

---

**CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA  
3 Y OMEGA 6 PRESENTES EN EL ACEITE DE SACHA INCHI (*Plukenetia  
volubilis L*)**

---

**GUILLERMO LEÓN SÁNCHEZ SÁNCHEZ**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS - ESCUELA DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICA  
MEDELLÍN  
2012**

**GUILLERMO LEÓN SÁNCHEZ SÁNCHEZ**

Trabajo de grado para optar por el título de  
Magister en Ciencias Químicas

**DIRECTOR**

**Benjamín Alberto Rojano**

**Qco. MSc. PhD**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS - ESCUELA DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICA  
MEDELLÍN  
2012**

---

Nota de aceptación

**DIRECTOR**

---

**Firma del director**

**JURADOS**

---

**Firma de jurado**

---

**Firma de jurado**

**Medellín, Diciembre 13 de 2012**

## **DEDICATORIA**

A mi Esposa, a mis hijos y a mi madre quienes siempre han esperado durante  
toda la vida a que mis metas se realicen.

A la memoria de don Javier.

## **AGRADECIMIENTOS**

A los profesores de la maestría en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional sede Medellín, a los directores Benjamín Alberto Rojano y Orlando Simón Ruiz V., por su contribución a mi formación académica e inmensa colaboración.

A la Universidad Nacional de Colombia (Sede Medellín), por permitirme el acceso al programa Maestría en Ciencias Químicas.

Al profesor Walter Osorio director de maestrías quien constantemente me animo y creo que a pesar de tanto tiempo fuera de las aulas era muy importante que regresara a ellas y compartiera toda mi experiencia con colegas más jóvenes.

A los compañeros del Laboratorio de Ciencias de los Alimentos por su colaboración incondicional, especialmente Andrés Felipe Alzate y Dorely David por su permanente ayuda y apoyo en el desarrollo experimental del presente trabajo.

A mi amigo Jorge Palacio, profesor titular del Tecnológico de Antioquia, quien me dió la oportunidad de trabajar como profesor ocasional en el mismo, permitiéndome que económicamente pudiese terminar esta maestría.

A mi esposa Miriam y a esos tres enanos, por su colaboración facilitándome espacio y tiempo para poder realizar mis estudios.

---

## TABLA DE CONTENIDO

---

Lista de Tablas.....	x
Lista de Figuras.....	xii
Abreviaturas.....	xiv
RESUMEN	
ABSTRACT	
1. INTRODUCCIÓN .....	19
2. OBJETIVOS .....	23
2.1 OBJETIVO GENERAL .....	23
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
3. MARCO TEÓRICO .....	24
3.1 Importancia de los lípidos en la alimentación y en la salud humana.....	24
3.2 Generalidades de los aceites y grasas.....	25
3.2.1 Composición de los aceites y grasas vegetales .....	28
3.2.2 Usos de las grasas y aceites vegetales en la industria.....	40
3.3 Peroxidación lipídica .....	41
3.3.1 Especies reactivas.....	41
3.3.2 Mecanismos de peroxidación lipídica .....	43
3.3.3 Estabilidad oxidativa .....	50
3.3.4 Antioxidantes .....	51
3.4 Aspectos Taxonómicos de las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí..	59

3.4.1	Semilla de sacha inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> ) .....	59
3.4.2	Semillas de linaza ( <i>Linum usitatissimum</i> ) .....	62
3.4.3	Semillas de ajonjolí ( <i>Sesamun indicum l</i> ) .....	64
3.5	Extracción de aceite de las semillas de sacha inchi, linaza y ajonjolí .....	67
3.6	Determinación del perfil de ácidos Grasos.....	67
3.6.1	Cromatografía gaseosa acoplada a masas (GC-MS) .....	67
3.7	Caracterización fisicoquímica de los aceites. Índices de calidad .....	69
3.7.1	Determinación del índice de saponificación (IS) .....	69
3.7.2	Determinación índice de acidez (IA) .....	70
3.7.3	Determinación índice de yodo (IY).....	71
3.7.4	Determinación del valor peróxido (VP) .....	72
3.8	Medición de la estabilidad oxidativa .....	73
3.8.1	Determinación de dienos conjugados (DC) .....	74
3.8.2	Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) .....	74
3.9	Análisis de la capacidad antioxidante.....	76
3.9.1	Reacción con el radical 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH <sup>•</sup> ) .....	76
3.9.2	Reacción con el radical catiónico 2,2'- azino – bis (3-etilbenzotiazolin- 6-sulfonato de amonio) (ABTS <sup>*+</sup> ). .....	77
3.9.3	Reacción con 2,2'Azobis (2-amidino-propano) dihydrochloride (AAPH). Capacidad Antioxidante del Radical Oxígeno, (ORAC) .....	78
4.	METODOLOGÍA .....	80
4.1	Obtención de las semillas de Sacha Inchi, Linaza, ajonjolí .....	80
4.2	Extracción del aceite de las semillas de sacha inchi, linaza y ajonjolí .....	81

---

4.3	Determinación del perfil de ácidos grasos.....	82
4.3.1	Cromatografía gaseosa acoplada a masas (GC-MS) .....	82
4.4	Caracterización Físicoquímica de los aceites. Índices de calidad .....	83
4.4.1	Determinación del índice de saponificación (IS) .....	83
4.4.2	Determinación índice de acidez (IA) .....	84
4.4.3	Determinación índice de yodo (IY).....	84
4.4.4	Determinación del valor peróxido (VP) .....	85
4.5	Medición de la estabilidad oxidativa .....	86
4.5.1	Determinación de dienos conjugados (DC) .....	86
4.5.2	Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) .....	87
4.6	Análisis de la capacidad antioxidante.....	87
4.6.1	Reacción con el radical 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH <sup>•</sup> ) .....	87
4.6.2	Reacción con el radical catiónico 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio (ABTS <sup>•+</sup> ).....	88
4.6.3	Reacción con 2,2'-Azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH). Capacidad Antioxidante del Radical Oxígeno, ORAC .....	88
4.7	Análisis estadístico.....	89
5.	RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	90
5.1	Extracción del aceite de las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí .....	90
5.2	Composición de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí .....	91
5.2.1	Perfil de ácidos grasos .....	91
5.3	Caracterización Físicoquímica. Índices de calidad.....	100
5.4	Medición de la estabilidad oxidativa .....	104

Caracterización y cuantificación de ácidos grasos omega 3 y omega 6 presentes en el aceite  
de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L)

---

	ix
5.4.1 Determinación de Dienos Conjugados (DC) .....	104
5.4.2 Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) .....	107
5.4.3 Relación entre dienos conjugados (DC) y TBARs .....	110
5.5 Medición de la actividad antioxidante.....	111
5.5.1 Actividad antioxidante de radicales DPPH• y ABTS•+ .....	111
6. CONCLUSIONES .....	115
7. RECOMENDACIONES .....	117
REFERENCIAS.....	118

---

## LISTA DE TABLAS

---

Tabla 1. Predominancia y puntos de fusión de ácidos grasos de aceites y grasas comerciales .....	27
Tabla 2. Consumo de aceites y grasas en Latinoamérica .....	28
Tabla 3. Principales ácidos grasos saturados e insaturados en los alimentos .....	32
Tabla 4. Estructura química del AE, AO, AL y ALA, especificando la notación omega. ....	33
Tabla 5. Nombre común y sistemático de los diferentes Ácidos grasos saturados, AGS.....	37
Tabla 6. Nombre común y sistemático de los diferentes Ácidos grasos insaturados, AGIS.....	38
Tabla 7. Especies reactivas de nitrógeno y oxígeno .....	42
Tabla 8. Representación del mecanismo de autooxidación de los aceites .....	44
Tabla 9. Energías de abstracción de átomos de hidrógeno en diferentes sistemas de dobles enlaces presentes en ácidos grasos.....	45
Tabla 10. Vida media y velocidad de la reacción de radicales con sustratos típicos.....	45
Tabla 11. Contenido de tocoferoles en aceites comestibles .....	58
Tabla 12. Composición y propiedades del aceite de sachá inchi .....	61
Tabla 13. Composición del aceite de linaza por diferentes medios de extracción. 64	
Tabla 14. Composición química de del aceite de ajonjolí y subproductos .....	66
Tabla 15. Porcentaje de rendimiento de los aceites de sachá Inchi, linaza y ajonjolí .....	90
Tabla 16. Perfil de ácidos grasos del aceite de sachá inchi .....	96
Tabla 17. Perfil de ácidos grasos del aceite de linaza.....	98
Tabla 18. Perfil de ácidos grasos del aceite de ajonjolí.....	99
Tabla 19. Índices de calidad de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí.....	101

---

Tabla 20. Dienos conjugados (DC) de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí .....	106
Tabla 21. Medida de la capacidad reductora media, TEAC, a diferentes tiempos de inducción, para los aceites de sachá Inchi, linaza y ajonjolí.....	109
Tabla 22. Capacidad Antioxidante media, TEAC, para los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí.....	113

---

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1. Cadena de dobles enlaces interrumpida .....	30
Figura 2. Dobles enlaces <i>cis</i> y <i>trans</i> sobre la cadena de ácido graso.....	31
Figura 3. Estructura química del ácido eicosapentaenoico (EPA). 20:5 .....	34
Figura 4. Estructura química del ácido docosahexaenoico (DHA). 22:6 .....	34
Figura 5. Ruta de conversión de ácidos grasos insaturados a ácidos grasos poliinsaturados de cadena más larga.....	35
Figura 6. Sistema numérico IUPAC, $\Delta$ y $\omega$ .....	36
Figura 7. Reacción de oxidación del ácido graso .....	43
Figura 8. Degradación de hidroperóxidos .....	48
Figura 9. Formación de productos finales estables a partir del radical alcoxi .....	48
Figura 10. Formación de aldehídos insaturados durante la autooxidación .....	49
Figura 11. Formación del malonaldehído .....	50
Figura 12. Mecanismo de estabilización de radicales libres mediante resonancia por antioxidantes sintéticos .....	53
Figura 13. Antioxidantes sintéticos de uso permitido en los alimentos.....	55
Figura 14. Descripción general de la oxidación de lípidos y la interacción de los antioxidantes .....	56
Figura 15. Estructuras químicas de los tocoferoles.....	58
Figura 16. Mecanismo de formación de Malondialdehído .....	75
Figura 17. Estructura del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH $\bullet$ ).....	77
Figura 18. Reacción con el radical ABTS $\bullet$ +.....	78
Figura 19. Perfil cromatográfico (GC-masas) de los productos de derivatización del aceite de sachá inchi.....	92
Figura 20. Perfil cromatográfico (GC-masas) de los productos de derivatización del aceite de linaza .....	93

Figura 21. Perfil cromatográfico (GC-masas) de los productos de derivatización del aceite de ajonjolí .....	93
Figura 22. Porcentaje total de ácidos grasos insaturados y saturados en los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí. ....	94
Figura 23. Contenido de ácidos grasos en el aceite de sachá inchi.....	95
Figura 24. Contenido de ácidos grasos en el aceite de linaza .....	97
Figura 25. Contenido de ácidos grasos en el aceite de ajonjolí .....	99
Figura 26. Gráfico de Dienos Conjugados (umolDC/g muestra) de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí vs Tiempo (días) .....	107
Figura 27. Intervalos de confianza HSD para los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí.....	109
Figura 28. Gráfico de la medida de TBARS (mg MDA / Kg aceite) en relación a diferentes tiempos de inducción (días), para los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí.....	110

---

## ABREVIATURAS

---

AG	Ácido graso
AGS	Ácidos grasos saturados
AGIS	Ácido graso insaturado
AGMI	Ácido graso monoinsaturado
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
EPA	Ácido graso Eicosapentaenoico
DHA	Ácido graso Dodecahexaenoico
ALA	Ácido graso linolénico
AL	Ácido graso Linoleico
AE	Ácido esteárico
AO	Ácido oleico
LDL	Lipoproteína de baja densidad
GC –MS	Cromatografía de gases masas
UV – Vis	Espectroscopía Ultravioleta visible
ORAC	Capacidad antioxidante del radical de oxígeno
DPPH	2,2 – difenil -1 – picrilhidrazilo
ABTS	(2,2' - azino – bis (3-etil benzotiazolin – 6 – sulfonato)
AAPH	2,2' Azobis (2 – amidino – propane) dihydrochloride)
TBARS	Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
MDA	Malonaldehído
TBA	Ácido tiobarbitúrico
ROS	Especies reactivas del oxígeno
HAT	Transferencia de un átomo de hidrógeno
SET	Transferencia de un electrón
DMSO	Dimetil sulfóxido
FL	Fluoresceína

---

DC	Dienos conjugados
IS	Índice de Saponificación
IA	Índice de acidez
IY	Índice de yodo
VP	Valor peróxido

---

## RESUMEN

---

*Plukenetia volubilis*, conocida como sachá inchi (maní del Inca) es una planta trepadora, semileñosa y perenne, nativa de la Amazonía Peruana. Sus semillas son ricas en proteínas y aceite de alta calidad, importantes en la alimentación humana, y aplicaciones en salud, cosmética y medicina, debido al alto contenido de ácidos grasos insaturados del tipo omega-3 y omega-6. Por lo que es considerado un cultivo promisorio para la industria agroalimentaria. El presente trabajo se llevo a cabo para determinar el potencial medicinal, alimenticio e industrial del aceite proveniente de la semilla de sachá inchi, cultivada en una región de clima caliente en Antioquia. El objetivo propuesto en este estudio fue determinar el perfil lipídico, índices de calidad, estabilidad oxidativa y actividad antioxidante del aceite de sachá inchi, con respecto a los aceites provenientes de las semillas de linaza y ajonjolí. Para conocer la composición de ácidos grasos saturados e insaturados de los extractos se usó GC-MS, la estabilidad se determinó con el seguimiento de la producción de dienos conjugados (DC) y especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y se evaluó la actividad antioxidante como capacidad reductora por las técnicas ABTS, DPPH y ORAC lipofílico. En el aceite de sachá inchi, se encontró un buen contenido de ácido grasos poliinsaturados del tipo omega-6 (63.24%) y omega-3 (17.72%), unos índices de calidad entre los rangos establecidos y una actividad antioxidante media (DPPH 415.14, ABTS 831.71 y ORAC 353.388  $\mu\text{molTrolox}/100\text{ g}$  de aceite), con respecto a los aceites de linaza y ajonjolí. Por otro lado, el aceite de sachá inchi mostró una muy buena estabilidad oxidativa, medida con TBARS. Estos resultados, mostraron el valor de la semilla de sachá inchi, cultivada en Antioquia, permitiendo tenerlo en cuenta como una alternativa medicinal, alimenticia e industrial.

**Palabras claves:** Ácidos grasos, actividad antioxidante, caracterización físicoquímica, sachá inchi, linaza, ajonjolí.

---

## ABSTRACT

---

*Plukenetia volubilis*, known as sachá inchi (Inca peanuts) is a climbing, semi-woody and perennial plant, native to the Peruvian Amazon. Its seeds have a high content of protein and oil, the last one, important in human nutrition, medicine and cosmetics applications due to the considerable content of polyunsaturated fatty acids as omega-3 and omega-6, that is way, it is considered a promising crop for the food industry. The objective of this proposed study was to determine the lipid profile, quality indices, oxidative stability and antioxidant activity of sachá inchi oil, obtained from flax seeds and sesame grown in Antioquia, Colombia. The composition of saturated and unsaturated fatty acids was obtained by GC-MS. The stability study was determined by monitoring the production of conjugated dienes (DC) and thiobarbituric acid reactive species (TBARS) and finally, the antioxidant activity was evaluated by techniques for reducing ability ABTS, DPPH and ORAC lipophilic. In sachá inchi oil was found a high content of omega-6 (63.24%) and omega-3 (17.72%) fatty acids and antioxidant activity, values nearby to obtained values for linseed and sesame oils (DPPH 415.14, ABTS 831.71 and ORAC 353.388  $\mu\text{molTrolox}/100\text{ g oil}$ ). Furthermore, sachá inchi oil showed very good oxidative stability as measured by TBARS. These results showed the value of sachá inchi seed grown in Antioquia, allowing it into account as an alternative medicine, food and industrial.

**Keywords:** Fatty acids, antioxidant activity, physicochemical characterization, inch sach, linseed, sesame

---

## 1. INTRODUCCIÓN

---

Los aceites y las grasas constituyen una de las tres principales clases de productos alimentarios. Las otras dos son las proteínas y los carbohidratos. Los aceites y las grasas son nutrientes esenciales de la dieta humana y son fuente de energía concentrada. Proporcionan alrededor de 9 kcal/g, frente a 4 kcal/g que suministran las proteínas y carbohidratos [1]. En términos generales, se distinguen dos tipos de aceites según su origen: los obtenidos a partir de semillas y/o frutos de origen terrestre y vegetales (algas) y los obtenidos a partir de animales (peces, crustáceos, moluscos y mamíferos) de origen marino. Ambos tipos de aceites están igualmente constituidos por mezclas de triglicéridos cuyos principales componentes son los ácidos grasos [2], los cuales se clasifican por la presencia de dobles enlaces en su molécula, como AGS ácido graso saturado (sin dobles enlaces) o AGIS ácido graso insaturado (con dobles enlaces). A su vez, éstos pueden ser AGMI, ácido graso monoinsaturado o AGPI, ácido graso poliinsaturado. Dentro de los AGPI se encuentran principalmente el ácido linolénico (C18:3 ALA) y linoleico (C18:2 AL) de cadena corta y los ácidos eicosapentaenoico (C20:5, EPA) y docosahexaenoico (C22:6, DHA) de cadena más larga [3]. Éstos son clasificados en familias, omega-3 ( $\omega$ -3) y omega-6 ( $\omega$ -6), así llamados por tener el primer enlace doble en el carbono de la posición 3 y 6, respectivamente, contando desde el final de la cadena del ácido graso. Los ácidos ALA y AL, son de la familia  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6, respectivamente [4,5]; mientras que los EPA y DHA, son pertenecientes a la familia  $\omega$ -3. Los aceites vegetales contienen mayoritariamente AGPI pertenecientes a la familia  $\omega$ -6, presentes en aceites de soja, girasol, maíz y germen de trigo, y no contienen, o solo contienen pequeñas cantidades de ácidos grasos  $\omega$ -3, del tipo ALA, es el caso del aceite de oliva, almendra, avellanas y nueces, entre los más consumidos, a excepción de los aceites de canola, soja, colza, chía y linaza los cuales tienen contenidos más altos de ácidos grasos  $\omega$ -3 [4]. Los aceites de origen marino se caracterizan por su

alto contenido de ácidos grasos  $\omega$ -3 [2], del tipo EPA y DHA, se encuentran principalmente en pescados grasos, como el salmón, el arenque, la sardina, el atún, la caballa y el jurel [4]. Los ácidos grasos de estas familias son considerados como ácidos grasos esenciales ya que no pueden ser sintetizados por el organismo, por lo tanto deben ser aportados por la dieta en una proporción adecuada [2,6], cumplen funciones dentro del organismo, tales como el ser reguladores metabólicos en los sistemas cardiovascular, pulmonar, inmune, secretor y reproductor, preservar la funcionalidad de las membranas celulares y participar en los procesos de transcripción genética [4], además ayudan el mejoramiento de algunos males como, mal de Alzheimer, Parkinson, algunos tipos de cáncer, enfermedades inflamatorias, entre otros [7,8]. De igual manera, la presencia de AGPI, permite que haya un efecto antioxidantes, a pesar de ser unas especies muy sensibles, dentro del grupo de los lípidos, al ataque de radicales libres, especies químicas definidas de existencia corta que tienen en su estructura uno o más electrones desapareados, convirtiéndolo en un compuesto altamente inestable y fugaz con gran capacidad de formar otros radicales libres por reacciones químicas en cadena. A concentraciones moderadas pueden desempeñar un papel importante como mediadores en la regulación de varios procesos fisiológicos, de los efectos del factor de crecimiento o como vasodilatador, pero a concentraciones elevadas, pueden dañar la mayoría de los constituyentes celulares y son notablemente peligrosos para los organismos vivos [9].

A lo largo de la historia, el hombre occidental ha tenido la tendencia de consumir distintos tipos de grasas provenientes de productos lácteos, carnes, aves, frutos secos, pescado y semillas oleaginosas. Son importantes muchos de ellos en el procesado de alimentos preferidos por los consumidores. Ejemplos de estos son las papas fritas, aliños para ensaladas, una infinita cantidad de panes, bollos y productos para postre [1,8]; muchos de ellos con mayor cantidad de grasa

saturada, que de insaturada, disminuyéndose así el consumo de grasas poliinsaturadas del tipo  $\omega$ -3. Debido a sus múltiples efectos, poco deseable, la falta de consumo de éstos ácidos grasos (AGPI), supone un impacto negativo para la salud, siendo motivo de gran preocupación entre las autoridades sanitarias de los países occidentales [4]. La necesidad actual es conseguir fuentes ricas en ácidos grasos poliinsaturados, que permitan disminuir este tipo de impacto. El estudio del consumo de alimentos utilizados en la dieta mediterránea y otras dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ha mostrado mejora en muchos tipos de enfermedades, al ser consumidas [3,8,10]. Los aceites de las plantas oleaginosas, las cuales están compuestas de ácidos grasos, constituyen una de las alternativas para su obtención.

En Colombia los aceites son producidos principalmente a partir de material vegetal y hay cuatro cultivos principales a partir de los cuales se obtiene material oleaginoso: palma de aceite, soya, ajonjolí y algodón [11]. El cultivo de palma de aceite es el de mayor importancia en términos de área, producción y rendimiento. La expansión del cultivo ha mantenido un crecimiento sostenido, colocando a Colombia como el primer productor de América Latina y el cuarto en el mundo [12], más no posee las mejores cualidades de uso alimentario por su composición, en especial su alto contenido de ácidos grasos saturados [13]. Esto crea la necesidad de búsqueda de nuevos compuestos o productos que jueguen un mejor rol en la salud humana. Estudios muestran a la semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) como una planta prometedora, que gracias a la complejidad climática, biodiversidad de compuestos, especies y suelos que posee Colombia, puede ser cultivada y comercializada. El sachá inchi, es una especie de la familia Euphorbiaceae que comúnmente se conoce como “maní del monte”, “sachá maní” o “maní del inca” [14], crece en bosques lluviosos de la región Andina de Sur América. Produce semillas que contienen gran cantidad de aceite y proteína. Su

---

harina y aceite son consumidos por los indios del Perú y se utiliza en la elaboración de diferentes bebidas y comidas [15].

El objetivo de este trabajo se fundamenta en conocer el potencial y el valor agregado del aceite de la semilla de sachá inchi, sembrada en Colombia, como nueva fuente de alta calidad y evaluarlo como producto promisorio para la industria agroalimentaria colombiana, comparándolo con aceites de alta calidad como la linaza (*Linum usitatissimum* L) y el ajonjolí (*Sesamum Indicum* L), de gran aceptación en el mercado Colombiano. Para ello, se determinó el contenido de ácidos grasos del aceite y grasa de las semillas (GC-masas), los índices de calidad y la estabilidad oxidativa midiendo la aparición de dienos conjugados y de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS por fluorescencia). Además, se midió la capacidad antioxidante por diferentes técnicas (DPPH, ABTS y ORAC) como indicadores de potencial nutricional.

---

## 2. OBJETIVOS

---

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la composición y la capacidad antioxidante del aceite derivado de las semillas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L) cultivada en Antioquia, con respecto a los aceites comerciales de linaza (*Linum usitatissimum* L) y ajonjolí (*Sesamum indicum* L).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Extraer el aceite de las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí, por un proceso mecánico en frío.

Determinar el perfil de los ácidos grasos obtenidos por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) presentes en los aceites extraídos de las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí.

Caracterizar fisicoquímicamente el aceite de las semillas de sachá inchi comparado con las semillas de linaza y ajonjolí, por métodos AOAC.

Determinar la rancidez oxidativa del aceite de las semillas de sachá inchi, con respecto a los aceites de las semillas de linaza y ajonjolí, por el método del ácido tiobartbitúrico (TBARS) y dienos conjugados (DC).

Determinar la capacidad antioxidante del aceite de las semillas de sachá inchi, comparado con los aceites de linaza y ajonjolí, por los métodos de DPPH, ABTS y ORAC.

---

### 3. MARCO TEÓRICO

---

#### 3.1 Importancia de los lípidos en la alimentación y en la salud humana.

Los lípidos hacen un aporte importante en la etapa de la alimentación, son un constituyente esencial de la dieta humana junto con los hidratos de carbono y las proteínas. Son la fuente principal de energía, proporcionando casi 9 kcal/g, mientras que las proteínas y los hidratos de carbono proporcionan cada uno alrededor de 4 kcal/g [1]. Éstos compuestos suplen la deficiencia calórica cuando esta se presenta en el organismo [4], además de ser las sustancias que aportan los ácidos grasos esenciales que el organismo no puede sintetizar por sí mismo, contribuyen a la absorción de las vitaminas liposolubles y hacen parte de la estructura de las membranas celulares, hormonas, del sistema antiinflamatorio y neuronal, especialmente en el sistema de la visión y de la memoria [1,16,17].

Los lípidos consumidos por el ser humano son provenientes de fuentes animales y vegetales con un alto contenido de ácidos grasos saturados e insaturados, en especial estos últimos son aportantes de los ácidos grasos poliinsaturados conocidos como esenciales, en ellos se encuentran el ácido linoleico, AL, (18:2  $\omega$ -6) y el ácido linolénico, ALA, (18:3  $\omega$ -3), por sus aportes a la dieta humana son considerados saludables. De igual forma los ácidos grasos poliinsaturados, del tipo  $\omega$ -3 de cadena larga, como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) son de gran importancia, en especial los procedentes de aceites de los pescados azules que habitan en aguas frías y profundas (arenque, salmón, trucha, sardina, caballa, atún, pez espada, etc) [3,10]. Estos aceites se van acumulando en el organismo, en cantidad suficiente como para reducir el nivel del colesterol "malo", también conocido como LDL (lipoproteína de baja densidad) en su corriente sanguínea. Los ácidos grasos  $\omega$ -3, pueden ser biológicamente más activos en los procesos metabólicos, incluyendo los relacionados con la

función cardiovascular, reducen el riesgo de sufrir arterioesclerosis, reducen la presión arterial, enfermedades inflamatorias, intervienen en el desarrollo del feto y del recién nacido, siendo importantes en la nutrición de la madre particularmente durante la gestación y la lactancia, previenen el mal de Alzheimer y padecimiento del mal de Parkinson. Tienen además, efectos benéficos ante algunos tipos de cáncer, entre otros [4,5,10]. El Instituto Nacional contra el Cáncer nos recomienda recortar el consumo de grasas del 40% al 30%, ya que un exceso o déficit, según sea el caso puede llevar a aumentar la incidencia de ciertas enfermedades crónicas, como las cardiovasculares, inflamatorias y cáncer [8,16].

La tendencia actual es disminuir la ingesta de grasas saturadas y trans, sumado a un adecuado nivel de actividad física, manejo del estrés y el cese del hábito de fumar, para prevenir la probabilidad de desarrollar enfermedades cardiovasculares y eventos coronarios [8]. Sin embargo, el aumento del consumo de aceites y grasas, ricos en ácidos grasos insaturados y omegas, tiene un efecto positivo en la salud humana mejorando la calidad de vida de la población [4]. Los aceites y grasas extraídas de los vegetales, se consideran también como una fuente importante de antioxidantes naturales, los cuales son compuestos biológicamente activos, razón para que puedan ser clasificados dentro del grupo de los productos nutracéuticos. Los más comunes son los tocoferoles, los tocotrienoles, y los carotenos; estos actúan como protectores contra el envejecimiento celular, la arteriosclerosis, el cáncer y algunas enfermedades neurodegenerativas que afectan a los hombres adultos [17,18].

### **3.2 Generalidades de los aceites y grasas**

Estudios comparativos entre las grasas animales y los aceites vegetales, indican que todos estos compuestos están conformados por moléculas lipídicas que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. Según Kates [19], los lípidos son “esas sustancias las cuales son (a) insolubles en agua, (b) solubles en

solventes orgánicos tales como cloroformo, éter o benceno, (c) formadas por grupos hidrocarbonados de cadenas largas y están presentes en los organismos vivos”.

La denominación de “grasas y aceites” se refiere únicamente al estado físico sólido o líquido de este tipo de lípidos y no tiene ninguna relación con cualquier otra propiedad; la estructura y la química no varía [20]. Su comportamiento físico es bien diferente; a temperatura ambiente las grasas animales como la mantequilla y la manteca están en estado sólido, mientras que los aceites vegetales se encuentran en estado líquido; comportamiento debido principalmente a sus puntos de fusión y composición en ácidos grasos [1]. Ver tabla 1. Aquellos compuestos que tienen una gran cantidad de ácidos grasos saturados (AGS), tienden a ser más sólidos que aquellos cuya composición es rica en insaturados (AGIS) [17].

