óptima fue 64,14 °C y 441,42 bar, dando como resultado el 11,02 % como rendimiento, respectivamente. La composición química proximal de la semilla de Pt fue: 9,12 g de humedad, 1,45 g de ceniza; 15,45 g de grasa, 10,56 g de proteína, 38,86 g de fibra, 24,54 g de carbohidratos y 273,35 kcal, por cada 100 g de semilla. Las características fisicoquímicas de calidad del aceite de semilla de Pt fueron las siguientes: humedad (0,02 g/100 g aceite), índice de peróxido (3,53 meq O₂/ kg aceite), índice de yodo (110 g yodo/100 g aceite), índice de acidez (0,54 mg KOH/g aceite), índice de saponificación (197 mg KOH/g aceite), índice de refracción (1,4755) y densidad específica (0,9144 g/cm³). El análisis de cromatografía de gases del aceite de semillas de Pt estableció una predominancia de ácidos grasos poliinsaturados en 74,80 %, seguido de ácidos grasos monoinsaturados en 14,51 % y finalmente ácidos grasos saturados en 10,57 %. Además, reveló la presencia de cuatro ácidos grasos principales: linoleico (74,34 %), oleico (13,85 %), palmítico (7,36 %) y esteárico (2,84 %). Se demostró la viabilidad del aceite de Pt como ingrediente potencial en alimentación, insumo nutracéutico, para fines farmacéuticos y cosméticos.

Palabras clave: *Passiflora tripartita*, ácido linoleico, poliinsaturados, índice de yodo, aceite, fluidos supercríticos.

Abstract

The effect of pressure and temperature on the yield of *Passiflora tripartita* (Pt) seed oil was evaluated, and the oil and seed, a physicochemical level, were characterized. It was found that there is a significant effect ($p < 0,05$) of the linear term of the temperature, the quadratic term of the pressure, and of the interaction of the temperature and pressure on the yield of the seed oil of Pt extracted with CO₂ supercritical. The quadratic model specified that the optimum temperature and pressure was 64.14 ° C and 441.42 bar, respectively. The proximal chemical composition of the Pt seed was: 9.12 g of moisture, 1.45 g of ash; 15.45 g of fat, 10.56 g of protein, 38.86 g of fiber, 24.54 g of carbohydrates and 273.35 kcal, per 100 g of seed. The quality physicochemical characteristics of the seed oil of Pt were the following: humidity (0.02 g / 100 g oil), peroxide index (3.53 meq O₂ / kg oil), iodine index (110 g iodine / 100 g of oil), acid number (0.54 mg of KOH / g of oil), saponification index (197 mg of KOH / g of oil), refractive index (1.4755) and specific density (0, 9144 g / cm³). Gas chromatography analysis of Pt seed oil affects a predominance of polyunsaturated fatty acids in 74.80%, followed by monounsaturated fatty acids in 14.51% and finally saturated fatty acids in 10.57%. In addition, it revealed the presence of four main fatty acids: linoleic (74.34%), oleic (13.85%), palmitic (7.36%) and stearic (2.84%). The viability of Pt oil as a potential ingredient in food, nutraceutical input, for pharmaceutical and cosmetic purposes is demonstrated.

Keywords: *Passiflora tripartita*, linoleic acid, polyunsaturated, iodine index, oil, supercritical fluids.

Introducción

La *Passiflora tripartita* es un fruto silvestre de la sierra, con alto valor nutricional y características funcionales y la Universidad Nacional de Huancavelica está empezando a estudiarlo ampliamente y para darle valor agregado en su procesamiento. En la presente tesis se evaluó el efecto de la presión y temperatura en el rendimiento de aceite de semilla de *Passiflora tripartita* (Pt), y se caracterizó el aceite y la semilla, a nivel fisicoquímico.

A nivel nacional e internacional se viene incrementando los consumidores de frutos naturales y silvestres de la especie *Passiflora sp.*, que tienen preferencias por su capacidad antioxidante, aroma característico y propiedades funcionales, que en el futuro se industrializará a mayor escala; para ello, es necesario conocer las posibilidades de aprovechamiento agroindustrial de sus productos y subproductos, debido a su muy escasa información.

Este trabajo permitirá información básica para la ejecución de trabajos aplicados que impulsen el desarrollo de nuevos productos con el aprovechamiento de esta materia prima promisoría de la región Huancavelica.

La alimentación de animales con semillas para incrementar su contenido de ácido linoleico conjugado en su carne, huevos, leche, entre otros. El aprovechamiento de cultivos starter que transforman el ácido linoleico en ácido linoleico conjugado. Entre las anteriores y otras posibilidades, abren sus puertas al empleo de la semilla de puro puro y su aceite, impulsando el desarrollo agroindustrial.

Con la aplicación de fluidos supercríticos permite la selectividad de componentes, cuyo producto de extracción no solo es útil para alimentos, sino también en productos farmacéuticos y cosméticos de alto valor agregado.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción del problema

La *Passiflora tripartita* (tumbo serrano) es una planta silvestre que crece en pequeñas parcelas en los andes de la sierra peruana que, recientemente ha sido investigada; en cuanto a su contenido de pectina de cáscara, con la finalidad de poder aprovechar los restos del proceso de aprovechamiento de pulpa y elucidar su potencial agroindustrial, como fuente de pectina. Otro residuo agroindustrial de este proceso es la semilla, son motivo de preocupación por ser investigados para su aprovechamiento, y de esta manera, reducir su impacto ambiental.

La extracción con fluido supercrítico (SFE) se ha utilizado como una técnica alternativa para extraer aceite de diferentes tejidos vegetales, como semillas y cáscaras (Viganó, Paula, & Martínez, 2015). La temperatura crítica y la presión moderadas del dióxido de carbono (CO₂) hacen que este disolvente sea el más utilizado. Esta tecnología de extracción de aceites es amigable con el ambiente y además es muy selectiva.

La obtención de aceites a partir de semillas residuales de frutas procesadas es una alternativa agroindustrial para darle un plus a la explotación de las frutas. Las semillas, en el maracuyá (*Passiflora edulis*), representan alrededor del 6 al 12% del peso total del fruto y, según Tocchini (1994), pueden ser buenas fuentes de aceite, carbohidratos, proteínas y minerales, a pesar del alto contenido de celulosa y lignina que pueden limitar su uso en la alimentación animal, principalmente monogástricos. El aceite de sabor agradable y el olor suave se compara con el aceite de algodón en valor nutritivo y digestibilidad. El porcentaje de aceite en la semilla de maracuyá, cerca del 25,7% del peso del salvado seco obtenido, con alto contenido de ácidos grasos insaturados, demuestra que este producto tiene un buen potencial para aprovechamiento tanto en la alimentación humana y animal, como en uso para la industria de cosméticos (Tocchini, 1994). Es por ello que, optimizando la extracción del

aceite de semilla de *Passiflora tripartita* con CO₂ supercrítico, realizando la caracterización fisicoquímica y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita*, se espera conocer sus potencialidades para su aprovechamiento industrial.

1.2. Formulación del problema

¿Cuál será el efecto de presión y temperatura en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de presión y temperatura en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar la composición química proximal de la semilla de *Passiflora tripartita*
- Evaluar el efecto de la presión y temperatura en el rendimiento del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico.
- Determinar las características fisicoquímicas del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico.
- Determinar el perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico.

1.4. Justificación

El presente trabajo de investigación ampara su valor científico en la ausencia del conocimiento sobre el efecto de la presión y temperatura en el rendimiento del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico, la

composición química proximal de la semilla, las características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite.

El aporte científico que se logrará con este trabajo de investigación pretende dar el valor agregado para el aprovechamiento de un residuo agroindustrial de la producción de pulpa de tumbo serrano permitirá reducir el impacto ambiental de esta industria. Por otro lado, el hecho que se reproduce como una mala hierba permite que los costos de producción sean reducidos y se convierta en un producto 100% orgánico, en la región de Huancavelica.

El valor socio ambiental se basa en el uso de la tecnología de extracción por fluidos supercríticos es muy útil sobre todo en productos de alto valor en el mercado y según los antecedentes promete mucho en cuanto a posibles hallazgos. Esto aportaría a la economía de la región, y además reduciría el impacto ambiental, al aprovechar los residuos con tecnologías limpias.

1.5. Limitaciones

La presente investigación se limita a los siguientes aspectos:

- a) Reporta esencialmente datos de optimización del rendimiento, composición química proximal de la semilla, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de *Passiflora tripartita*, cosechada en el distrito y provincia de Acobamba. No se reporta otros datos, ya que estos son esenciales para destinar su posterior uso.
- b) Los resultados se limitan al ámbito espacial del estudio, sin embargo, sería posible que se replique en toda el área andina.
- c) Aquellos aspectos que no se reportan ni discuten serán puestos en la sección de recomendaciones.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Se han encontrado investigaciones del entorno internacional, nacional y local, las mismas que a continuación se mencionan.

Se evaluaron el proceso de extracción de aceite de semillas de maracuyá; el aceite obtuvo mediante fluidos supercríticos utilizando CO₂ como solvente. Evaluaron diferentes condiciones de presión y temperatura frente al rendimiento de aceite, utilizando un diseño factorial de experimentos 22 con 4 puntos centrales. También determinaron las características fisicoquímicas para aceites tales como densidad e índices de refracción, saponificación, yodo, acidez y peróxido. De la misma manera determinó el contenido de ácidos grasos mediante cromatografía de gases y de esteroides por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Obtuvieron como resultado los siguientes: Las mejores condiciones de extracción fueron 350 bar y 60°C, obteniendo un rendimiento de 15,7% de aceite. La caracterización fisicoquímica indicó que el índice de acidez del aceite de semillas de maracuyá fue 2,56 mg.g⁻¹ el cual se encuentra dentro de los parámetros permisibles de calidad de los aceites vegetales comestibles, el índice de yodo fue 108 mg.100 g⁻¹, índice de saponificación fue de 167 mg KOH.100g⁻¹, índice de peróxido 4,55 meq H₂O₂.kg⁻¹ esto indica rancidez que ha sufrido el aceite. Con respecto a los ácidos grasos obtuvieron que el ácido linoleico es el más abundante en el aceite de maracuyá extraído con fluidos supercríticos (67,0%), seguido por el ácido oleico (16,6%) y palmítico (14,5%) y en menor cantidad los ácidos esteáricos (1,08%), linolénico (0,48%) y palmitoleico (0,08%). La actividad antioxidante se evidenció con un valor de EC50 de 433,40 g aceite/g DPPH* y una eficiencia y una eficiencia antiradical de 2,31 x 10⁻³. En el cual llegaron a una conclusión de que la tecnología de extracción con fluido supercrítico les permitió obtener un aceite de la semilla de maracuyá, con un buen rendimiento. Las mejores condiciones de extracción fueron 350 bar y 60°C con un

rendimiento de 16 % y según la caracterización fisicoquímica y composicional del aceite de semilla provenientes del departamento de Nariño cumple con los parámetros de calidad permitidos por el Codex Alimentarius y Normas Técnicas Colombianas; así mismo posee características antioxidantes por la presencia de escualeno y fitosteroles que lo hacen interesantes para la industria alimentaria cosmética (Pantoja-Chamorro, Hurtado-Benavides, & Martínez-Correa, 2017).

