



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA
PERUANA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



**“EVALUACIÓN QUÍMICA Y FISICOQUÍMICA DE LA ALMENDRA DE DOS
ESPECIES DE SACHA INCHI, *PLUKENETIA CAROLIS-VEGAE* Y
PLUKENETIA HUAYLLABAMBANA DE LA AMAZONÍA PERUANA”**

TESIS

Para Optar el Título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presentado por el Bachiller:

Jak Robert Bardales Arévalo

Asesores:

Ing. Rosa Isabel Souza Nájar.

Dr. Billy Joel Cabanillas Amado

IQUITOS - PERU

2016

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA
PERUANA**

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

Tesis para optar el título profesional de “INGENIERO QUÍMICO” aprobado por Unanimidad con calificación de Bueno, en Sustentación Pública por el Jurado Calificador nombrado por la Facultad de Ingeniería Química conformado por:

.....
Ing. Laura Rosa García Panduro.
Presidenta
CIP: 23792

.....
Ing. Luis Alberto López Vinatea.
Miembro
CIP: 32612

.....
Ing. Wilfredo Ruíz Mesía. Dr.
Miembro
CIP: 60877

.....
Ing. Rosa Isabel Souza Nájar.
Asesora
CIP: 61519

.....
Qco. Billy Joel Cabanillas Amado. Dr.
Co-asesor
CQP: 974

DEDICATORIA

*A mis queridos padres BERTHA LUZ y FRANCISCO,
a mi hermana ISABEL y a mi sobrina DIANE,
que son mi motivación más grande para alcanzar mis metas con
éxito,*

*por ser lo más importante que me dio la vida y el soporte
fundamental que me ha permitido llegar hasta donde ahora me
encuentro.*

*A mi abuelita ISABEL, que me inspira y enseña con su ejemplo a
ser un mejor ser humano.*

*A mis tías, VICTORIA y LITA, por sus fortalezas y perseverancia
para salir adelante.*

*Los quiero con todo mi corazón, este trabajo es para ustedes con
mucho amor.*

EPÍGRAFE:

"El aprendizaje es el inicio de la riqueza. Es el inicio de la salud. Es el inicio de la espiritualidad. Investigando y aprendiendo es donde todos los procesos milagrosos comienzan."

Jim Rohn

AGRADECIMIENTO

A ti Dios, que me diste la oportunidad de vivir y de regalarme una familia maravillosa, gracias por hacer posible el cumplimiento de este objetivo.

A mi familia, a mi hermana Isabel y en especial a mis padres, Bertha Luz y Francisco, por haber puesto todo su empeño en salir adelante, por ese día a día de constancia y mucho sacrificio por alcanzar sus objetivos para poder brindarme lo mejor de su esfuerzo. Gracias por su apoyo incondicional, por regalarme una carrera para mi futuro, por ser un ejemplo de admiración y superación, por creer en mí en todo momento.

Al Fondo para la Innovación, Ciencia y Tecnología (FINCyT) y el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), enmarcado en el Proyecto “Identificación y Caracterización de nuevas especies del género *Plukenetia*, con potencial nutracéutico en la Amazonía Peruana”, por el financiamiento para la realización de este trabajo de investigación.

Al Dr. Billy Joel Cabanillas Amado; Jefe del Laboratorio de Sustancias Naturales Bioactivas (IIAP), por el asesoramiento de este trabajo de investigación, gracias por compartir sus conocimientos, tiempo, dedicación y su amistad, para poder lograr el cumplimiento de este objetivo.

A la Ing. Rosa Isabel Souza Nájjar, por su tiempo y por el asesoramiento en el presente trabajo de investigación.

A la Ing. Claudia Merino Zegarra, por sus conocimientos, tiempo, dedicación, por su empeño en hacer las cosas de la mejor manera y sobre todo por su amistad y confianza.

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el potencial de la torta y el aceite de dos especies de sachá inchi (*Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae*) cultivada en Perú, particularmente la semilla nativa propagada en la Amazonía Peruana, se realizó el análisis proximal de la torta, así como también el análisis fisicoquímico y la caracterización del aceite.

En cuanto al porcentaje de humedad de la almendra se obtuvo para la muestra de *P. huayllabambana* 7,68% y para *P. carolis* un 6,90%. El mayor contenido de cenizas lo presentó *Plukenetia huayllabambana* con 2,80%, seguido de *Plukenetia carolis-vegae* con 2,59%. Asimismo, la grasa obtenida por extracción con solvente fue mayor para la especie *Plukenetia carolis* con 49,28%, y para *Plukenetia huayllabambana* fue de 48,82%. La torta de sachá inchi mostró en su composición proximal un contenido de proteína y fibra cruda de 8,83% y 3,58% para *Plukenetia huayllabambana*; para *Plukenetia carolis-vegae* 14,26% y 3,33% respectivamente. Se determinó el contenido de minerales por Espectrometría de absorción atómica, obteniéndose una elevada concentración de potasio y magnesio de 710,69mg/100gMF y 244,56mg/100gMF para *Plukenetia huayllabambana* y para *Plukenetia carolis-vegae* de 686,04mg/100gMF y 282,58mg/100gMF respectivamente.

El perfil de ácidos grasos se determinó mediante cromatografía gaseosa, los resultados indican un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados, compuestos en su mayoría por ácido linolénico ($\omega 3$), cuyo contenido es de 58,71% para *Plukenetia huayllabambana* y de 57,06% para *Plukenetia carolis-vegae*.

La actividad antioxidante del aceite se determinó a través de dos métodos: la captura de radicales DPPH - con 2,12 μ M TE/g para *Plukenetia huayllabambana* y 2,30 μ M TE/g para *Plukenetia carolis-vegae*, y la captura de radicales ABTS - con 2,63 μ M TE/g m.f y 3,38 μ M TE/g m.f para *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae* respectivamente.

Los aceites presentaron valores de densidad a 20°C dentro de los valores recomendados en la normativa peruana (NTP), en un rango de 0,9230-0,9281g/cm³ así como índice de yodo (*P. huayllabambana* presentó 196,90g I/100g y *P. carolis-vegae* 199,07g I/100g), índice de saponificación de 185,09mgKOH/100g y 0,17% de materia insaponificable para *P. huayllabambana* y para *P. carolis-vegae* se obtuvo un índice de saponificación de 191,13mgKOH/100g y 0,32% de fracción insaponificable. Parámetros de calidad como ácidos grasos libres, los clasificaría como aceites de gran calidad. Los índices de peróxidos presentaron en ambas muestras, valores inferiores a los 10meq O₂/Kg aceite.

SUMMARY

In order to evaluate the potential of cake and oil of two species of sacha inchi (*Plukenetia huayllabambana* and *Plukenetia carolis-vegae*) grown in Peru, particularly the native seed propagated in the Peruvian Amazon, the proximate analysis of the cake was made, and as physicochemical analysis and characterization of the oil.

As for the humidity almond was obtained for the sample of *P. huayllabambana* 7.68% and 6.90% for *P. carolis*. The higher ash content was showed by *P. huayllabambana* with 2.80%, followed by *Plukenetia carolis-vegae* with 2.59%. Also the fat fraction obtained by solvent extraction was greater for *Plukenetia carolis-vegae* with 49.28% and 48.82% for *P. huayllabambana*. Sacha Inchi cake was at its proximal composition containing protein and crude fiber of 8.83% and 3.58% for *P. huayllabambana*; to *P. carolis-vegae* 14.26% and 3.33% respectively. The mineral content by atomic absorption spectrometry was determined to obtain a high concentration of potassium and magnesium of 710,69mg/100gMF and 244,56mg/gMF for *P. huayllabambana* and for *P. carolis-vegae* of 686,04mg/100gMF and 282,58mg/100gMF respectively.

The fatty acid profile was determined by gas chromatography, the results indicate a high percentage of unsaturated fatty acids, consisting mainly of linolenic acid ($\omega 3$) whose content is 58.71% for *P. huayllabambana* and 57.06% for *P. carolis-vegae*.

The antioxidant activity of the oil was determined by two methods: the capture of DPPH radical - with 2,12 μ M TE / g for *P. huayllabambana* and 2,30 μ M TE / g for *P. carolis-vegae*, and capture of ABTS radical - with 2,63 μ M TE / g mf and 3,38 μ M TE / g mf for *P. huayllabambana* and *P. carolis* respectively. Oils presented density values at 20°C similar to those reported in the Peruvian regulations (NTP), in a range of 0,9230-0,9281g/cm³ and iodine (*P. huayllabambana* presented 196,90g I/100g and *P. carolis-vegae* 199,07g I/100g), saponification value of 185,09mgKOH/100g and 0,17% of unsaponifiable matter for *P. huayllabambana* and for *P. carolis-vegae* was obtained a saponification value of 191,13mgKOH/100g and 0,32% of unsaponifiable matter. Quality parameters

such as free fatty acids, oils classified as high quality. The peroxide values presented in both samples below 10meq O₂ / kg oil values.

ÍNDICE

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
--------------------	---

CAPÍTULO I

1. Identificación del fenómeno de estudio	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Justificación.....	3

CAPÍTULO II

2. Marco teórico	4
2.1. Especies en estudio	4
2.1.1. Aspectos botánicos	4
2.1.2. Descripción botánica	5
2.1.3. Ecología	6
2.1.4. Nombres comunes	6
2.1.5. Usos comunes.....	7
2.1.6. Distribución del género <i>Plukenetia</i>	8
a. Distribución mundial	8
b. Distribución en América	8
c. Distribución en el Perú	9
2.2. Química de los alimentos	9
2.2.1. Agua.....	9
Distribución del agua en los alimentos	10
2.2.2. Carbohidratos.....	10
2.2.3. Proteínas.....	12
Estructura química	12
Aminoácidos.....	13
2.2.4. Lípidos.....	13
Ácidos grasos.....	14
Ácidos grasos saturados	15

Ácidos grasos insaturados	15
Importancia de los ácidos grasos esenciales	16
Caracterización fisicoquímica de aceites	18
a. Índice de peróxidos	18
b. Índice de yodo	18
c. Densidad	19
d. Índice de saponificación	19
e. Fósforo	19
f. Índice de acidez	20
g. Materia insaponificable.....	20
2.2.5. Minerales.....	20
Minerales esenciales.....	20
Fosfatos	21
Hierro	21
Cobre	22
Magnesio.....	22
Zinc	22
Sodio	22
Potasio	23
Calcio	23
2.2.6. Fibra	23
2.2.7. Antioxidantes.....	23
Antioxidantes liposolubles	24
Vitamina E	24
Pro-vitamina A.....	25
2.3. Cromatografía de gases.....	25
2.3.1. Tipos de cromatografía de gases.....	25
2.3.2. Mecanismo de la cromatografía de gases.....	26
2.4. Espectroscopía de absorción atómica	27
2.4.1. Mecanismo de la espectroscopía de absorción atómica	27
2.5. Espectrofotometría de UV-VIS	28

CAPÍTULO III

3. Materiales y métodos	29
3.1. Material botánico.....	29
3.2. Materiales de laboratorio y otros	29
3.2.1. Materiales.....	29
3.2.2. Reactivos	30
3.2.3. Instrumentos	30
3.2.4. Equipos	30
3.3. Técnicas instrumentales.....	31
3.3.1. Cromatografía de gases.....	31
3.3.2. Espectrometría de absorción atómica.....	31
3.3.3. Espectrofotometría UV-VIS	31
3.4. Procedimiento experimental.....	32
3.4.1. Preparación de las muestras.....	32
3.4.2. Análisis proximal	34
3.4.2.1 Determinación de humedad	34
3.4.2.2 Determinación de cenizas	34
3.4.2.3 Determinación de aceite.....	34
3.4.2.4 Determinación de proteínas	35
3.4.2.5 Determinación de fibra cruda	36
3.4.3. Determinación del contenido de minerales por espectroscopía de absorción atómica	37
3.4.4. Análisis fisicoquímicos	39
3.4.4.1. Determinación del índice de peróxido	39
3.4.4.2. Determinación del índice de yodo	39
3.4.4.3. Determinación del índice de ácidos grasos libres	40
3.4.4.4. Determinación del índice de saponificación	40
3.4.4.5. Determinación de materia insaponificable.....	41
3.4.4.6. Determinación del contenido de fósforo	42
3.4.4.7. Determinación de la densidad.....	44
3.4.5. Determinación de la actividad antioxidante	44

3.4.5.1. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH.....	44
3.4.5.2. Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS	48
3.4.5.3. Determinación de fenoles totales	50
3.4.6. Determinación del perfil de ácidos grasos por GC	53

CAPÍTULO IV

4. Discusiones y resultados.....	55
4.1. Análisis proximal	55
4.2. Contenido de minerales	57
4.3. Caracterización fisicoquímica del aceite	58
4.4. Actividad antioxidante y fenoles totales.....	61
4.5. Perfil de ácidos grasos	62
Conclusiones.....	64
Recomendaciones	66
Referencias bibliográficas	67
Anexos	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del género <i>Plukenetia</i> en América.....	8
Figura 2. Distribución del género <i>Plukenetia</i> en el Perú	9
Figura 3. Estructura química de las proteínas.....	13
Figura 4. Estructura química de los aminoácidos.....	13
Figura 5. Tipos de ácidos grasos	15

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva estándar de ácido gálico	53
---	----

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Esquema general para la realización del estudio.....	33
---	----

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de los patrones empleados en la curva de quercetina	46
Cuadro 2. Composición de los patrones empleados en la curva de Trolox (DPPH)	47
Cuadro 3. Lectura de la muestra (DPPH)	48
Cuadro 4. Composición de los patrones empleados en la curva de trolox (ABTS).....	49
Cuadro 5. Composición de los patrones empleados en la curva de ácido gálico	52
Cuadro 6. Condiciones del método de perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.....	54
Cuadro 7. Rendimiento de la semilla de dos especies de sacha inchi.....	55
Cuadro 8. Análisis proximal de dos especies del género <i>Plukenetia</i>	55
Cuadro 9. Contenido de minerales de dos especies del género <i>Plukenetia</i> ..	57
Cuadro 10. Análisis fisicoquímicos de dos especies del género <i>Plukenetia</i> ..	58
Cuadro 11. Actividad antioxidante y fenoles totales de dos especies del género <i>Plukenetia</i>	61
Cuadro 12. Perfil de ácidos grasos de dos especies del género <i>Plukenetia</i> ..	62

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Cálculo del porcentaje de humedad.....	74
Anexo 2. Cálculo del porcentaje de cenizas	74
Anexo 3. Cálculo del rendimiento de aceite	75
Anexo 4. Cálculo del porcentaje de proteínas.....	76
Anexo 5. Cálculo del porcentaje de fibra cruda.....	76
Anexo 6. Cálculo del índice yodo	77
Anexo 7. Cálculo del índice de peróxido	78
Anexo 8. Cálculo del índice de saponificación	78
Anexo 9. Cálculo del porcentaje de ácidos grasos libres	79
Anexo 10. Cálculo del porcentaje de materia insaponificable	80
Anexo 11. Cálculo de la densidad	81

Anexo 12. Cálculo de la actividad antioxidante por el método DPPH	81
Anexo 13. Cálculo de la actividad antioxidante por el método ABTS.....	83
Anexo 14. Cálculo de los fenoles totales	85
Anexo 15. Especies estudiadas	86
Anexo 16. Determinación del porcentaje de cenizas	87
Anexo 17. Determinación del porcentaje de humedad.....	87
Anexo 18. Determinación del rendimiento de aceite	88
Anexo 19. Determinación de proteínas	89
Anexo 20. Determinación de minerales	90
Anexo 21. Determinación del índice de saponificación	91
Anexo 22. Determinación del índice de yodo	91
Anexo 23. Determinación del índice de peróxidos	92
Anexo 24. Determinación de la actividad antioxidante (DPPH)	93
Anexo 25 Determinación de la actividad antioxidante (ABTS)	93
Anexo 26. Cromatogramas de ácidos grasos	94
Anexo 27. Constancia del Herbarium Amazonense.....	96

INTRODUCCIÓN

Plukenetia, es un género que pertenece a la familia de las euforbiáceas, comprende plantas anuales, de importancia ornamental, medicinal, alimentaria e industrial, caracterizándose por la presencia de una sustancia lechosa, tipo látex y frutos tricapsulares. Abarca alrededor de 1,280 géneros con 8,000 especies aproximadamente, y se observa que está distribuido en todo el orbe (Bailey, 1949). La especie más conocida por sus propiedades nutraceuticas es *Plukenetia volubilis* L. (Sachá Inchi), la cual crece desde los 100 m.s.n.m. hasta 1500 m.s.n.m., es una planta nativa de la Amazonía peruana, cuyas semillas presentan altos contenidos de proteínas, ácidos grasos esenciales (omegas 3 y 6) y vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles) (Hamaker *et al.*, 1992). El aceite es rico en ácidos grasos insaturados (93%), de gran importancia para la nutrición por su alto contenido de ácidos grasos esenciales (84%). Con 48% de Omega 3, contribuye al equilibrio del colesterol, principal causa de mortalidad en el mundo. Asimismo, facilita la microcirculación de la sangre y la irrigación cerebral, previene los accidentes cardiovasculares y el infarto (Agroindustrias amazónicas, 2001), a los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 se les atribuye diversos efectos, tales como disminuir el riesgo de arritmias, efectos antitrombóticos, mejoría de la función endotelial, antiinflamatorio, disminución de la presión arterial, disminución de la concentración de triglicéridos y antiateroesclerótico (Tapsell L, *et al.*, 2004; Dall T, 2009); pero su valor radica no sólo en los aspectos alimenticios, sino también en el aspecto cultural e histórico, ya que el sachá inchi es considerado “Patrimonio Cultural de la Amazonia del Perú” (NTP 151.400). En ese contexto, se realiza el estudio de nuevas especies de *Plukenetia*, con los cuales, no sólo se determine su propiedades fisicoquímicas, sino también el perfil de ácidos grasos, contenido de minerales, análisis proximal y capacidad antioxidante con la finalidad de comparar sus propiedades nutraceuticas, para satisfacer las expectativas de protección de la salud de los consumidores.

CAPÍTULO I

1. IDENTIFICACIÓN DEL FENÓMENO DE ESTUDIO

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L., *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae*), es una oleaginosa silvestre, actualmente su cultivo ha tomado importancia económica e industrial en el mercado internacional debido a la demanda de ácidos grasos esenciales y vitamina E que la semilla de sachá inchi concentra en cantidades elevadas con respecto a otras oleaginosas, y que, respaldan la importancia nutricional y terapéutica de su consumo. En Perú, el cultivo de sachá inchi se realiza en los departamentos de Madre de Dios, Cusco, San Martín y Loreto, en este último se destacan grandes áreas de cultivo localizadas en las cuencas de los ríos Itaya, Nanay, Momón y Amazonas, que son de interés comercial para la obtención y comercialización del aceite de sachá inchi, . El aceite de muchas de estas especies producidas en Perú, no cuentan con referentes bibliográficos acerca de las propiedades fisicoquímicas que sustenten su uso; así como tampoco se cuenta con información proximal de la semilla, que promueva su aprovechamiento integral.

Considerando lo anterior, es indispensable establecer un antecedente teórico en Perú sobre el enorme potencial de la semilla de sachá inchi (*Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae*), mediante el estudio de nuevas especies del género *Plukenetia* que puedan brindar aceites y/o productos de calidad similar o superior a la de *Plukenetia volubilis*; que permita generar nuevas alternativas de consumo en nuestro país e impulsar la producción de sustancias de interés comercial.

1.2. JUSTIFICACIÓN

El Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L), es una oleaginosa que pertenece a la Familia Euforbiacea. Se encuentra distribuida en estado silvestre en diversos lugares desde América Central hasta la Amazonia. Diversos estudios llevados a cabo en el Perú, han demostrado un gran potencial en este cultivo como fuente de ácidos grasos insaturados (Dostert N., 2009; Follegatti-Romero LA, 2009; Gutiérrez L. F., 2011; Gómez J., 2005).

Los ácidos grasos insaturados son ácidos carboxílicos de cadena larga, con uno o varios dobles enlaces entre los átomos de carbono y son esenciales para el correcto funcionamiento de nuestro cuerpo, conocidos por presentar características terapéuticas para prevenir alteraciones cardiovasculares, artritis y coagulación sanguínea entre otras (Coronado M., 2006; Mensik RP, 1992; Bouziane M, 1994).

Muchos ácidos grasos, particularmente los ácidos grasos poliinsaturados, son difíciles de sintetizar y se pueden obtener solamente por la extracción de las grasas naturales o los aceites; la fuente principal de los ácidos grasos insaturados son las grasas, algas marinas, leche humana y los aceites vegetales como el aceite de linaza; aceites de animales marinos: caballa, salmón, atún y sardina. Siendo una necesidad obtenerlos en forma pura y en mayor cantidad (Mark R, 1999; Mensik RP, 1992; Sanhueza J, 2002).

Esta tesis es un ejemplo, que pretende orientar el uso en la alimentación de dos nuevas especies de nuestra biodiversidad, y encontrar alternativas para mejorar la productividad de las materias primas que hoy usamos en nuestra alimentación, con productos naturales y de mayor valor nutritivo, que en este caso puede ser un sustituto o sucedáneo de las materias primas que utilizamos en la producción de aceites comestibles dado que recién se inicia la domesticación de estas especies. Ante esta situación, se extiende la necesidad del llamado “mercado para la salud”, que implica caminos para prevenir las denominadas “enfermedades de la dieta occidental”.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. ESPECIES EN ESTUDIO

Las especies en estudio son *Plukenetia carolis-vegae* y *Plukenetia huayllabambana*, comúnmente conocida como sachá inchi (NTP 151.400).

2.1.1. ASPECTOS BOTÁNICOS

Descripción de la especie:

Nombre Común	: Sachá inchi
Nombre Científico	: <i>Plukenetia huayllabambana</i>
Reino	: Plantae
Sub-reino	: Fanerogama
Clase	: Dicotyledonea
Sub-clase	: Rosidae
Orden	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Sub-familia	: Alcalyphoidaea
Tribu	: Plukenetieae
Sub-tribu	: Plukenetiinae
Género	: <i>Plukenetia</i>
Especie	: <i>huayllabambana</i> (Bussmann <i>et al.</i> , 2009).

Descripción de la especie:

Nombre Común	: Sachá inchi
Nombre Científico	: <i>Plukenetia carolis-vegae</i>
Reino	: Plantae
Sub-reino	: Fanerogama
Clase	: Dicotyledonea
Sub-clase	: Rosidae
Orden	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Sub-familia	: Alcalyphoidaea
Tribu	: Plukenetieae
Sub-tribu	: Plukenetiinae
Género	: <i>Plukenetia</i>
Especie	: <i>carolis-vegae</i> (Bussmann <i>et al.</i> , 2013).

2.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El género *Plukenetia* pertenece a la familia Euphorbiaceae, la cual comprende plantas anuales, de importancia ornamental, medicinal, alimenticia e industrial, que se caracterizan principalmente por la presencia de una sustancia lechosa, tipo látex y frutos capsulares. El género está compuesto por 19 especies y se caracteriza por ovarios con cuatro carpelos, estilo total o parcialmente connado y hábito frecuentemente trepador. Para la identificación en terreno, el mejor carácter es la presencia de glándulas conspicuas, basilaminares, redondeadas o elípticas en la cara adaxial de las hojas, y el fruto tetrámero (Macbride, J.F., 1951).

Las cápsulas son tetra- o pentámeras, glabras, 2,5-7 cm de diámetro. Las semillas son lenticulares, comprimidas lateralmente y de color marrón con manchas irregulares más oscuras, 1,5-2 x 0,7-0,8 cm (Herrera W.,2010).