Hay numerosas fuentes de aceites y grasas que se utilizan tanto para la alimentación como en la industria; su empleo va de acuerdo con el contenido de ácidos grasos saturados (AGS) o insaturados (AGIS). Aquellos con mayor contenido de AGIS se destinan a la alimentación; entre los aceites y grasas de mayor consumo humano en Latinoamérica, se encuentra el aceite de girasol, soya, palma, oliva y canola. Mientras que los aceites de maíz, algodón, arroz y maní, son de menor consumo más no menos importantes (Ver tabla 2) [21]. Los aceites con mayor contenido de AGS, son destinados a la cosmética, biocombustibles o alimentación animal [17]. El aceite de coco es de gran importancia en este campo, ya que tiene alrededor de un 90% de AGS [1].

**Tabla 1. Predominancia y puntos de fusión de ácidos grasos de aceites y grasas comerciales**

	Átomos de carbono	Dobles enlaces	Punto de fusión		Aceites y grasas naturales en los que están mayoritariamente presentes
			<sup>o</sup> F	<sup>o</sup> C	
Butírico	4	0	18	-8	Mantequilla
Láurico	12	0	111	44	Aceite de coco
Mirístico	14	0	129	54	Mantequilla, aceite de coco, aceite de palma
Palmítico	16	0	145	63	Aceite de palma, mantequilla y grasa de pollo, manteca de cerdo y sebo
Estearico	18	0	157	69	Sebo, manteca de cacao, manteca de cerdo y mantequilla
Oleico	18	1	58	14	Oliva, cacahuete, manteca de cerdo, palma, sbo, maíz, semilla de colza y canola
Linoleico	18	2	23	-5	Soja, cárcamo, girasol, maíz y semilla de algodón
Linolénico	18	3	12	-11	Soja, canola
Gadoleico	20	1	-	-	Algunos aceites de pescado
Araquidónico	20	4	-40	-40	Manteca de cerdo, sebo
	20	5	-	-	Algunos aceites de pescado
Behénico	22	0	176	80	Cacahuete, semilla de colza
Erúcico	22	1	91	33	Semilla de colza rica en ácido erúcico
	22	6	-	-	Algunos aceites de pescado

Fuente: Lawson, 1999

**Tabla 2. Consumo de aceites y grasas en Latinoamérica**

	<b>Aceites comestibles</b>	<b>Grasas comestibles</b>	<b>Productos hidrogen.</b>	<b>Consumo Mat. Grasas (g/día)</b>	<b>Cons. Est. AGT (g/día)</b>	<b>Declaración en etiquetado</b>	<b>Estudio sobre Cont/Cons AGT</b>	
<b>Argentina</b>	Girasol(N)	Bovina (N)	Vegetal	106.2	7.2	SI	Si, en varios alimentos	
	Soja (N)		Sebo					
	Oliva (N)							
<b>Brasil</b>	Soja (N)	Bovina (N)	Vegetal	27.5	ND	SI	Si, en varios alimentos	
	Algodón (N)							
	Palma (N,I)							
<b>Chile</b>	Girasol (I)	Bovina(N,I)	Vegetal	29.2	4.5	SI	Si, en varios alimentos	
	Soja (I)		Pescado					
	Oliva (N,I)		Sebo					
	Maíz (I)							
<b>Colombia</b>	Palma (N)	Bovina(N)	Vegetal	63	ND	No en trámite	ND	
	Soja (N)		Porcina (N)					Sebo
	Girasol (N,I)							
<b>Costa Rica</b>	Soja (N)	ND	Vegetal	30.7	2.6	Si, no obligatoria	Si, en tabla de composición	
	Girasol (N)							
<b>Perú</b>	Maíz (N)	Bovina (N)	Vegetal	29.3	2.0	No	Si, muy restringidos	
	Soja (N)		Pescado					
<b>Puerto Rico</b>	algodón (N)	Porcina (I)	Vegetal	30-100	Especificado por producto	Si (I)	ND	
	Girasol (N)		Sebo					
	Maíz (I)							
<b>Uruguay</b>	Girasol (N,I)	Bovina (N)	Vegetal	44	ND	Si	Si, en varios alimentos	
	Soja (N,I)		Sebo					
	Arroz (N)							
<b>Venezuela</b>	Girasol (N)	ND	ND	70	ND	No, salvo importados	ND	
	Soja (N)							
	Canola (N,I)							
	Maní (N)							

(N): Producto Nacional  
(I): Producto Importado  
ND: No disponible

Fuente: Valenzuela, 2008

### 3.2.1 Composición de los aceites y grasas vegetales

Las propiedades físicas de los AG son de gran importancia ya que permiten entender la composición de estos materiales y en como deben ser usados. Éstas son dependientes de factores tales como el tipo de semilla o de la planta de donde proceden, grado de insaturación, tamaño de las cadenas de carbono, formas isoméricas de los ácidos grasos (AG), estructura molecular de los triglicéridos y

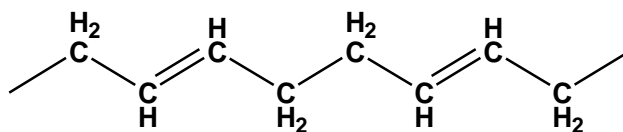
del proceso de obtención [1]. Sus usos, dependen de la untosidad, la viscosidad, la cual disminuye ligeramente con el aumento de su grado de insaturación, es medida por el índice de yodo, encontrándose que la densidad aumenta al disminuir su peso molecular (determinado por el índice de saponificación), la expansibilidad aumenta cuando se alcanzan temperaturas altas, permitiendo que la grasa pase de un estado sólido a líquido, el punto de fusión determinado por el aumento de la longitud media de la cadena (mayor longitud, mayor punto de fusión) y la proporción relativa de AGS/AGIS (mayor relación, menor punto de fusión), la solubilidad entre otros [1].

Desde el punto de vista químico, las grasas y los aceites, AG, conforman un grupo heterogéneo de sustancias, cuya estructura esta constituida por un solo grupo carboxilo (polar, soluble en agua), situado en un extremo de una cadena hidrocarbonada apolar (insoluble en agua, soluble en solventes orgánicos). Generalmente contiene de 4 a 24 átomos de carbono, dispuestos en cadenas rectas con una solubilidad en agua muy baja, actúan como fuente de energía primaria, como componentes de biomembranas y, en menor proporción, como precursores de las prostaglandinas [22]. La hidrólisis, metanólisis e interesterificación son las principales reacciones químicas que ocurren en sus componentes [20].

Los aceites y las grasas, están constituidos por mezclas de triglicéridos cuyos principales componentes son los ácidos grasos; estos representan más del 95-98% del peso de la mayoría de las grasas alimentarias [1], constituyen la mayor reserva energética, y en menor proporción están los fosfolípidos (0.1-3%), residuos insaponificables (0.2-2%) como alcoholes de cadena larga, esteroides, hidrocarburos, etc y ácidos grasos libres (0.1-3%) [23]. Los triglicéridos, o triacilglicéridos como también se les identifica, son moléculas formadas por la asociación del glicerol (o glicerina) con tres restos de ácidos grasos que pueden,

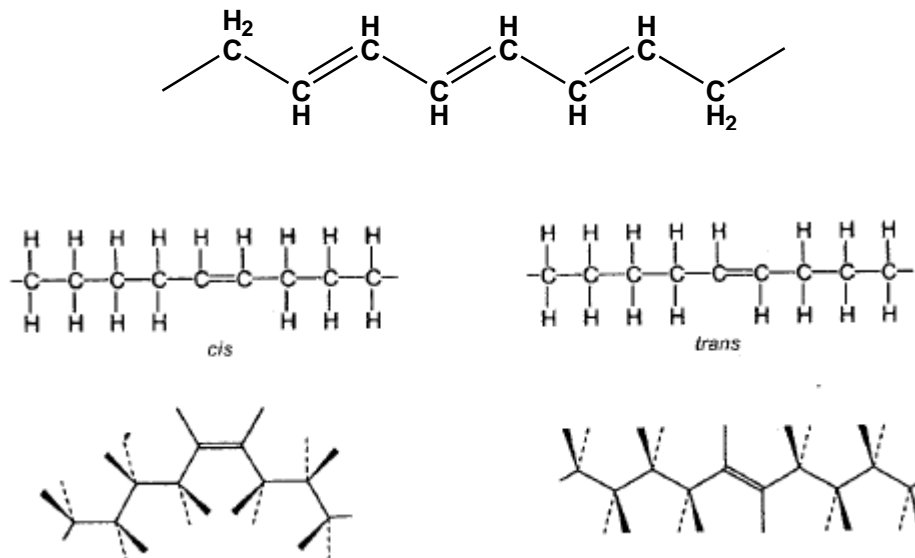
o no, ser idénticos. Los triglicéridos simples poseen tres moléculas de ácido idénticas; los mixtos tienen más de una especie de ácido graso [24]. Una grasa natural suele ser una mezcla de un número bastante elevado de triglicéridos simples y mixtos. El glicerol es un trialcohol de tres carbonos y los ácidos grasos se unen al carbono 1 (o sn-1 en la notación más específica), al carbono 2 (o sn-2) y al carbono 3 (o sn-3), mediante enlaces covalentes del tipo éster [2]. El número relativo de los diversos ácidos grasos y su particular ubicación en las moléculas de glicerol determinan diversas características de los productos grasos oleosos [1].

Los ácidos grasos que componen los aceites en general son los ácidos grasos saturados, AGS, y ácidos grasos insaturados, AGIS. La tabla 3 muestra los principales AGS y AGIS. Éstos compuestos son formados naturalmente en los vegetales, frutos y semillas, compartiendo rutas comunes de biosíntesis [19]. Los AGS son aquellos compuestos que en su cadena alquílica no contienen ningún enlace doble; algunos como el metanoico (ácido fórmico) y propanoico, menos comunes en las grasas naturales, son a menudo omitidos de la definición de los lípidos. Los AGIS contienen uno o más enlaces dobles. El doble enlace se traduce en una unión más reactiva entre los dos átomos de carbono, lo cual en consecuencia, se manifiesta en la capacidad para fijar hidrógeno (u otros elementos) en este doble enlace [1]. Los dobles enlaces son casi siempre *cis* (véase figura 2) y cuando el ácido graso tiene dos o más suelen ser del tipo “cadena de dobles enlaces interrumpida por grupos metilénicos” (figura 1):



**Figura 1. Cadena de dobles enlaces interrumpida**

y no del de cadena de dobles enlaces conjugados [24]:



**Figura 2. Dobles enlaces *cis* y *trans* sobre la cadena de ácido graso**

Los ácidos grasos que contienen un solo enlace insaturado reciben el nombre de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y los que contienen dos o más enlaces insaturados se les denomina ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) [19], Montgomery [25]. Aunque estos se encuentran en su mayoría esterificados con el glicerol, en los aceites pueden encontrarse ácidos grasos libres que se generan por acción enzimática o química, debida a una inadecuada conservación de las semillas y granos oleaginosos. Éstos ácidos grasos libres, permiten la saponificación de las grasas que generan como resultados los jabones que se usan en la industria [4,19].

**Tabla 3. Principales ácidos grasos saturados e insaturados en los alimentos**

<i>Nombre sistemático</i>	<i>Nombre común</i>	<i>“Estructura”</i>
<b>Ácidos saturados</b>		
<i>n</i> -Butanoico	Butírico	4:0
<i>n</i> -Hexanoico	Caproico	6:0
<i>n</i> -Octanoico	Caprílico	8:0
<i>n</i> -Decanoico	Cáprico	10:0
<i>n</i> -Dodecanoico	Láurico	12:0
<i>n</i> -Tetradecanoico	Mirístico	14:0
<i>n</i> -Hexadecanoico	Palmítico	16:0
<i>n</i> -Octadecanoico	Esteárico	18:0
<i>n</i> -Eicosanoico	Araquídico	20:0
<i>n</i> -Docosanoico	Behénico	22:0
<b>Ácidos Insaturados</b>		
<i>cis</i> -9-Hexadecenoico	Palmitoleico	16:1 $\Delta$ 9
<i>cis</i> -9-Octadecenoico	Oleico	18:1 $\Delta$ 9
<i>cis,cis</i> -9,12-Octadecadienoico	Linoleico	18:2 $\Delta$ 9,12
todo- <i>cis</i> -9,12,15-Octadecatrienoico	$\alpha$ -Linolénico	18:3 $\Delta$ 9,12,15
todo- <i>cis</i> -6,9,12-Octadecatrienoico	$\gamma$ -Linolénico	18:3 $\Delta$ 6,9,12
todo- <i>cis</i> -5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Araquidónico	20:4 $\Delta$ 5,8,11,14
todo- <i>cis</i> -7,10,13,16,19-Docosapentaenoico	Clupanodónico	22:5 $\Delta$ 7,10,13,16,19

*Fuente: Coultate, 2001[24]*

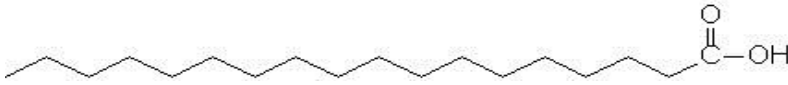
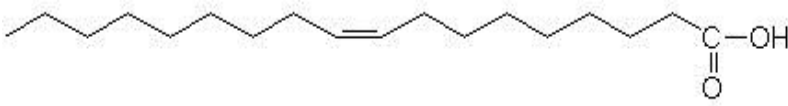
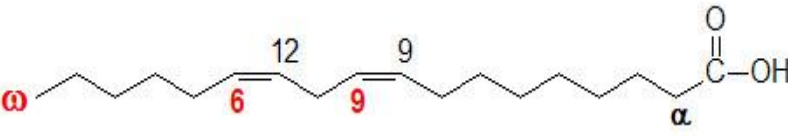
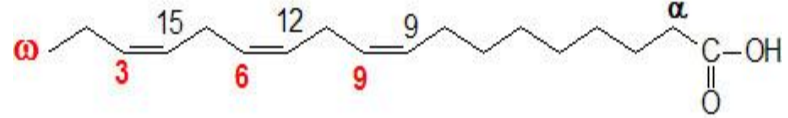
Las grasas con predominio de AGIS son líquidas a 25°C y suelen llamarse aceites, entre los que están los aceites vegetales de oliva, girasol, soja, etc. Las grasas con cantidades del orden del 30-80% de AGS, son sólidas y constituyen los sebos y mantecas animales y algunos vegetales, como las de cacao y palmiste [23].

Desde el punto de vista nutricional, los AGPI se clasifican en una serie de ácidos grasos. Las series más importantes son las omega-9 ( $\omega$ -9), omega-6 ( $\omega$ -6) y omega-3 ( $\omega$ -3). La denominación omega, denota que la enumeración de los ácidos grasos se realiza desde el carbono extremo terminal de la molécula.

La tabla 4 muestra la estructura lineal de un ácido graso saturado y la estructura de los ácidos grasos que dan origen a las tres series omega. El principal repre-

representante de la serie omega-9 es el ácido oleico (C18:1, AO), el principal representante de la serie omega-6 es el ácido linoleico (C18:2, AL) y el de la serie omega-3, el ácido alfa linolénico (C18:3, ALA) [2].

**Tabla 4. Estructura química del AE, AO, AL y ALA, especificando la notación omega.**

Símbolo Numérico	Nombre común y Estructura	Comentarios
18:0	<p>Ácido esteárico (AE)</p> 	AGS
18:1 <sup>Δ9</sup>	<p>Ácido oleico (AO)</p> 	Omega-9 AGMI
18:2 <sup>Δ9,12</sup>	<p>Ácido linoleico (AL)</p> 	<b>Ácido graso esencial</b> omega-6 AGPI
18:3 <sup>Δ9,12,15</sup>	<p>Ácido linolénico (ALA)</p> 	<b>Ácido graso esencial</b> omega-3 AGPI

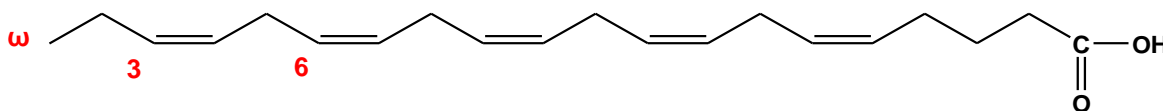
\*El símbolo Δ, denota la posición del doble enlace.

Fuente: Rose, 1999. [26]

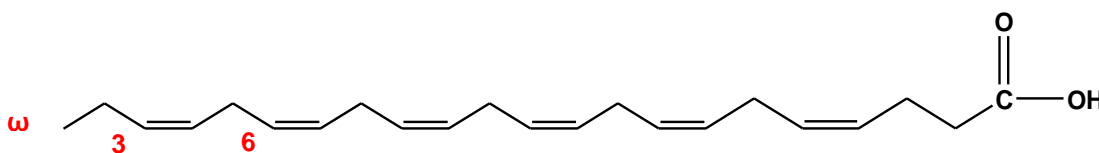
Los ácidos grasos ω-9 pueden ser formados en poca proporción por el organismo humano, por tal razón se les considera como no esenciales; en cambio de los ácidos grasos ω-6 y ω-3 no se forma ninguna proporción, considerados esenciales,

esto significa que los debemos consumir en una determinada cantidad y proporción entre ellos. Los aceites vegetales contienen mayoritariamente AGMI, pertenecientes a la serie  $\omega$ -9, y AGPI pertenecientes a la serie  $\omega$ -6, y no contienen, o solo contienen pequeñas cantidades de ácidos grasos de la serie  $\omega$ -3 [2].

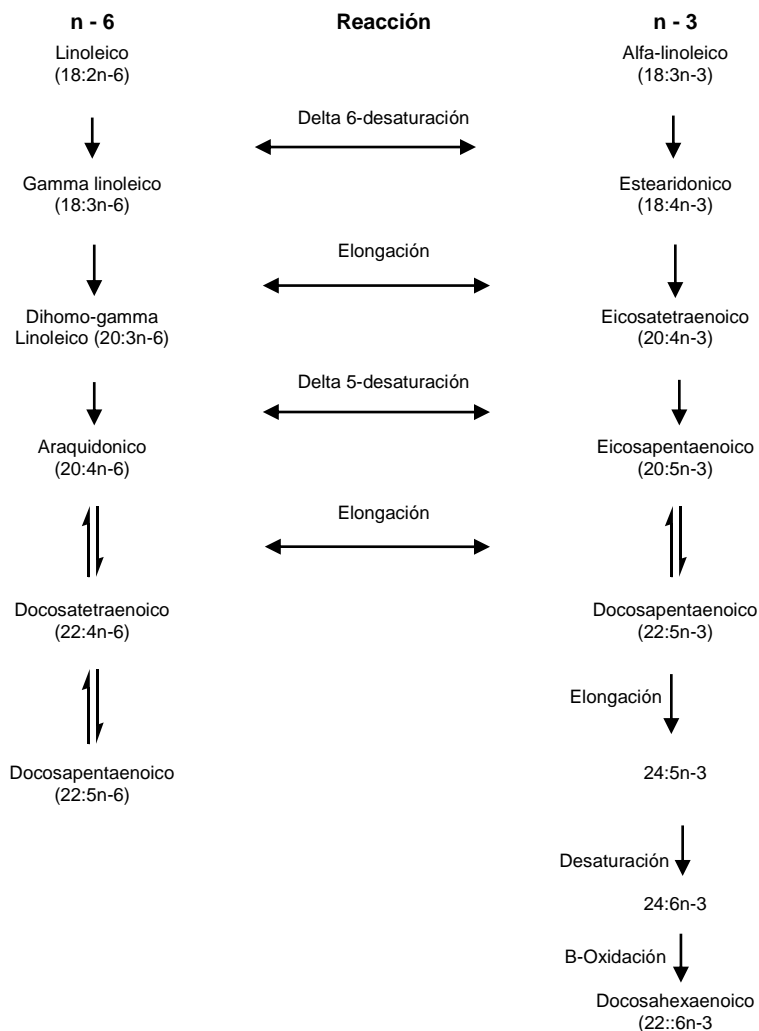
Los aceites de origen marino se caracterizan por su alto contenido de AGPI  $\omega$ -3, de los cuales los más importantes son el ácido eicosapentaenoico (EPA, C 20:5), figura 3 y el ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6), figura 4 [27]. Éstos son ingeridos fácilmente por el organismo humano, produciendo efectos benéficos en la salud y nutrición. Se diferencian de los AGPI  $\omega$ -3, provenientes de los aceites de origen vegetal, como el ALA, C 18:3, por la longitud de la cadena, siendo la de éste más corta, por lo que no puede actuar directamente sobre el organismo humano, beneficiándolo en la salud y nutrición; por lo tanto, no es lo mismo consumir AGPI  $\omega$ -3, de aceites de origen vegetal, que de origen marino. Los AGPI  $\omega$ -3 de origen vegetal, una vez que el cuerpo dispone de ellos deben actuar como precursores para la síntesis de los AGPI  $\omega$ -3 de cadenas más largas (EPA y DHA), vía una serie de reacciones de elongaciones y desaturaciones, figura 5, para que de esta manera produzca beneficios a la salud [4, 24].



**Figura 3. Estructura química del ácido eicosapentaenoico (EPA). 20:5**



**Figura 4. Estructura química del ácido docosahexaenoico (DHA). 22:6**

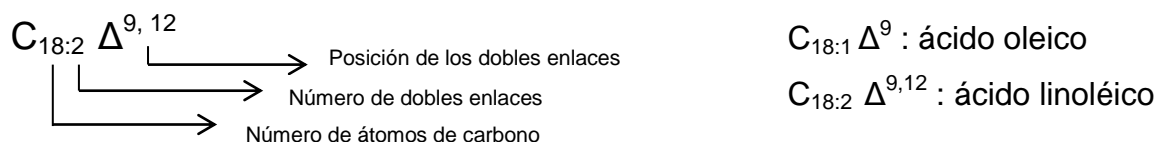


**Figura 5. Ruta de conversión de ácidos grasos insaturados a ácidos grasos poliinsaturados de cadena más larga**

*Fuente: Youdim, et al., 2000. [5].*

Existen varias formas para nombrar los ácidos grasos, una por su nombre vulgar o común y la otra utilizando la nomenclatura IUPAC, la cual debió unir esfuerzos con la International Union of Biochemistry (IUB) para evitar confusión al nombrar éstos compuestos.

El nombre común está relacionado con la raíz griega que indica el número total de carbonos en la molécula y la cantidad de insaturaciones presentes en ella y se antepone la palabra ácido. Los carbonos de la cadena principal se cuentan incluyendo el carbono que contiene el grupo carboxílico y se termina con la palabra óico. El símbolo n- y omega ( $\omega$ ) se usa para determinar la posición de la insaturación desde el extremo metilo, mientras que delta ( $\Delta$ ) es usado para determinar la posición de la insaturación desde el extremo carboxílico, así:



También se usa cis o trans para determinar la isomería configuracional de los ácidos grasos [19,25]. En la figura 6 se muestra la nomenclatura IUPAC de un ácido graso insaturado común. En las tablas 5 y 6 se muestra la nomenclatura de los diferentes AGS y AGIS, respectivamente.

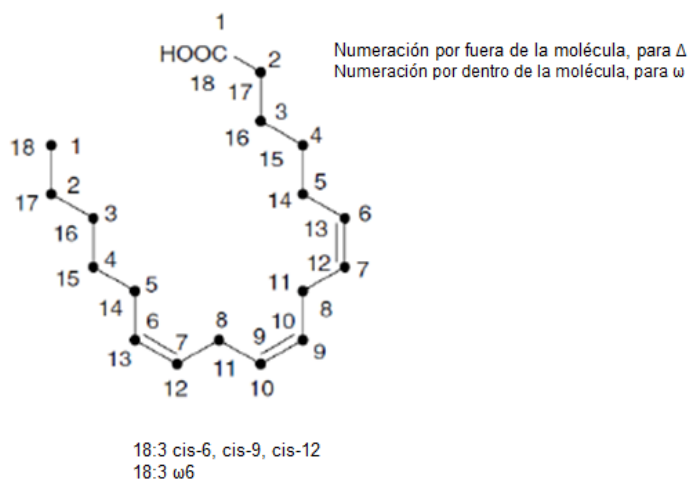


Figura 6. Sistema numérico IUPAC,  $\Delta$  y  $\omega$

Fuente: Akoh, et al., 2008

**Tabla 5. Nombre común y sistemático de los diferentes Ácidos grasos saturados, AGS**

<b>Nombre sistemático</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Abreviatura</b>
Metanoico	Fórmico	1:0
Etanoico	Acético	2:0
Propanoico	Propiónico	3:0
Butanoico	Butírico	4:0
Pentanoico	Valérico	5:0
Hexanoico	Caproico	6:0
Heptanoico	Enántico	7:0
Octanoico	Caprílico	8:0
Nonanoico	Pelargónico	9:0
Decanoico	Cáprico	10:0
Undecanoico	-	11:0
Dodecanoico	Laúrico	12:0
Tridecanoico	-	13:0
Tetradecanoico	Mirístico	14:0
Pentadecanoico	-	15:0
Hexadecanoico	Palmítico	16:0
Heptadecanoico	Margárico	17:0
Octadecanoico	Esteárico	18:0
Nonadecanoico	-	19:0
Eicosanoico	Araquídico	20:0
Docosanoico	Behénico	22:0
Tetracosanoico	Lignocérico	24:0
Hexacosanoico	Cerótico	26:0
Octacosanoico	Montánico	28:0
Tricontanoico	Melisico	30:0
Dotriacontanoico	Laceroico	32:0

*Fuente: Gunstone, 2008.*

**Tabla 6. Nombre común y sistemático de los diferentes Ácidos grasos insaturados, AGIS**

Nombre Sistemático	Nombre Común	Abreviatura
c-9-Dodecenoico	Lauroleico	12:1 $\omega$ 3
c-5-Tetradecenoico	Fisetérico	14:1 $\omega$ 9
c-9-Tetradecenoico	Miristoleico	14:1 $\omega$ 5
c-9- Hexadecenoico	Palmitoleico	16:1 $\omega$ 7
c-7, c-10,c-13-Hexadecatrienoico	-	16:3 $\omega$ 3
c-4,c-7,c-10,c-13-Hexadecatetraenoico	-	16:4 $\omega$ 3
c-9-Octadecenoico	Oléico	18:1 $\omega$ 9
c-11-Octadecenoico	Cis-Vacénico	18:1 $\omega$ 7
t-11-Octadecenoico	Vacénico	a
t-9-Octadecenoico	Elaídico	a
c-9,c-12-Octadecadienoico	Linoleico	18:2 $\omega$ 6
c-9,t-11-Ácido Octadecadienoico	Ruménico	a
c-9,c-12,c-15-Octadecatrienoico	Linolénico	18:3 $\omega$ 3
c-6,c-9,c-12- Octadecatrienoico	$\gamma$ - Linolénico	18:3 $\omega$ 6
c-6,c-9,c-12,c-15-Octadecatetraenoico	Estearidónico	18:4 $\omega$ 3
c-11-Eicosenoico	Gondoico	20:1 $\omega$ 9
c-9-Eicosenoico	Gadoleico	20:1 $\omega$ 11
c-8,c-11,c-14- Eicosatrienoico	Dihomo- $\gamma$ -linolénico	20:3 $\omega$ 6
c-5,c-8,c-11- Eicosatrienoico	Mead's	20:3 $\omega$ 9
c-5,c-8,c-11,c-14-Eicosatetraenoico	Araquidónico	20:4 $\omega$ 6
c-5,c-8,c-11,c-14,c-17-Eicosapentaenoico	Eicosapentaenoico	20:5 $\omega$ 3
c-13-Docosenoico	Erúico	22:1 $\omega$ 9
c-11-Docosenoico	Cetoleico	22:1 $\omega$ 11
c-7,c-10,c-13,c-16,c-19-Docosapentaenoico	DPA,clupanodonico	22:5 $\omega$ 3
c-4,c-7,c-10,c-13,c-16,c-19-Docosahexaenoico	DHA,Cervonico	22:6 $\omega$ 3
c-15-Tetracosenoico	Nervonico	24:1 $\omega$ 9

<sup>a</sup>Nomenclatura abreviada, no se puede utilizar para nombrar los ácidos grasos trans

*Fuente: Gunstone, 2008.*

La ingesta total de lípidos, así como la relación en el consumo de AGPI de cadena larga, omega-6/omega-3, ha aumentado considerablemente en la dieta occidental en las últimas décadas. Es ya conocido que la dieta estándar actual difiere sustancialmente de aquella que consumieron los seres humanos desde tiempos

prehistóricos [28]. Diversos estudios han evaluado la relación ideal entre omega 6 y omega 3, que se debe consumir, la cual debe estar en 1:1 y máximo 2:1; estos estudios han determinado que esta depende del tipo de dieta. Por ejemplo, las dietas de los países europeos tienen una relación 15/1 o 16.7/1; son dietas deficientes en omega 3 y excesivas en omega 6; estas dietas no tienen una adecuada correspondencia con los patrones genéticos. Se ha determinado que cantidades elevadas de omega 6 y una relación de  $\omega-6/\omega-3$ , muy alta, como se encuentra en las dietas mediterráneas y orientales, promueve la patogénesis de diversas enfermedades cardíacas y del sistema inflamatorio y autoinmune, mientras que relaciones bajas, es decir, incremento de omega 3, ejercen efectos supresivos [29]. En estudios de prevención de la enfermedad cardiovascular, se ha empleado una relación de 4/1, encontrándose que la mortalidad por esta causa ha disminuido en un 70% [30]. Una relación de 2.5/1 ha mostrado una disminución de la proliferación de células malignas rectales en pacientes con cáncer de colon rectal [31], mientras que en mujeres con cáncer de seno, ha tenido un efecto positivo [29].