Se estudió la extracción de aceite de los granos de café tostados utilizando dióxido de carbono supercrítico (SCCO₂) en diferentes condiciones de presión (15–30 MPa) y temperatura (40–60 °C). Se empleó un diseño experimental compuesto central para establecer el efecto de estos parámetros en el rendimiento y la composición de los ácidos grasos que se determinó mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID). El aroma se analizó mediante microextracción en fase sólida en espacio de cabeza (HS-SPME). El rendimiento óptimo de aceite fue de 8,9%, obtenido a 33,1 MPa y 35,9 ° C. Los principales ácidos grasos identificados fueron: palmítico (46,1%), linoleico (32,9%), oleico (8,0%), esteárico (6,6%) y araquídico (1,9%). Los compuestos volátiles del aceite de café pertenecen principalmente a la familia de los furanos y pirazinas, que mantienen las características particulares del café tostado. Este hecho hace que el aceite de café sea atractivo para ser utilizado en la industria alimentaria y/o cosmética (Hurtado-Benavides, Dorado, & Sánchez-Camargo, 2016).

Se estudió la extracción de aceite de semillas de guanábana utilizando dióxido de carbono supercrítico (CO₂-SC) a presiones entre 20 y 35 MPa y temperaturas entre 313 y 333 K, con un flujo de dióxido de carbono constante de 30 g.min⁻¹ y un tiempo de extracción de 150 min. Se planteó un diseño experimental compuesto central para estudiar el efecto de la presión (P) y la temperatura (T) sobre el rendimiento, el perfil de ácidos grasos y esteroides. La composición en ácidos grasos y esteroides analizó por cromatografía de gases. Sus resultados obtenidos fueron: El flujo se estimó en 30 g CO₂.min⁻¹,

obteniendo una relación 22,5 g CO₂/g semilla, dentro de los intervalos experimentales de 38,1 MPa y 323, alcanzando un rendimiento de 12,95 %. El ácido graso mayoritario es el ácido oleico (C18:1, 24,84% - 46,48%), seguido del ácido palmítico (C16:0, 19,22% - 42,69%) y el ácido linoleico (C18:2, 17,19% - 36,17%). En menor proporción se encontraron el ácido esteárico, palmitoleico, linolénico y dodecanoicositosterol. Llegaron a conclusión que, la presión y temperatura supercríticas tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de ácido oleico, palmítico, palmitoleico y sobre la relación de insaturados/saturados. Por lo tanto, el aceite de semillas de guanábana obtenido con CO₂-SC, fue un aceite vegetal libre de solventes, muestra potencial para ser usado como ingrediente natural en diferentes industrias (Dorado, Hurtado-Benavides, & Martínez-Correa, 2016).

Se analizó la calidad del aceite de las semillas de maracuyá sometidas al proceso de purificación de los residuos de la pulpa, para ello, limpiaron y secaron las semillas de maracuyá antes del proceso de extracción para luego obtener un aceite de alta calidad con fines comestibles y cosméticos. La investigación examinó 2 etapas de maduración de la fruta y un proceso de purificación de las semillas, en comparación con el control. La calidad del aceite se evaluó por la composición de ácidos grasos, acidez, índice de peróxido y estabilidad oxidativa. Los residuos de pasta sufrieron un tratamiento térmico en una solución de agua alcalina a 60 °C durante 10 minutos y se purificaron en un decantador experimental. En el tratamiento de control, el desperdicio de pulpa se procesó utilizando solo agua en condiciones ambientales. Las semillas de maracuyá se limpiaron totalmente con el tratamiento térmico / químico, lo que permitió un secado más rápido (menos del 50% del tiempo de secado) de las semillas y un rendimiento de extracción de aceite un poco mayor (proporcionalmente alrededor del 7,7%), sin cambios en la calidad del aceite. Dentro de los posibles procesos de extracción están la destilación, la extracción con disolventes y la extracción con fluidos supercríticos. La destilación resulta poco conveniente para usarse con aceites vegetales debido a la presencia de

triglicéridos que pueden degradarse a altas temperaturas de operación. La extracción con disolventes orgánicos siempre deja un residuo inherente en el aceite, particularmente de hexano que es el más comúnmente usado, pero que actualmente es de uso restringido en productos para el consumo humano y además su inflamabilidad lo hace poco deseable a nivel industrial. La extracción con fluidos supercríticos, específicamente con dióxido de carbono, resulta una alternativa interesante para la extracción y fraccionamiento de aceites vegetales por cuanto no posee los inconvenientes de los disolventes orgánicos tradicionales (Regis, de Resende, & Antoniassi, 2015).

Se evaluó el efecto del ultrasonido, la temperatura y la presión en la extracción del aceite de semilla de maracuyá con CO₂ supercrítico. Al aceite evaluaron los ácidos grasos, la composición de tocoferol y tocotrienol y la actividad de captación de radicales DPPH. Sus resultados obtenidos fueron: La aplicación de ultrasonido ayudó a aumentar el rendimiento global hasta un 29% en comparación con SFE sin ultrasonido. El efecto de la ecografía en el rendimiento global y la cinética de SFE se anunció más a 16 MPa que a 26 MPa a una temperatura de 40 °C y el aceite obtenido fue rico en ácidos grasos poliinsaturados (aproximadamente 67%), tocoferol y tocotrienol (entre 60 y 90 mg / 100 g de aceite), presentó una alta actividad de captación de radicales de DPPH (entre 1,8 y 2,6 mg de TE / g de aceite), que mostró correlación con el contenido total de tocoferol y tocotrienol ($r = + 0,872$). Concluyó que la aplicación de la potencia de ultrasonido de 160W favoreció la extracción de aceite, ya que la mejora del rendimiento global de SFE alcanzó el 29% (a 40 °C y 16 MPa). El modelo matemático de Sovová fue capaz de describir la cinética de extracción. Hubo aumentos en el tiempo de la tasa de extracción constante y del coeficiente de transferencia de masa en la fase líquida, y la reducción de la relación de soluto dentro de las células debido a la aplicación de ultrasonido (Barrales, Rezende, & Martínez, 2015).

Se extrajo aceite de semilla de *Capparis spinosa* que crece en forma silvestre en Irán, utilizando CO₂ supercrítico y métodos de extracción asistidos por

ultrasonido. Los parámetros experimentales de extracción con fluidos supercríticos (SFE) y extracción asistida con ultrasonido (UAE) fueron optimizados utilizando un diseño compuesto central rotatable. El mayor rendimiento para SFE obtuvo a una presión de 355 bar, temperatura de 65 ° C, volumen modificador de 140 µL, tiempo de extracción estático y dinámico de 10 y 35 min, respectivamente, para UAE obtuvo un volumen de disolvente de 23 mL, tiempo de sonicación de 45 min y temperatura de 40 °C. El cual resultó una recuperación máxima de aceite de 25,1% para SFE y 27,9% para UAE. Los extractos con mayor rendimiento de ambos métodos se sometieron a transesterificación y análisis GC-MS. Los principales ácidos grasos extraídos por SFE fueron el ácido linoleico (33,8%), el ácido oleico (22,25%) y su isómero posicional, el ácido cis-vaccenico (14,1%), el ácido palmítico (16,14%), el ácido esteárico (2,2%), el palmitoleico ácido (2%), ácido araquídico (1,1%), ácido behénico (0,4%), ácido mirístico (0,34%) y ácido margárico (0,12%); y en la extracción asistida por ultrasonido fueron ácido linoleico (35,58%), ácido oleico (20,56%), ácido cis-vaccénico (10,45%), ácido palmítico (10,57%), ácido mirístico (2,16%), ácido esteárico (2,12%), ácido pentadecílico (1,5%), ácido palmitoleico (1,32%), ácido araquídico (1,3%), ácido láurico (0,69%), ácido cáprico (0,65%) y ácido pelárgico (0,29%). Concluyen que los componentes principales de los aceites extraídos de ambos métodos fueron linoleico, oleico, su isómero posicional cis-vaccenic y ácido palmítico (Ara & Raofie, 2016).

La extracción de aceite de semilla de *Passiflora* utilizando dióxido de carbono supercrítico fue estudiada aplicando Redes Neuronales Artificiales (ANN) y la metodología de superficie de respuesta (RSM) para el modelado y la predicción de la optimización del rendimiento de extracción del aceite. El rendimiento máximo de extracción del aceite de semilla de *Passiflora* fue 26,55% estimado por ANN bajo las condiciones operativas de temperatura 56,5 °C, presión 23,3 MPa y tiempo de extracción 3,72 h; mientras que el rendimiento óptimo de extracción de aceite fue del 25,76%, aplicado por método RSM bajo las

circunstancias operativas de la temperatura de 55,9 ° C, presión 25,8 MPa y en un tiempo de 3,95 h. En conclusión, los resultados de la comparación revelan la superioridad del modelo ANN en comparación con el modelo RSM (Zahedi & Azarpour, 2011).

Se empleó la metodología de superficie de respuesta (RSM) para optimizar los parámetros de proceso de extracción del aceite de semilla de maracuyá con dióxido de carbono supercrítico. Investigaron los efectos de la temperatura, la presión y el tiempo de extracción en el rendimiento del aceite. Los resultados mostraron que los datos se ajustaron adecuadamente al modelo polinomial de segundo orden. Obteniendo los parámetros óptimos del proceso de extracción dentro de los rangos experimentales serían la temperatura de extracción de 56 ° C y la presión de 26MPa y el tiempo de extracción de 4 h. En estas condiciones, el rendimiento del aceite fue de 25.83%. El color del aceite de semilla de maracuyá extraído por dióxido de carbono supercrítico fue naranja dorado. Sus propiedades físicas y químicas; el estado del aceite fue líquido a temperatura ambiente; la gravedad específica del aceite fue 0,9171; el índice de refracción fue 1,4680; el índice de acidez, fue $2,36 \pm 0,12$ mg KOH / g de aceite; el valor de peróxido fue $1,37 \pm 0,09$ mmol / kg relativamente bajo; el valor de saponificación fue $187,4 \pm 2,3$ mg KOH / g; y el valor de yodo del aceite fue $129,3 \pm 1,3$, el cual cumplen con el estándar requerido para ser aceite comestible. El contenido de ácido graso insaturado fue de hasta 89,43% y el contenido de ácido linoleico fue de más del 72 %. En conclusión el aceite de semilla de maracuyá extraído por dióxido de carbono supercrítico era aceite comestible para el cuidado de la salud y tendría una buena perspectiva de desarrollo (Liu *et al.*, 2009).

Las semillas oleaginosas contienen un alto contenido de omega 6, es considerado un ácido graso esencial debido a que, no pueden ser sintetizados por nuestros organismos. Los ácidos grasos esenciales cumplen varias funciones imprescindibles; su deficiencia, exceso o desproporción entre ellos, está involucrada en la aparición de problemas metabólicos relacionados con

alteraciones de la piel (piel seca, eczemas), arterioesclerosis, exacerbación de las complicaciones diabéticas, alteraciones de la inmunidad, fenómenos inflamatorios y trombóticos, enfermedades cardiovasculares y predisposición al cáncer. Esto se debe a que estos ácidos grasos forman parte de la membrana celular, regulan su flexibilidad y permeabilidad; por lo que de ello depende la respuesta celular a los impulsos nerviosos, funcionales y hormonales. Además, estos omegas son precursores de las prostaglandinas, tromboxanos y eicosanoides; moléculas que regulan el metabolismo corporal. Además de poder ser empleado para alimentación humana, se puede aplicar en la alimentación de animales, también en la industria de los cosméticos (Arellano, 2003).

2.2. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.2.1. Características del tumbo

El tumbo es una planta trepadora tipo enredadera, que crece muy bien a altitudes incluso cercanas a los 4000 m.s.n.m. Produce frutos de forma elipsoidal y de tamaño similar a un huevo de gallina (Tabla 1). Se propagan por semillas y suelen crecer sobre cercos y pareces de las viviendas. Sus flores, consideradas entre las más bellas del mundo, son polinizadas por abejas, avispas y varias especies de colibríes. Si bien el tumbo serrano se distribuye a lo largo de los Andes desde el norte de Chile hasta Colombia, en zonas con temperaturas promedio entre los 12° C y 16° C, se sabe que su centro de origen está en los Andes peruanos, a alturas entre los 2500 y 3000 m.s.n.m. (MINAGRI, 2019).

