UNIVERSIDAD SAN IGNACIO DE LOYOLA

Carrera de Ingeniería Agroindustrial y Agronegocios

ESTABILIDAD OXIDATIVA
Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
DEL ACEITE DE SACHA INCHI (*PLUKENETIA VOLUBILIS L.*)
EXTRAÍDO DE SEMILLAS
TOSTADAS A DIFERENTES CONDICIONES.

Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial y Agronegocios

L. ADRIÁN ARANA A. **DANIEL O. PAREDES A.**

Asesor:
Dr. Fausto Cisneros Zevallos

Lima - Perú

2008

A mis padres, abuelos y hermano que me apoyaron en todo momento durante este largo tramo para concretar mi carrera profesional. A Estela, que me alentó a seguir adelante corrigiendo mis errores y compartiendo mis logros. Y en especial a mi país porque que este aporte está dedicado a inspirar investigaciones como esta que promuevan el buen aprovechamiento de nuestros recursos naturales y además promover los beneficios de ellos a nivel internacional.

ADRIÁN ARANA

A mis ***PADRES***, por la educación y valores que me inculcaron desde niño, y por su apoyo incondicional de siempre. A mi ***ESPOSA***, quien me motiva y alienta con su optimismo; y me ayuda a ser mejor cada día con su amor y comprensión. A mi ***HIJO***, quien desde el cielo, me regala maravillosos recuerdos de ternura y felicidad. Y a toda mi ***FAMILIA*** que siempre está conmigo acompañándome en cada acierto y desacierto.

DANIEL PAREDES

AGRADECIMIENTOS.

- Dr. Fausto Cisneros – Patrocinador de Tesis (Profesor de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial y Agronegocios de la Universidad San Ignacio de Loyola).

- Dr. Luís Cisneros – Asesor de Tesis (Profesor Asociado de la Universidad de Texas A&M).

- Ing. Edmundo del Águila (Decano de la Facultad de Agroindustrias y Agronegocios de la Universidad San Ignacio de Loyola).

- Consejo de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC).

- Sector Privado:
    - Instituto de Investigación de a Amazonía Peruana (IIAP-Tarapoto)
    - Agroindustrias Amazónicas S.A.
    - ONG Candela Perú
    - Fincafe E.I.R.L.

RESUMEN.

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto del tostado de la semilla de sacha inchi (*Plukenetia volúbilis linneo*) en la estabilidad oxidativa del aceite extraído de dicha semilla. Se obtuvieron 3 intensidades de tostado: tostado leve, tostado medio y tostado intenso, además se trabajó con una muestra sin tostar. Se determinó el perfil de ácidos grasos en las muestras y el contenido de tocoferoles (δ y γ) mediante cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta performance (HPLC) respectivamente. El valor de peróxido y el valor de ρ-anisidina se emplearon para determinar la estabilidad oxidativa. La prueba de 2,2-Difenil-1-1picrilhidrazil (DPPH, siglas en inglés) (actividad antioxidante) y el contenido de compuestos fenólicos totales se midieron por espectrofotometría.

En el perfil de ácidos grasos, se observó una menor reducción de los ácidos grasos tipo Ω3 y Ω6 en el caso de las muestras obtenidas de semillas tostadas con respecto a la muestra de semilla sin tostar hacia el final del almacenamiento acelerado. Las muestras de aceite de semillas tostadas mostraron una mejor estabilidad oxidativa que el aceite de semilla sin tostar según el valor de peróxido y de ρ-anisidina. Esta condición pudo deberse al incremento en la actividad antioxidante y en el contenido de fenoles totales de las muestras obtenidas de semillas tostadas. Los tocoferoles (δ y γ) tuvieron una mayor estabilidad durante el almacenamiento acelerado en los aceites de semillas tostadas.

ÍNDICE DE CONTENIDO.

I.- INTRODUCCIÓN. 2

II.- OBJETIVOS..... 4

III.- REVISIÓN DE LITERATURA. 5

3.1 Sacha Inchi. 5
3.1.1 Generalidades. 5
3.1.2 Historia..... 5
3.1.3 Distribución Geográfica..... 6
3.1.4 Usos..... 6
3.1.5 Aspectos Botánicos. 6
3.1.6 Cultivo y Cosecha. 7

3.2 Lípidos. 8
3.2.1 Descripción de los Lípidos. 8
3.2.2 Ácidos Grasos. 9
3.2.2.1 Características. 9
2.2.2.2 Ácidos Grasos Poliinsaturados. 10
3.2.3 Oxidación de los Lípidos. 16
3.2.3.1 Mecanismos de Autoxidación. 18
3.2.4 Estabilidad Oxidativa y Capacidad Antioxidante. 20
3.2.5 Factores que afectan la Oxidación Lipídica. 21
3.2.6 Antioxidantes de los Aceites. 25
3.2.6.1 Tocoferoles. 27
3.2.6.3 Compuestos Fenólicos. 31
3.2.6.4 Fosfolípidos. 31
3.2.6.5 Otros Compuestos Antioxidantes
(Pardeamiento no enzimático). 32

3.3 Aceite de Sacha Inchi. 35
3.3.1 Características del Aceite de Sacha Inchi..... 35
3.3.2 Usos del Aceite. 35
3.3.3 Obtención del Aceite de Sacha Inchi. 36

IV.- MATERIALES Y MÉTODOS. 37

4.1 Lugar de Ejecución. 37

4.2 Materiales Empleados. 38
4.2.1 Materiales y Equipos Empleados en La Producción del Aceite. .. 38
4.2.2 Materiales y Equipos Empleados en los Análisis del Aceite. 40

4.3 Trabajo Experimental. 42
4.3.1 Procesamiento para la Obtención de Aceite de sacha Inchi..... 42
4.3.1.1 Clasificación de las Semillas..... 42
4.3.1.2 Descascarado. 44
4.3.1.3 Tostado. 45
4.3.1.4 Extracción del aceite (Prensado). 46
4.3.1.5 Sellado y Embalaje. 47
4.3.1.6 Centrifugación..... 48
4.3.2 Variables de Estudio. 48
4.3.3 Estudio de Almacenamiento Acelerado de las
Muestras de Aceite. 48
4.3.4 Evaluación de las muestras de aceite..... 49
4.3.4.1 Desarrollo de Color. 50
4.3.4.2 Perfil de ácidos Grasos. 50
4.3.4.3 Estabilidad Oxidativa. 51
4.3.4.4 Actividad Antioxidante por Prueba de DPPH. 52
4.3.4.5 Fenólicos Totales. 54
4.3.4.6 Contenido de Tocoferoles. 56

V.- Resultados y Discusión. 57

5.1 Rendimientos del Procesamiento de las Semillas..... 57

5.1.1 Descascarado. 57

5.1.2 Tostado. 57

5.1.3 Extracción del Aceite (Prensado). 59

5.2 Análisis de las muestras de aceite..... 60

5.2.1 Desarrollo de color. 60

5.2.2 Perfil de Ácidos Grasos. 61

5.2.3 Estabilidad Oxidativa. 66

5.2.3.1 Valor de Peróxido. 66

5.2.3.2 Valor de ρ-Anisidina. 70

5.2.4 Actividad Antioxidante por Prueba de DPPH. 73

5.2.5 Fenólicos totales. 76

5.2.6 Tocoferoles. 79

VI.- CONCLUSIONES. 84

VII.-. RECOMENDACIONES. 85

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. 86

IX.- ANEXOS.....90

ÍNDICE DE CUADROS.

Pgs.

Cuadro 3.1 Ácidos Grasos más comunes. 11

Cuadro 3.2 Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados a partir de ácidos grasos esenciales. 13

Cuadro 3.3 Composición media de los principales aceites alimenticios vegetales. 17

Cuadro 3.4 Resumen de Estabilidad de los Tocoferoles y β-carotenos. 27

Cuadro 3.5 Contenido de Tocoferoles en aceites. 30

Cuadro 3.6 Perfil de Aminoácidos del sacha inchi (plukenetia volúbilis l.). 34

Cuadro 4.1 Relación tiempo-temperatura de la operación de tostado. 44

Cuadro 5.1 Balance de masa y rendimientos de la operación de descascarado manual. 58

Cuadro 5.2 Pesos de las almendras de sacha inchi antes y después del tostado. 58

Cuadro 5.3 Balance de masa y rendimientos de la operación de prensado. 59

Cuadro 5.4 Resultados del Perfil de Ácidos Grasos Saturados e Insaturados en el Aceite de Sacha Inchi y de Linaza. 62

ÍNDICE DE FIGURAS.

Pgs.

Figura 3.1 Grupos principales de ácidos grasos insaturados. 12

Figura 3.2 Pasos en la autoxidación de los lípidos. 19

Figura 3.3 Esquema Simplificado de la Autoxidación. 20

Figura 3.4 Vías del pardeamiento no enzimático 32

Figura 3.5 Condensación de Maillard 33

Figura 4.1 Flujo del Proceso para Obtener Aceite Prensado a partir de Almendras Tostadas de Sacha Inchi. 43

Figura 4.2 Fotografía de la tostadora empleada en el proyecto. 45

Figura 4.3 Fotografía de las prensas tipo expeller usado para la extracción de aceite. 46

Figura 4.4 Fotografías de almendras de sacha inchi con diferentes grados de tostado. 49

Figura 5.1 Producto del proceso de descascarado manual. 58

Figura 5.2 Fotografía de las muestras de aceite de sacha inchi procesadas. 60

Figura 5.3 Cambio en el contenido de Ácido Linolénico en las muestras de aceite por efecto del tostado. 63

Figura 5.4 Cambio en el contenido de Ácido Linoleico en las muestras de aceite por efecto del tostado. 64

Figura 5.5 Variación en el contenido de Ácido Linolénico en las muestras de aceite durante el almacenamiento acelerado (60ºC). 66

Pgs.

Figura 5.6 Variación en el contenido de Ácido Linoleico en las muestras de aceite durante el almacenamiento acelerado (60ºC). 67

Figura 5.7 Efecto del tostado en el valor de peróxido de las muestras de aceite. 69

Figura 5.8 Evolución del valor de peróxido en las muestras de aceite durante el almacenamiento acelerado (60ºC). 70

Figura 5.9 Efecto del tostado en el valor de ρ-anisidina en las muestras de aceite en el día de prueba 0. 72

Figura 5.10 Variación en el valor de ρ-anisidina en las muestras de aceite durante el almacenamiento acelerado (60ºC). 73

Figura 5.11 Cambios en la actividad antioxidante en las muestras de aceite producto de la intensidad en tostado de las semillas. 75

Figura 5.12 Variación en el contenido de fenólicos totales en las muestras de aceite producto de la intensidad en el tostado de las semillas de sacha inchi. 77

Φιγυρα 5.13 Χαμβιοσ εν ελ χοντενιδο δε δ-Tocoferol en las muestras de aceite sometidas al Almacenamiento Acelerado (60°C). 79

Figura 5.14 Cambios en el contenido de γ-Tocoferol en las muestras de aceite sometidas al Almacenamiento Acelerado (60°C). 80

ESTABILIDAD OXIDATIVA
Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
DEL ACEITE DE SACHA INCHI (*PLUKENETIA VOLUBILIS L.*)
EXTRAÍDO DE SEMILLAS
TOSTADAS A DIFERENTES CONDICIONES.

I.- INTRODUCCIÓN.

El sacha inchi *(Plukenetia volubilis linneo)* es una planta de origen amazónico, perteneciente a la familia de las Euforbiaceas, la cual desarrolla un fruto que se caracteriza por su composición proteica y oleica de alto valor. Siendo así, este fruto puede ser usado como materia prima en diferentes industrias, entre las que destacan, la industria alimentaria y cosmética; lo que permitiría una sostenibilidad económica para las zonas deprimidas de la amazonía.

El aceite de sacha inchi es una fuente importante de ácidos grasos esenciales para el ser humano, el ácido linoleico y el ácido linolénico. En adición a los beneficios del sacha inchi , comúnmente atribuidos al contenido de ácidos grasos tipo omega 3 y 6, la presencia de antioxidantes dentro de su composición implica mayores beneficios por parte de este producto. La presencia de estos compuestos brinda mayor estabilidad al aceite, mayor valor nutricional y nutracéutico al consumo humano.

Existen referencias, en las cuales se analiza el efecto que implica el tostado en semillas como el ajonjolí *(Sesamun indicum linneo)* sobre la estabilidad oxidativa que este proceso otorga al aceite. En el caso de este producto, su consumo actualmente se basa en el aceite extraído de la semilla tostada. Por el contrario, en el caso del sacha inchi, el proceso de extracción del aceite en la industria nacional, no contempla el tostado para su obtención; por ello, sería de interés conocer el efecto que el tostado de la semilla de sacha inchi tendría sobre la estabilidad oxidativa y en la capacidad antioxidante del aceite.

El presente trabajo busca evaluar el efecto del tostado en el aceite extraído de la almendra de sacha inchi tostada a diferentes condiciones. Para esto se analizará las variaciones de los perfiles de ácidos grasos, contenido de δ y γ tocoferoles, estabilidad oxidativa y actividad antioxidante en cada muestra de aceite analizada.

II.- OBJETIVOS.

El objetivo general de la investigación es determinar los parámetros óptimos, dentro de los 3 tipos de tratamientos de tostado con los que se trabajó, para la obtención de un aceite de mayor estabilidad oxidativa.

Como objetivo específico se determinará la influencia del tostado en los siguientes componentes del aceite durante el almacenamiento acelerado a la temperatura constante de 60ºC:

- Perfil de ácidos grasos.
- Valor de peróxido. (Estabilidad Oxidativa)
- Valor de ρ-anisidina. (Estabilidad Oxidativa)
- Fenólicos totales y DPPH. (Capacidad Antioxidante).
- δ y γTocoferoles.

III.- REVISIÓN DE LITERATURA.

3.1 Sacha Inchi.

3.1.1 Generalidades.

El sacha inchi es un fruto obtenido de una planta perteneciente a la familia ***Euphorbiaceae***, cuyo género y especie son ***Plukenetia*** y ***volubilis linneo***, respectivamente (Arévalo, 1996). Esta semilla presenta múltiples usos en comunidades nativas del Perú. La extracción de aceite se ha convertido en el principal uso de este fruto en la actualidad.

Es un arbusto trepador o rastrero silvestre y cultivado, el cual puede ser encontrado en bordes de bosques secundarios, en cañaverales, sobre cercos vivos y como malezas en platanales y cultivos perennes. Fue cultivado también en la costa peruana en la época prehispánica y se han encontrado semillas y representaciones en cerámicas (Brack, 1999).

3.1.2 Historia.

En el Perú se la conoce desde siglos atrás bajo diferentes nombres, entre ellos *Sacha Inchic*, término quechua que significa Maní del monte o silvestre; *Amui*, término utilizado por las tribus aborígenes de la amazonía; *Sacha inchi*, *Maní del monte, Maní del inca* e *Inca*

peanut. Se pueden encontrar registros de su origen en Perú en las culturas pre-incas nor-orientales, mediante representaciones de su fruto en huacos Chimús y Mochicas. (Brack, 1999)

3.1.3 Distribución Geográfica.

En el Perú, el sacha inchi se encuentra en estado silvestre en diversos lugares de San Martín, Ucayali, Huánuco, Amazonas, Madre de Dios y Loreto. Es una planta que se adapta a suelos arcillosos y ácidos y se desarrolla mejor en climas cálidos. (Manco, 2006)

3.1.4 Usos.

La semilla de sacha inchi es consumida por los humanos de formas muy variadas. Estas son tostada, cocida con sal, en confituras, mantequilla, o como ingrediente en diferentes platos típicos. Sin embargo, el producto que se viene desarrollando con mayor rapidez de forma industrial es el aceite comestible. El aceite se extrae por prensado de las almendras que se encuentran dentro de las cápsulas del fruto. En adición, en la actualidad se vienen desarrollando nuevos productos elaborados a base de la torta obtenida como sub producto del prensado de la almendra.

3.1.5 Aspectos Botánicos.

La planta del sacha inchi es una trepadora, voluble, semi leñosa y de altura indeterminada, ya que dependerá del tutor al que se sujete. Las

hojas son alternas, de color verde oscuro, oval - elípticas, aseruladas y pinnitinervias, de 9 a 16cm de largo y 6 a 10 cm. ancho. El ápice es puntiagudo y la base es plana o semi arriñonada. (Manco, 2006)

En el sacha inchi se observan 2 tipos de flores:

Masculinas: Son pequeñas, blanquecinas, dispuestas en racimos.

Femeninas: Se encuentran en la base del racimo y ubicadas lateralmente de una a dos flores.

El fruto del sacha inchi es una cápsula, de 3,5 a 4,5 cm. de diámetro, con 4 lóbulos aristados (tetralobados) dentro de los cuales se encuentran 4 semillas. Excepcionalmente, algunos ecotipos presentan cápsulas con 5 a 7 lóbulos. Para el caso de la semilla, esta es de color marrón oscuro, ligeramente abultada en el centro y aplastada hacia el borde. (Manco, 2006)

3.1.6 Cultivo y Cosecha.

El cultivo de sacha inchi *(Plukenetia volubilis linneo)* puede darse mediante siembra directa, empleando las semillas o con siembra indirecta de plántulas previamente desarrolladas en un vivero. La planta tolera una gran diversidad de suelos pero con una capacidad de drenaje adecuados para evitar la infestación de plagas.

Durante el cultivo de la planta, se puede emplear tanto tutores vivos como inertes, este último apropiado para suelos planos y campos

limpios. Los tutores muertos permiten un mejor manejo del cultivo ya que reducen el uso de mano de obra en las podas frente a tutores vivos. Permite un fácil y rápido acomodo de las ramas en los alambres. En adición, se recomienda el empleo de cultivos de cobertura, a fin de proteger la plantación de la erosión del suelo, plagas y otras enfermedades.

La cosecha de los frutos se realiza entre los 6.5 y 8.0 meses después del trasplante y todos los meses del año. No es conveniente que los frutos caigan al suelo, por lo que la cosecha se realiza aproximadamente a intervalos de dos a tres semanas. Para realizar esta operación, los frutos deben estar secos y de color marrón oscuro. La recolección se realiza manualmente cada 15 – 30 días. (Manco, 2006)

3.2 Lípidos.

3.2.1 Descripción de los Lípidos.

Las grasas son un medio de reserva energética para el organismo. La energía que brinda la grasa es para trabajos largos que requieran mucha energía. Los Lípidos pueden ser descritos como aquel grupo de moléculas que comparten la característica de ser hidrofóbicas y son solubles en solventes orgánicos como el benceno y éter.

El beneficio que se recibe del consumo de lípidos, muy aparte al de reserva de energía, es el aporte de nutrientes que este puede dar al organismo. El alto contenido de tocoferoles, carotenos y compuestos fenólicos que muchas variedades de aceites presentan, cumplen una función antioxidante y de estructura. En adición, ciertos ácidos grasos poli insaturados son precursores de hormonas necesarias para el organismo, como es el caso de las prostaglandinas y en general, los ácidos grasos son convertidos en fosfolípidos para la creación de membranas celulares. (Stauffer, 1996)

3.2.2 Ácidos Grasos.

En los aceites, tanto de origen vegetal como de origen animal, el principal componente son triacilgliceroles o triglicéridos. Estos compuestos a su vez están compuestos por una molécula de glicerol y tres ácidos grasos. La hidrólisis que ocurre en los aceites genera que ácidos grasos queden libres en el medio. Los triglicéridos son moléculas estables y son la forma más común en la naturaleza de guardar y reservar energía.

3.2.2.1 Características.

Los ácidos grasos son cadenas de carbono unidas a un radical carboxilo en uno de sus extremos. Estas moléculas presentan números pares de carbonos ya que en las células, el proceso de elongación de estas se da mediante la adición de pares de carbonos. Los ácidos grasos son nutrientes muy importantes para el organismo

ya que formarán parte de las reservas de energía y son necesarios para el correcto funcionamiento del organismo y formación de estructuras del organismo. (Nawar, 2000)

Los ácidos grasos pueden clasificarse como saturados e insaturados. En el caso de esta denominación, dependerá de la ausencia o existencia de dobles enlaces entre los carbonos que forman la molécula respectivamente. En el **Cuadro 3.1**, se presentan los nombres comunes, número de moléculas y la posición de los dobles en laces en los ácidos grasos más importantes en la naturaleza.

2.2.2.2 Ácidos Grasos Poliinsaturados.

Los ácidos grasos poliinsaturados son ácidos carboxílicos de cadena larga, que presentan de uno a más dobles enlaces en distintas partes de sus cadenas carbonadas.

Un tipo de nomenclatura que se da a este tipo de ácidos grasos es mediante la observación de la posición del primer doble enlace, con respecto al primer carbono de la cadena, opuesto al grupo carboxilo del ácido graso. Existen cuatro grupos principales, Ω-3, Ω-6, Ω-7 y Ω-9. A continuación se presenta la configuración de sus cadenas y el nombre común de los respectivos ácidos grasos **(Figura 3.1).**

Cuadro 3.1 Ácidos Grasos más comunes.

Símbolo	Nombre Común	Nombre Químico
Ácidos grasos saturados		
12:0	Laúrico	Cis- Dodecanoico
14:0	Mirístico	Cis- Tetradecanoico
16:0	Palmítico	Cis- Hexadecanoico
18:0	Esteárico	Cis- Octadecanoico
20:0	Araquídico	Cis- Eicosanoico
24:0	Lignocérico	Cis- Tetracosanoico
Ácidos grasos no saturados (enlaces cis)		
16:1 (9)	Palmitoleico	Cis- 9-hexadecenoico
18:1 (9)	Oleico	Cis- 9-octadecenoico
18:2 (9,12)	Linoleico	Cis- 9-12 octadecadienoico
18:3 (9,12,15)	Linolénico	Cis- 9,12,15 octadecatrienoico
20:4 (5,8,11,14)	Araquidónico	Cis- 5,8,11,14 eicosatetraenoico
20:5 (5,8,11,14,17)	EPA	Cis- 5,8,11,14,17 eicosapentaenoico
24:1 (15)	Nervónico	Cis- 14-tetracosenoico

Fuente: Cheftel y Cheftel, 1992 y Vilavicencio, 1999

Figura 3.1 **Grupos principales de ácidos grasos insaturados.**

Ácido Linolénico **(Ω-3)** → $CH_3 – CH_2 – CH = CH – R –COOH$

Ácido Linoleico **(Ω-6)** → $CH_3 – (CH_2)_4 – CH = CH – R– COOH$

Ácido Palmitoleico **(Ω-7)** → $CH_3 – (CH_2)_5 – CH = CH – R– COOH$

Ácido Oleico **(Ω-9)** → $CH_3 – (CH_2)_7 – CH = CH – R– COOH$

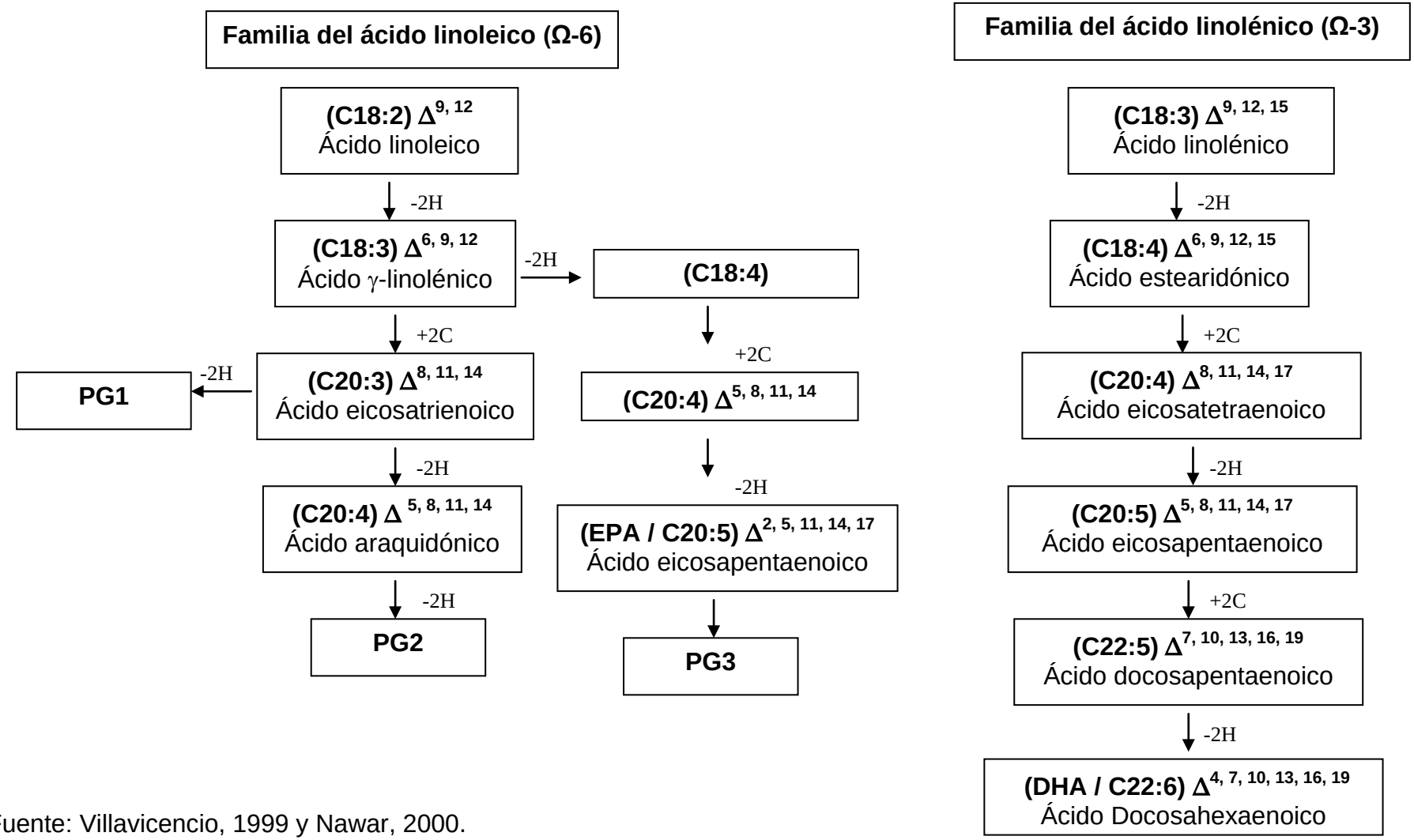
Fuente: Villavicencio, 1999

En el caso de los ácidos grasos de la serie Omega 3 y Omega 6 no pueden ser sintetizados por los mamíferos, pero si por organismos vegetales y peces. Debido a esto, es muy importante su consumo dentro de la dieta. Estos ácidos grasos son considerados esenciales para el organismo humano. En el **Cuadro 3.2**, se observa las rutas metabólicas que los ácidos grasos de la serie Omega 3 y 6 inician dentro del organismo humano.