Los aceites y grasas crudas también tienen diferentes componentes minoritarios como los fosfolípidos, que son responsables de la turbidez en estas sustancias y un parámetro muy importante a la hora de aplicar las condiciones del proceso de refinación. Por su carácter lipófilo y polar, son buenos emulgentes y se obtienen en la industria, a partir sobre todo del aceite de soya. Son más inestables que los triglicéridos y se enrancian con más facilidad, por lo que en algunos aceites debe separarse en las operaciones de refinado [23]. Otros componentes minoritarios son los residuos insaponificables (hidrocarburos, alcoholes de cadena larga, esteroides, carotenoides, tocoferoles, etc). La cantidad y composición de éste residuo son características de cada grasa, y algunas de sus propiedades se utilizan con fines de caracterización y para detectar adulteraciones y mezclas [17].

Otros componentes de los aceites y de las grasas son los ácidos grasos trans, los cuales poseen dobles enlaces con configuración geométrica trans. Estos componentes resultan de los procesos de hidrogenación parcial de grasas y aceites, bacterias y desodorización de los aceites [19].

Finalmente, otros componentes de los aceites y grasas son los tocoles. Estos compuestos comprenden los tocoferoles y tocotrienoles [32]. Son antioxidantes naturales y precursores de vitamina E y otras vitaminas liposolubles; frenan el enranciamiento de las grasas y la degradación oxidativa de la vitamina A y carotenoides, presentes en los alimentos [23]. El contenido total de tocoferol en aceites vegetales crudos puede variar desde 10 ppm como es el caso del aceite de coco, hasta 1370 ppm como el aceite de la semilla de soya. Algunos de ellos, juegan un papel fundamental en el color y la protección de aceites comestibles [17].

### **3.2.2 Usos de las grasas y aceites vegetales en la industria**

El uso de aceites y grasas dentro de la industria, es de gran importancia debido a los vínculos productivos que los productos de este sector tienen tanto en la industria de alimentos como en otras actividades productivas. Para el caso de la cadena de semillas oleaginosas, aceites y grasas vegetales y animales en Colombia, se presentan interrelaciones y convergencias cercanas o lejanas con otras cadenas, a partir del manejo que pueda dársele a la materia prima de origen vegetal o animal, o del tipo de procesamiento divergente que se de al elemento eje aglutinante (aceite o grasa cruda), en los distintos procesos o etapas del flujo de la cadena. Un primer vínculo se establece con la industria procesadora de alimentos balanceados para animales a través de las tortas y cascarillas, cuya presentación por lo general se da en forma de torta prensada o gránulos (pellets), obtenidas de las semillas y frutos oleaginosos en el proceso industrial de extracción del aceite; el otro es el empleo de productos intermedios, como ácidos grasos o residuos

(aceite de palmiste, estearina y sebos animales) obtenidos de los diversos aceites crudos durante el proceso de extracción, los cuales son utilizados como materias primas en la industria jabonera y artículos de tocador. Un caso de interrelación lejana se da en etapas finales de la cadena, mediante el uso de aceites o grasas en la producción de disolventes, barnices, cosméticos, alcoholes, aceites ácidos, glicerinas entre otros, los cuales, obviamente, hacen parte de otras cadenas productivas, de naturaleza fundamentalmente química. Por último, la cadena tiene vínculos con industrias tan diversas como panadería, galletería, encurtidos, confitería y chocolatería, y farmacéutica, entre otras [33,34].

### **3.3 Peroxidación lipídica**

#### **3.3.1 Especies reactivas**

Las proteínas son especialmente vulnerables al daño oxidativo. Las modificaciones oxidativas de las proteínas, tales como carbonilación, nitración y peroxidación lipídica de aductos, son el producto del daño oxidativo atribuido a especies reactivas del oxígeno (ROS) [35]. Las ROS incluyen a los radicales libres, especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad y reactividad, y a otras especies no radicalarias que son oxidantes y pueden convertirse en radicales libres [36]. En la Tabla 7 se muestran las diferentes especies reactivas radicales y no radicales.

Estos radicales tienen una vida media corta, para estabilizarse actúan cercano al sitio en que se forman, reaccionando con las moléculas adyacentes, mediante reacciones de oxido-reducción con biomoléculas críticas como las proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos [35,36], produciendo enfermedades crónicas, procesos de envejecimiento, obstrucción arterial en enfermedades cardiovasculares, cáncer, entre otras [1,37].

**Tabla 7. Especies reactivas de nitrógeno y oxígeno**

Radical		No radical	
Radical hidróxilo	$\cdot\text{OH}$	Peróxidos orgánicos	ROOH
Alcoxilo	$\text{RO}\cdot$	Oxígeno singlete	${}^1\text{O}^2$
Hidroperoxilo	$\text{HOO}\cdot$	Peróxido de hidrógeno	$\text{H}_2\text{O}_2$
Superóxido	$\text{O}_2\cdot$	Ácido hipocloroso	HClO
Peróxilo	$\text{ROO}\cdot$	Ácido nitroso	$\text{HNO}_2$
Óxido nítrico	$\text{NO}\cdot$	Catión nitrilo	$\text{NO}_2^+$
Dióxido de nitrógeno	$\text{NO}_2\cdot$	Peroxinitrito	$\text{ONOO}^-$
		Ácido peroxinitroso	ONOOH
		Alquil peroxinitrito	ROONO
		Ozono	$\text{O}_3$
		Ácido hipobromoso	HBrO

*Fuente: Díaz, 2002*

La oxidación lipídica que se produce en el cuerpo se llama peroxidación, mientras que si la oxidación ocurre en los alimentos, se llama autooxidación [1]. En los aceites y grasas también suceden los mismos procesos oxidativos que ocurren en el organismo. Es por esto que se guarda un cuidado considerable durante la fabricación y almacenamiento, ya que un incremento en la temperatura, presencia de la luz, humedad, contacto con metales, favorecen las reacciones con las especies radicales en las matrices y las moléculas que las componen [38].

La oxidación de los lípidos es un mecanismo que conduce al enranciamiento químico, y es un factor decisivo para determinar la vida útil de los alimentos y otros productos, aún cuando el contenido de grasa en el producto sea muy bajo [39].

### 3.3.2 Mecanismos de peroxidación lipídica

Al igual que la hidrogenación, esta reacción tiene lugar en los dobles enlaces o puntos de insaturación. Es la reacción del aceite o grasa con el oxígeno del aire, y según el alimento es indeseable ya que la reacción afectará negativamente al sabor y olor de la grasa y del alimento en el cual se usa ésta, además que se pueden formar compuestos nocivos [1,23]. En la figura 7, se muestra la reacción general, de oxidación de los ácidos grasos.

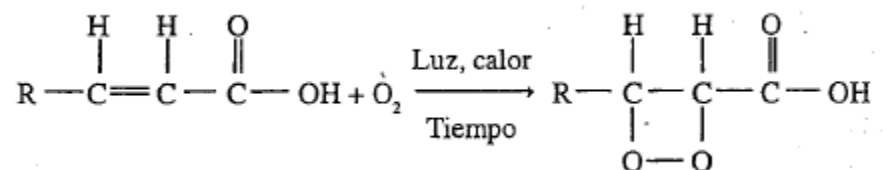


Figura 7. Reacción de oxidación del ácido graso

La peroxidación lipídica ocurre fundamentalmente a través de una serie de reacciones en cadena, vía reacción de fotooxidación, donde se generan principalmente hidroperóxidos, que se descomponen en radicales libres los cuales pueden iniciar reacciones de autooxidación. Los hidroperóxidos se forman cuando un oxígeno singlete,  $^1\text{O}_2$ , es adicionado al doble enlace de la cadena del ácido graso poliinsaturado [38]. Las moléculas de oxígeno singlete se generan, en numerosas reacciones, a partir de oxígeno en estado fundamental de baja energía, oxígeno triplete,  $^3\text{O}_2$ , en presencia de  $h\nu$  [23]. El proceso consta de tres etapas o fases: iniciación, propagación y terminación. La tabla 8 muestra las fases de autooxidación.

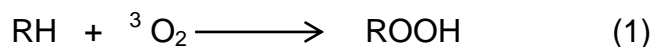
La etapa de iniciación, se ve favorecida en los ácidos grasos altamente insaturados (AGPI), debido a la alta reactividad de los grupos metilenos, adyacentes a los dobles enlaces [40]. Implica el rompimiento homolítico del hidrógeno en posición  $\alpha$  con respecto al doble enlace de la molécula del ácido

**Tabla 8. Representación del mecanismo de autooxidación de los aceites**

<b>Iniciación</b>	$RH \longrightarrow R^\bullet + H^\bullet$
<b>Propagación</b>	$R^\bullet + O_2 \longrightarrow ROO^\bullet$ $ROO^\bullet + RH \longrightarrow ROOH + R^\bullet$
<b>Derivación</b>	$ROOH \longrightarrow RO^\bullet + OH^\bullet$ $RO^\bullet + RH + O_2 \longrightarrow ROH + ROO^\bullet$ $^\bullet OH + RH + O_2 \longrightarrow H_2O + ROO^\bullet$
<b>Terminación</b>	$ROO^\bullet + ROO^\bullet \longrightarrow ROOH + O_2$ $ROO^\bullet + R^\bullet \longrightarrow ROOH$ $R^\bullet + R^\bullet \longrightarrow R - R$
<b>Descomposición</b>	$ROOH \rightarrow$ Diversos compuestos de bajo peso molecular
<b>Polimerización</b>	$ROOH \rightarrow$ Diversos compuestos de alto peso molecular

Fuente: Fox, et al., 2007.

graso (RH). La tabla 9 muestra las energías necesarias para el rompimiento homolítico en diferentes sistemas de dobles enlaces, para la abstracción del hidrógeno. Cuánto menor energía se requiera para generar el rompimiento homolítico en un sistema lipídico, más susceptible será un sustrato de ser oxidado [41]. Debido a que es poco probable que la reacción (1) inicie espontáneamente, ya que la barrera spin que se forma entre el lípido y el oxígeno triplete requiere de una energía de activación alta, es necesario que ésta sea iniciada (catalizada) por agentes físicos o químicos externos tales como el calor, radiaciones ionizantes, iones metálicos, etc (Reacción 2), formando así un radicales libre,  $R^\bullet$  [38,42].



**Tabla 9. Energías de abstracción de átomos de hidrógeno en diferentes sistemas de dobles enlaces presentes en ácidos grasos**

	E(kJ/mol)	E(kcal/mol)	Facilidad relativa de abstracción de H
H-CH-CH <sub>2</sub>	431	105	
H-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	419	99	
H-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> =CH <sub>2</sub>	356	85	
R-HCH-CH-CH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	322	77	
R(CH <sub>2</sub> -CH)-HCH-CH <sub>2</sub> -	310	74	1
R-CH-CH-HCH-CH-CH-	272	65	62
ROOH	377	90	

Fuente: Shahidi, 2005.

Los radicales libres, especies con un electrón desapareado, son altamente inestables e intermediarios de vida corta, se estabilizan abstrayendo un hidrógeno de otra especie química. Como la reacción ocurre principalmente en los sistemas de dobles enlaces, los componentes poliinsaturados de las grasas se oxidan mucho más deprisa que los más saturados [23]. La posición de los dobles enlaces también es un factor determinante en la velocidad de reacción [43]. La tabla 10 muestra la vida media y velocidad de reacción de algunos sustratos típicos. Los procesos de oxidación permanecen lentos, en esta fase.

**Tabla 10. Vida media y velocidad de la reacción de radicales con sustratos típicos.**

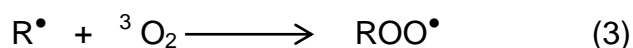
Radical	Vida-media de sustrato típico 10 <sup>-3</sup> M, 37 <sup>0</sup> C	Velocidad de reacción k (L mol <sup>-1</sup> sec <sup>-1</sup> )
HO•	10 <sup>-9</sup> sec	10 <sup>9</sup> – 10 <sup>10</sup>
RO•	10 <sup>-6</sup> sec	10 <sup>6</sup> – 10 <sup>8</sup>
ROO•	10 sec	10 <sup>1</sup> – 10 <sup>3</sup>
L•	10 <sup>-8</sup> sec	10 <sup>4</sup> – 10 <sup>8</sup>
AnOO•	10 <sup>-5</sup> sec	
O <sub>2</sub> •-		~ 1
HOO•		10 <sup>0</sup> – 10 <sup>3</sup>

Fuente: Shahidi, 2005.

Al finalizar el período de iniciación, la oxidación se acelera, el alto consumo de oxígeno y el contenido de peróxido incrementan sustancialmente.

La oxidación de los lípidos, es iniciada principalmente por radicales hidroxilos ( $\cdot\text{OH}$ ) e hidroperoxilos ( $\text{HOO}\cdot$ ), así como radicales lípidos alcoxilo ( $\text{RO}\cdot$ ) y peróxido ( $\text{ROO}\cdot$ ). Los radicales hidroxilo, favorecen las velocidades de reacción con los lípidos.

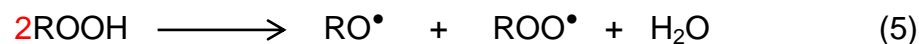
Etapa de propagación se da en dos pasos; en el primer el radical  $\text{R}\cdot$ , formado durante la etapa de iniciación, reacciona muy rápidamente con el oxígeno triplete, produciendo diferentes especies radicales, incluyendo los radicales peróxido (3).



Esta reacción tiene muy baja energía de activación y una alta constante de velocidad, así que la concentración de  $\text{ROO}\cdot$  es mucho más alta que la del  $\text{R}\cdot$  reaccionando con todo el oxígeno [44]. En el segundo paso, el radical peróxido abstrae un átomo de hidrógeno de otra molécula de ácido graso insaturado, formando hidroperóxidos (compuestos de oxidación primaria) y un nuevo radical libre del ácido graso, que entrará a la cadena de propagación, donde reacciona y repite el proceso, formando una reacción en cadena (Reacción 4) [24]. De esta manera, muchas moléculas de lípidos pueden ser oxidadas hasta hidroperóxidos por muchas formas de iniciación [19].



Estas reacciones son independientes e irreversibles, son detectadas por el marcado crecimiento en la formación de hidroperóxidos, los cuales también pueden descomponerse para dar otros radicales libres, los que a su vez, pueden comportarse como los ROO• (reacción 5) [23, 24].



La formación de hidroperóxidos de ácidos grasos insaturados está generalmente acompañada por una estabilidad del radical vía reordenamiento del doble enlace (deslocalización electrónica) la cual también se presenta en dienos y trienos conjugados. Se ha calculado que 25 ácidos grasos diferentes son oxidados durante la fase de propagación, después de la etapa de iniciación [38]. El ciclo de propagación es interrumpido por las reacciones de terminación, en el cual hay consumo de los radicales y la mayor formación de peróxido [45].

En la etapa de terminación, el proceso de oxidación continúa con la transformación de hidroperóxidos, con una interacción bimolecular de radicales, para formar productos secundarios más estables (Reacción 6) [46].



El mecanismo de descomposición de los hidroperóxidos implica la ruptura del doble enlace adyacente al grupo hidroperóxilo, en el cual se produce un radical alcoxilo e hidroxilo, véase figura 8, conduciendo a la formación de hidrocarburos, aldehídos, alcoholes y cetonas volátiles. Otros compuestos no volátiles son también formados, incluyendo aldehídos, triglicéridos oxidados y sus polímeros. El tipo de subproducto obtenido después de la oxidación, se determina por la composición del hidroperóxido y el tipo de escisión de los dobles enlaces en la cadena del ácido graso; las figuras 9 y 10 muestran los productos de formación

estables. La reacción puede entonces “terminar” después de la formación de los polímeros [38]. Además, muchos antioxidantes pueden retardarla, ya que atrapan los radicales libres, pero nunca la detienen, porque la oxidación ocurre a bajas presiones de oxígeno y se hace inevitable, a pesar del uso de todas las metodologías de conservación. En los alimentos con alto contenido de lípidos, la etapa más importante es la formación y descomposición de los hidroperóxidos, ya que determinan el valor sensorial del alimento. Este fenómeno se denomina rancidez [47].

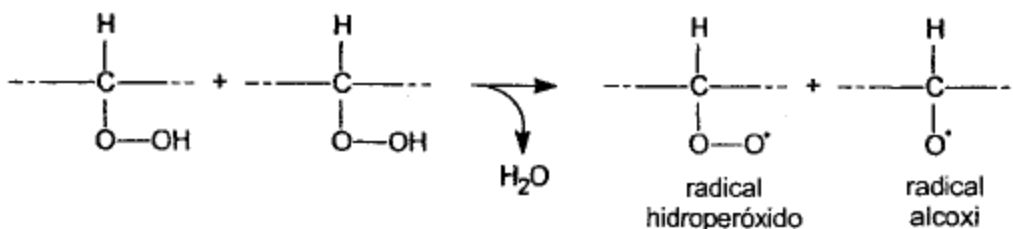


Figura 8. Degradación de hidroperóxidos

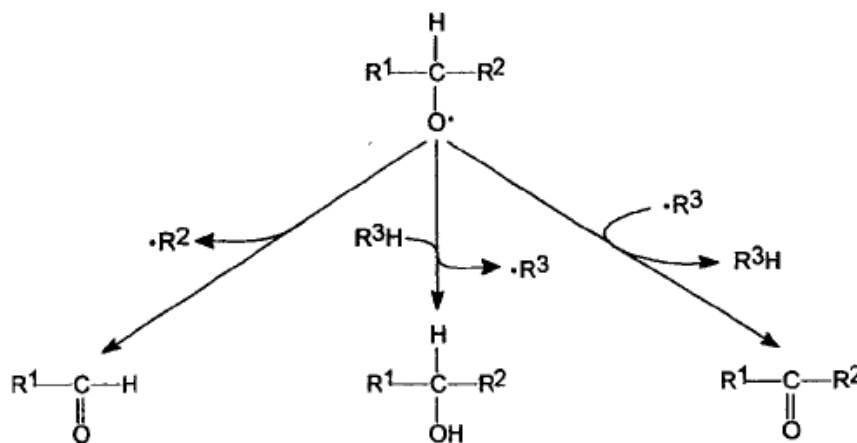
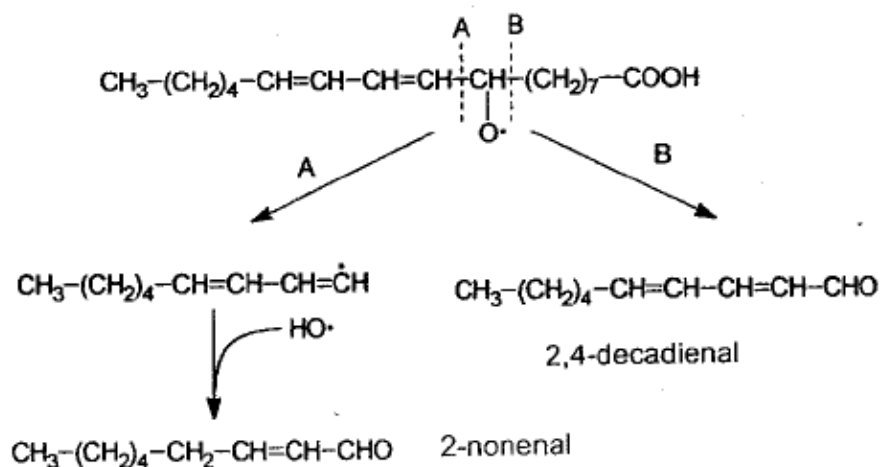


Figura 9. Formación de productos finales estables a partir del radical alcoxi

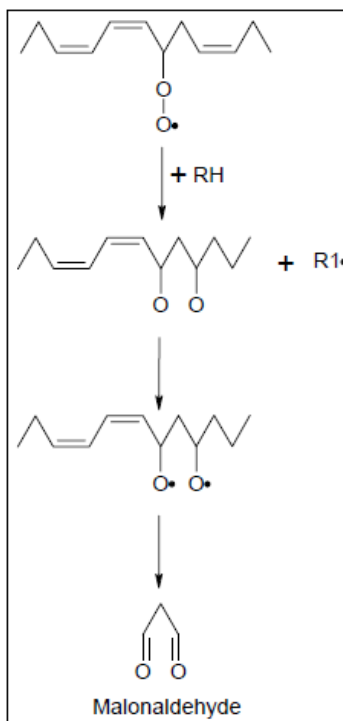


**Figura 10. Formación de aldehídos insaturados durante la autooxidación**

Fuente: Coultate, 2002

Los aldehídos, procedentes de la escisión de la cadena carbonada a cualquiera de los dos lados de los radicales alcoxilados, son la fuente que confiere su olor característico a las grasas enranciadas, detectados por la vía sensorial a muy bajos niveles. Son a la vez fácilmente oxidables, produciéndose nuevos compuestos volátiles como el malonaldehído, MDA, cuya detección es utilizada como medida de oxidación de los aceites, da un color rosa con el ácido tiobarbitúrico, en lo que se basa un método útil para seguir el enranciamiento de las grasas [24,40]. El malonaldehído constituye también un compuesto prodesnaturalizante de las proteínas al promover el entrecruzamiento de dos grupos amino [40]. La figura 10 muestra la formación del malonaldeído.

Los métodos para medir el estado oxidativo de los lípidos y la estabilidad están recibiendo una atención creciente. Las investigaciones incluyen la fluorimetría radiométrica de cara frontal, potenciometría, cromatografía líquida de alta resolución, espectrofotometría, análisis de quimioluminiscencia y determinación conductimétrica, entre otros [1].



**Figura 11. Formación del malonaldehído**

*Fuente: Navarro, et al., 2004*

### 3.3.3 Estabilidad oxidativa

La estabilidad de una grasa o aceite, es decir su resistencia a la autooxidación, es una cualidad apreciada que supone la capacidad para mantener su calidad organoléptica durante el almacenamiento y el tiempo de vida útil, depende de su composición en ácidos grasos insaturados, temperatura y exposición a la luz, durante el almacenamiento, metales de transición durante la extracción, peróxidos, pigmentos, presencia de componentes menores, y de sus propiedades antioxidantes [23]. Factores de los que depende que los aceites sean menos aceptados por los consumidores o sean considerado para usos industriales

Las diferencias entre unos aceites u otros son muy grandes y pueden estudiarse viendo las variaciones en los índices de calidad, los cuales pueden definir el grado de conservación y pureza del aceite, después de su extracción y procesos de refinación; basándose en las normas establecidas para aceites de consumo o de aplicación industrial, así como determinar si éste se encuentra alterado. Estos índices son un punto de partida para los demás análisis de estabilidad. De otro lado, está la determinación de productos iniciales de peroxidación como dienos conjugados, peróxidos y la determinación de compuestos finales, como volátiles, TBARs (especies reactivas del ácido tiobarbitúrico) [38]. También es usado en seguimiento de reacciones de oxidación, de sustratos específicos, como ácidos grasos saturados e insaturados.

### 3.3.4 Antioxidantes

Los aceites comestibles naturales tienen en su composición antioxidantes tales como tocoferoles, tocotrienoles, carotenoides, compuestos fenólicos y esteroides. Cuando se carece de ellos a veces son adicionados para darle una mejor estabilidad oxidativa al aceite.

Los antioxidantes son sustancias que bloquean la etapa de iniciación en la oxidación, minimizan la velocidad de oxidación, inactivan los radicales libres, controlan los metales de transición, eliminan al oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), inactivan la sensibilidad a la luz. Los antioxidantes pueden donar un átomo de hidrógeno al radical libre y convertirlo en un producto no radical más estable. Es decir alargan el tiempo de vida del producto, reducen el desperdicio de materias primas, reducen la pérdida nutricional y amplían el tiempo de uso del producto [19]. En general son compuestos polifenólicos, más o menos liposolubles, que no deben ser tóxicos ni comunicar sabores extraños a los alimentos [23]. Pueden clasificarse de acuerdo con su mecanismo de acción como antioxidante primario y

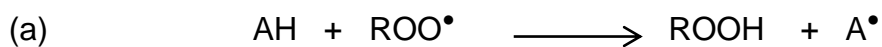
antioxidante secundario. Hay antioxidantes que exhiben más de un mecanismo de acción y se conocen como antioxidantes múltiples.

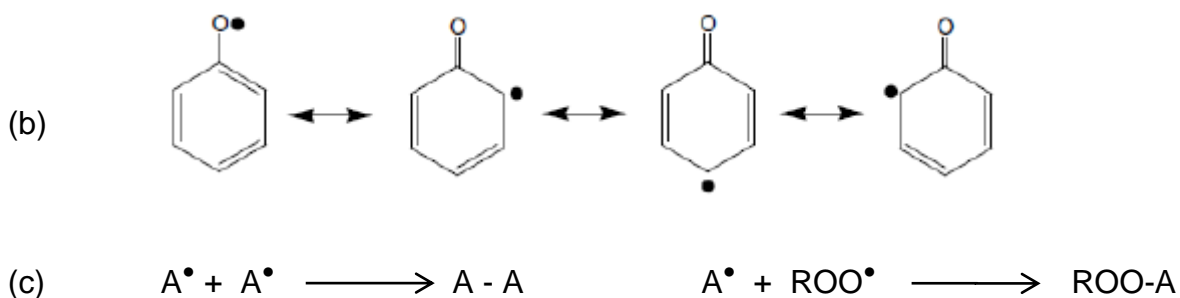
El *antioxidante primario*, es conocido también como tipo I, o antioxidante de rompimiento de cadena, son aceptores de radicales libres por lo tanto inhiben la etapa de iniciación o interrumpen la etapa de propagación en la autooxidación; reducen o retardan el ataque de las especies reactivas del oxígeno (ROS) sobre el sustrato, usualmente interrumpiendo la segunda etapa de la cadena de propagación, atrapando los radicales libres con centros de oxígeno [48]; los antioxidantes fenólicos transfieren un átomo de hidrógeno a los radicales peróxido ( $\text{ROO}^\bullet$ ), convirtiéndolos en hidroperóxidos. Los antioxidantes primarios pueden desactivar radicales por dos mecanismos principales, por transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT) o por transferencia de un electrón (SET). Los resultados son los mismos, independiente del mecanismo [49].

En el mecanismo HAT, el antioxidante primario atrapa un radical por donación rápida de átomos de hidrógeno, reacción (7).



Una alta estabilidad de  $\text{ArO}^\bullet$  corresponde a una mejor eficiencia del antioxidante  $\text{ArOH}$ . Generalmente, la naturaleza de los enlaces de hidrógeno está determinada por la naturaleza de los sustituyentes, la conjugación y la resonancia que determinan a la vez la reactividad del radical fenoxilo ( $\text{ArO}^\bullet$ ). En este mecanismo, se hace importante la Energía de Disociación del enlace O-H (BDE), cuanto más débil el enlace O-H mejor antioxidante el compuesto  $\text{ArOH}$ . La figura 12 muestra el mecanismo general de acción.



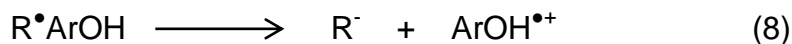


**Figura 12. Mecanismo de estabilización de radicales libres mediante resonancia por antioxidantes sintéticos**

Fuente: Coultate, 2007.

- En la autooxidación lipídica un radical intermedio se estabiliza cuando una molécula, HA, dona un átomo de hidrógeno.
- El radical libre antioxidante se estabiliza mediante resonancia y es en consecuencia insuficientemente reactivo para propagar la secuencia de autooxidación.
- Los radicales antioxidantes reaccionan entre sí para terminar el proceso

En el mecanismo SET, el antioxidante puede donar un electrón al radical peroxilo o a cualquier otra especie oxidante  $Fe^{+3}$ , formando entre los productos un catión radical del antioxidante ( $ArO^{\bullet+}$ ). Reacción (8) [47, 49].

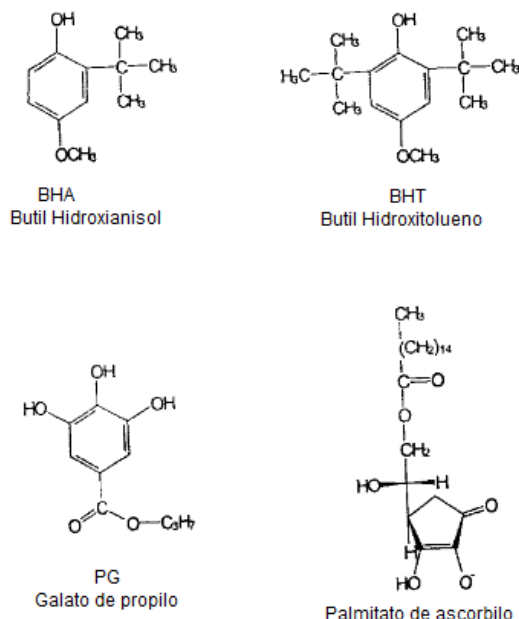


El factor energético determinante de la reacción total es el potencial de ionización (IP), que representa la facilidad con la cual el antioxidante puede donar un electrón. La estabilidad del catión radical ( $ArO^{\bullet+}$ ), está determinada igualmente por la naturaleza de los sustituyentes [49].