Plukenetia huayllabambana muestra características similares a *P. stipellata* y *P. volubilis* L. Sin embargo difiere de esta última por tener un mayor

número de sépalos (5) en las flores masculinas y de *P. stipellata* por tener un ápice del pecíolo convexa sin mando glandular, estilos más largos (8-12 mm), y filamentos más amplios. Difiere de ambas especies relacionadas, porque tiene filamentos mucho más cortos (0,1-0,3 mm), frutas muy grandes (3-4 x 4-6 cm), y semillas con crestas pronunciadas (Bussmann *et al.*, 2009).

Plukenetia carolis-vegae muestra características similares a *Plukenetia huayllabambana*, pero difiere por tener un número menor de sépalos (4 en vez de 5) en las flores estaminadas, un perilla glandular, estilos mucho más cortos (4-7 mm en lugar de 10-12mm), filamentos mucho más amplios, más grandes (12.7 x 9.17 cm vs. 10.4 x 14.7 cm) y cordadas (en vez de elípticas a ovadas elíptica) hojas y frutos más grandes (4-8 - 5-10 cm en lugar de 3-4 - 4-6 cm) (Bussmann, *et al.*, 2013).

2.1.3. ECOLOGÍA

Plukenetia es una planta nativa del trópico peruano, natural de bosques tropicales húmedos y muy húmedos, existe en estado silvestre en la selva alta y baja de la Amazonía peruana, se encuentra también en los bordes de bosques secundarios, en cañaverales, sobre cercos vivos, zonas de transición entre los Andes y la Amazonía, y también se encuentra como malezas en platanales y cultivos perennes. Tolerancia a diversas temperaturas que caracterizan a la Amazonía peruana; sin embargo, las temperaturas muy altas son desfavorables y ocasionan la caída de las flores y frutos pequeños, principalmente los recién formados (Brack, 1999; Anaya, 2001; Manco, 2003; Bussmann *et al* 2009).

2.1.4. NOMBRES COMUNES

Según la ubicación geográfica, idioma o dialecto donde se cultiva y consume al sachá inchi se le conoce o nombra de diferentes maneras, teniendo el nombre también diferentes significados: Sachá Inchic, Sachá

Inchik, Amui-o, Manichu monte, Sacha yuchi, Sacha yuchiqui, Sampannankii, Suwaa, Maní del monte y/o Maní silvestre, Maní del Inca (NTP 151.400).

2.1.5. USOS COMUNES

El sachá inchi viene siendo utilizado desde hace años por las antiguas poblaciones peruanas, esto puede ser corroborado por los restos cerámicos pre-incas encontrados en las costas del Perú (Brack, 1999; Guillen *et al.*, 2003). Los nativos amazónicos también utilizaban el sachá inchi para obtener harina y aceite a partir de sus semillas; estos productos los usaban en la preparación de diferentes comidas y bebidas (Guillén *et al.*, 2003). En las áreas rurales de San Martín, los pobladores utilizan desde mucho tiempo atrás la almendra de sachá inchi ya sea cocida o tostada en la preparación de diversos platos como inchicapi, ají de sachá inchi, cutacho, mantequilla de sachá inchi, inchi cucho, tamal de sachá inchi, turrón de sachá (Soukup, 1987; Brack, 1999).

El aceite de sachá inchi se caracteriza por tener en su composición química el más alto contenido de grasas insaturadas (91.6%) y el más bajo contenido de grasas saturadas (7.7%) con clara ventaja sobre la soya, maní y otras semillas oleaginosas por lo que está siendo cultivada y es considerada un cultivo promisorio debido a sus propiedades como antioxidante natural, además de reforzar el sistema inmunológico contribuye a regular la presión arterial, puede retardar la llegada de glucosa a la sangre cuando se consume con fuentes de carbohidratos y tener efectos protectores frente al desarrollo de algunos tipos de cáncer, asimismo, ayuda a reducir los niveles de colesterol (Hazen & Stowesand, 1980).

Durante la última década, el comercio de productos de sachá inchi, principalmente del aceite para la industria cosmética y consumo humano, así como las semillas tostadas como aperitivos, ha incrementado exponencialmente sus ganancias y son ahora negocios multimillonarios (Bussmann *et al* 2013).

2.1.6. DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO *PLUKENETIA*

a. Distribución mundial

Las Euforbiáceas constituyen una familia cosmopolita con un mayor número de especies en la zona tropical. Esta familia se da principalmente en los trópicos, con la mayoría de las especies distribuidas por las regiones indomalaya y la América tropical. Existe una amplia variedad en África tropical, aunque no tan abundante ni variada como en las otras dos regiones (Heywood, 1985).

b. Distribución en América

El género *Plukenetia* presenta una amplia distribución geográfica, cultivos perennes. Tolera las diversas temperaturas que caracterizan a la Amazonía peruana; sin embargo, las temperaturas muy altas son desfavorables y ocasionan la caída de las flores y frutos pequeños, habiendo sido reportada en Brasil, Bolivia, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guyana Francesa, México, Panamá, Perú, Surinam y Venezuela (Correa y Bernal, 1992; Gillespie, 1993).

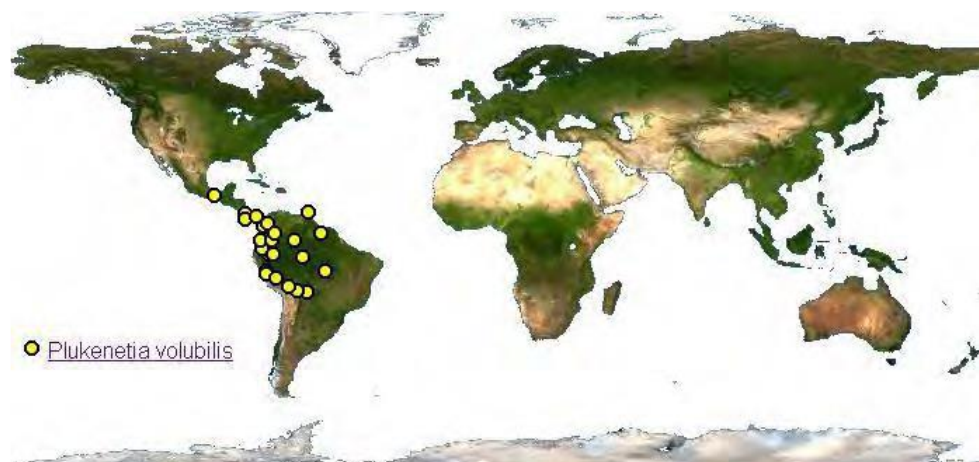


FIGURA N° 1. Ubicación del género *Plukenetia* en América

c. Distribución en el Perú

El género *Plukenetia* se ha encontrado en Madre de Dios, Huánuco, Oxapampa, San Martín, Rodríguez de Mendoza, Cuenca del Ucayali (Pucallpa, Contamana y Requena), en Putumayo y alrededores de Iquitos y Caballococha. Hasta el año 2008 fueron descritas para la Amazonía peruana, cuatro especies en base a caracteres morfológicos: *P. volubilis* L., *P. brachybotrya* Müll, *P. lorentensis* Ule, y *P. polyadenia* Müll. Recientemente fueron descritas, para la región Amazonas, *Plukenetia huayllabambana* Bussmann y *Plukenetia carolis-vegae* Bussmann (Téllez *et al.*, 2013).



FIGURA N° 2. Distribución del género *Plukenetia* en el Perú

2.2. QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS

2.2.1. AGUA

El agua, es el principal componente de muchos alimentos, teniendo cada alimento su propio y característico contenido de este componente. En cuanto a la cantidad, localización y orientación apropiadas influye profundamente en la estructura, aspecto y sabor de los alimentos y en su susceptibilidad a la alteración. Debido, a que la mayoría de los alimentos

frescos contienen grandes cantidades de agua, se necesitan modos de conservación eficaces para un almacenamiento a largo plazo. La eliminación del agua, tanto por deshidratación convencional como por separación local en forma de cristales de hielo puro (congelación), altera considerablemente las propiedades nativas de los alimentos y materiales biológicos. Además, todos los intentos (rehidratación, descongelación) para retornar el agua a su estado original nunca han tenido más que un éxito parcial (Fennema & Tannenbaum, 1993).

La distribución del agua en los alimentos

Cuanto mayor es el contenido de agua de un alimento, mayor es su vulnerabilidad (Rembado & Sceni, 2009). Por lo general, estos alimentos son conocidos como de “alto riesgo”, por tal motivo, deben ser manipulados respetando una cadena de frío, desde su obtención hasta su consumo no pueden estar fuera de los límites de temperaturas seguras (4°C en caso de refrigerado y -18°C en caso de congelados). El elevado contenido de agua de los alimentos de alto riesgo (leches, carnes, verduras, etc.) permite que en ella puedan disolverse los compuestos necesarios para el desarrollo de todo tipo de microorganismos, contribuyendo a la producción de toxinas, pudiendo causar enfermedades alimentarias como el botulismo (Rembado & Sceni, 2009).

2.2.2. CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos constituyen más del 90% de la materia seca de los vegetales. Son por tanto, abundantes, de fácil disponibilidad y baratos. Son un componente común en los alimentos, bien como componentes naturales o bien como ingredientes añadidos. Su uso está muy extendido, tanto por las cantidades que se consumen como por la variedad de productos en los que se encuentran. Poseen muchas estructuras moleculares diferentes, tamaños y formas, y exhiben una gran variedad de propiedades físicas y químicas. Por otra parte, son susceptibles de modificación química y bioquímica, y ambos

tipos de modificaciones se utilizan comercialmente para mejorar sus propiedades y para ampliar su uso. Por último, son inocuos (no tóxicos) (Fennema & Tannenbaum, 1993).

El almidón, la lactosa y la sacarosa son digestibles por los humanos, y todos ellos, junto con la n-glucosa y la D-fructosa, son fuentes de energía para ellos, proveyendo el 70-80% de las calorías de la dieta como promedio en el mundo (Fennema & Tannenbaum, 1993). Según su estructura, se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

Los Monosacáridos, son los hidratos de carbono más simples. Se clasifican según la cantidad de átomos de carbono, en triosas (3 átomos de carbono), tetrosa (4 átomos de carbono), pentosa (5 átomos de carbono) y hexosa (6 átomos de carbono). A su vez, se pueden clasificar según el grupo funcional que poseen en aldosas (si tienen un grupo aldehído) y cetosas (si tienen un grupo cetona). De todos estos carbohidratos las hexosas son las más abundantes en los alimentos y en particular están la glucosa y la fructosa, éste último es más dulce y absorbe agua con más facilidad. Mientras que los Oligosacáridos contienen de 2 a 20 unidades de azúcar unidas por enlaces glicosídicos; cuando una molécula de este tipo tiene más de 20 unidades se considera ya un polisacárido, los monos y disacáridos, también conocidos como azúcares, son un componente fundamental de los alimentos; entre sus propiedades más importantes se pueden destacar su sabor dulce, su gran afinidad por absorber y retener agua y su solubilidad. Tienen también la capacidad de cristalizar o formar estructuras amorfas que influyen en la textura de los alimentos. Además intervienen en reacciones que generan colores y sabores durante la cocción (Rembado & Sceni, 2009). Los Polisacáridos, son polímeros de monosacáridos. Del mismo modo que los oligosacáridos, están compuestos de unidades glicosílicas en disposición lineal o ramificada, y la inmensa mayoría son mucho más largos que el límite de 20 unidades de los oligosacáridos; su principal aplicación en alimentos es como agentes espesantes o gelificantes (Fennema & Tannenbaum, 1993).

2.2.3. PROTEÍNAS

Son moléculas de gran tamaño, constituidas por carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno, algunas poseen, además, azufre y fósforo y, en menor proporción, hierro, cobre y magnesio. Estas sustancias desempeñan funciones fundamentales, como la regulación de procesos bioquímicos (forman parte de hormonas, vitaminas y enzimas), defensa (formación de anticuerpos), transporte (por ejemplo, transporte de oxígeno en la sangre por medio de la hemoglobina), aporte energético (4 kcal/g de proteína), catálisis (aceleran la velocidad de las reacciones químicas), contracción muscular (a través de la miosina y la actina), estructura y sostén del organismo (tejido conjuntivo) (Rembado & Sceni, 2009).

Estructura química

Están formadas por cientos o miles de aminoácidos, que son moléculas más simples y se caracterizan por tener un grupo carboxilo (-COOH) y un grupo amino (NH₂) unidos al mismo carbono. Los aminoácidos se unen entre sí a través de enlaces peptídicos que son enlaces covalentes entre el grupo –COOH de un aminoácido y el grupo –NH₂ de otro (Rembado & Sceni, 2009).

Una de las principales propiedades de las proteínas es la capacidad para formar distintas estructuras en los alimentos, como espumas (merengue), emulsiones (mayonesa, manteca), geles (gelatina, clara de huevo duro) y masas (panes), aunque son estructuras con características diferentes todas tienen en común que se forman a partir de la proteína desnaturalizada, es decir, la proteína tiene que perder su estructura nativa y reacomodarse para formar las nuevas estructuras (Rembado & Sceni, 2009).

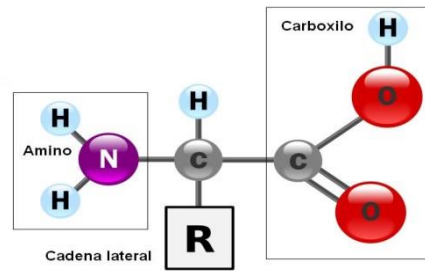


FIGURA N° 3. Estructura química de las proteínas

Aminoácidos

Existen alrededor de 20 aminoácidos en una proteína, con algunas excepciones. Su estructura general es la siguiente:

Existen alrededor de 200 aminoácidos que se encuentran en la naturaleza, algunos de los más comunes se producen en las plantas de forma libre (Belitz, 2009). Según sus funciones nutricionales/fisiológicas, pueden clasificarse en:

Aminoácidos esenciales: Valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano, metionina, treonina, histidina (esencial para niños), lisina y arginina (semi esencial), y en Aminoácidos no esenciales: Glicina, alanina, prolina, serina, cisteína, tirosina, asparagina, ácido aspártico y ácido glutámico (Belitz, 2009).

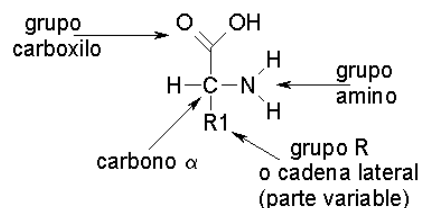


FIGURA N° 4. Estructura química de los aminoácidos

2.2.4. LÍPIDOS

Constituyen un grupo diverso de compuestos, generalmente solubles en disolventes orgánicos pero con escasa solubilidad en agua. Son los

componentes principales del tejido adiposo y, junto con las proteínas y carbohidratos, constituyen los principales componentes estructurales de las células vivas. La distinción entre grasa y aceite está basada exclusivamente en el estado sólido o líquido de los lípidos a temperatura ambiente, se consumen en forma de grasas, que han sido separadas de sus fuentes animales o vegetales, como la mantequilla, la manteca y las grasas plastificantes, o como componentes de alimentos básicos, como la leche, el queso y la carne. La fuente más importante de aceites vegetales son las semillas de soja, algodón, cacahuete, árboles como la palma, así como la oliva y el coco (Fennema & Tannenbaum, 1993).

Los lípidos juegan un importante papel en la nutrición, suministran calorías y ácidos grasos esenciales, vehiculan vitaminas y mejoran la sensación bucal de los alimentos, pero durante décadas han venido siendo objeto de controversia con respecto a su toxicidad, su contribución a la obesidad y al riesgo a sufrir ciertas enfermedades (Fennema & Tannenbaum, 1993).

Ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos de cadena larga, por lo general contienen un número par de átomos de carbono, normalmente entre 12 y 24. Ello se debe a que su síntesis biológica tiene lugar mediante la aposición sucesiva de unidades de dos átomos de carbono (Belitz, 1997).

Los ácidos grasos se pueden clasificar de acuerdo con la longitud de la cadena, el número, posición y configuración de dobles enlaces, así como por la existencia adicional de otros grupos funcionales. Otra característica para su división es la distribución de los ácidos grasos en los alimentos (Belitz, 1997).

Los ácidos grasos presentes en los aceites y grasas comestibles se clasifican por su grado de saturación en: ácidos grasos saturados y ácidos grasos insaturados (Ziller, 1996).

Con respecto a la longitud de la cadena de carbonos (Valenzuela *et al.* 1999), señalan que los ácidos grasos asimismo se clasifican en: ácidos grasos de cadena corta (menos de 8 carbonos), ácidos grasos de cadena media (de 8 a 11 carbonos), ácidos grasos de cadena intermedia (de 12 a 15 carbonos) y ácidos grasos de cadena larga (igual o mayor de 16 carbonos).

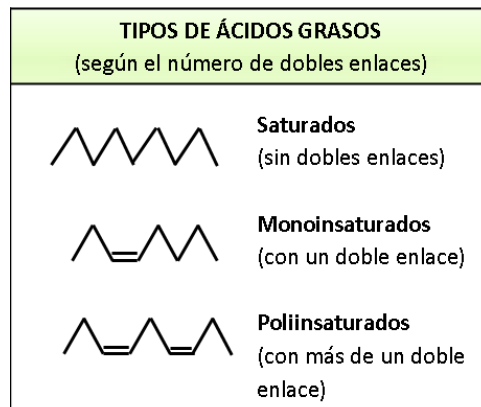


FIGURA N° 5. Tipos de ácidos grasos

Ácidos grasos saturados

Generalmente son de cadena recta, principalmente con número par de átomos de carbono, pero también se han detectado ácidos grasos impares en materias grasas comestibles de origen animal y marino, como así mismo, se han encontrado algunos ácidos grasos ramificados (Masson & Mella, 1985).

Contienen solamente enlaces carbono-carbono simples que se denominan saturados y son los menos reactivos químicamente (Ziller, 1996). Los ácidos grasos saturados son sintetizados en el organismo y los más comunes son: palmítico (C:16), esteárico (C:18), araquídico (C:20), entre otros (Ruiz *et al.*, 1996).

Ácidos grasos insaturados

Se caracterizan porque en la cadena hidrocarbonada aparece una doble unión C = C, lo cual fuera de introducir una rigidez en la molécula,

automáticamente complica la química de los ácidos grasos al presentarse dos tipos de isomerismos: uno de posición y otro geométrico de tipo cis - trans que le confiere propiedades diferentes a los ácidos grasos (Masson & Mella, 1985).

Cuando un ácido graso presenta un único doble enlace se le denomina “monoinsaturado” o “monoénico”. Si contiene más de uno se le llama “poliinsaturado” o “poliénico” (Ziller, 1996).

La presencia de dobles enlaces en la estructura de un ácido graso cambia notablemente sus propiedades químicas y físicas. Por ejemplo, mientras un ácido graso saturado puede ser un sólido a temperatura ambiente, el ácido graso mono o poliinsaturado de igual número de carbono será generalmente un líquido (Valenzuela *et al.*, 1999).

Los largos de cadena para los ácidos grasos insaturados habituales en las materias grasas comestibles son más restringidos. Los monoinsaturados se encuentran entre 10 y 22 átomos y los poliinsaturados entre 16 y 22 átomos de carbono (Masson & Mella, 1985).

De acuerdo a la posición del primer doble enlace en la cadena para la agrupación de las familias o series de ácidos grasos, (Valenzuela *et al.* 1999) explican, que cuando el primer doble enlace está ubicado entre el C9 y C10 (contando desde el grupo metilo terminal), estas moléculas originan la familia o serie de ácidos grasos denominada omega-9, ω -9 ó n-9; existiendo otro grupo de ácidos grasos, ahora poliinsaturados, cuyo primer doble enlace está entre C6 y C7, dando origen a la serie de los omega-6, ω -6 ó n-6. Una tercera serie de ácidos grasos, cuyo primer doble enlace está ubicado entre el C3 y C4, origina la serie de los ácidos grasos omega-3, ω -3 ó n-3.

Importancia de los ácidos grasos esenciales

Los lípidos han sido considerados tradicionalmente como fuente de energía metabólica, sin embargo, hoy se sabe que ellos aportan algunos ácidos grasos específicos que son indispensables para la vida (Ruiz *et al.*,

1996). Los ácidos grasos esenciales son aquellos que deben suministrarse en la alimentación e incluyen miembros tanto de la serie n-6 como de la serie n-3 (FAO/OMS, 1995).

Los ácidos linoleico y linolénico se consideran ácidos grasos esenciales, porque no pueden ser biosintetizados y son necesarios para importantes funciones corporales, como el crecimiento y el buen estado de la piel y el pelo, por este motivo deben ser proporcionados por la dieta (Lawson, 1999). Esta designación se debe a que su ausencia produce un síndrome de deficiencia, ya que el organismo animal no puede introducir dobles enlaces entre el grupo metilo terminal y el primer doble enlace que aparece en la cadena hidrocarbonada del respectivo ácido graso. De aquí se deduce la importancia de las familias de ácidos grasos nombrados, debido a que por una parte la estructura terminal permanece inalterable y por otra, no es posible el paso de un ácido graso de una familia a otra (Masson & Mella, 1985).

Algunas veces se han considerado esenciales los ácidos araquidónico (C20:4), eicosapentaenoico (C20:5) y docosahexaenoico (C22:6). Principalmente, son componentes esenciales de las membranas de la retina y sistema nervioso central y son precursores de los compuestos similares a hormonas, mediadores del sistema defensivo, como las prostaglandinas (Lawson, 1999).

Los ácidos grasos son cruciales para el desarrollo normal fetal e infantil de la población. El cerebro es grande comparado con el tamaño y el peso corporal. La demanda de ácidos grasos esenciales por parte del feto es mayor hacia el final de la gestación. Se debe prestar atención a las dietas maternas antes de la concepción, durante la gestación y después en las fórmulas infantiles, principalmente en bebés prematuros (Lawson, 1999).

Los ácidos grasos esenciales son importantes en la síntesis de muchas estructuras celulares y varios compuestos de importancia biológica. Estudios recientes han demostrado los beneficios de otros ácidos grasos de cadena más larga en el crecimiento y desarrollo de los niños de corta edad. Los ácidos

araquidónico y docosahexaenoico (DHA) se deben considerar esenciales durante el desarrollo de los primeros años (Latham, 2002).

Caracterización fisicoquímica de aceites

a. Índice de peróxidos

El índice de peróxidos se suele definir en términos de miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de grasa. Existen varias otras técnicas colorimétricas. Aunque puede utilizarse para seguir la formación de peróxidos en las etapas iniciales de la oxidación, el índice de peróxidos es un valor muy empírico. Su exactitud es cuestionable y los resultados varían con el método específico usado y la temperatura a la que la prueba se efectúe. A lo largo del curso de la oxidación, el índice de peróxido alcanza un valor máximo; después declina.

