UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

ANÁLISIS COMPOSICIONAL DE LA TORTA Y ACEITE DE SEMILLAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis*) CULTIVADA EN COLOMBIA

ZULLY ADRIANA HURTADO ORDOÑEZ

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, ESCUELA DE POSGRADOS

PALMIRA, COLOMBIA

2013

ANÁLISIS COMPOSICIONAL DE LA TORTA Y ACEITE DE SEMILLAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis*) CULTIVADA EN COLOMBIA

ZULLY ADRIANA HURTADO ORDOÑEZ

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de Magister en CienciasBiológicas

Director:

Ph.D., Ricardo Benítez Benítez

Codirectora:

Ph.D., Karina LópezLópez

Linea de investigación:

Biotecnología Vegetal

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, ESCUELA DE POSGRADOS

PALMIRA, COLOMBIA

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

SEDE PALMIRA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
LINEA DE INVESTIGACIÓN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

En Palmira a los 17 días del mes de Mayo 17 de 2013, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los doctores HECTOR SAMUEL VILLADA y JAIME MARTIN FRANCO

Para calificar la Tesis de Grado de:

ZULLY ADRIANA HURTADO ORDOÑEZ

Titulada:

"ANALISIS COMPOSICIONAL DE LA TORTA Y ACEITE DE SEMILLAS DE SACHA INCHI (Plukenetia volubilitis, L.) CULTIVADA EN COLOMBIA", bajo la dirección de Ricardo Benitez, Ph.D y Karina López López

Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los docentes HECTOR SAMUEL VILLADA y JAIME MARTIN FRANCO, y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA X

REPROBADA ___

HECTOR SAMUEL VILLADA

JAIME MARTIN FRANCO

A Dios, por darme esta oportunidad y proveerme de todo lo necesario en este tiempo

A mi esposo y mi mamá, por impulsarme siempre a esforzarme y ser valiente en medio de la dificultad.

Al profesor Ricardo Benítez, mi director, por su paciencia, tiempo y creer en mí.

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el potencial de la torta y aceite de semillas de sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) cultivada en Colombia, particularmente la semilla nativa propagada en el Departamento del Putumayo, se realizó el análisis composicional del aceite y la torta, así como también el análisis fisicoquímico de la semilla entera. La semilla mostró un contenido de proteína y grasa de 29.85±0.085 y 42.75±0.5%, respectivamente. El 83.3% de la fracción grasa corresponde a ácidos grasos poliinsaturados, el 9.4% a ácidos grasos monoinsaturados y el 7.3% a ácidos grasos saturados. La actividad antioxidante del aceite se determino a través de tres metodologías: decoloración del β-caroteno obteniéndose un valor del 74.69±0.7%; actividad de barrido de radicales libres DPPH (2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo) con un IC_{50} 54.4±0.7% y actividad de barrido de radicales libres ABTS [ácido 2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico] con 19.4±0.5 (mmol Trolox/Kg).

La torta de sacha inchi mostró en su composición proximal un contenido de fibra bruta 4.79±0.02%, grasa 4.84±0.02% y proteína 51.23±0.10%. La fracción proteica presentó un contenido en aminoácidos esenciales totales (TEAA) 45.3% y de aminoácidos totales (TAA) 99.3%. De acuerdo al perfil de aminoácidos se pudo realizar el computo químico y determinar el aminoácido limitante en relación al patrón FAO/OMS. Para grupos etarios de 2-5 años el aminoácido limitante fue lisina, así como para el grupo de escolares, y el aminoácido limitante en adultos fue histidina. Al comparar con la calidad de la proteína del huevo, se encontró como aminoácido limitante a la valina.

La digestibilidad *in vitro* se evaluó para la almendra de sacha inchi molida, la almendra de sacha inchi molida sometida a calentamiento (70℃, 2h), torta de sacha inchi y torta de sacha inchi sometida a calentamiento (70℃, 2h), y se realizó la corrección del puntaje de acuerdo a la digestibilidad proteica obteniéndose valores de 67.62, 76.69, 79.64 y 84.20%, respectivamente.

El valor nutricional del aceite y torta de sacha inchi encontrado en el presente estudio hacen de esta oleaginosa un cultivo promisorio, con un gran potencial biotecnológico para la producción de compuestos nutraceúticos; y económico, que permite a futuro sustituir la siembra de cultivos ilícitos en regiones como el Putumayo.

Palabras clave: Sacha inchi, *Plukenetia volubilis*, torta de sacha inchi, aceite de sacha inchi, actividad antioxidante, digestibilidad *in vitro*.

SUMMARY

In order to evaluate the potential of the oil and sacha inchi(*Plukenetia volubilis*) seed cake grown in Colombia, particularly the native seed propagated in Putumayo, compositional analysis was performed oil and cake, as well as physicochemical analysis of the whole seed.

The seed has a protein content of 29,85 % and a fat content of 42,75 %. 83.3 % of fat fraction is polyunsaturated fatty acids, which a 9.4 % are monounsaturated. The antioxidant activity of oil was determined through three methodologies: β-carotene discoloration, free radicals DPPH and ABTS scanning activity. The results obtained were 74.69 ±0.7%, 54.4±0.7% (IC_{50}) and 19.4±0.5 (mmol Trolox/Kg) respectively.

The sacha inchi seed cake has 4.79±0.02% in crude fiber, 4.84±0.02% in fat and 51.23±0.10% in protein. The protein fraction has 45.3 % in total essential aminoacids and 99.3 % in total aminoacids. According to the aminoacid profile, the chemical computing was done and it was possible to determine the limiting aminoacid in relation with the FAO/OMS(The Food and Agriculture Organization of the United Nations/World health organization)standard. For scholar people and 2-5 years old people the limiting aminoacid was the lysine. In adult people the limiting aminoacid was the histidine. Comparing with the egg protein quality, the limiting aminoacid was the valine.

In vitro digestibility was evaluated for the sacha inchi milled almond, milled almond at 70 ºC for 2 hours, seed cake and seed cake at 70ºC for 2 hours. The score correction was made and the results were 67.62, 76.69, 79.64 y 84.20% respectively.

The oil nutritional value of sacha inchi oil and seed cake found in this work make of this oilseed a promising crop having a biotechnological potential for the production of nutraceutical and economic compounds that let to replace the illicit crops sowing in places like Putumayo.

Keywords: Sacha inchi, *Plukenetia volubilis*, sacha inchi cake, sacha inchi oil, antioxidant activity, digestibility *in vitro*.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN……..……..13

1.Identificación del fenómeno de estudio 15

1.1. Definición del problema 15

1.2. Justificación 16

1.3. Objetivos.....17

1.3.1. Objetivo General 17

1.3.2. Objetivos Específicos.....17

2.Marco referencial 18

2.1. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis linneo*).....18

2.1.1. Género:.....18

2.1.2. Morfología.....19

2.1.3. Distribución.....19

2.2. Características del cultivo 19

2.3. Utilidades del sacha inchi 22

2.4. Aceites vegetales.....23

2.5. Técnicas de estudio de la composición de acidos grasos en aceites y otros parámetros de calidad.....26

2.6. Cromatografía de gases 27

2.7. Actividad antioxidante.....28

2.8. Aprovechamiento de subproductos agroindustriales 28

3.Diseño metodologico 30

3.1. Material biológico.....30

3.1.1. Toma de muestras 30

3.1.2. Extracción de aceite de sacha inchi 31

3.1.3. Obtención de la torta.....31

3.2. Análisis fisicoquímico de la semilla.....33

3.2.1. Características físicas de las semillas de sacha inchi 33

3.2.2. Análisis composicional de la semilla de sacha inchi.....33

3.3. Análisis fisicoquímico del aceite de sacha inchi.....34

3.3.1. Análisis proximal del aceite de sacha inchi 34
3.3.2. Cuantificación cromatográfica de ácidos grasos en el aceite de sacha inchi.....34
3.3.3. Cuantificación de triglicéridos en el aceite de sacha inchi.....35
3.3.4. Actividad antioxidante del aceite de sacha inchi 36
3.3.5. Estabilidad del aceite de sacha inchi.....37
3.4. Análisis fisicoquímico de la torta.....38
3.4.1. Análisis proximal de la torta.....38
3.4.2. Análisis cromatográfico de aminoácidos presentes en la torta.....39
3.4.3. Digestibilidad *in vitro* de la torta 39
4.Discusión 40
4.1. Materia prima.....40
4.1.1. Toma de muestras 40
4.1.2. Extracción de aceite de semillas de sacha inchi 41
4.1.3. Obtención de la torta.....41
4.2. Análisis fisicoquimico de la semilla.....41
4.2.1. Características fisicas de la semilla.....41
4.2.2. Análisis composicional de la semilla 42
4.3. Análisis fisicoquimico del aceite.....45
4.3.1. Caracterización fisicoquímica.....45
4.3.2. Cuantificación cromatográfica de ácidos grasos 48
4.3.3. Perfil de triglicéridos.....55
4.3.4. Actividad antioxidante 57
4.3.5. Estabilidad del aceite de sacha inchi.....60
4.4. Análisis fisicoquimico de la torta.....61
4.4.1. Análisis proximal de la torta 61
4.4.2. Análisis cromatográfico de aminoácidos 64
4.4.3. Digestibilidad *in vitro* 73
5.Bibliografía.....77