Los mecanismos SET y HAT pueden ocurrir simultáneamente, pero con velocidades diferentes, de tal manera que los valores de BDE e IP son importantes para conocer la actividad de los antioxidantes y el mecanismo de reacción más favorable.

Los antioxidantes primarios son mono o polihidroxi fenoles con varios sustituyentes en los anillos. La sustitución con grupos donadores de electrones en posición orto y para con respecto al grupo hidroxilo del fenol, aumenta la actividad antioxidante del compuesto; por efecto inductivo, los más comunes son de carácter sintético como el butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), propil galato (PG) y terbutil hidroxiquinona (TBHQ), de mayor uso en la industria [19, 50]. Sin embargo, unos pocos componentes naturales de los alimentos también actúan como antioxidantes primarios y comúnmente se añaden a los alimentos, entre ellos tenemos los tocoferoles y los carotenoides; difieren de los antioxidantes sintéticos por su mecanismo de acción [19].

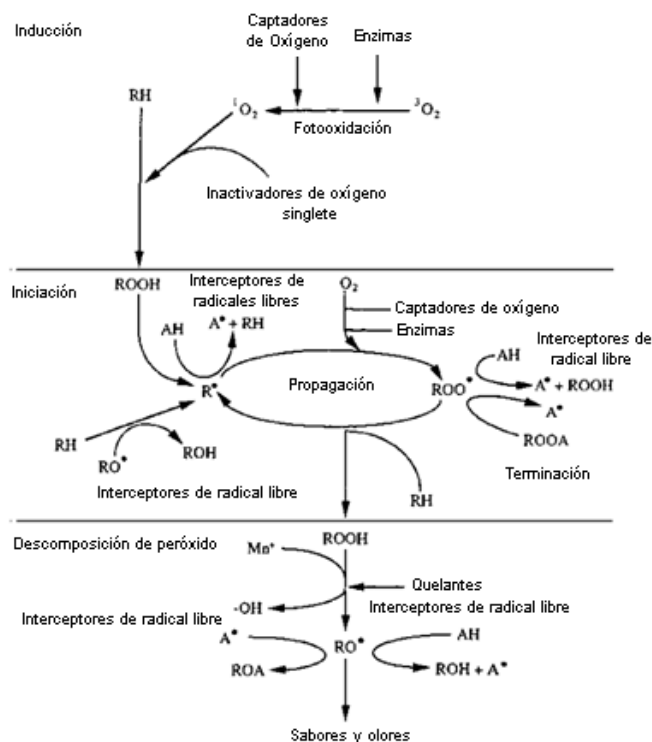
Los antioxidantes sintéticos se usan industrialmente como aditivos; específicamente retrasan o previenen los procesos oxidativos que causan el deterioro de los alimentos; para su utilización debe tenerse en cuenta su estabilidad y volatilidad y, en resumen su capacidad para resistir los tratamientos térmicos de los alimentos y permanecer ejerciendo su acción protectora en el producto terminado. Los antioxidantes se usan en proporción máxima de 0.2 g/Kg, en conjunto, cuando se usan mezclas sinérgicas, sin que ningún componente pase de 0.1 g/Kg [23].



**Figura 13. Antioxidantes sintéticos de uso permitido en los alimentos**

*Fuente: Coultate, 2007.*

Los *antioxidantes secundarios*, conocidos como preventivos o del tipo 2, actúan a través de varios mecanismos posibles, ellos no convierten el radical libre en un producto más estable. El antioxidante secundario puede quelatar el metal prooxidante y desactivarlo, además de que entrega hidrógeno al hidroperóxido sin que se forme una especie radical, desactiva el oxígeno singlete, absorbe la radiación ultravioleta, o actúa como un eliminador de oxígeno. Estos antioxidantes causan un efecto sinérgico porque activan a los antioxidantes del tipo I. Los más conocidos son el ácido cítrico, ácido ascórbico, ascorbil palmitato, lecitina y ácido tartárico. La figura 14 muestra una visión general de la oxidación de los lípidos y la interacción de los antioxidantes [19].



**Figura 14. Descripción general de la oxidación de lípidos y la interacción de los antioxidantes**

Fuente: Akoh, 2008.

La preocupación por la seguridad de los antioxidantes sintéticos es creciente. Desde hace bastantes años se ha trabajado mucho en comprobar la seguridad de ese tipo de antioxidantes para alimentos, cuyo uso ha sido regulado y restringido en muchos países, ya que se comprobó que los niveles altos de éstos, producen un aumento significativo del peso del hígado y una marcada proliferación del retículo endoplasmático. Otras alteraciones señaladas como disminución del crecimiento y caída del pelo en ratas, ocasionar daños en otros órganos, como los pulmones y la mucosa gastro intestinal, entre otros [50]. Por estas razones, es considerada la posibilidad de una prohibición definitiva de estos antioxidantes sintéticos, en especial el BHT. Sin embargo, parece probable que no se prohíban

por completo hasta que no se haya avanzado más en la posibilidad de sustitución por otros antioxidantes más naturales, como los tocoferoles, de mayor importancia, derivados grasos del ácido ascórbico, alcoholes y ácidos fenólicos, ácidos cinámicos, sus derivados y glucósidos, cumarinas, flavonoides y sus glucósidos, catequinas, fenoles condensados o taninos y otros no incluibles en estas familias de compuestos [24,50].

La importancia de los antioxidantes contenidos en fuentes naturales, radica en su potencial para preservar los tejidos orgánicos de donde proceden y al mismo tiempo, suministrar *In vivo* antioxidantes esenciales para otros organismos.

Los tocoferoles son las moléculas antioxidantes más importantes presentes en los aceites comestibles, se encuentran en la mayor parte de los tejidos vegetales, alcanzando tasas de hasta el 0.1% en los aceites de este origen [24]. Aceites de soya, canola, girasol y maíz, contienen relativamente altas contenidos de tocoferoles. Aunque el aceite de palma no contiene altas cantidades de tocoferoles, tiene altas concentraciones de tocotrienoles  $\alpha$ ,  $\gamma$ , y  $\delta$  tocotrienoles, 211, 253-372 y 56-67 ppm, respectivamente. Aceite de cárcamo con un contenido de 3.8–7.0 y 7.5– 8.4 de  $\gamma$ , y  $\delta$  tocotrienoles, respectivamente [51]. En la tabla 11 se muestra el contenido de tocoferoles en diferentes aceites comestibles.

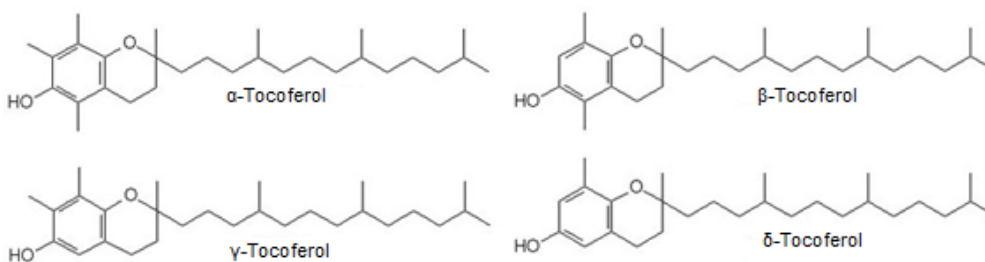
Los tocoferoles compiten con las aceites insaturados por los radicales peroxil lipídicos. Estos radicales reaccionan con los tocoferoles mucho más rápido,  $10^4$  a  $10^9$   $m^{-1}/s$  que con los lípidos ( $10$ -  $60$   $m^{-1}/s$ ). Una molécula de tocoferol puede proteger alrededor de  $10^3$  a  $10^8$  moléculas de ácidos grasos poliinsaturados.

**Tabla 11. Contenido de tocoferoles en aceites comestibles**

Oil	Contenido de Tocoferoles (ppm)				
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	Total
Soja	116.0	14.0	737.0	275.0	1162
Canola	272.1	0.1	423.2	-	695.4
Girasol	613.0	17.0	18.9	-	648.9
Maíz	134.0	18.0	412.0	39.0	603
Sesamo tostado	4	-	584	9	597
Colza	252	-	314	-	566
Cártamo	366-520	8.6-12.4	2.4-7.7	-	397-540
Oliva	168-226	-	-	-	168-226

Fuente: Choe, et al., 2006

Los tocoferoles pueden transferir el átomo de hidrógeno del grupo 6-hidroxil en su anillo cromano al radical peroxil lipídico, y extraer el radical peroxilo. Los tocoferoles donan hidrógeno al radical peroxil lipídico y producen hidroperóxido lipídico (ROOH) y radicales tocoferoxil. La figura 15 muestra las estructuras de los tocoferoles [51].



**Figura 15. Estructuras químicas de los tocoferoles**

Fuente: King, 2012. [52].

La efectividad de los tocoferoles como antioxidante, depende de los isómeros y la concentración del tocoferol.

Otros de los compuestos fenólicos presentes ampliamente en las plantas son los flavonoides, se encuentran en las hojas, flores y polen, tanto en partes leñosas, como pedúnculos y cortezas. Las plantas en pleno sol tienen más flavonoides que las crecidas a la sombra, la cual se ha interpretado como defensa de la planta de las oxidaciones promovidas por la luz UV [50]. Los flavonoides contienen grupos hidroxilos, que les confieren una gran capacidad antioxidante, orientada fundamentalmente a inactivar los radicales hidroxilo y superóxido, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica [53].

Otros compuestos naturales antioxidantes, como el timol, carbarol e isoespintanol, han sido aplicados en la conservación de grasas y aceites.

### **3.4 Aspectos Taxonómicos de las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí**

#### **3.4.1 Semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L)**

Cada vez son más los estudios para tener un mejor aprovechamiento de los cultivos de plantas oleaginosas, los cuales ofrecen una alternativa para la industria agroalimentaria. Este es el caso de la semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*), también conocida con los nombres de inca peanut, maní estrella, maní inca, maní del monte, N'gart, maní de bejuco o cacahuete inca, que pertenece a la familia Euphorbiales [54], con cerca de 17 especies de las cuales tres se encuentran en África, una en Madagascar y 12 en el trópico americano, distribuidas en el territorio amazónico de Perú y Bolivia [55]. También se ha encontrado en Colombia en los departamentos de Putumayo y Caquetá [56]. Es una especie neotropical, se comporta bien en suelos ácidos con concentraciones elevadas de aluminio, como es el caso de los suelos de lomeríos, del mismo modo que en suelos aluviales planos bien drenados [57], en altitudes desde los 100 msnm hasta 1500 msnm. Las especies de este género son plantas trepadoras, monoicas,

semileñosa, perenne y de tipo voluble; generalmente con hojas aserradas, glándulas basilaminares, flores unisexuales, sin corola, con 16 a 40 estambres libres o unidos, frutos tetralobulados [58]. Sus hojas son simples alternas, acorazonadas, de 10 a 12 cm de largo y 8 a 10 cm de ancho. Poseen dos glándulas elípticas en la base de la hoja por el haz; bordes dentados, peciolo de 2 a 6 cm de largo [14].

Las inflorescencias se presentan en forma de racimos de tamaños que pueden variar entre 5 y 15 cm de longitud. La flor femenina nace en la parte axilar de la inflorescencia y a medida que va creciendo la inflorescencia, la flor femenina se va desarrollando. A veces nacen dos flores en la parte axilar de la inflorescencia.

Las flores masculinas son pequeñas (0.5 cm de diámetro), redondeadas, blanquecinas y conforman la mayor parte del racimo floral. Cada flor masculina tiene entre 4 y 6 pétalos y estambres de color amarillo en cantidades que oscilan entre 15 y 22, aunque pueden ser más.

Los frutos tienen forma de estrella con número variable de lóbulos que pueden ir desde cuatro hasta ocho. Predominan los frutos con cuatro y cinco lóbulos. Los lóbulos se dividen cuando el fruto madura y se seca. Dentro de los lóbulos, en el fruto maduro, se encuentran las semillas que son de color marrón, corrugadas y venadas, de forma lenticular y con 1.5 a 2 cm de diámetro.

En varias localidades de la Amazonía y especialmente en Perú, se reporta la utilización de la almendra de *Plukenetia volubilis* para fines alimentarios, especialmente por parte de la población rural. La almendra se utiliza como sustituto del maní tradicional, *Arachis hypogaea*, en diferentes tipos de preparación (tostado, cocido, en sopas, salsas, etc). Igualmente en la formulación de mezclas nutritivas para consumo humano [59].

Los estudios bromatológicos reportan altos contenidos de aceite y proteína de alta digestibilidad. El contenido de aceite es bastante variable pero los valores más frecuentes están entre 45 y 54%, colocándolo en la cabeza de las especies oleaginosas en cuanto a rendimiento. El aceite está constituido por ácidos grasos insaturados, especialmente AGPI, entre los que se destacan el ácido linoleico (C 18:2) que forma parte de los omega 6, y el ácido linolénico (C18:3) de los omega 3, que en conjunto significan más del 80%. Se destaca también el contenido de tocoferoles, antioxidantes naturales (tabla 12).

**Tabla 12. Composición y propiedades del aceite de sachá inchi**

Sachá inchi	Presente estudio	Hamaker
<b>Semilla</b>		
Humedad (%)	4.38 ± 0.04	-
Aceite (total) (%)	54.3 ± 2	54
<b>Aceite crudo (extracción Soxhlet)</b>		
Índice de yodo (gl <sub>2</sub> /100g de aceite)	198	-
Ácido graso libre como ácido linolénico	3.0 ± 0.1	-
Índice de saponificación(mgKOH/g de aceite)	193	-
<b>Composición de ácido graso (%)</b>		
Ácido palmítico (C16:0)	4.24	4.5
Ácido estearico (C18:0)	2.50	3.2
Ácido oléico (C18:1)	8.41	9.6
Ácido linoleico (C18:2)	34.08	36.8
Ácido linolénico (C18:3)	50.41	45.2
Ácido gadoleico (C20:1)	0.16	0.0
<b>Tocoferoles totales (%)</b>		
α – tocoferol	0	0.038-0.063
γ – tocoferol	1.14	-
δ – tocoferol	1.25	-
Carotenoides	-	0.008

Fuente: Follegatti, et al., 2009

Esta composición le confiere propiedades benéficas para la salud y facilidad para la utilización en las industrias farmacéuticas y alimentarias.

### **3.4.2 Semillas de linaza (*Linum usitatissimum*)**

Entre las semillas de más aceptación en la medicina y en el consumo alimenticio, tenemos la semilla de linaza (*Linum usitatissimum*), también conocida como semilla de lino, liñu (*Mapudungún*), pertenece a la familia Linaceae; es un importante cultivo de semilla oleaginosa en el mundo, originaria de Asia occidental y la región mediterránea. Se cultiva principalmente en Canadá, Argentina, Estados Unidos, China e India. Después del aceite de canola y soya, se encuentra el aceite de la semilla de linaza, proveniente del Canadá. El cultivo de esta semilla oleaginosa, constituye una importante fuente económica, especialmente en Canadá, que produce alrededor del 40% de la linaza en el mundo, además que es el mas grande exportador representando el 75%, del comercio mundial [60]. La linaza se propaga por semilla. El tipo de semilla se elige según la finalidad del cultivo, obtención de fibra o producción de aceite, difieren en sus preferencias climáticas, mientras los primeros prefieren climas húmedos y suaves, los segundos en cambio necesitan climas templados y cálidos. En los dos casos los requerimientos de agua son altos: 400 - 450 L/m<sup>2</sup>, durante todo el ciclo de cultivo. El grano de linaza es muy sensible a la sequía, sobre todo durante las seis semanas que van desde los diez días anteriores a la aparición de los primeros botones florales hasta los quince días después del final de la floración. Una falta de agua durante este período afecta fuertemente al rendimiento, pudiendo provocar pérdida hasta del 30% de la cosecha esperada.

Es una planta anual, con el tallo delgado, erecto, rígido simple o ramificado, que alcanza como máximo un metro de altura. Los tallos para la producción son ramificados lo que permiten obtener una mayor producción. El sistema de raíces es de tipo pivotante, con numerosas raíces secundarias y terciarias que se

concentran en los primeros 50 cm del suelo llevando a que la planta tenga mejor sostenimiento y absorción de agua y nutrientes. Las hojas son estrechas, lanceoladas, alternas y pequeñas, además tienen una coloración verdosa y grisácea. La extremidad de los tallos se ramifica para producir inflorescencias terminales en las que se encuentran flores, individuales de color azul. El fruto es una pequeña cápsula globular que contiene diez semillas, cada una en una cavidad semilla de 4 - 6 mm de longitud, ovoide, puntiaguda en un extremo y redondeada en el otro, de exterior liso y brillante [61].

La linaza es rica en grasa, fibra y proteína dietética. La composición promedio de grasa es de 30-40%, 20-25% de proteínas, 20-28% del total de fibra dietética, la humedad 4-8% y 3-4% de ceniza, y el aceite contiene vitaminas A, B, D y E, minerales y aminoácidos [60]. Tradicionalmente, la linaza ha sido cultivada por su aceite, se utiliza en la fabricación de pinturas, barnices y linóleo, debido su poder secante y propiedades de endurecimiento cuando se expone al aire y luz del sol. El aceite de linaza se utiliza como purgante para las ovejas y los caballos. Se usa en la alimentación, tanto animal como humana, empleada como harina de linaza, también en la alimentación de aves de corral, para aumentar los niveles de ácidos grasos omega 3 en sus huevos [61]. Por ser una de las principales fuentes de omega-3, ácido linolénico, aproximadamente 50 - 55% de los ácidos grasos, es muy estudiada como alimento funcional. Ver tabla 13.

**Tabla 13. Composición del aceite de linaza por diferentes medios de extracción**

Ácido graso	Soxhlet (%)	Mecánica (%)	Fluido supercrítico CO <sub>2</sub> (%)
Rendimiento	38.8 ± 0.4	25.5 ± 1.6	35.3 ± 0.4
Ácido mirístico (14:0)	0.1	-	-
Ácido palmítico (16:0)	7.6 ± 0.8	7.1 ± 0.4	6.2 ± 0.4
Ácido palmitoleico (16:1)	0.1	0.2 ± 0.1	-
Ácido heptadecanoico (17:0)	-	-	-
Ácido esteárico (18:0)	4.1 ± 0.8	3.6 ± 0.3	3.6 ± 0.3
Ácido oléico (18:1)	16.1 ± 0.8	14.7 ± 0.5	17.5 ± 0.6
Ácido graso, omega-6 (18:2)	14,4 ± 0.7	15.6 ± 0.4	16.2 ± 0.5
Ácido graso, omega-3 (18:3)	50.0 ± 1.2	53.8 ± 0.8	55.0 ± 0.8
Ácido eicosanoico (20:0)	-	0.1	-
Ácido behénico (22:0)	0.1	-	-
Ácido erúcico (24:0)	-	-	-
Ácidos grasos saturados	11.9	10.8	9.8
Ácidos grasos monosaturado	16.2	14.9	17.5
Ácidos grasos poliinsaturado	64.4	69.4	71.2
Total	92.5	95.1	96.8

Fuente: Chandra, et al., 2010

### 3.4.3 Semillas de ajonjolí (*Sesamun indicum* l)

Conocida con los nombres de ajonjolí, sésamo, benne, perteneciente a la familia Pedaliaceae, se cultiva en varios países como la India, Sudán, China y Birmania, que son considerados como los principales productores (60% del total de su producción mundial). En Túnez, 80% de la semilla de sésamo necesario es importado de Sudán y el 20% de Egipto [62]. La zona de mayor productividad se encuentra entre los 25° Norte y los 25° Sur. A pesar de su adaptación ideal en lugares secos, el ajonjolí se puede cultivar en lugares más húmedos, tropicales y sub-tropicales. De gran importancia en el cultivo es el *Sesamun indicum*, de menor importancia son variedades del *Sesamun alatum* (África tropical) y *Sesamun radiatum* (África, Asia y Sudamérica). Temperatura óptima del cultivo de 25 a

27°C; atmósferas muy húmedas desfavorecen el cultivo. Crece en suelos con un buen drenaje y a un pH entre 5 y 5,8. La raíz principal del tronco es muy fuerte y posee raíces secundarias que forman una red que alcanza hasta 1 metro de profundidad; éstas entran en simbiosis con hongos - micorrizas, lo cual le permite una buena nutrición y absorción de agua. El tallo es cuadrado y según el tipo presenta muchas ramificaciones, como pocas. De las tres florescencias entre las axilas foliares, generalmente crecen las del medio y forman entre 4 y 10 cápsulas en forma de abanico. La cápsula madura se raja desde arriba hacia abajo en las paredes de separación, para así dejar las paredes centrales libres las cuales contienen la semilla. El peso de mil granos es de 2,5 – 3,2 g. La semilla es blanca, amarilla, roja, marrón o negra. El tiempo de maduración es corto, de 80 a 130 días. La fase de floración y maduración se produce en la planta de abajo hacia arriba y dura varias semanas.

El cultivo como fruto comercial incide muy poco porque es un producto alimenticio básico, producido para el uso diario. Los brotes y las hojas nuevas, se consumen en África Occidental como verdura. Las semillas de ajonjolí se consumen directamente por ser altamente nutritivas o se utilizan para refinar los productos confitados como los de pastelería. Con ajonjolí desmenuzado se preparan sopas y puré. La paja de ajonjolí cuidadosamente secada puede ser aprovechada en forma limitada como forraje. Una gran parte de la producción de ajonjolí se utiliza para la elaboración de aceite comestible.

La composición química de sésamo muestra que la semilla es una fuente importante de aceite (44-58%), proteínas (18-25%), carbohidratos (13,5%) y ceniza (5%)'. Además que la fracción de aceite muestra una notable estabilidad a la oxidación [62], ver tabla 14. El aceite producido del primer prensado en frío, se encuentra entre los aceites comestibles más caros. Es un aceite de color amarillo claro, no secante y soporta altas temperaturas. La buena calidad del aceite se

obtiene esencialmente por el alto contenido del ácido linoleico (35 a 41% del aceite total). Por sus antioxidantes sesamina y sesamolina el aceite de ajonjolí tiene larga duración, y no se vuelve rancio. La torta del prensado contiene entre 40 y 70% de proteínas y todavía 12% de grasa, por lo que es un excelente alimento para animales. La semilla blanca y uniforme de ajonjolí tiene mayor demanda, dado que la proporción de aceite es mayor que en la semilla pigmentada. El aceite de ajonjolí del segundo prensado en caliente, tiene después de la extracción, menor calidad que el aceite prensado en frío. Este aceite se utiliza para la producción de jabones, pinturas, cosméticos y productos farmacéuticos [63].

**Tabla 14. Composición química de del aceite de ajonjolí y subproductos**

Componente	RS	Subproductos	
		SC1	SC2
Materia seca	95.29 ± 0.19	83.79 ± 0.04	97.02 ± 0.90
Aceite	52.24 ± 0.34	12.21 ± 0.02	32.84 ± 2.32
Proteína	25.77 ± 1.02	10.23 ± 0.32	18.35 ± 0.16
Fibra Total	19.33 ± 1.97	42.03 ± 0.60	32.34 ± 1.36
Fibras Insolubles	13.96 ± 1.62	33.41 ± 0.32	26.08 ± 0.52
Fibras solubles	5.37 ± 0.28	8.61 ± 0.32	6.26 ± 0.84
Ash	4.68 ± 0.20	23.9 ± 1.04	13.7 ± 0.844
Calcio	1.03 ± 0.04	10.54 ± 0.13	7.94 ± 0.58
Potasio	525.9 ± 17.90	441.4 ± 23.3	451 ± 36.8
Magnesio	349.9 ± 39.32	455.9 ± 23.06	449.6 ± 34.7
Fósforo	516 ± 26.89	158.0 ± 0.93	437.2 ± 37.6
Sodio	15.28 ± 1.63	39.80 ± 0.83	117.4 ± 20.9
Hierro	11.39 ± 0.27	47.13 ± 2.55	29.70 ± 0.08
Cobre	2.15 ± 0.06	3.48 ± 0.57	3.48 ± 0.51
Zinc	8.87 ± 0.26	6.73 ± 0.45	7.98 ± 0.74
Magnesio	3.46 ± 0.43	5.10 ± 0.46	3.66 ± 0.09
Azúcar soluble	2.48 ± 0.09	0.97 ± 0.09	1.34 ± 0.05
Almidón	0.88 ± 0.01	1.33 ± 0.01	0.84 ± 0.01
Polifenoles	87.77 ± 3.15	598.2 ± 4.47	260.6 ± 3.99

Fuente: Elleuch, et al., 2007.

### **3.5 Extracción de aceite de las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí**

La extracción es uno de los principales pasos en el proceso de obtención de ingredientes lipófilos contenidos en las plantas oleaginosas. La extracción clásica se basa en el uso de un disolvente apropiado para extraer los compuestos lipófilos del interior de la planta; comúnmente es utilizada la extracción con solvente. El disolvente más utilizado para extraer aceites comestibles de origen vegetal es el hexano, por estar disponible a bajo costo y ser eficiente en términos de recuperación de aceite y disolvente; igualmente también son utilizados otros disolventes como alcoholes (isopropanol o etanol) [64]. Ésta extracción convencional, produce baja calidad del aceite requiriendo extensivos procesos de refinación [65]. Recientemente, se han implementado nuevas alternativas de extracción más amigables al medio ambiente, entre las cuales tenemos algunas como extracción acuosa [66], extracción con solvente supercrítico (dióxido de carbono) [65], y extracción mecánica [60], las que permiten obtener aceites libres de residuos orgánicos derivados del petróleo.

### **3.6 Determinación del perfil de ácidos Grasos**

Para la determinación de la composición de los ácidos grasos que componen los diferentes aceites, se utiliza la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

#### **3.6.1 Cromatografía gaseosa acoplada a masas (GC-MS)**

La espectrometría de masas es, en principio, una técnica de análisis cualitativo de amplia utilización para la determinación de estructuras orgánicas, por si sola o en combinación con otras técnicas de espectrofotometría, permite la medición de iones derivados de moléculas. Puesto que las propiedades dependientes de la masa de las moléculas neutras (la inercia o la velocidad de difusión) no son lo suficientemente rápidas y selectivas como para basar en ellas un método analítico,

hay que recurrir a la separación y medida de las masas de sus iones. El comportamiento de los iones con relación a su masa es fácilmente inducida por campos eléctricos y magnéticos, y puede dirigirse de manera que permita una separación de masas suficientemente rápida y precisa [67].

El espectro de masas se puede utilizar tanto para comprobar la identidad de los compuestos, como para ayudar a establecer la estructura de una sustancia nueva (dar un peso molecular exacto, una fórmula molecular, o al menos reducir las posibilidades a muy pocas). También puede indicar la presencia de ciertas unidades estructurales en la molécula, todo esto con el uso de cantidades muy pequeñas de muestra [68, 69].

El principio que rige la espectrometría de masas consiste en la remoción de un electrón simple de la molécula en fase gaseosa por parte de un haz de electrones equivalente a 70 electrón-voltios para formar fragmentos cargados positivamente y acelerados por un campo magnético homogéneo, que son reflejados durante el proceso de separación de acuerdo con su respectiva relación masa/carga ( $m/z$ ), en función de su concentración, incluyendo el pico padre o fragmento que representa el radical catión principal y proporciona el peso molecular del compuesto [70].

En la técnica de gases masas, GC-MS, se realiza la identificación del ión molecular más estable a partir de la fórmula molecular, utilizando los pesos atómicos de los isótopos más abundantes en la naturaleza, de acuerdo a los siguientes pasos:

- Identificación del ión molecular a partir de la fórmula molecular utilizando los pesos atómicos de los isótopos más abundantes en la naturaleza.

- Modelo para el estudio de la distribución de los isótopos atómicos presentes en una determinada molécula o un fragmento.
- Explicación del modelo de fragmentación. Cuando las moléculas de la muestra son ionizadas en la fuente, parte de la energía introducida hace que la molécula, una vez ionizada, se fragmente. Los fragmentos de la ruptura ayudan a corroborar la identificación de la molécula [71].

La complejidad estructural de este tipo de sustancias naturales se ha tratado de dilucidar mediante la utilización de la técnica GC-MS, pero debido a que son moléculas muy complejas se dificulta la volatilización en el desarrollo de la técnica; por consiguiente suelen transformarse químicamente, con anterioridad, en moléculas volátiles mediante procesos de derivatización [72].

La meta final la constituye la proposición directa de estructuras a partir de datos de espectrometría de resonancia magnética nuclear y la espectroscopia de masas, entre otras que forman la base del análisis químico orgánico cualitativo contemporáneo [69]

### **3.7 Caracterización fisicoquímica de los aceites. Índices de calidad**

Los ácidos grasos son moléculas orgánicas que se encuentran presentes tanto en el tejido animal como en el vegetal. Estos se pueden clasificar de acuerdo a sus propiedades físicas y químicas. Teniendo en cuenta estas propiedades es posible establecer cuales son los beneficios que pueden aportar los lípidos al organismo.