Conviene señalar que la cantidad de oxígeno que debe absorberse, o de peróxidos que deben formarse, para que el enranciamiento oxidativo pueda apreciarse varía con la composición del aceite (las grasas más saturadas necesitan absorber menos oxígeno para enranciarse), la presencia de antioxidantes y metales traza y las condiciones en que tiene lugar la oxidación.

b. Índice de yodo

Constituye una medida del número de dobles enlaces no saturados de una grasa y se determina haciéndola reaccionar con una disolución de monoclóruo de yodo, en una mezcla de ácido acético y CCl_4 , liberando el exceso de yodo con IK y titulándolo con $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$ (método de Wijs). El resultado se expresa en términos de gramos de yodo absorbidos por 100 g de muestra. En el método de Hanus, en lugar de monoclóruo de yodo se utiliza bromuro de yodo como reactivo. Para medir la reducción de los ácidos dienoicos a lo largo de la autooxidación, se emplea a veces el descenso del índice de yodo.

c. Densidad

Es la relación que existe entre la densidad de dicha sustancia con la del agua. La densidad de los aceites y ceras varía entre 0.88 y 0.99g/cm³. La densidad es una característica física de los aceites y grasas, que no requiere para su medición la aplicación de reacciones químicas. La densidad de los ácidos grasos y glicéridos aumenta al disminuir su peso molecular y al aumentar su grado de insaturación.

d. Índice de saponificación

Se define como el número de miligramos de hidróxido de potasio que se necesita para saponificar 1 gramo de grasa o aceite. En términos moleculares, un mol de grasa o aceite requiere tres moles de KOH para su saponificación completa porque hay tres enlaces de éster en una molécula de una grasa o aceite. Puesto que un gramo de una grasa de alto peso molecular tiene menos moléculas que un gramo de una grasa de bajo peso molecular, el peso del KOH que se necesita para la saponificación será menor en la grasa de peso molecular alto, así pues los aceites y grasas de peso molecular alto tienen índice de saponificación más bajos que las de peso molecular bajo (Bailey et al., 1998).

e. Fósforo

El método se basa en la reacción del ión fosfato con molibdato (MoO₄²⁻) que da lugar a fosfomolibdato ([PO₄12MoO₃]³⁻). Este último por reducción origina un compuesto cuya estructura exacta se desconoce, denominado “azul de molibdeno”. Como reductores se pueden utilizar muchos compuestos, de los cuales el sulfohidrato de hidrazina, el cloruro estannoso, el ácido 1,2,4-aminonaftosulfónico y el ácido ascórbico son los más empleados.

f. Índice de acidez

Es una medida del grado de descomposición lipolítica de los glicéridos. La acidez libre se puede expresar como % de acidez (en términos de ácido oleico), grado de acidez (1% de acidez expresada como ácido oleico = 3,6 ° de acidez) o índice de acidez (mg de KOH necesarios para neutralizar 1g de aceite o de grasa) (CHILE, INN, 1981).

g. Materia insaponificable

Está formada por una serie de componentes asociadas a la fracción lipídica, como hidratos de carbono, vitaminas liposolubles, esteroides, pigmentos y alcoholes. Es un indicativo de la calidad del aceite, que mide los componentes residuales después de la extracción con solventes orgánicos y la saponificación con álcali en la etapa de neutralizado en la refinación. Las grasas vegetales tienen un insaponificable inferior al 1.5% y las grasas animales y minerales (vaselina, parafina), un insaponificable superior al 1.5%.

2.2.5. MINERALES

Este término suele referirse a los elementos distintos del C, H, O y N presentes en los alimentos. Por ello, los minerales se encuentran a concentraciones relativamente bajas. No obstante, desempeñan papeles clave tanto en los sistemas vivos como en los alimentos (Fennema & Tannenbaum, 1993).

Minerales esenciales

Un elemento es esencial para la vida si su eliminación de la dieta «conduce a un deterioro constante y reproducible de una función fisiológica». Los requerimientos humanos de minerales esenciales oscilan entre unos pocos microgramos diarios y 1 g/día. Si la ingesta es baja durante un cierto tiempo, aparecerán los signos de carencia. Inversamente, una ingesta

demasiado elevada puede conducir a toxicidad. Afortunadamente, en la mayoría de los minerales el intervalo de ingesta adecuada y segura es bastante amplio, de manera que tanto las carencias como la toxicidad son relativamente raras, suponiendo que se consume una dieta variada (Fennema & Tannenbaum, 1993).

Además de su papel estructural en vegetales y animales, el calcio desempeña un papel esencial en numerosos procesos bioquímicos y fisiológicos. Por ejemplo, participa en la fotosíntesis, la fosforilación oxidativa, la coagulación sanguínea, la contracción muscular, la división celular, la transmisión de los impulsos nerviosos, la actividad enzimática, la función de la membrana celular y la secreción hormonal. El calcio está presente en los productos lácteos, espaldas de pescado, tofu, y hortalizas de hoja (Fennema & Tannenbaum, 1993).

Fosfatos

En los sistemas vivos, los fosfatos participan en una variedad de funciones, como aditivos alimentarios tienen muchas funciones, entre ellas la acidificación (refrescos), tamponamiento (varias bebidas), antiagregantes, fermentadores, estabilizadores, emulsionantes, retención de agua y protección frente a la oxidación. Los fosfatos están presentes en ubicuos y productos de origen animal (Fennema & Tannenbaum, 1993).

Hierro

El hierro cumple funciones clave en los sistemas biológicos, incluidos el transporte y almacenamiento de oxígeno en animales (hemoglobina y mioglobina), generación de ATP (proteínas ferrosulfuradas y citocromos), síntesis de ADN (ribonucleótido reductasa) y síntesis de clorofila. Lamentablemente, el hierro libre puede resultar tóxico para las células vivas. El hierro está presente en cereales, legumbres y carnes (Fennema & Tannenbaum, 1993).

Cobre

Es un cofactor de muchas enzimas, incluidas las fenolasas, y se encuentra en el centro activo de la hemocianina, una proteína portadora de oxígeno de algunos artrópodos. Es un potente catalizador de la oxidación de los lípidos de los alimentos, está presente en vísceras, mariscos, frutos secos y semillas (Fennema & Tannenbaum, 1993).

Magnesio

Participa en la actividad neuromuscular, en el metabolismo de los hidratos de carbono y una gran parte del mismo se encuentra en los huesos. Está ampliamente distribuido en los alimentos, especialmente entre los de origen vegetal: leguminosas y frutos secos, y en menor proporción en las patatas y otras verduras y hortalizas, así como en algunos moluscos y crustáceos (Moreiras & Carbajal, 1998).

Zinc

Es fundamental para el crecimiento, para mantener el sentido del gusto y, por tanto, el apetito y para facilitar la cicatrización de las heridas. Se encuentra presente en gran número de alimentos, fundamentalmente asociado con proteínas, siendo las carnes rojas y las leguminosas buenas fuentes de este elemento (Moreiras & Carbajal, 1998).

Sodio

Es fundamental en el balance hidroelectrolítico y ácido-base, así como en los mecanismos de transporte y de excitabilidad muscular y nerviosa. La cantidad de sodio en los alimentos es relativamente baja. Sin embargo, durante muchos procesos (salazón, enlatado, ahumado, etc.) se adiciona sal (Moreiras & Carbajal, 1998).

Potasio

Ejerce una acción complementaria a la del sodio en el funcionamiento de las células. Las principales fuentes de potasio son las verduras y hortalizas, principalmente patatas, carne, leche, plátanos y, especialmente, el café liofilizado (Moreiras & Carbajal, 1998).

Calcio

Además de su papel estructural en vegetales y animales, el calcio desempeña un papel esencial en numerosos procesos bioquímicos y fisiológicos. Por ejemplo, participa en la fotosíntesis, la fosforilación oxidativa, la coagulación sanguínea, la contracción muscular, la división celular, la transmisión de los impulsos nerviosos, la actividad enzimática, la función de la membrana celular y la secreción hormonal. El calcio está presente en los productos lácteos, espaldas de pescado, tofu, y hortalizas de hoja (Moreiras & Carbajal, 1998).

2.2.6. FIBRA

La fibra tiene una importante función regulando la mecánica digestiva. El consumo de ésta tiene la función de curar enfermedades degenerativas (cardiovasculares, diabetes y, especialmente, las neoplasias de colon). Sus principales componentes son la celulosa y otras sustancias conocidas con el nombre de hidratos de carbono no disponibles. Las fibras se encuentran en cereales integrales y, en verduras y frutas, principalmente (Moreiras & Carbajal, 1998).

2.2.7. ANTIOXIDANTES

Son sustancias que pueden retrasar el comienzo o reducir la velocidad de oxidación de las sustancias autooxidables. Existen cientos de compuestos, naturales y sintéticos, con propiedades antioxidantes, aunque para su empleo

en los alimentos deben cumplir ciertas exigencias, entre ellas la de superar las pruebas de inocuidad. Por sus propiedades físicas, se clasifican en hidrosolubles (B1 o tiamina, B2 o riboflavina, equivalentes de niacina, ácido fólico, B6 o piridoxina, B12, C o ácido ascórbico, ácido pantoténico y biotina) y liposolubles (vitaminas A, D, E, y K) (Moreiras & Carbajal, 1998).

Antioxidantes liposolubles

Los antioxidantes más ampliamente distribuidos en la naturaleza y los más importantes son los tocoferoles. Como antioxidantes, ejercen su eficacia máxima a concentraciones relativamente bajas, aproximadamente iguales a las que ofrecen en los aceites vegetales. Si se añaden a concentraciones más altas, pueden actuar como prooxidantes.

Vitamina E (d-alfa-tocoferol, o vitamina natural E)

El alfa-tocoferol, es el más activo de las ocho formas de vitamina E que se encuentra naturalmente, es absorbida en la circulación linfática del tracto gastrointestinal y se ha demostrado que tienen antioxidantes, es decir, cumplen la función de proteger las células. La vitamina se almacena en todos los tejidos, y su deficiencia es rara, aproximadamente unas tres cuartas partes de la vitamina se excreta en la bilis (Navarra, 2004). Es la única vitamina en el que la forma natural es superior a la sintética.

Los resultados de dos universidades de Harvard, publicados en 1992 muestran prometedores resultados para la reducción del riesgo de ataque al corazón en los hombres y mujeres a través de dosis moderadas de vitamina E (Navarra, 2004). Su deficiencia puede causar hemólisis (destrucción de las células rojas de la sangre), dando lugar a anemia en humanos con problemas de mala absorción. Asimismo puede causar la degeneración de los axones de la médula espinal y los nervios periféricos (Navarra, 2004).

Pro-vitamina A

Es una vitamina soluble en grasa esencial para el crecimiento y desarrollo de los huesos en los niños, para la visión (especialmente con poca luz), para una piel sana y membranas mucosas, para la reproducción y la integridad del sistema inmune. La vitamina A consiste de varios compuestos activos, incluyendo alfa-caroteno, beta-caroteno, retinal (retinaldehído), el retinol (vitamina A1), ácido retinoico y los carotenoides. Las fuentes naturales de vitamina A son la yema de huevo, los aceites de hígado de pescado, hígado, crema, mantequilla, hojas verdes y verduras de color amarillo, piña, ciruelas, melones, naranjas y limas (Navarra, 2004). Las deficiencias de vitamina A conllevan a enfermedades tales como la nictalopia o ceguera nocturna, su continua insuficiencia puede conducir a la xeroftalmia (sequedad de la conjuntiva y la córnea) y queratomalacia (suavidad de la córnea) se producen con perforación y en última instancia causa ceguera. La deficiencia dietética sólo de vitamina A es poco común y por lo general se combina con otras deficiencias de vitaminas (Navarra, 2004).

2.3. CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía es básicamente una técnica de separación, su gran capacidad para resolver muestras complejas ha conducido a utilizarlas cada vez más como técnica analítica. En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.

2.3.1. Tipos de cromatografía de gases

Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas - sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC). La cromatografía gas -

líquido tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia y su denominación se abrevia normalmente como cromatografía de gases (GC).

La cromatografía gas - sólido se basa en una fase estacionaria sólida en la cual se produce la retención de los analitos como consecuencia de la adsorción física. La cromatografía gas - sólido ha tenido una aplicación limitada debido a la retención semipermanente de las moléculas activas o polares y a la obtención de picos de elución con colas (una consecuencia del carácter no lineal del proceso de adsorción), de modo que esta técnica no ha encontrado una gran aplicación excepto para la separación de ciertas especies gaseosas de bajo peso molecular.

La cromatografía gas - líquido se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte. El concepto de cromatografía gas - líquido fue enunciado por primera vez, en 1941, por Martin y Synge, quienes fueron también los responsables del desarrollo de la cromatografía de distribución líquido - líquido. Más de una década tuvo que pasar, sin embargo, antes de que la importancia de la cromatografía gas - líquido se demostrara experimentalmente. Tres años más tarde, en 1955, apareció en el mercado el primer aparato comercial para cromatografía gas - líquido. Desde entonces, las aplicaciones de esta técnica han crecido de una forma espectacular.

2.3.2. Mecanismo de la cromatografía de gases

El movimiento de las sustancias durante la cromatografía es el resultado de dos fuerzas oponibles, la fuerza de manejo de la fase móvil y la fuerza resistente o acción de retardo del sorbente. La fuerza de manejo mueve las sustancias del origen de la columna en dirección del flujo de la fase móvil. La acción de retardo impide el movimiento de las sustancias arrastrándolas del flujo y adhiriéndolas al adsorbente. Las moléculas se encuentran alternando entre estar pegadas al adsorbente o despegadas en el flujo, esto da como consecuencia que pese a que el flujo es constante, solo una fracción de las moléculas se están moviendo. Las sustancias que se mueven más

lentamente son porque están siendo unidas más fuertemente a la fase estacionaria, mientras que aquellas que se mueven más rápidamente es porque son menos solubles o de poca afinidad.

La habilidad de tener una migración diferencial entre los componentes de la mezcla es el resultado de la selectividad del sistema cromatográfico. El flujo de la fase móvil no es selectivo en el sentido de que no afecta el movimiento de los solutos. Como parte del sistema cromatográfico, sin embargo, la fase móvil debe ser un poco selectiva para ayudar a la absorción de los solutos con la fase estacionaria. La fase estacionaria también juega un papel importante dentro del cromatograma debido a su acción resistiva como una fuerza selectiva de la velocidad de flujo de los solutos.

2.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectroscopia de absorción atómica (EAA), tiene como fundamento la absorción de radiación de una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente por átomos que tengan niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos, está determinada por la ley de Beer, que relaciona esta pérdida de poder radiante, con la concentración de la especie absorbente y con el espesor de la celda o recipiente que contiene los átomos absorbedores.

Los componentes instrumentales de un equipo de espectrofotometría de absorción atómica son los similares a los de un fotómetro o espectrofotómetro de flama, excepto que en EAA se requiere de una fuente de radiación necesaria para excitar los átomos del analito.

2.4.1. Mecanismo de la espectroscopia de absorción atómica

La técnica de absorción atómica en flama en una forma concisa consta de lo siguiente: la muestra en forma líquida es aspirada a través de un tubo capilar y conducida a un nebulizador donde ésta se desintegra y forma un

rocío o pequeñas gotas de líquido. Las gotas formadas son conducidas a una flama, donde se produce una serie de eventos que originan la formación de átomos. Estos átomos absorben cualitativamente la radiación emitida por la lámpara y la cantidad de radiación absorbida está en función de su concentración.

La señal de la lámpara una vez que pasa por la flama llega a un monocromador, que tiene como finalidad el discriminar todas las señales que acompañan la línea de interés. Esta señal de radiación electromagnética llega a un detector o transductor y pasa a un amplificador y por último a un sistema de lectura.

2.5. ESPECTROFOTOMETRÍA DE UV-VIS

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma.

El fundamento de la espectroscopía se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV-visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica), por lo que dicha técnica constituye un valioso instrumento para la determinación y caracterización de biomoléculas.

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material botánico

Se utilizaron semillas de *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae*, las cuales fueron colectadas en el departamento de Amazonas en poblaciones naturales de sachá inchi, ubicado en la provincia de Rodríguez de Mendoza.

3.2. Materiales de laboratorio y otros

3.2.1. Materiales

- ✓ Probeta graduada
- ✓ Pinzas de metal
- ✓ Vasos de precipitado
- ✓ Mortero y pilón
- ✓ Varilla de vidrio
- ✓ Matraz Erlenmeyer
- ✓ Tijeras
- ✓ Guantes de látex
- ✓ Placas Petri
- ✓ Cápsula de porcelana
- ✓ Crisol
- ✓ Desecador de vidrio
- ✓ Balones de base redonda
- ✓ Frasco contenedor para líquido titulante
- ✓ Frascos de vidrio
- ✓ Pera de decantación
- ✓ Soporte universal
- ✓ Pipetas
- ✓ Micropipetas
- ✓ Bombilla de jebes
- ✓ Fiolas de vidrio

- ✓ Balones Micro Kjeldahl
- ✓ Papel filtro
- ✓ Bureta de titulación

3.2.2. Reactivos

- ✓ Hidróxido de sodio
- ✓ Sulfato de potasio
- ✓ Sulfato de cobre
- ✓ Ácido sulfúrico
- ✓ Ácido clorhídrico
- ✓ Ácido bórico
- ✓ Éter de petróleo
- ✓ Etanol
- ✓ Ácido acético
- ✓ Indicador rojo de metilo
- ✓ Solución DPPH
- ✓ Sulfato de hidracina
- ✓ Molibdato de sodio
- ✓ Ácido ascórbico
- ✓ Solución stock de trolox
- ✓ Solución de quercetina
- ✓ Trifluoruro de boro
- ✓ Solución ABTS
- ✓ Cloroformo
- ✓ Tiosulfato de sodio
- ✓ Fenolftaleína
- ✓ Yoduro de potasio
- ✓ Hidróxido de potasio
- ✓ Cloruro de amonio
- ✓ Metanol
- ✓ Tiosulfato de sodio pentahidratado.

3.2.3. Instrumentos

- ✓ Picnómetro
- ✓ Vernier
- ✓ Termómetro
- ✓ Rompe nueces

3.2.4. Equipos

- ✓ Agitador vortex
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Centrífuga
- ✓ Estufa

- ✓ Mufla
- ✓ Equipo de Soxhlet
- ✓ Digestor de Micro Kjeldahl
- ✓ Destilador de Micro Kjeldahl
- ✓ Espectrofotómetro de absorción atómica
- ✓ Cromatógrafo de gases
- ✓ Rotavapor

3.3. Técnicas instrumentales

3.3.1. CROMATOGRAFIA DE GASES

El perfil de ácidos grasos del aceite de sachá inchi se realizó en un cromatógrafo de gases VARIAN 450 GC CO/CO₂ con rango de temperaturas desde -99°C hasta 450°C y precisión de ±0.1°C.

3.3.2. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La determinación de los minerales se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica marca VARIAN AA 240, para lo cual se utilizaron dos tipos de flama, aire/acetileno y acetileno/óxido nitroso, este último sólo para el análisis de calcio. El equipo funciona con lámparas individuales de cátodo hueco.

3.3.3. ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

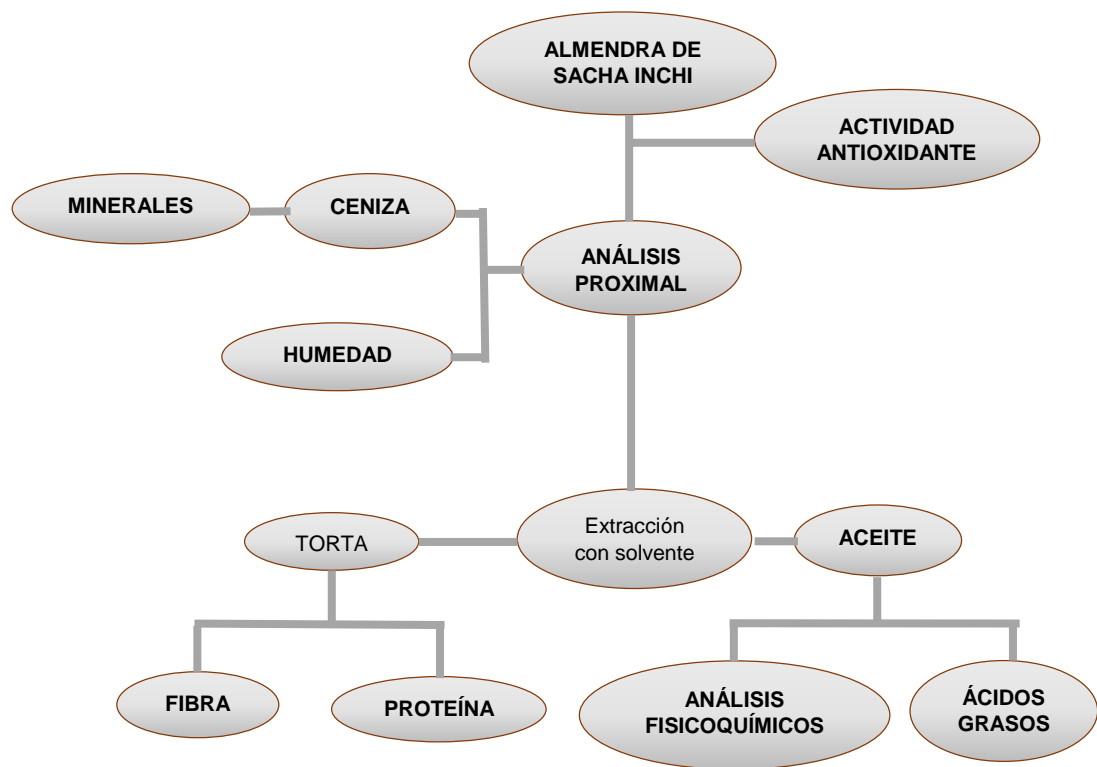
La determinación de la actividad antioxidante se realizó en un espectrofotómetro UV-VIS de la marca AGILENT TECHNOLOGIES modelo CARY 60, con una potencia máxima de 38W. Las muestras fueron leídas a diferentes longitudes de onda según la metodología. Para la determinación de contenido de fósforo (650nm), para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH (515nm) y por el método ABTS (734nm).

3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.4.1. Preparación de las muestras

Las semillas de *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae* colectadas, fueron separadas en frascos de vidrio y puestas a congelación a fin de conservar y evitar su exposición a condiciones que afecten su composición. Se seleccionaron mediante muestreo aleatorio simple 90 semillas de cada frasco. El descascarado de las semillas se realizó mecánicamente utilizando un rompenueces, se molió y secó en estufa a temperatura de 40°C durante 7 días para el caso de la determinación del rendimiento de aceite de cada especie.

ESQUEMA 1. Esquema general para la realización del estudio



3.4.2. Análisis proximal

3.4.2.1 Determinación de humedad (método AOCS Ac 2-41)

Se pesó 10g de la muestra fresca molida en un crisol previamente tarado. Se colocó en la estufa a 130 ± 3 °C por tres horas, se removió y enfrió en un desecador hasta temperatura ambiente para finalmente pesar.

Cálculo:

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{masa perdida (g)}}{\text{masa de la muestra inicial (g)}} \times 100$$

3.4.2.2 Determinación de cenizas (Método AOCS Ba 5a-49)

Se pesó 2g de la muestra fresca molida bien mezclada en un crisol previamente tarado, se puso en la mufla a 600 ± 15 °C y se mantuvo a esta temperatura por 2 horas.

Se transfirió el crisol al desecador, hasta enfriar a temperatura ambiente, y se pesó inmediatamente.

Cálculo:

$$\% \text{Cenizas} = \frac{\text{masa de cenizas (g)}}{\text{masa de la muestra (g)}} \times 100$$

3.4.2.3. Determinación de aceite (Método AOCS Ba 3-38)

Se pesó y envolvió 5g de la muestra en un papel filtro lento, se colocó la muestra sellada en la cámara de extracción del soxhlet para finalmente ensamblar el aparato.

Se depositó 100mL de éter de petróleo en la cámara de extracción y se dejó remojar la muestra aproximadamente por 1 hora, añadiendo lentamente un exceso de 50mL a la cámara del equipo de extracción de tal manera que se produzca el sifoneo y que la muestra quede sumergida en el solvente. Se procedió a calentar en una cocina eléctrica de modo que el

solvente gotee desde el condensador sobre el centro del cartucho. Se realizó la extracción por 3 horas para luego enfriar a temperatura ambiente y concentrar en el rotavapor para evaporar el éter de petróleo.

Finalmente se secaron y pesaron los balones para determinar la cantidad de aceite por diferencia de peso.

Cálculo:

$$\% \text{ Aceite} = \frac{\text{masa de aceite (g)}}{\text{masa de la muestra (g)}} \times 100$$

3.4.2.4. Determinación de proteínas (método AOCS Ac 4-91)

0,2g de la muestra desengrasada fueron pesados en papel mantequilla, se añadió la mezcla catalítica, se envolvió el papel y se depositó en un matraz Kjeldahl. Se agregó 10ml. de H₂SO₄ concentrado y 3 granallas de zinc a la porción de prueba con el catalizador en el matraz de Kjeldahl.