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Semilla de sacha inchi……18

Figura 2. a) Triglicérido: glicerol unido a tres ácidos grasos insaturados y uno saturado. b) Ácidos grasos de importancia y predominantes en aceites vegetales……24

Figura 3. Metodología para el análisis de la semilla de sacha inchi……32

Figura 4. Forma y tamaño de semillas de sacha inchi……..42

Figura 5. Almendra y cáscara de semillas de sacha inchi……43

Figura 6. Composición en porcentaje de ácidos grasos en el aceite de sacha inchi……50

Figura 7. Contenido de ácido palmítico en sacha inchi y otras oleaginosas…51

Figura 8. Contenido de ácido esteárico en aceite de sacha inchi……..51

Figura 9. Contenido de ácido oléico en sacha inchi y otras oleaginosas……..52

Figura 10. Contenido de ácido linoléico en sacha inchi y otras oleaginosas…52

Figura 11. Contenido de ácido linolénico en sacha inchi y soya……..53

Figura 12. Composición de TAG´s en el aceite de sacha inchi……56

Figura 13. Mecanismos de acción del radical DPPH……58

Figura 14. Composición proximal de la torta de sacha inchi……61

Figura 15. Análisis proximal de la torta de sacha inchi……62

Figura 16. Valores de grasa y proteína para torta de sacha inchi y cereales...63

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Características del cultivo de sacha inchi……19

Tabla 2. Composición de ácidos grasos de aceites vegetales……25

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de algunos aceites vegetales……26

Tabla 4. Métodos para el análisis composicional de semilla de sacha inchi 33

Tabla 5. Métodos para determinar los índices fisicoquímicos del aceite de sacha inchi……34

Tabla 6. Condiciones cromatográficas para la determinación de acidos grasos en el aceite de sacha inchi……35

Tabla 7. Métodos para el análisis composicional de la torta de sacha inchi….38

Tabla 8. Características físicas de la semilla de sacha inchi……42

Tabla 9. Análisis composicional de la cascara de sacha inchi, expresada en porcentaje……43

Tabla 10. Análisis composicional de la almendra de sacha inchi, expresada en porcentaje……45

Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos del aceite de sacha inchi……..46

Tabla 12. Perfil de ácidos grasos del aceite de sacha inchi en porcentaje 49

Tabla 13. Resumen y comparación de la composición en porcentaje de acidos grasos del aceite de sacha inchi……50

Tabla 14. Perfil de triacilgliceroles en el aceite de sacha inchi.....55

Tabla 15. Actividad antioxidante en el ensayo de β-caroteno/acido linoléico…57

Tabla 16. Actividad antioxidante en el ensayo de DPPH para el aceite de sacha inchi……58

Tabla 17. Actividad antioxidante en el ensayo de ABTS……..59

Tabla 18. Resultados Rancimat para el aceite de sacha inchi y otros aceites..60

Tabla 19. Composición proximal de la torta de sacha inchi……61

Tabla 20. Comparativo de los aminoácidos de la torta de sacha inchi con otros alimentos……65

Tabla 21. Comparativo de los aminoácidos de la torta de sacha inchi con las necesidades de los mismos para diferentes grupos de edad……..67

Tabla 22. Puntaje de la proteína en torta de sacha inchi y su relación con los requerimientos de aminoácidos y proteína para diferentes grupos de edad…69

Tabla 23. Resultados del computo químico de la torta de sacha inchi en relación a la proteína del huevo……71

Tabla 24. Digestibilidad *in vitro* de la torta de sacha inchi……72

Tabla 25. Puntaje químico de aminoácido corregido por digestibilidad (PDCAAS)……73

LISTA DE SIMBOLOS O ABREVIATURAS

ABTS	Ácido 2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico
Ala	Alanina
AOAC	Association of official Analytical chemist
Arg	Arginina
Asp	Ácido aspártico
BHT	Butilhidroxitolueno
C 12:0	Ácido mirístico
C 13:0	Ácido tridecanoico
C 14:0	Ácido láurico
C 14:1	Ácido miristoleico
C 15:0	Ácido pentadecanoico
C 16:0	Ácido palmítico
C 16:1	Ácido palmitoleico
C 17:0	Ácido margárico
C 18:0	Ácido esteárico
C 18:1 *Cis*	Ácido oleico
C 18:1 *Cis* Iso	Ácido *cis* – vaccénico
C 18:1 *Trans*	Ácido *trans* – vaccénico
C 18:2 ct	Ácido ruménico
C 18:2 n6 *Cis*	Ácido linoleico
C 18: 2 tc	Ácido *trans*– 10, *cis* – 12 – octadecadienoico
C 18:2 tt	Ácido linolelaídico
C 18:3 n3	Ácido linolénico
C 18:3 ttt	Ácido β – eleostérico
C 18:3 ttc	Ácido caléndico
C 18:3 tct	Ácido *trans* – 9, *cis* – *11*, *trans* – 13 – octadecatrienoico
C 18:3 cct	Ácido *cis* – 6, *cis* – *9*, *trans* – 11 – octadecatrienoico
C 18:3 ctt	Ácido α-eleostérico
C 18:3 ctc	Ácido punicico
C 20:0	Ácido araquídico
C 20:1	Ácido gadoleico
C 22:0	Ácido behénico
C 22:1 n9	Ácido erúcico
C 24:0	Ácido lignocérico
Cys	Cisteína
DHA	Ácido docosohexaenoico
DPPH	2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo
ENN	Extracto No Nitrogenado
EPA	Ácido eicosapentaenoico
FAME	Esteres metílicos de ácidos grasos
FAO	Food and Agriculture Organizationof the United Nations
FID	Detector de ionizacion de llama

g	Gramos
Glu	Ácido glutámico
Gly	Glicina
His	Histidina
IA	Indice de aterogenicidad
ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
ICONTEC	Instituto Colombiano de Normas Técnicas
IMET	Instituto de medicina tradicional
Ile	Isoleucina
Kg	Kilogramo
KJ	Kilojoules
Leu	Leucina
Lys	Lisina
Met	Metionina
m.s.n.m	Metros sobre el nivel del mar
mmol	milimoles
N.D.	No detectado
ONU	Organización de las Naciones Unidas
Phe	Fenilalanina
Pro	Prolina
PTFE	Politetrafluoroetileno
Ser	Serina
SI	Sacha inchi
TAA	Total de aminoácidos
TEAA	Total de aminoácidos esenciales
t/ha	Toneladas por hectárea
Thr	Treonina
Trp	Triptófano
Tyr	Tirosina
Val	Valina
ω	Omega
WHO	World Health Organization

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Concentración de algunos metales en la cascara de sacha inchi

GLOSARIO

Ácido graso: son ácidos orgánicos, que se encuentran presentes en las grasas, raramente libres, y casi siempre esterificando al glicerol y eventualmente a otros alcoholes. Son generalmente de cadena lineal y tienen un número par de átomos de carbono.

Ácido graso saturado: son ácidos grasos que no poseen enlaces dobles, son flexibles y sólidos a temperatura ambiente.

Acido graso insaturado: acidos grasos que en su cadena posee dobles o triples enlaces, rígidos, siendo líquidos aceitosos a temperatura ambiente.

Ácidos grasos monoinsaturados: ácidos grasosde cadena carbonada par, que poseen una sola insaturación en su estructura, es decir, poseen un solodoble enlacecarbono-carbono (–CH=CH–)

Analito: es un término utilizado en química analítica, análisis químico, etc, donde hace referencia a una sustancia, la cual puede ser unión, un elemento, o incluso un compuesto determinado, que posee un interés en determinada muestra, pues es la parte que se desea analizar. Dicha especie química, puede conocerse y ser cuantificada, al pasar a determinar su cantidad en la muestra, además de su concentración, en un proceso químico como suelen ser las valoraciones químicas, siguiendo una particular forma de medida química.