#### **3.7.1 Determinación del índice de saponificación (IS)**

El índice de saponificación es una medida de los ácidos grasos libres y combinados que existen en las grasas y aceites, es inversamente proporcional a la masa molecular promedio [73].

El índice de saponificación se emplea cuando es necesario dar las especificaciones para los aceites crudos y refinados. Este índice indica qué tamaño y qué peso molecular tiene el ácido graso, debido a que su función es determinar la longitud de la cadena del ácido graso que se está evaluando. Este es medido por titulación con solución estándar de KOH [19].

### 3.7.2 Determinación índice de acidez (IA)

El Índice de acidez se define como los miligramos de KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en 1 gramo de aceite o grasa, por titulación no acuosa [74]; en los aceites vegetales se expresa como sí todos los ácidos libres fueran ácido oleico ( $C_{18}H_{34}O_2$ ), pero hay casos excepcionales; dependiendo de la procedencia de la grasa o aceite se expresa como si los ácidos grasos libres fueran ácido palmítico ( $C_{16}H_{32}O_2$ ), ácido laúrico ( $C_{12}H_{24}O_2$ ), u otros [75]. Constituye una medida del grado de hidrólisis (descomposición) de una grasa o aceite por acción de las lipasas o por alguna otra causa; la descomposición se acelera por la luz y el calor.

Todos los aceites y las grasas tienen ácidos grasos libres y algunos los tienen en grandes cantidades. La causa de la existencia de ácidos grasos libres es la actividad enzimática de las lipasas, causando rancidez. Todas las semillas y los frutos oleaginosos tienen presentes algunas de estas enzimas lipolíticas que se encuentran tanto en el embrión como en el mesocarpio del fruto. Los aceites que tienen ácidos grasos de cadena corta son muy sensibles a estas enzimas hidrolíticas. Los aceites extraídos de semillas descompuestas tienen acidez alta, al igual que los aceites almacenados durante mucho tiempo [76].

El IA se considera usualmente como uno de los principales parámetros para reflejar la calidad del aceite, el grado de refinación, así como la calidad durante el

almacenamiento. Aceites con IA mayor de 3mg/g de aceite, deben ser refinados, de lo contrario no pueden ser comestibles [77].

La determinación se realiza por titulación con solución etanólica estándar de hidróxido de potasio (KOH). Es recomendable utilizar un sistema potenciométrico para la determinación del punto final, ya que la coloración propia de muchas de las materias grasas puede dar lugar a errores en la utilización de los indicadores visuales y proporciona resultados comparables con los obtenidos al emplear los métodos colorimétricos [76].

### 3.7.3 Determinación índice de yodo (IY)

El índice de yodo se expresa en g de yodo/100 g de muestra; indica el grado de insaturación de la cadena hidrocarbonada que conforma la molécula de grasa o aceite, depende intrínsecamente de la composición en AGPI de los mismos, e identifica las sustancias acompañantes insaturadas, como por ejemplo los esteroides. Si el índice de yodo es alto indica que existe una buena cantidad de dobles enlaces por unidad de grasa o aceite [78].

Los aceites y las grasas contienen ácidos grasos saturados e insaturados y muchas de sus propiedades y su pureza dependen de la relación de estos tipos de ácidos [17].

Existen diferentes métodos para la determinación del índice de yodo (AOCS Cd 1-25, IUPAC 2.205, AOAC 920.158, 920.159, 993.20); entre ellos caben destacar los métodos de Wijs y Hanus, y sus modificaciones. La principal diferencia entre ambos se encuentra en el reactivo halogenado como ICl o IBr, ya que el yodo por su parte no reacciona con los dobles enlaces. El método de Hanus utiliza un reactivo bromado y el de Wijs un reactivo clorado [19]. La adición de halógenos a los dobles enlaces depende de la configuración de los compuestos insaturados al

igual que de las condiciones externas, de éstos. El método de Hanus no define el peso de muestra, simplemente indica que una vez realizada la reacción deberá quedar sin absorber una cantidad de yodo igual, por lo menos, al 60%-70% de la cantidad total de yodo añadida; además el monobromuro de yodo se considera un reactivo muy tóxico por inhalación y origina más problemas medio ambientales, mientras el método de Wijs indica el peso de la muestra según el índice de yodo previsto (que va íntimamente ligada a la naturaleza del aceite o grasa). Aunque las diferencias numéricas entre ambos métodos son escasas, la AOCS (American Oil Chemists' Society) recomienda el método de Wijs [79].

El método está basado en una valoración volumétrica por retroceso, donde la etapa inicial consiste en una fijación de un reactivo halogenado adicionado en exceso (usualmente monocloruro de yodo o monobromuro de yodo) a los dobles enlaces de los ácidos grasos mono- y poliinsaturados. Posteriormente este exceso de halógeno se hace reaccionar con yoduro, formándose triyoduro que es valorado con una solución de concentración conocida de tiosulfato, utilizando almidón como indicador [80].

Cuando el IY es determinado en materiales con elevado contenido de ácidos conjugados, el resultado no es una medida del total de insaturación, pero sería un valor empírico indicativo del grado de insaturación (AOCS, 1999) [81]. Igualmente sirve para clasificar los aceites en: No secantes si  $IY < 110$ , semisecantes si  $IY$  está entre 110 – 135 y secantes si  $IY > 135$  [82].

#### **3.7.4 Determinación del valor peróxido (VP)**

Este índice es expresado como la cantidad determinable de oxígeno activo, medido en meq, contenida en 1 kg de grasa o aceite [83].

Es una medida de la cantidad de oxígeno unido a la grasa o al aceite, mediante un enlace peróxido. Prioritariamente se forman hidroperóxidos como productos de oxidación primarios y en pocas cantidades se forman otro tipo de peróxidos como consecuencia de los procesos oxidativos. Por tal motivo, el índice de valor peróxido suministra información acerca del grado de oxidación que le ha ocurrido a la muestra [39].

Esta información es de gran importancia en el análisis físicoquímico de cualquier grasa o aceite, ya que permite hacer estimaciones de hasta qué punto la parte lipídica ha sido alterada. Si la oxidación está muy avanzada, se producirá un aumento progresivo de la degradación de los peróxidos por lo que el índice descenderá [84].

### **3.8 Medición de la estabilidad oxidativa**

La baja estabilidad oxidativa o rancidez oxidativa, ocasiona cambios en el carácter organoléptico (olor, sabor) de las grasas y aceites, volviéndoles desagradables ó repugnantes (acre, añejo, amargo, picante, jabonoso, aceitoso, olor a quemado, sebo ó pescado); esto se debe a la oxidación de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados con formación de peróxidos ó hidro-peróxidos, que posteriormente se polimerizan y descomponen dando origen a la formación de aldehídos, cetonas y ácidos de menor peso molecular, entre ellos el aldehído epihidrinol [85].

Los peróxidos resultantes destruyen las vitaminas liposolubles A, D, E, caroteno y parte de los ácidos grasos esenciales, además de paralizar la biosíntesis de la vitamina K [86].

Este proceso es acelerado en presencia de luz, calor, humedad, otros ácidos grasos libres y ciertos catalizadores inorgánicos como las sales de hierro y cobre [87].

### **3.8.1 Determinación de dienos conjugados (DC)**

La oxidación de ácidos grasos poliinsaturados está acompañada por un aumento en la absorción U.V del producto. Los lípidos que contienen grupos metilénicos que interrumpen la conjugación del dieno o del polieno, muestran un cambio en la posición del doble enlace durante la oxidación debido a la isomerización y la formación del conjugado. Farmer and Sutton [19], indicaron que la absorción aumenta debido a la formación de dienos y trienos conjugados la cual es proporcional a la cantidad de oxígeno y a la formación de peróxidos durante las primeras etapas de la oxidación.

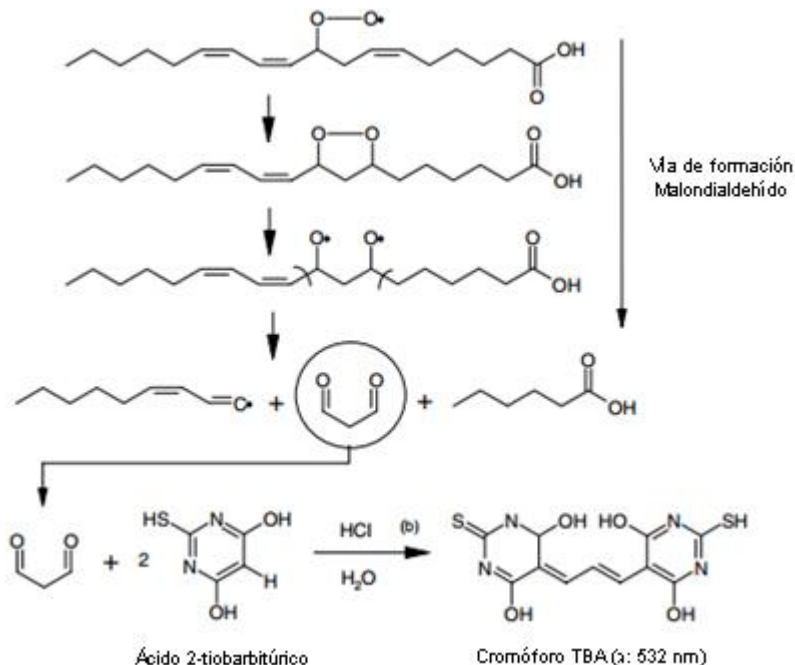
Al comienzo de la oxidación, posterior a la formación de los peróxidos, el reordenamiento de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados (C=C-C-C=C), da lugar a la aparición de dienos conjugados (C=C-C=C-C).

La determinación de estos compuestos se fundamenta en que estos absorben la radiación ultravioleta en la longitud de onda de 234 nm. Las muestras se disuelven en un solvente orgánico como el isooctano y se mide la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS. A medida que la reacción avanza, la absorbancia disminuye, ocasionado por el paso de los dienos conjugados a productos secundarios de la oxidación, los que presentan una baja absorción a los 234 nm. Los resultados se expresan como valores de dienos conjugados (DC) [86,88].

### **3.8.2 Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs)**

Una de las técnicas más utilizadas para medir el incremento de productos secundarios de oxidación, es la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA). El TBA es

una técnica simple y presenta una elevada correlación con los resultados de la evaluación sensorial. Este método se basa en la reacción de una molécula de malonaldehído, producido por la descomposición de hidropéroxidos de los lípidos, con dos moléculas de TBA para formar un complejo coloreado malonaldehído-TBA, que puede ser cuantificado figura 16 [38, 40]. La intensidad del color es proporcional al grado de enranciamiento oxidativo.



**Figura 16. Mecanismo de formación de Malondialdehído**

Fuente: Laguerre, et al., 2007

Es un método cualitativo basado comúnmente en la llamada reacción de Kreiss; mide la pureza del aceite, pues identifica si el aceite se encuentra alterado químicamente y determina si se ha producido oxidación en los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados con formación de peróxidos [40].

### **3.9 Análisis de la capacidad antioxidante**

La mayor parte de los métodos de medida de la actividad antioxidante miden solamente compuestos solubles en agua debido a las naturalezas hidrofílicas de las especies reactivas y de los sustratos oxidables que emplean. Algunos métodos pueden adaptarse para medir antioxidantes lipofílicos: ORAC, ABTS y el método DPPH [89].

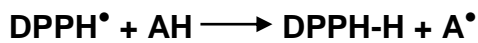
Los antioxidantes naturales en alimentos pueden provenir de compuestos endógenos en uno o más componentes del alimento; de sustancias formadas de reacciones durante el procesamiento o de aditivos alimenticios aislados de fuentes naturales. La mayoría de los antioxidantes son compuestos fenólicos presentes en todas las frutas, semillas y vegetales ampliamente consumidos en la dieta diaria en forma fresca o como derivados de productos alimenticios [90].

Las plantas con contenido de fenoles y algunos de sus productos de degradación son multifuncionales y pueden actuar como agentes reductores, reaccionantes con radicales libres, quelantes y atrapadores de oxígeno singulete [90, 91].

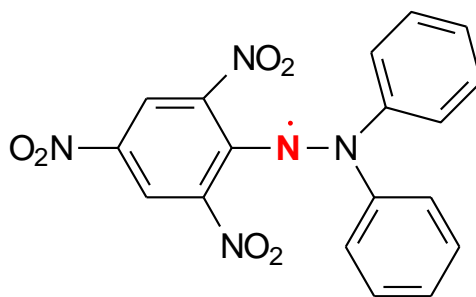
La actividad antioxidante es ampliamente usada como parámetro para caracterizar diferentes materiales vegetales. Esta actividad se relaciona con compuestos capaces de proteger un sistema biológico del efecto potencialmente dañino de procesos que causan excesiva oxidación involucrando especies reactivas del oxígeno, otras se basan en la oxidación – reducción de iones metálicos y la capacidad de una muestra para atrapar radicales libres [92, 93].

#### **3.9.1 Reacción con el radical 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH<sup>•</sup>)**

El DPPH<sup>•</sup>, 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, figura 17, es un radical estable de color violeta, cuya absorbancia disminuye al ser reducido por un antioxidante (AH):



Esto permite cuantificar la capacidad antioxidante de las muestras, midiendo el grado de decoloración de una disolución metanólica de  $\text{DPPH}^{\bullet}$ , a una longitud de onda de 515-517nm [94, 95].



¡Error! Marcador no definido.**Figura 17. Estructura del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo ( $\text{DPPH}^{\bullet}$ )**

Fuente: Huang, et al., 2005. [96]

### 3.9.2 Reacción con el radical catiónico 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio) ( $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ).

Este ensayo es denominado también Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay) [97] y es uno de los más usados para la determinación de la capacidad antioxidante total. La base del método consiste en la cuantificación de la decoloración del radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones (Figura 18). El radical catiónico  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  es un cromóforo altamente absorbente a una longitud de onda de 415 ó 734nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio) en presencia de peroxidasas u oxidasas sobre ABTS. Una solución estable de  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  también puede ser preparada con

agentes oxidantes tales como dióxido de manganeso o persulfato de potasio [98, 99].

La actividad antioxidante se evalúa midiendo el cambio de absorbancia a 732 – 734 nm de la solución de ABTS<sup>•+</sup> cuando se alcanza el estado estacionario [92].

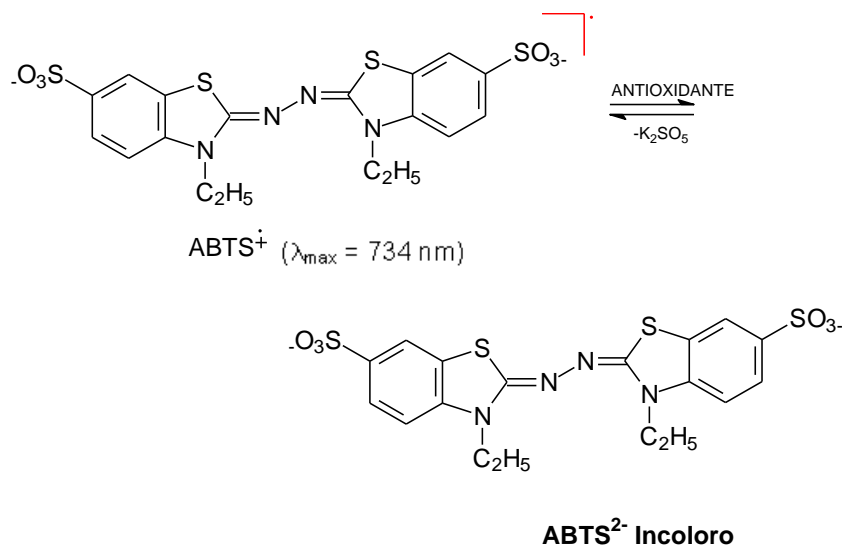


Figura 18. Reacción con el radical ABTS<sup>•+</sup>

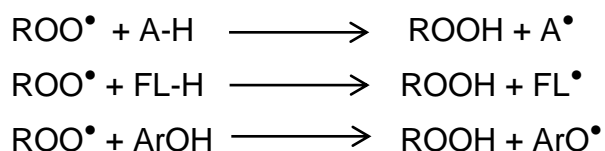
Fuente: Huang, et al., 2005

### 3.9.3 Reacción con 2,2'-Azobis (2-amidino-propano) dihydrochloride (AAPH). Capacidad Antioxidante del Radical Oxígeno, (ORAC)

El método ORAC se aplica con frecuencia para asegurar la capacidad antioxidante en muestras biológicas y alimentos. Se basa en la inhibición del radical peroxil oxidativo inducido por composición térmica de azocompuestos, como el 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro (AAPH), al medir la degradación oxidativa de la fluoresceína (FL) (3',6'-dihidroxi-spiro(isobenzofuran-1(3H),9'(9H)-xanthen)-3-ona), como compuesto fluorescente, después de interactuar con los radicales peroxilo. Así, el ensayo ORAC combina tiempo y disminución de la

inhibición, a diferencia del método TEAC que únicamente evalúa la disminución en la inhibición [100].

El mecanismo de la reacción se basa en la transferencia de un átomo de hidrógeno, HAT, del antioxidante al radical libre. Por esto se utiliza el radical iniciador, el AAPH, para generar el radical peroxil  $\text{ROO}^\bullet$ . Un mol de AAPH pierde un mol de nitrógeno para generar dos moles de radical AAPH en una relación constante. En una solución saturada de aire, el radical AAPH reacciona rápidamente con el oxígeno para dar un radical peroxil más estable,  $\text{ROO}^\bullet$ . La pérdida de fluorescencia de la FL es el indicador de la extensión de la oxidación del radical peroxil. En presencia de un antioxidante,  $\text{ROO}^\bullet$  capta, preferiblemente, un átomo de hidrógeno del antioxidante estable ( $\text{ArO}^\bullet$ ). Como consecuencia, la disminución de la fluorescencia de la FL por acción del radical peroxil es disminuida o inhibida [101]. Las reacciones que tienen lugar son:



Donde A-H representa al radical iniciador AAPH, FL-H es el compuesto fluorescente (FL) y ArOH es el antioxidante.

La protección del antioxidante se mide a partir del área de fluorescencia bajo la curva (AUC) de la muestra en comparación con la AUC del blanco, donde el antioxidante no está presente [101,102].

---

## 4. METODOLOGÍA

---

En esta investigación se utilizaron tres semillas diferentes de vegetales oleaginosos para extraer los tres aceites analizados; semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L), semillas de linaza (*Linum usitatissimum* L) y semillas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L).

### 4.1 Obtención de las semillas de Sachá Inchi, Linaza, ajonjolí

Las semillas de Sachá inchi (*Plukenetia volubilis*), conseguidas en el mercado Junín (Perú), fueron sembradas en bolsas plásticas en vivero; cuando tenían dos meses de sembradas y una altura de aproximadamente 40 cm, se llevaron a los lotes de cultivo, ubicados a orilla río Cauca, Santa Fé de Antioquia (200 msnm) y en la parte más alta del municipio de San Jerónimo, Antioquia, (1200 msnm); durante dos años se hicieron propagaciones hasta ajustar dos hectáreas en cada punto del sembrado. Éstas hectáreas fueron sembradas de acuerdo con las instrucciones dadas por Corpoica en su boletín técnico del 2004 [103]. Ambos cultivos comenzaron a normalizar su producción a los siete meses de sembrados, no se notó diferencia física en las semillas obtenidas en los dos cultivos, los frutos fueron cosechados cuando estos se pusieron de color café ó marrón; el fruto regular tiene de cuatro a seis semillas.

Los frutos cosechados se llevaron a las camas de una marquesina de dimensiones 1.0 m de altura x 5.0 m de largo y 1.0 m de ancho, dejándose secar con calor solar.

Posteriormente el fruto se descascara y luego se descápsula quedando la almendra que luego es llevada a la extrusora.

Las semillas de linaza (*Linum usitatissimum*), proveniente del Canadá, y ajonjolí (*Sesamum indicum* L), cultivado en la costa norte de Colombia, fueron compradas en la central mayorista de la ciudad de Medellín.

#### **4.2 Extracción del aceite de las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí**

Se realizó el proceso de descascarado de la semilla de sachá inchi, en una máquina diseñada por el investigador y construida en un taller industrial de la ciudad de Medellín (Antioquia), después de que los frutos permanecieron 72 horas, como mínimo, en la marquesina, donde se pusieron crujientes. La extracción del aceite se efectuó mecánicamente, en frío, utilizando una prensa mecánica de 100 ton/in<sup>2</sup>, fabricada en acero inoxidable AISI 316 L y de manufactura Colombiana. La extracción se realizó a 50 Kg de la semilla por lote de producción, con un tiempo de extracción de 50 minutos.

Las semillas de ajonjolí y linaza, se ambientaron en la marquesina, sin pelar, por 4 horas, se precalentaron con aire caliente y luego se extrajo el aceite, en frío, en el extruder.

Después de extraídos los aceites se dejaron en reposo 72 horas, permitiendo que las partículas pesadas y sólidos en suspensión se digestaran, luego se filtraron al vacío.

Se calculó el porcentaje de rendimiento de obtención de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí, a partir de la cantidad de semilla utilizada con la cantidad de aceite obtenido, según la ecuación:

$$\% R = \frac{\text{Peso del aceite extraído}}{\text{Peso de la semilla}} \times 100$$

Los tres aceites, Sachá inchi, linaza y ajonjolí fueron posteriormente caracterizados.

La torta obtenida de las semillas, después de la extracción de los aceites fue analizada fisicoquímicamente.

#### **4.3 Determinación del perfil de ácidos grasos**

A pesar de ser un parámetro que se ha utilizado muchas veces para caracterizar cualquier tipo de aceite, se ha considerado importante realizar el perfil de los ácidos grasos en tres tipos de aceite, provenientes de especies vegetales totalmente diferentes, que en común solo tienen el de ser oleosas, y así determinar la composición y beneficio que el aceite de sachá inchi presenta comparado con los aceites de uso común y gran aceptación comercial como los aceites de linaza y ajonjolí.

##### **4.3.1 Cromatografía gaseosa acoplada a masas (GC-MS)**

En este trabajo se utilizó un cromatógrafo de gases AGILENT 6890N, fabricado por AGILENT TECHNOLOGIES NETWORK, acoplado a un detector de masas selectivo 5973, acoplado a un Chemstation Hardware con columna capilar de marca Agilent 10091J-413, HP-5. Inyector GC: volumen 5 µl. Gas portador Helio. Horno: Temperatura inicial: 100 °C; temperatura final: 325°C; utilizando 3 rampas, 1) Temperatura final 200°C duración 3 minutos, gradiente 5 min/°C; 2) Temperatura final 250°C duración 4 minutos, gradiente 3 min/°C; 3) Temperatura final 300°C duración 5.33 minutos, gradiente 5 min/°C. Tiempo total: 60 minutos. Modo splitless. Detector de masas Modo de adquisición: scan; Rango de masas bajo: 30, Rango de masas alto: 800.

➤ **Derivatización (ésteres volátiles)**

Se pesaron 0.1 g de aceite y se disolvieron en 3 ml de éter etílico, se agitó fuertemente por cinco minutos, luego se adicionó 1 ml de tetrametilamonio al 30% en metanol sin dejar de agitar, por 5 minutos más, pasado este tiempo se dejó en reposo por un minuto y se retiró la fase orgánica la cual es llevada a un vial para ser analizada por GC-MS. Esta medición se realiza por duplicado.

**4.4 Caracterización Fisicoquímica de los aceites. Índices de calidad**

El análisis de las propiedades físicas y químicas de estos aceites es necesario realizarlas, porque la medida de estas propiedades determina las características de cada uno de ellos; se puede saber en que estado de pureza se encuentra cada aceite.

**4.4.1 Determinación del índice de saponificación (IS)**

Se utilizó el método oficial 920.160 de la AOAC [104]. Éste se define como mg de hidróxido de potasio, KOH, que se requieren para saponificar 1 g de grasa o aceite (incluye los ácidos grasos libres y saponificados) [80].

Para la determinación del IS, se realizaron las mediciones de las muestras simultáneamente con un blanco, el cual contenía las mismas cantidades excepto el aceite. La mezcla de reacción se tituló con HCl 0.5 N, utilizando fenolftaleína como indicador [105]. El cálculo se realizó de acuerdo con:

$$IS = \frac{(V_B - V_M) * N * 56.1}{W}$$

Donde:  $V_B$  = Volumen de solución 0.5 N de HCl gastados para titular el blanco

$V_M$  = Volumen de solución 0.5 N de HCl gastados para titular la muestra

$N$  = Normalidad del ácido

W = Peso de la muestra

56.1 = Peso equivalente del KOH

#### 4.4.2 Determinación índice de acidez (IA)

Este valor se refiere a la cantidad de miligramos de KOH necesarios para neutralizar completamente un gramo de aceite. Se utilizó el método oficial AOAC 14.070 [104].

Se determinó pesando 10 g de grasa que se disolvieron en una mezcla alcohol/éter. La mezcla de reacción se tituló con una solución etanólica de KOH 0.1 N, utilizando fenolftaleína como indicador [106]. El IA se calculó de acuerdo a la siguiente expresión:

$$IA = \frac{V C M}{10 P}$$

**V:** volumen en ml de la disolución utilizada de KOH previamente valorada

**C:** concentración exacta en mol/L de la solución de KOH utilizada

**M:** peso molecular del ácido en que se expresa el resultado (ácido oleico= 282 gr/mol)

**P:** peso en gramos que se tomaron de muestra

#### 4.4.3 Determinación índice de yodo (IY)

Se utilizó el método de Wijs. Método oficial 993.20 de la AOAC [104]. Se define como los gramos de yodo que reaccionan con 100 gramos de grasa o de aceite (g I<sub>2</sub>/100g aceite).

Para la determinación se realizaron las mediciones paralelamente con un blanco, con las mismas condiciones de la muestra, excepto el aceite. La mezcla de

reacción con el reactivo de Wijs, se tituló con tiosulfato de sodio,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  [79]. El IY, se calculó de acuerdo con:

$$\text{IY} = \frac{(V_B - V_M) \times N \times 0.127}{W_M}$$

Donde:  $V_B$  = ml de tiosulfato requeridos para el blanco

$V_M$  = ml de tiosulfato requeridos para la muestra

$N$  = concentración del tiosulfato,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

$W_M$  = peso de la muestra en gramos

$\text{PM I}_2 = 254 \text{ g/mol} = 254/2 = 127 \text{ g/eq-g}$ . Así  $1 \text{ meq-g I}_2 = 0.127 \text{ g}$

#### 4.4.4 Determinación del valor peróxido (VP)

Se usó el método oficial 965.33 de la AOAC [104]. Es el método clásico para determinar el alcance de la oxidación del aceite y las medidas de hidroperóxidos intermedios en miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de muestra (meq  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Kg}$  aceite).

Los hidroperóxidos formados por oxidación de las grasas reaccionan con los iones yoduro para formar yodo; éstos se midieron por titulación con tiosulfato,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Se corrió un blanco simultáneamente [107]. El VP, fue calculado como:

$$\text{VP} = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{W_M}$$

Donde:  $B$  = ml de tiosulfato requeridos para el blanco

$S$  = ml de tiosulfato requeridos para la muestra

$N$  = concentración del tiosulfato empleado

$W_M$  = peso de la muestra en gramos

## 4.5 Medición de la estabilidad oxidativa

### 4.5.1 Determinación de dienos conjugados (DC)

La medida de la actividad antioxidante de los extractos basada en la determinación de la formación de dienos conjugados se llevó a cabo según lo descrito por Zuta, et al. [107], con algunas variaciones. Para ello, 10 µL de muestra, se mezclaron con 2990 µL de ciclohexano y se agitaron en un vortex por 10 s, luego se tomaron 500 µL de la mezcla y se le adicionaron 1500 µL de ciclohexano; la concentración final de la muestra es de 20 mg aceite/ml de ciclohexano; se realizó la medida de absorbancia a 234nm con una corrección a 260 nm, en un lector de placas Multiskan Spectrum UV-Vis marca Thermo Scientific, Finlandia, mediante la técnica espectrofluorométrica [108].

Los resultados se expresaron como valores de dienos conjugados (DC). Los valores de dienos conjugados, DC adimensionales, se calculan según la expresión [86, 109].

$$CD = \frac{A}{C * L}$$

Donde A: Absorbancia de la muestra a 234 nm

C: Concentración de la muestra (g/100 mL)

L: Longitud de la celda (cm) = 1 cm

Las muestras se monitorearon por un periodo de 18 días, midiendo los niveles de DC, expresados como µmol DC/g muestra.

#### **4.5.2 Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs)**

Se prepararon diluciones de 10 mg aceite/ml en metanol. Ya que la técnica permite cuantificar el malondialdehído (MDA), uno de los compuestos finales de la peroxidación lipídica, se combinó con ácido tiobarbitúrico (TBA) en una relación 1:2 para formar un complejo fluorescente, el cual fue medido a 500 nm de excitación y 550 nm de emisión. Los resultados se reportaron como nmolMDA/g de aceite [40, 45, 110].