La muestra fue llevada a ebullición por tres horas, incrementando el calor cada 20 minutos hasta llegar al máximo de temperatura, en la muestra debe observarse un vapor blanco denso. Se movió periódicamente hasta que el líquido se vuelva incoloro. Los matraces de Kjeldahl fueron rotados un mínimo de tres veces durante la digestión.

Se enfrió y añadió cuidadosamente 50 mL. de agua destilada a temperatura ambiente para luego ser alcalinizado hasta pH 11 para lo cual se agregó de 100-106 grajeas de NaOH hasta que la solución se torne turquesa. Luego se transfirió 20mL de ácido sulfúrico 0,25N en un vaso de precipitado para recibir el destilado. Se depositó y calentó la solución al equipo Kjeldahl aproximadamente por 15 minutos hasta que hierva, el destilado colectado llegó por lo menos a 60mL. Finalmente se valoró el destilado con 0,25M de solución de hidróxido de sodio, usando 10 gotas del indicador rojo de metilo 0,1% en alcohol etílico.

El blanco fue llevado a cabo reemplazando la muestra por sacarosa bajo las mismas condiciones.

Cálculo:

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{(V_{\text{muestra}} - V_{\text{blanco}}) \times M \times 0,014}{\text{mg de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{Proteína} = \% \text{nitrógeno} \times 6,25$$

Donde:

V_{muestra} : Volumen de NaOH gastado en la titulación de la muestra

V_{blanco} : Volumen de NaOH gastado en la titulación del blanco

M: Molaridad de NaOH

3.4.2.5. Determinación de fibra cruda (ISO 6865:2000)

Se pesó 0,4713g de muestra desengrasada en un vaso de precipitado de 250mL (para *P. huayllabambana*) y 0,4707g (para *P. carolis-vegae*), se añadió 100mL de HCl 0,5M y se agitó con la ayuda de un magneto durante 5 minutos. La muestra bien mezclada se filtró con papel filtro rápido en un matraz de 500mL, lavándolo dos veces con 100mL de agua destilada. El residuo fue depositado en un balón 29/32 de 500mL lavándolo con la solución H_2SO_4 0,13N hasta completar los 150mL. Se llevó a reflujo por 30 minutos.

Se filtró al vacío en un matraz de 500mL lavando continuamente con 50ml de H_2O destilada, luego se pasó con acetona hasta cubrir completamente el residuo y se volvió a filtrar al vacío.

Se pasó el residuo a un balón de 250mL lavándolo con 150ml de KOH 0,23M y se hizo reflujo por 30 minutos, para luego filtrar y lavar con H_2O caliente hasta alcanzar un pH de 7.

El residuo fue lavado con 30mL de acetona tres veces. Se depositó la muestra en un crisol lavándolo con un poco de acetona y se llevó a sequedad en estufa por 2h a 130°C, cumplido el tiempo, se retiró inmediatamente y se puso en desecador para posteriormente pesar el crisol con la muestra.

Finalmente se redujo la muestra a cenizas en mufla a 600°C por 2h. Se Pesó el crisol y se realizaron los cálculos correspondientes.

Cálculo:

$$\%Fibra = \frac{\text{masa de muestra seca} - \text{masa de cenizas}}{\text{masa de la porción de ensayo}} \times 100$$

3.4.3. Determinación del contenido de minerales por espectroscopia de absorción atómica (AOCS Ba 5a-49)

Se pesaron 2g de la muestra bien mezclada en un crisol previamente tarado, se puso a la mufla a 600 ± 15°C y se mantuvo a esta temperatura por 2h. Las muestras debían terminar blanquitas, pero como no lo estuvieron, se agregaron 2mL de HNO₃ concentrado y se secaron en la plancha de calentamiento.

Se colocaron nuevamente en la mufla hasta que queden blanquitas. Luego se transfirió el crisol al desecador, se enfrió a temperatura ambiente, y se pesó inmediatamente.

Digestión:

Para la digestión se agregó a cada crisol 10mL de HCl 6N y se calentaron hasta sequedad. Una vez secos se agregaron 15mL de HCl 3N y se calentaron hasta su primer hervor, luego se dejó enfriar.

Se depositó un poco de agua millipore y luego la muestra para evitar que se quemara el filtro (no enjuagar el crisol con agua). Se filtró al vacío.

Se procedió a una segunda digestión, al residuo se le agregó 10mL de HCl 3N y se calentó hasta su primer hervor, se enfrió y filtró.

El residuo restante fue lavado con agua millipore y se filtró, finalmente se enrazó a tres fioles con agua millipore hasta un volumen de 100mL, a las otras tres fioles se les añadió 5mL de LaCl₃ y se enrazó a 100mL con agua millipore.

Lectura:

A continuación se seleccionó al menos un estándar cero y tres soluciones estándares que cubrieran el rango de concentración esperado de la muestra y que estuvieran en el rango óptimo del elemento a determinar.

Se eligió la lámpara a usar y se dejó calentar por un mínimo de 15 min. Se alineó el equipo y se seleccionó la longitud de onda.

Se encendió la llama y se reguló el flujo del aire/acetileno. Se aspiró un blanco cero consistente en agua con HCl 0,3N (en la misma concentración de las muestras y de las series estándares). Se ajustó el cero del instrumento, la velocidad de aspiración del nebulizador, el mechero, vertical y horizontalmente, hasta obtener la máxima respuesta.

Se calibró el instrumento con la serie de soluciones estándares, empezando por el estándar cero y terminando con el estándar más alto.

Seguidamente se aspiró y registró la absorbancia o la concentración del elemento en los blancos del método y en la muestra, fue necesario realizar diluciones para algunas muestras.

Finalizado el análisis, se aspiró el blanco cero, se cerró primero la válvula del acetileno y luego la del aire.

Cálculo:

$$M \text{ (mg/L)} = \frac{(a - b) \times d \times v}{m}$$

Donde:

M: Concentración de elemento en la muestra.

a : Concentración, en mg/L, leída en la muestra digerida.

b : Concentración en mg/L, del blanco del método.

d : Factor de dilución, si corresponde.

v: Volumen, en mL, de digerido.

m: Masa, en g, de muestra usada en la digestión.

3.4.4. Análisis fisicoquímicos

3.4.4.1. Determinación del índice de peróxido (método AOCS Cd 8b-90)

Se pesó 5g de la muestra en un frasco de Erlenmeyer de 125 mL, luego se adicionó 30 mL de solución de ácido acético-isooctano (3:2), se agitó en un frasco la solución de la muestra, posteriormente se adicionó 0,5 mL de la solución saturada de yodato de potasio. Se dejó en reposo por exactamente 1 minuto. Se adicionó 30 mL de agua, se tituló con solución de tiosulfato de sodio 0,1N con agitación, se continuó con la titulación hasta que la coloración amarilla haya casi desaparecido. Se adicionó 0,5mL de SDS al 10% (Dodecil sulfato de sodio) y 0,5mL de la solución de almidón al 1%, se continuó la titulación con tiosulfato de sodio 0,1N hasta que la coloración azul haya desaparecido.

Cálculo:

$$\text{Índice de peróxido (meq O}_2\text{/Kg de muestra)} = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{\text{masa de muestra (g)}}$$

Donde:

B : Volumen de tiosulfato gastado en la titulación del blanco

S : Volumen de tiosulfato gastado en la titulación de la muestra

N : Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

3.4.4.2. Determinación del índice de yodo (A.O.A.C 920.158)

Se pesó $0,1800 \pm 0,1$ g de aceite en un matraz de 500mL con tapa de vidrio y se disolvió con 10mL de CHCl_3 . Se añadió con pipeta 25mL de la solución de Hanus, luego se dejó reposar en oscuridad por 30 minutos, moviendo ocasionalmente.

Se añadió 10mL de solución KI al 15%, se movió vigorosamente para luego agregar 100mL de agua fresca recientemente hervida. Se tituló con solución estándar de tiosulfato de sodio 0,1M, añadiéndolo gradualmente con constante agitación hasta que el color amarillo casi desaparezca. Se añadió

1 mL de la solución indicadora de almidón y se continuó titulando hasta que el color azul desaparezca. Se condujo dos blancos bajo las mismas condiciones.

Cálculo:

$$I = \frac{(B - S) \times M \times 12,69}{\text{g de muestra}}$$

Donde:

M : Molaridad exacta del tiosulfato de sodio.

S : Volumen gastado para la titulación de la muestra.

B : Volumen gastado para la titulación del blanco.

3.4.4.3. Determinación de ácidos grasos libres (A.O.C.S Ca 5a-40)

Se pesó en un matraz Erlenmeyer 5g de aceite, se añadió luego 50ml de alcohol etílico al 95% y 5 gotas de la solución indicadora de fenolftaleína.

Se tituló con NaOH estándar 0,1N, agitando vigorosamente hasta que la apariencia del primer color rosa permanezca por 30 segundos.

Cálculo:

$$\text{Ácidos grasos libres (\% ácido oleico)} = \frac{(V \times N \times 28,2)}{\text{masa de la muestra (g)}}$$

Donde:

V : Volumen de NaOH gastados en la titulación de la muestra

N : Normalidad del NaOH estandarizado

3.4.4.4. Determinación del índice de saponificación (A.O.C.S cd 3-25)

Se pesó 5g de aceite en un balón de 250mL, se añadió 50mL de hidróxido de potasio alcohólico, 10mL de agua destilada y astillas de vidrio.

Se llevó a reflujo por dos horas añadiendo luego 20ml de agua destilada (como lavar el condensador) y se añadió 1ml (20 gotas aprox.) de

indicador de fenolftaleína. Se tituló con H₂SO₄ estándar 1 N hasta que el color vire de violeta a blanco.

Al balón que sirvió como blanco se añadió 20ml de agua destilada y 50mL de hidróxido de potasio alcohólico. Se añadió fenolftaleína y se tituló con H₂SO₄ estandarizado 1N.

Cálculo:

$$\text{I.S (mg KOH/100g muestra)} = \frac{((V_{\text{blanco}} - V_{\text{muestra}}) \times N (\text{H}_2\text{SO}_4) \times 56,1}{\text{peso de la muestra (g)}}$$

Donde:

V blanco : Volumen de H₂SO₄ gastado en la titulación del blanco

V muestra : Volumen de H₂SO₄ gastado en la titulación de la muestra

N : Normalidad del H₂SO₄ estandarizado

3.4.4.5. Determinación de materia insaponificable (A.O.C.S Ca 6a-40)

Se pesaron 5 ± 0,01g de muestra en un matraz Erlenmeyer. Se añadió 30mL de etanol al 95% y 5mL de solución de hidróxido de potasio 5%. Se adaptó el matraz al refrigerante en posición de reflujo y se calentó suavemente durante 1h hasta completar la saponificación.

Se transfirió a un cilindro de extracción y se lavó con etanol al 95% hasta la marca de 40mL, se continuó añadiendo agua caliente y después fría, hasta completar un volumen de 80mL, se lavó el matraz con una pequeña cantidad de éter de petróleo y se añadió al cilindro agregando otros 50mL de éter de petróleo.

Se tapó el cilindro de extracción y agitó vigorosamente durante 1 minuto, se dejó reposar hasta que las capas estén completamente definidas. Se usó el sifón para eliminar la capar superior sin que incluya nada de la capa inferior.

Se transfirió la capa etérea a otro embudo de separación de 100mL que contenga 5mL de alcohol etílico (1:9) con el objeto de evitar la posible pérdida del éter de petróleo.

Se repitió la extracción, cuando menos 6 veces más, usando porciones de 50mL del éter de petróleo y agitando vigorosamente en cada extracción.

Se lavaron los extractos combinados en un embudo de separación con 25mL de alcohol etílico al 10% y agitación constante, y se eliminó la capa de alcohol después de cada lavado. El lavado se suspendió cuando la solución del lavado fue neutra a la fenolftaleína.

Se transfirió el extracto etéreo a un vaso previamente pesado y se evaporó hasta sequedad en un baño de agua. Se dejó enfriar en desecador y se pesó.

Una vez pesado, el residuo se disolvió con 50mL de alcohol etílico (95%) previamente neutralizado y caliente (aprox. 50°C) conteniendo solución indicadora de fenolftaleína y se tituló en caliente con solución de hidróxido de sodio estandarizado 0,02N.

3.4.4.6. Determinación del contenido de fósforo (A.O.C.S Ca 12-55)

Se pesó 3,0-3,2 ± 0,001g de aceite en un crisol y se agregó 0,5g de ZnO.

Se procedió a calentar lentamente sobre una cocina hasta que la muestra se espese, aumentando gradualmente la temperatura hasta que la masa esté completamente carbonizada. Se puso el crisol en una mufla a 500-600°C por 2h. Se removió y enfrió a temperatura ambiente.

Una vez enfriada la muestra, se adicionó 5mL de agua destilada y 5 mL de HCl concentrado, se cubrió el crisol con una luna de reloj y se dejó ebulir a fuego lento por 5 minutos para luego filtrar la solución en un matraz de 100mL, se lavó el interior de la luna de reloj y del crisol con 5mL de agua

destilada caliente, se hizo lo mismo con el papel filtro enjuagándolo con cuatro porciones de 5mL adicionales de agua destilada caliente.

Se enfrió la solución a temperatura ambiente y se neutralizó a una turbidez débil por la adición de 35 gotas de solución de KOH al 50%. Se agregó de 2-3 gotas de HCl concentrado hasta que el precipitado de óxido de zinc simplemente se disuelva. Luego, se agregó dos gotas adicionales de ácido clorhídrico. Se diluyó a volumen con agua destilada y mezcló a fondo.

Inmediatamente se pipeteó 10mL de esta solución en un matraz de 50mL limpio y seco. Se agregó 8mL de solución de sulfato de hidracina y 2mL de solución de molibdato de sodio en el orden dado. Se tapó e invirtió 3 ó 4 veces, se destapó y calentó por $10 \pm 0,5$ minutos en un baño de agua hirviendo y se dejó enfriar a $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ en otro baño de agua para luego enrazar.

Finalmente se transfirió la solución a una cubeta limpia y seca, se midió la absorbancia a 650nm con la lectura del instrumento ajustado a 0% de absorbancia (100% de transmitancia) para una cubeta contenida de agua destilada. Se preparó un blanco, sin agregar aceite pero siguiendo el procedimiento bajo las mismas condiciones.

Se midió el contenido de fósforo de la muestra y el blanco para compararlos con la curva estándar obtenida como sigue:

Preparación de la curva estándar:

- a) Se pipeteó 0.0, 0.1, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0mL de la solución de trabajo estándar en una fiola de 50mL y se diluyó cada uno con 10mL de agua destilada usando una pipeta volumétrica. Se añadió 8mL de solución de sulfato de hidracina y 2mL de solución de molibdato de sodio. Se procedió en adelante bajo las mismas condiciones que para la muestra descrita anteriormente.
- b) Las alícuotas correspondieron respectivamente a: 0.0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, y 0.1mg de fósforo.

Se graficó la absorbancia de cada estándar vs contenido de fósforo (mg) en un papel milimetrado.

Cálculo:

$$\text{mg/L de P} = (\text{mg/L P}_2\text{O}_5) \times (\text{F.D}) \times \left(\frac{\text{g de P}}{\text{g de P}_2\text{O}_5}\right)$$

Donde:

F.D : Factor de dilución

3.4.4.7. Determinación de la densidad (ISO 6883:2012)

Se pesó el viscosímetro vacío en una balanza analítica, se llenó completamente con agua destilada hasta que ésta suba por el capilar de la tapa, se limpió y pesó nuevamente en la balanza.

Se lavó minuciosamente el viscosímetro de tal manera que no quede ninguna partícula ni rastro de grasa para evitar diferencias significativas en el peso. Se secó a temperatura ambiente.

Se llenó el viscosímetro completamente con aceite, se tapó y dejó ascender el fluido por el capilar de la tapa hasta que llegue al ras. Se pesó en la balanza analítica.

Cálculo:

$$D (\text{g/cm}^3) = \frac{\text{masa del aceite (g)}}{\text{volumen del picnómetro (cm}^3\text{)}}$$

3.4.5. Determinación de la actividad antioxidante

3.4.5.1. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH

Consideraciones:

- ✓ El agua a utilizar siempre será de calidad HPLC.
- ✓ Se procuró terminar la preparación de las soluciones de la curva de calibración en el menor tiempo posible, de esta manera se evitó la degradación del ácido ascórbico y del DPPH.

Se prepararon previamente las siguientes soluciones

- a) Solución stock de ácido ascórbico 500 μ M [25 mL]
Se pesó exactamente 2,2 mg de ácido ascórbico ($M = 176,12$ g/mol) y se llevó a 25 mL con metanol en una fiola. Se agitó 2-3 min. con ayuda del vortex hasta lograr su completa disolución.
- b) Solución stock de quercetina 500 μ M [25mL]
Se pesó exactamente 4,22 mg de quercetina hidratada ($M = 338,26$ g/mol), se disolvió en metanol y llevó a 25 mL en una fiola.
- c) Solución stock de Trolox 1 mM (1mg/mL) [100 mL]
Se pesó exactamente 25 mg de Trolox ($M = 250,29$ g/mol) y aforó a 100mL con metanol.
- d) Solución stock de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) 1mM [10 mL]
Se pesó exactamente 3,94mg de DPPH ($M = 394,3$ g/mol) y disolvió en metanol, se llevó a 10mL en una fiola oscura. Se aseguró de lograr la completa disolución, para lo cual se utilizó el vortex.
- e) Solución stock de DPPH 200 μ M [25 mL]
Se tomó 5000 μ L de la solución stock de DPPH 1mM y se llevó a 25mL con metanol en una fiola oscura.
- f) Solución de Metanol 80% [25 mL]
En fiola se colocó 5 mL de agua y luego se llevó a 25 mL con metanol en una fiola.

Procedimiento

1. Preparación de la curva estándar de ácido ascórbico y quercetina
 - a) Se preparó una serie de seis (06) fiolas de 5mL, y agregó a cada uno de ellos la cantidad de reactivos que aparecen en la tabla mostrada abajo.

- b) Se comenzó adicionando la solución de ácido ascórbico, y luego en t=0 min se agregó la solución de DPPH al control, en t = 1 min se agregó el DPPH al patrón 1, en t = 2 min para el patrón 2, y se continuó así hasta completar la serie (t = 5 min, patrón 5).
- c) En t = 30 min se realizó la lectura de la absorbancia del control a 515nm. Luego, en t = 31 min se realizó la lectura del patrón 1, en t=32 min para el patrón 2 y se continuó hasta terminar la serie (t = 5 min, patrón 5).

CUADRO 1. Composición de los patrones empleados en la curva de quercetina

Muestra	[] Quercetina (µM)	Vol. sol. stock querce. (µL)	Vol. sol DPPH 200 µM	Vol. de metanol (µL)	Homogenizar y dejar en reposo durante 30 min al abrigo de la luz
Blanco	0	0	0	4000	
Control	0	0	2500	2500	
Patrón 1	5	50		2450	
Patrón 2	10	100		2400	
Patrón 3	15	150		2350	
Patrón 4	20	200		2300	

2. Preparación de la curva estándar de Trolox

- a) Se preparó una serie de seis fiolas con las soluciones que se muestran en la tabla aquí abajo. Se tuvo las mismas consideraciones de tiempo como en el caso anterior.
- b) Se realizó la lectura de la absorbancia a 515 nm.

CUADRO 2. Composición de los patrones empleados en la curva de trolox

Muestra	[] Trolox (μM)	Vol. stock Trolox 1mM (μL)	Vol. sol. DPPH 200 μM	Vol. sol. metanol (μL)	Homogenizar y dejar en reposo durante 30 min al abrigo de la luz
Blanco	0	0	0	4000	
Control	0	0	2500	2500	
Patrón 1	10	50		2450	
Patrón 2	20	100		2400	
Patrón 3	30	150		2350	
Patrón 4	40	200		2300	
Patrón 5	60	300		2200	

3. Tratamiento de la muestra

- a) Se pesó 500 mg de muestra fresca en tubo para centrifuga, se agregó 3 mL de metanol al 90% y se agitar en el vortex durante 15 min.
- b) Se centrifugó la mezcla a 5000 rpm durante 15 min. Se recuperó el sobrenadante y se transfirió a una fiola de 5mL.
- c) Se agregó al residuo 1,5mL de metanol al 100%, se agitó en el vortex durante 1 min y centrifugó a 5000 rpm durante 15 min a 5°C.
- d) Se recuperó el sobrenadante y se transfirió a la fiola que contenía el sobrenadante obtenido de la primera centrifugación (paso b) y se enrazó la fiola a 5mL

4. Lectura de la muestra

- a) Se preparó una serie de tres (03) tubos de hemólisis de 5mL como se indica en la tabla a continuación. Se vigiló los tiempos de preparación como en los casos anteriores. Se hizo la lectura de la absorbancia a 515nm.

CUADRO 3. Lectura de la muestra

Tubos	[] extracto metanólicos (µg/mL)	Vol. extracto (µL)	Vol. sol. DPPH 200 µM	Vol. MeOH (µL)	Homogenizar y dejar en reposo durante 30 min al abrigo de la luz, antes de realizar la lectura volver a homogenizar
Control	0	0	2500	2500	
Muestra	1	700		1800	
Blanco	2	700	0	4300	

3.4.5.2. Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS

Consideraciones:

- ✓ En todas las etapas del experimento el agua utilizada fue de calidad ultra pura (miliQ).

Se prepararon previamente las siguientes soluciones

- a) Solución Buffer BPS 0,01M (pH 7,4) [500 mL]
Se pesó NaCl (4g), KCl (0,1g), Na₂HPO₄ (0,72g) y KH₂PO₄ (0,12g) y disolvió en 400mL. de agua. Se ajustó el pH a 7,4 con solución de HCl o NaOH, según fue necesario. Se aforó a 500mL con agua.
- b) Solución stock de Trolox 4mM (1mg/mL) [100 mL]
Se pesó exactamente 100mg de Trolox y aforó a 100mL con metanol P.A o HPLC.
- c) Solución stock de Trolox 1 mM (0,25mg/mL) [5 mL]
Se tomó 1250µL de la solución stock de Trolox 4mM y aforó a 5mL con metanol P.A o HPLC.
- d) Solución ABTS 7mM con persulfato de potasio 2,45Mm [5 mL]
Se pesó por separado 19,2mg de ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico, sal diamónica) y 3,31mg de persulfato de potasio, se aforó a 5mL con agua e incubó a temperatura ambiente en la oscuridad por 16 horas.

- e) Solución de Metanol 80% [250 mL]
Se midió 50ml de agua y se colocó dentro de una fiola de 250mL. Se enrazó con metanol P.A o HPLC.

Procedimiento

1. Preparación de la curva estándar o patrón.
 - a) Se preparó una dilución del radical coloreado ABTS en el buffer PBS, para ello se agregó 2mL de la solución ABTS 7mM a 200mL de buffer PBS 0,01M. La solución se tornó verde-azul.
 - b) Se midió la absorbancia de ABTS diluido en buffer PBS a 734nm. Esta fue de $0,7000 \pm 0,02$.
 - c) Se preparó las soluciones del antioxidante trolox a las distintas concentraciones como se indica en la tabla a continuación. Para ello, se utilizó la solución stock de trolox 1mM (0,25mg/mL)

CUADRO 4. Composición de los patrones empleados en la curva de trolox

Muestra	[] Trolox (μ M)	Vol. sol. stock Trolox. (μ L)	Vol. de metanol (μ L)
1	4	16	984
2	6	24	976
3	8	32	968
4	10	40	960
5	12	48	952
6	14	56	944

- d) Inmediatamente se tomó 500 μ L de cada tubo y se adicionó a 1500 μ L de solución de ABTS, previamente colocados en cubetas de cuarzo o metacrilato. En el caso del blanco se tomaron 500 μ L de solución de metanol 80% y 1500 μ L de buffer PBS.
- e) Se homogenizaron las soluciones y se dejó reaccionar durante 7 minutos. Inmediatamente se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 734nm.