Fitoquímica**:** estudia desde la estructura química molecular de la planta hasta sus propiedades biológicas. Realiza análisis de los componentes químicos de las plantas, como los principios activos, los olores, pigmentos, entre otros.

Genómica**:** es el estudio de los genomas de organismos. El campo incluye intensos esfuerzos para determinar la secuencia completa del ADN de los organismos y detallados mapas genéticos.

Proteómica: estudia el conjunto de proteínas que se expresa a partir de un genoma. se incluyen, el menos, tres cosas: identificar todas las proteínas que fabrica una célula, un tejido o un organismo; determinar cómo interactuan dichas proteínas entre sí y, por último, encontrar la estructura tridimensional precisa de cada una de esas proteínas.

Muestra simple ó elemental. Es una determinada cantidad de material que se extrae de un sublote o lote.

Muestra compuesta o global. Es aquella muestra obtenida por homogeneización de diferentes muestras simples o elementales, con el fin de garantizar una muestra representativa de la totalidad del material.

Muestra final. parte representativa obtenida de la división en triplicado de la muestra compuesta

Muestra de laboratorio. parte de la muestra final que se envía al laboratorio para el análisis, que puede utilizarse como un todo o sub-dividirse en porciones representativas

Muestra analítica. porción de producto que ha de analizarse a partir de la muestra de laboratorio.

Triglicéridos,triacilglicéridoso triacilgliceroles son un tipo de lípidos, formados por unamoléculadeglicerol, que tieneesterificadossustres gruposhidroxílicospor tresácidos grasos, ya seansaturadosoinsaturados. Los triglicéridos forman parte de lasgrasas, sobre todo de origen animal. Los aceites son triglicéridos en estado líquido de origen vegetal o que provienen del pescado.

Torta: subproducto agroindustrial de la extracción del aceite de una oleaginosa

Aterogenicidad:Elíndice de aterogenicidad(IA) de los ácidos grasos indica el potencial de obstrucción de las arterias y toma en cuenta los ácidos grasos láurico(12 carbonos), mirístico (14 carbonos) y palmítico (16 carbonos), en relación con los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. Mientras más bajo sea el IA, menor es el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares.

Triglicéridos: Los triglicéridos, triacilglicéridos o triacilgliceroles son acilgliceroles, un tipo de lípidos, formados por una molécula de glicerol, que tiene esterificados sus tres grupos hidroxilo por tres ácidos grasos, saturados o insaturados.

Radicales libres: son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón(e^-) desapareado en capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos.

Sápido: sustancia que tiene algún sabor.

INTRODUCCIÓN

En los últimos 50 años las tecnologías basadas en seres vivos, sus partes o procesos, han avanzado y se han multiplicado vertiginosamente. Aún cuando son los descubrimientos y avances asociados a la manipulación del ADN los de mayor impacto, la biología molecular,el cultivo de tejidos y la fitoquímica constituyen plataformas tecnológicas indispensables parala biotecnología y por ende para el conocimiento de la genómica, transcriptómica y proteómica.

Pese a que en nuestro país serequiere la implementación de muchas herramientasbiotecnológicas para el mejoramiento de cultivos, hay aún un hecho igual de importante y es que Colombia con su enorme biodiversidad, y en particular agrobiodiversidad, tiene pendiente el desarrollo de un conjunto de conocimientos básicos sobre su flora, variedades locales y nativas de nuestros cultivos tradicionales, lo cual no nos permite promover un uso óptimo y eficiente de los mismos; mucho menos pretender colocarlos en grandes mercados de la exportación que son exigentes en niveles de producción y productividad.

Por esta razón, conocer cultivos promisorios, crear paquetes tecnológicos para su implementación y decidir sobre las mejores formas de utilización de estos recursos,conlleva a que el país continúe invirtiendo en ciencia, tecnología e innovación mediante la implementación de herramientas biotecnológicas para su potencialización.

En nuestro país uno de los cultivos promisorios es el sacha inchi (*Plukenetia volubilis*), una oleaginosa silvestre que pertenece a la Familia Euforbiacea, (Dostert N., 2009) en los últimos años su cultivo ha tomado importancia económica e industrial en el mercado internacional, debido a la demanda de ácidos grasos esenciales (ácido linolénico, linoleico y oleico, conocidos como omega 3, 6 y 9 respectivamente) y vitamina E(tocoferoles y tocotrienoles), que la semilla de sacha inchi concentra en cantidades elevadas con respecto a otras oleaginosas.Investigaciones recientes realizadas con aceites omegas y vitamina E indican la importancia nutricional y terapéutica de su consumo para el control de radicales libres y una serie de enfermedades que estos originan en el cuerpo humano.(Palanca V., 2006; Coronado M., 2006).

Existen pocos datos en Colombia sobre su distribución geográfica, sin embargo el presente trabajo constituye un reporte de las características de la semilla nativa cultivada en el departamento del Putumayo, donde se pueden destacar áreas de cultivo de interés comercial con rendimientos de semilla de 3 ton/ha al año para la obtención y comercialización del aceite de sacha inchi. Este aceite, cabe decir,no cuenta con referentes bibliográficosacerca de las propiedades fisicoquímicas que sustenten su uso ydemuestren los beneficios de dicho

cultivo; así como tampoco se cuenta con información composicional sobre uno de los subproductos agroindustriales denominado torta (1.5 ton de torta por tonelada de aceite obtenido), que al ser llevado el proceso de extracción del aceite a grandes escalas de producción,permita el aprovechamiento integral de la semilla.

En este documento se evalúa el potencial nutricional del aceite y torta de sacha inchi a través de la composición fisicoquímica obtenida en esta investigación. El conocimiento de esta oleaginosa, cultivada en el departamento del Putumayo, contribuye al crecimiento en nuestra agroindustria y a un potencial desarrollo biotecnológico.

1. IDENTIFICACIÓN DEL FENOMENO DE ESTUDIO

1.1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis L.*), es una oleaginosa silvestre,actualmente su cultivo ha tomado importancia económica e industrial en el mercado internacional debido a la demanda de ácidos grasos esenciales y vitamina E, que la semilla de sacha inchi concentra en cantidades elevadas con respecto a otras oleaginosas, y que respaldan la importancia nutricional y terapéutica de su consumo. En Colombia, el cultivo de sacha inchi se realiza en los departamentos de Caquetá y Putumayo, donde en este último se destacan grandes áreas de cultivo de interés comercial para la obtención y comercialización del aceite de sacha inchi. Este aceite producido en Colombia, no cuenta con referentes bibliográficos acerca de las propiedades fisicoquímicas que sustenten su uso; así como tampoco se cuenta con información composicional de la semilla, que promueva su aprovechamiento integral.

Considerando lo anterior, es indispensable establecer un antecedente teórico en Colombia sobreel enorme potencial de la semilla de sacha inchi, mediante el estudio de la composiciónfisicoquímica, estabilidad a la oxidación y actividad biológica del aceite producido en nuestro país, así como también, sobre el análisis composicional y de digestibilidad de la torta; que permita generar nuevas alternativas económicas en nuestro país eimpulsar la producción de sustancias de interés comercial mediante laaplicación de herramientas biotecnológicas a esta oleaginosa.

1.2. JUSTIFICACIÓN

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

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

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

Por lo mencionado anteriormente y dada la diversidad edafoclimática que existe en el país y con ello la viabilidad de cultivar diversas especies, el cultivo de sacha inchi constituye una alternativa, con posibilidades de industrialización y potencial de rendimiento económico para reemplazar en alguna medida los cultivos ilícitos al suroccidente de nuestro país.

Considerando lo anterior, en la presente investigación, a través de la evaluación de la composición fisicoquímica del sacha inchi cultivado e industrializado en nuestro país, particularmente, en la región del Valle del Guamuez (Putumayo), se pretende constituir un antecedente bibliográfico en Colombia, que en conjunto con estudios realizados en este cultivo por otros autores de pie a la formulación de nuevas investigaciones relacionadas con la creación de un banco de germoplasma, que permita conocer los ecotipos existentes en Colombia, obtener materiales con alto contenido de fracción lipídica y establecer su perfil de ácidos grasos y aminoácidos. Así como también, implementar estudios biotecnológicos y de mejoramiento genético, asociados principalmente a aspectos de biología floral, resistencia a plagas y enfermedades, y estrés hídrico. Convirtiendo el cultivo de *Plukenetia volubilis* L., en un gran potencial para el sector agrario y de la industria nacional.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

Determinar la composición fisicoquímica de la torta y aceite de semillas de sacha inchi *(Plukenetia volubilitis, L.)* cultivado en Colombia

1.3.2. Objetivos Específicos

- Realizar el análisis proximal de la torta y aceite de semillas de sacha inchi
- Cuantificar mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) la composición en ácidos grasos y triglicéridos del aceite de semillas de sacha inchi
- Determinar la actividad antioxidante del aceite de semillas de sacha inchi
- Establecer el contenido de aminoácidos presente en la torta derivada de semillas de sacha inchi
- Estudiar la digestibilidad de la torta derivada de semillas de sacha inchi
- Determinar la estabilidad del aceite de sacha inchi ante la oxidación

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. SACHA INCHI(*Plukenetia volubilis linneo*)

Es una planta de la selva Amazónica conocida por los nativos desde hacemiles de años y fue descrita por Linneo en 1753. La especie *Plukenetia volubilis L.* es conocida de acuerdo al idioma o lugar conlos siguientes nombres: “sacha inchi”, “sacha maní”, “maní del inca”, “maní delmonte”, “inca peanuts. (Manco, Instituto Nacional De Investigación Y Extensión Agraria, Dirección De Investigación Agraria, Subdirección De Recursos Genéticos Y Biotecnología. Estación Experimental Agraria “El Porvenir” - Tarapoto , 2006; Valadeau, C;, 2010; Huamán, *et al.,* 2008).