#### **4.6 Análisis de la capacidad antioxidante**

De cada uno de los aceites extraídos en frío se tomaron 100 g de aceite se filtran al vacío en embudo buchner con papel de filtro Wathman No4, se almacenan a -20 °C en un envase ámbar, durante el periodo de estudio [86].

##### **4.6.1 Reacción con el radical 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH<sup>•</sup>)**

La actividad antioxidante de los aceites se llevó a cabo evaluando la capacidad captadora del radical DPPH<sup>•</sup> utilizando la metodología de Brand-Williams, Cuvelier and Berset (1995) [111], con algunas modificaciones. Rojano et al., 2008 [47]. Se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH<sup>•</sup>, por antioxidantes. Los antioxidantes del aceite atrapan el radical DPPH<sup>•</sup> resultando en la decoloración (disminución) de la solución púrpura, la que disminuye como consecuencia de la donación de un electrón o un protón de un antioxidante u otro radical [49]. Se utilizó 10 µL del aceite y 990 µL de solución metanólica DPPH<sup>•</sup> (20 mg/L). Como referencia se usó la misma cantidad de DPPH<sup>•</sup> y 10 µL del solvente de la muestra, dimetil sulfóxido (DMSO). Luego de 30 minutos de reacción a temperatura ambiente y en la oscuridad, se leyó la absorbancia. La reacción se monitoreó por espectrometría y los resultados se expresaron como valores TEAC (µmol Trolox/ 100 g. de muestra) [49, 86, 112].

#### **4.6.2 Reacción con el radical catiónico 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio (ABTS<sup>•+</sup>))**

La muestra se diluyó en etanol (20 mg/ml) y se calentó en un baño maría a 37°C durante 10 minutos. En esta técnica el radical ABTS<sup>•+</sup> se obtiene tras la reacción de ABTS con persulfato potásico incubados a temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) y en la oscuridad. Una vez formado el radical ABTS<sup>•+</sup> se diluyó con metanol hasta obtener un valor de absorbancia aproximado de 0,70 ( $\pm 0,1$ ) a 732 nm. Se evaluó la capacidad de la muestra para atrapar el radical ABTS<sup>•+</sup>, por medio de la disminución en la absorbancia leída, luego de 30 minutos de reacción [99]. Los resultados se expresaron como valores TEAC mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante TROLOX [86, 113, 114].

#### **4.6.3 Reacción con 2,2'Azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH). Capacidad Antioxidante del Radical Oxígeno, ORAC**

Las muestra de aceite se diluyó en  $\beta$ -metil ciclodextrina (BMDX) (10 mg/ml). Se empleó trolox como estándar a condiciones controladas de temperatura (37°C) y pH 7,4. Las lecturas se hicieron a una longitud de onda de excitación de 493 nm y slit de excitación de 10, longitud de onda de emisión de 515 nm y slit de emisión de 15, con atenuador del 1% y sin placa atenuadora. El valor ORAC se calculó utilizando la ecuación mostrada y los resultados fueron expresados como valores TEAC ( $\mu\text{mol Trolox/ 100 g de aceite}$  [113] ).

$$\text{ORAC} = \frac{(\text{AUC} - \text{AUC}^0)}{(\text{AUC}_{\text{Trolox}} - \text{AUC}^0)} f[\text{Trolox}]$$

Donde AUC es el área bajo la curva y f es el factor de dilución de las muestras.

---

#### **4.7 Análisis estadístico**

Para el estudio de los datos se empleó el programa estadístico R y los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) [115] de una vía (tratamiento con cuatro niveles), con un nivel de confianza del 95% y un nivel de potencia para detectar diferencias significativas del 90%. Además se realizó una prueba de diferencia significativa honesta (HSD) de Tukey con el fin de detectar que pares de tratamientos difieren entre sí; utilizando la función Tukey HSD de R [116]. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

## 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 5.1 Extracción del aceite de las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí

En el proceso de extracción se obtuvieron, los aceites de sachá inchi, linaza, ajonjolí y un residuo, torta, al cual se le realizó análisis bromatológico de porcentaje de proteína, grasa, fibra, ceniza y material orgánico. La torta de sachá inchi tiene un alto poder nutritivo ya que reportó valores de 53.5% de proteína y 31.2 % de grasas que pueden ser aprovechadas en otro campo de la industria alimenticia. Este surge como alternativa de la torta de soja, pues la actividad avícola y pecuaria importa aproximadamente cien mil toneladas de torta de soja al año. Actualmente se están formulando mezclas nutritivas de sachá inchi con maíz amarillo duro, arroz, plátano, yuca, harinas para fideos y leche y derivados lácteos para consumo humano [22,117].

**Tabla 15. Porcentaje de rendimiento de los aceites de sachá Inchi, linaza y ajonjolí**

Porcentaje de Rendimiento (%)		
Sachá Inchi	Linaza	Ajonjoli
42.0	30.2	56.4

La tabla 15, reporta los resultados del porcentaje de rendimiento de los aceites, extraídos mecánicamente con prensado en frío, obteniéndose porcentajes menores a los reportados en la literatura para los mismos aceites: 54.3%, 35.3% y 85% para sachá inchi [54], linaza [60] y ajonjolí [118] respectivamente, por otros métodos de extracción; esta disminución se debe a que la extracción en frío no utiliza medios (disolventes) que ayuden a la extracción de los componentes en estudio; mientras que las otras técnicas de extracción como fluidos supercríticos y extracción con soxhlet, utilizan disolventes como CO<sub>2</sub> y hexano que ayudan a que

la extracción se hace desde el interior de la semilla hasta la superficie agotando la mayor cantidad posible de ésta [54,60]. Además la extracción con fluidos supercríticos es utilizada variando condiciones de temperatura y presión para cambiar la polaridad del solvente extrayendo así mayores porcentajes de los componentes de interés. De igual manera la naturaleza del solvente utilizado en la extracción con Soxhlet presenta mejor afinidad con los aceites, permitiendo un mejor proceso de extracción.

Aunque estos porcentajes son mayores, la extracción por fluidos supercríticos, a pesar de ser una tecnología de producción más limpia y permitir la reutilización del solvente, es un método que en los países “menos desarrollados” no tienen aún la transferencia tecnológica adecuada para su utilización, haciendo que este método se vuelva más costoso. Mientras que la extracción con Soxhlet, a pesar de ser uno de los métodos más utilizados, usa reactivos muy costosos, no reutilizables y contaminantes, requiriendo que después de la extracción sea necesario realizar procesos de purificación. Mientras que la extracción en frío, a pesar de obtener porcentajes más bajos de extracción es una tecnología más accesible, por la facilidad de manejo de la tecnología, es limpia y no requiere procesos posteriores de purificación.

## **5.2 Composición de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí**

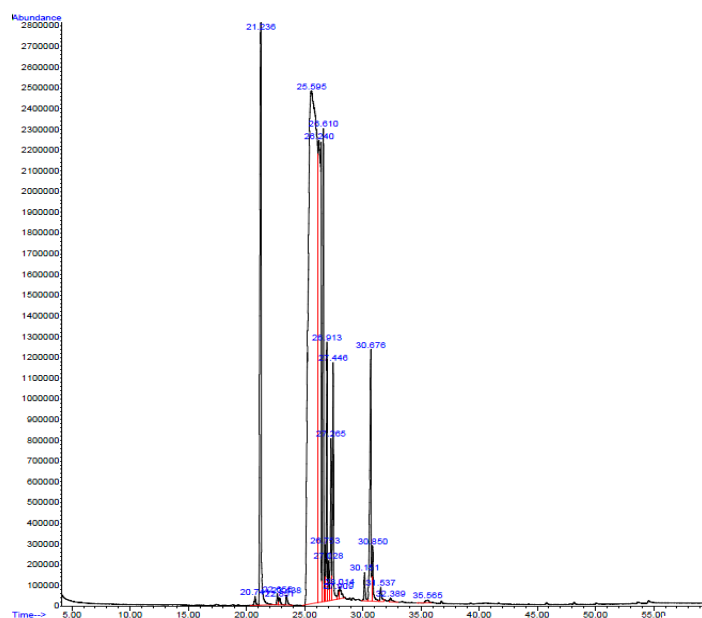
### **5.2.1 Perfil de ácidos grasos**

Los múltiples estudios realizados sobre la composición en ácidos grasos de aceites muestran que éstos varían de una fuente a otra y dependen en gran medida de factores climáticos, características del suelo, factores genéticos y ambientales en el desarrollo de estos frutos, entre otros [57,119]. Por encima de 1000 ácidos grasos naturales han sido identificados, aunque la mayoría de los científicos de alimentos, están familiarizados con 20 de ellos. Los ácidos grasos más comunes

tienen una cadena lineal entre 8 y 22 átomos de carbono y frecuentemente tienen uno o más centros insaturados [17]. Los ácidos grasos saturados más abundantes son el palmítico (C16:0) y el esteárico (C18:0), mientras que el insaturado más común es el oleico (C18:1) [19].

La cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS), es una técnica fundamental que permite obtener información estructural de la composición de los ácidos grasos que forman los aceites, a partir del espectro de masas.

En el perfil cromatográfico, para el aceite de sachá inchi se detectaron 8 ácidos grasos de mayor reconocimiento, 5 ácidos grasos menos reconocidos y otro, para el aceite de linaza se detectaron 9 ácidos grasos de mayor reconocimiento, 2 ácidos grasos menos reconocidos y otros, y para el aceite ajonjolí se detectaron 9 ácidos grasos de mayor reconocimiento y 5 ácidos grasos menos. Las figuras 19, 20, 21 muestran los cromatogramas de los aceites, respectivamente.



**Figura 19. Perfil cromatográfico (GC-masas) de los productos de derivatización del aceite de sachá inchi**

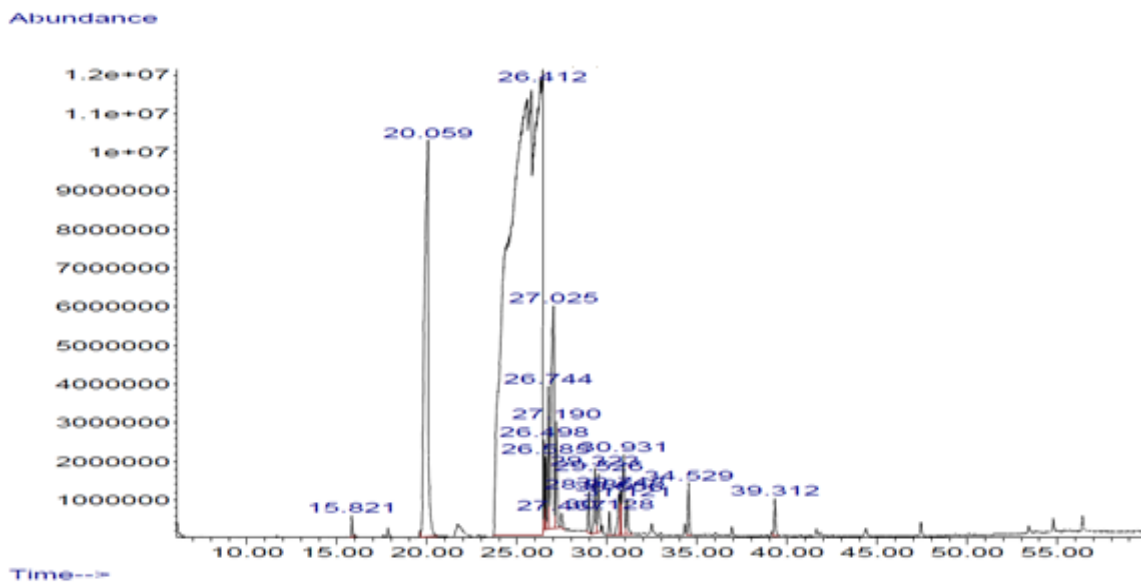


Figura 20. Perfil cromatográfico (GC-masas) de los productos de derivatización del aceite de linaza

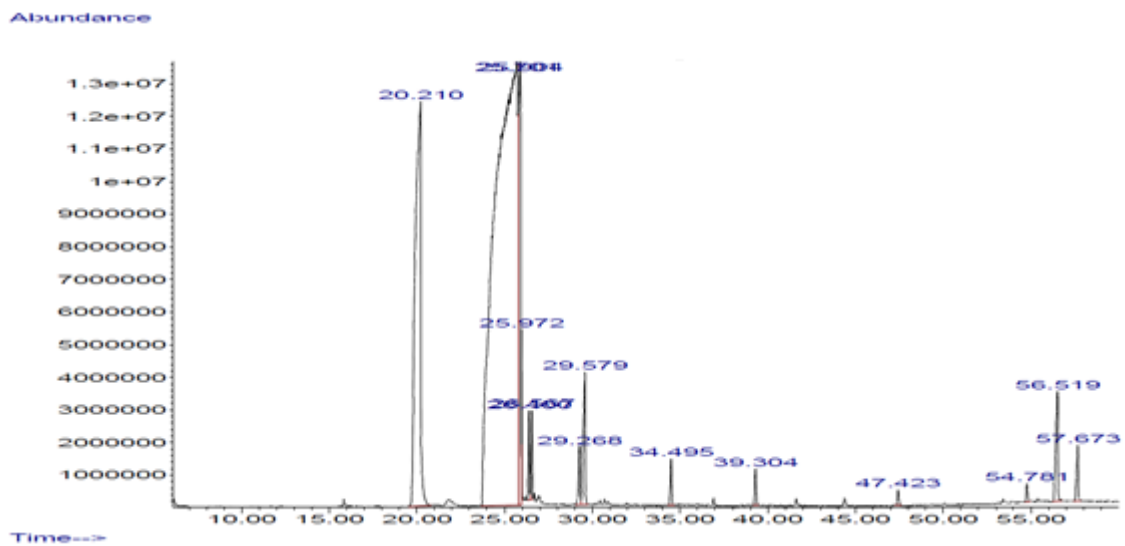
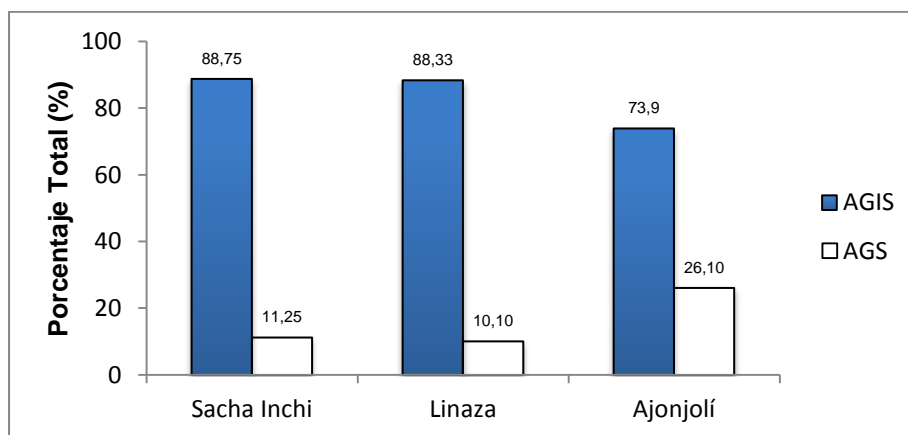


Figura 21. Perfil cromatográfico (GC-masas) de los productos de derivatización del aceite de ajonjolí

Los ácidos grasos salen en orden de número par de carbonos. Para los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí, se detectaron ácidos grasos de cadenas entre 16C a 20C, 14C a 24C y 16C a 24C, respectivamente, en su mayoría ácidos grasos insaturados de cadena larga (desde C:18), un poco menos para el aceite de ajonjolí. La figura 22, muestra el contenido total de ácidos grasos saturados, e insaturados encontrados en el aceite de sachá inchi, linaza y ajonjolí. El aceite de sachá inchi tiene mayor cantidad de ácidos grasos insaturados (88.75%), muy similar al contenido del aceite de linaza (88.33%), mientras que el aceite de ajonjolí presenta un poco menos cantidad de ácidos grasos insaturados (73.9%).

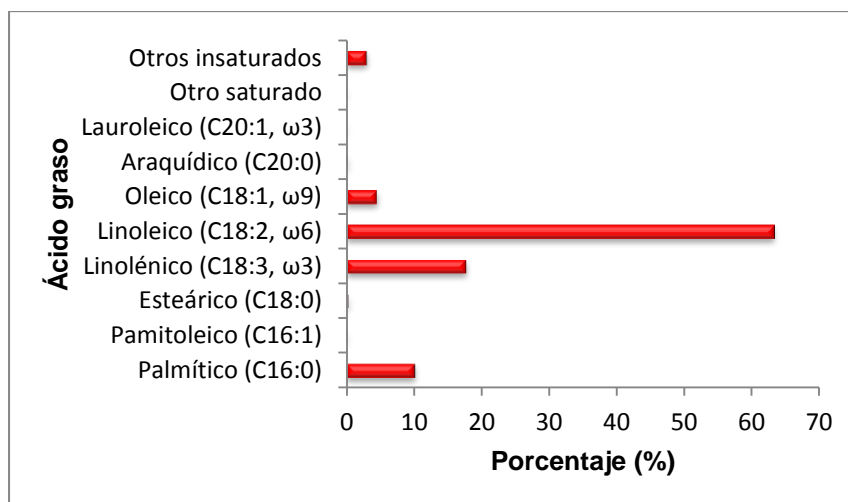
Los porcentajes de ácidos grasos saturados de los aceites son 11.25%, 10.10% y 26.10% respectivamente. En los aceites de sachá inchi y linaza, se encontraron contenidos de 0.4% y 1.3% respectivamente, de otros compuestos que pueden ser antioxidantes, ceras, esfingolípidos, entre otros, que no son del interés del presente trabajo.



**Figura 22. Porcentaje total de ácidos grasos insaturados y saturados en los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí.**

En estudios realizados sobre la composición de éstos aceites, se ha encontrado que la cantidad de ácidos grasos insaturados totales en el aceite de sachá inchi es 93.00% [54] y en el aceite de ajonjolí 86.07% [18], estos valores son mayores con respecto a lo obtenido, siendo mayor la diferencia con el aceite de ajonjolí; mientras que para el aceite de linaza se reportan contenidos ligeramente mayores a los obtenidos, 84.30% [60]. Éste comportamiento, presente en los tres aceites, donde disminuyen y aumentan los AGIS, puede atribuirse a diferentes subespecies, condiciones geográficas y climáticas [120], entre las cuales una de las más importantes es la temperatura del suelo, ésta influye directamente en la formación de los AGIS, durante el crecimiento de las plantas; temperaturas altas, por encima de 22°C, favorecen la formación de AGS, mientras que temperaturas bajas, menores de 22°C, favorecen la formación de AGIS, en especial en vegetales oleaginosos; las semillas de sachá inchi y ajonjolí, fueron sembradas en climas tropicales y la semilla de linaza en climas fríos [57,121,122].

La figura 23 muestra el contenido de ácidos grasos del aceite de sachá inchi y la tabla 16 resume el porcentaje de ácidos grasos del aceite de sachá inchi.



**Figura 23. Contenido de ácidos grasos en el aceite de sachá inchi**

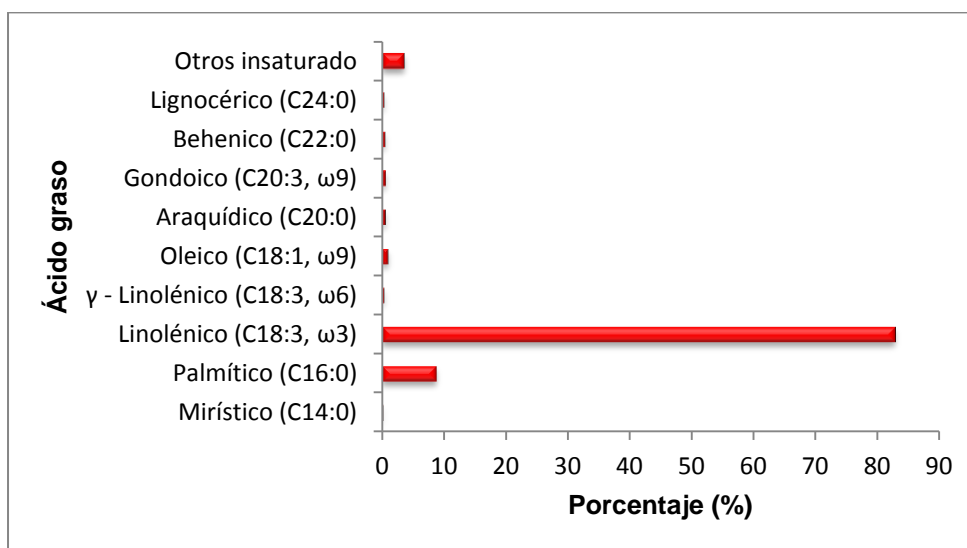
Como puede observarse, éste muestra los mayores contenidos en los ácidos linoleico de 63.24% y linolénico de 17.72%, que son ácidos altamente funcionales, pertenecientes a las familias omega 6 y 3 respectivamente, presentes en los ácidos grasos con alta presencia de AGPI. Éstas familias están asociadas con beneficios de la salud humana, en especial la prevención de enfermedades cardiovasculares, tanto en las personas con corazón sano, como aquellas con riesgo de padecerla [3], además de que ejercen efectos protectores contra algunos tipos comunes de cáncer, en particular los de mama, colón y próstata [26]. Altos contenidos de estos omega, dan la oportunidad de ser empleados en la fabricación de productos de alto valor agregado, tales como cápsulas de ácidos grasos esenciales, que servirán como precursores para la producción de ácido eicosapentanoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), altamente valorados por los demostrados efectos benéficos en la salud y en la nutrición tanto humana como animal [2, 120]. Valores de 50.41% para  $\omega$ -3 y 34.08% para  $\omega$ -6 son reportados en la literatura [54], mayor para el  $\omega$ -3, ya que presenta mayor cantidad de AGPI que los obtenidos en esta investigación. El ácido graso saturado predominante fue el palmítico con 10.14%.

**Tabla 16. Perfil de ácidos grasos del aceite de sachá inchi**

Ácido graso	Porcentaje (%) de ácidos grasos
Palmítico (C16:0)	10,14
Pamitoleico (C16:1)	0,14
Esteárico (C18:0)	0,31
Linolénico (C18:3, $\omega$ 3)	17,72
Linoleico (C18:2, $\omega$ 6)	63,24
Oleico (C18:1, $\omega$ 9)	4,54
Araquídico (C20:0)	0,24
Lauroleico (C20:1, $\omega$ 3)	0,11
Otro saturado	0,13
Otros insaturados	3,00

La presencia de ácido oleico en los aceites, le otorga propiedades de aplicación a nivel industrial, e igualmente aceites con altos contenidos de ácido oleico, son utilizados en productos alimenticios de importancia proteica, como la quinua [123].

El aceite de linaza por su parte, mostró un alto contenido de ácido graso linolénico, cuatro veces más que la cantidad de linolénico, presente en el aceite de sachá inchi. La figura 24, muestra el contenido de ácidos grasos del aceite de linaza.



**Figura 24. Contenido de ácidos grasos en el aceite de linaza**

El aceite de linaza, presentó un contenido de ácido  $\gamma$  – Linolénico  $\omega$ -6 de 0.34% y Oleico  $\omega$ -9 de 0.94%. El ácido graso insaturado más abundante fue el ácido linolénico con 82.9%, seguido del ácido graso saturado palmítico con 8.78%. Ver tabla 17.

**Tabla 17. Perfil de ácidos grasos del aceite de linaza**

Ácido graso	Porcentaje (%) de ácidos grasos
Mirístico (C14:0)	0,15
Palmítico (C16:0)	8,78
Linolénico (C18:3, $\omega$ 3)	82,9
$\gamma$ - Linolénico (C18:3, $\omega$ 6)	0,34
Oleico (C18:1, $\omega$ 9)	0,94
Araquídico (C20:0)	0,54
Gondoíco (C20:3, $\omega$ 9)	0,57
Behénico (C22:0)	0,45
Lignocérico (C24:0)	0,33
Otros insaturado	3,58

Autores como Chandra, *et al.*, 2010 [60], realizaron extracción en frío con prensado, extracción con solventes por arrastre de vapor y equipo soxhlet y por fluidos supercríticos de la semilla de linaza, y se encontraron que con los tres métodos de extracción se obtuvo un aceite rico en ácido graso omega-3, valores entre 50 y 55%, y en ácido graso omega-6 con valores entre 14.4 y 16.2% [60]. Estas cantidades, algo alejadas de las cantidades encontradas, muestra que el aceite de linaza en estudio, al ser ingerido puede proporcionar mayores cantidades que sirvan de precursores del ácido EPA omega-3, de cadena más larga, el cual ofrece propiedades benéficas para la salud además de los propios beneficios que tiene por ser un ácido graso esencial [2,120].

El aceite de ajonjolí, mostró contenidos bajos de los ácidos esenciales linolénico y linoleico, resultado muy diferente a los obtenidos para el aceite de sachá inchi y linaza. La figura 25, muestra el contenido de ácidos grasos del aceite de ajonjolí.

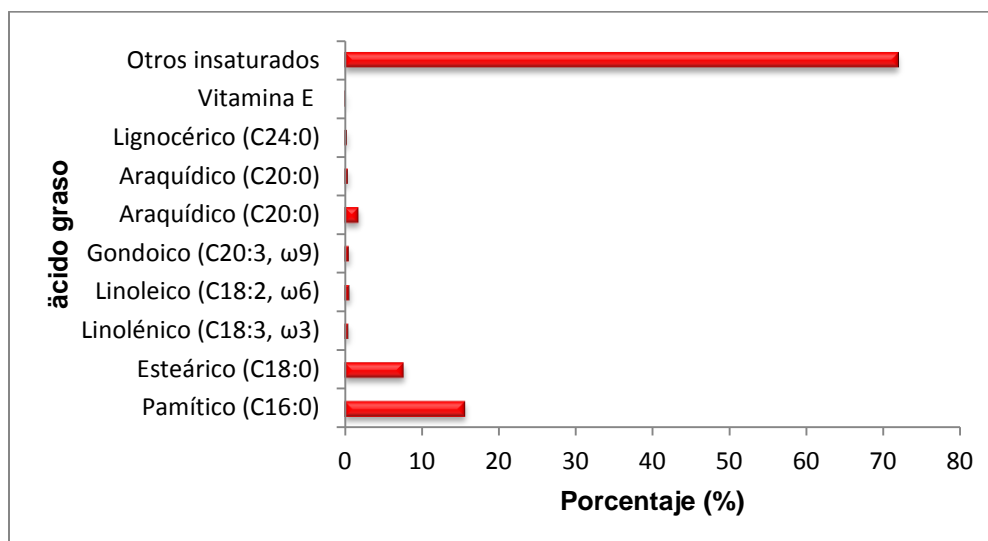


Figura 25. Contenido de ácidos grasos en el aceite de ajonjolí

El aceite de ajonjolí, presentó contenidos de ácido linolénico de 0.52% y ácido linoleico de 0.66%. La mayor cantidad de ácido graso saturado, fue para los ácidos palmítico y esteárico con un valores de 15.69% y 7.73%, respectivamente. La tabla 18 muestra los porcentajes obtenidos para cada ácido presente en el aceite.

Tabla 18. Perfil de ácidos grasos del aceite de ajonjolí

Ácido graso	Porcentaje (%) de ácidos grasos
Palmítico (C16:0)	15,69
Esteárico (C18:0)	7,73
Linolénico (C18:3, ω3)	0,52
Linoleico (C18:2, ω6)	0,66
Gondoíco (C20:3, ω9)	0,61
Araquídico (C20:0)	1,86
Araquídico (C20:0)	0,47
Lignocérico (C24:0)	0,35
Vitamina E	0,18
Otros insaturados	71,93

La literatura reporta valores para el aceite de ajonjolí, de 0% para el ácido linolénico y 25% para el ácido linoleico [124], coherente con el contenido de ácido linolénico obtenido. Esto indica que el aceite está caracterizado por otros insaturados con 71.93%, estos pueden ser ceras, antioxidantes, etc, que afectan directamente el aceite. Uno de los mayores aportes lo ofrece el ácido saturado esteárico con 7.73%, valor un poco más alto que el reportado en la literatura, el cual está entre 4.9 y 5.2% [118]. El ácido esteárico no afecta los niveles de colesterol en el suero sanguíneo, es muy usado en la fabricación de velas, jabones y cosméticos.

Todo lo anterior indica que el consumo de grasas vegetales vírgenes o crudos son más saludable que el consumo de grasas hidrogenadas industrialmente [125].

### **5.3 Caracterización Físicoquímica. Índices de calidad**

Los ácidos grasos son moléculas orgánicas que se encuentran presentes tanto en el tejido animal como en el vegetal. Estos se pueden clasificar de acuerdo a sus propiedades físicas y químicas. Teniendo en cuenta estas propiedades es posible conocer el estado general de estos compuestos. En la industria se analizan en el producto crudo y el producto refinado. Los más comunes son el índice de saponificación (IS), índice de acidez (IA), índice de yodo (IY) y valor peróxido (VP). La tabla 19 muestra los índices de calidad.