Serie Omega 3 (Ω -3).

Esta serie se refiere a todos los ácidos grasos provenientes de las reacciones biológicas, que emplean como sustrato el ácido alfa-linolénico. El ácido α-linolénico sirve de base para la producción de otros ácidos grasos poli insaturados de cadena larga en el organismo, tales como el acido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexanoico (DHA). Estas reacciones ocurren principalmente en el hígado y gónadas, en el caso del cerebro y tejido adiposo ocurre a menor escala. (Villavicencio, 1999)

Cuadro 3.2 **Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados a partir de ácidos grasos esenciales.**



Fuente: Villavicencio, 1999 y Nawar, 2000.

El ácido α-linolénico está presente en una gran variedad de aceites de origen vegetal. Los aceites vegetales que es el aceite de linaza y el aceite de perilla presentan mayor contenido ácido α-linolénico (Bailey, 1984). En adición, los aceites obtenidos de animales marinos también presentan alto contenido de este tipo de aceite (Stryer y otros, 2003). Es importante mencionar que la leche materna es una fuente muy importante de ácidos grasos de la serie Ω -3 para los recién nacidos.

El consumo de ácidos grasos de la serie Omega 3 influye aparentemente en la reducción del riesgo de infarto cardiaco, regulando el nivel de colesterol al descender la cantidad de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la sangre e incrementando la lipoproteína de alta densidad (HDL). En adición una deficiencia en la ingesta de esta clase de ácidos grasos puede provocar trastornos en el sistema nervioso y también en el aprendizaje, ya que como se menciona anteriormente, los ácidos grasos insaturados de la serie Ω -3 tienen una gran presencia en el cerebro. (Villavicencio, 1999)

Existen también estudios que relacionan el consumo de aceites Omega-3 y su influencia en la reducción de la obesidad y el beneficio de su consumo en la composición de la sangre de quien la consume. (White y Marrette, 2006 y Harper y otros, 2005).

El beneficio más directo que se tiene por el consumo de ácidos grasos de la serie Omega-3 radica en la producción de un cierto tipo de

prostaglandinas, las cuales cumplen numerosas funciones benéficas para el organismo. Sin embargo, se conoce que el principal precursor de estas reacciones es el acido eicosapentaenoico (EPA). En comparación con el ácido α-linolénico, el cual requiere ser alongado e insaturado para poder convertirse en EPA y finalmente en las prostaglandinas. (Villavicencio, 1999)

Serie Omega 6 (Ω -6).

En el caso de los ácidos grasos de la serie Omega-6, estos son de cadena larga con presencia de uno o más dobles enlaces en su cadena carbonada. El primero de los dobles enlaces se presenta en el carbono Nº 6 de la cadena carbonada empezando del lado opuesto del grupo carboxilo. El precursor de esta serie de ácidos grasos en el ácido linoleico, el cual no puede ser sintetizado por el organismo por lo que es considerado esencial para los humanos. (Villavicencio, 1999)

El ácido linoleico sufre en el organismo elongaciones e insaturaciones dentro de las células del organismo. Producto de las diferentes reacciones, se generan diversos productos, entre los principales se tiene el ácido graso gamma linolénico (GLA), ácido graso dihomogamma linolénico (DGLA) y el ácido graso araquidónico (AA). Los DGLA y el AA son considerados ácidos grasos de cadena larga. (Nawar, 2000)

Para la ingesta de ácidos grasos de la serie Omega-6, existe un gran número de fuentes en la naturaleza. El ácido linoleico se encuentra en

los frutos secos y verduras de hoja verde. En adición, la mayoría de aceites presentan contenidos considerables del ácido linoleico. En el **Cuadro 3.3** se puede observar los contenidos de ácido linolénico de diversas fuentes. (Bailey, 1984)

Los ácidos grasos Ω-6 cumplen numerosas funciones en el organismo. Para el caso del ácido linoleico (LA), es el de estabilizar membranas biológicas y permitir el transporte de sustancias a través de ellas. Además, el LA forma parte de los tejidos hepáticos, renal y muscular. En adición, la formación de compuestos eicosanoides, tales como tromboxanos, prostaciclinas, leucotrienos y prostaglandinas son productos de reacciones metabólicas que sufren esta serie de ácidos grasos. En el caso del ácido araquidónico (AA), este interviene junto al ácido docosahexanoico (DHA), en la formación de tejido nervioso. (Villavicencio, 1999)

3.2.3 Oxidación de los Lípidos.

La oxidación de los Lípidos en los alimentos, de manera general se debe a la reacción entre el oxígeno con los lípidos insaturados. Sin embargo, la reacción RH + O_2 requiere 35 Kcal 146 Kj/mol, provocando que esta reacción resulte termodinámicamente difícil (Nawar, 2000), por lo que este tipo de reacciones requiere de un catalizador o la luz como donador de la energía de activación. Se tienen dos vías diferentes para que ocurran estas reacciones, la autoxidación y la oxidación fotosensibilizada.

Cuadro 3.3 Composición media de los principales aceites alimenticios vegetales.

	Proporción (%) de Ácidos Grasos								
	Láurico (C12:0)	**Mirístico (C14:0)**	**Palmítico (C16:0)**	**Esteárico (C18:0)**	**Oleico (C18:1)**	**Linoleico (C18:2)**	**Linolénico (C18:3)**	**Eicosanoico (C20:0)**	**Erucico (C22:1)**
Manteca de cacao			24	35	39				
A. de copra	44	18	10	4	6	2			
A. de oliva			10 a 17		50 a 80	10			
A. de colza			3	1	15	15	9	12*	50
A. de cambra **(1)**					60	25	9		
A. de cacahuate			10	3	60	22		2**	2***
A. de soya			11	3	25	55	6 a 9		
A. de girasol			8	5	20	65	1		
A. de algodón		1	25	2	18	53			
A. de maíz			13	2	30	55	1,5		
A. de linaza **(2)**			6,3	2,5	23	19	45		

Fuente: Cheftel y Cheftel, 1992.

(1) Variedad genéticamente modificada de la colza.

(2) Fuente: Bailey, 1984.

* A. Gadoleico (C20:1) ** Araquídico (C20:0) *** Behénico (C22:0)

3.2.3.1 Mecanismos de Autoxidación.

La autoxidación es una reacción en cadena de radicales libres que incluye las siguientes etapas: (Choe y Min, 2006)

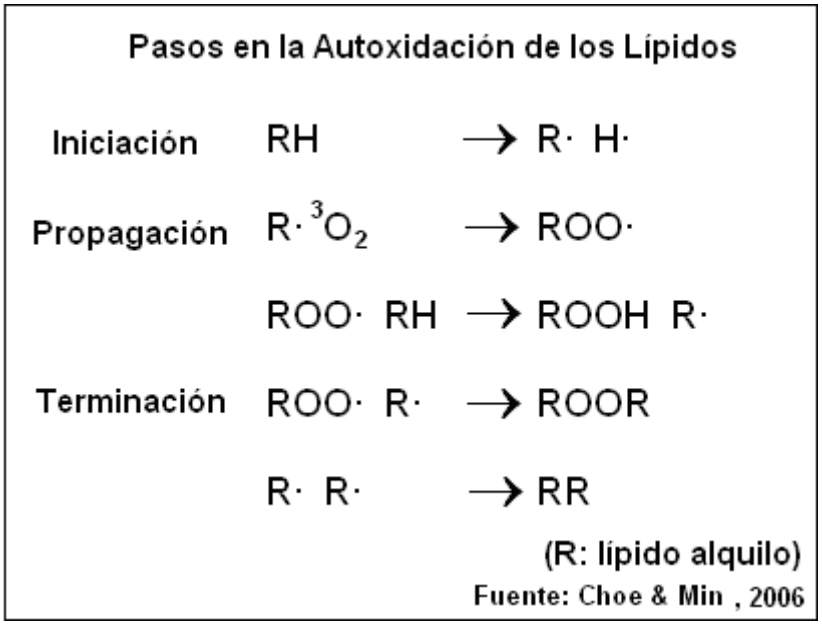
Iniciación: Esta etapa consiste en la sustracción hemolítica* de un hidrógeno, en presencia de un iniciador, para formar un radical alquilo centrado en un carbono. Otra manera de detallar la fase de iniciación, dada por Cheftel y Cheftel (1992) explica que en esta fase, ocurre la formación de radicales a partir de ácidos grasos insaturados u otros peróxidos presentes en el aceite.

Propagación: El radical alquilo libre reacciona con el oxígeno para formar un radical peroxilo que a su vez reacciona con un lípido insaturado para formar un hidroperóxido y un nuevo radical libre. Este último puede reaccionar con el oxigeno para formar un radical peroxilo y así sucesivamente.

Terminación: La reacción en cadena puede terminar en formación de productos que no sean radicales. Estos compuestos no radicales en su mayoría serán cetonas y aldehídos (Cheftel y Cheftel, 1992)

En la **Figura 3.2** se observan las reacciones generales que ocurren en cada una de las tres fases en la autoxidación presentadas. En adición, se presenta un esquema simplificado de la vía de autoxidación en la **Figura 3.3**.

Figura 3.2 **Pasos en la autoxidación de los lípidos.**

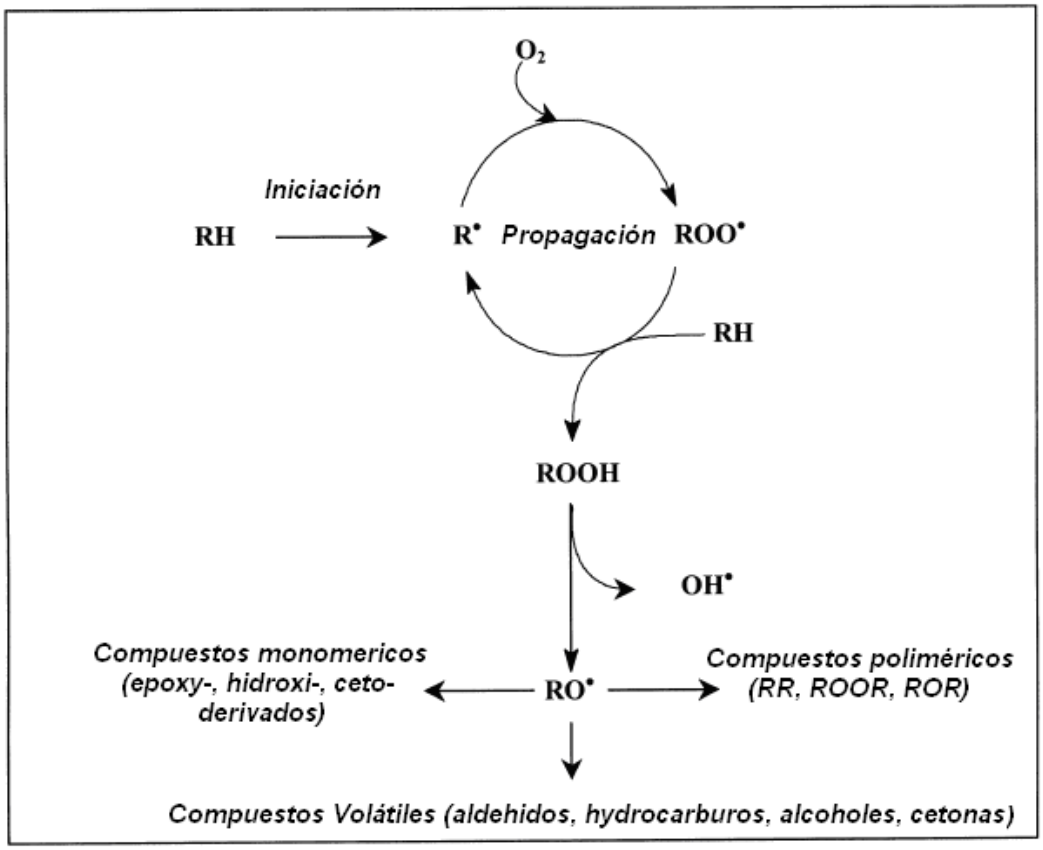


Los hidroperóxidos se forman cuando el oxígeno y los ácidos grasos insaturados se combinan en presencia de un catalizador (tales como hierro, cobre, calor, luz, enzimas, etc.) durante la fase de inicio. Estos peróxidos son reactivos y pueden combinarse con otras grasas para formar productos reactivos adicionales durante la auto-oxidación. Los hidrocarburos, aldehídos y cetonas se forman durante la fase de terminación o final. Estos compuestos son volátiles, pero relativamente no reactivos.

Dato aparte es que la velocidad de la reacción de autoxidación no depende de la presión del oxígeno. La velocidad es determinada por la estabilidad del radical alquilo. Debido a esto, se explicaría la diferencia

en la estabilidad oxidativa de los ácidos grasos saturados e insaturados. (Wong, 1995)

Figura 3.3 Esquema Simplificado de la Autoxidación.



Fuente: Velasco y otros, 2002.

3.2.4 Estabilidad Oxidativa y Capacidad Antioxidante.

La estabilidad oxidativa de los aceites es la resistencia del producto a la oxidación durante el procesamiento y almacenamiento del mismo. La estabilidad puede ser medida por el tiempo que tarda el aceite hasta llegar a un punto crítico en el que los productos generados por las diversas reacciones que ocurren durante la oxidación, lleguen a un nivel

crítico. Muchos factores afectan la estabilidad oxidativa de los aceites. (Choe y Min, 2006)

En el caso de la Actividad Antioxidante, se define como la capacidad de compuestos presentes en el aceite o adicionados al mismo que confieren estabilidad y resistencia a la oxidación. Es la capacidad de los compuestos que forman parte del aceite, que reaccionan con diversos agentes oxidantes que pueden estar presentes o aparecer en el aceite durante su almacenamiento, protegiendo al aceite de la oxidación.

3.2.5 Factores que afectan la Oxidación Lipídica.

Las grasas y aceites se encuentran en alimentos y bajo diversas condiciones. Es importante conocer la manera o el nivel en que los lípidos se ven afectados al interactuar con diversos compuestos o elementos ambientales. A continuación se presentan los principales factores que afectan los lípidos en los alimentos. (Choe y Min, 2006, Velasco y otros, 2002)

Composición de ácidos grasos en el aceite.

Los ácidos grasos presentes en el aceite, sea en forma de ácidos grasos libres o como triglicéridos, determinarán la predisposición del aceite a oxidarse. Los ácidos grasos insaturados y poli insaturados son más fáciles de oxidar por la presencia de dobles enlaces en su cadena. Las moléculas de oxígeno presente en el aire pueden introducirse en estos enlaces y romper las cadenas de los mismos. En contraste, los ácidos

grasos saturados, que no presentan los dobles enlaces, ofrecen mayor resistencia a estas reacciones. Además, la configuración *cis* es más propensa a oxidarse en comparación a la configuración *trans*. (Nawar, 2000) Todos estos factores ya mencionados influyen de manera directa en la velocidad de reacción de oxidación.

Contenido de ácidos grasos libres.

Los ácidos grasos libres presentan una mayor predisposición a oxidarse que aquellos que se encuentran ligados a un glicerol. Un bajo nivel de estos ácidos grasos libres no tiene una influencia directa, pero la existencia de grandes cantidades de estos ácidos grasos libres brindan un sustrato para que se inicie las reacciones de oxidación, empleando metales trazas que pueden estar presentes en el aceite. (Wong, 1995)

Concentración de Oxígeno.

La influencia del oxigeno depende de la concentración del mismo. En altas concentraciones, la velocidad de oxidación se hace independiente del mismo. En contraste, a bajas concentraciones, la velocidad tiende a ser proporcional a la presencia de oxígeno en el ambiente.

Temperatura y Luz.

Las reacciones de oxidación requieren de energía para activarse e iniciar la reacción en cadena que deteriora finalmente el aceite. La temperatura brinda la energía de activación. Otro efecto de la temperatura en la reacción de oxidación, está en que la presión de oxígeno varía con la

temperatura, al igual que la solubilidad del mismo. Las energías radiantes cómo la luz solar, luz ultravioleta y otras son eficaces promotores de la oxidación.

Un ejemplo que permite observar la importancia de la luz el caso de la clorofila, la cual, en presencia de luz, actúa como iniciador de la autoxidación lipídica. En contraste, en ausencia de luz, esta molécula actúa como antioxidante (Usuki, 1984 y Endo, 1985, referenciado por Yen y Shyu, 1989).

Procesamiento del Aceite.

Los diversos pasos por los que pasa un aceite para consumo humano, elimina metales, peróxidos y ácidos grasos libres. Estos elementos son pro oxidantes en los aceites. En la refinación de los aceites, la Neutralización, Blanqueado y Deodorizado permiten eliminar estos elementos nocivos y protege el aceite. Lamentablemente, para lograr esto, también provoca la pérdida de otros importantes protectores del aceite como tocoferoles y carotenos que protegen el aceite de su deterioro y su presencia en los aceites es natural. (Bailey, 1984)

El efecto del proceso que puede recibir la semilla o fruto, del cual se extraerá el aceite, puede influir tanto de manera positiva o negativa. En el caso de la investigación elaborada por Yen y Shyu, (1989) y otra de Yoshida y Takagui, (1997) narra como el tostado de la semilla permite una mayor estabilidad oxidativa del aceite extraído del ajonjolí. De

acuerdo a estas investigaciones, el incremento de compuestos fenólicos y productos del pardeamiento no enzimático provoca esta resistencia del aceite al ranceamiento.

Área Superficial.

Este factor se refiere a la superficie de contacto entre el aceite con el aire o medio ambiente. La velocidad de oxidación aumenta de manera proporcionalmente directa con el aumento de la superficie expuesta al ambiente. (Nawar, 2000)

Agua.

La actividad de agua (a_w) tiene un efecto inhibidor y promotor de la oxidación lipídica. Se ha observado que en alientos que contienen grasa, con una a_w menor a 0.1, presentaban velocidades de oxidación altas. Sin embargo, al llevar la a_w a 0.3, la velocidad de oxidación lipídica se vuelve más lenta, sugiriéndose que se deba a la dificultad que pueda encontrar el oxígeno para llegar al sustrato lipídico o a la reducción de la actividad catalítica de catalizadores presentes. A a_w superiores a 0.55, la velocidad nuevamente aumenta, probablemente debido a la movilización de los catalizadores y del oxígeno. (Nawar, 2000)

Antioxidantes.

Los antioxidantes son sustancias que pueden retrasar el comienzo o reducir la velocidad de oxidación de las sustancias oxidantes. Existen compuestos, tanto naturales como artificiales que cumplen esta función.

De manera general, el mecanismo de acción de los antioxidantes es el de retrasar la formación de radicales libres en la fase de iniciación de la auto oxidación o interrumpiendo la cadena de propagación de radicales libres. Las sustancias a emplear deben de descomponer los peróxidos, complejar los metales o inhibir el oxígeno singulete (Min y Boff, 2002) o simplemente, ser receptores de radicales libres.

Los factores que influyen en la eficiencia de estos compuestos, son la energía de activación, constantes de velocidad, potencial oxido reductor, estabilidad de la molécula y la solubilidad de la misma en el medio. Todos estos factores permitirán que el antioxidante reaccione antes con los radicales peróxidos libres en el aceite y protegiendo las cadenas de ácidos grasos de los triglicéridos.

3.2.6 Antioxidantes de los Aceites.

Los antioxidantes son compuestos que extienden el tiempo de vida de un producto. Alargar el tiempo de vida del producto es el principal objetivo de la adición de dichos compuestos al mismo. En el caso de los aceites, cuando estos son refinados, se agregan queladores de metales como ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido ascórbico y EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) (Bailey, 1984). Estos antioxidantes adicionados incrementan la estabilidad oxidativa de manera indirecta. Los agentes queladores convierten los iones metálicos disueltos en el aceite en compuestos insolubles. En adición, existen otros antioxidantes cuya

presencia se da en aceites crudos y los procesos de refinación suelen reducir drásticamente su presencia.

Una clasificación general de antioxidantes, según Cheftel y Cheftel (1992), discrimina a los compuestos dependiendo de la mecánica de acción antioxidante de las moléculas o procesos empleados. Dicha clasificación es la siguiente:

Tipo I → El compuesto interrumpe la cadena de formación de radicales libres cediendo un radical (H·) a un radical lipídico libre. Los tocoferoles y los compuestos fenólicos están considerados dentro de este grupo.

Tipo II → Impiden o disminuyen la formación de radicales libres. Suelen ser agentes complejantes de metales adicionados en al aceite o con presencia natural en los mismos.

Además, Cheftel y Cheftel (1992), hace referencia a los procedimientos empleados para la protección de las grasas, sean en el envasado o durante el procesamiento del alimento. Los principales procedimientos son el manejo de temperatura, pH, concentración de oxígeno, uso de atmósferas inertes y otros.

Anjum y otros (2006) también mencionan que la formación de sustancias marrones en muchos procesos térmicos alimentarios resultan de

reacciones no enzimáticas tipo Maillard, caramelización, y degradación de fosfolípidos.

3.2.6.1 Tocoferoles.

Los tocoferoles son los antioxidantes con mayor presencia en los aceites de manera natural. La presencia de tocoferoles varía dependiendo de la especie y variedad del cultivo, asimismo del procesamiento y el almacenamiento del aceite. Durante proceso de Deodorización, en la refinación de los aceites, el contenido de tocoferoles y otros antioxidantes se ve reducido de manera significativa. En el **Cuadro 3.4** se observa la estabilidad de los tocoferoles a diferentes condiciones, sean de procesamiento o de almacenamiento. (Gregory III, 2000)

Cuadro 3.4 Resumen de Estabilidad de los Tocoferoles y β-carotenos.

Nutriente	Neutro	Ácido	Alcalino	Aire / oxígeno	Luz	calor
Tocoferoles	E	E	E	I	I	I
β-carotenos	E	I	E	I	I	I

Nota: E= estable, implicando destrucción sin importancia: I= inestable, implicando destrucción significativa durante el proceso o almacenamiento.

Fuente: Gregory III, 2000.