En estado silvestre se presenta una gran interacción genética entre *P. mixta*, *P. tripartita* y *P. tripartita* var. *mollissima*, generando como resultado todos los intermedios entre estas especies, evidenciados por cambios en la coloración de las flores, que van desde el anaranjado hasta el rosado pálido típico de *P. tripartita* (De Florio Ramírez, 1996).

Tabla 1*Características de las partes del tumbo (De Florio Ramírez, 1996).*

Fruto		
Características	Inmaduro	Maduro
Color	Verde	Amarillo
Forma	Oblongo	Oblongo
Textura	Consistente	Suave
Apariencia de la cáscara	Cubierta por una fina pubescencia	Cubierta por una fina pubescencia
Semilla		
Forma	Ovalo – aplanada	Ovalo – aplanada
Color	Negro claro	Negro claro
Textura	Semidura	Semidura
Dimensiones del fruto		
Dimensión	Largo (cm)	Ancho (cm)
Longitud máxima	13,0	4,8
Longitud mínima	6,5	3,0
Longitud promedia	8,53 ± 1,72	3,75 ± 0,56

2.2.2. Taxonomía de *Passiflora tripartita*

La clasificación de la planta del tumbo es la se presenta a continuación (Mostacero, Mejía, & Gamarra, 2009):

Clasificación taxonómica del tumbo:

- Reino : Plantae
 División : Magnoliophyta
 Clase : Dicotiledoneas
 Orden : Violales
 Familia : Passifloraceae
 Genero : Passiflora
 Especie : *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Kunth).

2.2.3. Composición química de *Passiflora tripartita*

El tumbo serrano, tiene 9,2 a 12 °Brix; 1,46 a 3,82 % acidez (expresado como ácido cítrico) y 10,22 a 12,98% de sólidos totales, y se ubica dentro del promedio de todas las frutas en lo que a composición química (Tabla 2) se refiere (León & Riveros, 2014).

Tabla 2

Composición química proximal del tumbo fresco en 100 g.

Composición	Unidad	Contenido
Energía	kcal	64,0
Agua	g	82,1
Proteína	g	1,2
Grasa total	g	0,5
Carbohidratos totales	g	15,4
Fibra cruda	g	3,6
Ceniza	g	0,8
Calcio	mg	8,0
Fósforo	mg	34,0
Zinc	mg	-
Hierro	mg	0,6
Retinol	mg	159
Vitamina A	Mg	-
Tiamina	Mg	0,02
Riboflavina	Mg	0,11
Vitamina C	64 mg	66,70

A. Beneficios y/o Usos del tumbo

Alimento: se consume la pulpa y las semillas de los frutos maduros, con alto contenido de vitamina C, en forma cruda, en jugos, en mermeladas, tragos y otras formas. En algunas zonas se hace vino de tumbo. El fruto de esta planta por su sabor acidulable y agradable es utilizado al estado natural y en mermelada (León & Riveros, 2014).

Medicinal: contra los cálculos renales, purgante, malestares urinarios y estomacales.

2.2.4. Métodos de extracción del aceite

El propósito de emplear métodos de recuperación o extracción de aceites es obtener triglicéridos con un alto rendimiento y pureza para generar co-productos de máximo valor. Las fuentes oleaginosas son procesadas por uno de los siguientes tipos de procesos: Extracción mecánica (proceso discontinuo y continuo) y la extracción por solventes. El tipo de proceso extractivo preferido depende de la cantidad del aceite presente en la semilla, la cantidad de aceite residual en la torta, la cantidad de proteína desnaturalizada permitida, la capacidad de inversión y el impacto ambiental generado (O'Brien, 2009).

A. Extracción de aceite por prensado

Para separar el aceite de las semillas pueden emplearse prensas mecánicas o hidráulicas, que a su vez pueden ser continuas o discontinuas. No cabe duda que las prensas hidráulicas discontinuas son las más prácticas y eficientes (Cruz & Meléndez, 2004).

B. Extracción de aceite con disolventes

Este proceso es más eficiente en el cual, el proceso de extracción de aceites con solventes permite el agotamiento casi total de la semilla. Este proceso consiste en tratar las semillas con un solvente volátil que generalmente es el n-hexano, el cual es capaz de disolver grandes cantidades de aceite sin extraer otros compuestos presentes en este. Posteriormente a través de un proceso de destilación se retira todo el solvente utilizado, condensándolo para su reutilización (Cruz & Meléndez, 2004).

C. Extracción con fluidos supercríticos

La extracción del fluido supercrítico (SFE) se basa en las propiedades de solvatación del fluido supercrítico (SF), que se pueden obtener al emplear presión y temperatura por encima del punto crítico de un

compuesto, mezcla o elemento. La extracción por SF depende de algunas naturalezas intrínsecas sintonizables del fluido supercrítico como la temperatura, la presión y algunas características extrínsecas como las características de la matriz de la muestra, la interacción con analistas específicos y muchos factores ambientales (Luque de Castro, Valcárcel Cases, & Tena, 1993).

Variables que afectan (SFE)

Una sola condición de SFE no puede generar suficiente información que aborde todos los factores que afectan el proceso de SFE. Para superar esta dificultad, es necesario identificar e investigar cuidadosamente un gran número de variables (Díaz & Brignole, 2009; Díaz, Espinosa, & Brignole, 2000).

La elección del diseño experimental para SFE depende de los objetivos del estudio, la intención de los investigadores, la viabilidad del experimento, la rentabilidad, el consumo de tiempo y muchos otros factores importantes. De acuerdo con los objetivos de un experimento, todos esos diseños se pueden clasificar en dos categorías amplias: Diseño de selección y diseño de optimización.

Los diseños experimentales más utilizados en SFE son el diseño factorial completo, el diseño factorial fraccional, el diseño Plackett-Burman como diseño de pantalla y el diseño Taguchi, el diseño compuesto central y el diseño Box-Behnken como diseño de optimización (Sharif *et al.*, 2014).

2.2.5. Tipos de diseño experimental para la extracción de fluidos supercríticos (SFE)

De acuerdo a los objetivos de los experimentos los diseños se pueden clasificar en 2 partes como: el diseño de selección y optimización; entre los más utilizados son (Sharif *et al.*, 2014):

A. Diseño de selección

- Diseño de pantalla o Plackett-Burman para SFE
- Diseño factorial

B. Diseño de optimización para SFE

- Diseño Taguchi
- Diseño Central Compuesto Rotable
- Caja: Diseño de Behnken.

C. Otros diseños de optimización para SFE

1. Selección apropiada del diseño experimental.
2. Software de diseño experimental y preparación de matriz de diseño.
3. Ensayos experimentales
4. Análisis e interpretación de los datos.

B1. Diseño central compuesto

Box & Wilson desarrollaron Central Composite Design (CCD). Tanto los modelos lineales como los cuadráticos pueden ser determinados por este diseño. CCD parece ser una buena alternativa de un diseño factorial completo de tres niveles, ya que proporciona resultados comparables con un número menor de experimentos. El CCD generalmente consiste en un diseño factorial completo o un diseño factorial con dos niveles, puntos axiales o de estrella adicionales y al menos un punto central del diseño experimental (Box & Wilson, 1951). El diseño axial y el diseño central son casi iguales para el diseño factorial completo de dos niveles,

excepto un factor que puede tomar niveles ya sea por encima del nivel alto o por debajo del nivel bajo (Kuehl, 2001). CCD requiere números de experimento de acuerdo con $N = k^2 + 2k + c_p$, aquí c_p son números replicados del punto central y k son números de factores.

2.3. Bases conceptuales

2.3.1. Passiflora

La familia *passiflora* son plantas muy llamativas desde varios puntos de vista, entre los que se cuenta el económico y el ornamental. Algunas especies, como *Passiflora edulis* (maracuyá), *P. ligularis* (granadilla) y *P. mollissima* (curuba), son de importancia económica por sus frutos comestibles. Otras son cultivadas por la vistosidad de sus flores y la curiosa forma de sus hojas, lo que ha propiciado la aparición de numerosos híbridos (A. Hernández & Bernal, 2000).

2.3.2. Tumbo

Es comúnmente conocida como taxo, curuba, poro poro, parcha o tumbo. Pertenece a la familia de las pasifloráceas. Es una planta de característica enredadera de tallo de forma cilíndrica pubescente, de hojas obovadas, posee tres lóbulos, comúnmente pubescentes en ambas caras; el cáliz es tuberoso y glabro; los pétalos son de color blanco, rosa pálido o rosa intenso, tienen forma oblonga y el ápice es obtuso, el fruto es de forma ovoide con pericarpio blando, de color amarillo cuando está maduro; semillas obovadas, con color anaranjado, de gran sabor y comestible (Becerra Vargas, 2003).

2.1.1. Extracción por fluido supercrítico (SFE)

La extracción con fluido supercrítico (SFE) se ha utilizado como una técnica alternativa para extraer aceite de diferentes tejidos vegetales, como semillas y cáscaras (Viganó, Machado, & Martínez, 2015). La temperatura crítica y la presión moderadas del dióxido de carbono (CO₂)

hacen que este disolvente sea el más utilizado. El ultrasonido se ha utilizado durante SFE para mejorar la eficiencia de extracción. Las ondas ultrasónicas producen ciclos de compresión y descompresión, donde podría haber formación de burbujas. Estas burbujas crecen a medida que las ondas ultrasónicas atraviesan el fluido, hasta que alcanzan un tamaño crítico y se colapsan, en un proceso conocido como cavitación. Cuando la cavitación ocurre en un fluido cerca de una superficie sólida, el colapso genera un chorro de líquido a alta velocidad que puede romper algunas estructuras de la superficie y liberar parte del material extraíble (Luque de Castro *et al.*, 1993). La SFE mejorada por ultrasonido es un proceso prometedor para reducir los tiempos de extracción y para aumentar los rendimientos de extracción en comparación con los obtenidos sin ultrasonido (Reátegui Pasquel, Paula Da Fonseca Machado, Barbero, Rezende, & Martínez, 2014; Riera *et al.*, 2004).

La extracción con fluidos supercríticos, específicamente con dióxido de carbono, resulta una alternativa interesante para la extracción y fraccionamiento de aceites vegetales por cuanto no posee los inconvenientes de los disolventes orgánicos tradicionales (Hurtado-Benavides *et al.*, 2016).

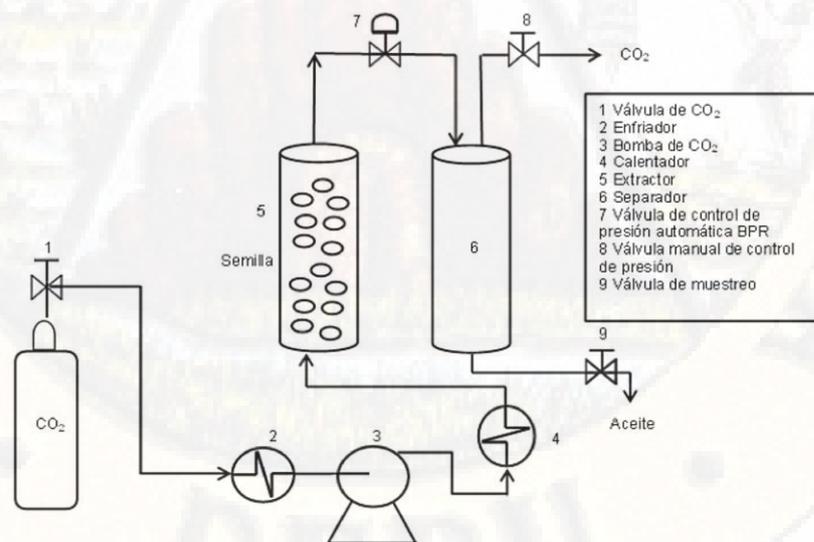


Figura 1. Diagrama de equipo de extracción con fluido supercrítico (Hurtado-Benavides *et al.*, 2016) .