2. Tratamiento de la muestra

- a) Se pesó 250mg de muestra fresca en tubo para centrifuga, se agregó 3 mL de metanol al 80% y se agitó en el vortex durante 15 min.
- b) Se centrifugó la mezcla a 5000 rpm durante 15 min. Se recuperó el sobrenadante y se transfirió a una fiola de 5mL.
- c) Se agregó al residuo 1,5mL de metanol al 100%, se agitó en el vortex durante 15 min y centrifugó a 5000 rpm durante 15 min a 5°C.
- d) Se recuperó el sobrenadante y se transfirió a la fiola que contenía el sobrenadante obtenido de la primera centrifugación (paso b) y se enrazó la fiola a 5mL

3. Lectura de la muestra

- ❖ Se realizó la dilución de la muestra, para lo cual se tomó 2mL de la muestra inicial (de la fiola de 5mL) y se enrazó a 10mL con metanol al 80%.
- a) Se preparó una serie de tres (03) tubos de hemólisis de 5mL, se emplearon 500µL del extracto de la muestra en la cubeta y 1500µL de solución ABTS, se homogenizó y dejó reaccionar durante 7 minutos. Se hizo la lectura de la absorbancia a 734nm.

3.4.5.3. Determinación de fenoles totales

Consideraciones:

- ✓ En todas las etapas del experimento el agua utilizada fue de calidad ultra pura (miliQ).

Se prepararon previamente las siguientes soluciones

- a) Solución stock de Ácido gálico 10 mg/mL [10 mL]

Se pesó 10mg de ácido gálico ($M = 170,12 \text{ g/mol}$) y disolvió en 1mL de metanol, luego se aforó con agua a 10mL.

b) Solución stock de ácido gálico 1000 $\mu\text{g/mL}$ [10 mL]

Se tomó 1 mL de la solución preparada en a) y se colocó en un fiola de 10 mL, luego se enrasó con agua ultra pura.

c) Solución de Carbonato de sodio anhidro 20 % p/v [100 mL]

Se pesó 20g de carbonato de sodio ($M = 105,99 \text{ g/mol}$) anhidro y se disolvió en 80 mL de agua hirviente. Se enfrió a temperatura ambiente, después de 24 horas, se filtró sobre papel y aforó a 100mL con agua.

d) Reactivo comercial de Folin-Ciocalteu

e) Metanol HPLC o PA

1. Preparación de la curva estándar o patrón

a) Se preparó una serie de 6 tubos de 13x100mL y se agregó a cada uno de ellos y en el orden siguiente: agua ultra pura, reactivo de Folin-Ciocalteu y la solución patrón de 1000 $\mu\text{g/mL}$ de ácido gálico, según las cantidades indicadas en la tabla mostrada abajo. Se agitó para homogenizar la mezcla y luego se dejó en reposo durante 3 minutos a 20°C.

b) Inmediatamente se agregó a cada uno de los tubos 100 μL de solución de carbonato de sodio al 20% y se calentó en baño de agua a 40°C durante 20 min.

c) Transcurrido ese tiempo se enfrió rápidamente en baño de hielo (o agua con hielo) y luego se procedió a la lectura a 760 nm en el espectrofotómetro UV.

d) Con los datos de absorbancia obtenidos, se construyó la curva estándar Absorbancia vs [ácido gálico] y determinó la ecuación de la recta.

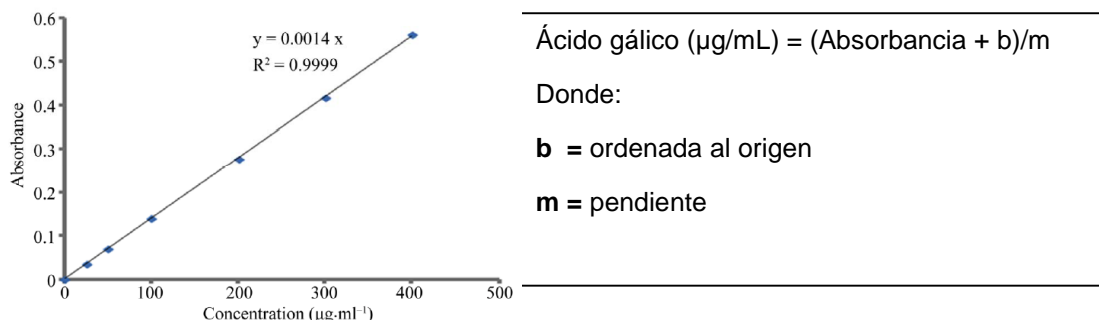
CUADRO 5. Composición de los patrones empleados en la curva de ácido gálico

N° de tubo	[] ác. gálico (µg/mL)	Vol. agua (µL)	Vol. Folin (µL)	Vol. sol. AG 1000 ppm (µL)	Vol. sol. Na ₂ CO ₃ 20% (µL)
Blanco	0	2375	0	0	125
1	10	2250	100	25	125
2	30	2200	100	75	125
3	50	2150	100	125	125
4	80	2075	100	200	125
5	100	2025	100	250	125

2. Tratamiento para frutos

- a) Se pesó 250mg de la almendra previamente molida en un micro tubo para centrifuga, se agregó 3mL de metanol al 80% y se agitó en el vortex durante 15 min.
- b) Se centrifugó la mezcla a 5000 rpm durante 15 min a 5°C. Se recuperó el sobrenadante y transfirió a otro micro tubo.
- c) Se agregó al residuo 1500µL de metanol al 100%, se agitó en el vortex durante 15 min y centrifugó a 5000 rpm durante 15 min.
- d) Se recuperó el sobrenadante y se transfirió al micro tubo que contenía el sobrenadante obtenido de la primera centrifugación [paso b)].
- e) Se ajustó el volumen a 5mL con agua. Se protegió de la luz el micro tubo con el extracto y se mantuvo a -20° C, hasta su uso.
- f) Se tomó 100µL de la muestra y se colocó dentro de un tubo de 13x100mm. Se adicionó 2200µL de agua y 100µL del reactivo de Folin; se homogenizó y dejó en reposo por 3 minutos. Luego se procedió de manera similar a los pasos b), c) y d) de la curva patrón.
- g) Se calculó el contenido de fenoles a partir del valor de absorbancia obtenido y de la curva de calibración del ácido gálico. Se expresó el contenido de fenoles de la muestra en mg de ácido gálico/g de muestra.

GRÁFICA 1. Curva estándar de ácido gálico



Con el valor de absorbancia (A_{muestra}) obtenido para la muestra se calculó el contenido de ácido gálico ($[\text{AG}_{\text{muestra}}]$) utilizando la ecuación de la recta.

Con el valor de absorbancia (A_{muestra}) obtenido para la muestra se realizó los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{mg de AG}}{\text{g muestra}} = \frac{([\text{AG}_{\text{muestra}}] (\text{mg/mL}) \times V_{\text{sol. extracto}} (\text{mL}))}{W_{\text{muestra}}(\text{g})}$$

3.4.6. Determinación del perfil de ácidos grasos por GC (AOCS Ce 2-66)

Se pesó $0,4 \pm 0,01\text{g}$ de aceite en un balón de 250mL. Se añadió 6mL de NaOH 0,5 N en metanol y se llevó a reflujo (5-10 minutos) hasta saponificar completamente (los glóbulos de grasa deben desaparecer en la solución).

Luego, se añadió 7mL de reactivo BF_3 -metanol a través del condensador, se dejó hervir por un minuto más; se retiró del fuego, se removió el condensador e inmediatamente se añadió 15mL de NaCl saturado. Se agitó durante 30 segundos.

Posteriormente se transfirió la mezcla a una pera de separación, se lavó dos veces con 50mL de éter de petróleo. Se descartó la capa acuosa, lavando la capa de éter de petróleo varias veces con 100mL de agua destilada hasta que la fase acuosa se torne alcalina con el indicador rojo de metilo. Se transfirió la capa de éter de petróleo a un vaso de precipitado añadiendo 2g de sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó el solvente en baño maría a 40°C , inmediatamente se adicionó 1mL de heptano a la muestra resultante (la

muestra no utilizada se almacenó a -5°C), posteriormente se programó el equipo de cromatografía gaseosa bajo las condiciones mostradas en el cuadro 6.

CUADRO 6. Condiciones del método de perfil de ácidos grasos por cromatografía gaseosa

Condiciones	GC-FID
Nombre del método	Plukenetia 08.12.15METH
Tipo / dimensiones de la columna	VF-WAX CP 9207/ 60m x 0,25mm x 0,39mm
Volumen/modo de inyección	1 μL , en columna
Temperatura del inyector	250 $^{\circ}\text{C}$
Temperatura inicial del horno	190 $^{\circ}\text{C}$ (por 3 min)
Rampa de calentamiento	1,3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$
Temperatura final	230 $^{\circ}\text{C}$
Flujo	1,5 mL/min
Tiempo de corrida	48,77 min
Temperatura del detector	Fuente: 270 $^{\circ}\text{C}$
Flujos de gases en el detector (FID)	Flujo de hidrógeno: 30mL/min Flujo de aire: 300 mL/min Modo: flujo de ajuste constante (25mL/min) Gas de ajuste: Helio

CAPÍTULO IV

4. DISCUSIONES Y RESULTADOS

4.1. Análisis proximal

Los análisis proximales para determinar la composición en macronutrientes fueron llevados a cabo en la almendra del sachá inchi para las dos especies estudiadas. Como primer resultado, la semilla de *Plukenetia huayllabambana* mostró estar constituida por 33,2% de cáscara y 66,8% de almendra; para *Plukenetia carolis-vegae* se obtuvo 32,8% de cáscara y 67,2% de almendra. Asimismo, el tamaño de la semilla de los frutos es muy variable y característica de la variedad, clima, suelo, cultivo entre otros.

Las semillas de *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae* estudiadas son ligeramente más pequeñas que las descritas por Bussmann *et al.*, 2009-2013, las semillas presentan características morfológicas similares, son de color marrón claro, de forma esférica y crestas pronunciadas.

CUADRO 7. Rendimiento de semilla y almendra de dos especies de sachá inchi

Muestra	Semilla*			Almendra*		
	Peso (g)	M. Long. (cm)	M. Ecu. (cm)	Peso (g)	M. Long. (cm)	M. Ecu. (cm)
<i>P. huayllabambana</i>	2,95 ± 0,24	2,20 ± 0,03	2,37 ± 0,04	2,21 ± 0,08	1,66 ± 0,05	1,88 ± 0,03
<i>P. carolis-vegae</i>	2,94 ± 0,11	2,31 ± 0,05	2,37 ± 0,03	1,97 ± 0,08	1,67 ± 0,04	1,86 ± 0,03

En el cuadro 8 se presentan los resultados del análisis proximal de la almendra de las dos especies de sachá inchi.

CUADRO 8. Análisis proximal de dos especies del género *Plukenetia*

Análisis Proximales	<i>Plukenetia carolis</i>	<i>Plukenetia huayllabambana</i>
% Humedad	6,90 ± 0,06	7,68 ± 0,09
% Cenizas	2,59 ± 0,01	2,80 ± 0,06
% Aceites y grasas	49,28 ± 0,49	48,82 ± 0,55
% Proteínas	14,26 ± 0,14	8,83 ± 0,13
% Fibra cruda	3,33 ± 0,11	3,58 ± 0,14
% Carbohidratos	23,64 ± 0,23	28,29 ± 0,26

El contenido de humedad de las almendras estudiadas fue mayor en *Plukenetia huayllabambana* con 7,68% y *Plukenetia carolis-vegae* con 6,90%, estos valores son mayores respecto a la especie *Plukenetia volubilis* (6,4% en muestra fresca) según lo descrito por Pascual & Mejía, 2000, pero menores a los reportados para el maní que tiene un porcentaje de humedad de 9% (Codex, 1995). Este parámetro es importante, ya que constituye un factor de calidad, lo cual indica que permite almacenarse bajo condiciones adecuadas, evitando daños por parte de los microorganismos a los triglicéridos u otras sustancias de alto valor nutricional, así como también impide reacciones en medio acuoso que conduzcan al deterioro de la misma.

El contenido de cenizas obtenido en el presente estudio fue de 2,80% para *Plukenetia huayllabambana* y 2,59% para *Plukenetia carolis-vegae*, ambas especies presentan un valor cercano al encontrado en bibliografías anteriores tales como Pascual & Mejía (2010) y Merino *et al.* (2008) respecto a *Plukenetia volubilis* con 2,9% y 2,44% respectivamente. La utilidad de esta fracción se encuentra asociada al contenido de minerales.

El contenido de aceite para *Plukenetia huayllabambana* (48,82%) y *Plukenetia carolis-vegae* (49,28%) es superior respecto a *Plukenetia volubilis* según los valores reportados por Gutiérrez *et al.*, 2011 en las cuales se ha determinado un contenido de aceite de 42% para esta especie en base húmeda.

Según los datos presentados en el cuadro 8, se puede observar que los valores de fibra cruda para *Plukenetia huayllabambana* (3,58%) y *Plukenetia carolis-vegae* (3,33%) obtenidos en el presente estudio son bajos en comparación a los valores reportados por Pascual & Mejía (2000) con 11,30% para la especie *Plukenetia volubilis*, sin embargo al comparar con otras oleaginosas como maní y girasol sus valores son próximos.

En cuanto al contenido de proteína se observa diferencia significativa en las semillas estudiadas; para *Plukenetia huayllabambana* se obtuvo un valor de 8,83%, cuyo porcentaje es bastante menor a los presentados por Muñoz *et al.*, 2013 con 21.13% para esta misma especie. Asimismo, *Plukenetia*

carolis-vegae reportó un valor de 14,26%. Cabe resaltar que el contenido de proteína de ambas especies es también menor a la de *Plukenetia volubilis* reportados en la literatura (Hamaker B., 1992) con 27%.

El porcentaje de carbohidratos fue determinado por diferencia, siendo *Plukenetia huayllabambana* la especie de mayor contenido con 28,29% seguido de *Plukenetia carolis-vegae* con y 23,64%.

4.2. Contenido de minerales

Los resultados encontrados en las dos especies de sachá inchi indican que éstos contribuyen con cantidades importantes de minerales a las ingestas diarias.

CUADRO 9. Contenido de minerales de dos especies del género *Plukenetia*

Minerales (mg/100g m.f)	<i>Plukenetia huayllabambana</i>	<i>Plukenetia carolis-vegae</i>
Na	118,14 ± 15,61	120,29 ± 2,63
K	710,69 ± 17,73	686,04 ± 18,05
Ca	77,00 ± 8,51	120,63 ± 1,95
Mg	244,56 ± 8,33	282,58 ± 1,75
Mn	0,57 ± 0,02	0,53 ± 0,03
Fe	3,61 ± 0,03	3,83 ± 0,05
Zn	5,46 ± 0,53	5,11 ± 0,46
Cu	3,78 ± 0,04	3,12 ± 0,15

El mayor contenido de magnesio lo presenta *Plukenetia carolis-vegae* con 282,58mg/100g seguido de *Plukenetia huayllabambana* con 244,56mg/100g, siendo ambas especies superiores a *Plukenetia volubilis* que reporta un contenido de magnesio de 216,89mg/100g (Merino *et al.*, 2008). Teniendo en cuenta que la ingesta diaria recomendada de este mineral según la FAO/OMS es de 240mg, tanto *Plukenetia carolis-vegae* como *Plukenetia huayllabambana* representan una fuente considerable de este mineral.

La concentración de potasio es similar en *Plukenetia carolis-vegae* y *Plukenetia huayllabambana* con 686,04mg/100g y 710,69mg/100g respectivamente. Sin embargo, ambas especies presentan valores superiores

respecto a *Plukenetia volubilis* cuyo contenido es de 586,87mg/100g. Asimismo, *Plukenetia carolis-vegae* y *Plukenetia huayllabambana* contribuyen en gran medida a cubrir la ingesta de potasio de 470mg/día (FAO/OMS, 1995).

4.3. Caracterización fisicoquímica del aceite

El aceite de sachu inchi obtenido de las dos especies en estudio presentó un color amarillo pálido debido a pigmentos propios de la semilla; un aspecto líquido por encima de 4°C lo cual indica la presencia de ácidos grasos poliinsaturados.

Los aceites se caracterizaron con respecto a constantes fisicoquímicas de importancia para la industria de aceites como la NTP (Norma Técnica Peruana), los resultados se presentan en el cuadro 10.

CUADRO 10. Análisis fisicoquímicos de dos especies del género *Plukenetia*

Análisis de las propiedades fisicoquímicas del aceite	<i>Plukenetia carolis-vegae</i>	<i>Plukenetia huayllabambana</i>
Ácidos grasos libres (% ácido oleico)	0,80 ± 0,01	0,86 ± 0,01
Índice de saponificación (mg KOH/100g)	191,13 ± 0,32	185,09 ± 0,32
Índice de Peróxido (meq O ₂ /Kg)	4,04 ± 0,01	6,06 ± 0,01
Índice de yodo (g I/100g)	199,07 ± 0,01	196,90 ± 0,06
Contenido de fósforo (ppm)	0,16 ± 0,02	0,17 ± 0,01
Materia insaponificable (%)	0,32 ± 0,01	0,20 ± 0,01
Densidad (g/cm ³)	0,9252 ± 0,01	0,9288 ± 0,01

Al observar los datos se encuentra que, debido a que la densidad es una propiedad física de los aceites, y que, en razón de las grandes semejanzas entre sus moléculas de triglicéridos, en las dos especies no se presentan diferencias notables.

Los aceites presentaron un color amarillo pálido (*carolis*>*huayllabambana*>*volubilis*), con valores de densidad a 20°C comprendidas entre 0,92-0,93 g/cm³ (cuadro 10). La medida de densidad de *Plukenetia huayllabambana* (0.9288g/cm³) es cercano a lo presentado en la

Norma Técnica Peruana para esta especie con 0.9320g/cm^3 . Los valores de densidad calculados para *Plukenetia huayllabambana* ($0,929\text{g/cm}^3$) y *Plukenetia carolis-vegae* ($0,925\text{g/cm}^3$) son ligeramente más altos que aquellos reportados para otros aceites vegetales tales como los del maní ($0,915\text{g/cm}^3$) y el aceite de oliva ($0,918\text{g/cm}^3$), CODEX, 1999.

El índice de yodo indica el grado de insaturación de los aceites y grasas. Se puede decir también que se expresa como el número de gramos de yodo absorbidos por 100 gramos de grasa o aceite. Las especies *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae* presentan un contenido de yodo de $196,90\text{g I/100g}$ y $199,07\text{g I/100g}$ respectivamente, los cuales son superiores al índice de aceites marinos, como el de la sardina ($189\text{-}193\text{g de I/100g grasa}$) (Mehlenbacher *et. al* 1994), y al de la especie *Plukenetia volubilis*, cuyo índice de yodo es de 189g I/100g (Pascual & Mejía 2000). Cabe resaltar que para la especie *Plukenetia huayllabambana*, el índice de yodo obtenido en el presente estudio es cercano al reportado en la Norma Técnica Peruana ($199,61\text{ g I/100g}$). *Plukenetia carolis-vegae* presenta el mayor valor ($199,07\text{ g I/100g}$), este índice se explica por la alta insaturación del aceite de *Plukenetia carolis-vegae*, pues, presenta un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados. Debido a su alto índice de yodo, este aceite tiene propiedades secantes.

El valor de saponificación se mide como el peso en miligramos del hidróxido de potasio requerido para hidrolizar (saponificar) un gramo de grasa. El índice de saponificación del aceite de *Plukenetia huayllabambana* en el presente estudio ($185,09\text{mgKOH/100g}$), es similar al reportado recientemente en el Caquetá para *Plukenetia volubilis* ($185,2\text{mg KOH/g}$). Sin embargo se aprecia que los valores de estos índices en comparación con lo obtenido en *Plukenetia carolis-vegae* ($191,13\text{mg KOH/100g}$) son inferiores, lo cual nos indica que el peso molecular de los ácidos grasos libres presentes en *Plukenetia carolis-vegae* son menores respecto a las otras dos especies.

El índice de peróxido para los aceites en estudio fueron de $6,06\text{meq O}_2/\text{Kg}$ para *Plukenetia huayllabambana* y $4,04\text{meq O}_2/\text{Kg}$ para *Plukenetia*

carolis-vegae, siendo esta última, el aceite con mayor estabilidad oxidativa; sin embargo, las dos especies estudiadas muestran ser aptas para el consumo humano, ya que el límite máximo permisible es de 10meq O₂/Kg de aceite según la Norma Técnica Peruana (NTP 151.400). Este valor también indica que el aceite no ha presentado durante los procesos de almacenamiento y extracción deterioros en su composición de ácidos grasos insaturados, al no superar el valor máximo de 20meq/Kg. Indicando que el aceite no es altamente propenso a generar rancidez oxidativa a cortos tiempos de almacenamiento (Ordóñez, 2013).

Respecto a los ácidos grasos libres expresados como porcentaje de ácido oleico, no se reportan diferencias significativas entre los diferentes aceites de las especies estudiadas (cuadro 10). Los valores de ácidos grasos libres para *Plukenetia carolis-vegae* y *Plukenetia huayllabambana* fueron de 0,80% y 0,86% respectivamente, estos valores sugieren que los aceites de las muestras estudiadas se encuentran en buenas condiciones y son aptas para consumo.

El fósforo en los aceites vegetales está presente en forma de fosfolípidos, como se observa en el cuadro 10, no se encontraron diferencias significativas en las dos especies, esto confirma lo indicado por el índice de peróxido, ya que a mayor contenido de fósforo, menor es la estabilidad a la oxidación.

En cuanto a la fracción insaponificable, el aceite de *Plukenetia carolis-vegae* (0,32%) presentó diferencia significativa en relación a los aceites de *Plukenetia huayllabambana* con 0,17%. Normalmente, la materia insaponificable se encuentra en las grasas y aceites comunes, tanto animales como vegetales en cantidades del 1% al 2%, o menos (Mehlenbacher, 1979), en esta fracción se incluye a los más altos alcoholes alifáticos, esteroides, pigmentos e hidrocarburos, por lo que se explica el característico color amarillo ligeramente más intenso en *Plukenetia carolis-vegae* que en *Plukenetia huayllabambana*.

4.4. Actividad antioxidante y fenoles totales

Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante por los métodos indicados (cuadro 11) se han expresado en miligramos de ácido gálico por gramo de muestra fresca (mg AG/gMF) o micromolar de Trolox por gramo de muestra fresca ($\mu\text{mol trolox/gMF}$), para las dos especies de sachá inchi.

CUADRO 11. Actividad antioxidante y fenoles totales de dos especies del género *Plukenetia*

Ensayos	Método		
	DPPH ($\mu\text{mol trolox/gMF}$)	ABTS ($\mu\text{mol trolox/gMF}$)	Fenoles totales (mg AG/gMF)
Especies			
<i>P. huayllabambana</i>	2,12 \pm 0,01	2,63 \pm 0,03	3,22 \pm 0,04
<i>P. carolis</i>	2,30 \pm 0,01	3,38 \pm 0,04	3,85 \pm 0,07

La actividad de barrido de radicales libres para el aceite de sachá inchi se determinó empleando DPPH (α,α -difeníl-b-picril-hidrazilo) y ABTS (ácido 2,2'azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6- sulfónico). La media de los valores de TEAC determinados por DPPH fueron de 2,12 $\mu\text{mol trolox/g}$ para *Plukenetia huayllabambana* y 2,30 $\mu\text{mol trolox/g}$ para *Plukenetia carolis-vegae*. Siendo este último el más resaltante, lo cual indica que es el mejor captador de radicales DPPH. Cabe resaltar que la actividad antioxidante presentada por las dos especies estudiadas es superior a algunos frutos amazónicos como la carambola (0,19 $\mu\text{mol trolox/gMF}$) (Chire, 1997) y la guaba (2,2 $\mu\text{mol trolox/gMF}$) (Silva *et al*, 2006).