El sacha inchi presenta crecimiento vegetativo y fructificación continúa durante todo el año. Su producción se inicia a los 6,5 meses del trasplante, obteniéndose en el primer año rendimientos promedios de 0,7 a 2,0 t/ha y alcanzando edades hasta de 10 años.

Figura 1: Semilla de sacha inchi (Dostert N., 2009)

2.1.1. Género:El género Plukenetia pertenece a la familia Euphorbiaceae (Euforbiáceas) la cual comprende plantas anuales, de importancia ornamental, medicinal, alimenticia e industrial, que se caracterizan principalmente por la presencia de una sustancia lechosa, tipo látex y frutos capsulares. El género está compuesto por 19 especies; tiene una distribución pantropical, 12 especies se encuentran en Sudamérica y Centroamérica y las otras siete solo en el Viejo Mundo. Las especies de Plukenetia son plantas trepadoras o lianas o raramente hierbas perennes, rastreras (Herrera, Hernández, & Montealegre, 2010).

El hábitat de estas especies son los bosques tropicales lluviosos y bosques o matorrales pluviestacionales. El género se caracteriza por ovarios con cuatro carpelos, estilo total o parcialmente connado y hábito frecuentemente trepador. Para la identificación en terreno, el mejor carácter es la presencia de glándulas conspicuas, basilaminares, redondeadas o elípticas en la cara adaxial de las hojas, y el fruto tetrámero (Herrera, Hernández, & Montealegre, 2010).

2.1.2. Morfología: Sacha inchies una planta trepadora, monoica, decidua. Las hojas son opuestas y simples; la lámina foliar es aovado-triangular, 6-13 cm de largo y 4-10cm de ancho, con base truncada o cordada; el margen es crenado o finamente aserrado; en la cara adaxial se presenta una protuberancia glandular en el ápice del pecíolo. La inflorescencia es racemosa, alargada, monoica (bisexual), y de 5-18 cm de largo; las flores pistiladas se encuentran solitarias en los nudos basales, la columna estilar es parcial o totalmente connada, 15-30 mm de largo, flores masculinas subglobosas, numerosas, agrupadas en los nudos distales; estambres 16-30, con filamentos conspicuos, cónicos, 0,5 mm de largo (Herrera, Hernández, & Montealegre, 2010).

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

2.1.3. Distribución geografía en Colombia: Se encuentra en el Departamento del Chocó, también se ha registrado en los departamentos del Putumayo, Caquetá y el Amazonas.(Herrera, Hernández, & Montealegre, 2010; Gomez J. , 2005)'

2.2. CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO

A continuación se presentan los principales factores y características para el cultivo de sacha inchi.

Tabla1. Características del cultivo de sacha inchi (Dostert N., 2009)

FACTOR	CARACTERÍSTICA
Temperatura	Crece y tiene buen comportamiento a diversas temperaturas (mín. 10℃ y máx. 36℃). Las temperaturas muy altas son desfavorables y ocasionan la caída de flores y frutos pequeños, principalmente los recién formados.
Altitud	Crece desde los 100 m.s.n.m. en la Selva Baja y 2 000 m.s.n.m. en la Selva Alta.
Luz	A bajas intensidades de luz, la planta necesita de mayor número de días para completar su ciclo vegetativo; cuando la sombra es muy intensa la floración disminuye y por lo tanto la producción es menor.
Agua	Es una planta que requiere de disponibilidad permanente de agua, para tener un crecimiento sostenido; siendo mejor si las lluvias se distribuyen en forma uniforme durante los 12 meses (850 a 1 000 mm). El riego es indispensable en los meses secos. Períodos relativamente prolongados de sequía o de baja temperatura, causan un crecimiento lento y dificultoso. El exceso de agua ocasiona daño a las plantas e incrementa los daños por enfermedades.
Drenaje	Necesita terrenos con drenaje adecuado, que eliminen el exceso de agua tanto a nivel superficial como profundo. Para un buen drenaje se debe considerar la textura del suelo, y ésta es importante para el desarrollo del cultivo.
Suelo	Tiene amplia adaptación a diferentes tipos de suelo; crece en suelos ácidos y con alta concentración de aluminio. Se deben elegir los suelos que posibiliten su mejor desarrollo y productividad. Se desarrolla en suelos arcillosos, franco arenosos, y tolera suelos ácidos.
Preparación del terreno	Tradicional (Rozo, tumba, picacheo, junta) Mecanizado (arado, rastra y surcado)

Sistema de Producción	Sistemas Agroforestales, de monocultivo o asociados
Siembra directa	Su propagación es por semillas. Cantidad de semilla: 1.0 - 1.5 kg/ ha.“La desinfección de la semilla se realiza con acefato (3-4 g/Kg de semilla) y tiofanate metil + tiram (3-5 g/Kg.de semilla)” Distancia entre hileras: 2.5 a 3.00 m.; Distancia entre plantas: 3.00 m.; Profundidad de siembra: 2 - 3 cm.
Siembra indirecta	Vivero: se almacigan las semillas en arena lavada de río, colocándolas en hileras distanciadas a 10 cm y a una profundidad de 2.0 cm. Se realiza el repique de plántulas a bolsas de polipropileno negro con sustrato previamente preparado con tierra negra de bosque, antes de la aparición del tercer par de hojas verdaderas. Trasplante: Aproximadamente a los 60 días del almacigado
Época de siembra	La siembra del "sacha inchi" está condicionada al régimen de lluvias. Generalmente, se siembra al inicio de las lluvias para garantizar una buena germinación.
Cosecha	Se realiza entre los 6.5 y 8.0 meses después del trasplante, cuando los frutos están secos, recogiéndose las cápsulas manualmente cada 15 – 30 días.
Rendimiento	0,7 – 2,0 ton/ha.
Control Fitosanitario	*Plagas:* Contra "gusanos cortadores“ y hormigas de la familia *Acromyrmex*, se aplica carbaryl (2 Kg/ha). Para “arañita roja”, realizar aplicaciones de aceite agrícola a razón de 180 mL/15L de agua; *Enfermedades:* Preventivo con la desinfección de semilla. Para el control de *Fusarium spp*., aplicar Rhizolex – T (2 Kg/ha); *Nematodos:* Contra nematodos (*Meloidogyne spp*.) aplicar carbofuran (10 g/planta) u Oncol 5G (50 g/planta).

2.3. UTILIDADES DEL SACHA INCHI

Esta planta ampliamente cultivada en el Perú fue un componente importante de la dieta de varios grupos de tribus nativas de la región amazónica. Hoy en día en el sur de Colombia está siendo cultivada y es considerada un cultivo promisorio.

La primera mención científica de su utilidad fue hecha en 1980 a consecuencia de los análisis del contenido graso y proteico realizados por la Universidad de Cornell en Estados Unidos, los que demostraron que las semillas del "sacha inchi" tienen alto contenido de proteínas (33%) y aceite (49%).

Dentro de sus componentes se encuentran principalmente: proteínas, aminoácidos, ácidos grasos esenciales (omegas (ω) 3, 6, y 9) y vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles) en contenidos significativamente elevados, respecto de semillas de otras oleaginosas (maní, palma, soya, maíz, colza y girasol). El aceite de sacha inchi es el más rico en ácidos grasos insaturados, llega hasta 93,6%. El promedio de los ácidos grasos poliinsaturados está compuesto de: 48,60% de ácido graso esencial alfa linolénico (ω – 3), 36,80% de ácido graso esencial linoléico (ω– 6) y 8,28% de ácido oleico (ω – 9). Además presenta bajo contenido de ácidos grasos saturados 6,39% en promedio, 3,85% de palmítico y 2,54% de esteárico(Dostert N., 2009; Vega, 2005).