2.1.2. Generalidades del aceite vegetal

Los aceites y las grasas, cualquiera que sea su origen (vegetal o animal), son sustancias líquidas o sólidas, más o menos coloreada, untuosas, inflamables, fusibles, más livianas e insolubles en agua y en alcohol, constituidas por carbono, hidrógeno y oxígeno. Este último elemento no se encuentra en los aceites y grasas minerales. Los aceites y las grasas vegetales se encuentran en mayores proporciones en las semillas y en los frutos. Algunos se extraen de las raíces, aunque esto se hace en casos muy especiales (Cruz & Meléndez, 2004).

A. Composición fisicoquímica y caracterización del aceite

Los aceites vegetales están constituidos por glicéridos terciarios, en los que la glicerina se combina con diversos ácidos grasos de peso molecular elevado. Las características de cada aceite vegetal dependen de las proporciones en que cada glicérido entra en su composición. Los glicéridos que más abundan en los aceites vegetales son la estearina, la palmitina y la oleína. Los dos primeros son sólidos, mientras que el tercero es líquido a la temperatura ordinaria. En las grasas vegetales (aceites sólidos), predominan la estearina y la palmitina. En los aceites, el glicérido predominante es la oleína. Los procesos productivos para la obtención de aceites vegetales en la actualidad constan de dos grandes etapas las cuales se conocen como extracción y refinación (Cruz & Meléndez, 2004).

En la tabla 3, se muestran algunas características fisicoquímicas de los principales tipos de aceites que generalmente son consumidas.

Tabla 3*Características fisicoquímicas de algunos aceites*

Aceite o grasa	Índice de Yodo	Índice de Saponificación	Índice de Refracción		Peso específico	
			°C	IR	°C	PE
Linaza	170-204	188-196	25	1,477-1,482	15	0,931-0,938
Cártamo	140-150	188-194	40	1,467-1,469	15	0,919-0,924
Pepita de Uva	125-143	179-206	25	1,470-1,476	15	0,909-0,926
Soya	120-141	189-195	25	1,470-1,476	15	0,924-0,928
Girasol	125-136	188-194	25	1,472-1,474	15	0,922-0,926
Maíz	103-128	187-193	25	1,471-1,474	15	0,922-0,926
Sésamo	103-116	188-195	25	1,470-1,474	15	0,920-0,926
Colza	97-108	170-180	25	1,470-1,474	15	0,913-0,918
Almendr a	102-105	188-197	40	1,462-1,465	15	0,91-0,917
Palta	84-100	188-195	25	1,467-1,470	15	0,917-0,921
Oliva	80-88	188-196	25	1,466-1,468	15	0,914-0,919
Palma	44-54	195-205	40	1,433-1,456	15	0,921-0,925
Manteca de Cacao	35-40	190-200	40	1,453-1,458	15	0,990-0,998

En la **tabla 4**, se puede observar el perfil lípido de las semillas del aceite crudo de maracuyá y de otros aceites vegetales.

Tabla 4

Características fisicoquímicas del aceite crudo de las semillas de maracuyá.

Características	A	B	B
Índice de refracción (25 °C)	1,474 – 1,475	NR	1,468
Densidad (25 °C)	NR	0,905	NR
Índice de acidez (ácido oleico)	1,2 – 2,5	1,34	2,35
Índice de saponificación (mg KOH/ g aceite)	187 - 199	NR	190,7
Índice de peróxidos (meq. O ₂ act/1000 g aceite)	1,0 – 1,8	4,7	1,46
Índice de yodo (g de yodo/ 100 g aceite)	130 – 153	136,5	128

A: Jiménez citado por Infantes García (2014); B: Aparecida Ferrari, Colussi, & Antonio Ayub (2004); C: Malacrida & Neuza (2012)

Según Barranca Navero, Fernández Escobar, & Rallo Romero (2017) y Ferrari, Colussi, & Ayub (2004) mencionan que, dentro de sus experiencias, evaluó la evolución del índice de peróxido en el aceite crudo durante 60 días. Al final de esta experiencia, obtuvo valores acumulados de índices de peróxido que variaban desde 6,46 hasta 7,60 miliequivalentes de oxígeno activo/1000 gramos de aceite. Si se tiene en cuenta la norma del CODEX para grasas y aceites comestibles, no se superó el límite permitido que es de 15 mili equivalentes de oxígeno activo/1000 gramos de aceite.

2.4. Definición de términos

Extracción con fluidos supercríticos: La extracción con fluidos supercríticos, específicamente con dióxido de carbono, resulta una alternativa interesante para la extracción y fraccionamiento de aceites vegetales por cuanto no posee los inconvenientes de los disolventes orgánicos tradicionales (Hurtado-Benavides *et al.*, 2016).

Cromatografía de Gases (GC): Se utiliza para la separación técnica analíticos y es la técnica de más utilización con el gas inerte (generalmente He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. Actualmente, las más empleadas son las columnas capilares (Gomis Yagües, 2008).

Metodología de Superficie de Respuesta (RSM): es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas utilizadas para modelar y analizar problemas en los que una variable de interés es influenciada por otras. El propósito inicial de estas técnicas es diseñar un experimento que proporcione valores razonables de la variable respuesta y, a continuación, determinar el modelo matemático que mejor se ajusta a los datos obtenidos. El objetivo final es establecer los valores de los factores que optimizan el valor de la variable respuesta. Esto se logra al determinar las condiciones óptimas de operación del sistema (Yepes, 2019).

Espectrometría de masas (MS): Es una de las técnicas analíticas más completas que existen. Recientemente, esta técnica se utiliza no sólo en investigación, sino también en análisis cuantitativo de amplia utilización para la determinación orgánica, en los procesos industriales, en control de calidad, etc. (Gomis Yagües, 2008).

pH: se define como el valor dado por un potenciómetro capaz de reproducir valores de pH de 0.02 unidades usando dos electrodos indicadores sensibles a la actividad del ión hidrógeno como el electrodo de vidrio y un electrodo de referencia adecuado.

Densidad: la densidad se define como la masa de una sustancia por unidad de volumen (Velásquez Gonzáles, Ramírez Flores, & Villafuerte Robles, 2015).

Índice de refracción: el índice de refracción de una sustancia está basado en la relación que existe entre la velocidad de la luz en el aire y su velocidad en la sustancia que se analiza (Velázquez González, 2015).

2.5. Hipótesis

De acuerdo a lo anteriormente planteado, se puede proponer la siguiente hipótesis:

El efecto de presión y temperatura es significativo en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico.

2.6. Variables

2.6.1. Variable Independiente

- Temperatura de extracción
- Presión de extracción

2.6.2. Variable Dependiente

- Composición química proximal de la semilla (%)
- Características fisicoquímicas del aceite de la semilla
- Perfil de ácidos grasos del aceite de la semilla
- Rendimiento

2.7. Operacionalización de variables

Tabla 5

Operacionalización de variables

Tipo	Variable	Indicadores
Independiente	Temperatura de extracción	Temperatura (°C)
	Presión de extracción	Presión (bar)
		Humedad
		Carbohidratos
	Composición química proximal de la semilla (%)	Fibra cruda
		Proteína
		Ceniza
		Grasa
Dependiente		Humedad
		Índice de peróxido
		Índice de yodo
	Características físicoquímicas del aceite de la semilla	Índice de acidez
		Índice de saponificación
		Índice de refracción
		Densidad específica
	Perfil de ácidos grasos del aceite de la semilla	Cromatograma

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1. Ámbito temporal y espacial

Este trabajo se realizó con materia prima (semilla) obtenida de frutos de tumbo serrano de Acobamba, Huancavelica. La extracción por supercríticos se realizó en el laboratorio de Procesos Industriales de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Los testistas trabajaron en turnos de mañana y tarde de 8:00 a.m. a 6:00 p.m. durante los meses de febrero a mayo del 2019, dependiendo de la disponibilidad del equipo. Los análisis fisicoquímicos de la semilla y aceite se hicieron en el CEMTRAR de la Universidad Nacional Agraria La Molina. El perfil de ácidos grasos se hizo en el laboratorio del Instituto Tecnológico de la Producción, en la ciudad de Lima.

3.2. Tipo de Investigación

La presente investigación es de tipo aplicada, ya que, busca la aplicación o utilización de los conocimientos adquiridos, a la vez que se adquieren otros, después de implementar y sistematizar la práctica basada en investigación (R. Hernández, Fernández, & Baptista, 2013).

3.3. Nivel de Investigación

El nivel de investigación en el presente trabajo de investigación es experimental, ya que, se manipularán variables como la temperatura y la presión de extracción con CO₂ supercrítico (R. Hernández et al., 2013).

3.4. Población, muestra y muestreo

La población utilizada para el presente proyecto de investigación será la producción de *Passiflora tripartita* del distrito de Acobamba. La muestra tomada serán 43 kg de frutos de *Passiflora tripartita*.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Las técnicas e instrumentos utilizados para recolección de datos fueron las siguientes:

3.5.1. Diseño de la investigación

El diseño a utilizar será el Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) para lograr optimizar el rendimiento de aceite; del siguiente tipo DCCR $2^n + 2*n + pc$; la Metodología de Superficie de Respuesta (MRS) aplicada al DCCR se usará para determinar los niveles óptimos de las variables en el proceso de extracción, la codificación de es la siguiente:

Tabla 6

Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR) codificado

Variables	-1,41	-1	0	1	1,41
Presión (bar)	158,579	200	300	400	441,421
Temperatura (°C)	35,8579	40	50	60	64,1421

3.5.2. Métodos de Investigación

El método general utilizado en la investigación es el método hipotético – deductivo.

3.5.1. Diseño de Investigación

Tabla 7

Corridas experimentales que se darán para el experimento

N°	Temperatura (°C)	Presión (bar)	Rendimiento (%)
1	50,0000	300,000	η_1
2	40,0000	400,000	η_2
3	50,0000	300,000	η_3
4	40,0000	200,000	η_4
5	60,0000	200,000	η_5
6	50,0000	300,000	η_6
7	60,0000	400,000	η_7
8	50,0000	158,579	η_8
9	50,0000	300,000	η_9

10	50,0000	300,000	η_{10}
11	50,0000	300,000	η_{11}
12	50,0000	441,421	η_{12}
13	64,1421	300,000	η_{13}
14	35,8579	300,000	η_{14}

3.5.2. Composición química proximal de la semilla

A) Proteína bruta: Para la determinación del contenido de proteína se usó la metodología micro Kjeldhal (UIQPA, 1964). El valor de proteína bruta se ha calculado utilizando como factor 5,62 para la conversión nitrógeno – proteína, según Tkachuk (1996) mencionado por Salazar López (2014), considera como el factor más exacto para harinas.

B) Cenizas: Para determinar el contenido de cenizas se siguió el método de AOAC 942.05 (revisar Anexo 9). La muestra fue sometida a combustión entre 550 – 600 °C durante un período de 2,5 horas. Las cenizas resultantes son consideradas la parte mineral del alimento.

C) Fibra bruta: Para la determinación de las fibras crudas insolubles se usó la metodología de análisis proximal FAO usada para alimentos que recomienda el uso de la norma AOAC 962.09 (Anexo 10). Se trató la muestra en una solución de ácido sulfúrico al 1,25 por ciento y luego en una solución de hidróxido de sodio al 1,25 por ciento por treinta minutos, con filtración al vacío y se lavó en agua caliente después de cada digestión, para neutralizar la muestra, luego se secó y se calcinó, para así poder calcular la cantidad de fibras por diferencia.