Los resultados muestran que para todas las especies, los valores de ABTS expresados como TEAC son mayores que en la técnica con DPPH, debido a que el DPPH es más selectivo que el ABTS $\bullet+$ y, a diferencia de este último, no reacciona con los flavonoides carentes de grupos hidroxilo.

El análisis de la relación entre la actividad captadora de radicales, DPPH y ABTS, y el contenido de fenoles, muestra una correlación positiva, lo que

sugiere que la actividad antioxidante en las dos especies se debe mayoritariamente a la contribución de los compuestos fenólicos.

4.5. Perfil de ácidos grasos

La composición en ácidos grasos de los aceites estudiados se resume en el cuadro 12. Las muestras analizadas presentan en su composición un alto contenido de insaturaciones, constituido en un rango de 8-9% por ácidos grasos monoinsaturados y un 84% por ácidos grasos poliinsaturados, lo cual explica el alto índice de yodo presentado en los parámetros fisicoquímicos del aceite. También se encontró un bajo contenido de ácidos grasos saturados de entre 6,36-6,9%.

CUADRO 12. Perfil de ácidos grasos de dos especies del género *Plukenetia*

Ácidos grasos	<i>P. carolis</i>	<i>P. huayllabambana</i>
Ácido palmítico (C16:0)	4,82 ± 0,04	4,45 ± 0,03
Ácido esteárico (C18:0)	1,78 ± 0,04	1,91 ± 0,05
Ácido oleico (C18:1)	8,23 ± 0,02	8,30 ± 0,04
Ácido vaccénico (C18:1)	0,80 ± 0,02	0,73 ± 0,02
Ácido linoleico (C:18:2)	27,30 ± 0,10	25,90 ± 0,07
Ácido linolénico (C18:3)	57,06 ± 0,10	58,71 ± 0,14
% AG Saturados	6,60 ± 0,04	6,36 ± 0,04
% AG Insaturados	93,40 ± 0,07	93,64 ± 0,08

Es notorio que más del 90% del aceite está constituido por ácidos grasos insaturados, destacándose el linoléico (ω -6), con 27,30% para *Plukenetia carolis-vegae* y 25,90% para *Plukenetia huayllabambana*; es importante resaltar que estos valores no superan al porcentaje de ácido linoleico presente en la soya cuyo contenido es de un 55,2% (Romo S., 2006). Sin embargo confirma lo sugerido por el índice de saponificación.

El perfil de ácidos grasos indica que el porcentaje de ácido linolénico (ω -3) es similar y mayoritario en las dos especies, obteniéndose para *Plukenetia carolis-vegae* un 57,06% y para *Plukenetia huayllabambana* un 58,71%. Es importantísimo señalar que la razón entre ω -6/ ω -3 juega un papel

preponderante en la prevención y desarrollo de enfermedades crónicas como la artritis, cáncer, enfermedades cardiovasculares o el asma (Simopoulos, 2006), por lo tanto, el consumo de estos ácidos grasos insaturados según la Norma ATP III (Adult Treatment Panel III) debe ser en proporción igual o menor a 5:1. En el presente estudio, el ratio obtenido para *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae* fue de 1:2, lo cual clasificaría al aceite de sachá inchi como un alimento privilegiado para el consumo humano.

CONCLUSIONES

- ✚ En el análisis proximal de las especies de sachá inchi estudiadas, se encontró que *Plukenetia carolis-vegae* presenta el menor porcentaje de humedad (6,90%) y que, en promedio tiene mayor cantidad de proteínas y aceite con un 14,26% y 49,28% respectivamente. El contenido de cenizas fue mayor en *Plukenetia huayllabambana* (2,80%).
- ✚ En relación al contenido de minerales, ambas especies son aportadores importantes de potasio y magnesio, cuyas concentraciones cubren en su totalidad la ingesta diaria de estos minerales; para *Plukenetia huayllabambana* se obtuvo un valor de 710,69mg/100gMF de potasio y 244,56mg/gMF de magnesio, para *Plukenetia carolis-vegae* se reportó un contenido de 686,04mg/100gMF y 282,58mg/100gMF de potasio y magnesio respectivamente.
- ✚ Los ácidos grasos libres expresados en porcentaje de ácido oléico fueron de 0,80% para la especie *Plukenetia huayllabambana* y para la especie *Plukenetia carolis-vegae* se obtuvo un valor de 0,86%. En cuanto al índice de yodo, tanto *Plukenetia carolis-vegae* (199,07g I/100g) como *Plukenetia huayllabambana* (196,90g I/100g) presentan valores elevados debido al alto grado de insaturaciones de su cadena hidrocarbonada. El índice de peróxido en el aceite de las especies estudiadas fueron de 6,06meqO₂/kg para *Plukenetia huayllabambana* y para *Plukenetia carolis-vegae* de 4,04meqO₂/kg evidenciando que ambos aceites son aptos para el consumo humano.
- ✚ Los ensayos de actividad antioxidante permitieron corroborar que el aceite de sachá inchi es una fuente natural de antioxidantes siendo *Plukenetia carolis-vegae* la más resaltante, y que convierten a esta oleaginosa en una especie promisoriosa para el aislamiento de principios activos que permitan inhibir o neutralizar sustancias oxidantes en exceso y mantener un equilibrio entre la cantidad de especies reactivas necesarias y benéficas, y las defensas antioxidantes.

✚ El perfil de ácidos grasos demostró que las especies *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia carolis-vegae* presentan un alto contenido de ácidos grasos insaturados con 93,64% y 93,40% respectivamente; siendo el ácido linolénico (omega 3) el mayoritario en ambas especies (para *Plukenetia carolis-vegae* se obtuvo un 57,06%, y para *Plukenetia huayllabambana* un 58,71%) con respecto a los demás ácidos grasos como el oleico, se reportó para *Plukenetia carolis-vegae* 8,23% y para *Plukenetia huayllabambana* un 8,30%, ácido linoleico (27,30% para *Plukenetia carolis-vegae* y para *Plukenetia huayllabambana* 25,90%) demostrando que el aceite de sachá inchi es una buena fuente de este ácido graso esencial, cuyo consumo está asociado a un riesgo menor de enfermedades cardiovasculares.

RECOMENDACIONES

- ❖ Se recomienda realizar la evaluación del contenido de tocoferoles y tocotrienoles, así como medir la estabilidad de los aceites antes de incluirlos al mercado.
- ❖ Se recomienda tener absoluto cuidado en el transporte y tratamiento post cosecha ya que puede repercutir en los parámetros de calidad del aceite.
- ❖ Se recomienda aprovechar su fuente de ácidos grasos esenciales en la elaboración de suplementos alimenticios, donde el aceite extraído de la almendra tiene diferentes usos y aplicaciones; como el medicinal en la elaboración de un alimento funcional; en cosmetología como base natural para cosméticos orgánicos naturales, rejuvenecedores de la piel; de forma comestible en productos como margarina y aceite de mesa.
- ❖ Se recomienda el aprovechamiento de la torta en procesos como la panificación en general, alimentos dietéticos, alimento para animales como vacunos, aves porcinos, ovinos, caprinos, cuyes, conejos, etc.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adult Treatment Panel III (ATP III). Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults. 2001 May 16;285(19):2486-97.
2. Agroindustrias Amazónicas, Proyecto Omega, 2001
3. Anaya Yábar, José. Agroindustrias Amazónicas, Sacha Inchi, publicación 2001.
4. A.O.A.C, 1984. Official Methods for Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th edition. Arlington, VA, 1141 pp.
5. A.O.A.C. Fivetenth edition. Manual of Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 1990, USA.
6. A.O.C.S American Oil Chemist's Society, 2014.
7. Bailey, Philip y BAILEY, Cristina. Química Orgánica. Conceptos y aplicaciones. 5 ed. México: Pearson educación, 1998
8. Bailey, L.L. 1949. Manual of cultivated plants. The Mac Millan Co. New York. 118 p.
9. Belitz, H.-D., Grosch W. Schieberle P. Food Chemistry, 4th revised and extended edition, Berlín, 2009.
10. Bouziane M, P. J. (1994). Changes in fatty acid composition of total serum and lipoproteins particles, in growing rats given protein-deficients diet with

- either hydrogenated coconut or salmon oils as fat sources. *Brit. J. Nut.*, 71, 375-387.
11. Brack A; PNUD. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Cuzco: Centro de Estudios Regionales Andinos “Bartolomé de las Casas” (CBC); 1999.
 12. Bussmann R.W., C. Téllez & A. Glenn. 2009. *Plukenetia huayllabambana* sp. nov. (Euphorbiaceae) from the upper Amazon of Peru. *Nordic Journal of Botany* 27: 313-315.
 13. Bussmann, R.W; Zambrana, NP; Tellez, C. 2013. *Plukenetia carolis-vegae* (Euphorbiaceae) - A New Useful Species from Northern Peru. *Economic Botany*, 67 (4): 387.
 14. Chile, Instituto Nacional de Normalización, INN. 1981. Cuerpos grasos de origen animal y vegetal - Método para determinar la acidez libre, índice de acidez y acidez mineral. NCh95.Of 1981.
 15. Chire, T; Dávila R, 1997. Determinación de taninos, vitamina c y capacidad antioxidante en diferentes estado de madurez de los frutos en carambolas (*Averthoa carambola* L.)
 16. CODEX STAN 200-1995. Norma del codex para el maní. Composición esencial y factores de calidad.
 17. CODEX STAN 210-1999. Norma del Codex para aceites vegetales especificados. FAO/OMS.
 18. Coronado M, Vega y León S, Gutiérrez R, García B, Díaz G. 2006. Los Ácidos grasos Omega-3 y Omega-6: Nutrición, Bioquímica y Salud. *REB.* 25, 72-79.
 19. Correa, J. E. & Bernal, H. Y. 1992. Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello (Esp. Veg. Prom.) Vol. 7:577-596 pp.

20. Dall T, Bays H. Addressing lipid treatment targets beyond cholesterol: a role for prescription omega-3 fatty acid therapy. *South Med J.* 2009;102(4):390-6.
21. Dostert, N., Roque, J., Brokamp, G., Cano, A., La Torre, M.I., Weigend, M. 2009: Desarrollo de monografías botánicas (factsheets) para cinco cultivos peruanos. Hojas Botánicas: Sachá inchi – *Plukenetia volubilis* L. Proyecto Perú biodiverso – PBD: 11 pp.
22. FAO/OMS, 1995. Comisión del Codex Alimentarius: Manual de procedimiento. (Novena edición). FAO, Roma.
23. Fennema O., Química de los alimentos. Editorial Acribia, 1993. Segunda Edición.
24. Follegatti-Romero, L.A., Piantino, C.R., Grimaldi, R., Cabral, F.A. *Journal of Supercritical Fluids*, 2009; 49, 323.
25. Gillespie L.J. 1993. A synopsis of Neotropical *Plukenetia* (Euphorbiaceae) including two new species. *Systematic Botany* 18 (4): 575 – 592.
26. Gómez, J. (2005). Monografía y cultivo de sachá inchi(*Plukenetia volubilis*): oleaginosa promisoría para la diversificación productiva en el trópico. (Corpoica-Pronatta, Ed.) Bogotá, Colombia.
27. Guillen MD, R. A. (2003). characterization of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and ¹H NMR. Comparison with linseed oil. *J. Am. Oil Chem Soc*, 80, 755-762.
28. Gutiérrez L. F., R. L. (2011). Chemical composition of Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y aceites*, 62 (1), 76-83.

29. Hamaker B.R; C. Valles; R. Gilman; R.M Hardmeier; D. Clark; H.H García; A.E Gonzales. Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volúbilis*). Cereal chemistry notes, vol. 69, N° 4, págs. 461-463, 1992.
30. Hazen y Stoewesand. (1980) Resultados de análisis del aceite y proteína del cultivo de sachá inchi. Universidad de Cornell. USA.
31. Herrera, W., Hernández, C., & Yurany, M. (2010). Potencial industrial de plantas oleaginosas del Caqueta, Amazonia Colombiana. Ingenierías & Amazonia , 28-39.
32. Heywood, V. H. " Las plantas con flores". Ed. Reverté S. A.Barcelona. p. 181 (1985).
33. UNE-EN ISO 6865: alimentos para animales: determinación del contenido de fibra bruta: método con filtración intermedia : (ISO 6865:2000), Asociación Española de Normalización y Certificación Editor AENOR, 2001.
34. Latham, M. 2002. Nutrición humana en el mundo en desarrollo. FAO, Roma, Italia. 531 p.
35. Lawson, H. 1999. Aceites y grasas alimentarios. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 333 p.
36. Macbride, J.F. 1951. Euphorbiaceae, Flora of Peru. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 13(3A/1): pág. 3–200.
37. Manco, E. Informes de Resultados de Investigación. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología. E.E. “El Porvenir”. Años 1 996 – 2 003.
38. Mark R, M. B. (1999). Can antioxidants vitamins materially reduce oxidative damage in humans. Free Radic Biol Med, 26 (7/8), 1034-1053.

39. Masson, L. & Mella, M. 1985. Materia grasa de consumo habitual y potencial en Chile: Composición de los ácidos grasos. Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 31 p.
40. Mehlenbacher, V.C 1979. Análisis de Grasas y Aceites. URMO S.A de Ediciones Bilbao, España.
41. Mehlenbacher, V.C.; Hopper, T.H.; E.M., Salle; Link, W.E.; R.O., Walker; R.C., Walker; D., Firestone D. (1994). Official methods and recommended practices of the american oil chemist society. AOCS PRESS.
42. Mensik RP, K. M. (1992). effects of dietary cis and trans acids on serum lipoprotein levels in a humans. J Lipids Res, 33, 1493-1501.
43. Merino Zegarra Claudia; Sotero Solís Víctor Erasmo; Del Castillo Torres Dennis; Vásquez Ramírez, Guillermo; Cachique Huansi Danter; Vásquez Ocmín Pedro Gilberto. Caracterización Química de nueve ecotipos de *Plukenetia Volubilis* de los departamentos de Loreto y San Martín. Folia Amazónica, vol. 17, pág. 39-45, 2008.
44. Merino Zegarra Claudia. Tesis Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos de diez ecotipos de *Plukenetia volubilis* L. (sachá inchi) de la Amazonía Peruana. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, 2009.
45. Moreiras O., Carbajal A., Cabrera L., Cuadrado C. Tablas de composición de alimentos. Universidad Complutense de Madrid., Departamento de nutrición. Editorial Pirámide, 1998.
46. Muñoz Jáuregui, Ana María., Alvarado-Ortiz Ureta, Carlos., Castañeda, Benjamín., Lizaraso Caparó, Frank., Barnett Mendoza, Edy., Cárdenas Lucero, Luis., Manco Céspedes, Emma. Estudio nutricional de *Plukenetia huayllabambana* sp. Nov. 2013.

47. Navarra T., The Encyclopedia of Vitamins, minerals and supplements, Second Edition, 2004.
48. Norma Técnica Peruana NTP 151.400.2014. Aceite. Requisitos. Segunda edición. Lima-Perú.
49. Ordóñez, Zully., Análisis composicional de la torta y aceite de semillas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) cultivada en Colombia. 2013.
50. Pascual Ch. G. Mejía L. M. 2000. Extracción y Caracterización de Aceite de Sachá Inchi. Anales científicos.
51. Rembado M., Sceni P., La Química en los Alimentos, Colección Las Ciencias Naturales y las Matemáticas. Instituto Nacional de Educación Tecnológica, Buenos Aires, 2009.
52. Romo S., R. A. (2006). Potencial nutricional de harinas de quinua (*Chenopodium quinoa* W) variedad piartal en los andes colombianos. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
53. Ruiz Méndez, M- V.; Garrido Fernández A.; Rodríguez Berbel F. C; Graciani Constante, E. «Relationships among the Variables Involved in the Physical Refining of Olive Oil Using Nitrogen as Stripping Gas».-*Fat/Lipid* (1996), 121-125.
54. Sanhueza J, N. S. (2002). Ácido linoléico conjugado: un ácido graso con isomería trans potencialmente beneficioso. *Rev. Chil. Nutr.*, 29(2).
55. Silva, E., Da Silva, J., Pena, R., Rogez, H. A combined approach to optimize the drying process of flavonoid-rich leaves (*Inga edulis*) using experimental design and mathematical modelling. 2006, pág. 39-46.
56. Simopoulos, A.P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. The Center for Genetics, Nutrition and Health. Washington, DC, USA. 2006.

57. Soukup, J. 1987. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana y catálogo de los géneros. Editorial Salesiana. Lima – Perú. 436 pp.
58. Tapsell LC, Gillen LJ, Patch CS, Batterham M, Owen A, Baré M, et al. Including walnuts in a low-fat/modifiedfat diet improves HDL cholesterol-to-total cholesterol ratios in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*.2004;27(12):2777-83.
59. Téllez C. & A. Glenn, *Plukenetia huayllabambana* Bussmann, A working list of all plant species, 2013.
60. Valenzuela, A., Manzini, J., Toussaint, G., Uauy, R. y Pineda, J. 1999a. Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Departamento de Nutrición y Salud Humana. División de vitaminas Roche México. N°1. 8 p.
61. Ziller, S. 1996. Grasas y aceites alimentarios. IX. Productos elaborados con grasas y aceites. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. 50pp.

ANEXOS

Anexo 1. Cálculo del %humedad de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>		
	1	2	3	1	2	3
Crisol vacío (g)	33,6211	34,0224	38,1805	34,0960	39,8480	36,1055
Muestra (g)	10,0004	10,0003	10,0004	10,0003	10,0004	10,0003
Crisol vacío + muestra seca (g)	42,8606	43,2585	47,4022	43,4112	49,1606	45,4098
Muestra seca (g)	9,2395	9,2361	9,2217	9,3152	9,3126	9,3043
% humedad	7,6087	7,6418	7,7867	6,8508	6,8777	6,9598
Promedio	7,6791			6,8961		
Desviación estándar	0,0947			0,0568		

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. \%H = \frac{10,0004 - 9,2395}{10,0004} \times 100 = 7,6087\%$$

$$2. \%H = \frac{10,0003 - 9,2361}{10,0003} \times 100 = 7,6418\%$$

$$3. \%H = \frac{10,0004 - 9,2217}{10,0004} \times 100 = 7,7867\%$$

$$\bar{X} = \frac{7,6087 + 7,6418 + 7,7867}{3} = 7,6791\% \rightarrow 7,68\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(7,6087 - 7,6791)^2 + (7,6418 - 7,6791)^2 + (7,7867 - 7,6791)^2}{3 - 1}} = 0,0947 \rightarrow 0,09$$

Anexo 2. Cálculo del % cenizas de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>		
	1	2	3	1	2	3
Crisol vacío (g)	36,3356	29,0760	32,0157	33,6747	32,3425	36,3366
Muestra (g)	2,0002	2,0001	2,0003	2,0003	2,0003	2,0003
Crisol vacío + ceniza (g)	36,3916	29,1309	32,0729	33,7264	32,3945	36,3882
ceniza (g)	0,056	0,0549	0,0572	0,0517	0,052	0,0516
% ceniza	2,7997	2,7449	2,8596	2,5846	2,5996	2,5796
Promedio	2,8014			2,5879		
Desviación estándar	0,0574			0,0104		

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. \%C = \frac{0,056}{2,0002} \times 100 = 2,7997\%$$

$$2. \%C = \frac{0,0549}{2,0001} \times 100 = 2,7449\%$$

$$3. \%C = \frac{0,0572}{2,0003} \times 100 = 2,8596\%$$

$$\bar{X} = \frac{2,7997+2,7449+2,8596}{3} = 2,8014\% \rightarrow 2,80\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(2,7997-2,8014)^2+(2,7449-2,8014)^2+(2,8596-2,8014)^2}{3-1}} = 0,0574 \rightarrow 0,06$$

Anexo 3. Cálculo del rendimiento de aceite de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>		
	1	2	3	1	2	3
Peso de balón (g)	100,5817	92,7131	95,7511	95,3064	104,4179	86,0641
Peso de muestra (g)	5,0011	5,0011	5,0011	5,0007	5,0008	5,0006
P. balón + P. aceite (g)	103,2426	95,3729	98,3646	97,9221	107,0736	88,733
Peso de aceite (g)	2,6609	2,6598	2,6135	2,6157	2,6557	2,6689
% aceite (m.s)	53,2063	53,1843	52,2585	52,3067	53,1055	53,3716
% aceite (m.f)	49,1580	49,1201	48,1893	48,7233	49,4531	49,6570
Promedio (m.f)	48,8225			49,2778		
Desviación estándar	0,5487			0,4909		

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. \%A = \frac{2,6609}{5,0011} \times 100 = 53,2063\%, \text{ en mf} \rightarrow 53,2063\% \times \left(1 - \frac{7,6087}{100}\right) \rightarrow 49,1580\%$$

$$2. \%A = \frac{2,6598}{5,0011} \times 100 = 53,1843\%, \text{ en mf} \rightarrow 53,1843\% \times \left(1 - \frac{7,6418}{100}\right) \rightarrow 49,1201\%$$

$$3. \%A = \frac{2,6135}{5,0011} \times 100 = 52,2585\%, \text{ en mf} \rightarrow 52,2585\% \times \left(1 - \frac{7,7867}{100}\right) \rightarrow 48,1893\%$$

$$\bar{X} = \frac{49,1580+49,1201+48,1893}{3} = 48,8225\% \rightarrow 48,82\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(49,1580-48,8225)^2+(49,1201-48,8225)^2+(48,1893-48,8225)^2}{3-1}} = 0,5487$$

Anexo 4. Cálculo del % proteínas de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i> (Base estándar: 0,2471M)			<i>Plukenetia carolis-vegae</i> (Base estándar: 0,2471M)			blanco
	1	2	3	1	2	3	
Peso de muestra (g)	0,2041	0,2042	0,2043	0,2003	0,2005	0,2004	0,2042
Vol. NaOH (mL)	39,1	39,1	39,15	40,25	40,2	40,2	37,2
% nitrógeno	3,2204	3,2188	3,3019	5,2677	5,1762	5,1787	
% proteína (m.d)	20,1276	20,1177	20,6370	32,9230	32,3510	32,3671	
% proteína (m.f)	8,7553	8,7510	8,9769	14,4288	14,1781	14,1852	
Promedio	8,8277			14,2640			
Desviación estándar	0,1292			0,1427			

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. \%P = \left(\frac{(39,1-37,2) \times 0,2471}{0,2041 \times 10} \times 14,01 \right) \times 6,25 = 20,1276\% \text{ en md}$$

$$\rightarrow 20,1276\% \times \left(1 - \frac{7,6791}{100}\right) \times \left(1 - \frac{52,8830}{100}\right) \rightarrow 8,7553\% \text{ en mf}$$

$$2. \%P = \left(\frac{(39,1-37,2) \times 0,2471}{0,2042 \times 10} \times 14,01 \right) \times 6,25 = 20,1177\% \text{ en md}$$

$$\rightarrow 20,1177\% \times \left(1 - \frac{7,6791}{100}\right) \times \left(1 - \frac{52,8830}{100}\right) \rightarrow 8,7510\% \text{ en mf}$$

$$3. \%P = \left(\frac{(39,15-37,2) \times 0,2471}{0,2043 \times 10} \times 14,01 \right) \times 6,25 = 20,6370\% \text{ en md}$$

$$\rightarrow 20,6370\% \times \left(1 - \frac{7,6791}{100}\right) \times \left(1 - \frac{52,8830}{100}\right) \rightarrow 8,9769\% \text{ en mf}$$

$$\bar{X} = \frac{8,7553+8,7510+8,9769}{3} = 8,8277\% \rightarrow 8,83\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(8,7553-8,8277)^2 + (8,7510-8,8277)^2 + (8,9769-8,8277)^2}{3-1}} = 0,1292 \rightarrow 0,13$$