Los tocoferoles compiten con los ácidos grasos insaturados para ligarse con los peróxidos libres en el aceite. Los peróxidos libres reaccionan con los tocoferoles de manera más rápida que con los lípidos. Los tocoferoles transfieren un átomo de hidrógeno al radical libre

estabilizándolo. Esta reacción da como resultado hidroperoxidos **(ROOH)** y radicales tocoperoxidos **(TH·)**. La resonancia presente en la molécula de los tocoperoxidos, vuelve más estable a la misma molécula en comparación a los radicales peróxidos. (Choe & Min, 2006)

El mecanismo de acción de los tocoferoles en general es compitiendo con la reacción:

$$\mathbf{ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot}$$

De esta manera, el tocoferol reacciona de la siguiente manera:

$$\mathbf{ROO\cdot + TH_2 \rightarrow ROOH + TH\cdot}$$

En el caso de esta reacción, el radical α-tocoferol (TH·) es relativamente estable por la dislocación del electrón no apareado que presenta su configuración. De esta manera también resulta menos reactivo que el radical peroxilo. El radical α-tocoferol o radical tocoperóxido puede reaccionar de dos formas:

$$\mathbf{TH\cdot + ROO\cdot \rightarrow T + ROOH}$$

$$\mathbf{TH\cdot + TH\cdot \rightarrow T + TH_2}$$

De esta manera, es posible obtener una nueva reacción antioxidante, amortiguando otro radical peroxilo **(ROO·)**, produciendo también una molécula de metiltocoferilquinona **(T)** o dos radicales tocoperóxidos **(TH·)** reaccionan para producir una nueva molécula de tocoferol **(TH2)**. (Gregory III, 2000)

La efectividad de los tocoferoles como antioxidantes depende del isómero y la concentración. La capacidad antioxidante es mayor en delta (δ) tocoferol, seguido por gamma (γ), beta (β) y alfa (α)-tocoferol. La concentración óptima de los tocoferoles como antioxidante dependerá de la estabilidad oxidativa de la molécula. A menor estabilidad, menor la concentración necesaria para la óptima actividad antioxidante.

Otro dato a resaltar, es que dependiendo de la concentración de tocoferoles, principalmente α-tocoferol, este compuesto puede actuar como pro oxidante en el aceite. En el caso que la concentración de tocoferoles resulte muy baja, la progresión de oxidación agota el tocoferol y se produce una acumulación de ROOH. Esta acumulación provoca que se invierta la reacción de equilibrio y se estimula la reacción de propagación de radicales libres en el aceite. Las altas concentraciones de α-tocoferol también provocan la acción pro oxidante del compuesto, provocando la propagación de radicales libre por la siguiente reacción:

$$\mathbf{ROOH + TH_2 \rightarrow RO^{\cdot} + TH^{\cdot} + H_2O}$$

En el **cuadro 3.5**, se observa la presencia de tocoferoles en algunos aceites comunes.

Cuadro 3.5 Contenido de Tocoferoles en aceites.

Table 3. Tocopherols and tocotrienols contents in vegetable oils, margarines, butters, and peanut butters (mg/100 g)[1)]

	α-T [2)]	β-T	γ-T	δ-T	α-T3	β-T3	γ-T3	δ-T3	Total	α-TE [3)]
Vegetable oils										
Soybean A[4)]	9.47	1.19	68.50	22.26	- [5)]	-	-	-	101.42	17.58
B	5.14	0.8	66.61	23.19	-	-	-	-	95.74	12.90
Sunflower A	38.61	0.73	4.17	0.28	-	-	-	-	43.79	39.40
B	48.92	0.57	1.33	0.4	-	-	-	-	51.22	49.35
Safflower A	43.87	0.18	0.53	0.22	-	-	-	-	44.80	44.02
B	40.53	0.77	1.42	2.97	-	-	-	-	45.69	41.15
Corn A	16.17	0.46	54.43	2.09	-	-	-	-	73.15	21.91
B	14.91	0.27	32.19	1.10	-	-	-	-	48.47	18.30
Grape seed A	23.21	0.07	2.77	Tr [6)]	14.86	-	10.69	Tr	51.60	27.98
Olive A	13.08	0.07	0.71	-	-	-	-	-	13.86	13.19
B	19.09	0.2	0.3	-	-	-	-	-	19.59	19.22
Rice bran A	15.89	0.23	4.93	-	5.08	-	-	-	26.13	18.02
Perilla A	3.20	0.34	120.69	1.86	-	-	-	-	126.09	15.49
B	3.02	0.29	121.07	1.04	0.55	-	0.91	4.91	131.79	15.47
Sesame A	3.15	-	40.2	1.46	-	-	-	-	44.81	7.21
Pepper seed A	8.58	0.20	85.33	0.70	-	-	-	-	94.81	17.23
B	16.56	0.14	97.08	1.12	-	-	-	-	114.90	26.37
Margarines										
Regular										
Vegetable A	9.83	0.45	25.70	7.52	-	-	-	-	43.50	12.85
B	10.89	0.40	35.13	10.75	2.74	0.63	3.52	0.72	64.77	15.78
Corn A	12.24	0.47	37.85	5.71	-	-	-	-	56.27	16.43
B	11.15	0.53	38.10	5.81	-	-	-	-	55.59	15.40
Low-fat										
Vegetable A	8.74	0.30	22.40	6.54	-	-	-	-	37.98	11.33
B	4.60	0.36	18.39	5.83	1.53	-	1.05	-	31.74	7.24
Corn A	10.85	0.32	33.96	3.39	-	-	-	-	48.52	14.51
B	11.35	0.36	37.80	5.43	0.37	-	0.53	-	55.83	15.58
Imported low fat A	5.61	-	2.89	1.07	6.98	0.62	9.79	1.09	28.04	8.05
B	5.87	0.12	52.92	13.89	-	-	-	-	72.79	11.64
Butters										
Regular A	1.30	-	-	-	-	-	-	-	1.30	1.30
B	1.39	-	-	-	-	-	-	-	1.39	1.39
With salt A	1.38	-	-	-	-	-	-	-	1.38	1.38
B	1.49	-	-	-	-	-	-	-	1.49	1.49
Garlic A	1.33	-	-	-	-	-	-	-	1.33	1.33
B	1.63	-	-	-	-	-	-	-	1.63	1.63
Peanut butters										
Chrunky A	8.95	0.22	12.29	1.29	-	-	-	-	22.75	10.33
B	7.86	0.14	8.81	0.82	-	-	-	-	17.63	8.83
Creamy A	8.52	0.34	11.35	1.51	-	-	-	-	21.72	9.87
B	11.05	0.13	9.41	0.94	-	-	-	-	21.52	12.08

[1)] All samples were assayed in duplicate.
[2)] Corresponding tocopherols and tocotrienols.
[3)] α-Tocopherol equivalent.
[4)] A, B: different sample brand name.
[5)] Not detected.
[6)] Trace amount (less than 0.01 mg/100 g).

Fuente: Lee y Lee, 2006

3.2.6.3 Compuestos Fenólicos.

En términos simples, los compuestos fenólicos están formados por un anillo aromático hidroxilado como fenol, p-cresol y 3-etil fenol. Los compuestos fenolicos van desapareciendo de las semillas o frutos conforme la misma va madurando. Sin embargo, su presencia se incrementa conforme la planta o tejido se ve sometido a estrés por magulladuras, infecciones o el mismo procesamiento que se le pueda dar al producto. (Gregory III, 2000)

Los compuestos fenólicos presentan actividad antioxidante. Los compuestos fenólicos se presentan con mayor concentración luego de la aplicación de procesos térmicos al que pueda ser sometida la semilla previamente al prensado o extracción del aceite. Este caso se observa en la semilla de sésamo. En la semilla de sésamo, el principal compuesto fenólico que presenta mayor actividad antioxidante es el sesamol, seguido por el sesaminol. La acción de los compuestos fenólicos en la actividad antioxidante se da en la fase inicial de la autoxidación de los ácidos grasos, eliminando radicales libres y quelando iones metálicos disueltos en el aceite. (Gregory III, 2000)

3.2.6.4 Fosfolípidos.

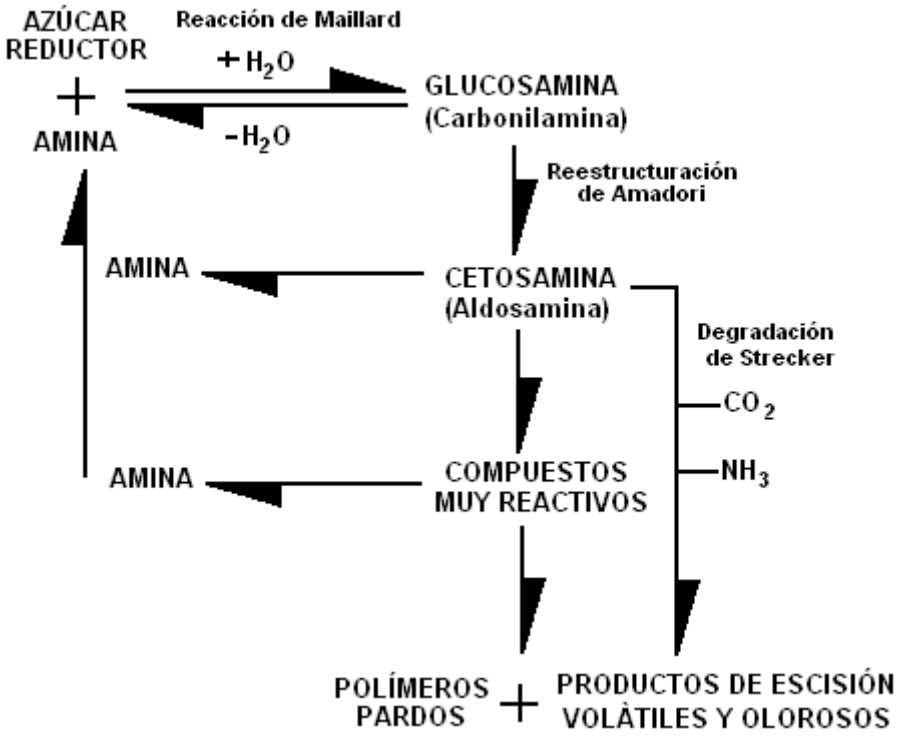
Los Fosfolípidos presentan actividad antioxidante ya que estos actúan como queladores de metales, como el cobre y el hierro. Mayormente, estas moléculas presentan sinergismo con los tocoferoles y polifenoles presentes en el aceites (Velasco, 2002). Los fosfolípidos confieren

turbidez a los aceites, por lo que en la industria, estos son retirados durante la refinación.

3.2.6.5 Otros Compuestos Antioxidantes (Pardeamiento no Enzimático).

El pardeamiento no enzimático es un conjunto complejo de reacciones iniciado por la reacción entre compuestos del grupo amina y carbonilo (Reacción de Maillard). Los productos de estas reacciones se descomponen por efecto de elevadas temperaturas propias de muchos procesos al que los alimentos son sometidos. Estos subproductos confieren el característico color pardo al alimento y son denominadas melanoidinas. (Bailey, 1984)

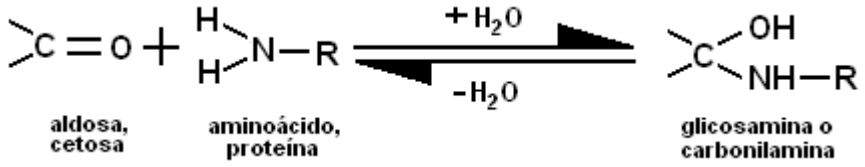
Figura 3.4 Vías del pardeamiento no enzimático.



(Cheftel y Cheftel, 1992)

Las melanoidinas pueden presentar actividad mutagénica (en niveles bajos, sin poner en riesgo la salud del consumidor) o antioxidante. Esta característica dependerá de los sustratos de las reacciones que ocurran dentro de la Reacción de Maillard. Principalmente las reacciones que ocurren con los aminoácidos lisina y cisteína presentan la característica mutagénica, mientras que cuando la reacción se da con triptofano, tirosina, ácido aspártico, asparagina y glutenina no presentan esta actividad. (Srinivasan, 2000)

Figura 3.5 Reacción de Maillard.



(Cheftel y Cheftel, 1992)

El aspecto positivo del pardeamiento no enzimático radica en que la reacción de glicina, metionina y valina con grupos carbonilos, principalmente azúcares reductores o subproductos de la oxidación lipídica, genera compuestos con gran capacidad antioxidante. En el **Cuadro 3.6**, se observa el contenido de aminoácidos presentes en el sacha inchi y se observa que la glicina es un aminoácido que prima en el aceite de sacha inchi. (Hamaker y otros, 1992)

Cuadro 3.6 Perfil de Aminoácidos del sacha inchi (plukenetia volúbilis l.).

Perfil de aminoácidos de la proteína del Inca Inchi comparada con la proteína de otras semillas aceiteras (1):

SEMILLAS[2] →	INCA INCHI	SOYA	MANI	ALGODÓN	GIRASOL	FAO/ WHO/ NU[3]
PROTEÍNA →	27	28	23	23	24	
AMINOÁCIDOS						
Esenciales						
Histidina	26	25	24	27	23	19
Isoleucina	50	45	34	33	43	28
Leucina	64	78	64	59	64	66
Lisina	43	54	35	44	36	58
Metionina	12	13	12	13	15	--
Cisteína	25	13	13	16	15	--
Metionina + Cisteína	37	26	25	29	34	25
Fenilalanina	24	49	50	52	15	--
Tirosina	55	31	39	29	19	--
Fenilalanina+ Tirosina	79	80	89	81	54	53
Treonina	43	39	26	33	37	34
Triptofano	29	13	10	13	14	11
Valina	40	48	42	46	51	35
No Esenciales:						
Alanina	36	43	39	41	42	--
Arginina	55	72	112	112	80	--
Asparagina	111	117	114	94	93	--
Glutamina	133	187	183	200	218	--
Glicina	118	42	56	42	54	--
Prolina	48	55	44	38	45	--
Serina	64	51	48	44	43	--
TEAA*	411	418	349	365	366	--
TAA**	976	985	945	936	941	--
TEAA como % de TAA	42	42	37	39	39	--

Fuente : Hamailer et al. 1992. Universidad de Arkansas, USA
*TEAA= Aminoácidos esenciales totales
**TAA= Total de aminoácidos

1. Los valores indicados en miligramos de proteínas
2. Valores tomados para soya, maní, algodón y girasol fueron tomados de Bodwel y Hopkins (1985)
3. Niveles recomendados para niños en edad pre-escolar (2-5años), recientemente se recomienda para la evaluación de la calidad de la dieta proteica para todos los grupos, a excepción de infantes (reunión consultora. Conjunto de Expertos FAO/WHO 1990).

3.3 Aceite de Sacha Inchi.

3.3.1 Características del Aceite de Sacha Inchi.

La principal característica del aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volúbilis l.*) radica en su elevado contenido de ácido linolénico y significativa presencia de linoleico (45% y 36% aproximadamente respectivamente) (Hamaker y otros., 1992). Como se mencionó anteriormente, estos dos tipos de ácidos grasos son importantes para un buen funcionamiento del organismo. En el **Cuadro 3.3** se observa el contenido de los diversos ácidos grasos presentes en la semilla de sacha inchi y otros productos a fin de realizar comparaciones.

Otra importante característica del aceite de sacha inchi es su alto contenido de antioxidantes, principalmente tocoferoles. Según la investigación desarrollada por Aitzetmüller, k. (sin publicar) del *Instituto de Química y Física de las Grasas* en Alemania, se determinó altos valores de δ y γ tocoferol.

3.3.2 Usos del Aceite.

El aceite de sacha inchi tiene muchos usos comerciales en la actualidad, tanto en la industria cosmética, alimentaria e inclusive medicinal. Su elevado contenido de antioxidantes, y ácidos grasos insaturados vuelven este producto muy atractivo para su industrialización.

3.3.3 Obtención del Aceite de Sacha Inchi.

El proceso de obtención del aceite es mediante el prensado de la almendra. Para el proceso de prensado se recomienda equipos que no generen calor al momento de extraer el aceite. Cheftel y Cheftel (1992) propone que los tornillos que funcionan a baja presión, permiten que el aceite presente mejores condiciones naturales, el aspecto negativo está en que el rendimiento se reduce a bajas presiones. Debido a esto, se recomienda el empleo de tornillos largos para obtener una mayor eficiencia en la extracción del aceite. Para el envasado se recomienda envases oscuros y uso de atmósfera modificada con gas inerte (nitrógeno). El uso de estos gases que saturan el espacio disponible en el envase, retrasa el proceso de oxidación durante el almacenamiento del aceite.

IV.- MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1 Lugar de Ejecución.

Dependiendo de la actividad desarrollada, el trabajo se realizó en diversos lugares. A continuación se presentan la actividad y el lugar en donde fue ejecutada:

- **Descascarado de las semillas.-** Planta Piloto de Huachipa de la Universidad San Ignacio de Loyola. Lima – Perú.

- **Tostado de las almendras.-** Empresa FINCAFE, ubicada en el Cercado de Lima.

- **Extracción y envasado del aceite.-** Planta de Candela Perú. Villa El Salvador, Lima – Perú.

- **Centrifugación del aceite.-** Universidad A&M, Laboratorio del Departamento de Horticultura, Texas – USA.

- **Análisis del aceite de sacha inchi.-** Universidad A&M, Laboratorio del Departamento de Horticultura, Texas – USA.

4.2 Materiales Empleados.

4.2.1 Materiales y Equipos Empleados en La Producción del Aceite.

Materia Prima.

La recolección de las semillas se realizó en el Distrito de Pinto Recodo, Región San Martín en Perú. Se trabajó con 60kg de semillas de sacha inchi, del eco tipo Pinto Recodo, gracias a una donación del ***Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana*** (IIAP-Tarapoto). Las semillas fueron recibidas el 27 de diciembre de 2006, las cuales fueron almacenadas en sacos de polietileno, ubicadas en un lugar ventilado y bajo sombra a temperatura ambiente hasta el momento de su procesamiento.

Tostadora.

La tostadora utilizada, de marca IMSA, fue facilitada por la empresa FINCAFE (Cercado de Lima), la cual la trabaja para tostar café. Esta maquinaria permitió tostar las almendras de sacha inchi sin presentar problema alguno.

Prensa de tornillo.

La prensa empleada fue de marca Komet fabricada por IBG Monforts GmbH (Monchengladbach, Alemania) La prensa fue facilitada por la empresa Candela Perú (Villa el Salvador).

Botellas de vidrio color ámbar con tapa rosca de 300 y 100ml.

Refrigeración.

Es muy importante mantener en oscuridad y en refrigeración el aceite durante su almacenamiento. De esta manera se reduce la velocidad de oxidación del aceite y su deterioro. El almacenamiento se realizó a 4ºC hasta realizar el envío al laboratorio a EE.UU., en donde una vez recibidas las muestras, estas fueron nuevamente refrigeradas a 4°C hasta el inicio del almacenamiento acelerado.

Centrífuga.

Se empleó una centrífuga Beckman J2-21 (Fullerton, CA, USA) con un rotor JA-17 a 29,000 gravedades. Está centrífuga se encuentra en el Laboratorio de Horticultura de la Universidad A&M de Texas.

Congelación.

Las muestras en EE.UU., fueron congeladas a -80ºC una vez que cumplieron con los tiempos de almacenamiento acelerado deseados, hasta el momento en que se realizaron las pruebas de laboratorio.

4.2.2 Materiales y Equipos Empleados en los Análisis del Aceite.

Sistema HPLC:

– HPLC 2690-996 Waters (Milford, MA, USA)

- Bombas: Binary Waters 515 HPLC pump system
- Muestreo Automático: Waters 717 plus autosampler automated controller
- Controlador de la Temperatura: SP8792 Temperature controller
- Detector: Waters 996 Photodiode array detector
- Programa Informático: Millenium 32 software from Waters (Milford, MA, USA)

Sistema GC:

- Cromatógrafo de gases Varian CP 3800 (Palo Alto, CA)
- Muestreador automático (autosampler) Varian CP-8200
- Detector de flama de ionización (flame ionization detector - FID).
- Una columna capilar de sílica de 100mm x 0.25mm, Varian CP-Select (*Varian FAME fused silica capillary column (100mm x 0.25mm, Varian CP-Select)*)
- Temperatura del horno: de 0-30min a 185°C y de 30-45min a 235°C con un incremento de 20°C/min.
- La temperatura del Detector de Flama de Ionización será de 270°C, y los flujos de helio, aire e hidrógeno serán de 1.6, 300 y 35ml/min, respectivamente.

Centrífuga:

- Beckman J2-21 Centrifuge (Fullerton, CA, USA)
- Rotor JA-17 a 29,000g

SpeedVac:

- Centrivap ® Concentrador.
- Labconco (Kansas City, MO, USA)

Agitador:

- Eberbach Corp (Ann Arbor, MI, USA).

Liofilizador:

- Freeze dryer FTS® Systems, Inc. (Stone Ridge, NY, USA).

Espectrofotómetro:

- HP 8452A diode array.
- Hewlett Packard (Palo Alto, CA, USA).

Cubeta del espectrofotómetro:

- Cubeta de vidrio. NSG Precision Cells, Inc. (Farmingdale, NY, USA).

Aceite de linaza:

- *Barlean's Organic Oils*: Aceite de Linaza fresco, 100% orgánico, puro y no filtrado. 350ml.
- Prensado en frío: 23 de febrero del 2007. Vida en anaquel de 6 meses.
- Para mayor referencia (información nutricional) visitar www.barleans.com/flaxoil.asp
- Barlean's Organic Oils (etiqueta roja) (Ferndale, WA, EE.UU.).

4.3 Trabajo Experimental.

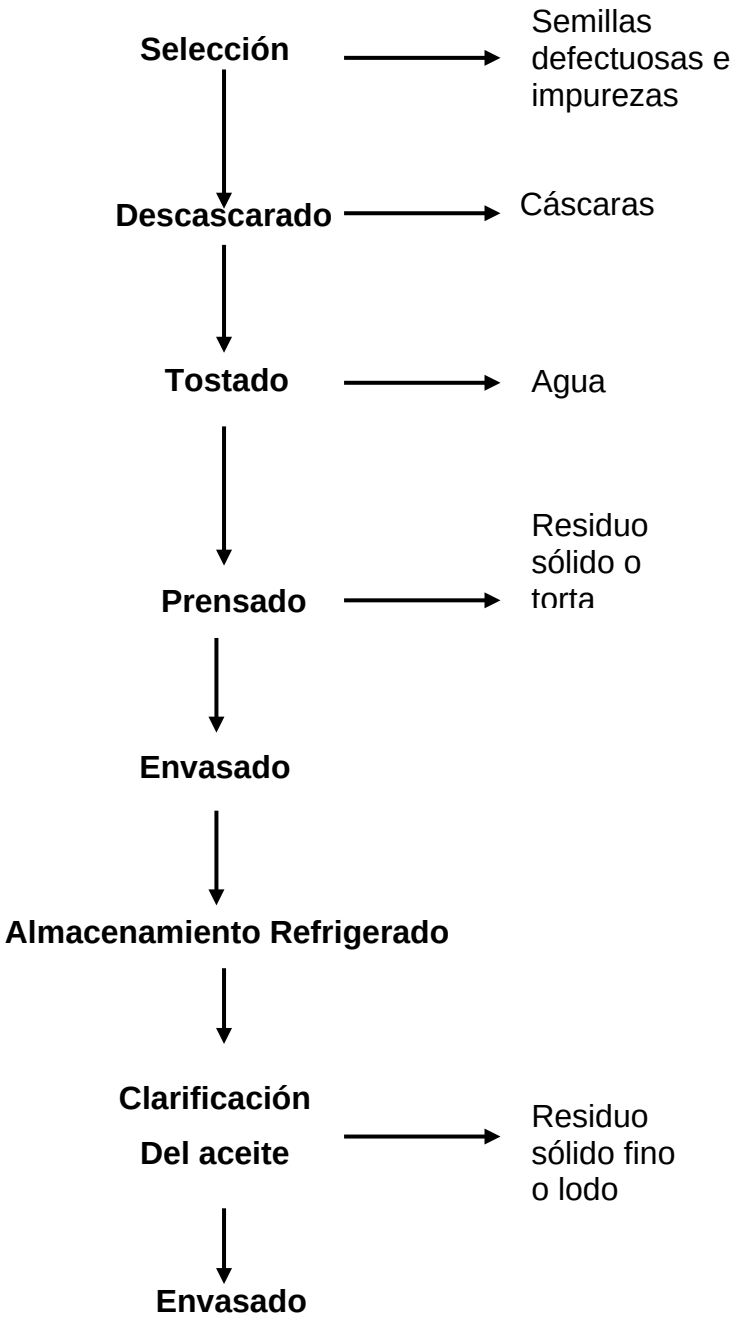
4.3.1 Procesamiento para la Obtención de Aceite de sacha Inchi.