El índice de saponificación es una medida de los ácidos grasos libres y combinados que existen en las grasas y aceites, es utilizado como control de calidad en los procesos de hidrogenación [126], brindando información del grado de conservación del aceite, disminuye si está alterado, debido a una mayor cantidad de cambios en los enlaces éster por acción de las lipasas o agentes fisicoquímicos. A su vez brinda información de la longitud y peso molecular de los

**Tabla 19. Índices de calidad de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí**

Índices de calidad	Sachá Inchi	Linaza	Ajonjolí
Saponificación mg KOH/g aceite	205.40 ± 0.05	194.61 ± 0.03	195.74 ± 0.05
Acidez mgKOH/1g aceite	0.33 ± 0.01	0.71 ± 0.02	0.53 ± 0.01
Yodo g de I/100g aceite	227.85 ± 0.02	115.85 ± 0.01	55,16 ± 0.02
Valor peróxido meq O <sub>2</sub> /Kg de aceite	7.54 ± 0.03	3.38 ± 0.01	7.22 ± 0.03

ácidos grasos de acilglicerol presentes en la grasa o aceite. El IS aumenta con la cantidad de ácidos grasos de bajo peso molecular, ya que si el compuesto tiene ácidos grasos de bajo peso molecular, el número de moléculas presentes en un gramo será mayor que si los ácidos grasos son de alto peso molecular [127]. Los aceites de sachá inchi, ajonjolí y linaza presentaron valores de IS de 205.4, 195.74 y 194.61 mg de KOH/g aceite, respectivamente. Estos valores están de acuerdo con los valores reportados en la literatura, 193, 169 y 146.1 mg KOH/g de aceite, para sachá inchi [54], ajonjolí [128] y linaza [129] respectivamente. Entre los intervalos estimados para los valores de IS, se observa que éstos no se traslapan, por lo tanto decimos que se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los tipos de aceites y el sachá inchi es el que posee mayor valor en promedio del índice de saponificación, indicando que contiene mayor cantidad de ácidos grasos con cadenas más cortas, por lo tanto menor peso molecular; contrario a lo que ocurre con el aceite de linaza.

El índice de acidez representa la cantidad de ácidos libres en la grasa, aumenta con el aumento de estos. Es un factor de mala calidad que indica una hidrólisis previa, rompimiento del enlace éster en el glicerol, por mal almacenamiento de las

materias primas y acción de las lipasas, o por calor, humedad entre otros. Sin embargo, llega un momento en que estos ácidos libres comienzan a oxidarse, generando otros compuestos y disminuyendo el valor de este índice [23]. Entre los intervalos estimados se observa que estos no se traslapan, luego los aceites presentaron diferencias estadísticamente significativas y el aceite de sachá inchi presentó un menor valor promedio del índice de acidez  $0.33 \pm 0.01$  mg KOH/1 g de aceite, mientras que los aceites de ajonjolí y linaza presentaron valores mayores  $0.53 \pm 0.01$  y  $0.71 \pm 0.02$  mg KOH/1 g de aceite, respectivamente. Estos valores no superan el 1% que es el límite permitido para aceites vírgenes [55].

Estos valores reflejan el buen estado de los aceites, permitiendo clasificarlos como aceites comestibles sin correr riesgo con la salud; aunque se debe tener en cuenta otras características organolépticas como: sabor, color y olor. Estos resultados están de acuerdo con los reportados en la literatura para los tres aceites:  $0.39 \pm 0.01$ ,  $0.54 \pm 0.01$  y  $0.7 \pm 0.1$  a  $1.1 \pm 0.2$  mg KOH/1 g de aceite, para sachá inchi [130], ajonjolí [128] y linaza [60], respectivamente.

El índice de yodo representa el valor medio de insaturación de los distintos glicéridos existentes en la grasa. Se usa para conocer el grado de insaturación y por consiguiente, su grado de deterioro, el cual es proporcional a la cantidad de ácidos grasos insaturados. De este modo, aquellos compuestos con mayor índice de yodo, tienen mayor cantidad de ácidos grasos insaturados. Estadísticamente los valores reportados presentan diferencias significativas, los intervalos estimados no se traslapan, entre los tipos de aceites indicando que el aceite de sachá inchi contiene mayor valor promedio  $227.85 \pm 0.02$  g I/100g de aceite. Así, se puede decir que el aceite de sachá inchi contiene mayor cantidad de ácidos grasos insaturados por la alta proporción de AGPI presentes con respecto a la totalidad del aceite; más no muestra la posición exacta de los dobles enlaces en la estructura de los ácidos grasos, ni la naturaleza de los componentes saturados, lo

que realmente influye en su cantidad total [131]. El aceite de linaza ocupa un lugar intermedio  $115.85 \pm 0.02$  g l/100g de aceite, mientras el aceite de ajonjolí es quien presenta menor proporción de poliinsaturados, su índice de yodo fue de  $55.16 \pm 0.02$  g l/100g de aceite, esto se debe a que la cantidad de ácidos insaturados, presenta en su composición ácidos monoinsaturados, que llevan a valores más bajos, así presenten valores altos de ácidos grasos. El aceite de sachá inchi, puede ser utilizado como un fuerte secante, en la fabricación de esmaltes y barnices, y el aceite de linaza como semisecante en otras aplicaciones industriales [131, 132]. Aunque los valores obtenidos son más altos para el aceite de sachá inchi y más bajos para los aceites de linaza y ajonjolí, tienen igual comportamiento que los encontrados en la literatura 198, 156.7, 82.45 g de l /100g de aceite, para sachá inchi [54], linaza [133] y ajonjolí [134], respectivamente.

El valor peróxido permite conocer el comportamiento del aceite frente al progreso de descomposición autooxidativa, brindando información de los peróxidos presentes, debido a las reacciones de oxidación, permitiendo así predecir el tratamiento y los antioxidantes naturales que deben agregarse al aceite para obtener un producto estabilizado y con un buen tiempo de vida media, además es un índice del buen estado del aceite, que permite determinar si puede ser procesado o no. Valores por encima de  $8 \text{ meqO}_2/\text{Kg}$  de aceite, son considerados de baja calidad, afectando el sabor del aceite y valores por encima de  $15 \text{ meqO}_2/\text{Kg}$  de aceite determinan que el aceite no debe ser procesado para otros usos [135,136]. Este valor por sí solo, brinda un criterio del estado del producto, ya que si el valor disminuye, es debido a la transformación de estos productos en productos finales que generarán la rancidez oxidativa y si es muy alto, quiere decir que la grasa o aceite se encuentran en su estado inicial de oxidación. En las medidas del valor peróxido de los aceites, decimos que hay diferencias estadísticamente significativas, ya que los intervalos estimados no se traslapan, y el aceite de sachá inchi es el que posee mayor valor en promedio, con un valor

de  $7.54 \pm 0.03$  meqO<sub>2</sub>/Kg de aceite, seguido del aceite de ajonjolí con un valor de  $7.22 \pm 0.03$  meqO<sub>2</sub>/Kg, considerándose que son aceites de buena calidad por estar por debajo de 8 meqO<sub>2</sub>/Kg de aceite, esto se debe a que la presencia de insaturaciones en sus AGPI aceleraron el proceso de autooxidación lipídica, favoreciendo la formación de hidroperóxidos en su estado inicial de oxidación [27, 86]. Mientras que el aceite de linaza presentó un valor de  $3.38 \pm 0.01$  meqO<sub>2</sub>/Kg de aceite, lo que muestra que el aceite se encuentra en un buen estado fitosanitario e indicando que la formación de hidroperóxidos en su etapa inicial es más lenta con respecto a los aceites de sachá inchi y ajonjolí. La literatura muestra valores de  $3.4 \pm 0.01$  para sachá inchi [137],  $3.1 \pm 0.2$  para linaza [60] y  $1.5 \pm 0.05$  meqO<sub>2</sub>/Kg de aceite para ajonjolí [128]; todos dentro del rango permitido, un poco diferentes a los encontrados en los aceites analizados, ya que éste valor depende de la cantidad de muestra usada y no es específico para un producto u otro, ya que depende en gran medida de las condiciones de los procesos almacenamiento.

#### **5.4 Medición de la estabilidad oxidativa**

La estabilidad oxidativa de una grasa, es decir su resistencia a la autooxidación, es una cualidad apreciada que supone la capacidad para mantener su calidad organoléptica durante el almacenamiento, y depende de su composición en ácidos grasos insaturados y de la presencia de componentes menores de propiedades antioxidantes [23].

##### **5.4.1 Determinación de Dienes Conjugados (DC)**

El contenido de dienos conjugados se usa para medir los productos primarios de peroxidación lipídica, formados durante las primeras etapas del proceso de oxidación, junto con los hidroperóxidos [107]. Debido a que en la molécula inicial del aceite poliinsaturado no conjugado, ocurre un reordenamiento de los dobles enlaces, adquiriendo la forma isomérica conjugada del ácido graso poliinsaturado

que absorbe a una longitud de onda de 234 nm [108]. Este fenómeno se conoce como desplazamiento batocrómico y se debe a una transición electrónica en la capa de valencia ( $\pi$  a  $\pi^*$ ) que requiere menor energía que para compuestos no conjugados, lo que lleva al incremento de la longitud de onda ( $\lambda$ ) [138].

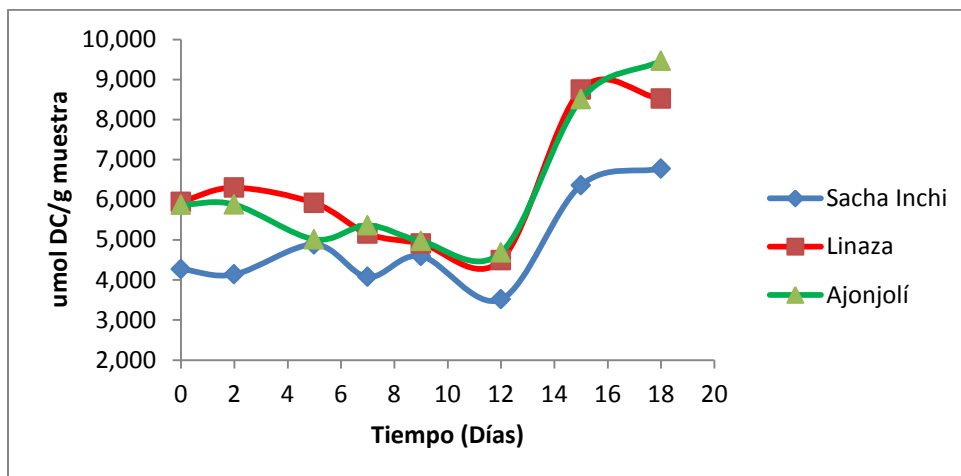
En la etapa primaria de la peroxidación lipídica la formación de dienos e hidroperóxidos es mínima, en la cual la constante de reacción es baja; sin embargo, al finalizar esta etapa, la oxidación se acelera repentinamente y se acelera el aumento de la producción de éstos. Ocurre un tiempo de inducción, en el cual los valores de dienos conjugados se mantienen bajos, finalizando con un aumento marcado en la pendiente de la curva de producción [38]. Este tiempo es un indicador para conocer cuando comienza la rancidez oxidativa de grasas y aceites, disminuyendo la calidad organoléptica y nutricional y para evaluar el efecto antioxidante.

La tabla 20, muestra los valores de inducción de la reacción de producción de dienos conjugados y la figura 26 el comportamiento, para los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí. El tiempo varió desde cero hasta 18 días. Hasta el día doce la cantidad de dienos conjugados se mantuvo entre 4.0 y 6.0  $\mu\text{mol DC/g}$  aceite, correspondiendo para el aceite de sachá inchi el valor más bajo y para el de linaza el más alto. El día doce se observó una ligera disminución que varió desde 3.5 hasta 5.0  $\mu\text{mol DC/g}$  aceite, y partir de éste día y hasta el día diez y ocho, hubo un aumento acelerado, de aproximadamente un 80%, que varió desde 6.8 hasta 9.5  $\mu\text{mol DC/g}$  aceite, más bajo para el aceite de sachá inchi y más alto para el aceite de ajonjolí; esto es un indicador de autooxidación e incrementa debido al atrapamiento de oxígeno durante la primera etapa de oxidación lipídica, permitiendo la formación de peróxidos [107]. Para estos valores, el estadístico de prueba de las mediciones promedio, en el análisis de varianza es 3.281, con p-valor de 0.0838, no presenta diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los aceites.

Sin embargo el aceite de sachá inchi mostró durante todo el periodo valores más bajos de dienos conjugados que los mostrados en los aceites de linaza y ajonjolí; ésto está relacionado con la presencia de menor contenido de ácidos grasos saturados, los cuales conceden mayor estabilidad al almacenamiento [112].

**Tabla 20. Dienos conjugados (DC) de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí**

Tiempo (días)	umol DC/g aceite		
	Sacha Inchi	Linaza	Ajonjolí
0	4,271	5,948	5,871
2	4,137	6,300	5,880
5	4,884	5,919	5,011
7	4,074	5,152	5,361
9	4,594	4,910	4,967
12	3,515	4,492	4,683
15	6,363	8,743	8,506
18	6,778	8,522	9,467



**Figura 26. Gráfico de Dienos Conjugados (umol DC/g muestra) de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí vs Tiempo (días)**

#### 5.4.2 Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs)

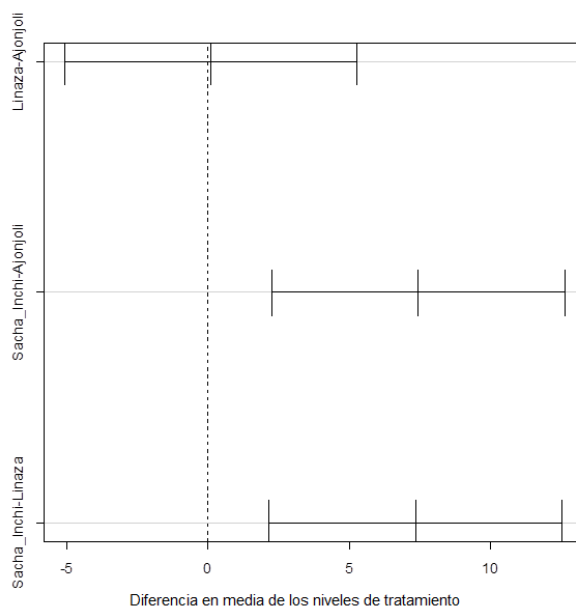
La técnica analítica TBARs es muy usada para evaluar los niveles de oxidación de lípidos en grasas y aceites, mediante la determinación de un producto secundario de peroxidación lipídica, como el malondialdehído. Sin embargo, ésta muestra ciertas limitaciones, ya que no detecta bajos niveles de oxidación, además otras sustancias puede reaccionar como sacáridos y otros aldehídos, lo que puede interferir con la reacción malonaldehido-TBA. De igual forma el malonaldehido puede reaccionar con las proteínas encontrándose menores niveles a los que corresponden con la oxidación presente. Además de considerarse no específica [40,139].

La tabla 21 muestra los tiempos de inducción de TBARs para las muestras de aceite de sachá inchi, linaza y ajonjolí. En el estadístico de prueba, con intervalos HSD al 95% en la determinación de TBARs, el análisis de varianza es 9.731, con

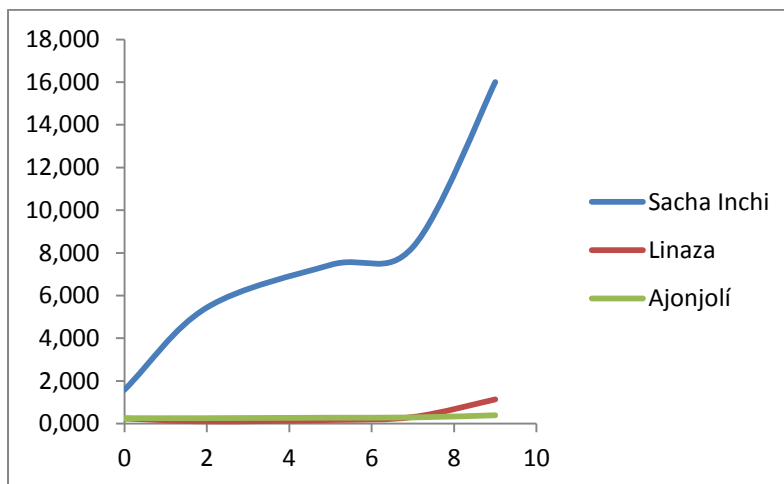
un con p-valor de 0.00308, lo cual indica que se presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí. La figura 27 presenta los valores medios con intervalos HSD al 95% del parámetro, mostrando diferencias significativas entre el aceite de sachá inchi y los aceites de linaza y ajonjolí, siendo mayor para el aceite de sachá inchi; de igual manera no hay diferencias significativas entre el aceite de linaza y ajonjolí, ya que el cero está dentro del intervalo. El tiempo de inducción fue de cero a nueve días, comenzando con variaciones desde 0.24 hasta 1.585 mg MDA/Kg de aceite, mayores para el aceite de sachá inchi y menores para el aceite de linaza; al transcurso de los días se observó un aumento paulatino para los aceites de linaza y ajonjolí, mientras que para el aceite de sachá inchi un poco más rápido; al día nueve se observó el máximo para esta determinación, variando desde 16.004 hasta 1.140 mg MDA/Kg de aceite, igualmente que al inicio, mucho mayor para el aceite de sachá inchi y menor para el aceite de linaza, figura 28. Esto indica que en el sachá inchi los procesos de autooxidación en la etapa de iniciación, comienzan a formarse más rápido los radicales libres, por la presencia de AGPI, propagándose y formando más rápido los productos secundarios de la peroxidación, susceptibles a la reacción con el TBA; pero si la concentración de radicales libres no es lo suficientemente grande, el proceso se hace más lento, como ocurre en los aceites de linaza y ajonjolí, los grupos metilénicos presentes en los AGPI de estos aceites no son muy reactivos con los radicales hidroxilo en las primeras etapas de peroxidación lipídica, además de la mayor presencia de ácidos grasos saturados que conllevan a mayores tasas de inhibición (valores más bajos de TBARs).

**Tabla 21. Medida de la capacidad reductora media, TEAC, a diferentes tiempos de inducción, para los aceites de sachá Inchi, linaza y ajonjolí.**

Tiempo (días)	mg MDA / Kg aceite		
	Sacha Inchi	Linaza	Ajonjolí
0	1,585	0,243	0,258
2	5,439	0,109	0,260
5	7,437	0,174	0,281
7	8,270	0,312	0,293
9	16,004	1,140	0,395



**Figura 27. Intervalos de confianza HSD para los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí**



**Figura 28. Gráfico de la medida de TBARS (mg MDA / Kg aceite) en relación a diferentes tiempos de inducción (días), para los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí**

#### 5.4.3 Relación entre dienos conjugados (DC) y TBARs

Gracias a la medida de estas dos determinaciones, conociendo los tiempos de inducción de las curvas de producción de DC y TBARs, fue posible conocer la estabilidad de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí. Los DC dieron una idea de la fase de iniciación del proceso, como productos primarios de peroxidación lipídica, mientras que los TBARs, dieron idea de los productos finales de peroxidación lipídica generados a partir de la descomposición de los hidroperóxidos. Es decir, que la aparición de estos productos secundarios está ligada, en parte, a las tasas de producción de los primeros, como también está muy ligada a la producción de los hidroperóxidos que se van formando en los enlaces insaturados de los ácidos grasos. El aceite de sachá inchi, presentó una mejor estabilidad en la primera etapa oxidación lipídica ya que no es tan afectado por el oxígeno triplete, responsable de la formación de los dienos conjugados, mientras que en los TBARs la formación de los hidroperóxidos los cuales reaccionan con los hidrógenos metilénicos, para formar compuestos de menos

peso molecular, tipo aldehído, aceleraron la descomposición oxidativa, cambiando las características organolépticas del aceite. Los aceites de linaza y ajonjolí son más sensibles al oxígeno triplete, favoreciendo la formación de DC, mientras que los TBARs dieron menores por la presencia de productos, como tocoferol, vitamina E, etc, que bloquean la formación de productos secundarios de menor peso molecular, tipo aldehído, protegiéndose contra la oxidación.

## 5.5 Medición de la actividad antioxidante

La medida de la capacidad antioxidante en productos alimenticios es una determinación de cuestionamientos interesantes, porque puede proveer una variedad de información, tal como la resistencia a la oxidación, contribución cuantitativa de sustancias antioxidante o la actividad antioxidante que ellos pueden presentar dentro del organismo cuando es consumido [140]. Numerosos estudios han conducido a evaluar la capacidad antioxidante de los productos alimenticios, sin embargo no hay un método oficial estandarizado y por lo tanto es recomendado que cada evaluación se realice con varias condiciones de oxidación y diferentes métodos de medida [141]. Para evaluar la capacidad reductora de los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí, se usaron las técnicas DPPH y ABTS, cuyo mecanismo de acción se basa en la transferencia de electrones SET (Single Electron Transfer) y el método ORAC, el cual mide la capacidad antioxidante mediante un mecanismo de transferencia de protones HAT (Hydrogen Atom Transfer), basado en métodos fluorimétricos, implementados en los últimos años debido a su gran sensibilidad y precisión [49, 97].

### 5.5.1 Actividad antioxidante de radicales DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup>

La determinación de la capacidad antioxidante fue expresada en equivalente Trolox (TEAC),  $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$  de aceite. El valor TEAC compara la capacidad captadora de radicales DPPH<sup>•</sup> o ABTS<sup>•+</sup> de los aceites, para este caso sachá inchi, linaza y ajonjolí, con respecto al antioxidante sintético Trolox; un análogo de

la vitamina E, soluble en agua [142]. De esta manera altos valores de TEAC representan una actividad antioxidante superior, indicando respectivamente, mayor capacidad para captar radicales libres mediante transferencia de hidrógeno [108, 143]. Los resultados obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante, se muestran en la tabla 22.

Las actividades captadoras de radicales DPPH<sup>•</sup> para los tres aceites, varió entre 690.080 y 286.54  $\mu\text{mol trolox}/100\text{ g}$  de aceite, mayor para el aceite de linaza y menor para el aceite de ajonjolí, mientras que la actividad captadora ABTS<sup>•+</sup>, para los tres aceites, varió entre 1699.91 y 750.863  $\mu\text{mol trolox}/100\text{ g}$  de aceite, mayor para el aceite de ajonjolí y menor para el aceite de linaza. Esto muestra que el aceite con mayor capacidad captadora, determinada por DPPH<sup>•</sup>, es el aceite de linaza, mientras que el aceite con mayor capacidad captadora, determinada por ABTS<sup>•+</sup>, es el aceite de ajonjolí. El ABTS es una técnica que se lleva a cabo en medio acuoso (mayor polaridad), comportándose similar a una emulsión, mientras que DPPH se realiza en un medio orgánico. Teniendo en cuenta que cada técnica tiene diferentes condiciones de reacción y solubilidad, y los antioxidantes son dependientes de diversos factores como la polaridad del medio, la temperatura, el tipo de sustrato, las condiciones de oxidación, el estado físico del sistema y la presencia de otros compuestos, que pueden ejercer relaciones contrarias o sinérgicas con las moléculas evaluadas [144,145], es posible inferir que los aceites contienen diferentes compuestos con potencial antioxidante [143]. Los valores mayores en la determinación DPPH<sup>•</sup> para la linaza, muestran que tiene antioxidantes hidrofílicos de mayor actividad antioxidante, mientras que en la determinación ABTS<sup>•+</sup> el aceite de ajonjolí presentó mayor valor debido a que en su composición hay antioxidantes lipofílicos de mayor actividad antioxidante [141].

**Tabla 22. Capacidad Antioxidante media, TEAC, para los aceites de sachá inchi, linaza y ajonjolí**

Tipo de Aceite	Capacidad Antioxidante TEAC media umol trolox / 100 g de aceite		
	DPPH <sup>•</sup>	ABTS <sup>•+</sup>	ORAC
Sachá Inchi	415,140	831.718	353,388
Linaza	690,080	750,863	452,226
Ajonjolí	286,540	1699,913	255,800

Los resultados muestran que para todos los aceites, los valores ABTS expresados como TEAC son mayores que en la técnica con DPPH, debido a la baja selectividad del ABTS<sup>•+</sup>, que reacciona con cualquier compuesto aromático hidroxilado, independientemente de su potencial antioxidante real [146].

Finalmente, se observa que la mayor actividad captadora del radical DPPH<sup>•</sup> se registró para la linaza seguida de la de sachá inchi, mientras que para el radical ABTS<sup>•+</sup>, el orden se invierte, mayor para el aceite de ajonjolí, seguido de sachá inchi y por último el aceite de linaza. Mostrando en las dos técnicas a el aceite de sachá inchi, con una actividad antioxidante intermedia entre los aceites.

De igual manera que en la técnica DPPH, el aceite de linaza presenta mayor capacidad antioxidante (452.226  $\mu\text{molTrolox}/100\text{ g de aceite}$ ) en la determinación con ORAC, por tener un mayor aporte de compuestos antioxidantes, como lo es la vitamina E, los cuales tienen la capacidad de transferir átomos de hidrógeno al radical peroxil oxidativo, mientras que en el ajonjolí y el sachá inchi, los átomos de hidrógeno, provenientes de los compuestos antioxidantes, son transferidos a la cadena insaturada de los aceites, hidrogenándola y sólo una pequeña parte es

transferida al radical peroxil por lo que su actividad antioxidante es menor, 255.8  $\mu\text{molTrolox}/100$  g de aceite para la ajonjolí y 353.388  $\mu\text{molTrolox}/100$  g de aceite para el aceite de sachá inchi, actividad intermedia entre los tres aceites.

Sin embargo, la efectividad de un antioxidante depende de una variedad de factores que incluyen la polaridad, solubilidad y la actividad quelante de metales, entre otros; por esta razón, es necesario evaluar las posibles sustancias antioxidantes a través de diferentes metodologías, con el fin de poder descartar una sustancia como antioxidante de manera definitiva [147].

---

## 6. CONCLUSIONES

---

- ✓ Con las semillas de sachá inchi, linaza y ajonjolí, se obtuvieron buenos rendimientos de aceite comparados con otros trabajos realizados por el mismo método, y aunque esta extracción produce rendimientos más bajos que los que se puede obtener por otros métodos, los aceites obtenidos son de mejor calidad sin ser necesidad de acudir a tratamientos posteriores para su purificación.
  
- ✓ Los aceites de sachá inchi y linaza, presentaron mayores porcentajes de AGPI, ricos en aceites esenciales omega-6 para sachá inchi y omega-3 para linaza, mientras que el aceite de ajonjolí no presentó predominancia de estos ácidos esenciales, importantes en la dieta para el correcto funcionamiento de algunos procesos en el organismo, responsables de la prevención de enfermedades.
  
- ✓ El aceite de sachá inchi fue el que mostró mejores índices de calidad, con respecto a los aceites de linaza y ajonjolí, igualmente dentro de los rangos establecidos, catalogando al aceite de sachá inchi con propiedades para ser utilizado en alimentación, como aceite virgen, e igualmente ser utilizado en procesos industriales.
  
- ✓ La alta presencia de AGPI en los aceites, los hace susceptibles a la oxidación lipídica, pero la presencia de compuestos antioxidantes, acompañada de otros factores como polaridad, solubilidad y actividad quelante de metales, ayudan a la disminución de una rápida oxidación.
  
- ✓ El aceite de sachá inchi, presentó una capacidad antioxidante media por los tres métodos (DPPH, ABTS, ORAC) con respecto a los aceites de linaza y ajonjolí,

donde el aceite de ajonjolí, presentó una mejor capacidad antioxidante por el método ABTS y el aceite de linaza por los métodos de DPPH y ORAC.

✓ El aceite de sachá inchi presentó mejor estabilidad oxidativa que los aceites de linaza y ajonjolí, mientras que estos tienen una estabilidad comparable entre ellos, permitiéndole conservar sus características organolépticas.

✓ No es adecuado utilizar un solo ensayo para establecer el potencial antioxidante de un compuesto aislado o de una mezcla más o menos compleja de compuestos, ya que la mayor parte de los métodos de medida de la actividad antioxidante solo miden compuestos solubles en agua y algunos de ellos deben ser adaptados para medir compuestos no solubles en este medio; por lo tanto es necesario evaluar las posibles sustancias a través de diferentes metodologías y patrones, con el fin de poder descartar una sustancia de manera definitiva o definir sus posibles usos.

---

## 7. RECOMENDACIONES

---

✓ Los aceites vegetales ricos en Omega-3, estructuralmente son iguales a los aceites de los pescados azules, que habitan en las profundidades del mar de Alaska, pero tienen una diferencia importante en la longitud de la cadena, razón ésta para que el aceite de los pescados azules no pueda ser reemplazado por los aceites de los vegetales ricos en Omega-3, estos últimos por ser de cadena corta, no son capaces de formar los ácidos grasos esenciales requeridos por el organismo de los mamíferos.

Se recomienda realizar investigaciones para elongar y desaturar la cadena de estos aceites vegetales, igualando su estructura y tamaño de la cadena con el aceite de los pescados azules y realizar estudios clínicos comparativos sobre la formación de ácidos grasos esenciales.

✓ La literatura reporta análisis de capacidad antioxidante de la torta del sachá inchi, se recomienda hacer un análisis fisicoquímico, cuantitativo y antioxidante de ésta, para un mejor aprovechamiento del residuo del vegetal oleaginoso.