D) Extracto etéreo libre de Nitrógeno: Se siguió el método recomendado por el CODEX Alimentarius - FAO, según el cual se resta el porcentaje de proteína cruda, fibra cruda, grasas y cenizas del 100 por ciento; el resultado mide el contenido de carbohidratos no estructurales presente en el contenido celular, estos son monosacáridos, disacáridos, trisacáridos y almidones.

$$\text{ELN} = 100 - (\% \text{Cenizas} + \% \text{Proteínas} + \% \text{Fibras} + \% \text{Lípidos})$$

E) Humedad: Para obtener el contenido de humedad, se usó el método AOAC (1980) modificado para frutos (AOAC, 1998).

3.5.3. Rendimiento

El rendimiento de aceite extraído se calculará con la siguiente fórmula:

Dónde:

$$\eta = \frac{P_{aceite}}{P_{semilla}} \times 100$$

$P_{semilla}$ = Peso en gramos de la semilla.

P_{aceite} = Peso en gramos del aceite.

Densidad

Para la determinación de la densidad del aceite se emplea el método del picnómetro en conformidad con la norma UIQPA 2.101, recomendada por la CODEX – STAN 210 – 1999.

3.5.4. Características químicas del aceite

3.5.4.1. Índice de refracción

El índice de refracción se determinó de conformidad con la norma AOCS Cc 7-25 (Martínez Contreras, 2015) Método del Codex Tipo II. Para esto se calibró el refractómetro con agua destilada a una temperatura ambiente de 25°C, las lecturas se hacen colocando una gota de aceite sobre el prisma, anotando hasta la cuarta cifra decimal, se realizan tres repeticiones. Para expresar la medida promedio se obtiene la media aritmética de las tres lecturas.

3.5.4.2. Índice de peróxido

Se obtuvo en conformidad con la norma AOCS Cd 8b-90 (Martínez, 2010). Para ello se añadió en un matraz de 250 mL. 2 g de aceite y 30 mL de la solución ácido acético -cloroformo, se agita para disolver, luego se agrega 0,5 mL de la solución saturada de KI, con vigorosa agitación, se deja reposar en la oscuridad durante 2 minutos y se añade 30 mL de agua destilada. Se titula inmediatamente el yodo liberado

con tiosulfato de Sodio 0,01 N; agitando vigorosamente hasta que, el color amarillo casi desaparezca. Se agrega 0,5 mL de solución de almidón al 1 por ciento y se continúa titulando y agitando hasta que el color azul desaparezca. El blanco se corre conjuntamente con la muestra y el resultado es restado al resultado obtenido al de la muestra. Se expresa el índice de peróxido como meq. de peróxido/kg de grasa según la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{(V - V') \times N \times 1000}{\text{Peso de la muestra}}$$

Donde:

V = volumen de tiosulfato de sodio 0,1 N, mL, consumido en el ensayo.

V' = volumen de tiosulfato de sodio 0,1 N, mL, consumido en el blanco.

N = normalidad de la disolución de tiosulfato de sodio.

3.5.4.3. Índice de iodo

Para su determinación se sigue la recomendación de la norma UIQPA (1964) que sugiere el método de Wijs. En una fiola con la ayuda de una pipeta de 1 mL, se disuelve 0,2 gramos de aceite en cloroformo, luego se añade 10 mL de solución Wijs que se mantiene en reposo durante 30 minutos en ambiente oscuro; finalmente se añade 5 mL de solución KI (15 por ciento), se agitan vigorosamente y luego de añadir 100 mL de agua se procede a titular con tiosulfato 0,1N. El índice de iodo se define como los centigramos de yodo absorbidos por un gramo de grasa y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Iodo} = \frac{(V - V') \times N \times 12,67}{\text{Peso de muestra}}$$

Donde:

V = volumen de tiosulfato de sodio 0,1N, mL, consumido en el ensayo.

V' = volumen de tiosulfato de sodio 0,1N, en mL, consumido en el blanco.

N = normalidad de la disolución de tiosulfato de sodio.

3.5.4.4. Índice de acidez

Para obtener el índice de acidez (IA) se utiliza la Norma Ac5-41 de la A.O.C.S. (1967) se pesó en un matraz 5 – 10 g de aceite, y se disuelve en 50 mL de una mezcla alcoholéter con fuerte agitación, se añade 5 mL de solución indicadora fenolftaleína y se valoró con la solución hidróxido de potasio 0,5 N (KOH). Los cálculos se realizaron de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$IA = \frac{VxNx56,1}{P}$$

Donde:

V: Volumen en mL. De la solución álcali utilizados.

N: Normalidad de la solución de KOH.

P: Peso en gramos de la muestra utilizada.

3.6. Técnicas de procesamientos y análisis de los datos

La técnica de procesamiento y análisis de datos se hizo a través de la metodología superficie respuesta usando el software Minitab versión 16.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Análisis de información

4.1.1. Características químicas de la semilla de *Passiflora tripartita*

Tabla 8

Composición química proximal de la semilla de Passiflora tripartita

Análisis	Resultado (en 100 g de semilla)
Humedad	9,12 g
Ceniza	1,45 g
Grasa	15,45 g
Proteína	10,56 g
Fibra	38,86 g
Carbohidratos	24,54 g
Energía total	273,35 kcal

Tabla 9

Características fisicoquímicas del aceite de Passiflora tripartita

Análisis	Resultado
Humedad	0,02 g/100 g aceite
Índice de peróxido	3,53 meq O ₂ /kg aceite
Índice de yodo	110 g yodo/100 g aceite
Índice de acidez	0,54 mg KOH/g aceite
Índice de saponificación	197 mg KOH/g aceite
Índice de refracción	1,4755 (nD)
Densidad específica	0,9144 g/cm ³

4.1.2. Perfil de ácidos grasos

Tabla 10

Tipo de ácidos grasos presentes en el aceite

Ácidos grasos	Porcentaje (%)
Saturados	10,57
Monoinsaturados	14,51
Poliinsaturados	74,80
Total	99,88

Tabla 11

Ácidos grasos presentes en el aceite

Ácidos grasos	Cn:m	(%)
SFA's (ácidos grasos saturados)		
Mirístico	14:0	0,05
Pentadecaenoico	15:0	0,03
Palmítico	16:0	7,36
Heptadecaenoico	17:0	0,04
Estearico	18:0	2,84
Araquídico	20:0	0,18
Behénico	22:0	0,07
MUFA's (ácidos grasos monoinsaturados)		
Oleico	18:1 ω -9	13,85
Vaccenico	18:1 ω -7	0,43
Eicosaenoico	20:1 ω -9	0,08
PUFA's (ácidos grasos poliinsaturados)		
Linoleico	18:2 ω -6	74,34
α -Linolénico	18:3 ω -3	0,46

4.1.3. Resultados de rendimiento

Tabla 12

Temperatura	Presión	Rendimiento
50	300	5,69
40	400	5,01
50	300	5,39
40	200	3,78
60	200	1,09
50	300	4,56
60	400	7,45
50	158,58	1,13
50	300	5,00
50	300	5,16
50	300	5,54
50	441,42	6,79
64,14	300	6,05
35,86	300	4,40

4.1. Prueba de hipótesis

Tabla 13

Análisis de varianza del rendimiento de extracción de aceite por CO₂ supercrítico

Fuente de variación	F	P
Temperatura	2.18	0.184
Presión	121.99	0.000*
Temperatura*Temperatura	0.12	0.737
Presión*Presión	14.38	0.007*
Temperatura*Presión	26.40	0.001*
Falta de ajuste	1.44	0.356

*Significativo a $\alpha < 0,05$.

S = 0,499; R² = 95,94 %

Tabla 14*Coefficientes de regresión del modelo cuadrático para unidades codificadas*

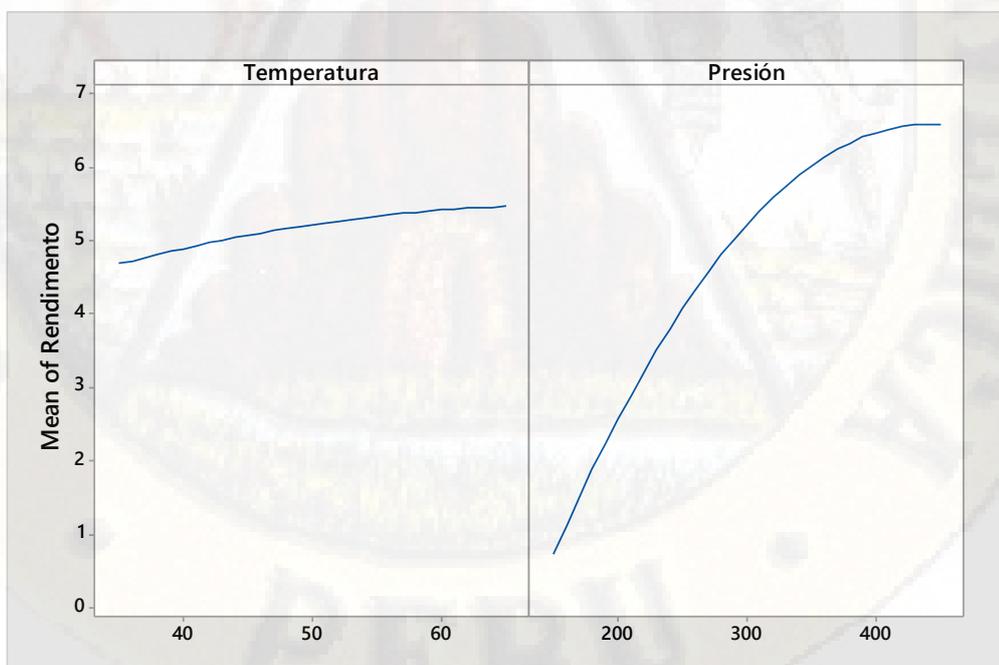
Término	Coefficiente	t	p	VIF
Constante	5,223	25,63	0,000	
Temperatura	0,260	1,48	0,184	1,00
Presión	1,949	11,05	0,000	1,00
Temperatura*Temperatura	-0,064	-0,35	0,737	1,01
Presión*Presión	-0,697	-3,79	0,007	1,01
Temperatura*Presión	1,283	5,14	0,001	1,00

Ecuación de Regresión en unidades codificadas:

Rendimiento = 5,223 – 0,260 Temperatura + 1,949 Presión – 0,064
 Temperatura*Temperatura – 0,697 Presión*Presión + 1,
 283 Temperatura*Presión

Ecuación de Regresión en unidades no codificadas:

Rendimiento = 9,44 – 0,295 Temperatura – 0,0028 Presión – 0,00064
 Temperatura*Temperatura – 0,000070 Presión*Presión
 + 0,001282 Temperatura*Presión

**Figura 2.** Efectos principales (P – T).

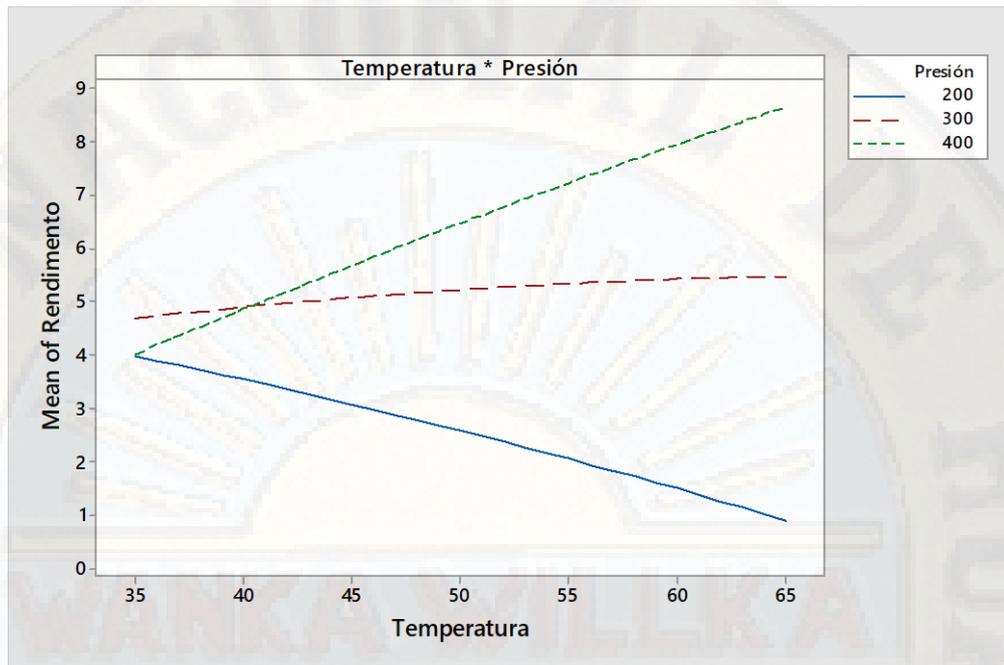


Figura 3. Interacción de los efectos (P – T).