El procesamiento de las semillas de sacha inchi para la obtención de aceite prensado se tuvo que realizar en diferentes lugares dependiendo de la disponibilidad de equipos e infraestructura. En la **Figura 4.1** se muestra la hoja de flujo del proceso que se siguió para obtener aceite prensado. Se debe indicar que el descascarado, el tostado y el prensado se programaron, de tal manera que cada una de ellas se pudiera realizar en días consecutivos para minimizar algún posible deterioro del aceite.

4.3.1.1 Clasificación de las Semillas.

Las semillas recibidas de Tarapoto fueron clasificadas empleando una zaranda con agujeros, discriminando las semillas de acuerdo al tamaño longitudinal de las mismas. De acuerdo a esta medición, el calibre que tuvo mayor predominancia fue el de 22mm, por lo cual se decidió emplear las semillas que presentaron dicho calibre. Este paso es de importancia considerable puesto que la investigación se centra en el efecto del tostado sobre la almendra, y por ende sobre el aceite; por lo tanto el tamaño de partícula de la almendra repercutirá en el grado de tostado de la misma almendra.

Figura 4.1 **Flujo del Proceso para Obtener Aceite a partir de Almendras Tostadas de Sacha Inchi (*Plukenetia volúbilis linneo*).**



4.3.1.2 Descascarado.

Esta operación tiene como objetivo separar la cáscara de la almendra, de la cual se extrae el aceite. Esta operación se realizó manualmente con la ayuda de alicates que quebraban la cáscara, y luego la separación de la cáscara se hizo con los dedos. El pelado se realizó en la planta piloto de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad San Ignacio de Loyola ubicada en Huachipa. La razón por la cuál se optó por el descascarado manual es que este permite extraer la almendra entera de la semilla.

Cuadro 4.1 Relación tiempo-temperatura de la operación de tostado.

Tostado ligero		Tostado intermedio		Tostado intenso	
Tiempo (min)	Temp. (°C) *	Tiempo (min)	Temp. (°C) *	Tiempo (min)	Temp. (°C) *
0	81	0	83	0	102
1	81	1	84	1	102
2	79	2	86	2	102
3	78	3	86	3	102
4	77	4	86	4	101
5	76	5	86	5	101
6	75	6	86	6	99
7	75	7	85	7	99
8	75	8	85	8	99
9	75	9	85	9	99
		10	85	10	95

* Las temperaturas reportadas corresponden a una región “fría” de la tostadora

4.3.1.3 Tostado.

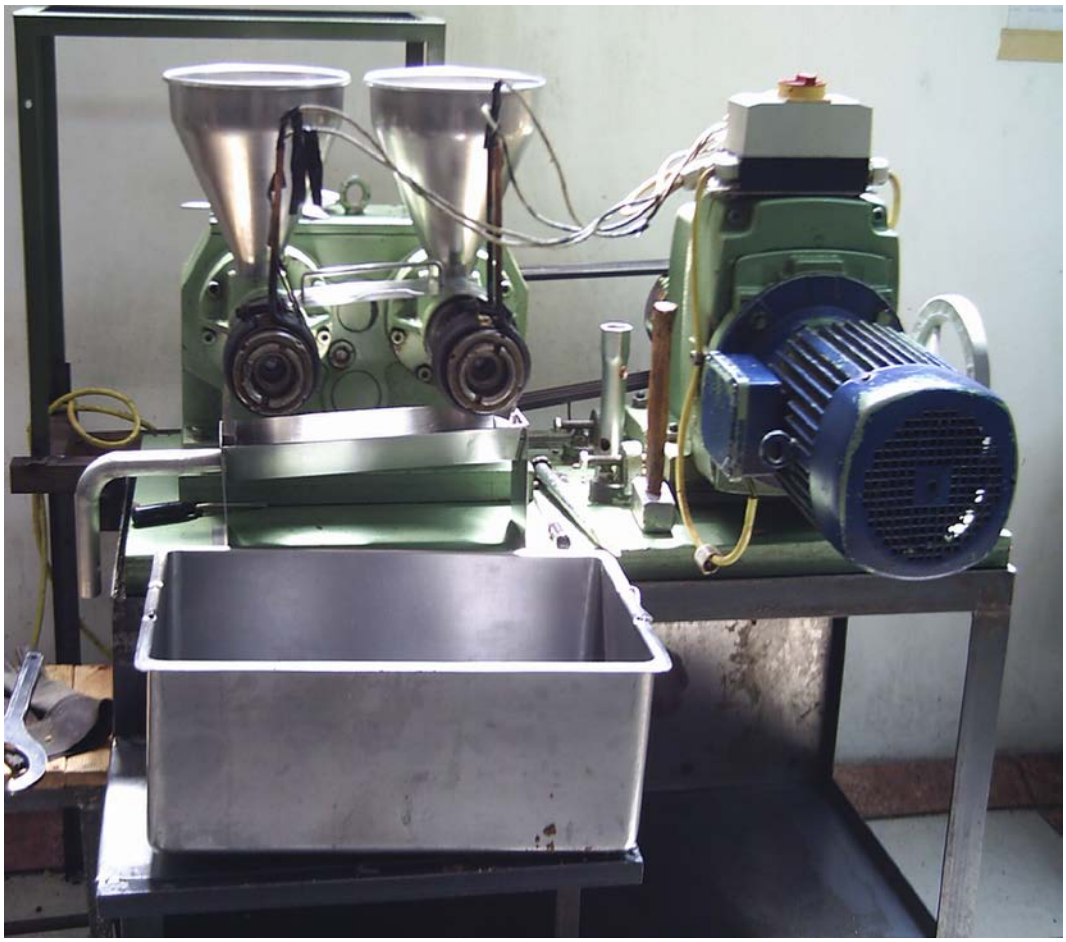
En esta operación se sometieron las almendras a altas temperaturas usando calor seco. Se empleó una tostadora marca IMSA (Lima, Perú). Se trabajaron bajo tres condiciones de tostado que fueron determinadas básicamente por la temperatura de tostado. En el **Cuadro 4.1** se muestra la relación tiempo-temperatura de cada una de las condiciones de tostado, las cuales determinaron los diferentes grados de tostado de la almendra. En la **Figura 4.2** se observa el equipo empleado para el tostado de las semillas.

Figura 4.2 Fotografía de la tostadora empleada en el proyecto.

4.3.1.4 Extracción del aceite (Prensado).

Las tres muestras de almendras tostadas y la muestra no tostada fueron sometidas a la acción de prensado usando una prensa de tornillo (expeller) de laboratorio marca Komet fabricado por IBG Monforts GmbH (Monchengladbach, Alemania) (**Figura 4.3**). La temperatura de prensado estuvo dentro del rango 100ºC – 110ºC, medido insertando una termocupla en la torta que emergía del expeller.

Figura 4.3 **Fotografía de las prensas tipo expeller usado para la extracción de aceite.**



El aceite extraído fue envasado en botellas de vidrio de color ámbar (0.5L) hasta el tope, donde fuera posible, para minimizar la presencia de oxígeno dentro del envase. Las botellas fueron almacenadas en la oscuridad y bajo refrigeración hasta el momento de la clarificación. El prensado se llevó a cabo en la planta de procesamiento de aceite de castaña de la empresa ***CANDELA Perú***, ubicada en el parque industrial de Villa el Salvador.

4.3.1.5 Sellado y Embalaje.

Las muestras de aceite prensado colectadas en frascos de 0.5L fueron trasvasadas a frascos de vidrio de 120ml. de color ámbar de tapa tipo rosca. Estos nuevos envases permitieron mayor facilidad para la manipulación, transporte y almacenamiento de las muestras. En adición, los frascos pequeños permitían un mejor llenado para minimizar la presencia de oxígeno.

Para una mejor protección de las muestras de aceite, los frascos fueron inyectados con gas nitrógeno en las instalaciones de la empresa CANDELA Perú. Los frascos fueron almacenados bajo refrigeración y condiciones de oscuridad hasta su envío mediante transporte aéreo (courier) hacia los Estados Unidos. Apenas las muestras llegaron al laboratorio de Horticultura de la Universidad de Texas A&M, fueron almacenadas a 4ºC hasta el momento de los análisis y clasificación correspondientes.

4.3.1.6 Centrifugación.

La clarificación se realizó en EE.UU. mediante centrifugación a una velocidad de 29,000g por 15 minutos con el fin de separar el aceite, de los sólidos suspendidos en él. Los aceites clarificados fueron envasados en botellas de vidrio color ámbar de 0.5L.

4.3.2 Variables de Estudio.

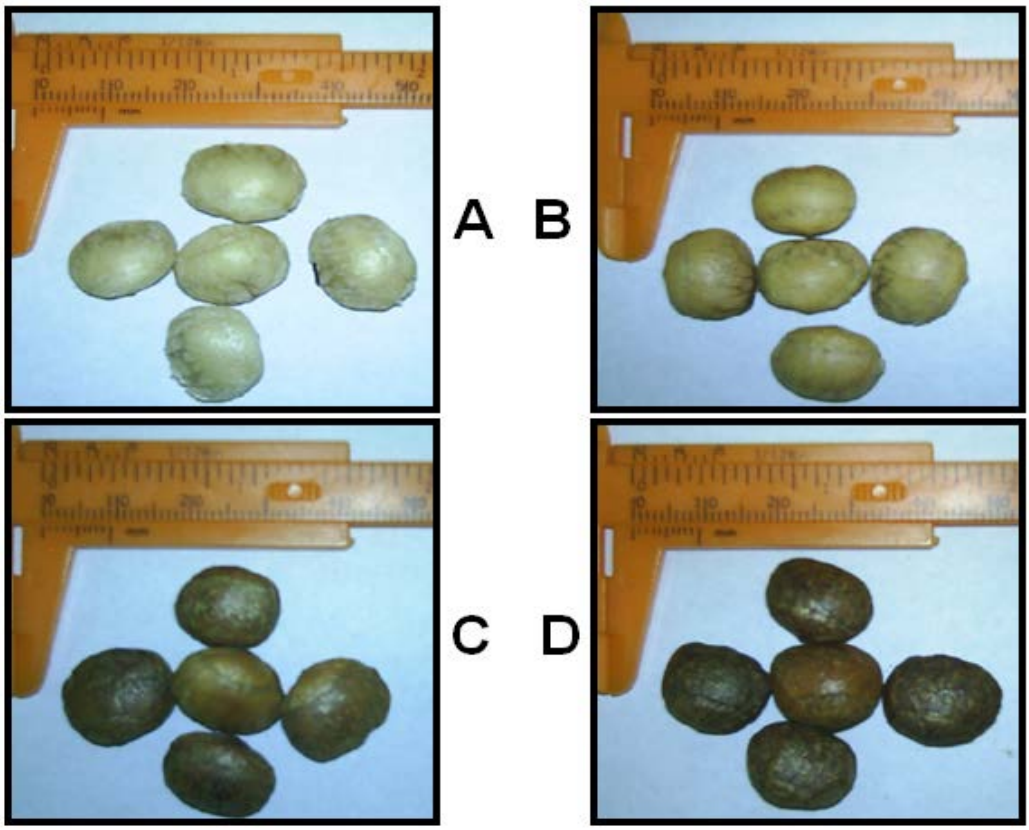
Intensidad de Tostado: esta variable se refiere a las diferentes temperaturas a las cuales, la almendra de sacha inchi fue sometida durante tiempos similares, como se observó en el **Cuadro 4.1**. Este proceso provocó cambios físicos como químicos en la almendra. Producto de las variaciones físicas (**Figura 4.4**), hemos diferenciado a las muestras asignándoles las siguientes denominaciones: tostado ligero (temperatura promedio 77.2ºC ± 2.4), tostado medio (temperatura promedio 85.2ºC ± 1.0), tostado intenso (temperatura promedio 100.1ºC ± 2.2) En el caso de las variaciones químicas, éstas fueron evaluadas mediante ensayos de laboratorio.

4.3.3 Estudio de Almacenamiento Acelerado de las Muestras de Aceite.

Los diversos análisis a los que fueron sometidas las muestras de aceite, se realizaron cada cierto período de tiempo. Es importante recalcar que las muestras de aceite fueron expuestas durante todo el período de prueba a una presión atmosférica y a 60ºC. De esta manera, se hace posible, de manera aproximada, observar el comportamiento de los

aceites frente a la oxidación. Los detalles y características de las pruebas realizadas en las muestras se detallan en la parte correspondiente al punto 4.3.4 Evaluación de las muestras de aceite.

Figura 4.4 **Fotografías de almendras de sacha inchi sin tostar (A) y con diferentes grados de tostado: tostado ligero (B); tostado intermedio (C); tostado intenso (D).**



4.3.4 Evaluación de las muestras de aceite.

Los análisis de los aceites fueron desarrollados en el Laboratorio del Departamento de Horticultura de la Universidad de Texas A&M, en los Estados Unidos de América. En EE.UU. se adquirió una botella de aceite

de linaza el cual también fue analizado para ser usado como referencia para los diversos ensayos debido a que este aceite posee elevado contenido de grasas poliinsaturadas, muy similar a la composición del sacha inchi. Las diversas pruebas se desarrollaron desde el mes de Febrero hasta el mes de Julio del año 2007.

4.3.4.1 Desarrollo de Color.

Para evaluar el desarrollo del color de las distintas muestras de aceite obtenidas, se realizó un análisis visual de las muestras en el mismo ambiente y bajo las mismas condiciones de luz. Lo principal a evaluar fue la intensidad y variación del color en cada una de las muestras.

4.3.4.2 Perfil de ácidos Grasos.

El principio de esta prueba está basado en la separación y determinación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentes tanto en aceites como grasas (Anónimo, 1994 y Villavicencio, 1999). El perfil de ácidos grasos fue analizado en un cromatógrafo de gases Varian CP 3800 (Palo Alto, CA) provisto con un muestrador automático Varian CP-8200 y un detector de flama de ionización (flame ionization detector - FID). El ensayo fue llevado a cabo usando el protocolo descrito por Misir y otros (1985). Aproximadamente, 0.15ml de aceite fue diluido en 3ml de eter dietílico y se agregó 0.2ml de hidróxido tetrametil de amonio al 20% en agua.

Luego de dejar reaccionar por 5 minutos, 0.5ml de metanol fue agregado y llevado a vortex por 1 minuto. Después, las muestras fueron centrifugadas por 10 minutos y 1ml del sobrenadante fue transferido a un vial para su posterior inyección en el cromatógrafo de gases. Los ácidos grasos fueron identificados y expresados como porcentaje del contenido total de ácidos grasos.

4.3.4.3 Estabilidad Oxidativa.

Para el estudio de la estabilidad oxidativa del aceite obtenido a partir de semillas de sacha inchi tostadas, no tostadas; y muestras de aceite de linaza, 50g de muestra fueron transferidas a beakers o vasos de precipitado de vidrio de 100ml de capacidad. Las muestras fueron almacenadas a 60ºC por 30 días.

La estabilidad oxidativa de las muestras fue estudiada por medio del incremento en el contenido de peróxido, de acuerdo al método oficial AOCS Cd 8-53 (AOCS 1993); y por valor de ρ-anisidina, de acuerdo al método oficial AOCS Cd 18-90. Antes de cada medición de peróxido y ρ-anisidina, las muestras fueron agitadas manualmente por 40 segundos para lograr una homogenización.

Tanto en el caso de las pruebas de valor de peróxido como de ρ-anisidina, las muestras de aceite de sacha inchi evaluadas fueron cuatro: sin tostar, tostado leve, tostado medio y tostado intenso. Además, se analizó el aceite de linaza cuyos datos técnicos se presenta en la

sección de materiales. Cada una de las muestras (cinco en total) se analizó por triplicado.

Valor de Peróxidos (Método AOCS Cd 8-53).

En el caso del valor de peróxidos, esta determinó la cantidad en miliequivalentes de oxígeno activo en la muestra analizada. Esta cantidad es calculada a partir del yodo liberado del yoduro de potásico adicionado. Se supone que las sustancias que oxidan el yoduro son peróxidos u otros productos, que aparecen en el medio debido a las reacciones de oxidación que ocurren en el aceite durante su deterioro. (Anónimo, 1994). EL mayor valor permitido según el Codex Alimentarius y La Norma Técnica Peruana para nuevos aceites es de 20.

Valor de ρ- Anisidina (Método AOCS Cd 18-90).

El Valor de ρ- anisidina permite determinar la cantidad de aldehidos presentes en aceites animales o vegetales. Los aldehidos son productos secundarios de la oxidación lipídica. La determinación del Valor de ρ-anisidina se realiza mediante la reacción de una solución acética con los aldehidos presentes en el aceite. Se mide la absorbancia de esta reacción a 350nm. El máximo valor de ρ- anisidina para el caso de aceites es de 2, según Choo y otros (2007).

4.3.4.4 Actividad Antioxidante por Prueba de DPPH.

La capacidad antioxidante del aceite de sacha inchi fue determinado por el análisis de búsqueda de radical libre 2,2-Difenil-1-1picrilhidrazil

(DPPH). Este ensayo fue determinado de acuerdo a la metodología de Brand-Williams y otros, (1994), con una ligera modificación. De los extractos fenólicos obtenidos (correspondiente al punto 4.3.4.5 Fenólicos Totales), luego de reconstituirlos con 500ul de metanol al 100%, se tomó una alícuota de 150ul Después se agregó 2,85ml de solución DPPH y se dejó reaccionar por 24 horas bajo oscuridad y a temperatura ambiente; luego de ello la absorbancia de la mezcla en reacción fue medida espectrofotométricamente a 515 nm. Al mismo tiempo un blanco fue medido. Una curva estándar fue preparada usando trolox como reactivo de referencia. La capacidad antioxidante fue expresada como microgramos de equivalentes de trolox por gramo de muestra (ug TrEq/g).

La molécula de 2,2-Difenil-1-1picrilhidrazil (DPPH) (**Anexo 1**) se caracteriza por ser un radical libre estable debido a la deslocalización del electrón desapareado sólo sobre la molécula de Nitrógeno, de modo que las moléculas no se dimerizan, como sería el caso con la mayoría de los radicales libres. La deslocalización también da lugar a la intensidad del color violeta, caracterizado por una banda de absorción en una solución de etanol centrada alrededor de 520nm. (Molyneux, 2004)

Cuando una solución de DPPH es mezclada con la de una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno, esto da lugar a la reducción de la forma (**Anexo 1**) con la pérdida de este color violeta (aunque se

espera que sea un color amarillo tenue del grupo picryl todavía presente). (Molyneux, 2004)

Las pruebas para la medición de la capacidad antioxidante se realizaron también sólo para el día cero, es decir no se evaluó el contenido durante el transcurso de los 30 días. Esto permitió analizar directamente el efecto del tostado de las semillas sobre la capacidad antioxidante del aceite. Se trabajó con las cinco muestras (aceite de sacha inchi sin tostar, tostado leve, intermedio e intenso y aceite de linaza) y por triplicado cada una de las muestras.

4.3.4.5 Fenólicos Totales.

El contenido de fenólicos totales fue determinado a partir de un extracto fenólico, el cual fue obtenido siguiendo las recomendaciones de Swain and Hillis (1959), con algunas modificaciones, en donde una muestra de 5gr de aceite fue diluida en 25ml de metanol al 80% en agua, sometido luego al vortex por 1 minuto, para pasar luego a un agitador circular durante 1 hora a 200rpm.

Paso siguiente, la dilución fue centrifugada a 15000rpm por 15 minutos; posteriormente, se evaporó todo el solvente que contenía los 8ml del sobrenadante que se extrajeron. Finalmente, las muestras fueron llevadas a un liofilizador por 18 horas para liberar el agua remanente en la muestras. El extracto obtenido de todas las muestras fue reconstituido en 500ul de metanol al 100%, salvo las muestras obtenidas a partir de

las semillas con tostado intenso, las cuales fueron reconstituidas en 900ul de metanol al 100%. Estas últimas diluciones (extracto fenólico) fueron utilizadas para determinar tanto el contenido de fenólicos totales, así como capacidad antioxidante.

La prueba para la determinación del contenido de fenólicos totales se realizó de acuerdo a Swain y Hillis, (1959). De los extractos fenólicos obtenidos se tomó alícuota de 250ul, luego se agregó 4ml de agua destilada, vortex por 30 segundos. Se agregó 250ul del reactivo Folin-Ciocalteu y se dejó reaccionar por 3 minutos. Luego del tiempo requerido se agregó finalmente 500ul de 1N Na_2CO_3. Las muestras reaccionaron por 2 horas bajo oscuridad, luego de ello se leyó la absorbancia a 725nm en el espectrofotómetro. Una curva estándar de ácido clorogénico fue elaborada para expresar el contenido fenólico como miligramos de equivalentes de ácido clorogénico por gramo de aceite.

Los ensayos para cuantificar los fenólicos se realizaron sólo para el día cero, es decir no se evaluó el contenido durante el transcurso de los 30 días. Esto permitió analizar directamente el efecto del tostado de las semillas sobre el contenido de fenólicos totales del aceite. Se trabajó con las cinco muestras (aceite de sacha inchi sin tostar, tostado leve, intermedio e intenso y aceite de linaza) y por triplicado cada una de las muestras.

4.3.4.6 Contenido de Tocoferoles.

El contenido de tocoferoles fue determinado tal como lo explica Mendoza y otros, (2003). A 0,5gr de aceite de sacha inchi se agregó 2ml de metanol. Luego que la muestra fue sometida a vortex por 1 minuto, se agregó 500ul de hexano y se llevó al vortex nuevamente por 1 minuto. Las muestras fueron luego centrifugadas por 10 minutos y 1ml del sobrenadante fue extraído cuidadosamente para inmediatamente después filtrarlo usando filtros politetrafluoroethyleno (PTFE o con nombre comercial de teflón) de 0,2um 20ul del líquido filtrado fue inyectado al HPLC. El sistema del HPLC fue equipado con una columna Lichrosorb Spherisorb ODS2 C18 (5µm tamaño de partícula, 4.6mm. x 250mm) y un guarda columna de la misma composición (Water Corp., Mildford, MA). Un flujo isocrático de 1ml/min de metanol al 100% fue utilizado como sugiere el método oficial AOCS Ce 8-89. Los picos espectros a 295nm y los tiempos de retención fueron usados para identificar y cuantificar los tocoferoles. Los valores están reportados como microgramos de tocoferoles por 100gr de aceite.

Las muestras correspondientes al análisis de tocoferoles fueron las cinco muestras (aceite de sacha inchi sin tostar, tostado leve, tostado medio y tostado intenso; y aceite de linaza). También se trabajó por triplicado para obtener los resultados. Los tiempos a los que se tomó cada prueba aparecen en el cuadro respectivo.

V.- Resultados y Discusión.

5.1 Rendimientos del Procesamiento de las Semillas.

5.1.1 Descascarado.

En el proceso de descascarado se obtuvo un peso total de 19kg de almendras—que representa un 64.1% del peso de la semilla. En el **Cuadro 5.1** se muestra el balance de masa de la operación de descascarado. En la **Figura 5.1**, se observa la semilla entera, la semilla con la cáscara abierta y la almendra una vez extraída.

5.1.2 Tostado.

En los tres grados de tostado, la almendra perdió su sabor astringente original, característico de la almendra cruda. En la almendra de tostado ligero incluso se pudo percibir un sabor ligeramente dulce, y sin notas de sabor amargo que es característico de almendras sometidas a altos grados de tostado como en el caso del café. En la almendra de grado de tostado intermedio ya no se percibió un sabor dulce pero sí se logró percibir un ligero sabor amargo. En la de tostado intenso, el sabor amargo tostado fue más fuerte. La cantidad de almendra tostada por lote fue de 4.5kg aproximadamente. Bajo las tres condiciones de tostado, las almendras perdieron peso, aprox. 5%, presumiblemente por deshidratación (**Cuadro 5.2)**.

Cuadro 5.1 **Resultados de Balance de masa y rendimientos de la operación de descascarado manual.**

	Masa (kg)	Rendimiento (%)
Almendra	**19.1**	**64.1**
Cáscara	**10.3**	**34.6**
Merma	**0.4**	**1.3**
Total	**29.8**	**100**

Figura 5.1 **Producto del proceso de descascarado manual.**

Cuadro 5.2 **Pesos de las almendras de sacha inchi antes y después del tostado.**

Tipo de Tostado	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)
Tostado ligero	4.50	4.25
Tostado intermedio	4.50	4.20
Tostado intenso	4.50	4.20

Cabe indicar que las temperaturas obtenidas, las cuales se presentaron en el **Cuadro 4.1** corresponden a una región “fría” de la tostadora donde estaba ubicada la termocupla, lo cual subestimó las temperaturas a las que fueron sometidas las almendras durante el tostado. La almendra de tostado ligero presentó un color parecido al del maní tostado; las de tostado intermedio e intenso, un color marrón cada vez más oscuro. Esta escala de colores se observa en el **Figura 4.4,** presentada anteriormente.