---

## REFERENCIAS

---

1. Lawson H. Aceites y grasas alimentarios. Tecnología, utilización y nutrición, ed. S.R. Acribia. 1999, Saragoza - España: Acribia, SA Royo. 333p.
2. Valenzuela A, Sanhueza J. Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de los alimentos. Revista Chilena de Nutrición, 2009. 36(3): p. 246 - 257.
3. Domingo J. Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: Is all that glitters gold? Environment International, 2007. 33: p. 993 - 998.
4. Carrillo L, Dalmau J, Martínez J, Solà A, Pérez F. Grasas de la dieta y la salud cardiovascular. Anales de Pediatría, 2011. 74: p. 192 -196.
5. Youdim K, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. International Journal of Developmental Neuroscience, 2000. 18: p. 383 - 399.
6. Turner N, Mitchell T, Else P, Hulbert AJ. The  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 fats in meals: A proposal for a simple new label. Nutrition, 2011. 27: p. 719 - 726.
7. Alaska S. Omega-3 and Alaska Salmon. [Internet]. State of Alaska: Wild, Natural & Sustainable. 2012. [Actualizado 26 de Enero de 2012]. Disponible en: <http://www.alaskaseafood.org/health/facts/pages/misc-omega3.html>.
8. Reyes M. Ingesta de lípidos y alimentación saludable y efecto cardiovascular. Revista de Colegio de Nutricionistas de Chile A. G, 2005. 1: p. 6 - 9.
9. Colomer, M.F. Efectos Antioxidantes del Aceite de Oliva y de sus Compuestos Fenólicos. [Tesis de Doctorado]. 2003, Universidad Autónoma de Barcelona: (Barcelona, España): p. 113p.
10. He K. Fish, long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids and prevention of cardiovascular disease - eat Fish or take fish oil supplement? Progress in cardiovascular diseases, 2009. 52: p. 95 - 114.
11. Espinal F, Martínez H, Salazar M, Barrios C. La cadena de las oleaginosas. Una mirada global de su estructura y dinámica 1991 - 2005.

- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Observatorio Agrocadenas Colombia. Documento de trabajo # 2, 2005: p. 30.
12. Fedepalma, La Palma de aceite [Internet]. Bogotá - Colombia. Fedepalma. [Actualizado 25 de Septiembre de 2012]. Disponible en: <http://portal.fedepalma.org/palma.htm>.
  13. García D, Sandoval J, Saldaña R, Cárdenas G, Soplín J, et al.,. Fraccionamiento e interesterificación del aceite de palma (*Elaeis guineensis*) cultivado en la amazonia peruana. *Grasas y Aceites*, 2008. 59(2): p. 104 - 109.
  14. Manco E.I. Cultivo de Sacha Inchi. INIA (Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria), 2006: p. Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología, Estación Experimental Agraria El Porvenir - Tarapoto, Perú. 11p.
  15. Guillén M, Ruiza A, Cabo N, Chirinos R, Pascual G. Characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L) Oil by FTIR Spectroscopy and <sup>1</sup>H NMR. Comparison with Linseed Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc*, 2003. 80: p. 755 - 762.
  16. Ascherio A. Epidemiologic studies on dietary fat and coronary heart disease. *American Journal Medical*, 2002. 113(9): p. 9 - 12.
  17. Gunstone F. *Oils and Fats in the Food Industry*. 2008, Ed. Garsington Road. Tercera edición. USA. 146.
  18. Ahmad S, Yousuf S, Ishrat T, Badruzzaman M, Bhatia K, et al.,. Effect of dietary sesame oil as antioxidant on brain hippocampus of rat in focal cerebral ischemia. *Life Sciences*, 2006. 79: p. 1921 - 1928.
  19. Akoh C, David B, Min. *Food Lipids*. 3rd ed, ed. T.F. Grups. 2008, New York. 914.
  20. Cisterna P. Eliminación de grasas y aceites por tratamiento biológico de fangos activos. [Internet]. Seminario de suficiencia investigadora. Universidad de Oviedo. España [Actualizado 29 de octubre de 2012]. Disponible en: <http://www.e-seia.cl/archivos/gyaAP.pdf>.
  21. Valenzuela A. Ácidos grasos con isomería trans II. Situación de consumo en Latinoamérica y alternativas para la sustitución. *Revista Chilena de Nutrición*, 2008. 35(3): p. 172 - 180.

22. García J, Andía C, Zueli E, Palomino E. Proyecto de elaboración de sachá inchi. [Internet]. Elaboración y evaluación de proyectos. Perú. 2010. [Actualizado 1 de noviembre de 2012]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/48610445/35187402-PROYECTO-DE-ELABORACION-DE-ACEITE-DE-SACHA-INCHI>.
23. Primo E. Química de los alimentos. Primera ed. Síntesis, S.A, ed. S.A. Síntesis. 1998, Madrid. 461 p.
24. Coultate T. Manual de Química y bioquímica de los alimentos. Tercera ed, ed. S.A. Acribia. 2007, Zaragoza (España). 446 p.
25. Montgomery R, Conway T, Spector A. Bioquímica. Casos y texto. 5a ed, España: Ed Mosby-Year Book Wolfe Publishing; 1993: p 881
26. Rose D, Connolly J. Omega - 3. Fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology & Therapeutics*, 1999. 83: p. 217 - 244.
27. Rodríguez S, Escobar A, Ortiz E. Desarrollo de una Prueba de Estabilidad Oxidativa del Aceite de Pescado, Comparando Medidas de Técnicas Bromatológicas con las de Calorimetría Diferencial de Barrido. *Revista Colombiana de Física*, 2010. 42(2): p. 191 - 195.
28. Valenzuela R, Bascuñan K, Chamorro R, Valenzuela A. Ácidos grasos omega-3 y cáncer, una alternativa nutricional para su prevención y tratamiento. *Revista Chilena de Nutrición*, 2011. 38(2): p. 219 - 226.
29. Simopoulos A. Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. *Nutri Clinic*, 2012. 11: p. 163 - 173.
30. Muriuki M, Purdie N, Dumanças G. Quantification of the major n-3, n-6 PUFAs using the Purdie assay and their ratios in different cholesterol types and the effects of gender and cholesterol on PUFA levels. *Trends in Analytical Chemistry*, 2012. 31(1): p. 157-164.
31. Dommels Y, Alink G, Van Bladeren P, Van Ommer B. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and colorectal carcinogenesis: results from cultured colon cells, animal models and human studies. *Environmental toxicology and pharmacol*, 2002. 12(4): p. 233-244.
32. Schwartz H, Ollilainen V, Piironen V, Lampiet A. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008. 21: p. 152 - 161.

33. Villamil J, Nieto V. Análisis de competitividad en cadenas productivas: oleaginosas, aceites y grasas. [Internet]. Oleaginosas aceites y grasas. FEDEPALMA, DNP-DDE. Colombia. 2003. [Actualizado octubre 30 de 2012]. Disponible en: <http://www.dnp.gov.co/Portals/0/archivos/documentos/DDE/Oleaginosas.pdf>
34. Roldán D, Navarro H. Competitividad de la cadena de oleaginosas, aceites y grasas vegetales y animales: Aspectos relevantes del diagnóstico. [Internet]. Colección de documentos IICA 8. Serie competitividad. Colombia. 1998. [Actualizado 30 de octubre de 2012]. Disponible en: <http://repiica.iica.int/docs/B0109E/B0109E.PDF>.
35. Choksi K, Boylston W, Rabek J, Widger W, Papaconstantinou J. Oxidatively damaged proteins of heart mitochondrial electron transport complexes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2004. Acta 1688: p. 95 - 101.
36. Díaz L, Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*, 2002. 31(2): p. 127 - 133.
37. Dinçer Y, Akçay T, İlkova H, Alademir Z, Özbay G. DNA damage and antioxidant defense in peripheral leukocytes of patients with Type I diabetes mellitus *Mutation Research*, 2003. 527(1): p. 49 -55.
38. Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 2007. 46: p. 244 - 282.
39. Inan O, Musa Mehmet and Al Juhaimi Fahad Y. Antioxidant effect of mint, laurel and myrtle leaves essential oils on pomegranate kernel, poppy, grape and linseed oils. *Journal of Cleaner Production*, 2012. 27: p. 151 - 154.
40. Navarro G, Bringas L, Pacheco R. Nueva herramienta para el estudio de la oxidación de los ácidos grasos, una de las causas fundamentales de la pérdida de calidad de los alimentos en la acuicultura, in *Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 2004. p. 480 - 503.
41. Shahidi F, Senanayake SP. Modificación de lípidos. En: Block M, Barrera-Arellano D, editores and J.E. Silva, Block M, Barrera-Arellano D, editores *Temas selectos en aceites y grasas*. Brasil. Ed Temas selectos en aceites y grasas. Brasil., 2009. 1: p. 265 - 298.

42. Rojano B, Sáez J, Schinella G, Quijano J, Vélez E, Gil A, Notario R. Experimental and theoretical determination of the antioxidant properties of isoespintanol (2-isopropyl-3,6-dimethoxy-5-methylphenol). *Journal Molecular Structure*, 2008. 877: p. 1 - 6.
43. Fox N, Stachowiak G. Vegetable oil-based lubricants—A review of oxidation. *Tribology International*, 2007. 40: p. 1035 - 1046.
44. Aidos I, Lourenco S, Van Der Padt A, Luten JB, Boom R.M. Stability of crude herring oil produced from fresh byproducts: influence of temperature during storage. *Journal Food Science*, 2002. 67: p. 3314 - 3320.
45. Rojano B, Gaviria C, Sáenz J. Determinación de la actividad antioxidante en un modelo de peroxidación lipídica de mantequilla inhibida por el isoespintanol. *Vitae*, 2008. 15(2): p. 212 - 218.
46. Min D, Choe E. Chemistry and reactions of reactive oxygen Species in foods. *Crit Rev food. . Sciences and nutrition*, 2006. 46(1): p. 1 - 22.
47. Rojano B, Gaviria C, Gil M, Saez J, et al,. Actividad Antioxidante del Isoespintanol en diferentes medios. *Vitae*, 2008. 15(1): p. 173 - 181.
48. Wright J, Johnson E, DiLabio G. Predicting the activity of phenolic antioxidants; theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 2001. 123: p. 1173 - 1183.
49. Prior R, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005. 53(10): p. 4290 - 4302
50. Duran M, Borja P. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. *Grasas y Aceites*, 1993. 44(2): p. 101-106.
51. Choe E, Min DB. Mechanism and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2006. 5(4): p. 169-186.
52. King M. Los valores RDA de vitaminas y minerales. [Internet]. Introducción a los minerales. 2012. [Actualizado 10 de noviembre de 2012]. Disponible en:<http://themedicalbiochemistrypage.org/es/vitamins-sp.php>.

53. Terao J. Dietary Flavonoids as Antioxidants. Forum of Nutrition, 2009. 61(1): p. 87-94.
54. Follegatti Luis, P.C. Grimaldi R, Cabral F. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of omega-3 rich oil from Sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L) seeds. The Journal of Supercritical Fluids, 2009. 49: p. 323 - 329.
55. Merino C, Sotero V, Del Castillo D, Vásquez G, Cachique D, Vásquez P. Caracterización química de nueve ecotipos de *Plukenetia volubilis* L. de los departamentos de Loreto y San Martín. Folia Amazonica., 2008. 17(1 - 2): p. 39 - 45.
56. Murillo J, Franco R. Las euforbiáceas de la región de Araracuara Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. TROPENBOS, N.N.200'. Descripción de géneros y especies. *Plukenetia volubilis* L. pp 139-140. Bogotá
57. Cai Z, Jiao D, Tang S, Dao X, Lei Y, Cai C. Leaf photosynthesis, growth, and seed chemicals of Sachá Inchi plants cultivated along an altitud gradient Crop Science, 2012. 52: p. 1859 - 1867.
58. Jiménez J, Martínez M, Cruz D. El género *Plukenetia* (Euphorbiaceas) en México Serie Botánica. México, 2000.
59. Arévalo G. El cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L) en Amazonia Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria. Proyecto suelos tropicales. Lima, Perú, 1996.
60. Chandra P, Meda V, Kumar P, Naik S, Dalai A. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of fatty oil from flaxseed and comparison with screw press expression and solvent extraction processes. Journal of Food Engineering, 2010. 98: p. 393 - 397.
61. Guerrero L. Cultivo de linaza. [Internet]. Linaza Jebe & Lo E.A.T. 2012. [Actualizado 3 de noviembre de 2012]. Disponible en:<http://queeslinaza.blogspot.com/2012/10/linaza-jebe.html>, 2012.
62. Elleuch M, Besbes S, Roiseux O, Blecker C, Attia H. Quality characteristics of sesame seeds and by-products. Food Chemistry, 2007. 103: p. 641 - 650.
63. Augstburger F, Berger J, Censkowsky U, Heid P, Milz J, Streit C. Ajonjolí (Sésamo). Agricultura orgánica en el trópico y subtrópico. Guía de 18 cultivos. Asociación Naturland - 1ª edición 2000.

64. Li H, Pordesimo L, Weiss W. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food research international*. 37: p. 731-738.
65. Del Valle J, Rivera O, Mattea M, Liliana R, et al.,. Supercritical CO<sub>2</sub> processing of pretreated rosehip seeds: effect of process scale on oil extraction kinetics. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2004. 31: p. 159-174.
66. Rosenthal A, Pyle D, Niranjana K. Simultaneous aqueous extraction of oil protein from soybean: mechanisms for process design. *Trans Institution of Chemical Engineers*, 1998. 76: p. 224-230.
67. Seibl J. *Espectrometría de masas*. 1973, Ed Alhambra. *Massen spektrometrie* ed. Madrid 227 p.
68. Morrison R, Boyd R. *Química Orgánica*. Quinta ed, ed. P. Education. 1998, México. 1474.
69. Hesse M, Herbet M, Zeeh B. *Métodos Espectroscópicos en química orgánica*. Síntesis, 1995. 184: p. 219 - 222.
70. Silverstein R, Bassler C, Morrill T. *Identificación espectrofotométrica de compuestos orgánicos*, ed. P. ed. Primera ed. 1980, México. 17 - 31; 171 - 211.
71. Rubinson K, Rubinson J. *Análisis Instrumental*. Madrid Prentice. 2001. 484: p. 522 - 525.
72. Fortes I, Baugh P. Pyrolysis–GC/MS studies of vegetable oils from Macauba fruit. *Journal of Analytical and applied pyrolysis*, 2004. 72: p. 103 - 111.
73. Leopoldini M, Marino T, Russo N, Toscano M. Antioxidant properties of phenolic compounds; H-atom versus electron transfer mechanism. *Journal of Physical Chemistry A*, 2004. 108: p. 4916 - 4922.
74. Dou L, Cheng D, Li M, Xiao K, Shi B, Li Z. Unusual high acidity oils from the Great Palogue Field, Melut Basin, Sudan. *Organic Geochemistry*, 2008. 39: p. 210 - 231.
75. Bosque J, Mata P, Cuadros L, González A, Rodríguez F, García H. Stability for olive oil control materials. *Food Chemistry*, 2011. 125: p. 1418 - 1422.

76. Alarcón J, Panéz R, Ramos E, Valle P, Yon A. Tecnología de Aceites y Grasas - Práctica. Determinación de Índice de Acidez. [Internet]. Miraflores - Perú. 2010. [Actualizado 3 de Agosto de 2012]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/38187921/Determinacion-del-indice-de-acidez>.
77. Rao Y, Xiang B, Zhou X, Wang Z, Xie S, Xu J. Quantitative and qualitative determination of acid value of peanut oil using near-infrared spectrometry. *Journal of Food Engineering.*, 2009. 93: p. 249 - 252.
78. Thomaidis N, Constantinou A. Direct parallel flow injection multichannel spectrophotometric determination of olive oil iodine value. *Analytica Chimica Acta* 2000. 405: p. 239 - 245.
79. Alarcón J, Panéz R, Ramos E, Valle P, Yon A. Tecnología de Aceites y Grasas - Práctica. Determinación del índice de yodo. [Internet]. Miraflores - Perú. 2010. [Actualizado 3 de Agosto de 2012]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/59207564/indice-de-Yodo>.
80. Gopinath A, Puhani S, Nagarajan G. Theoretical modeling of iodine value and saponification value of biodiesel fuels from their fatty acid composition. *Renewable Energy*, 2009. 34: p. 1806 - 1811.
81. Gutierrez L, Rosada L, Jimenez A. Sedes and characteristics of their lipid fraction *Grasas y Aceites*, 2011. 62: p. 76 - 83.
82. Soto M. Control de Calidad de Aceites Vegetales. [Internet]. Perú - Lima. [Actualizado 4 de junio de 2012]. Disponible en: <http://www.authorstream.com/Presentation/marilusoto-1180961-control-de-calidad-aceites-vegetales-por-q-f-maril-r-soto-v-squez/>.
83. Stepanyan V, Arnous A, Petrakis C, Kefalas P. Chemiluminiscent evaluation of peroxide value in olive oil. *Talanta*, 2005. 65: p. 1056 - 1058.
84. Talpur M, Sherazi S, Mahesar S, Bhutto A. A simplified UV spectrometric method for determination of peroxide value in thermally oxidized canola oil. *Talanta*, 2010. 80: p. 1823 - 1826.
85. De la Cruz J, Quintero L, Villalobos M, Sánchez F. Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipemic rabbits: influence of olive oil administration. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000. 1485: p. 36 - 44.
86. Gaviria C, Ochoa C, Sánchez N, Medina C, Lobo M, et al.,. Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de

- mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 2009. 8(6): p. 519 - 528.
87. Constante G. Los aceites y grasas composición y propiedades, ed. M.P.L. S.A. 2006: ISBN: 84 - 8476 - 292 - 0. p. 315.
  88. Marmesat S, Morales J, Velasco J, Ruiz M, Dobarganes M. Relaciones entre los cambios en el índice de peróxidos e índice de dienos conjugados durante la oxidación de aceites de girasol con diferente grado de instauración. Grasas y Aceites, 2009. 60: p. 155 - 160.
  89. Galleano M, Verstraeten S, Oteiza P, Fraga C. Antioxidant Actions of Flavonoides: thermodynamic and Kinetic Analysis. Arch Biochem Biophys, 2010. 501(1): p. 23 - 30.
  90. Gil G.A. Efecto inhibitor del pardeamiento enzimático en el extracto del banano por medio de algunos derivados del isoespintanol in Escuela de Química. 2006, Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín: Medellín. p. 70.
  91. Amiot M, Fleuriet A, Nicolas J. Phenolic compounds and oxidative mechanisms in fruit and vegetables. Phytochemistry of fruits and vegetables, 1997: p. Clerenton Press Oxford. 51 - 85
  92. Arnao A, Cano A, Acosta M. Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion. Free Radical Research, 1999. 31(1): p. 89 - 96.
  93. Aruoma O. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. Mutation Research, 2003. 523 - 524: p. 9 - 20.
  94. Restrepo A, Cortés M, Rojano B. Potenciación de la capacidad antioxidante de fresa (*Fragaria ananassa* Duch) por incorporación de vitamina E utilizando la técnica de impregnación. Vitae, 2010. 17(2): p. 137 - 140.
  95. Erkan N, Ayranc G, Ayranci E. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus O cinalis* L) extract, blackseed (*Nigella sativa* L) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry, 2008. 110: p. 76 - 82.

96. Huang D, Boxin, Prior Ronald L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. . J. Agric. Food Chem , 2005. 53(6): p. 1841 - 1857.
97. Hayes J, Allen P, Bruton N, O'Grady M, Kerry J. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea*), lutein, sesamol and ellagic acid. Food Chemistry, 2011. 126: p. 948 - 955.
98. Pannala A, O'Biren J, Rice-Evans C. B-ring chemistry and antioxidant activity: Fast reaction kinetics. Biophys, 2001. 282: p. 1161 - 1168.
99. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine., 1999. 26: p. 1231 - 1237.
100. Floegel A, Kim S, Chung S, Koo S, Chun O. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. Journal of Food Composition and Analysis, 2011. 24: p. 1043 - 1048.
101. Almajano M.d.P. Determinación de la actividad antioxidante de las Bayas de Goji. [Internet]. Barcelona - España: Consorci Escola Industrial de Barcelona. 2009. [Actualizado 1 de agosto de 2012]. Disponible en: <http://www.bioener.com/documentos/estudio%20goji.pdf>.
102. Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne J, et al,. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Food Chemistry, 2009. 113: p. 1226 - 1233.
103. Gómez J.E. Monografía y cultivo del sachá inchi: oleaginosa promisoría para la diversificación productiva del trópico. Boletín técnico Florencia (Caqueta): Produmedios, 2004: p. 380p.
104. AOAC, Official methods of analysis of AOAC international 1997. (16 th Edition. 3 rd Revision ).
105. Bhatkhande B, Samant S. Ultrasound assisted PTC catalyzed saponification of vegetable oils using aqueous alkali. Ultrasonics Sonochemistry, 1998. 5: p. 7 - 12.
106. Del Río V, Larrechi M, Callao M. Sequential injection titration method using second-order signals: Determination of acidity in plant oils and biodiesel samples. Talanta, 2010. 81: p. 1572 - 1577.

107. Zuta P, Simpson B, Zhao X, Leclerc L. The effect of a-tocopherol on the oxidation of mackerel oil. *Food Chemistry*, 2007. 100(2): p. 800 - 807.
108. Terpinč P, Ceh B, Poklar U, Abromović H. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. *Industrial Crops and Products*, 2012. 39: p. 210 - 217.
109. Cumba G, Gallardo N. Caracterización de grasas alternativas de la manteca de Cacao., Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.: México D.F. p. Carpio y Plan de Ayala S/No. Código Postal 11340
110. Tarladgis B, Person A, Dugan L. Chemistry of the 2 - thiobarbituric acid test of determination of oxidative rancidity in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1964. 15: p. 602 - 607.
111. Brand W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm - Wiss U. Technology*, 1995. 28: p. 25 - 30.
112. Mohdaly A, Smetanska I, Ramadán M, Sarhan M, Awad M. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Industrial Crops and Products*, 2011. 34: p. 952 - 959.
113. Rautenbach F, Faber M, Laurie S, Laurie R. Antioxidant capacity and antioxidant content in Roots of 4 Sweetpotato varieties. *Journal of Food Science*, 2010. 75(5): p. 400 - 405.
114. Alvarez E, Jiménez O, Posada C, Rojano B, Gil J, et al,. Actividad antioxidante y contenido fenólico de los extractos provenientes de las Bayas de dos especies del género *Vismia* (*Guttiferae*). *Vitae*, 2008. 15(1): p. 165 - 172.
115. Correa J, Barrera C. Introducción al R., ed. F. Editorial. Vol. 243 - 247. 2010, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín - Colombia. Fondo Editorial ITM. p 243 - 247.
116. R: A language and environment for statistical computing. . R Development Core Team (2011), R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0,URL.

117. Prom A. Tecnología de extracción de aceite de Sachá Inchi <http://www.promamazonia.org.pe/SBiocomercio/Upload%5CLineas%5C Documentos/541.pdf>. Retrieved Agosto 2012.
118. Döker O, Salgin U, Yildiz N, Aydogmus M, Calimli A. Extraction of sesame seed oil using supercritical CO<sub>2</sub> and mathematical modeling. *Journal of Food Engineering*, 2010. 97: p. 360 - 366.
119. Sánchez J, Osorio E, Montaña A, Martínez M. Estudio del contenido en ácidos grasos de aceites monovarietales elaborados a partir de aceitunas producidas en la región extremeña *Grasas y Aceites*, 2003. 54(4): p. 371-377.
120. Gutierrez L, Rosada L, Jimenez A. Chemical composition of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L) sedes and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y Aceites*, 2011. 62: p. 76 - 83.
121. Deng X, Scarth R. Temperature effects on fatty acid composition during development of low - linoleic oil seed rape (*Brassica Napus* L). *J AOCS*, 1998. 75(7): p. 759 - 766.
122. Golombek S, Sridhar R, Singh U. Effect of soil temperature on the seed composition of three Spanish cultivars of groundnut (*Arachis Hypogaea* L). *Journal Agric. Food Chem*, 1995. 43: p. 2067 - 2070.
123. Jacobsen S, Mujica A, Ortiz R. La importancia de los cultivos Andinos. *FERMENTUM. Revista Venezolana de Sociología y Antropología*, 2003. 13(032): p. 14 -24.
124. Calram S. Actualización de la cadena de valor del Sachá Inchi. [Internet]. Mayobamba-Perú: Perú Biodiverso. 2009. [Actualizado 15 de Julio de 2012]. Disponible en: . <http://es.scribd.com/doc/80839382/Actualizacion-del-Analisis-de-la-Cadena-de-Sacha-Inchi-San-Martin>.
125. Krauss R, Eckel R, Howard P, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, et al., AHA Dietary Guidelines. A Statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of American Heart Association. *Journal American Heart Association*, 2000. 31: p. 2751-2766.
126. Castaño D, Valencia M, Murillo E, Mendez J, Joli J. Composición de ácidos grasos de Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo) y su relación con la bioactividad del vegetal. *Revista chilena de nutrición*, 2012. 39(1): p. 45 - 52.

127. Toscano G, Riva G, Foppa E, Duca D. Vegetable oil and fat viscosity forecast models based on iodine number and saponification number. *Biomass and Bioenergy.*, 2012. Article in press: p. 1 - 6.
128. Latif S, Anwar F. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. *Food Chemistry.*, 2011. 125: p. 679 - 684.
129. Kasote D, Badhe Y, Hegde M. Effect of mechanical press oil extraction processing on quality of linseed oil. *Industrial Crops and Products*, 2013. 42: p. 10 - 13.
130. Zuleta E, Rios Luis A and Benjumea Pedro N. Oxidative stability and cold flow behavior of palm, sachá-inchi, jatropha and castor oil biodiesel blends. *Fuel Processing Technology*, 2012. 102: p. 93 - 101.
131. Knothe G. Structure indices in FA Chemistry. How relevant is the iodine value? *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2002. 79(9): p. 847 - 854.
132. Chistian F, Rueda-Calausen FA, Silvia MA, Lindarte C, Gómez E, et al., Olive, soybean and palm oils intake have a similar acute detrimental effect over the endothelial function in healthy young subjects. *Nutrition Metabolism Cardiovas*, 2007. 17(1): p. 50 - 57.
133. Demirbas A. Production of biodiesel fuels from linseed oil using methanol and ethanol in non-catalytic SCF conditions. *Biomass and Bioenergy*, 2009. 33: p. 113 - 118.
134. Saydut A, Zahir M, Kaya C, Beycar A, Hamamci C. Transesterified sesame (*Sesamum indicum* L) seed oil as a biodiesel fuel. *Bioresource Technology*, 2008. 99: p. 6656 - 6660.
135. FAO / OMS. CODEX Stand 19 - 1981. Norma del Codex para grasas y aceites comestibles no regulados por normas Individuales, *Codex Alimentarius Official Standards*: p. Canadá, Rev. 2 - 1999.
136. Gupta M. Practical guide in oil processing. En: XIV Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceites; Cartagena 2011. Oct 17- 22. USA: American Oil Chemist Society, Latinoamérica.

137. Maure Hatta B, Pascual G, Rodriguez L. Characterization and authentication of a novel vegetable source of omega-3 fatty acids, sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L) oil. Food Chemistry, 2012. 134: p. 1173 - 1180.
138. Kamal-Eldin A, Mäkinen M, Lampi A. M. The challenging contribution of hydroperoxides to the lipid oxidation mechanism. Kamal- Eldin A, editor, Lipid oxidation Pathways. Sweden: AOCS Press; 2003: vol. 1 p. 12-40.
139. Vicario R, Guillen R, Guzman M. Utilización del ensayo del ácido 2 - tiobarbiturico (ATB) para evaluar el proceso autoxidativo. Grasas y Aceites, 1997. 48(2): p. 96 - 102.
140. Zuleta A, Esteve M and Frígola A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. Food Chemistry, 2009. 114: p. 310 - 316.
141. Frankel E, Meyer A. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. Journal Science Food Agriculture, 2000. 80: p. 1925 - 1941.
142. Morales G, Sierra P, Paredes A, Loyola L, Borquez J. Constituents of *Helenium atacamense* Cabr. J Chil Chem Soc, 2006. 51(1): p. 769 - 772.
143. Palomino L.R, et al,. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). Vitae, 2009. 16(3): p. 388 - 395.
144. Espin J, Rivas CS, Wichers HJ. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. Journal agriculture and food chemistry, 2000. 48: p. 648-656.
145. Ramadan M, Kroh LW, Moersel JT. Radical scavenging activity of black cummin (*Nigella sativa* L), coriander (*Coriandrum sativum* L) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass) crude seed oils and oil fractions. Journal agriculture and food chemistry, 2003. 51(24): p. 2691-6969.
146. Roginsky V, Lissi E. Review of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food. Food Chem, 2005. 92(2): p. 235 - 254.
147. Mahecha M C. Actividad antioxidante y antibacteriana de aceites esenciales extraídos de hojas de frutos de *Siparuna sessiliflora*, in Departamento de Química. 2010, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá. p. 99.