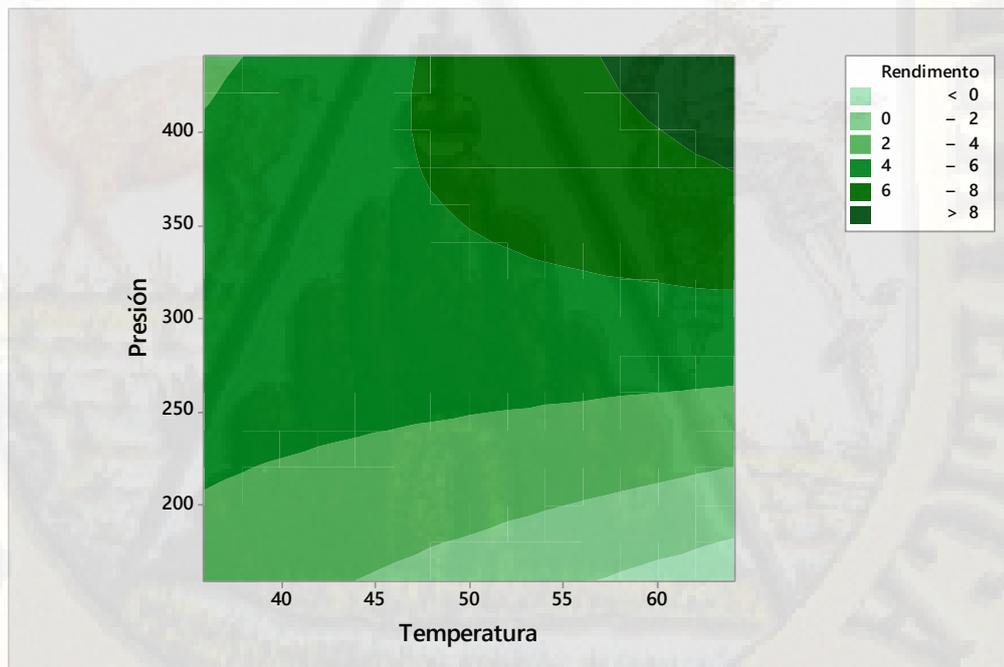


Figura 4. Gráfica de contornos (P – T).

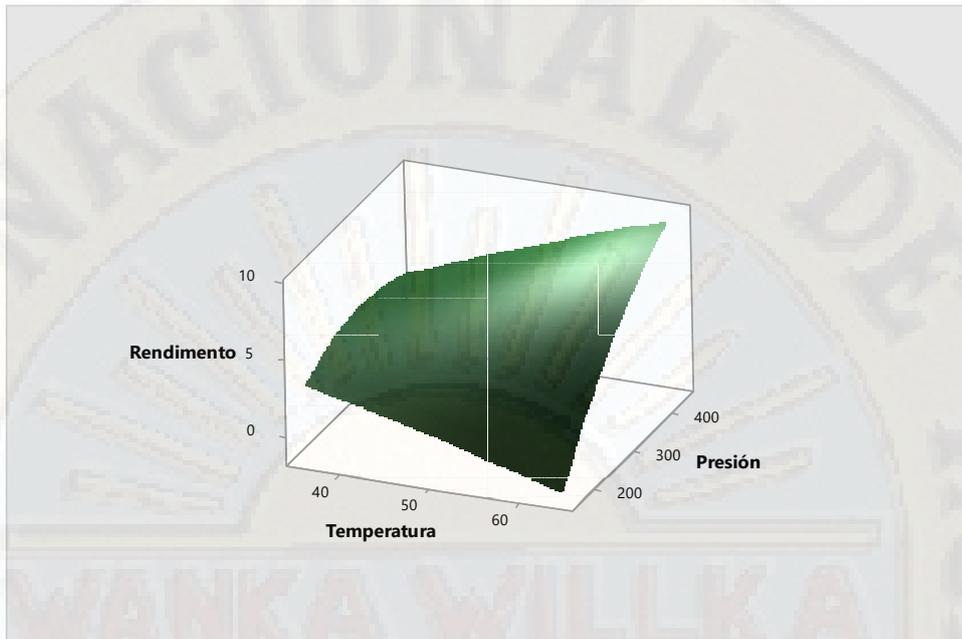


Figura 5. Superficie de respuesta de rendimiento (P – T).

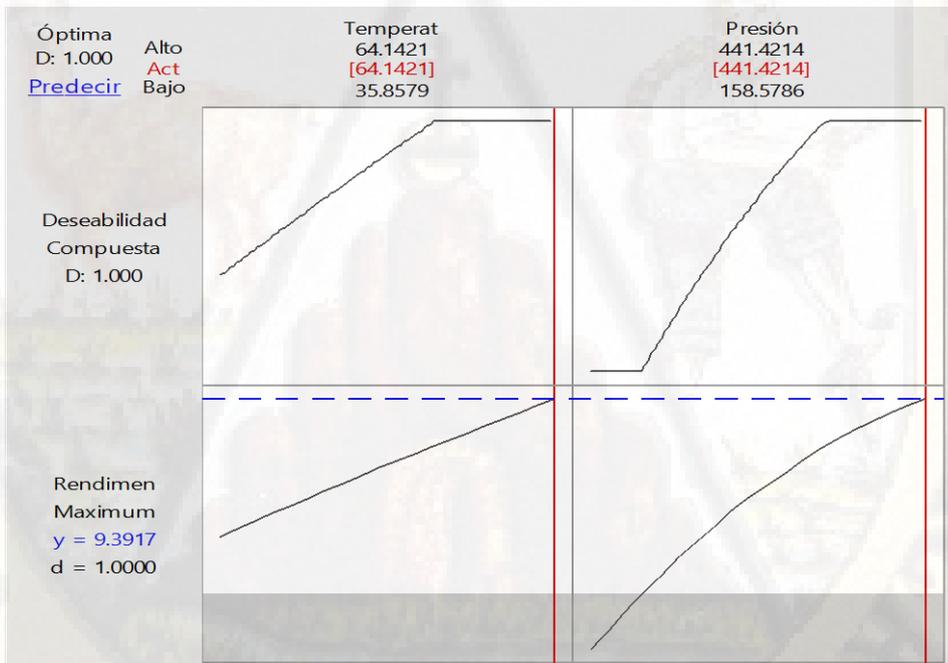


Figura 6. Optimizador de respuesta de rendimiento (P – T).

4.2. Discusión de resultados

4.2.1. Composición química proximal

La tabla 8 presenta la caracterización química proximal de la semilla de *Passiflora tripartita* (Pt), en la cual se observa que, tiene una alta proporción de fibra (38,86 %) y carbohidratos (24,54 %), seguido del contenido en aceite (15,45 %) y proteína (10,56 %). La energía total de 100 de semilla equivale a 273,35 kcal. El contenido de grasa fue de 15,45 % (Tabla 2), lo que indica que estas semillas son una buena fuente de aceite, especialmente cuando se comparan con las semillas de soja, que contienen alrededor de 20% de lípidos (Bailey, 1996). El porcentaje de proteína de semillas de maracuyá (12,39%) fue comparable al encontrado en algunos granos de cereales como el maíz (10,2%), la avena (11,3%) y el trigo (12,2%) (Lásztity, 1996). Además, las semillas de Pt mostraron alto porcentaje de carbohidratos + fibra (63,40 %). Las semillas de maracuyá contenían el 64,8 % del total de fibra en su composición, lo que constituye una fuente alternativa de fibra (Chau & Huang, 2004).

Estos resultados revelan indicios del valor que puedan lograr este subproducto. Los estudios realizados por Gaydou & Ramanoelina (1980) emulan la ausencia de efectos metabólicos adversos en la alimentación de ratas con estos subproductos del maracuyá (familia del puro puro). Paiva (1998) demostró que el empleo de los residuos de la industrialización del maracuyá, cáscaras y semillas, en la alimentación de bovinos, llevan a los animales a producir más leche, y los mismos no presentan problemas digestivos, comprobando las buenas características nutricionales de los productos.

4.2.2. Características fisicoquímicas del aceite

El aceite de *Passiflora tripartita* (Pt) presentó características fisicoquímicas particulares (Tabla 9) que a continuación se discuten:

El color del aceite de semilla de Pt extraído por supercrítico el dióxido de carbono era de color naranja dorado. El estado del aceite era líquido a

temperatura ambiente. La densidad específica del aceite fue de 0,9144 g/cm³. El índice de refracción fue de 1,4755 (Tabla 9).

Los valores **de refracción, yodo y saponificación** en el aceite de semilla de Pt (Tabla 9) fueron consistentes con los encontrados para los aceites convencionales como la soja y el maíz (Codex Alimentarius, 2015).

El índice de yodo obtenido para el aceite de semillas de Pt fue de 110 mg.100 g⁻¹, similar al aceite de maracuyá y, ajonjolí, algodón y maíz (Codex Alimentarius, 2015). De acuerdo a la clasificación de los aceites según el índice de yodo, el aceite se clasifica como semi-secante (Índice de yodo 100-120) y puede ser recomendado para uso en la elaboración de jabones, productos de limpieza y cosméticos (Leão, Sampaio, Pagani, & Da Silva, 2014).

El índice de saponificación del aceite de semillas de Pt fue de 197 mg KOH.100 g⁻¹, valor similar al encontrado para el aceite de colza o canola (Codex Alimentarius, 2015).

La buena calidad del aceite de semilla de Pt se puede verificar por los bajos valores de **acidez** (0,54 mg KOH/g aceite) y **peróxido** (3,53 meq O₂/kg aceite), que están relacionados con el desarrollo de reacciones hidrolíticas y oxidativas, respectivamente. La Codex Alimentarius Commission (2005) ha definido un valor ácido máximo de 4,0 mg KOH/g para aceites prensados en frío y vírgenes y, valores máximos de peróxido de 10 y 15 meq / kg para aceites prensados en frío y vírgenes y, refinados, respectivamente, como parámetros de calidad. El aceite de semilla de Pt presentó valores de ácido y peróxido por debajo de estos estándares.