5.1.3 Extracción del Aceite (Prensado).

Las cantidades de aceite turbio y torta, además de los rendimientos obtenidos por cada muestra se presentan en el **Cuadro 5.3**. Cabe resaltar la gran cantidad de partículas sólidas finas que quedaron suspendidas en los aceites extraídos (aceite turbio), otorgaron una apariencia lodosa al aceite.

Cuadro 5.3 Balance de masa y rendimientos de la operación de prensado.

Muestra	Componente	Masa (kg)	Rendim. (%)
Tostado ligero	**Aceite turbio**	1.787	42.05
	Torta	2.65	62.4
	Total	4.437	104.45
Tostado intermedio	**Aceite turbio**	2.094	49.86
	Torta	2.3	54.8
	Total	4.394	104.66
Tostado intenso	**Aceite turbio**	2.738	65.2
	Torta	1.95	46.4
	Total	4.688	111.6

5.2 Análisis de las muestras de aceite.

5.2.1 Desarrollo de color.

El desarrollo de color en el aceite de sacha inchi obtenido a partir del tostado de semillas de sacha inchi, bajo diferentes intensidades de tostado, se muestra en la **Figura 5.2**. En esta figura se observa el desarrollo de color marrón conforme se realiza el incremento en la intensidad de tostado.

Figura 5.2 **Fotografía de las muestras de aceite de sacha inchi procesadas. De izquierda a derecha: Aceite de semilla sin tostar, aceite tostado leve, aceite tostado medio y aceite de tostado intenso.**

La formación de sustancias marrones en algunos alimentos procesados térmicamente resultan de reacciones no enzimáticas de tipo Maillard, donde reaccionan azúcares reductores y aminoácidos libres o amidas (Lee y otros, 2004). Además, Velasco y otros (2002) mencionan que aceites a los cuales se los decolora mediante filtración, reducen su actividad antioxidante en comparación a los mismos aceites sin filtrar. Esta situación nos permite inferir la posibilidad que conforme la intensidad del tostado aumenta, lo mismo pasa con la intensidad del color en el aceite, y también pasaría lo mismo con la actividad antioxidante y estabilidad oxidativa de los aceites más tostados.

5.2.2 Perfil de Ácidos Grasos.

La prueba de Perfil de ácidos grasos en el aceite de sacha inchi se realizó para los días 0, 8, 18 y 30, almacenados a 60ºC. Se analizaron las cinco muestras disponibles por triplicado. Los resultados se presentan en el **Cuadro 5.4** Los porcentajes de ácidos grasos obtenidos, resultan de la relación de cada ácido graso al total de ácidos grasos presentes en cada muestra.

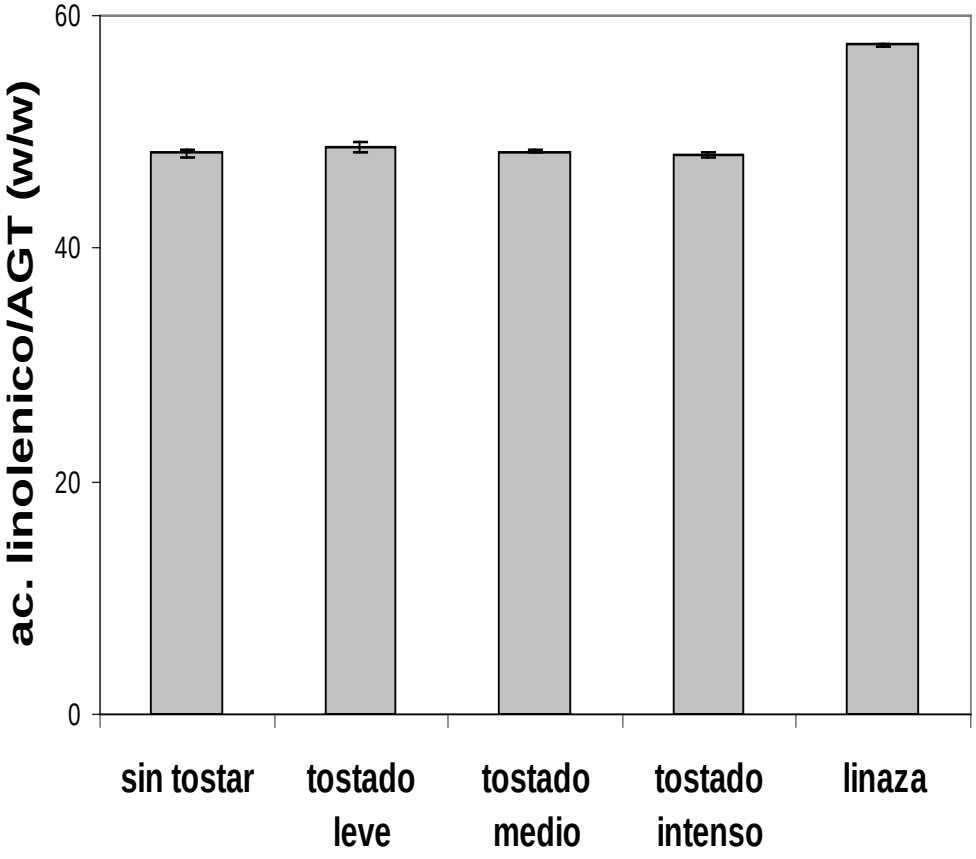
Los principales ácidos grasos analizados son el ácido palmítico y esteárico para el caso de los ácidos grasos saturados. En el caso de los ácidos grasos insaturados, el ácido oleico, linoleico y linolénico son los que fueron cuantificados.

Cuadro 5.4 **Resultados del Perfil de Ácidos Grasos Saturados e Insaturados en el Aceite de Sacha Inchi y de Linaza.**

Perfil de Ácidos Grasos en el Aceite de Sacha Inchi y de Linaza						
DIA 0						
	A. G. Saturados		**A. G. Insaturados**			
Muestra	**Palmítico C16:0**	**Esteárico C18:0**	**Oleico C18:1**	**Linoleico C18:2**	**Linolénico C18:3**	**TOTAL A.G.**
Sin tostar	4,71 ± 0,19	3,33 ± 0,09	8,91 ± 0,12	34,1 ±0,12	48,16 ± 0,34	99,22
Leve	4,82 ±0,23	3,17 ±0,11	8,21 ±0,24	34,19 ±0,14	48,77 ±0,14	99,15
Medio	4,99 ±0,3	3,16 ±0,10	8,29 ±0,15	34,3 ±0,15	48,35 ±0,15	99,1
Intenso	4,74 ±0,09	3,1 ±0,00	8,41 ±0,02	34,35 ±0,06	48,11 ±0,18	98,7
Linaza	5,3 ±0,12	3,63 ±0,03	15,77 ±0,03	16,65 ±0,02	57,46 ±0,012	98,81
DIA 8						
Muestra	**Palmítico** C16:0	**Esteárico** C18:0	**Oleico** C18:1	**Linoleico** C18:2	**Linolénico** C18:3	**TOTAL A.G.**
Sin tostar	4,7 ±0,18	3,25 ±0,01	9,29 ±0,01	34,58 ±0,07	47,18 ±0,04	99,01
Leve	4,8 ±0,16	3,08 ±0,02	8,71 ±0,1	34,7 ±0,15	47,72 ±0,1	99,01
Medio	4,74 ±0,05	3,11 ±0,01	8,63 ±0,04	34,68 ±0,10	47,61 ±0,06	98,77
Intenso	5,01 ±0,24	3,14 ±0,03	8,43 ±0,02	34,49 ±0,12	47,98 ±0,09	99,05
Linaza	5,44 ±0,04	3,68 ±0,03	15,85±0,04	16,68 ±0,02	57,2 ±0,12	98,86
DIA 18						
Muestra	Palmítico **C16:0**	Esteárico **C18:0**	Oleico **C18:1**	Linoleico **C18:2**	Linolénico **C18:3**	**TOTAL A.G.**
Sin tostar	4,99 ±0,09	3,47 ±0,07	9,13 ±0,11	34,24 ±0,27	47,15 ±0,17	98,98
Leve	5,24 ±0,37	3,26 ±0,06	8,63 ±0,23	34,45 ±0,26	47,59 ±0,27	99,17
Medio	4,88 ±0,08	3,18 ±0,03	8,75 ±0,04	34,75 ±0,04	47,18 ±0,07	98,74
Intenso	4,88 ±0,13	3,15 ±0,02	8,61 ±0,03	34,61 ±0,05	47,55 ±0,11	98,81
Linaza	6,37 ±0,15	3,84 ±0,22	16,21 ±0,06	17,11 ±0,41	56,19 ±0,38	99,72
DIA 30						
Muestra	Palmítico **C16:0**	Esteárico **C18:0**	Oleico **C18:1**	Linoleico **C18:2**	Linolénico **C18:3**	**TOTAL A.G.**
Sin tostar	5,06 ±0,19	3,65 ±0,03	10,14 ±0,07	35,07 ±0,06	44,34 ±0,37	98,26
Leve	5,15 ±0,05	3,4 ±0,02	9,35 ±0,04	35,14 ±0,08	45,48 ±0,07	98,51
Medio	5,24 ±0,04	3,37 ±0,02	9,28 ±0,03	35,27 ±0,00	45,49 ±0,07	98,65
Intenso	5,09 ±0,08	3,34 ±0,01	9,16 ±0,06	35,05 ±0,14	45,69 ±0,08	98,33
Linaza	6,75 ±0,15	4,6 ±0,08	19,27 ±0,11	17,22 ±0,08	49,97 ±0,27	97,81

Observando los resultados del aceite de sacha inchi del Día 0 (**Figura 5.3**), se advierte que la relación porcentual del principal ácido graso (Acido Linolénico), no ha sufrido variación considerable. Las tres muestras sometidas a diferente intensidad de tostado, presentaron la relación sin variaciones por efecto del tostado.

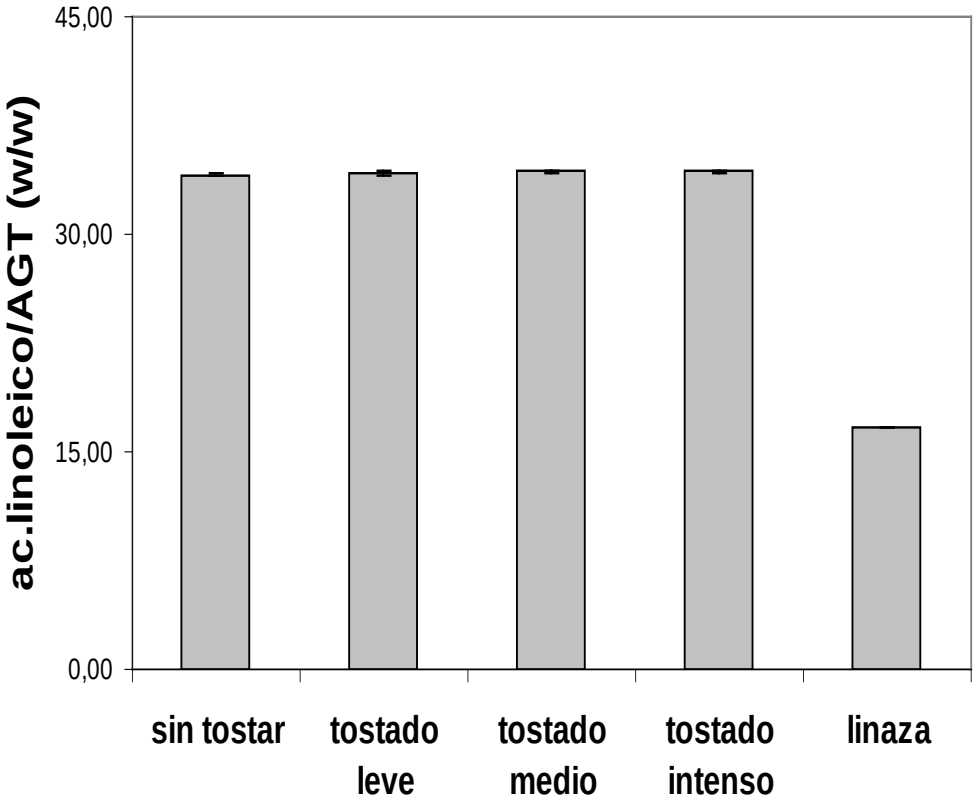
Figura 5.3 Cambio en el contenido de Ácido Linolénico en las muestras de aceite por efecto del tostado.



De la misma manera, se puede observar el efecto indiferente del tostado en el caso del ácido linoleico (**Figura 5.4)**. De manera muy similar al caso del ácido linolénico, se observa que a corto plazo, en estos dos ácidos grasos más importantes en el caso del aceite de sacha

inchi, el tostado no presenta perjuicio a la cantidad relativa de ambos en comparación a la muestra sin tostar.

Figura 5.4 **Cambio en el contenido de Ácido Linoleico en las muestras de aceite por efecto del tostado.**

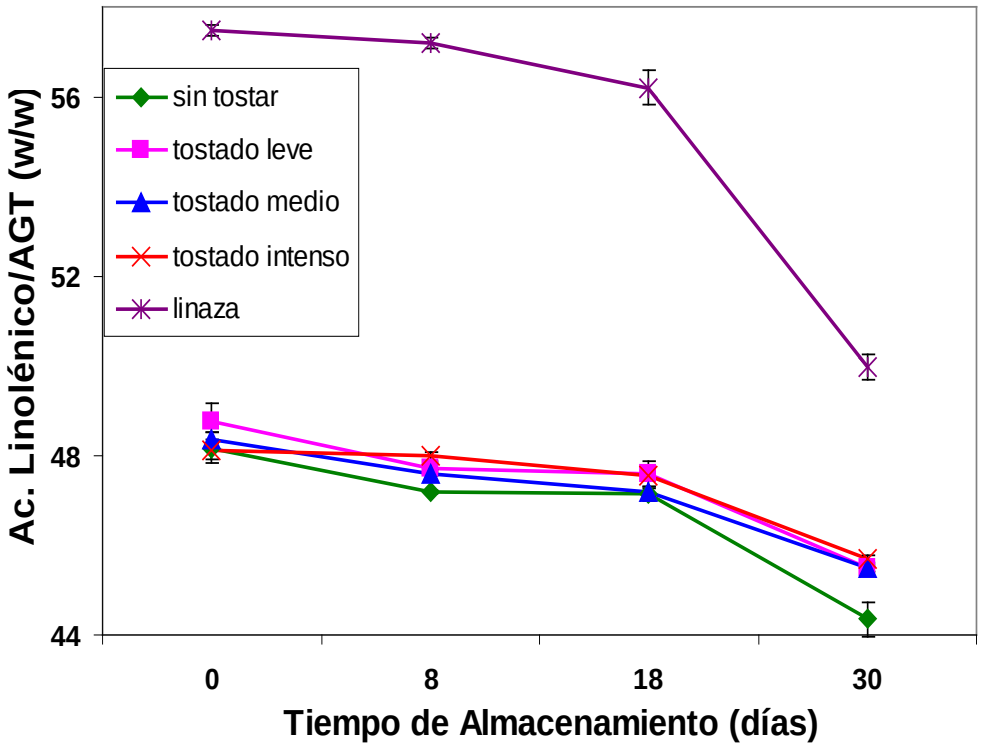


(*) Contenidos de ácidos grasos presentados en porcentajes relativos.

Con respecto a la evolución del contenido relativo de ácido linolénico (Omega-3) en las muestras de aceite (**Figura 5.5**), se observa cierta estabilidad en la cantidad relativa. Si bien a lo largo de los ensayos, la curva presenta una pendiente negativa, este comportamiento se ve acentuado del día 18 al 30 de prueba. En el caso del aceite de Linaza, con baja actividad antioxidante y bajo contenido de tocoferoles (**Figura**

5.11, **5.13 y 5.14**), la variación es mucho más notoria que en el caso de las muestras de sacha inchi.

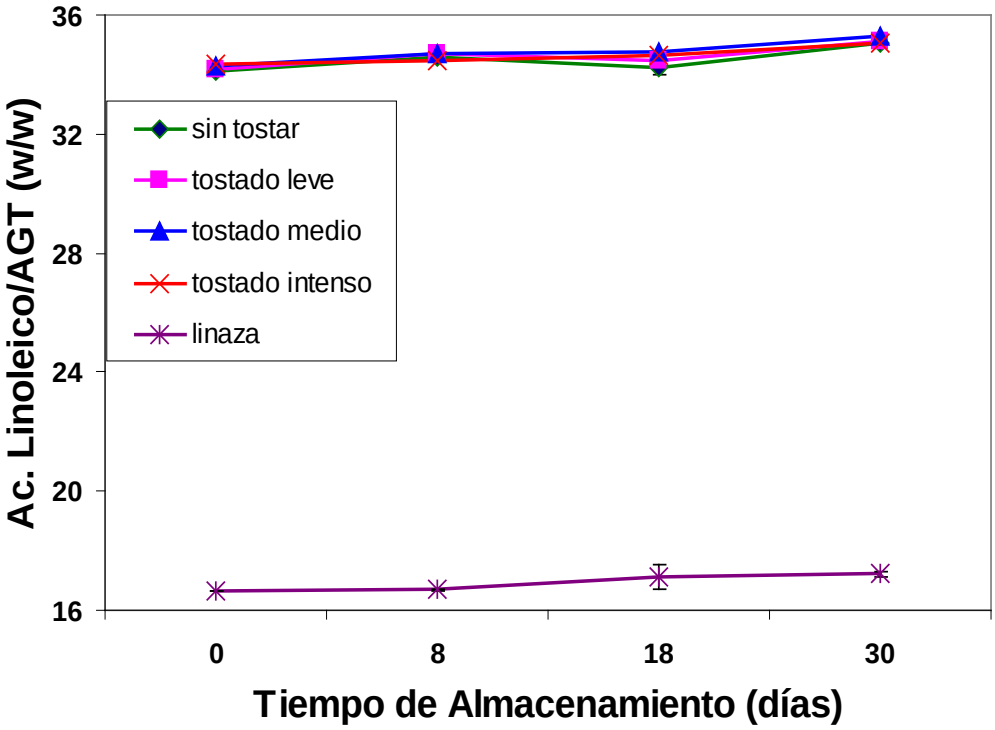
Figura 5.5 **Variación en el contenido de Ácido Linolénico en las muestras de aceite durante el almacenamiento acelerado (60ºC).**



(*) Contenido de ácido graso presentado en porcentaje relativo.

Para el caso del ácido linoleico (Omega-6), se observa que el comportamiento de las cuatro muestras de sacha inchi fue muy semejante entre ellas. En la **Figura 5.6** es posible observar esta conducta a lo largo del tiempo que duró la prueba. Esta condición permite afirmar que en el caso del ácido linoleico (Omega-6) no se observa un efecto apreciable del tostado en el contenido de este ácido graso a lo largo del tiempo.

Figura 5.6 **Variación en el contenido de Ácido Linoleico en las muestras de aceite durante el almacenamiento acelerado (60ºC).**



(*) Contenido de ácido graso presentado en porcentaje relativo.

5.2.3 Estabilidad Oxidativa.

Como se mencionó en la explicación de las pruebas desarrolladas, la Estabilidad Oxidativa del aceite de sacha inchi *(Plukenetia volúbilis l.)* se analizó empleando el valor de peróxidos y el valor de ρ-anisidina.

5.2.3.1 Valor de Peróxido.

El valor de peroxido busca determinar la cantidad de subproductos primarios de las reacciones de oxidación que ocurren en las cadenas lipídicas. Los resultados de todas las mediciones realizadas durante la prueba se encuentran en el **Anexo 2**.

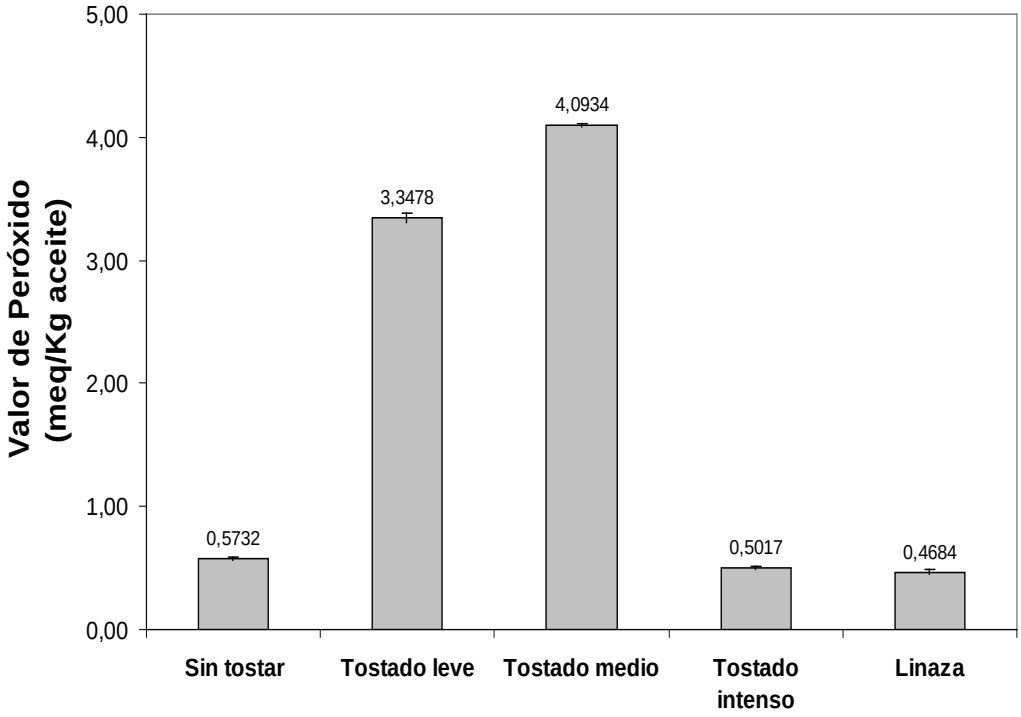
Un punto importante a destacar es el que se observa en el día cero (**Figura 5.7)**, donde se puede observar que el tostado intenso produjo en el aceite un descenso drástico en valor de peróxido en comparación a las otras muestras de aceites obtenidas de semillas tostadas, e incluso menor a la muestra obtenida de las semillas sin tostar.

De acuerdo con Quiles y otros (2002), este comportamiento podría deberse al hecho que los peróxidos, al ser compuestos volátiles, cuando son sometidos a temperaturas elevadas su ratio de evaporación es mayor al ratio de generación. Sin embargo, las muestras sometidas a tostado leve y medio presentan mayores valores, dado que la intensidad del tostado no fue suficiente para provocar esta condición.

Asimismo, esta situación podría considerarse causada por el hecho que en el tostado aparecen sustancias protectoras y antioxidantes en las almendras que luego pasan al aceite facilitado por el proceso de prensado.

Por otro lado, resulta notorio el hecho que existe una relación directa entre la intensidad de tostado y el nivel de peróxido en el tiempo (**Figura 5.7**); es decir, a mayor intensidad de tostado, se obtendrán curvas con menores valores de peróxido.

Figura 5.7 Efecto del tostado en el valor de peróxido de las muestras de aceite.