Investigaciones recientes realizadas con aceites omegas y vitamina E indican la importancia nutricional y terapéutica de su consumo para el control de radicales libres y una serie de enfermedades que estos originan en el organismo humano(Vega, 2005).

Es importante resaltar que se han realizado estudios de farmacología experimental para evaluar si el aceite de sacha inchi disminuye los niveles de colesterol y triglicéridos, para lo cual se trabajó con 70 conejos (grupo experimental y placebo); se indujo hiperlipidemia y se administró sacha inchi por 90 días. Se observó que en el grupo control hubo un aumento de 174,39% con respecto al valor inicial, mientras que en el grupo sacha inchi solo se observó un aumento de 117,2%, que representa una diferencia de 34,3 mg/dl más de colesterol para el grupo control, encontrándose evidencia estadísticamente significativa en la disminución del colesterol en la sangre de conejos que recibieron Sacha inchi($p<0,05$), no hubo cambios significativos en los triglicéridos(Vega, 2005).

El Instituto de medicina tradicional, IMET, único instituto que investiga las plantas medicinales a nivel preclínico y clínico en el Perú, ha realizado estudios farmacológicos, en los cuales ha demostrado que el aceite de Sacha Inchi tiene efecto inmunoestimulante, gastroprotector, antioxidante e hipocolesterolémico en animales de experimentación. El aceite de sacha inchi que se usó para estos estudios contenía: 48,3% de ácido α-linolénico, 33,8% de ácido linoleico,

9,7% de ácido oleico y 2590 µg de acetato de α-tocoferol (aproximadamente 26mg/100g de aceite)(Dostert N., 2009).

Con respecto a estudios clínicosHuamán (Huaman, *et al.* 2008), realizaron un estudio experimental, cuyo objetivo fue determinar el efecto de la ingesta de la semilla tostada de sacha inchi sobre la triglicidemia posprandial en adultos jóvenes. A 12 estudiantes de medicina relacionados al azar se les aplicó la prueba de tolerancia a triglicéridos, en dos fases: la primera, después de la ingesta de 82 gramos de aceite de oliva y, en la segunda, adicionado 50 gramos de semilla de sacha inchi.

Los resultados fueron: La primera fase, los triglicéridos básales fueron 99,67 mg/dL, en promedio y luego se incrementaron en promedio 32 a la 1 ½ h, 74 a las 3 h, 89 a las 4 ½ h, y 54 a las 6h. En la segunda fase el promedio basal fue 100,92mg/dL incrementándose 15 a la 1 ½ h, 52 a las 3h, 40 a las 4 ½ h y 43 a las 6h, en promedio, siendo significativa la reducción a la 1 ½ h y a las 4 ½ . En conclusión el consumo de las semillas tostadas de sacha inchi, disminuye la trigliceridemia postprandial en adultos jóvenes(Huamán, *et al.* 2008).

Según el uso tradicional por indígenas de la amazonia peruana, consumennueces tostadas de Plukenetia volubilis para recuperar fuerzas y como reconstituyente para elconsumennueces tostadas de Plukenetia volubilis para recuperar fuerzas y como reconstituyente para el trabajo y con el aceite frotan sus cuerpos para curar sus dolores musculares y reumáticos trabajo y con el aceite frotan sus cuerpos para curar dolores musculares y reumáticos (Dostert N., 2009).

2.4. ACEITES VEGETALES

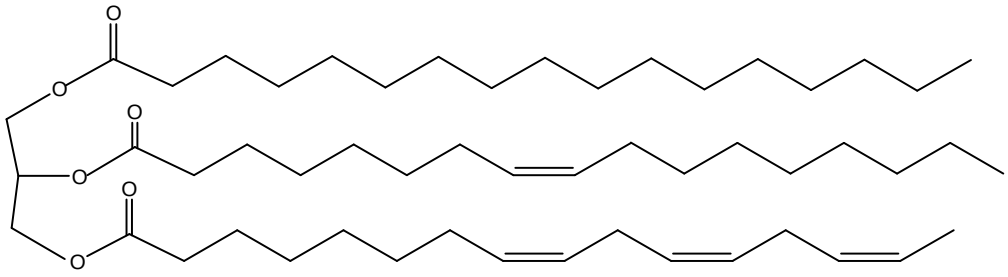
Los aceites vegetales se obtienen de cultivos arbóreos o de semillas de cultivosque se siembran todos los años.

En espermafitas, también conocidas como plantas con semilla, la semilla almacena junto con el material genético los nutrientes requeridos para establecer una próxima generación. Los componentes que usualmente almacena consisten en proteínas de reserva de lasemilla (SSPs), carbohidratos (principalmente almidón) y/o lípidos, usualmente constituidos por triacilgligeroles.La proporción relativa y localización en los tejidos de la semilla de estos componentes varía significativamente con la especie considerada (Calvo, 1998).

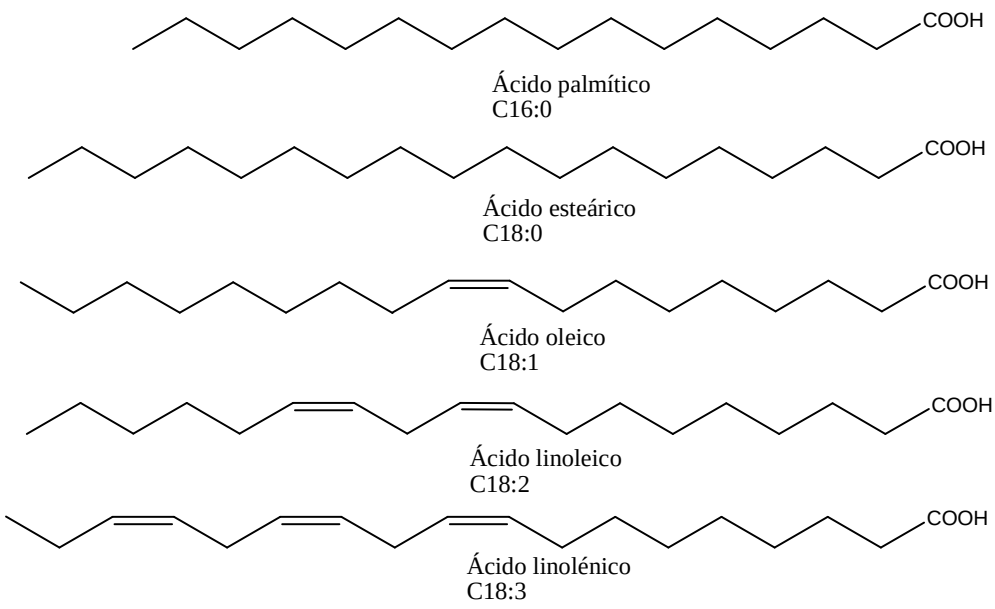
Los aceites vegetales están constituidos principalmente (95-99% en peso) por triacilgliceroles (triesteres), que son moléculas resultantes de la esterificación de la glicerina o glicerol (Trialcohol) con tres moléculas de acido graso: los triacilgliceroles pueden ser simples o mixtos, según sean iguales o distintos los

grupos sustituyentes unidos a la molécula de glicerina. Los aceites naturales suelen ser mezclas complejas de ambos tipos de triacilgriceroles.

La composición en ácidos grasos de los triacilgliceroles (TAGs) tiene un efecto directo en las propiedades físicas, químicas y biológicas de las grasas dietarias.Dichos ácidos grasos en un TAG por lo general son distintos entre sí, y pueden ser saturados, es decir todos sus enlaces C-C en la cadena son simples, o insaturados, con presencia de dobles enlaces,como se puede ver en la figura 2.Los ácidos grasos en los aceites vegetales son en gran proporción mono o poliinsaturados, una cualidad muy importante para la transformación de grasas en el organismo humano (Calvo, 1998).



a.



b.

Figura 2:a. Triglicérido: glicerol unido a tres ácidos grasos dos insaturados y un saturado. **b.** Ácidos grasos de importancia y predominantes en aceite vegetales (Calvo, 1998)

En latabla 2, se dan valores representativos del contenido en ácidos grasos de diferentes aceites.