Anexo 5. Cálculo del % fibra cruda de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>		
	1	2	3	1	2	3
Peso de muestra (g)	0,4713	0,4713	0,4712	0,4707	0,4708	0,4708
Crisol + muestra seca (g)	33,3924	38,6821	39,8884	19,0349	25,7526	34,8596
Crisol + ceniza (g)	33,355	38,6436	39,848	19,0000	25,7152	34,8245
% fibra (m.d)	7,9355	8,1689	8,5739	7,4145	7,9439	7,4554
% fibra (m.f)	3,4519	3,5534	3,7295	3,1563	3,4815	3,2674
Promedio	3,5783			3,3328		
Desviación estándar	0,1405			0,1095		

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. \%F = \frac{33,3924 - 33,355}{0,4713} \times 100 = 7,9355\% \text{ en md}$$

$$\rightarrow 7,9355\% \times \left(1 - \frac{7,6791}{100}\right) \times \left(1 - \frac{52,8830}{100}\right) \rightarrow 3,4519\% \text{ en mf}$$

$$2. \%F = \frac{38,6821 - 38,6436}{0,4713} \times 100 = 8,1689\% \text{ en md}$$

$$\rightarrow 8,1689\% \times \left(1 - \frac{7,6791}{100}\right) \times \left(1 - \frac{52,8830}{100}\right) \rightarrow 3,5534\% \text{ en mf}$$

$$3. \%F = \frac{39,8884 - 39,848}{0,4712} \times 100 = 8,5739\% \text{ en md}$$

$$\rightarrow 8,5739\% \times \left(1 - \frac{7,6791}{100}\right) \times \left(1 - \frac{52,8830}{100}\right) \rightarrow 3,7295\% \text{ en mf}$$

$$\bar{X} = \frac{3,4519 + 3,5534 + 3,7295}{3} = 3,5783\% \rightarrow 3,58\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(3,4519 - 3,5783)^2 + (3,5534 - 3,5783)^2 + (3,7295 - 3,5783)^2}{3 - 1}} = 0,1405$$

Anexo 6. Cálculo del índice de yodo de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>			Blanco
	1	2	3	1	2	3	
P. muestra (g)	0,181	0,181	0,1811	0,1813	0,181	0,181	-
Vol. Tiosulfato (MI)	20,3	20,3	20,3	19,95	20	20	48
Índice de yodo g I/100g	196,9250	196,9250	196,8162	199,0832	199,0577	199,0577	
Promedio	196,8887			199,0662			
Desviación estándar	0,06			0,01			

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. IY = \frac{(48 - 20,3) \times 0,1014 \times 12,69}{0,181} = 196,9250$$

$$2. IY = \frac{(48 - 20,3) \times 0,1014 \times 12,69}{0,181} = 196,9250$$

$$3. IY = \frac{(48 - 20,3) \times 0,1014 \times 12,69}{0,1811} = 196,8162$$

$$\bar{X} = \frac{196,9250 + 196,9250 + 196,8162}{3} = 196,8887\% \rightarrow 196,89\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(196,9250 - 196,8887)^2 + (196,9250 - 196,8887)^2 + (196,8162 - 196,8887)^2}{3 - 1}} = 0,06$$

Anexo 7. Cálculo del índice de peróxido de dos especies del género *Plukenetia*

	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>			Blanco
Repeticiones	1	2	3	1	2	3	1
P. muestra (g)	2,5007	2,5006	2,5006	2,5003	2,5	2,5001	-
Vol. Tiosulfato (mL)	0,25	0,25	0,25	0,2	0,2	0,2	0,1
Índice de peróxido meqO ₂ /100g	6,0643	6,0645	6,0645	4,0435	4,0440	4,0438	
Promedio	6,0645			4,0439			
Desviación estándar	0,01			0,01			

$$1. IP = \frac{(0,25-0,1) \times 0,1011 \times 1000}{2,5007} = 6,0643$$

$$2. IP = \frac{(0,25-0,1) \times 0,1011 \times 1000}{2,5006} = 6,0645$$

$$3. IP = \frac{(0,25-0,1) \times 0,1011 \times 1000}{2,5006} = 6,0645$$

$$\bar{X} = \frac{6,0643+6,0645+6,0645}{3} = 6,0645\% \rightarrow 6,06\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(6,0643-6,0645)+(6,0645-6,0645)+(6,0645-6,0645)}{3-1}} = 0,01$$

Anexo 8. Cálculo del Índice de saponificación de dos especies del género *Plukenetia*

	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>			Blanco
Repeticiones	1	2	3	1	2	3	1
P. muestra (g)	5,0001	5	5	5,0003	5,0001	5,0005	-
Vol. H ₂ SO ₄ (mL)	13,2	13,15	13,15	12,65	12,6	12,6	30
Índice de saponificación mgKOH/100g	184,7224	185,2759	185,2759	190,7622	191,3196	191,3043	
Promedio	185,0914			191,1287			
Desviación estándar	0,32			0,32			

$$1. IS = \frac{(30-13,2) \times 0,98 \times 56,1}{5,0001} = 184,7224$$

$$2. IS = \frac{(30-13,15) \times 0,98 \times 56,1}{5,000} = 185,2759$$

$$3. IS = \frac{(30-13,15) \times 0,98 \times 56,1}{5,000} = 185,2759$$

$$\bar{X} = \frac{184,7224+185,2759+185,2759}{3} = 185,0914\% \rightarrow 185,09\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(184,7224-4,0430)+(185,2759-4,0430)+(185,2759-4,0430)}{3-1}} = 0,32$$

Anexo 9. Cálculo del % de ácidos grasos libres de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>		
	1	2	3	1	2	3
P. muestra (g)	5,0001	5,0000	5,0003	5,0004	5,0002	5,0002
Vol. NaOH (mL)	1,50	1,50	1,50	1,45	1,4	1,4
Índice de A.G.L mgKOH/100g	0,8570	0,8570	0,8569	0,7998	0,7998	0,7998
Promedio	0,8570			0,7998		
Desviación estándar	0,01			0,01		

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. \text{ AGL} = \frac{1,50 \times 0,1013 \times 28,2}{5,0001} = 0,9141$$

$$2. \text{ AGL} = \frac{1,50 \times 0,1013 \times 28,2}{5,0000} = 0,9141$$

$$3. \text{ AGL} = \frac{1,50 \times 0,1013 \times 28,2}{5,0003} = 0,9141$$

$$\bar{X} = \frac{0,8570+0,8570+0,8569}{3} = 0,8570\% \rightarrow 0,86\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(0,8570-0,8570)+(0,8570-0,8570)+(0,8569-0,8570)}{3-1}} = 0,01$$

Anexo 10. Cálculo del % de materia insaponificable de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>		
	1	2	3	1	2	3
P. muestra (g)	5,0002	5,0003	5,0001	5,0007	5,0005	5,0004
PBV	142,1556	144,1514	142,1309	144,1864	144,1796	142,1602
PBV + MS	142,1849	144,1823	142,1598	144,2235	144,2158	142,197
PMS	0,0293	0,0309	0,0289	0,0371	0,0362	0,0368
[] NaOH	0,0201			0,0201		
Gasto (mL)	1,55	1,65	1,40	1,75	1,65	1,70
Corrección del peso	0,0087	0,0092	0,0078	0,0098	0,0092	0,0095
%M. insaponificable	0,1864	0,2072	0,1952	0,3200	0,3132	0,3196
Promedio	0,1963			0,3176		
Desviación estándar	0,0104			0,0038		

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. \%MI = \frac{0,0293 - (0,0087 + 0,0113)}{5,0002} \times 100 = 0,1864\%$$

$$2. \%MI = \frac{0,0309 - (0,0092 + 0,0113)}{5,0003} \times 100 = 0,2072\%$$

$$3. \%MI = \frac{0,0289 - (0,0078 + 0,0113)}{5,0001} \times 100 = 0,1952\%$$

$$\bar{X} = \frac{0,1864 + 0,2072 + 0,1952}{3} = 0,1963\% \rightarrow 0,20\%$$

$$S = \sqrt{\frac{(0,1864 - 0,1963)^2 + (0,2072 - 0,1963)^2 + (0,1952 - 0,1963)^2}{3 - 1}} = 0,0104$$

Anexo 11. Cálculo de la densidad de dos especies del género *Plukenetia*

Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>			Agua		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Peso picnómetro (g)	12,5438			12,5438			12,5438		
PPV + muestra	17,1513	17,1510	17,1514	17,1334	17,1332	17,1335	17,4902	17,4910	17,4900
Masa muestra	4,6075	4,6072	4,6076	4,5896	4,5894	4,5897	4,9464	4,9472	4,9462
Densidad a 20°C	0,99715			0,99715			0,99715		
Vol. de muestra	4,6207	4,6204	4,6208	4,6027	4,6025	4,6028	4,9605	4,9613	4,9603
Vol. promedio	4,6206			4,6027			4,9607		
Densidad	0,9288	0,9287	0,9288	0,9252	0,9251	0,9252	-	-	-
Promedio	0,9288			0,9252			-		
Desv. estándar	0,01			0,01			-		

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. D = \frac{4,6075}{4,9607} = 0,9288$$

$$2. D = \frac{4,6072}{4,9607} = 0,9287$$

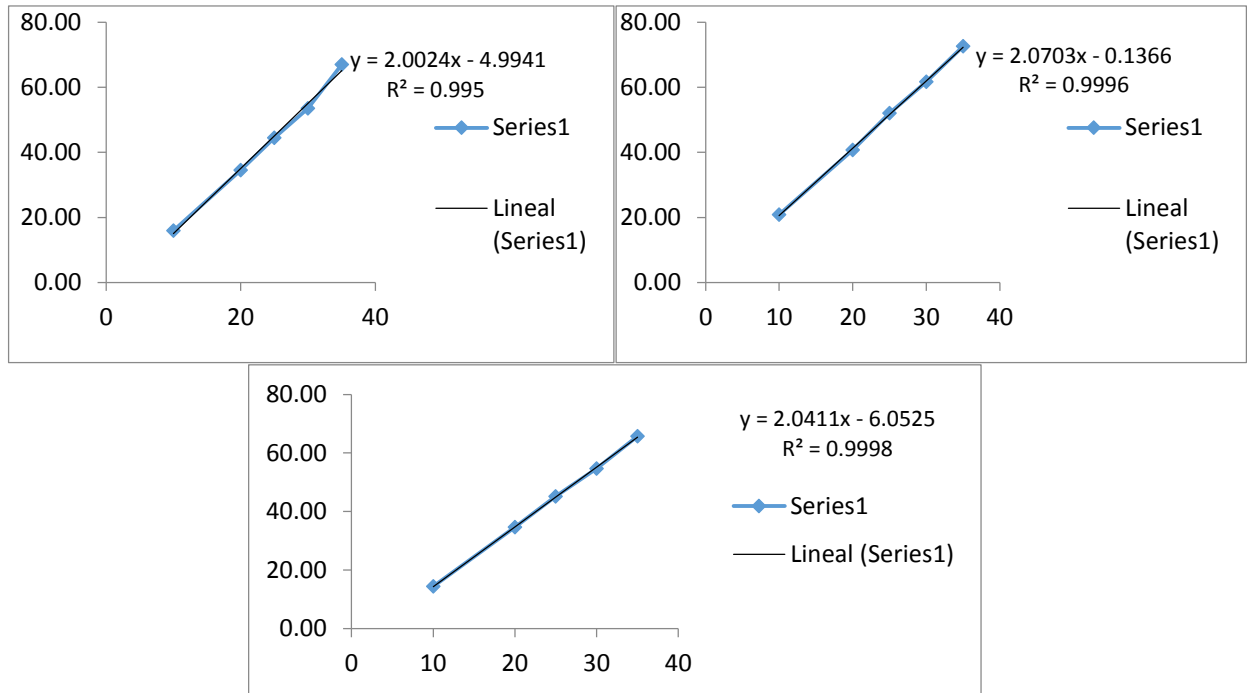
$$3. D = \frac{4,6076}{4,9607} = 0,9288$$

$$\bar{X} = \frac{0,9288+0,9287+0,9288}{3} = 0,9288 \rightarrow 0,93$$

$$S = \sqrt{\frac{(0,9288-0,9288)^2+(0,9287-0,9288)^2+(0,9288-0,9288)^2}{3-1}} = 0,01$$

Anexo 12. Cálculo de la actividad antioxidante de dos especies del género *Plukenetia* por el método de DPPH

CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX					
CONCENTRACIÓN	1	CONCENTRACIÓN	2	CONCENTRACIÓN	3
10	15,93	10	20,81	10	14,43
20	34,51	20	40,73	20	34,70
25	44,41	25	51,98	25	45,14
30	53,52	30	61,64	30	54,69
35	66,95	35	72,59	35	65,71



	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>		
Repeticiones	1	2	3	1	2	3
P. muestra (g)	0,5002	0,5003	0,5004	0,5002	0,5004	0,5003
Abs. muestra	0,7685	0,7678	0,7665	0,7394	0,7354	0,7362
Abs. blanco	0,0601	0,0601	0,0601	0,0601	0,0601	0,0601
Abs. control	1,1224			1,1224		
% Inhibición	28,5046	28,5746	28,7046	31,4146	31,8146	31,7346
Factor de dilución	50/4			50/4		
μM trolox	211,63	212,06	212,86	229,45	231,90	231,41
Vol. extracto (L)	0,005			0,005		
μmol trolox/g(mf)	2,1155	2,1193	2,1269	2,2936	2,3172	2,3128
Promedio	2,1212			2,3032		
Desviación estándar	0,0081			0,0135		

Para *Plukenetia huayllabambana*

Se utilizó la ecuación de la primera curva de trolox:

$$1. AA = \frac{28,50 + 6,0525}{2,0411} \times \frac{50}{4} = 211,63 \mu\text{M trolox} \rightarrow \frac{211,63 \times 0,005}{0,5002} = 2,1155 \mu\text{mol trolox/g de mf}$$

$$2. AA = \frac{28,57 + 6,0525}{2,0411} \times \frac{50}{4} = 212,06 \mu\text{M trolox} \rightarrow \frac{212,06 \times 0,005}{0,5003} = 2,1193 \mu\text{mol trolox/g de mf}$$

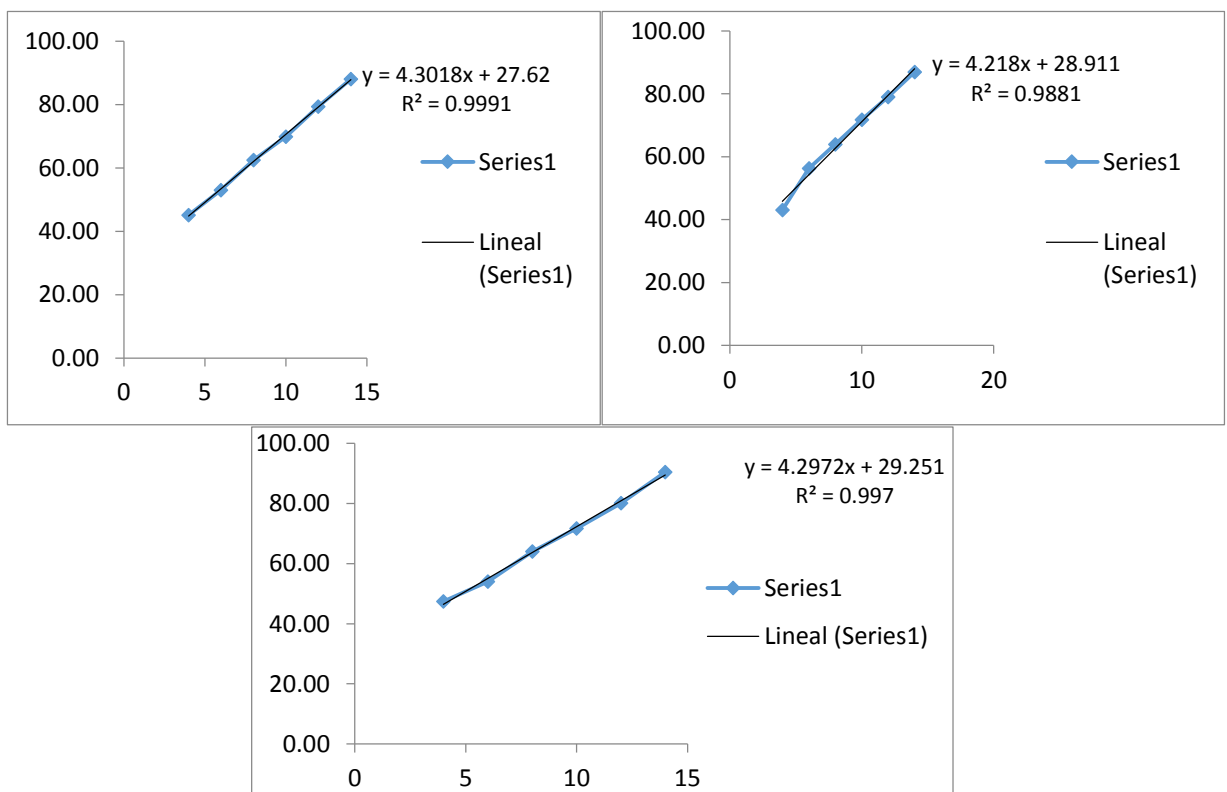
$$3. AA = \frac{28,70 + 6,0525}{2,0411} \times \frac{50}{4} = 212,86 \mu\text{M trolox} \rightarrow \frac{212,86 \times 0,005}{0,5004} = 2,1269 \mu\text{mol trolox/g de mf}$$

$$\bar{X} = \frac{2,1155+2,1193+2,1269}{3} = 2,1212 \rightarrow 2,12 \mu\text{mol trolox/g de mf}$$

$$S = \sqrt{\frac{(2,1155-2,1212)^2+(2,1193-2,1212)^2+(2,1269-2,1212)^2}{3-1}} = 0,008 \rightarrow 0,01$$

Anexo 13. Cálculo de la actividad antioxidante de dos especies del género *Plukenetia* por el método ABTS

TROLOX					
CONCENTRACIÓN	1	CONCENTRACIÓN	2	CONCENTRACIÓN	3
4	45,12	4	43,12	4	47,41
6	53,02	6	56,33	6	54,01
8	62,55	8	63,96	8	63,98
10	69,87	10	71,84	10	71,67
12	79,39	12	79,01	12	80,11
14	88,06	14	86,98	14	90,38



Repeticiones	<i>Plukenetia huayllabambana</i>			<i>Plukenetia carolis-vegae</i>		
	1	2	3	1	2	3
P. muestra (g)	0,2503	0,2502	0,2501	0,2502	0,2502	0,2501
Abs. muestra	0,3702	0,3696	0,3664	0,3048	0,3132	0,3089
Abs. blanco	0,0612	0,0612	0,0612	0,0579	0,0579	0,0579
Abs. control	0,6983			0,6921		
% Inhibición	55,7497	55,8356	56,2939	64,3260	63,1123	63,7336
Factor de dilución	20			20		
μM trolox	130,78	131,18	133,31	170,65	165,01	167,90
Vol. extracto (L)	0,005			0,005		
μmol trolox/g(mf)	2,6125	2,6215	2,6652	3,4104	3,2976	3,3567
Promedio	2,6330			3,3835		
Desviación estándar	0,0282			0,0380		

Para *Plukenetia huayllabambana*

Se utilizó la ecuación de la primera curva de trolox:

$$1. \text{ AA} = \frac{55,75 - 27,62}{4,3018} \times 20 = 130,78 \mu\text{M trolox} \rightarrow \frac{130,78 \times 0,005}{0,2503} = 2,6125 \mu\text{mol trolox/g de mf}$$

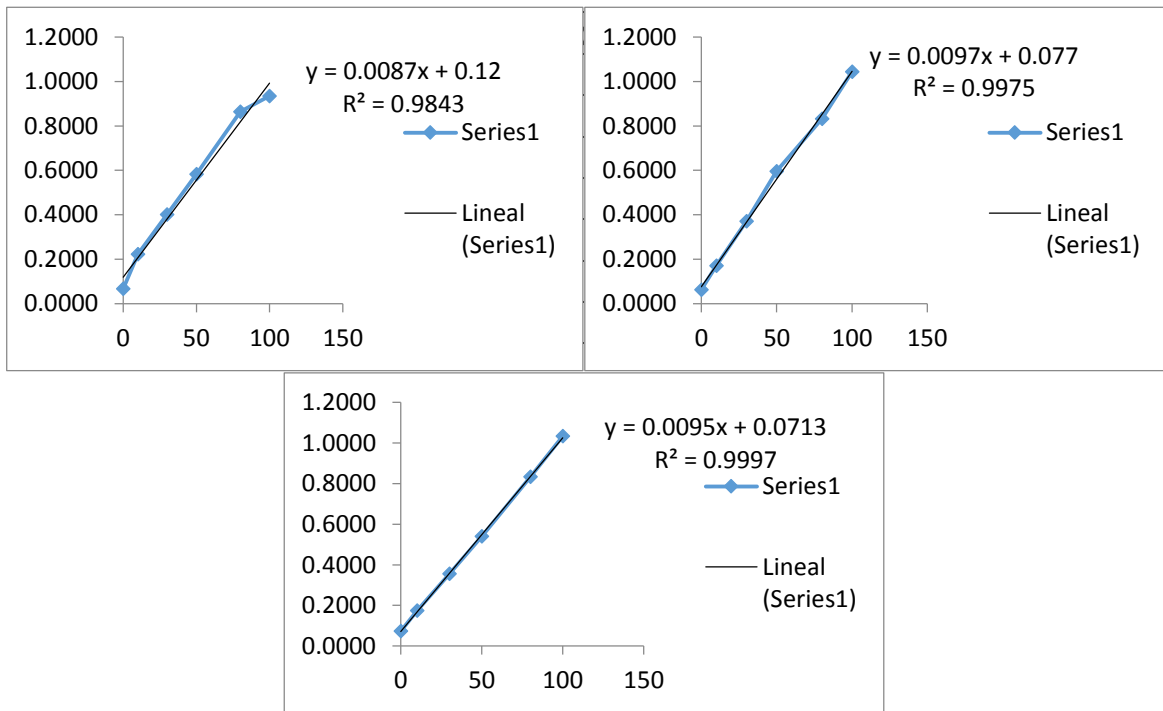
$$2. \text{ AA} = \frac{55,84 - 27,62}{4,3018} \times 20 = 131,18 \mu\text{M trolox} \rightarrow \frac{131,18 \times 0,005}{0,2502} = 2,6215 \mu\text{mol trolox/g de mf}$$

$$3. \text{ AA} = \frac{56,29 - 27,62}{4,3018} \times 20 = 133,31 \mu\text{M trolox} \rightarrow \frac{133,31 \times 0,005}{0,2501} = 2,6652 \mu\text{mol trolox/g de mf}$$

$$\bar{X} = \frac{2,6125 + 2,6215 + 2,6652}{3} = 2,6330 \rightarrow 2,6330 \mu\text{mol trolox/g de mf}$$

$$S = \sqrt{\frac{(2,6125 - 2,6330)^2 + (2,6215 - 2,6330)^2 + (2,6652 - 2,6330)^2}{3 - 1}} = 0,0282 \rightarrow 0,03$$