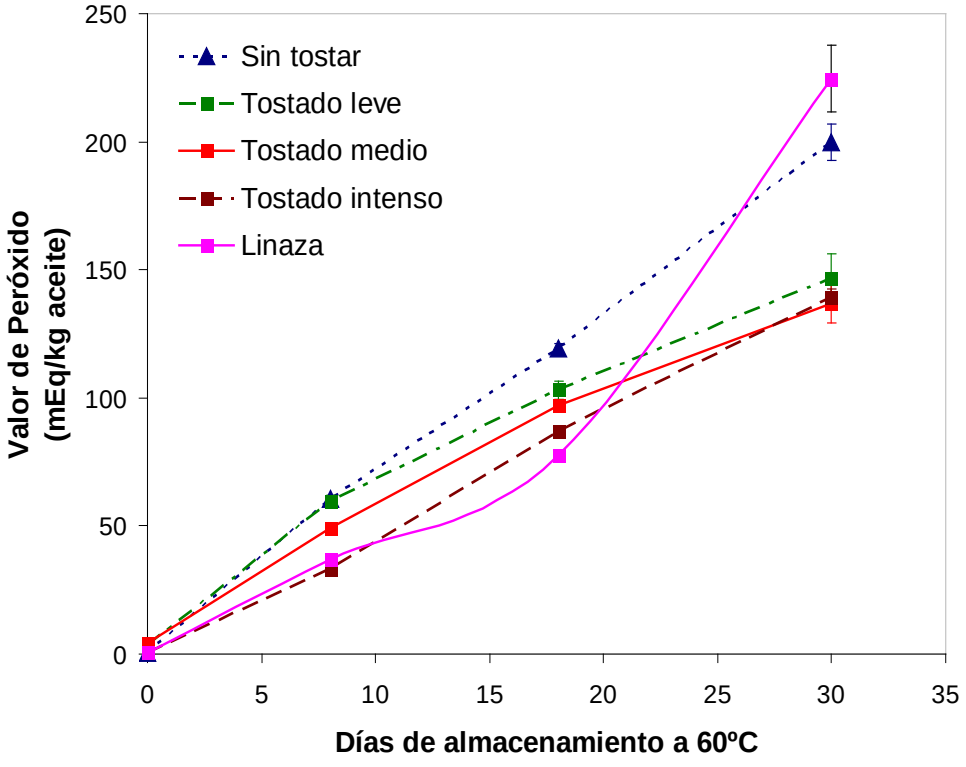


En el caso del aceite de linaza, como se explica en la parte del trabajo correspondiente a materiales empleados, este aceite fue prensado en frío e inmediatamente extraído de las semillas, fue expuesto a una atmósfera compuesta principalmente de nitrógeno. Estas condiciones, sumadas el almacenamiento en envases totalmente oscuros, aseguran que el aceite comercializado presente condiciones sumamente frescas. Esto podría explicar por que el aceite de linaza presentó el menor valor de peróxido y una relativa estabilidad durante los primeros 15 días de prueba. En el caso de las muestras de aceite de sacha inchi, estas fueron extraídas y almacenadas en refrigeradora a 12ºC por una semana y luego enviadas a EE.UU. donde fueron almacenadas a 4ºC durante 30 días para luego iniciar los análisis. A pesar del desfase de tiempo, es

posible observar el buen estado de conservación de las muestras por su bajo nivel de peróxido.

En el **Figura 5.8**, se observan los cambios en el valor de peróxidos por efecto de la oxidación acelerada en el tiempo. Se observa que el aceite de semillas tostadas presentó mayor estabilidad a lo largo de la prueba. Comparando el aceite obtenido de semillas sin tostar con las muestras de aceite de semillas tostadas, las últimas presentan mayor estabilidad oxidativa, evitando que los subproductos primarios de las reacciones de autoxidación del aceite aparezcan.

Figura 5.8 **Evolución del valor de peróxido en las muestras de aceite durante el almacenamiento acelerado (60ºC).**



Este mismo comportamiento también se ha reportado en publicaciones respecto a diferentes tipos de aceite, tales como el de linaza, ajonjolí, girasol, entre otros. (Lee y otros, 2004, Velasco, y otros 2002, Yoshida y Takagi, 2007 & Yen y Shiu, 1989).

Es probable que este comportamiento en los aceites de semillas tostadas se deba a la presencia de compuestos antioxidantes protectores para el aceite, lo cuales podrían ser **(i)** productos de la reacción de Maillard (Choe y Min, 2006; Damodaran, 2000; Lee y otros, 2004); **(ii)** compuestos antioxidantes propios de la semilla, que fueron extraídos en mayor cantidad y con mayor facilidad por efecto del daño en la membrana producto del calor (Lee y otros, 2004); o **(iii)** compuestos fenólicos potenciados, como en el caso de la conversión de sesamol a sesamolin (Choe y Min, 2006; Quiles y otros, 2001; Velasco y otros, 2002).

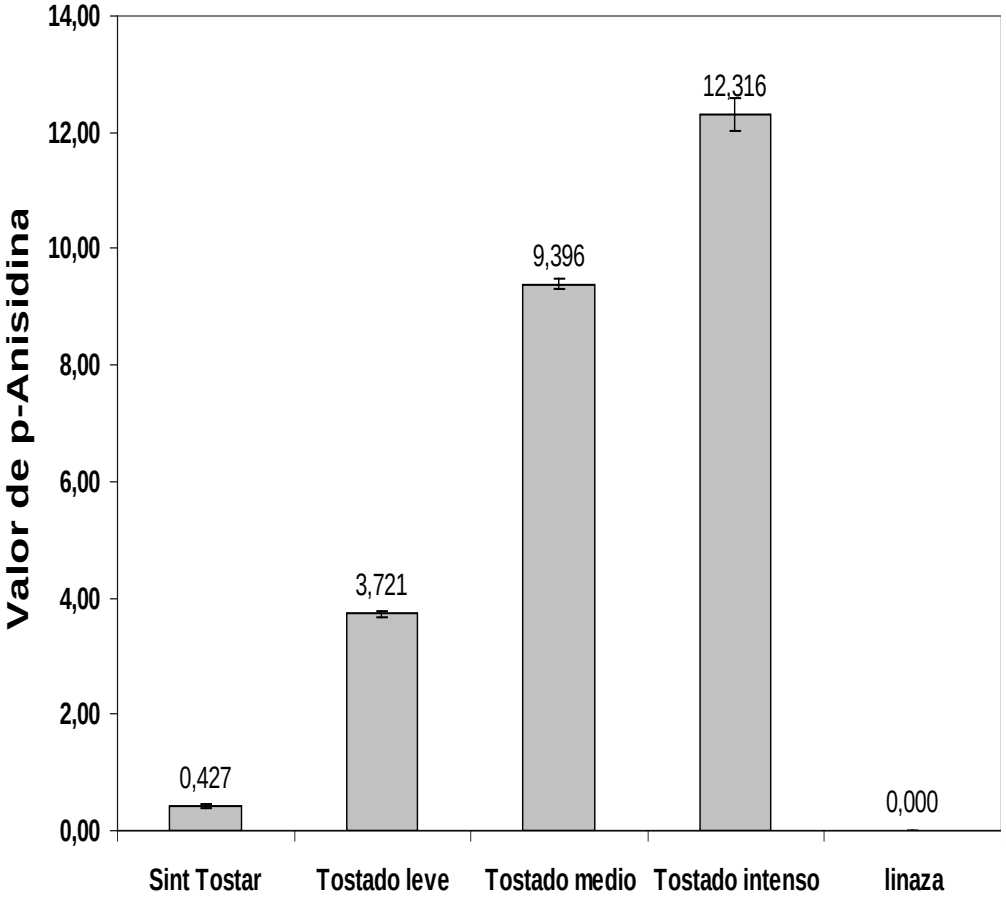
5.2.3.2 Valor de ρ-Anisidina.

Para complementar el análisis de la estabilidad oxidativa, se recomienda también la medición del valor de ρ-anisidina, puesto que esta prueba es frecuentemente usada para detectar productos secundarios de oxidación (Choo y otros, 2007). Los resultados de todas las mediciones realizadas durante la prueba se encuentran en el **Anexo 3.**

El valor de ρ-anisidina, al medir los compuestos secundarios del deterioro de las cadenas lipídicas de manera especifica cierto tipo de

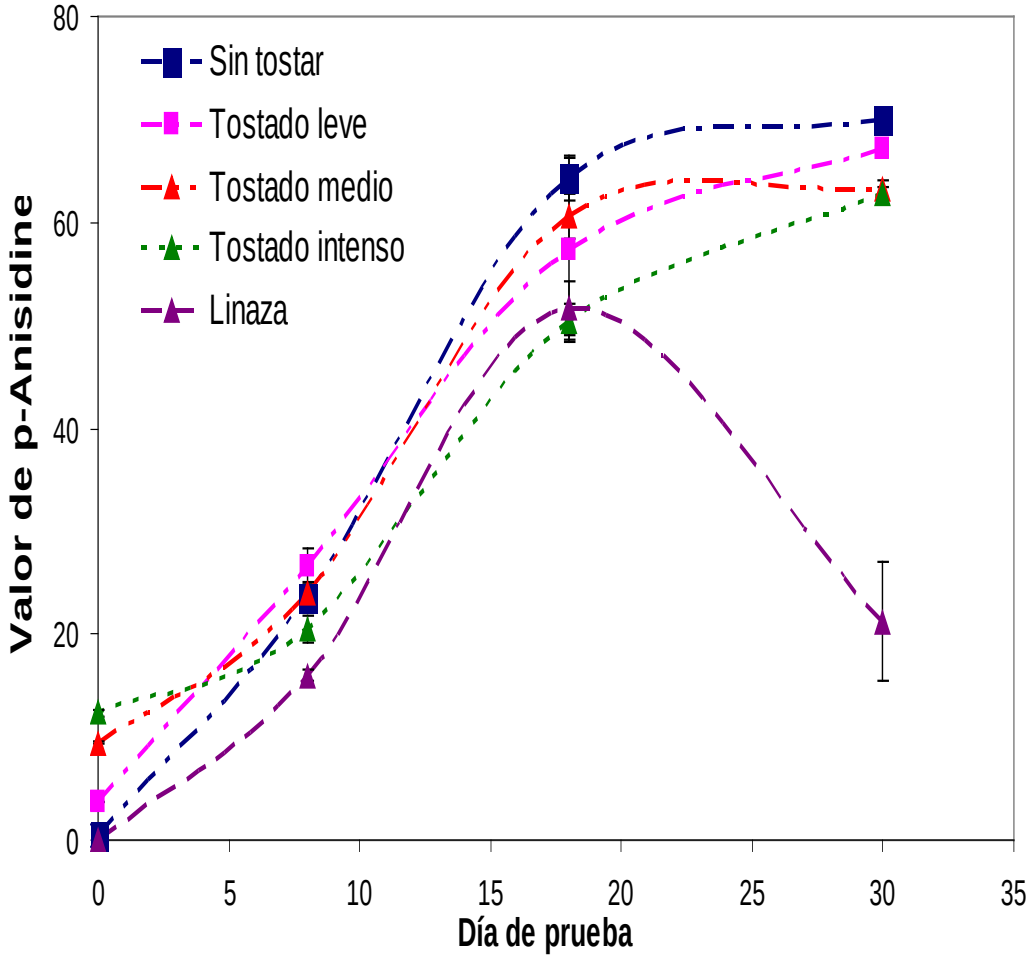
aldehídos, principalmente 2-alkenos y 2,4 dienos (Pike, 1998), es una buena manera de medir el grado de oxidación que tiene el aceite. Observando los resultados para el día de almacenamiento 0, en la **Figura 5.9**, podemos notar la relación directa entre la intensidad de tostado y el valor de ρ-anisidina en las muestras de aceite de sacha inchi; es decir, a mayor intensidad de tostado, mayor es la generación de compuestos secundarios del deterioro lipídico. Esta misma relación fue reportada por Yoshida y Takagi (1997), pero en la semilla de sésamo también tostada a diferentes temperaturas y tiempos.

Figura 5.9 **Efecto del tostado en el valor de ρ-anisidina en las muestras de aceite en el día de prueba 0.**



Basándonos en estas experiencias, se puede deducir que el tostado de las semillas, previamente a la extracción del aceite provoca cierto grado de oxidación en el aceite de sacha inchi. En cuanto al desarrollo de la oxidación acelerada, se pudo observar cambios en el aroma del aceite de las muestras de sacha inchi; es decir, todas las muestras tendían a perder el olor con el que iniciaron la prueba de oxidación.

Figura 5.10 **Variación en el valor de ρ-anisidina en las muestras de aceite durante el almacenamiento acelerado (60ºC).**



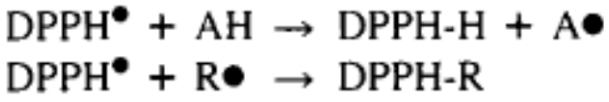
Por otro lado, al observar la **Figura 5.10**, podemos notar un decrecimiento en el valor de ρ-anisidina para el caso del aceite de linaza. Este comportamiento, según Wolf (1996) y Nawar (2000), podría deberse al hecho que cuando un aldehído es oxidado, este se transforma en una gran diversidad de ácidos orgánicos, dependiendo de la molécula original. Así pues, el valor de peróxido en el día 30 (**Figura 5.8**) indica que estos compuestos (peróxidos), moléculas altamente oxidantes, se encuentran en elevada concentración en el aceite de linaza, pudiendo esta ser la causa de la oxidación de los aldehídos y por lo tanto de la disminución del valor de ρ-anisidina para esta muestra especificamente.

5.2.4 Actividad Antioxidante por Prueba de DPPH.

Para evaluar la actividad antioxidante de las diferentes muestras de aceite de sacha inchi, como ya se mencionó anteriormente, primero se obtuvo un extracto fenólico; luego, se dejó reaccionar con el reactivo DPPH en una solución de metanol. Los resultados se presentan en el **Anexo 4.**

La reducción del DPPH, tal como se muestra líneas abajo, es monitoreada por medio de la disminución de su absorbancia a una longitud de onda característica durante la reacción. En su forma radical, el DPPH absorbe a 515nm, pero luego de su reducción por medio de un

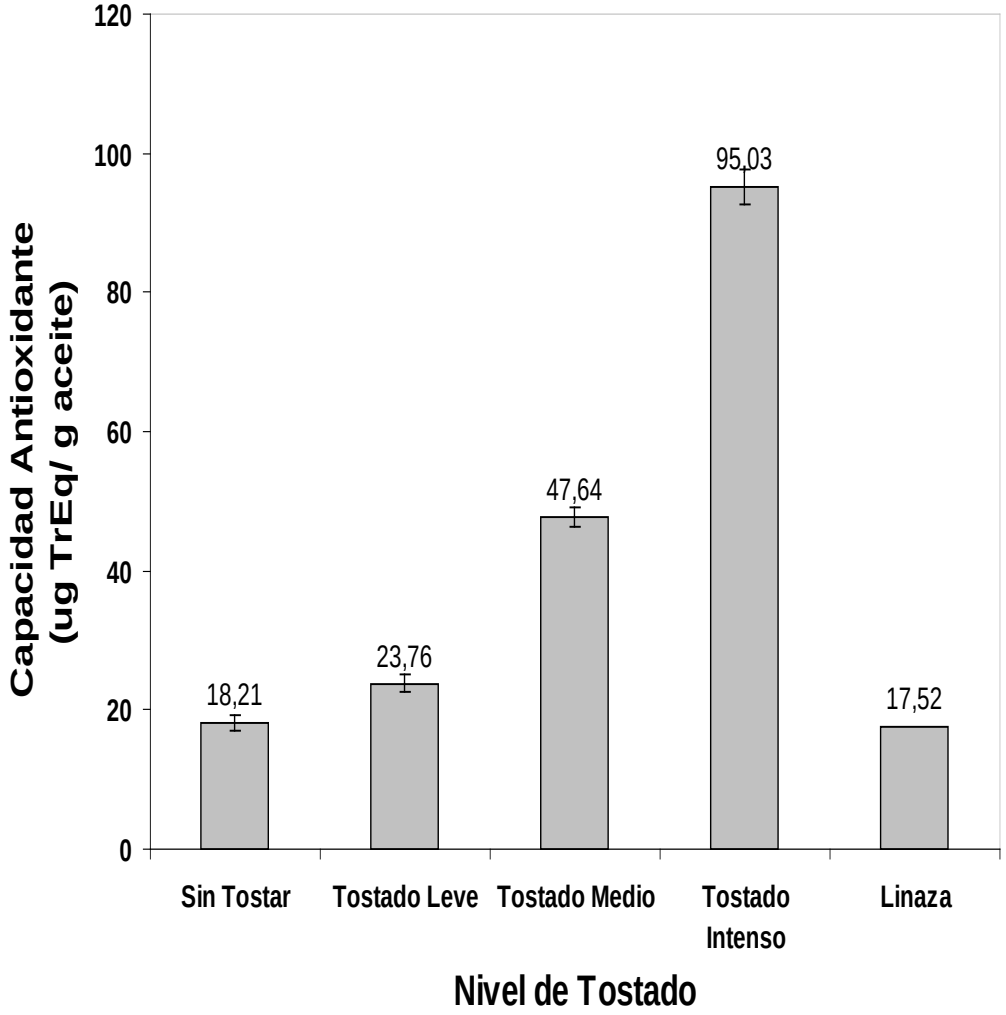
antioxidante (AH) o una especie de radical (R), la absorción desaparece.



En la **Figura 5.11**, se observa los cambios en la actividad antioxidante de las muestras de aceite de sacha inchi, donde el tostado intenso reportó la mayor actividad antioxidante. En la misma figura también se observa la relación directa que existe entre la intensidad de tostado de la semilla y la actividad antioxidante del aceite de sacha inchi. Esta relación se observa en las tres muestras analizadas (tostado leve, tostado medio y tostado intenso).

Al comparar esta **Figura 5.11** con la reportada en el caso del de la prueba de total fenólicos (**Figura 5.12**), podemos notar una misma relación; es decir, el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante aumentan a medida que la intensidad de tostado se incrementa. Esto se presenta dado que el protocolo que se siguió en cada ensayo, partió del mismo extracto fenólico. Por lo tanto, la interpretación de ambos resultados va a estar ligado a una misma causa, la cual se encuentra en la composición del extracto fenólico.

Figura 5.11 **Cambios en la actividad antioxidante, producto de la intensidad en el tostado de las semillas en las muestras de aceite. Medición realizada mediante la prueba de DPPH,**



TrEq = Trolox Equivalente (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-2-ácido carboxílico), medida patrón de actividad antioxidante.

El objetivo del presente estudio no fue conocer la composición de dicho extracto, pero según las referencias (Choe y Min, 2006; Damodaran, 2000; Lee y otros, 2004; Lee y otros, 2004; Quiles y otros, 2001; Velasco y otros, 2002) y como se mencionó anteriormente, muchos factores pueden provocar el incremento de la actividad antioxidante.

5.2.5 Fenólicos totales.

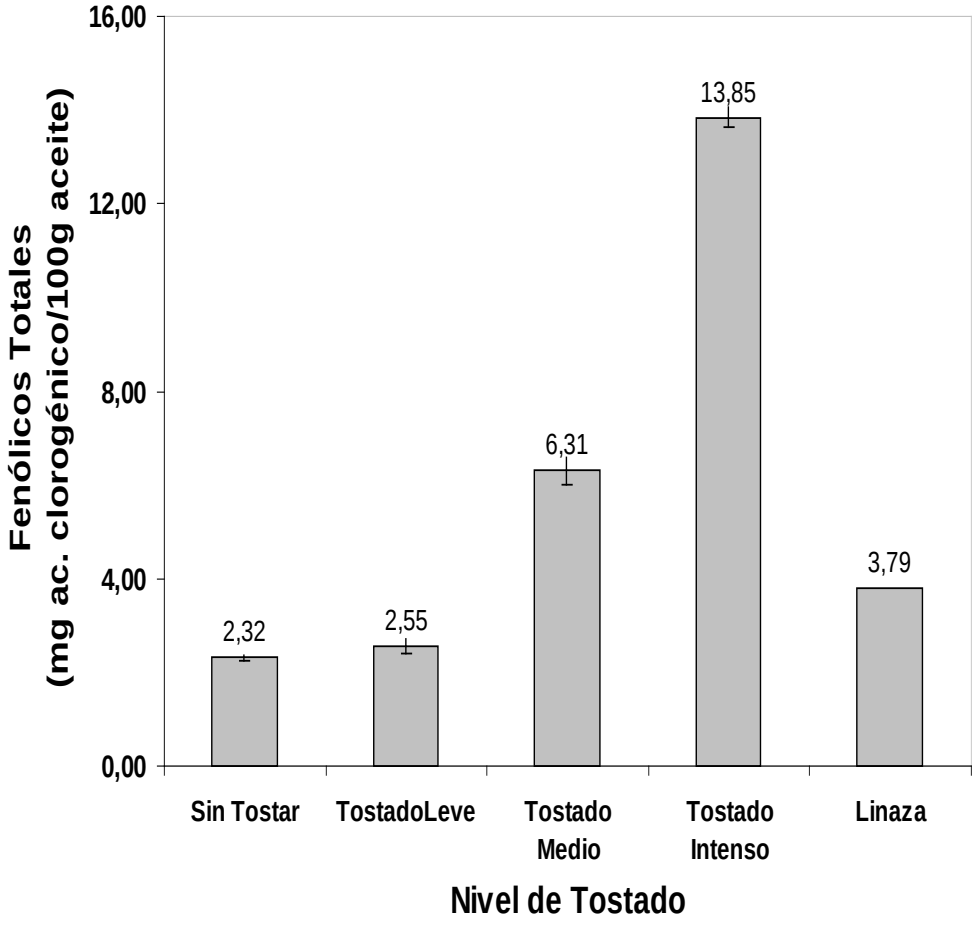
La presente prueba evalúa la concentración de compuestos fenólicos en la muestra usando como compuesto equivalente el ácido clorogénico.

En la **Figura 5.12** se presentan los resultados de fenólicos totales en las muestras de aceite de sacha inchi y linaza. En el **Anexo 5** se presentan tabulados los valores de fenólicos totales.

En la figura mencionada en el párrafo anterior, se observa que el contenido de compuestos fenólicos totales aumenta a medida que la intensidad de tostado se incrementa. Esta relación directa podría deberse, entre otras razones que se explicarán más adelante, a la mayor facilidad de extracción de estos compuestos, producto de la aplicación de calor a las semillas previamente al prensado, lo que origina un daño en la membrana aumentando así su permeabilidad (Lee y otros, 2004).

Así pues, el aceite que recibió el tratamiento térmico (tostado) más intenso, presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos **(Figura 5.12)** y la mejor estabilidad oxidativa **(Figura 5.7)**. El incremento del valor de los compuestos fenólicos totales con el nivel de tostado se incrementa, representa una ventaja de la semilla tostada frente a la no tostada, como es también el caso de la semilla de ajonjolí (Yen y Shyu, 1989 y Yoshida y otros, 1997).

Figura 5.12 **Variación en el contenido de fenólicos totales en las muestras de aceite, producto de la intensidad en el tostado de las semillas de sacha inchi.**



En la semilla de ajonjolí, Choe y Min (2006) hallaron que el Sesamin predomina en dicho aceite (474ppm), seguido por el sesamolin (159ppm). Además, reportaron que la concentración de sesamol en el aceite de dicho aceite es menor a 7ppm. Sin embargo, el aceite de ajonjolí tostado contiene una concentración más alta de sesamol (36ppm) por arriba que el no tostado. El sesamol es producido por la hidrólisis de sesamolin durante el procesamiento térmico del aceite.

Un comportamiento similar al ajonjolí es el que podría ocurrir en el aceite de sacha inchi, puesto la semilla de sacha inchi fue sometido a un proceso de calentamiento. Aunque todavía no se identifican los compuestos fenólicos que están presentes en el aceite de sacha inchi, consideramos que los compuestos fenólicos protectores del aceite podrían ser: **(i)** productos de la reacción de Maillard (Choe y Min, 2006; Damodaran, 2000; Lee y otros, 2004); **(ii)** compuestos antioxidantes propios de la semilla, que fueron extraídos en mayor cantidad y con mayor facilidad por efecto del daño en la membrana producto del calor (Lee y otros, 2004); o **(iii)** compuestos fenólicos potenciados, como en el caso de la conversión de sesamolin a sesamol (Choe y Min, 2006; Quiles y otros, 2001; Velasco y otros, 2002).