Tabla 2: Composición de ácidos grasos de aceites vegetales (Calvo, 1998)

Aceite	**% Ácido Graso**				
	C 16:0	**C 18:0**	**C 18:1**	**C 18:2**	**C 18:3**
Oliva	7,5 - 20	0,5 - 5,0	55,0 - 83,0	3,5 - 21,0	0,0 - 1,5
Soya	0,1	10,0 – 10,5	23,5 – 25,5	52,0 – 54,0	7,0 – 7,5
Nuez de palma	15 -17	6 - 9	13 - 19	0,5 - 2	-
Coco	6 – 11	1 - 4	4 - 11	1-2	-
Canola	3,5 – 5,0	1,0 – 1,5	73 – 77	10 – 14	2 - 4
Maíz	10,4 – 11,0	1,9 - 2,2	25,4 - 30,0	54,9 - 59,4	1,1 - 1,7
Cacahuate	8 -12	1 - 4	37 - 66	15 - 41	<0,5
Algodón	17 - 31	1 - 3	13 – 21	34 - 60	< 1
Cacao	25,2	35,5	35,2	0,1	-
Girasol	5 - 6	3 - 5	20 - 26	62 – 68	0,1 – 0,5

Como se mencionóanteriormente el contenido de ácidos grasos varía significativamente con la especie, pero además esta influenciado por varios factores agroecológicos, por ello es de importancia conocer esta fracción lipídica en un cultivo bajo determinadas condicionesy así determinar las aplicaciones y beneficios que pueda generar al sector alimentario e industrial.

La importancia de los ácidos grasos para la fisiología de la nutrición, radica en el elevado valor energético de los triacilgliceroles (39 KJ/g aprox.) y la presencia de ácidos grasos esenciales y algunas vitaminas. Además de esto tienen ciertas propiedades indispensables para la preparación y obtención de alimentos, en las cuales se destacan: el comportamiento a la fusión, el sabor agradable, la capacidad disolvente para ciertas sustancias sápidasy numerosas sustancias aromáticas. Los ácidos grasos también son empleados en la industria cosmética, en la fabricación de jabones, como encapsulantes de aromas y en perfumería, debido a la amplia gama deestos encontrados en cada tipo de aceite vegetal (Ayala G., 2011).

La extracción de un aceite vegetal se puede realizar mecánica o químicamente, y generalmente se usa alguna combinación de ambas técnicas. En el método mecánico las semillas y frutos oleaginosos se someten a un proceso de

prensado. Los residuos de este prensado en ocasiones se aprovechan como alimento para el ganado, por ser un producto muy rico en proteínas. Finalmente se somete al aceite extraído a otro proceso de refinamiento. El método químico utiliza solventes orgánicos generalmente hidrocarburos, los cuales hacen que estos métodos sean más rápidos y económicos, además de dar mejor rendimiento. El solvente generalmente utilizado es el hexano. (Belitz & Grosch, 1993).

2.5. TÉCNICAS DE ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DE ACIDOS GRASOS EN ACEITES Y OTROS PARÁMETROS DE CALIDAD

Es de importancia conocer la composición de las grasas y aceites vegetales, incluso los de origen animal, con el fin de predecir su estabilidad, características y ventajas para consumo y utilidades que se le puedan dar como materia prima (A.O.A.C., 2000).

La primera etapa del análisis o estudio de las grasas y aceites consiste en el secado de la materia prima, si esta se encuentra húmeda, se seca hasta un grado de humedad del 5 al 10%, luego se libra de impurezas extrañas, se tritura y se pasa a una segunda etapa que consiste en la extracción de la fracción lípidica, a nivel de laboratorio para análisis (por solventes) o a nivel industrial (prensado) (A.O.A.C., 2000).

Los parámetros a tener en cuenta en el estudio de un aceite se determinan por métodos referenciados en la A.O.A.C (A.O.A.C., 2000). En la Tabla 3 se muestran los parámetros fisicoquímicos de algunos aceites vegetales.

Tabla 3: Parámetros fisicoquímicos de algunos aceites vegetales(CODEX, 1999)

Parámetro	**Oliva**	**Girasol**	**Maíz**	**Soya**
Densidad relativa	0.9148	0.918	0.917	0.919
Índice de Refracción (a 40º C)	1.4672	1.461	1.465	1.466
Acidez (% acido oleico)	1	0.05	0.1	0.05
Yodo (g I_2 / 100 g)	87	104-120	107-135	124-139
Peróxidos (meq I/g)	1.5	2	2	2
Saponificación (mg KOH/g)	182-190	188-194	187-195	189-195

2.6. CROMATOGRAFÍA DE GASES

El análisis por cromatografía de gases permite determinar cuantitativa y cualitativamente los componentes de una mezcla orgánica compleja y sistemas bioquímicos. Para el análisis cualitativo se suele emplear el tiempo de retención, que es único para cada compuesto dadas unas determinadas condiciones (mismo gas portador, rampa de temperatura y flujo), o el volumen de retención. En aplicaciones cuantitativas, integrando las áreas de cada compuesto o midiendo su altura, con los calibrados adecuados, se obtiene la concentración o cantidad presente de cada analito (Skoog & James, 2001).

La cromatografía de gases es elegida como técnica para el análisis de aceites y grasas debido a que esta no presenta el inconveniente de manejar presiones y flujos durante la elusión de los ácidos grasos en otros tipos de cromatografía liquida como la CLAE (Cromatografía liquida de alta eficacia), puesto que los elevados pesos moleculares hacen que la elusión de cada analito no sea completa, hecho que en la cromatografía de gases se elimina, pues su elución depende de la volatilidad al manejar elevadas temperaturas (Skoog & James, 2001).

Los ácidos grasos son compuestos térmicamente lábiles, pero con una previa derivatización mejora su estabilidad, su volatilidad y en algunos casos la sensibilidad en la detección, asegurando así, una elusión completa de cada analito durante el análisis, el cual se realiza a la fracción saponificable del aceite que representa hasta el 98% de su composición, la cual está constituida por triglicéridos con ácidos grasos entre 16 y 24 carbonos en su cadena, donde en aceites vegetales generalmente el mayoritario es el ácido oleico. También presentan ácidos grasos saturados, todos ellos en posición *cis*, los cuales cambian debido a ciertos procesos por efecto externo (Aparicio & Harwood, 2003).

Por cromatografía de gases se han analizado diversos aceites y grasas de uso común, su composición y otras fracciones de interés, de lo cual cabe destacar que el principio es el mismo variando las condiciones de análisis como la fase estacionaria (columna capilar), flujo y pre-tratamientos de muestra dependiendo del análisis a realizar (Ötles, 2005).

En resumen, el análisis de ácidos grasos de cualquier alimento, grasa o aceite requiere de las siguientes etapas (FAO/WHO Food standards, 2009):

a. Obtención de la materia grasa por método de extracción en frio con mezcla de solventes

b. Derivatización de los ácidos grasos

c. Análisis por cromatografía Gas-liquido

Por otra parte, grupos de triglicéridos que contienen el mismo número de carbonos son separados directamente por cromatografia gas-liquido del aceite o grasa, usando condiciones de columna y temperatura adecuadas. Con base en la medida de las áreas de los picos, el contenido de triglicéridos se expresa como un porcentaje en relación con los triglicéridos totales de la muestra (FAO/WHO Food standards, 2009).

2.7. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Las grasas y aceites comestiblessufren cambios en su mayor parte oxidativos, durante el procesamiento o almacenamiento, estos cambios implican degradación de estructuras esenciales para la alimentación y conducen al desarrollo de olores y sabores anormales. Incluso cuando el proceso se encuentra en fases muy avanzadas, pueden aparecer compuestos capaces de ejercer alguna actividad toxica sobre el organismo. En consecuencia la oxidación de los lípidos puede ser responsable de graves deterioros en su valor nutritivo, en la estabilidad de su calidad sensorial, en su aceptabilidad y en su seguridad(Halliwell B, 2000; Huang D, 2005; Ilhami G, 2010).

Los principales sustratos de las reacciones de oxidación son losácidos grasos insaturados, que en estado libre se oxidan a mayor velocidad que cuando toman parte de las estructuras de los triacilgliceridos. Considerando lo anterior la determinación de la actividad antioxidante constituye un parámetro de calidad para determinar la estabilidad del aceite de sacha inchi(Ilhami G, 2010).

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 ensayos pueden adaptarse para medir antioxidantes lipofílicos como el ABTS; por ese motivo es aconsejable emplear varios métodos, ya que cada uno ofrece información diferente. Hay compuestos antioxidantes que no reaccionan con determinadas especies oxidantes y sí con otras (Kuskoski E, 2005; Vasquez A., 2007).