4.2.3. Perfil de ácidos grasos

El aceite de semilla de Pt presenta una predominancia de ácidos grasos poliinsaturados en 74,80 %, seguido de ácidos grasos monoinsaturados

en 14,51 % y finalmente ácidos grasos saturados en 10,57 %. Los ácidos grasos pueden clasificarse como saturados (semiconductores entre átomos de carbono) y mono o poliinsaturados de acuerdo con el número de ligaduras dobles de cadena. Los ácidos grasos saturados más frecuentes en la alimentación de los humanos son: láurico, mirístico, palmítico, esteárico (que varía de 12 a 18 átomos de carbono). En la mayoría de los casos, los ácidos grasos omega-3 son los principales componentes de los ácidos linoleicos y de los productos químicos, eicosapentaenoico [EPA] y docosahexaenoico [DHA] o monoinsaturados representados por la serie omega-9 (ω -9-oleico). La omega-3 (ω -3) y la omega-6 (ω -6) son considerados esenciales por no ser sintetizados por el organismo. El ácido linoleico (18:2, ω -3) es el precursor de los demás ácidos grasos insaturados de la serie ω -6, cuyas principales fuentes alimenticias son los aceites vegetales de soja, maíz y girasol. En la familia ω -3, el ácido α -linolénico (18:3, ω -3) se encuentra en algunos vegetales, como canola y linaza, y EPA (20: 5, ω -3) y DHA (22: 6, ω -3) se encuentran en peces de aguas frías y profundas (caballa, sardina, salmón, arenque). El ácido oleico (18:1, ω -9) puede ser sintetizado por el organismo y tiene como principales fuentes dietéticas al aceite de oliva, el aceite de canola, la aceituna, el aguacate y las oleaginosas (maní, castañas, nueces, almendras) (Bhangle & Kolasinski, 2011).

El linoleico (74,34 %), oleico (13,85 %), palmítico (7,36 %) y esteárico (2,84 %) fueron los ácidos grasos predominantes en el aceite extraído por fluidos supercríticos (Tabla 5). El perfil de ácidos grasos, que señala un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados y un bajo porcentaje de ácidos grasos saturados, se considera ideal para los aceites comestibles, lo que indica el posible uso del aceite de Pt en la cocina, como aceite para ensaladas, así como, en la formulación de margarina. El aceite de Pt

puede ser usado también como ingrediente funcional, ya que su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados.

En la **Tabla 12** se presentan los resultados de rendimiento en función de las 14 corridas propuestas con el DCCR. El rendimiento varió de 1,09 a 7,45 %.

4.2.4. Prueba de hipótesis

Para el modelo cuadrático completo, el valor p para el ajuste es 0,356 sugiere que este modelo se ajusta adecuadamente a la data (**Tabla 13**). Esto se respalda con el elevado R^2 que se obtuvo (95,94 %). La desviación estándar ($s = 0,499$), es pequeña y reduce la variabilidad por error.

El análisis de varianza resume los términos lineales, los términos cuadráticos, y las interacciones. Existe efecto significativo ($p < 0,05$) del término lineal de la temperatura, el término cuadrático de la presión, y de la interacción de la temperatura y presión, esto sugiere que hay curvatura en la superficie respuesta.

La tabla de coeficientes de regresión del modelo cuadrático (**Tabla 14**) proporciona los coeficientes para todos los términos del modelo cuadrático, debido a que se usó un diseño ortogonal, cada efecto es estimado independientemente. En este caso se muestran en unidades codificadas (codificación en la **Tabla 6**), por lo que, fue necesario mostrar la ecuación de regresión para el modelo cuadrático para unidades codificadas y no codificadas. Este modelo se ajustó a los datos (falta de ajuste no significativa) y tuvo un alto nivel de determinación ($R^2 = 95,94$ %)

Los VIF de 1 a 5, indican que los predictores no están correlacionados. Un valor de VIF mayor a 5 – 10 sugiere que los coeficientes de regresión están débilmente estimados debido a su severa multicolinealidad. En este

caso, se puede afirmar que los predictores del modelo cuadrático no están correlacionados.

La **Figura 2**, muestra que los efectos principales como la temperatura no tienen efecto significativo en el rendimiento, puesto que su pendiente baja, en cambio la presión tiene una pendiente pronunciada, indicado un efecto significativo.

La **Figura 3**, señala que existe efecto significativo de la interacción de la presión y la temperatura ya que estas líneas se entrecruzan.

La gráfica de contornos (**Figura 4**) muestra que a mayor temperatura y presión mayor es el rendimiento (zona color verde oscuro). Lo mismo, indica la superficie respuesta (**Figura 5**).

El gráfico optimizador de respuesta (**Figura 6**) señala como niveles óptimos a la presión de 441,42 bar y temperatura 64,14 °C, con la que se obtuvo un rendimiento teórico de 9,39 % y un rendimiento real de 11,02 %, con esto se puede afirmar que hubo una desviación de 1,63 %.

Finalmente, se obtuvo un aceite de semilla de *P. tripartita* (Pt) con perfil químico mediante extracción con fluidos supercríticos, caracterizado por un alto contenido de ácido linoleico, similar a otros aceites de semilla de Passiflora, y se dilucidaron sus propiedades fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos. Se demostró la viabilidad del aceite de Pt como ingrediente potencial en alimentación, insumo nutracéutico, para fines farmacéuticos y cosméticos.

Conclusiones

- La composición química proximal de la semilla de *Passiflora tripartita* fue: 9,12 g de humedad, 1,45 g de ceniza; 15,45 g de grasa, 10,56 g de proteína, 38,86 g de fibra, 24,54 g de carbohidratos y 273,35 kcal, por cada 100 g de semilla.
- Se encontró que, existe efecto significativo ($p < 0,05$) del término lineal de la temperatura, el término cuadrático de la presión, y de la interacción de la temperatura y presión en el rendimiento del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico. El modelo cuadrático estableció que la temperatura y la presión óptima fue 64,14 °C y 441,42 bar, respectivamente.
- Las características fisicoquímicas de calidad del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* fueron las siguientes: humedad (0,02 g/100 g aceite), índice de peróxido (3,53 meq O₂/ kg aceite), índice de yodo (110 g yodo/100 g aceite), índice de acidez (0,54 mg KOH/g aceite), índice de saponificación (197 mg KOH/g aceite), índice de refracción (1,4755) y densidad específica (0,9144 g/cm³).
- El análisis de cromatografía de gases del aceite de semillas de *Passiflora tripartita* estableció una predominancia de ácidos grasos poliinsaturados en 74,80 %, seguido de ácidos grasos monoinsaturados en 14,51 % y finalmente ácidos grasos saturados en 10,57 %. Además, reveló la presencia de cuatro ácidos grasos principales: linoleico (74,34 %), oleico (13,85 %), palmítico (7,36 %) y esteárico (2,84 %).

Recomendaciones

- Evaluar otras alternativas tecnológicas para el uso de la semilla de *Passiflora tripartita*.
- Evaluar el aprovechamiento de los residuos de la extracción de aceite de semilla de *Passiflora tripartita*, como fibra.
- Estudiar la estabilidad oxidativa y tecnologías que reduzca este defecto para su comercialización.
- Evaluar alternativas aplicación en industrias de alimentos, farmacéuticas o cosmética.

Referencias bibliográficas

- Ara, K. M., & Raofie, F. (2016). Application of response surface methodology for the optimization of supercritical fluid extraction of essential oil from pomegranate (*Punica granatum L.*) peel. *Journal of Food Science and Technology*, 53(7), 3113–3121. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2284-y>
- Arellano, P. (2003). *Utilización de enzimas en la extracción del aceite de semilla de Sacha Inchi (Plukenetia volúbilis L.)*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Barrales, F. M., Rezende, C. A., & Martínez, J. (2015). Supercritical CO₂ extraction of passion fruit (*Passiflora edulis sp.*) seed oil assisted by ultrasound. *Journal of Supercritical Fluids*, 104. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.06.006>
- Barranca Navero, D., Fernández Escobar, R., & Rallo Romero, L. (2017). *El cultivo del olivo* (7th ed.). Retrieved from https://books.google.com.pe/books?id=hWFIDgAAQBAJ&pg=PA837&lpg=PA837&dq=Bernardini+Tecnología+de+aceites+y+grasas.+Madrid:+Editorial+Alhambra+SA.&source=bl&ots=mHNVLOESdB&sig=ACfU3U1BLFV3iSsHOHfMWNW67G7s5althg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjQ_-2Gg6DmAhVvLLkGHZV8A
- Becerra Vargas, D. C. (2003). *Efecto del origen del material vegetal y la edad sobre la capacidad morfogenética de dos especies de passiflora (Passiflora mollissima H.B.K. Bailey y Passiflora edulis var. flavicarpa) cultivada* (Pontificia Universidad Javeriana). Retrieved from <https://docplayer.es/11721390-Pontificia-universidad-javeriana-facultad-de-ciencias-carrera-de-biologia.html>
- Box, G. E. P., & Wilson, K. B. (1951). On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*

(*Methodological*), Vol. 13, pp. 1–45. <https://doi.org/10.2307/2983966>

Codex Alimentarius. *Norma para aceites vegetales especificados- Codex stan 210.* , (2015).

Cruz, R., & Meléndez, L. (2004). *Obtención, refinación y caracterización de aceite de semilla de Passiflora edulis flavicarpa (Maracuyá)* (Universidad de El Salvador). Retrieved from <http://ri.ues.edu.sv/5545/1/10128150.pdf>

De Florio Ramírez, E. (1996). Néctar de tumbo (*Passiflora mollissima* HBK). *Ciencia & Desarrollo*, 4(1), 95–100. <https://doi.org/10.33326/26176033.1996.4.84>

Díaz, M. S., & Brignole, E. A. (2009, January). Modeling and optimization of supercritical fluid processes. *Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 47, pp. 611–618. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.09.006>

Díaz, S., Espinosa, S., & Brignole, E. (2000). Modeling and simulation tools for supercritical fluid processes. *Computer Aided Chemical Engineering*, 8(C), 319–324. [https://doi.org/10.1016/S1570-7946\(00\)80055-3](https://doi.org/10.1016/S1570-7946(00)80055-3)

Dorado, D. J., Hurtado-Benavides, A. M., & Martínez-Correa, H. A. (2016). Extracción con CO₂ Supercrítico de Aceite de Semillas de Guanábana (*Annona muricata*): Extracción con CO₂ Supercrítico de Aceite de Semillas de Guanábana (*Annona muricata*): Cinética, Perfil de Ácidos Grasos y Esteroles Extraction of Soursop (*Annona muricata*). *Información Tecnológica*, 27(5), 37–48. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000500005>

Gomis Yagües, V. (2008). *Tema 2. Cromatografía: principios generales.*

Hernández, A., & Bernal, R. (2000). Lista de Especies de Passifloraceae de Colombia. *Biota Colombiana*, 1(1). Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/267247096_Lista_de_Especies_de_Passifloraceae_de_Colombia/citation/download

- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2013). *Metodología de la investigación* (Sexta). Retrieved from www.elosopanda.com%7Cjamespoetrodriguez.com
- Hurtado-Benavides, A., Dorado, D., & Sánchez-Camargo, A. (2016). Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, 113, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.03.008>
- Kuelh, R. (2001). *Diseño de experimentos: principios estadísticos para el análisis y diseño de investigaciones* (2nd ed.). Thomson Editores.
- Leão, K. M. M., Sampaio, K. L., Pagani, A. A. C., & Da Silva, M. A. A. P. (2014). Odor potency, aroma profile and volatiles composition of cold pressed oil from industrial passion fruit residues. *Industrial Crops and Products*, 58, 280–286. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.032>
- León, D. C., & Riveros, J. D. (2014). *Extracción y caracterización química de las pectinas de las cáscaras de maracuyá amarillo (Passiflora edulis var. Flavicarpa), granadilla (Passiflora ligularis Juss) y tumbo serrano (Passiflora mollissima HBK Bailey)* (Universidad Nacional del Callao). Retrieved from <http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/388/T.660.2.L46e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Liu, S., Yang, F., Zhang, C., Ji, H., Hong, P., & Deng, C. (2009). Optimization of process parameters for supercritical carbon dioxide extraction of Passiflora seed oil by response surface methodology. *Journal of Supercritical Fluids*, 48(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.09.013>
- Luque de Castro, M. D., Valcárcel Cases, M., & Tena, M. T. (1993). *Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico*. Reverté.