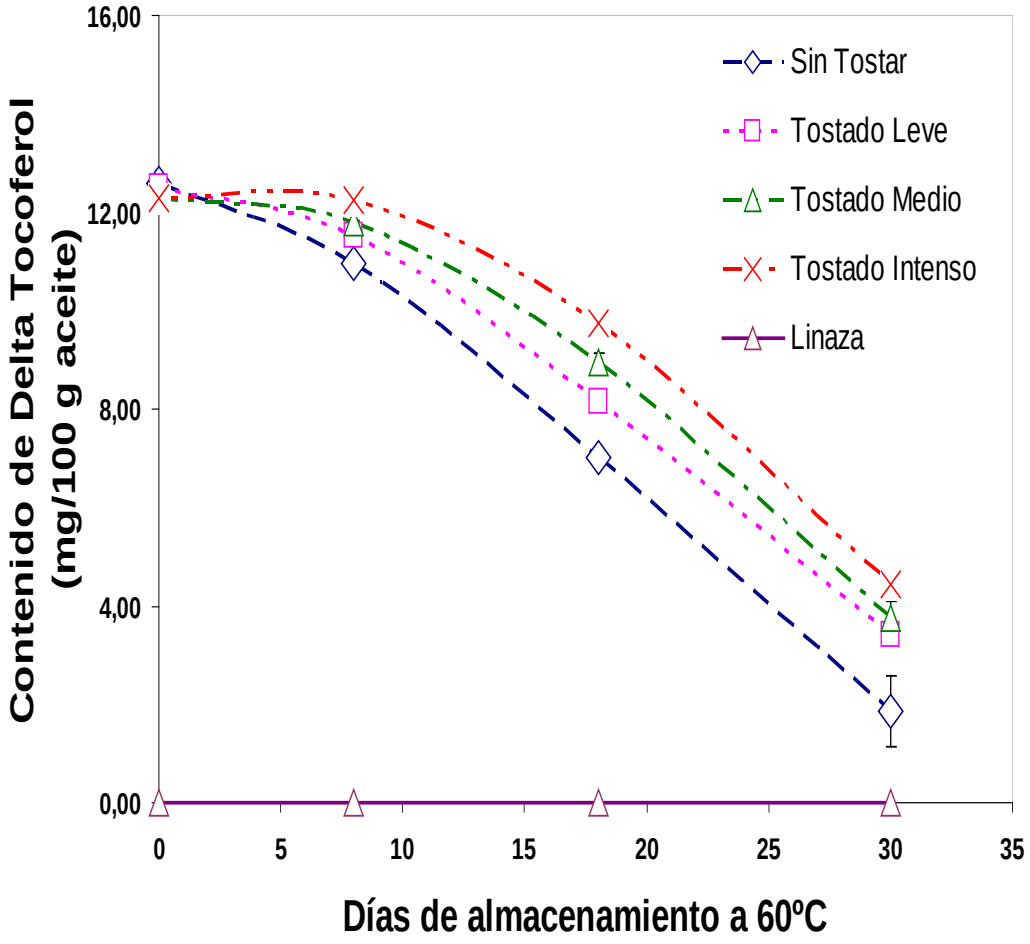
5.2.6 Tocoferoles.

Al observar el contenido de δ- y γ-tocoferol, correspondientes al día 0 en las **Figuras 5.13** y **5.14**, podemos apreciar que las cantidades disminuyen ligeramente conforme la intensidad de tostado aumenta. Sin embargo, esta condición no presenta un efecto considerable sobre el contenido de dichos tocoferoles en el aceite de sacha inchi.

En cuanto al análisis de la prueba de almacenamiento acelerado, podemos observar en ambos casos (δ- y γ-tocoferol), el tostado estaría ejerciendo un efecto protector sobre el contenido de δ- y γ-tocoferol a lo largo de la prueba, puesto que las muestras obtenidas de semillas con mayor intensidad de tostado son aquellas que mantienen mayores

valores en el contenido de sus respectivos tocoferoles a lo largo del tiempo. Este comportamiento es observado en las **Figuras 5.13** y **5.14**.

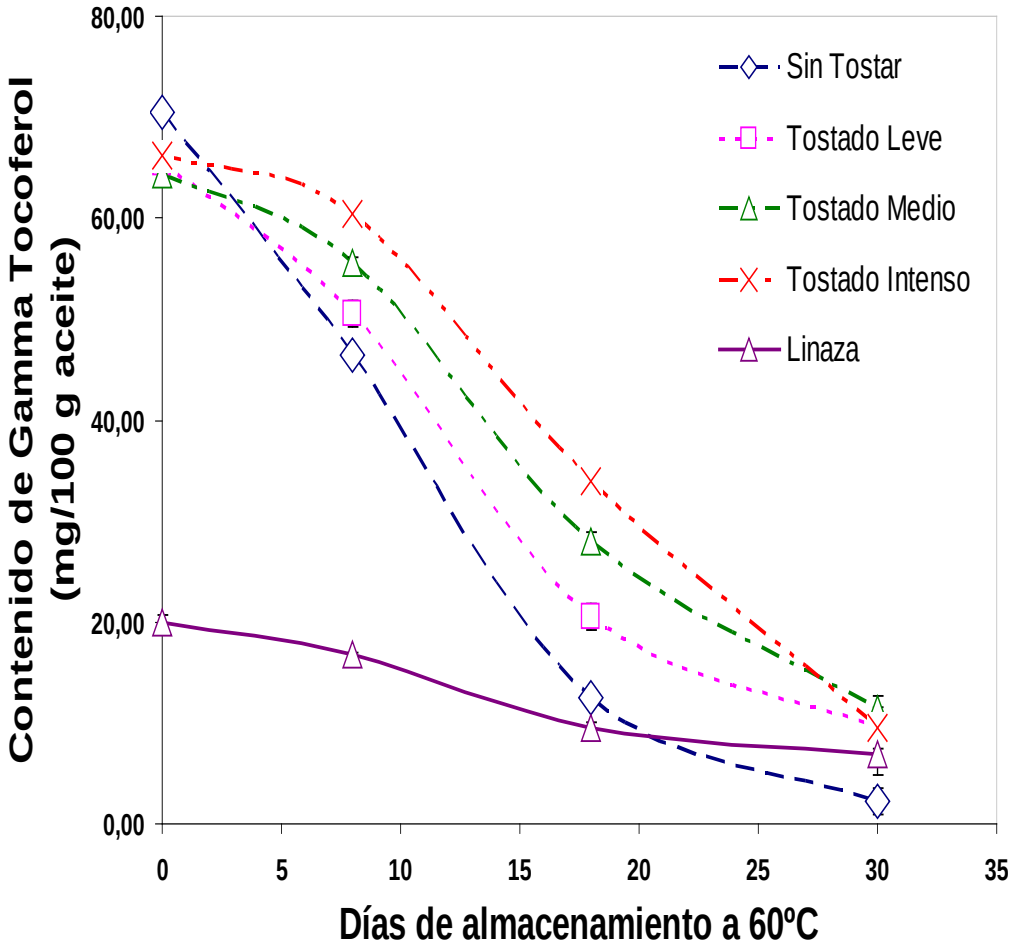
Figura 5.13 **Cambios en el contenido de δ-Tocoferol en las muestras de aceite sometidas al Almacenamiento Acelerado (60°C).**



Para una mayor facilidad en la comprensión de las figuras correspondientes a tocoferoles (**Figuras 5.13** y **5.14**), dividiremos las curvas en dos etapas; la etapa 1 corresponde desde el día 0 hasta el

día 8, en donde la degradación de tocoferoles es mas lenta; y la etapa 2, desde el día 8 hasta el día 30, en donde la degradación se acelera.

Figura 5.14 **Cambios en el contenido de γ-Tocoferol en las muestras de aceite sometidas al Almacenamiento Acelerado (60°C).**



Ahora bien, antes de analizar la etapa 1 resulta importante destacar que Cheftel y Cheftel (1992) mencionan que en la etapa de propagación dentro del proceso de autoxidación lipídica, los tocoferoles y los

compuestos fenólicos interrumpen la cadena de formación de radicales libres cediendo un hidrógeno (H·) a un radical lipídico libre.

Del mismo modo, Velasco y otros (2002) mencionan que los tocoferoles compiten en las primeras etapas de la oxidación lipídica con los compuestos fenólicos, pero su contribución a la estabilidad oxidativa es considerada de menor importancia respecto a los fenólicos.

Con estas dos últimas precisiones se podría deducir que en la etapa 1 (**Figuras 5.13** y **5.14**), son los compuestos fenólicos del aceite de sacha inchi los que están actuando frente a la generación inicial de peróxidos. Además, si tomamos en cuenta que las muestras de semillas de sacha inchi tostadas con mayor intensidad son las que presentan mayor contenido de compuestos fenólicos; entonces, esto explicaría el hecho de que al final de la etapa 1 la muestra con mayor contenido de tocoferoles sea aquella que se obtuvo de semillas tostadas con mayor intensidad. Por el contrario, la muestra obtenida de semillas no tostadas, al tener un bajo contenido de compuestos fenólicos desde el inicio de la Etapa 1 muestra un deterioro de sus tocoferoles, tanto δ- como γ-tocoferol.

En cuanto a la etapa 2 (**Figuras 5.13** y **5.14**), también es necesario resaltar que Choe y Min (2006) mencionan que los tocoferoles compiten con los ácidos grasos insaturados para ligarse con los peróxidos libres en el aceite. Los peróxidos libres reaccionan con los tocoferoles de

manera más rápida que con los lípidos. Es importante mencionar que el tocoferol con mayor actividad antioxidante de acuerdo a las referencias (Gregory III, 2000) es el delta tocoferol (δ-), seguido por el gamma tocoferol (γ-).

Asimismo, Player y otros (2006) mencionan que los tocoferoles son degradados durante el almacenamiento debido a la donación del hidrógeno que hacen al radical peróxido lipídico. Los tocoferoles se degradan rápidamente en presencia de oxígeno y radicales libres en los alimentos. Y una vez que hay gran cantidad de hidroperóxidos acumulados en el aceite, ocurre una oxidación rápida del tocoferol.

Una observación obtenida de la **Figura 5.14**, en donde entre el día 18 y 30, se presenta una variación en la pendiente. Las moléculas de γ-tocoferol, para estas fechas se degradaron en menor proporción en esta parte final de las pruebas.

Con estos últimos comentarios, se podría sustentar que son sólo los tocoferoles del sacha inchi los que están actuando en la etapa 2 donando hidrógenos a los radicales peróxidos lipídicos. Esta segunda etapa se caracteriza porque el contenido de ambos tocoferoles decrece rápidamente mostrando una mayor pendiente negativa desde el día 8 hasta el día 30. La rápida degradación de los tocoferoles podría deberse a la acumulación de peróxidos en el aceite, tal como se observa en la **Figura 5.8**.

Al final de la etapa 2 (**Figuras 5.13** y **5.14**), para ambos tipos de tocoferoles (δ- y γ-tocoferol) se mantuvo la relación en la concentración del día 8 de tocoferoles hacia el final de la prueba; es decir, en el día 30, las muestras con mayor contenido de tocoferoles fueron aquellas que se obtuvieron de semillas tostadas con mayor intensidad. Asimismo, la degradación de los tocoferoles en el tiempo se dio de manera similar en todas las muestras, lo cual se comprueba al observar el mismo grado de pendiente en sus respectivas curvas.

Por otro lado, resulta importante destacar la relación que se observa entre la degradación de los tocoferoles y la conservación del contenido de ácidos grasos insaturados en el tiempo **(Figura 5.5 y 5.6)**. Esto se sustenta en lo mencionado anteriormente por Choe y Min (2006), quienes explican que los peróxidos libres reaccionan con los tocoferoles de manera más rápida que con los lípidos.

Para analizar las características del aceite de linaza con respecto a las diferentes muestras de aceite de sacha inchi, a lo largo de la prueba se observó que el contenido de tocoferoles en las muestras de sacha inchi fue superior al aceite de linaza. El único punto en donde esta situación no se cumple es el día 30 (**Figura 5.14**) en donde la muestra correspondiente al aceite de sacha inchi sin tostar fue superada por el aceite de linaza en el contenido de γ-tocoferol. Posiblemente esta situación se deba al contenido de otros antioxidantes que protegieron el contenido de este tocoferol en dicho aceite.

VI.- CONCLUSIONES.

El aceite de sacha inchi presenta aproximadamente 90% de ácidos grasos insaturados y 8% de grasas saturadas. Los ácidos grasos insaturados que conforman el aceite de sacha inchi son: ácido linolénico (48%), ácido linoleico 34%) y ácido oleico (8%). Los diferentes grados de tostado no provocaron cambios en el perfil de ácidos grasos de las muestras analizadas.

El grado de tostado de las semillas de sacha inchi tuvo un efecto benéfico en la estabilidad oxidativa del aceite, medida como valor de peróxidos y ρ-anisidina, durante el almacenamiento acelerado. Esta observación podría deberse al incremento de la actividad antioxidante, indicada por la prueba de DPPH y el incremento de los compuestos fenólicos totales que reportaron las muestras de aceite extraídas de semillas tostadas.

El tostado de la semillas de sacha inchi redujo ligeramente el contenido de tocoferoles en el aceite. Sin embargo, durante el almacenamiento acelerado, la degradación de tocoferoles fue menor en el aceite de semillas tostadas, y el grado de tostado redujo aún más la velocidad de degradación. Es posible que el tostado provocara un efecto protector en los tocoferoles durante el almacenamiento. Además, es probable que exista una relación entre el incremento de los compuestos fenólicos totales con la estabilidad de los tocoferoles analizados.

VII.-. RECOMENDACIONES.

En la presente investigación se encontró un alto contenido de compuestos fenólicos en las muestras de aceite de sacha inchi obtenidas de semillas tostadas; por ello, resultaría interesante conocer qué tipo de moléculas están presentes en sus correspondientes extractos fenólicos y cuál sería el comportamiento que tendrían durante el almacenamiento acelerado. Esto permitiría comprender mejor la evolución de la estabilidad oxidativa del aceite de saca inchi.

Con respecto a los tocoferoles presentes en las muestras, su evaluación mediante la técnica del *ORAC* (Capacidad de Absorbancia de Radicales de Oxigeno, con sus singlas en inglés), permitiría conocer como varía la actividad antioxidante durante el almacenamiento acelerado. Estos resultados, junto con la evolución de los fenólicos totales, permitiría confirmar la interacción que existe entre los fenólicos totales y los tocoferoles en el aceite de sacha inchi.

Otro producto importante de la semilla de sacha inchi es la torta residual del prensado, la cual podría presentar un elevado contenido de compuestos antioxidantes. Sin embargo, se conoce que el sacha inchi presenta antinutrientes que perjudicarían su consumo. Por esto se hace necesario investigar el efecto del tostado sobre los compuestos presentes en la torta. Estas investigaciones podrían reforzar la idea de incluir un tratamiento térmico al procesamiento del sacha inchi para adecuarlo al consumo humano.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Anónimo, 1994. Métodos Oficiales de Análisis de los Alimentos. Ediciones A. Madrid Vicente y Mundi – Prensa Libros S.A.

2. Arévalo, G. Informes de Resultados de Investigación. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología. E.E.A. “El Porvenir”. Años 1 989 – 1 995.

3. Brack, A. 1 999. Plukenetia volúbilis L. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. PNUD. Cuzco – Perú.

4. B. Rodas Mendoza, S. Morera Pons, A.I. Castellote Bargalló, M.C. López-Sabater, 2003. Rapid determination by reversed-phase high-performance liquid chromatography of Vitamins A and E in infant formulas. Journal of Chromatography A, 1018 (2003) 197–202. Facultat de Farmàcia, Dpto. Nutrición y Bromatologia, Centre de Referencia en Tecnolog´ýa dels Aliments (CeRTA), Universitat de Barcelona. España.

5. Bailey, Alton E., 1984. Aceites y Grasas Industriales. Editorial Reverté. España.

6. Cheftel,J.C. & Cheftel, H., 1992. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Volumen I. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

7. Choe, Eunok and Min, David. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety Vol. 5, 2006.

8. Choo, Wee-Sim; Birch, Jhon and Dufour, Jean Pierre. Physicochemical and quality characteristics of cold pressed flaxseed oils. Journal of Food Composition and Analysis 20 (2007) 2002-221.

9. Conn, Erick; Stumpf, Paul; Karl, Paul. 1996. Bioquimica Fundamental. Noriega Editores. México.

10. Damodaran, Srinivasan. Aminoácidos, peptidos y proteínas. En “Química de los Alimentos. Fennema, Owen R. (ed.) Editorial Acribia. España.

11. Gregory III, Jesse F. 2000. Vitaminas. En “Química de los Alimentos. Fennema, Owen R. (ed.) Editorial Acribia. España.

12. Hamaker, B.R., C. Valles, R. Gilman, R. M. Hardmeier, D. Clark, H.H. García, A.E. Gonzales, I. Kohlstad, y M. Castro, Amino Acid and Fatty Acid Perfiles of the Inca Peanut (Plukenetia volubilis L.), Cereal Chem. 69:461-463 (1992).

13. Harper, C.R.; Edwards, M.; DeFilipis, Andrew and Jacobson, Terry. Flaxseed Oil Increases the Plasma Concentrations of Cardioprotective (N-3) Fatty Acids in Humans. 0022-3166/06 2006 American Society for Nutrition. Pp 83-87.

14. Kirk, R.S., Sawyer R., H Egan. 2004. Composición y análisis de alimentos de Pearson. Sexta reimpresión. Compañía Editorial Continental. México.

15. Lee, Seon-Mi & Lee, Junsoo. Tocopherol and Tocotrienol Contents of Vegetable Oils, Margarinas, Butters and Peneauts Butters Consumed in the Korean Diet. Food Sci. Biotechnol. Vol15, Nº 2, pp 183 – 188 (2006).

16. Lee, Y.-C., I.-H. Kim, J. Chang, Y.-K. Rhee, H.-I. Oh, y H.-K. Park, Chemical Composition and Oxidative Stability of Safflower Oil Prepared with Expeller from Safflower Seeds Roasted at Different Temperatures, J. of Food Science 69: 1 (2004).

17. Lee, Youg-Chul; Oh, Se- Wook; Chang, J. And Kim, In-Hwan. Chemical Composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. Food Chemestry 84 (2004) 1-6.

18. Lubert Struyer, Jeremy M. & Others. Bioquimica. Editorial Ravarté S.A. Barcelona, 2003.

19. Manco E. 2006. Situación y Avances del Cultivo del Sacha Inchi en el Perú. Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología. E.E.A. “El Porvenir”. INIEA

20. Mateos, Raquel; Trujillo, Mariana; Pérez, Carmen; Moreda, Wenceslao and Cert, Arturo. Relationships between Oxidative Stability, Triacylglycerol Compositin and Antioxidant Content in Olive Oil Matrices. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 5776-5771.

21. Min, David & Boff J. Lipid Oxidation of Edible Oil. Jorunal of Food Lipids, chemistry, nutrition and biochemistry. (2002) 335-363.

22. Nawar, Wassef W.. 2000. Lípidos. En “Química de los Alimentos. Fennema, Owen R. (ed.) Editorial Acribia. España.

23. Nogala K. Malgorzata; Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerol during accelerated tests. Food Chemestry 93 (2005) 227Korczak, Josef; Malgorzata, D.; Lampart-S., Eleonora; Siger, Aleksander and Buchowski, M.. Food Chemestry 93(2005) 227-235.

24. Minna, H.; Gates, Fred; Sjoberg, Anna. Quality Characteristics of edible linseed oil. Agricultural and food science, vol. 15 (2006): 402-413.

25. Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. J. Sci. Technol., 2004, 26(2) : 211-219

26. Pike, Oscar A. 1998. Fat Characterization. En “Food Analysis”. (Ed.) Nielsen, S. Suzane. Second Edition. Aspen Publishers INC.. Maryland, USA.

27. Quiles, José; Ramirez, Carmen; Gómez, Alfondo; Huertas, Jesús and Matiax, José.. Role of Vitamin E and phenolic compounds in the antioxidant capacity, measured by ESR, of vinrgin olive, olive and snfloer oils after frying. Food Chemestry 76 (2002) 461-468.

28. R. Misir, B. Laarveld and R. Blair. Evaluation of a rapid method for preparation of fatty acid methyl esters for analysis by gas-liquid chromato-graphy. Journal of Chromatography, 331 (1985) 141-148.

29. Romero, Ana M. & Others. Efecto de la adición de productos de Maillard y ácido ascórbico sobre la estabilidad oxidativa de un sistema lipídico modelo. Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Agroindustrias. Resúmen E-077. 2004. República de Argentina.

30. Rudnik E.; Szczucinska, A; Gwardiak, H.; Szulc, A and Winiarska, A.. Comparative studies of oxidative stability of linseed oil. Thermochimica Acta 370 (2001) 135-140.

31. Stauffer, C., 1996. Fats and Oils. USA.

32. Stryer, Lubert. Berg Jeremy & Others, 2003. Bioquimica. Editorial Reverte.

33. Thaipong, Kriengsak; Boonprakob, Unaroj; Crosbyb,Kevin; Cisneros Zevallos, Luis; Hawkins Byrne, David. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis 19 (2006) 669–675.

34. Velasco, Joaquin and Dobarganes, Carmen. Oxidative Stability of Virgin Oil. Eur. J. Lipid Technol. 104 (2002) 661-676.

35. Villavicencio, M.1999. Bioquimica I. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

36. Von Elbe, J. H. y Schwartz Steven J.. Colorantes. En “Química de los Alimentos”. Fennema, Owen R. (ed.) Editorial Acribia. España.

37. Swain T., Hillis W.E. The quantitative **analysis of. phenolic constituents of Prunus** domestica.J. Sci. Fd Agric. (1959) 10: 63-68].

38. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier and C. Berset, 1994. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Dpartement Science de l'Aliment. France.

39. Wolfe Drew H., 1996. Química General Orgánica y Biológica. Editorial Mc Graw – Hill, México.

40. Wong, Dominic, 1995. Química de los Alimentos: Mecánica y Teoría. Editorial Acribia S.A.

41. White, P.J. & Marette, A. 2006. Is Omega-3 key to unlocking inflammation in obesity?. Diabetologia (2006) 49:1999–2001.

42. Yang, TSung-Shi; Chu, Yan-Hwa and Liu Tai-Ti.. Effects of storage conditions on oxidative stability of soybean oil. J Sci Food Agric 85: 1587 – 1595 (2005).

43. Yen, G.C.; Shyu, S.L.. Oxidative Stability of sesame oil prepared from sesame seed with different roasting temperatures. Food Chemestry 31 (1989) 215-224.

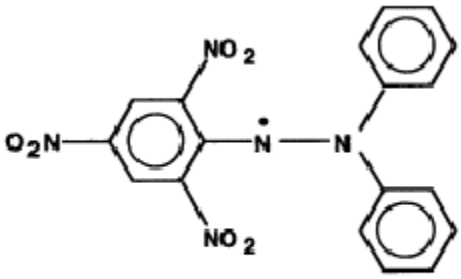
44. Yoshida, H., y Takagi, S. Effects of Seed Roasting Temperature and Time on the Quality Characteristics of Sesame (Sesamun indicum) Oil, J. Sci. Food Agric. 75:19-26 (1997).

IX.- ANEXOS.

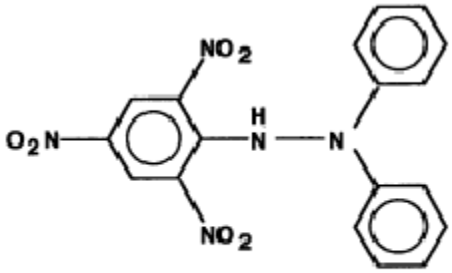
ÍNDICE DE ANEXOS.

		Pgs.
Anexo 1	Moléculas de DPPH.	91
Anexo 2	Resultados de la medición del valor de peróxido de las muestras.	91
Anexo 3	Resultados de la evaluación de Valor de ρ-Anisidina.	91
Anexo 4	Resultados de la medición de Actividad Antioxidante.	92
Anexo 5	Reporte de Resultados obtenidos del Contenido Total de Fenólicos en las distintas muestras.	92
Anexo 6	Contenido de δ y γ Tocoferol en las muestras analizadas.	93
Anexo 7	Moléculas de compuestos Fenólicos.	94
Anexo 8	Moléculas de compuestos Fenólicos.	95
Anexo 9	Moléculas de compuestos Fenólicos.	96
Anexo 10	Moléculas de Tocoferol.	97
Anexo 11	Cromatogramas correspondientes a la muestra de aceite de sacha inchi sin tostar (Día 0).	98
Anexo 12	Cromatogramas correspondientes a la muestra de aceite de linaza (Día 0).	99

Anexo 1 Moléculas de DPPH.



1: Molécula de Diphenylpicrylhydrazyl, en estado de radical libre.



2: Molécula de Diphenylpicrylhydrazine, en estado reducido.

(Thaipong, 2006)

Anexo 2 Resultados de la medición del valor de peróxido de las muestras.

Valor de peróxido (mEq/Kg oil)[a]					
Día de Prueba	**Sin Tostar**	**Tostado Leve**	**Tostado Medio**	**Tostado Intenso**	**Aceite de Linaza**
0	0,573 ± 0.01	3,348 ± 0.04	4,093 ± 0.01	0,502 ± 0.01	0,468 ± 0.19
8	60,743 ± 0.32	59,61 ± 2.25	49,211 ± 0.54	32,914 ± 0.56	36,815 ± 0.55
18	119,186 ± 2.25	103,01 ± 3.76	97,036 ± 1.11	86,9 ± 1.52	77,864 ± 0.24
30	199,928 ± 7.08	146,604 ± 9.84	136,988 ± 7.69	139,43 ± 3.13	224,530 ± 12.9

[a] Cada valor es resultado del promedio aritmético de 3 ensayos realizados.

Anexo 3 Resultados de la evaluación de valor de ρ-anisidina.