2.8. APROVECHAMIENTO DE SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES

Los subproductos de origen agrícola (cultivos agrícolas y forestales) han prestado una creciente atención como fuente de recursos ganaderos u otras aplicaciones que aporten beneficios suplementarios al agricultor. Considerando lo anterior una de las ventajas del uso de los subproductos agrícolas son las bajas inversiones y no obstante el contenido nutricional de los mismos, haciéndolos susceptibles en la mayoría de los casos de ser empleados como piensos o en menor proporciónpara consumo humano(Fernández *et al.*2008).

El primer paso en el aprovechamiento de los subproductos agrícolas es determinar la composición fisicoquímica en carbohidratos, fibra y contenido proteico, factores antinutricionales, así como también es clave determinar la digestibilidad *in vitro,* antes de ser incorporados en dietas animales o para consumo humano a diferentes edades (Hernandez*et al.* 2004).

Los estudios de digestibilidad demandan tiempo por lo cual se han hecho numerosos intentos para reproducir en el laboratorio las reacciones que tienen lugar en el tracto digestivo del animal, por este motivo, se realiza la digestibilidad de las proteínas mediante las técnicas multienzimáticas, mediante ataque *in vitro*con pepsina y ácido clorhídrico(Hernandez *et al.* 2004).

.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

A continuación se presentan las etapas llevadas a cabo para el desarrollo de la presente investigación y dicho proceso se resume en la figura 3.

3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

El material de estudio, semillas y aceite de sacha inchi(*Plukenetia volubilis L.)*fue suministrado por INDUSTRIAS ECHZ una empresa dedicada a investigar, desarrollar y comercializar nuevos productos alimenticios de alto contenido nutricional, de esencia natural,en la región tropical amazónica de La Hormiga (Valle del Guamuez), en el Departamento del Putumayo. El material se recolectó mediante un muestreo aleatorio en cultivos pertenecientes a la región y el aceite fue obtenido por prensado mecánico a una temperatura menor a 50℃, con el fin de no alterar su composici ón química.

3.1.1. TOMA DE MUESTRAS

Las semillas de Sacha inchi constituyen la materia prima utilizada para la extracción del aceite. En cuanto a su recolección se consideraron los siguientes aspectos:

- Obtención de semillas.

En Colombia aún no se han identificado los ecotipos existentes de sacha inchi, sin embargo en el sitio de muestreo seleccionado, por su alta producción, se cultiva una variedad nativa propagada en sus áreas para la producción de semillas destinadas a la extracción de aceite.

La recolección de semillas se realizó mediante un muestreo aleatorio en la propiedad de Industrias ECHZ, ubicada en La Hormiga (Valle del Guamuez), en el Departamento del Putumayo (Colombia) en el mes de agosto de 2010, donde las semillas fueron cosechadas y seleccionadas.

- Recolección de muestras*.*

Considerando que el objeto de estudio del presente trabajo esdeterminar la composición fisicoquímica del aceite y la torta de semillas de sacha inchi cultivada en Colombia, se seleccionó particularmentela Hormiga (Putumayo)por ser una región productora del aceite, el muestreo se realizó en la propiedad de Industrias ECHZde forma aleatoria simple, en 10 áreas de cultivo de 1 hectárea cada una, tomandopara cada área una muestra elemental de 10 Kg de semilla. Finalmente las muestras recolectadas y seleccionadas, constituyeron la muestra global de 100 Kg de semilla de sacha inchi.

Debido a que la muestra global era demasiado grande para ser empleada como muestra de laboratorio, la muestra final se preparó a partir de ella, por un método de reducción adecuado. Dividiendo la muestra en cuatro partes siguiendo los diagonales, eliminando dos cuartos opuestos, mezclando el resto y volviendo a dividir en cuatro y prosiguiendo las operaciones hasta obtener la cantidad requerida de semilla tanto para la extracción del aceite a analizar, como para las muestras analíticas de cada ensayo propuesto.

- Almacenamiento de semillas.

Las semillas seleccionadas, se lavaron, secaron y almacenaron a 4º C hasta el momento del análisis. El descascarado de la semilla se realizó mecánicamente y posteriormente se determino el peso de la cascara y de la almendra.

3.1.2. Extracción de aceite de sacha inchi

De la muestra de laboratorio fueron procesados 20 Kg de semilla descascarada para la obtención del aceite, mediante prensado mecánico de la almendra a una temperatura menor a 50℃.

3.1.3. Obtención de la torta

La almendra desengrasada después del proceso de prensado, y homogenizado constituyó el subproducto agroindustrial denominado torta.

En el diagrama de flujo a continuación se resume la metodología para el análisis de la semilla de sacha inchi empleada en la presente investigación:

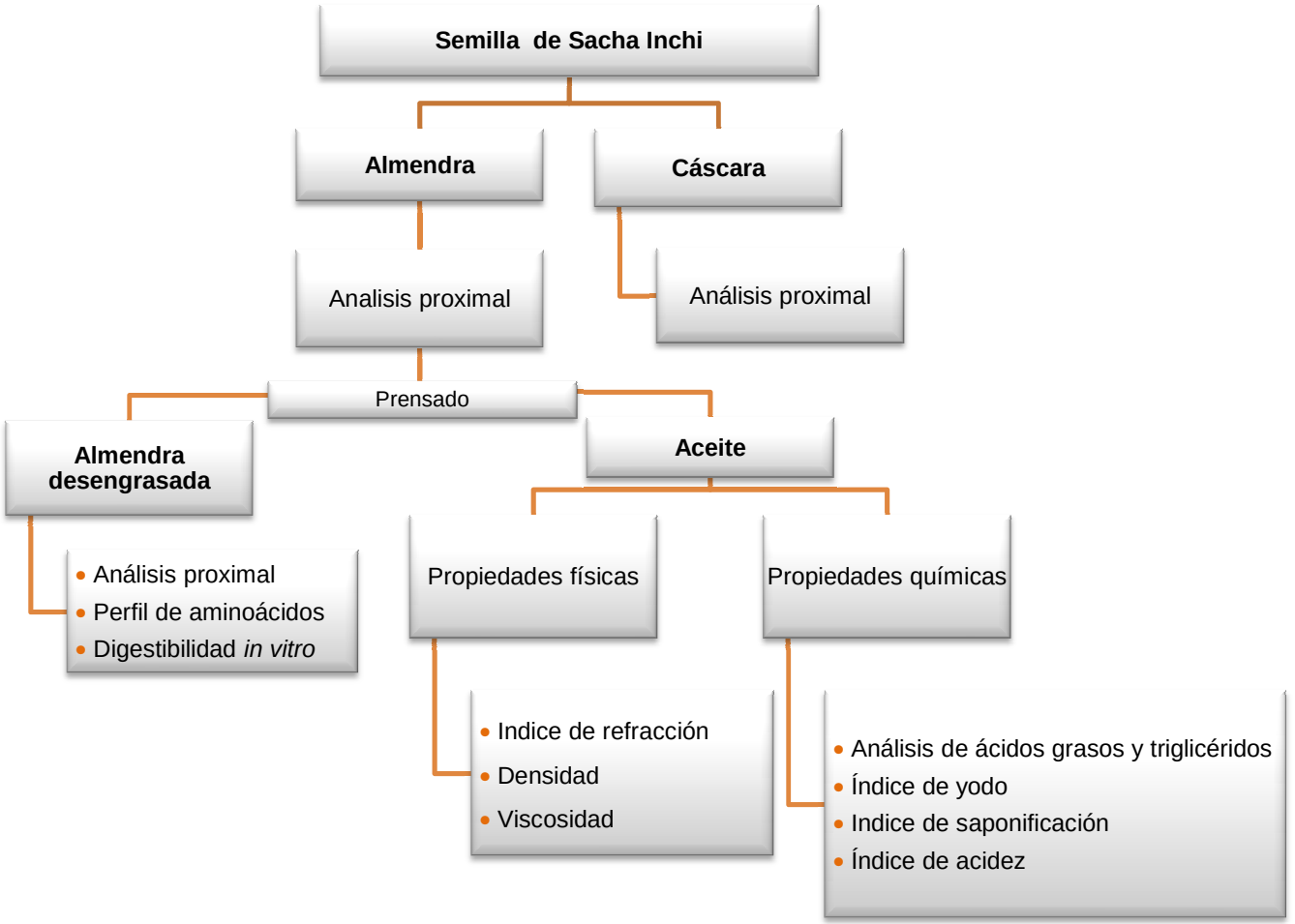


Figura 3. Metodología para el análisis de la semilla de sacha inchi

3.2. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE LA SEMILLA

3.2.1. Características físicas de las semillas de sacha inchi

Se determinaron los principales parámetros físicos de los diferentes componentes de las semillas en estudio, tanto de su capsula como su almendra, esta ultima de interés en el presente trabajo.