- Martínez Contreras, K. G. (2015). *Evaluación de diferentes variedades de Oxalis tuberosa (oca) para la obtención de harinas con fines industriales* (Universidad Técnica Estatal de Quevedo). Retrieved from <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/301/1/T-UTEQ-0036.pdf>
- MINAGRI. (2019). *Tumbo (Mollisima H.B.K., Bailey) Familia : Passifloraceae*. Retrieved from <http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/sectoragrario/agricola/lineasdecultivoemergentes/TUMBO.pdf>
- Mostacero, J., Mejía, F., & Gamarra, O. (2009). *Fanerógamas del Perú : taxonomía, utilidad y ecogeografía* (C. N. de C. y T. (Peru), Ed.). Trujillo: CONCYTEC.
- O'Brien, R. (2009). *Fats & Oils: Formulating and Processing for Applications* (Third). Boca Ratón: CRC Press.
- Pantoja-Chamorro, A. L., Hurtado-Benavides, A. M., & Martínez-Correa, H. A. (2017). Caracterización de aceite de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims.) procedentes de residuos agroindustriales obtenido con CO₂ supercrítico. *Agroindustria y Ciencia de Los Alimentos*, 66(2), 178–185. <https://doi.org/10.15446/acag.v66n2.57786>
- Reátegui Pasquel, L., Paula Da Fonseca Machado, A., Barbero, G., Rezende, C., & Martínez, J. (2014). The Journal of Supercritical Fluids Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp.) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. *J. of Supercritical Fluids*, 94, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.07.019>
- Regis, S., de Resende, E. D., & Antoniassi, R. (2015). Oil quality of passion fruit seeds subjected to a pulp-waste purification process/Qualidade do óleo das sementes do maracujá submetidas ao processo de purificação dos resíduos da polpa. *Ciencia Rural*, 45(6), 977. Retrieved from

<https://go.gale.com/ps/anonymous?id=GALE%7CA442116157&sid=google Scholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=01038478&p=AONE&sw=w>

Riera, E., Golás, Y., Blanco, A., Gallego, J. A., Blasco, M., & Mulet, A. (2004). Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3–4), 241–244. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2004.01.019>

Salazar López, J. (2014). *Caracterización físico – química de la semilla de Sapote Capparis scabrada H.B.K. de la zona de Motupe – Lambayeque* (Universidad Nacional Agraria La Molina). Retrieved from <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2343/F60-S159-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Sharif, K. M., Rahman, M. M., Azmir, J., Mohamed, A., Jahurul, M. H. A., Sahena, F., & Zaidul, I. S. M. (2014). Experimental design of supercritical fluid extraction - A review. *Journal of Food Engineering*, 124, 105–116. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.003>

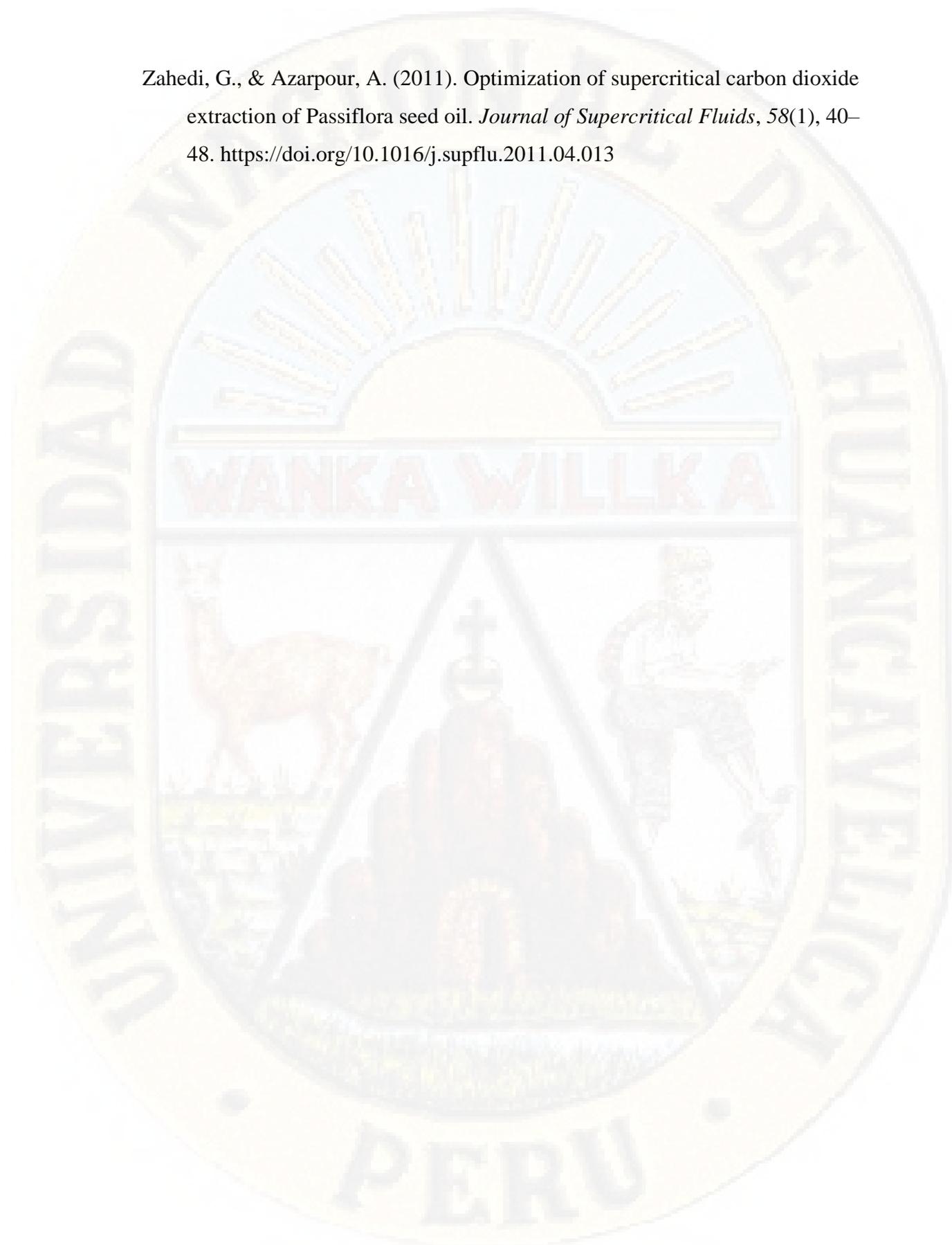
UIQPA. (1964). *Unión Internacional de Química Pura y Aplicada* (5th ed.). Londres: IUPAQ.

Velásquez Gonzáles, K., Ramírez Flores, E., & Villafuerte Robles, L. (2015). Influencia de diferentes tipos de lactosa en la compactabilidad de tabletas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 46(2), 41–49.

Viganó, J., Machado, A. P. D. F., & Martínez, J. (2015). Sub- and supercritical fluid technology applied to food waste processing. *Journal of Supercritical Fluids*, 96, 272–286. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.09.026>

Yepes, V. (2019). ¿Qué es la metodología de la superficie de respuesta? Retrieved December 5, 2019, from <https://victoryepes.blogs.upv.es/2016/04/19/que-es-la-metodologia-de-las-superficies-de-respuesta/>

Zahedi, G., & Azarpour, A. (2011). Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of Passiflora seed oil. *Journal of Supercritical Fluids*, 58(1), 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2011.04.013>



Apéndice

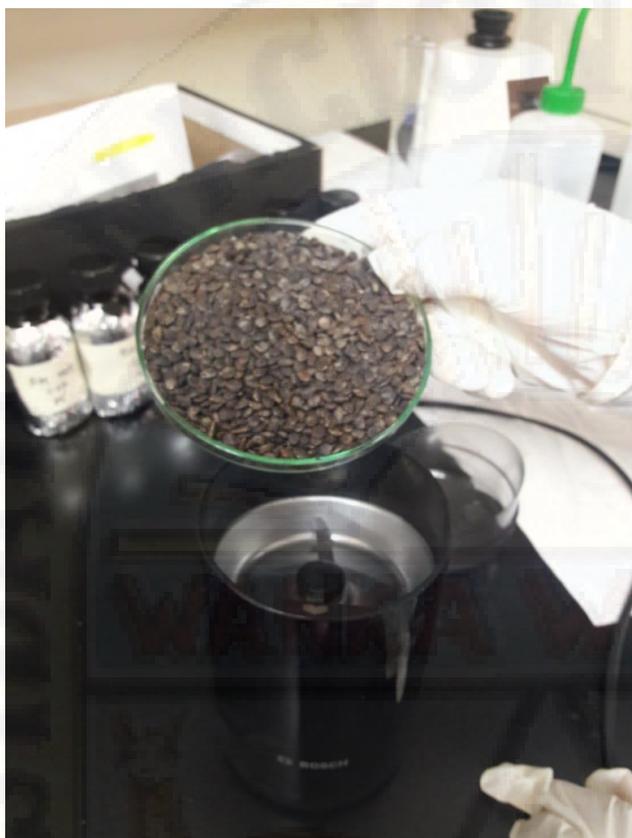
Apéndice 01. Testimonio fotográfico.



Fotografía 1. Semilla seca de Passiflora tripartita.



Fotografía 2. Pesado de semilla de Passiflora tripartita.



Fotografía 3. Molienda de semilla seca de *Passiflora tripartita*.



Fotografía 4. Tamizado de semilla molida de *Passiflora tripartita*.



Fotografía 5. Acondicionamiento de la semilla molida para extracción.



Fotografía 6. Extractor de fluido supercrítico de la PUCP.



Fotografía 7. Puesta de la muestra en el extractor de fluido supercrítico.



Fotografía 8. Preparación del equipo para extracción de aceite.



Fotografía 9. Equipo armado listo para extracción.



Fotografía 10. Extractor de fluido supercrítico durante la extracción.



Fotografía 11. Fin de la extracción por fluido supercrítico.



Fotografía 12. Muestras de aceite extraído de *Passiflora tripartita*.

Apéndice 1. Matriz de consistencia

Título: “Efecto de presión y temperatura en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Passiflora tripartita* extraído con CO₂ supercrítico”.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES
<p>¿Cuál será el efecto de presión y temperatura en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de <i>Passiflora tripartita</i> extraído con CO₂ supercrítico?</p>	<p>Objetivo General Evaluar el efecto de presión y temperatura en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de <i>Passiflora tripartita</i> extraído con CO₂ supercrítico.</p> <p>Objetivos Específicos Caracterizar la composición química proximal de la semilla de <i>Passiflora tripartita</i>. Evaluar el efecto de la presión y temperatura en el rendimiento del aceite de semilla de <i>Passiflora tripartita</i> extraído con CO₂ supercrítico. Determinar las características fisicoquímicas del aceite de semilla de <i>Passiflora tripartita</i> extraído con CO₂ supercrítico. Determinar el perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de <i>Passiflora tripartita</i> extraído con CO₂ supercrítico.</p>	<p>El efecto de presión y temperatura es significativo en el rendimiento, características fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de <i>Passiflora tripartita</i> extraído con CO₂ supercrítico.</p>	<p>Variable independiente: Presión de extracción Temperatura de extracción</p> <p>Variable dependiente: Rendimiento Composición química proximal de la semilla Características fisicoquímicas del aceite Perfil de ácidos grasos del aceite</p>