Anexo 14. Cálculo de los fenoles totales de dos especies del género *Plukenetia*



*Se utilizó la tercera curva para el cálculo de los resultados

MUESTRA	Nº	P.M	Abs	F.D	[mg/mL] A.G	Vol. Extracto	mg A.G/g mf	PROMEDIO	D.S
<i>Plukenetia carolis-vegae</i>	1	0,5002	0,2207	25	0,3932	5	3,9300	3,8486	0,0712
	2	0,5004	0,2165		0,3821		3,8180		
	3	0,5003	0,2157		0,3800		3,7977		
<i>Plukenetia huayllabambana</i>	1	0,5002	0,1937	25	0,3221	5	3,2198	3,2235	0,0406
	2	0,5003	0,1924		0,3187		3,1849		
	3	0,5004	0,1955		0,3268		3,2658		

Para *Plukenetia huayllabambana*

$$1. FT = \frac{0,1937 - 0,0713}{0,0095} \times 25 = 322,1 \text{ g A.G} \rightarrow \frac{322,1 \times 5}{1000 \times 0,5002} = 3,2198 \text{ mg A.G/g MF}$$

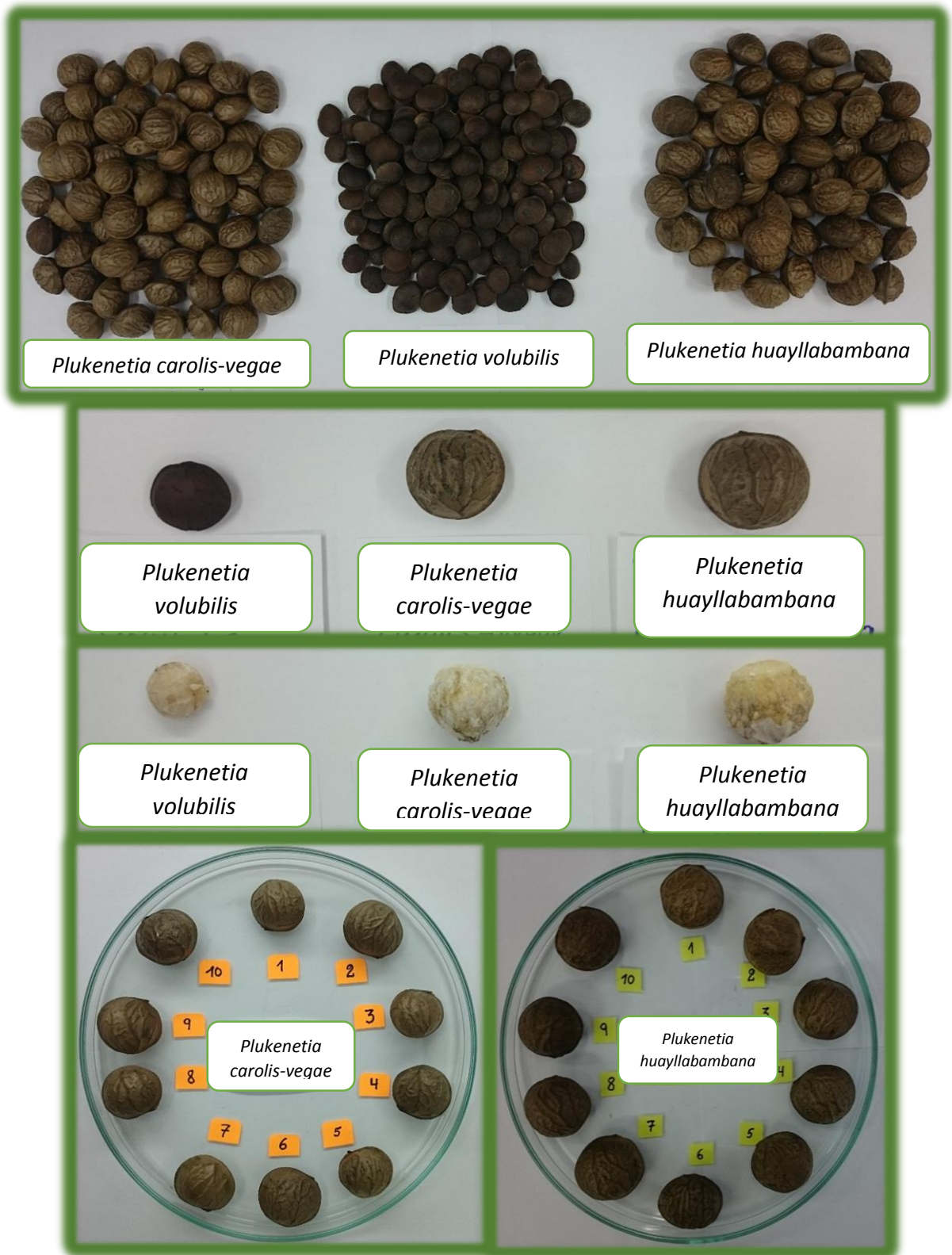
$$2. FT = \frac{0,1924 - 0,0713}{0,0095} \times 25 = 318,7 \text{ g A.G} \rightarrow \frac{318,7 \times 5}{1000 \times 0,5003} = 3,1849 \text{ mg A.G/g MF}$$

$$3. FT = \frac{0,1955 - 0,0713}{0,0095} \times 25 = 326,8 \text{ g A.G} \rightarrow \frac{326,8 \times 5}{1000 \times 0,5004} = 3,2658 \text{ mg A.G/g MF}$$

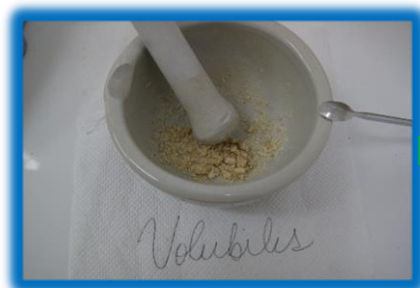
$$\bar{X} = \frac{3,2198 + 3,1849 + 3,2658}{3} = 3,2235 \rightarrow 3,22 \text{ mg A.G/g MF}$$

$$S = \sqrt{\frac{(3,2198 - 3,2235)^2 + (3,1849 - 3,2235)^2 + (3,2658 - 3,2235)^2}{3 - 1}} = 0,0406 \rightarrow 0,04$$

Anexo 15. Especies estudiadas



Anexo 16. Determinación del porcentaje de cenizas (Método AOCS Ba 5a-49)



Moler la muestra a analizar

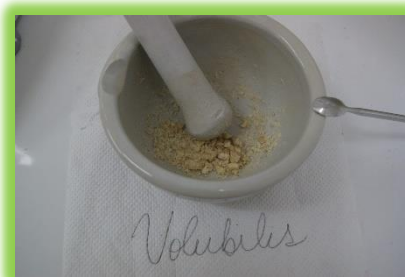


Pesar 2g de la muestra



Poner en la mufla por 2h a 600°C

Anexo 17. Determinación del porcentaje de humedad (Método AOCS Ac 2-41)



Moler la muestra a analizar

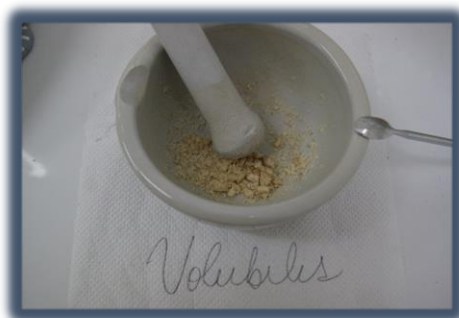


Pesar 10g de la muestra



Poner en la estufa por 3h a 130°C

Anexo 18. Determinación del rendimiento de aceite (Método AOCS Ba 3-38)



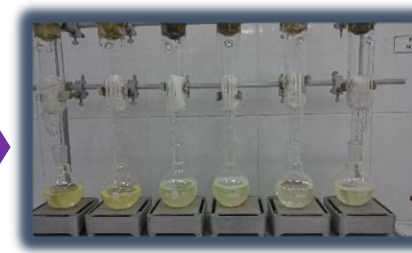
Moler la muestra a analizar



Preparar los cartuchos



Pesar 5g de la muestra

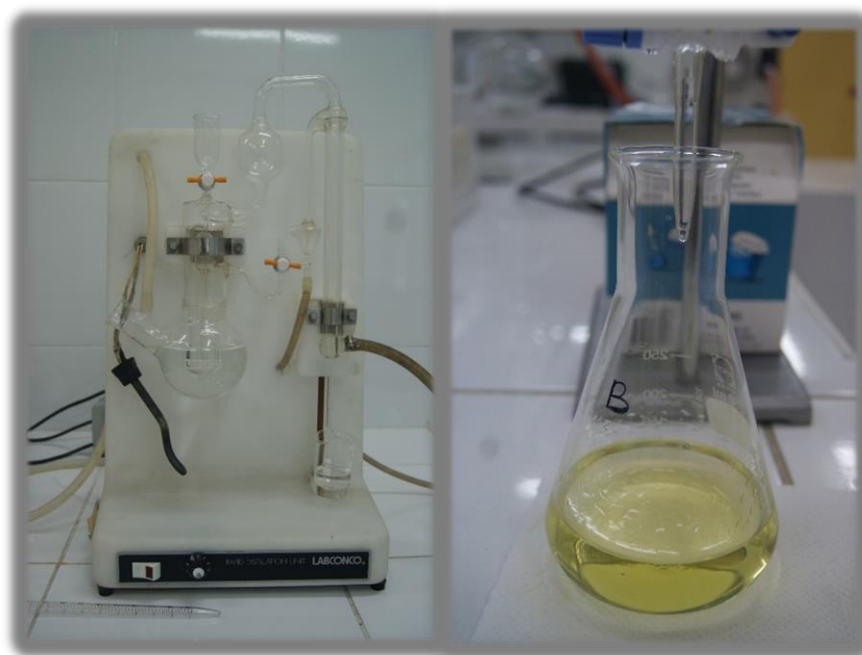


Colocar los cartuchos en el soxhlet, agregar 50ml de éter de petróleo y dejar reposar por 30 min. Encender el equipo por 3 horas.

Anexo 19. Determinación de proteínas



Digestión de las muestras en el equipo.



Destilación y titulación de la muestra.

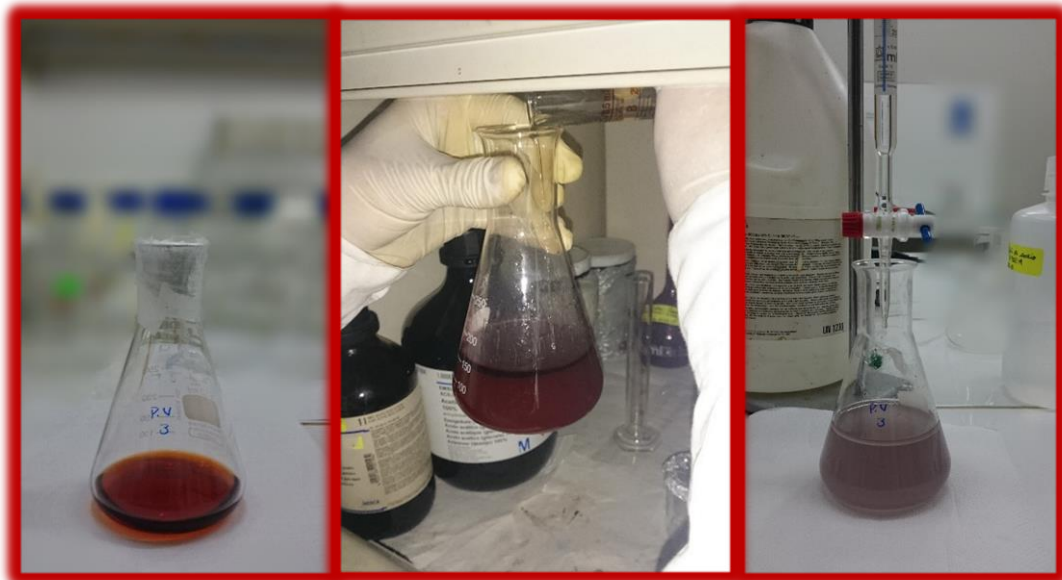
Anexo 20. Determinación de minerales



Anexo 21. Determinación del índice de saponificación



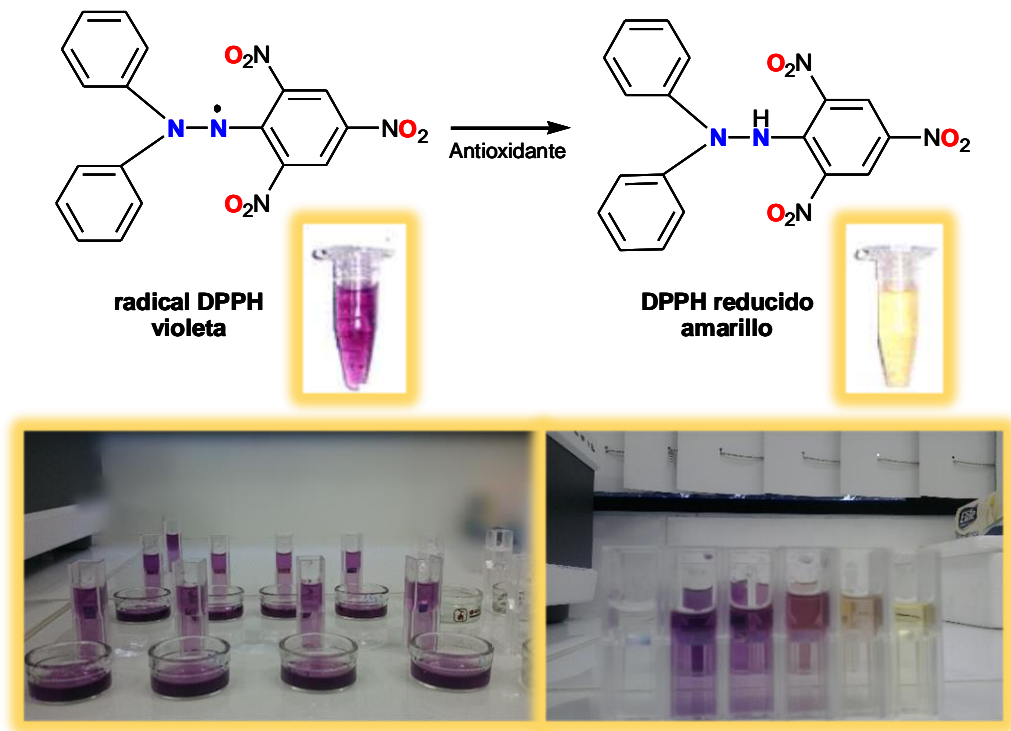
Anexo 22. Determinación del índice de yodo



Anexo 23. Determinación del índice de peróxidos



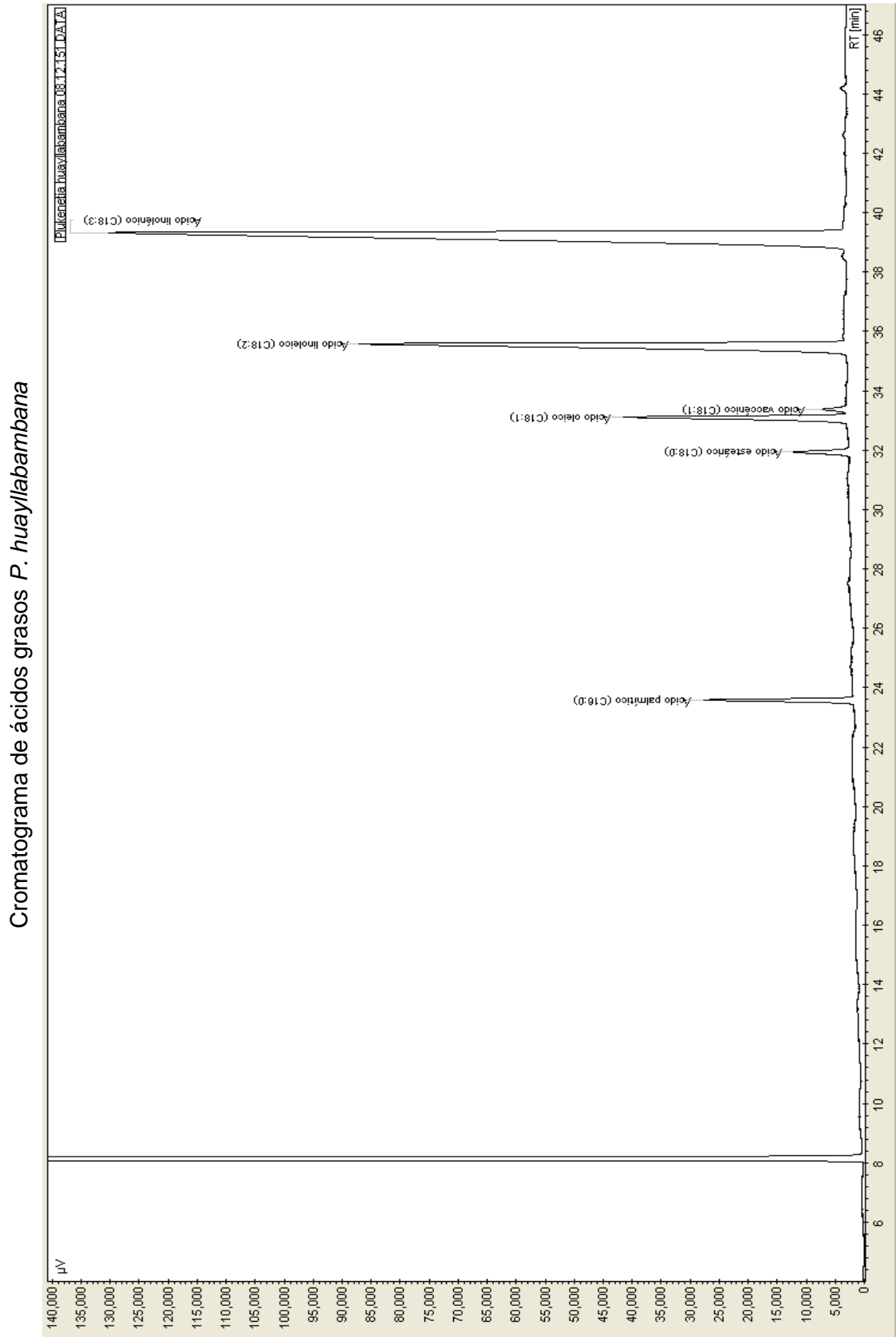
Anexo 24. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH



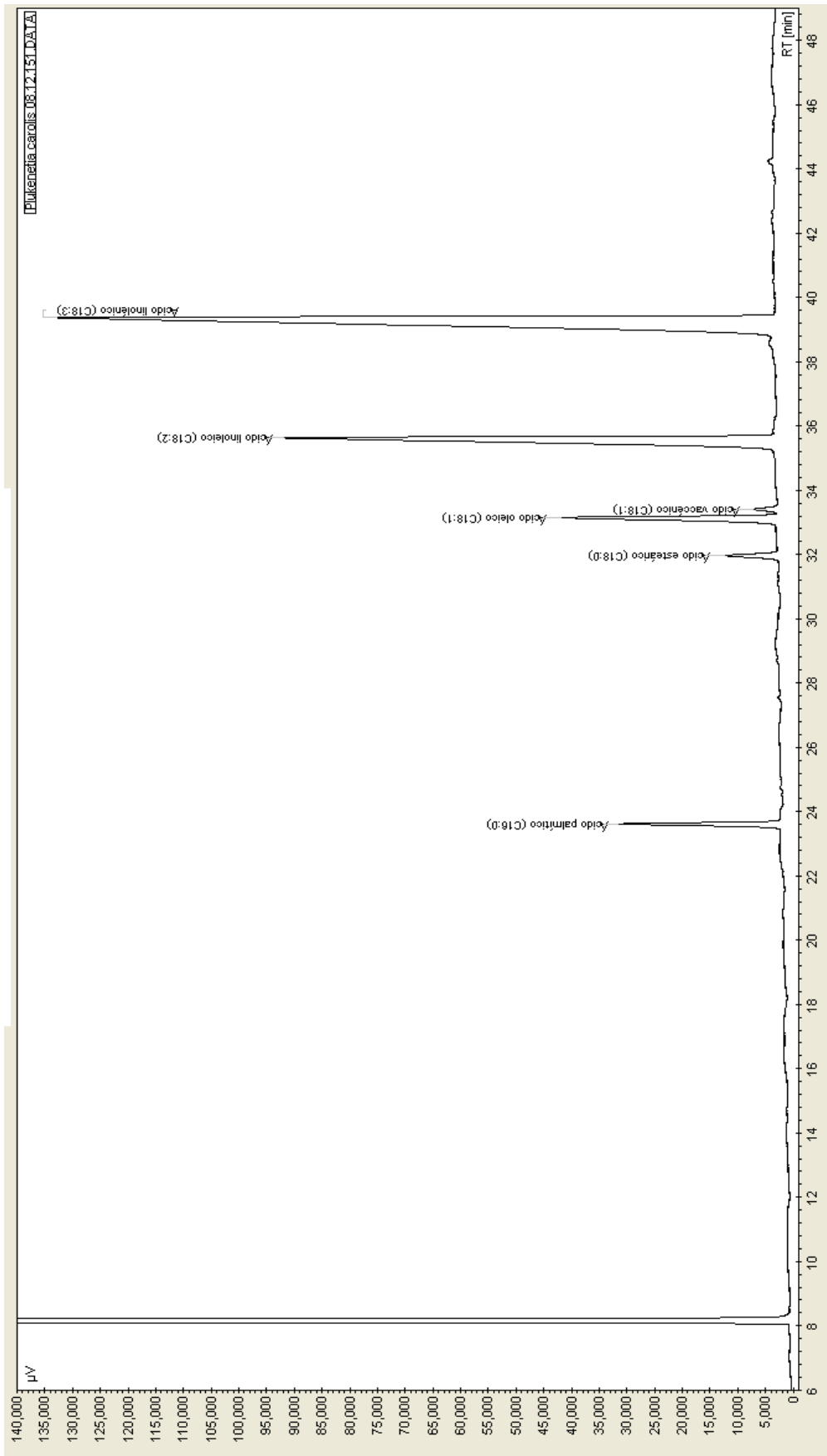
Anexo 25. Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS



Anexo 26. Cromatogramas de ácidos grasos de dos especies del género *Plukenetia*



Cromatograma de ácidos grasos *P. carolis*



Anexo 27. Constancia de Herbarium Amazonense



UNAP

Herbarium Amazonense – AMAZ
Centro de Investigación de
Recursos Naturales

CONSTANCIA Nº 04

EL COORDINADOR DEL HERBARIUM AMAZONENSE, AMAZ-CIRNA, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

HACE CONSTAR:

Que, el Bach. **JACK ROBERT BARDALES ARÉVALO** de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; ha depositado en calidad de donación al Herbarium Amazonense (AMAZ); un total de 02 muestras botánicas colectadas conforme al marco del proyecto de tesis titulada: **“EVALUACIÓN QUÍMICA Y FISICOQUÍMICA DE DOS ESPECIES DEL GÉNERO *PLUKENETIA* (sachá inchi) DE LA AMAZONÍA PERUANA - REGIÓN LORETO”**. Las cuales fueron verificadas en este Herbarium Amazonense - AMAZ, CIRNA-UNAP, que a continuación se indican:

Familia	Nombre Científico	Nombre Vulgar
EUPHORBIACEAE	<i>Plukenetia carolis-vegae</i> Bussmann, N.Y. Paniagua Zambrana & C. Téllez	“sachá inchi”
EUPHORBIACEAE	<i>Plukenetia huayllabambana</i> Bussmann, C. Téllez & A. Glenn	“sachá inchi”

Se expide la presente constancia al interesado para los fines que se estime conveniente.

Iquitos, 18 de Febrero del 2016

Atentamente,



Bigo. RICHARD HUARANCA ACOSTURA, M.Sc.
Coordinador, AMAZ-CIRNA-UNAP