Valor de ρ-anisidina[a]					
Día de Prueba	**Sin Tostar**	**Tostado leve**	**Tostado medio**	**Tostado intenso**	**Linaza**
0	0,427 ±0.03	3,721 ±0.06	9,396 ±0.09	12,316 ±0.28	0,000 ±0.00
8	23,496 ±0.02	26,619 ±1.79	23,922 ±1.15	20,502 ±1.31	16,019 ±0.45
18	64,287 ±2.14	57,370 ±8.92	60,638 ±2.12	50,296 ±1.76	51,722 ±2.65
30	69,996 ±0.75	67,243 ±0.55	63,125 ±1.06	62,726 ±0.77	21,244 ±5.75

[a] Cada valor es resultado del promedio aritmético de 3 ensayos realizados.

Anexo 4 **Resultados de la medición de Actividad Antioxidante.**

Antioxidant Activity by DPPH - µg Trolox Equivalent/g oil[(a)]					
Muestra	**Sin Tostar**	**Tostado Leve**	**Tostado Medio**	**Tostado Intenso**	**Aceite de Linaza**
R1	16,89318	23,66527	48,19275	96,50744	16,63677
R2	18,80217	25,04141	46,10657	96,46559	16,69246
R3	18,92648	22,58463	48,62427	92,12582	19,22867
MEAN	**18,21 ± 1.14**	**23,76 ± 1.23**	**47,64 ± 1.35**	**95,03 ± 2.52**	**17,52 ± 1.48**

[(a)] Cada valor es resultado del promedio aritmético de 3 ensayos realizados.

Anexo 5 **Reporte de los resultados obtenidos del Contenido Total de Fenólicos en las distintas muestras.**

Contenido Total de Fenólicos (mg/100g. aceite) [(a)]					
Muestras	**Sin Tostar**	**Tostado Leve**	**Tostado Medio**	**Tostado Intenso**	**Aceite de Linaza**
R1	2,3643	2,4713	6,5357	13,9481	3,6538
R2	2,3437	2,7312	5,9881	13,9794	4,1218
R3	2,2587	2,4483	6,3984	13,6170	3,5986
Mean	**2,3222 ±0.056**	**2,5503 ±0.157**	**6,3074 ±0.285**	**13,8482 ±0.201**	**3,7914 ±0.288**

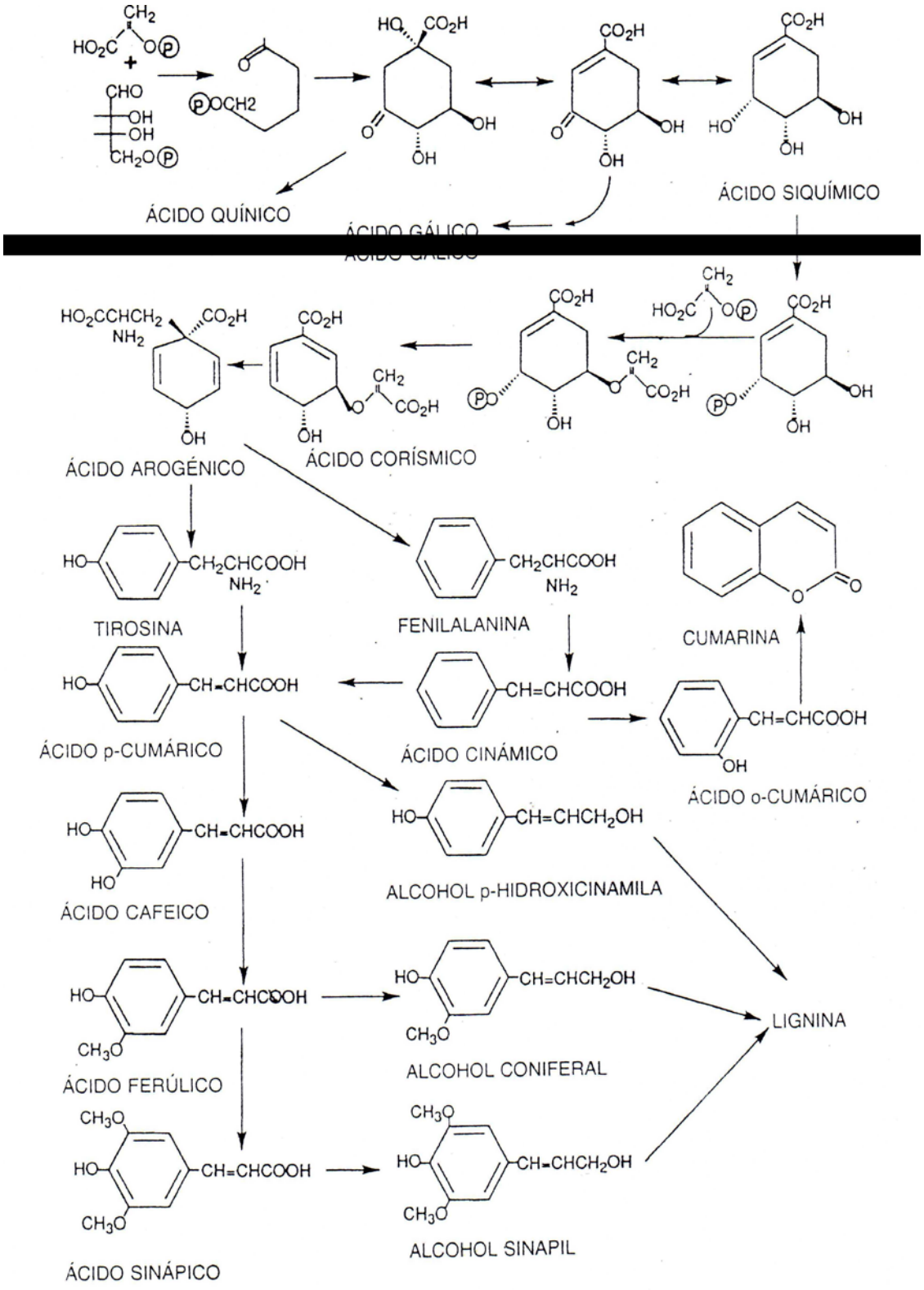
[(a)] Cada valor es resultado del promedio aritmético de 3 ensayos realizados.

Anexo 6 **Contenido de δ y γ Tocoferol en las muestras analizadas.**

Contenido de Tocoferoles (mg./100gr de aceite) [(a)]					
Días de Almac.	**Sin Tostar**	**Tostado Leve**	**Tostado Medio**	**Tostado Intenso**	**Aceite de Linaza**
δ-tocoferol					
0	12,5855 ± 0.089	12,4939 ± 0.018	12,3027 ± 0.065	12,2939 ± 0.062	0,0842 ± 0.001
8	10,9436 ± 0.069	11,5168 ± 0.026	11,7833 ± 0.053	12,2410 ± 0.120	0,2617± 0.001
18	7,0066 ± 0.043	8,1526 ± 0.147	8,9312 ± 0.195	9,7402 ± 0.055	0,6765± 0.010
30	1,8576 ± 0.708	3,4056 ± 0.092	3,7645 ± 0.347	4,4269 ± 0.091	0,0504 ± 0.000
γ-tocoferol					
0	70,5570 ± 0.238	65,4919 ± 0.162	64,3699 ± 0.245	66,2081 ± 0.283	19,886 ± 0.880
8	46,3688 ± 0.654	50,5795 ± 1.264	55,4808 ± 0.653	60,3899 ± 0.434	16,815 ± 0.223
18	12,4566 ± 0.452	20,4726 ± 1.314	27,8981 ± 0.928	33,9059 ± 0.368	9,5770 ± 0.419
30	2,2021 ± 1.323	9,5977 ± 0.509	11,3975 ± 1.297	9,5925 ± 2.043	6,8540 ± 1.982

(a) Cada valor es resultado del promedio aritmético de 3 ensayos realizados.

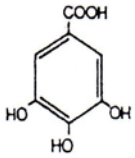
Anexo 7 **Moléculas de compuestos Fenólicos**



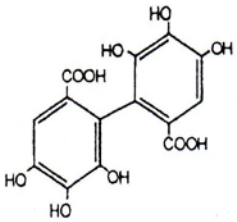
(Gregory III, 2000)

Anexo 8 Moléculas de compuestos Fenólicos

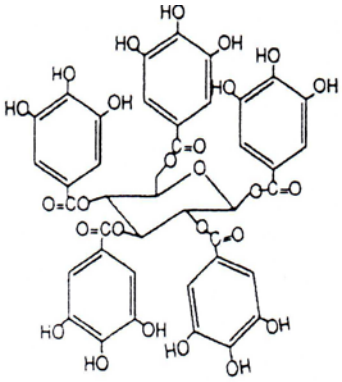
Galotaninos («Taninos hidrolizables»)



ÁCIDO GÁLICO

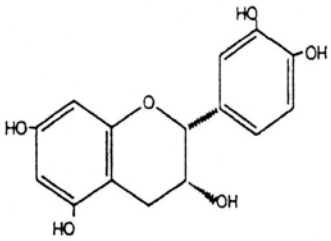


ÁCIDO HEXAHIDROXIDIFÉNICO

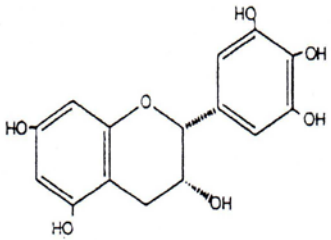


β-PENTAGALOILGLUCOSA

Derivados flavan-3,4-diol («Taninos condensados»)

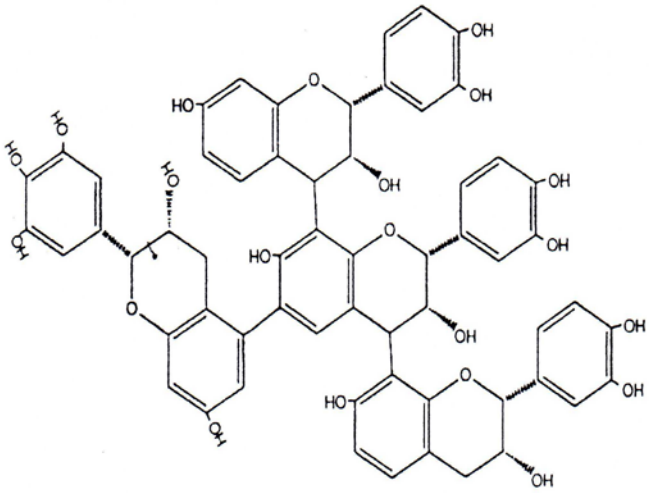


EPICATEQUINA

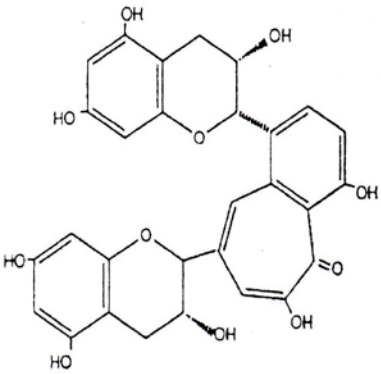


EPIGALOCATEQUINA

Un tanino condensado

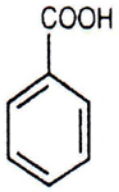


Teaflavina

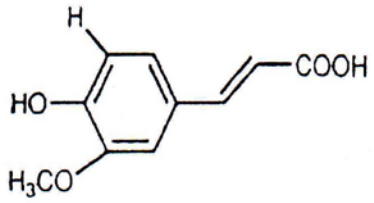


(Gregory III, 2000)

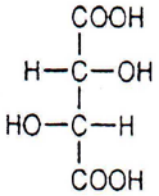
Anexo 9 Moléculas de compuestos Fenólicos



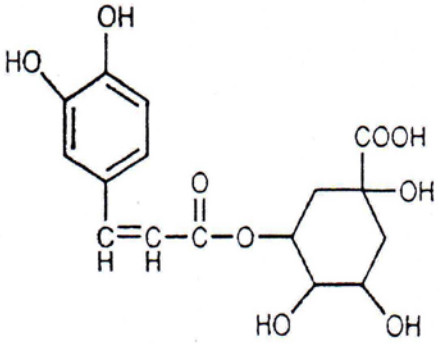
Benzoico (ej., arándanos)



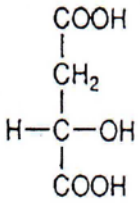
Ferúlico (ej., cereales)



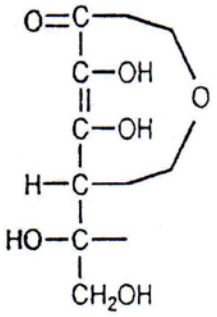
Tartárico (uvas)



Clorogénico (ej., peras)



Málico (ej., manzanas)

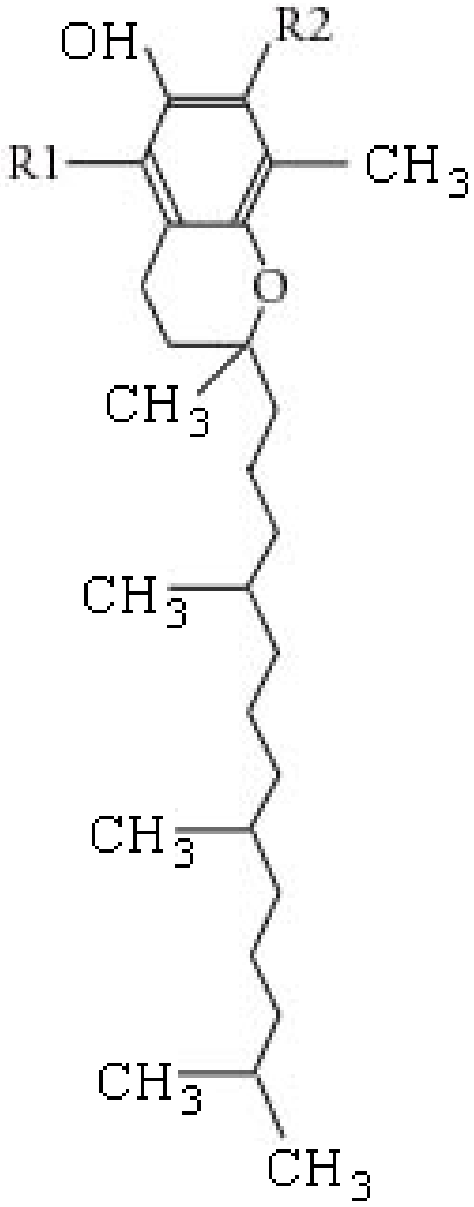


Ascórbico (ej., patata)

(Gregory III, 2000)

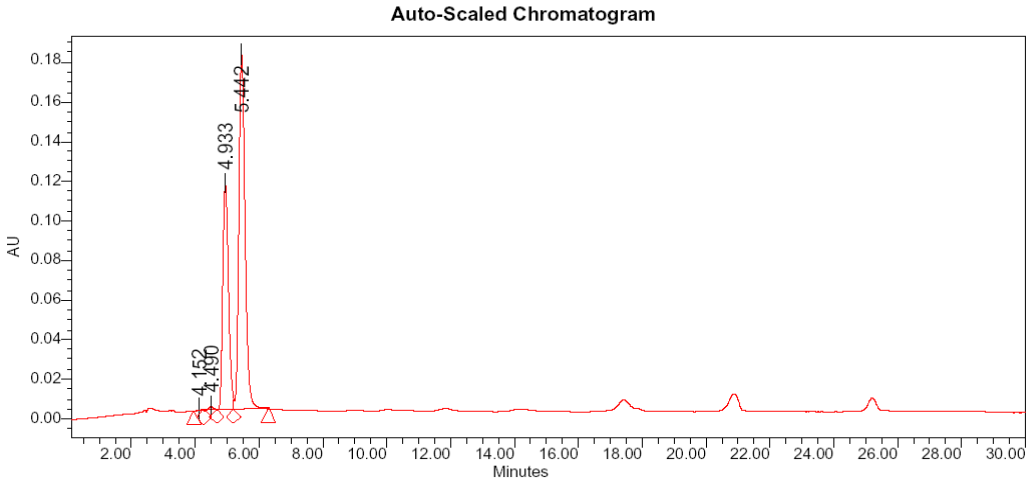
Anexo 10 **Moléculas de Tocoferol.**

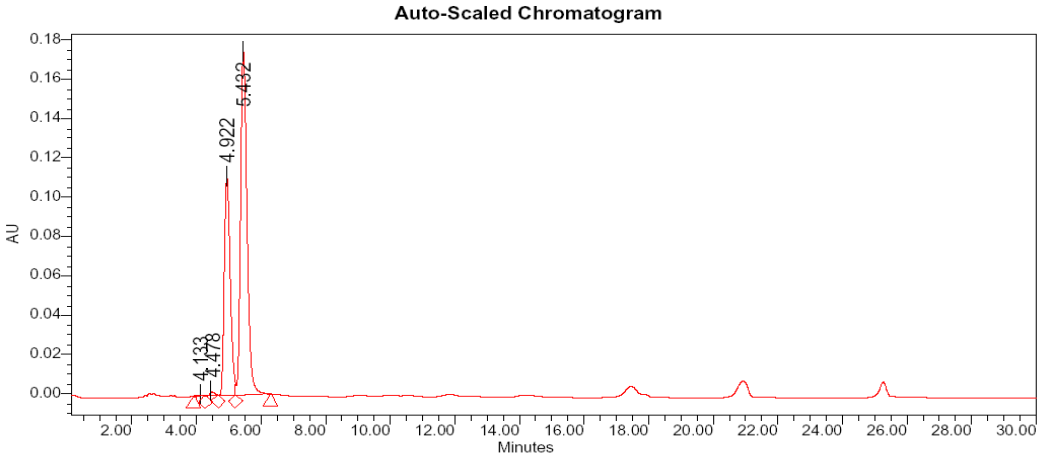
	R1	R2
ALFA (α)	-CH3	-CH3
BETA (β)	-CH3	-H
GAMMA (γ)	-H	-CH3
DELTA (δ)	-H	-H

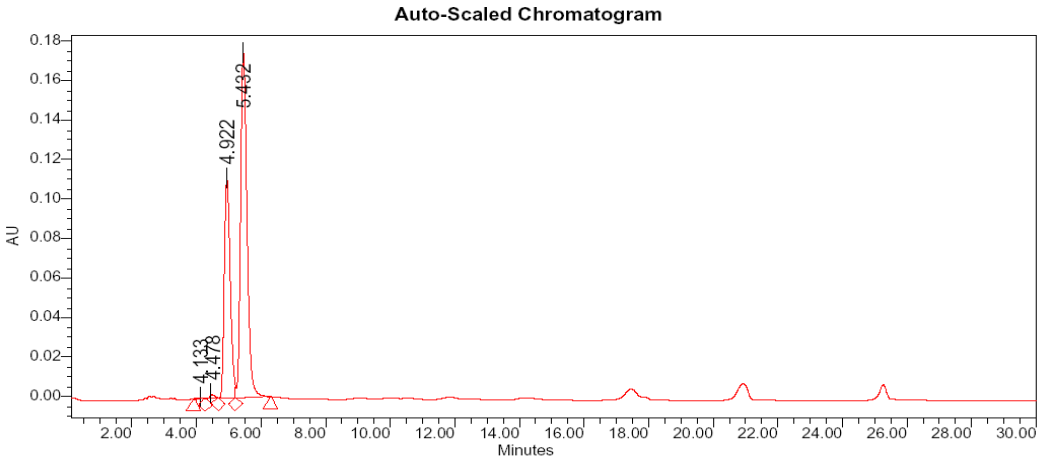


Tocopherol

Anexo 11 Cromatogramas correspondientes a la muestra de aceite de sacha inchi sin tostar (Día 0).

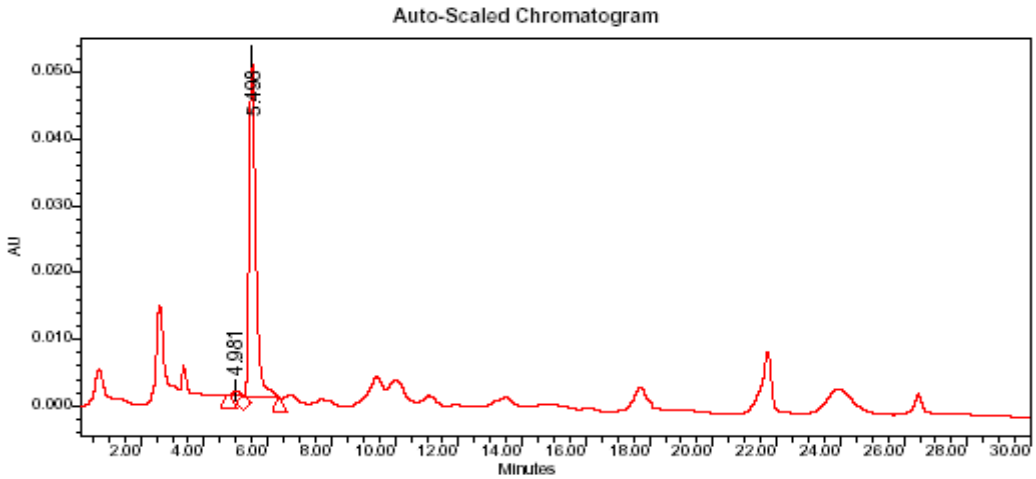


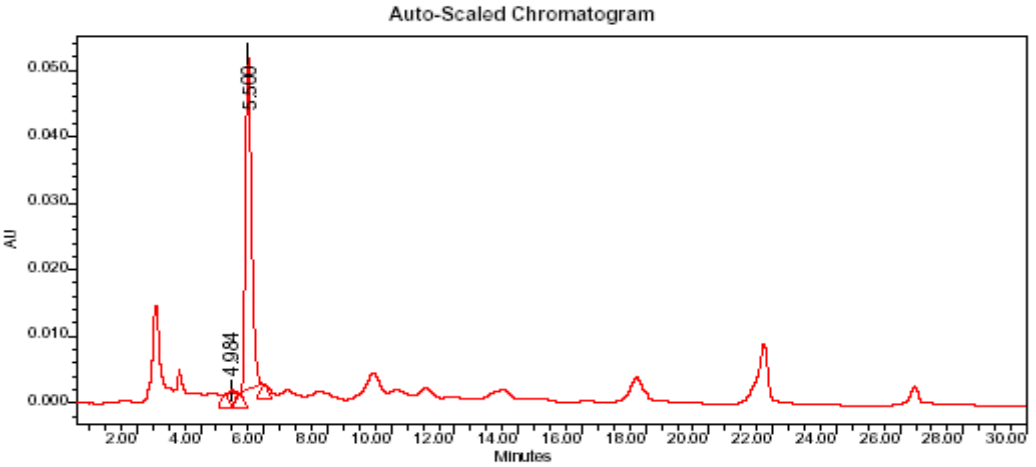


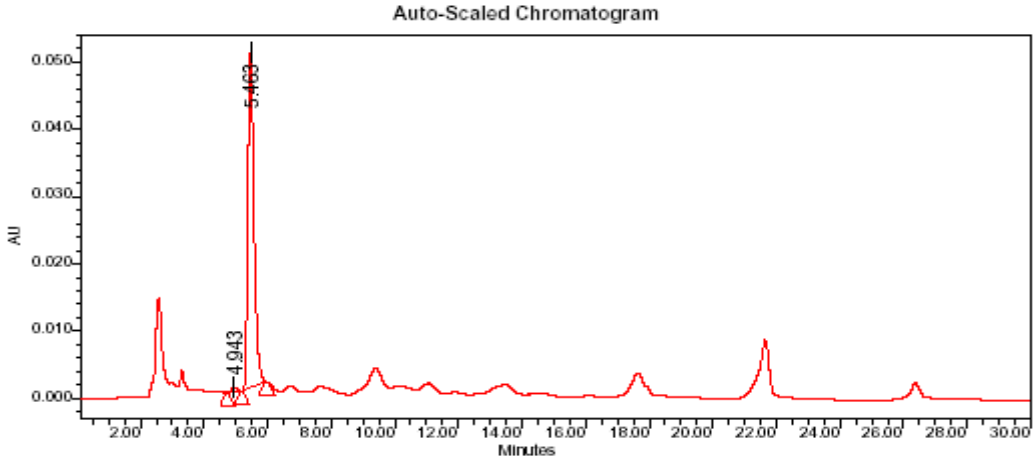


(*) El mayor pico corresponde a gamma tocoferol y el segundo pico corresponde al valor de delta tocoferol.

Anexo 12 **Cromatogramas correspondientes a la muestra de aceite de linaza (Día 0).**







(*) El mayor pico corresponde a gamma tocoferol y el segundo pico corresponde al valor de delta tocoferol.