*Selección y separación de las capsulas***:** Se recogieron según su estado de madurez y estado fitosanitario, rechazando aquellas que presentaron daños mecánicos y frutos inmaduros.Ya seleccionadas por unidad de muestreo se llevaron a una desencapsuladora para la obtención de la semilla

*Cápsula:*Por observación directa se determinó en el cultivo la presencia de capsulas tri- tetra- o pentámeras.

Semillas: Por observación directa se evaluaron algunas de sus características como: forma, tamaño, color, textura.

3.2.2. Análisis composicional de la semilla de sacha inchi

El análisis composicional de la semillase determinómediante la división de la semilla en almendra y cascara,y la metodología empleada se resume en la tabla 4.

Tabla 4. Métodos para el análisis composicional de la semilla de sacha inchi.

DETERMINACIÓN	MÉTODO	DESCRIPCION
Humedad	A.O.A.C. 950.43*	Deshidratación: Desecación a 100-105ºC en estufa a presión constante hasta peso constante por 3 horas
Ceniza	A.O.A.C. 920.53*	Calcinación a 550ºC, por 4 horas
Extracto etéreo	A.O.A.C. 991.36*	Extracción Soxhlet, por 4 horas
Proteína bruta	A.O.A.C. 968.06*	Kjeldahl: Digestión acida y destilación de nitrógeno
Fibra bruta	A.O.A.C. 985.29*	Weende: Digestión acido-base y calcinación
Extracto no nitrogenado	-	Por diferencia

3.3. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DEL ACEITE DE SACHA INCHI

3.3.1. Análisis proximal del aceite de sacha inchi

Los índices fisicoquímicos del aceite extraído se llevaron a cabo mediantela determinación de la densidad, índice de refracción, viscosidad, índice de yodo, índice de acidez, índice de saponificación e índice de peróxidos. La metodología empleada para cada análisis correspondió a protocolos oficiales y se describe a continuación.

Tabla 5. Métodos de determinación de los índices fisicoquímicos para el aceite de sacha inchi.

DETERMINACIÓN	MÉTODO	DESCRIPCIÓN
Densidad	A.O.A.C. 920.212*	Relación de peso entre el aceite y agua a 20º C
Índice de refracción	A.O.A.C. 921.08*	Medición de la línea de refracción en un prisma a 20º C
Viscosidad	Stokes	Determinación por medición de tiempo y velocidad de flujo
Índice de yodo	A.O.A.C. 920.159*	Cantidad de yodo absorbido con relación a la cantidad de instauraciones
Índice de acidez	A.O.A.C. 940.28*	Cantidad de KOH que reacciona con ácidos grasos libres
Índice saponificación	A.O.A.C. 920.160*	Cantidad de KOH para dar aproximación del peso molecular de los ácidos grasos.
Índice de peróxidos	A.O.A.C. 965.33*	Cantidad de yodo absorbido en relación al oxígeno activo de un aceite

3.3.2. Cuantificación cromatográfica de ácidos grasos en el aceite de sacha inchi

El método empleado para el análisis y cuantificación de ácidos grasos fue la cromatografía de gases, previa derivatización a ésteres volátiles, de acuerdo con el método estandarizado por la empresa ACEGRASAS S.A. Para ello se pesaron 20 mg de aceite y se añadieron 3 mL de solución cloroformo:metanol (1:1). Se agitó la mezcla durante 1.5 h, se centrifugó a 4000×g durante 15 min. El

sobrenadante se diluyó con 1 mL de cloroformo y 2 mL de agua destilada, se mezcló y centrifugó durante 5 minutos a 4000×g. La fase clorofórmica se mezcló con 0.5 mL de acetona deshidratada y se evaporó a 39℃. Después, las muestras se secaron en atmósfera de nitrógeno, se añadieron 3 mL de HCl/Metanol al 5%, se sellaron los viales y se colocaron en un baño de agua a 85℃ durante 150 min. Posteriormente, las muestras se colocaron en un congelador (-20 ℃) durante 15 min.

Los ácidos grasos se obtuvieron separando la fase polar con una doble extracción, empleando 1 mL de hexano, y posterior secado con nitrógeno gaseoso. El residuo de ésta extracción (ésteres metílicos de ácidos grasos-FAMEs) se disolvió en cloroformo para su posterior análisis en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard HP-5890A, equipado con un inyector on-column y un detector de ionización de llama (FID). Los FAMEs se separaron sobre una columna capilar polietilenglicol (60 m × 0.32 di × 0.25 µm espesor de película; Supelcowax-10, Supelco, Bellefonte, PA) bajo las siguientes condiciones de operación:

Tabla 6. Condiciones cromatográficas para la determinación de ácidos grasos en el aceite de sacha inchi

PARÁMETRO	CONDICIÓN
Temperatura del inyector	270℃
Temperatura inicial del horno	180 ºC.
Gradiente de temperatura	5℃/min
Temperatura final del horno	250℃
Temperatura del detector	310℃
Gas de arrastre	Nitrógeno
Caudal	0.8 mL/min

Los ácidos grasosfueron identificados por comparación de sus tiempos de retención con los de estándares.

3.3.3. Cuantificación de triglicéridos en el aceite de sacha inchi

La determinación y cuantificación de triglicéridos se realizó en la empresa ACEGRASAS S.A. de acuerdo con el método oficial de la AOCS Ce 5-86, el cual

consistió en separar un grupo de triglicéridos con el mismo número de átomos de carbono bajo condiciones de temperatura programada por cromatografía de gases.

3.3.4. Actividad antioxidante del aceite de sacha inchi

Método de decoloración del β-caroteno

Para esta prueba se modificó el método espectrofotométrico de Siramon y Ohtani (2007), que se basa en la capacidad de diversos extractos de disminuir la decoloración oxidativa del β-caroteno en una emulsión ácida de β-caroteno/ácido linoleico. Se disolvió una muestra de 2,0 mg de β-caroteno cristalino en 10 mL de cloroformo, se pasó 1 mL de esta solución a un vaso de precipitados, se retiró el cloroformo por rota-evaporación, se adicionaron 20 mg de ácido linoleico y 200 mg de Tween 40 y 50 mL de agua destilada y se agitó fuertemente. A continuación se colocaron 5 mL de la mezcla a una serie de tubos que contenían 100 µL del aceite (20 mg de aceite en 1 mL de una mezcla metanol/agua, 60:40 v/v). Se determinó la absorbancia (470 nm) para el tiempo 0 y posteriormente se registró cada 15 min incubando la muestra en un baño de agua a 50 ℃ dur ante un periodo de 120 min. Se empleó un tubo con 100 µL de butilhidroxitolueno (BHT 100ppm) control positivo y otro con 100 µL de agua como blanco. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado. La actividad antioxidante seevaluó en términos del blanqueamiento del β-caroteno, usando la siguiente expresión:

$$AA\% = 100 - \frac{A_{0s} - A_{120s}}{A_{0c} - A_{120c}} \times 100 \qquad \textbf{(Ecuación 1)}$$

donde:

A_{0s} y A_{0c}: son la absorbancia de los tubos muestras y controles al tiempo cero.

A_{120s} y A_{120c}: son las absorbancias medidas en las muestras y en blanco respectivamente al final de la incubación (Siramon & Ohtani, 2007).

Actividad de barrido de radicales libres DPPH

La metodología descrita previamente por Blois(Blois, 1958), fue empleada con algunas modificaciones a razón determinar la capacidad de barrido de radicales libres DPPH en el aceite de sacha inchi. Para lo cual 0.1 mM de solución de DPPH fue preparada en etanol y 0.5 ml de esta solución seadicionó a 1.5 mL de solución de aceite de sacha inchi a diferentes concentraciones (15–45 µg/mL). Esas

soluciones fueron agitadas vigorosamente eincubadas en la oscuridad. Media hora después se midió la absorbancia a 517 nm empleando una solución blanco.

La baja absorbancia de la mezcla de la reacción demuestra una mayor actividad de barrido de radicales libres.

Para la determinación de la actividad de barrido de radicales DPPH, se preparó una curva patrón empleando diferentes concentraciones de DPPH. La capacidad de barrido fue expresada como milimoles de DPPH en el medio de reacción y se calculó de la curva de calibración mediante regresión lineal el IC_{50}, el cual denota la cantidad en microgramos necesaria de aceite de sacha inchi o de antioxidante en 1.5 mL de solución, para reducir la concentración inicial de radicales DPPH hasta un 50%.

Actividad de barrido de radicales libres ABTS

La actividad del barrido de radicales libres, se midió modificando los métodos reportados por Rout y Banerjee (2007), se empleó la sal diamónica del ácido 2,2'–azinobis–(3–etilbenzotiazolín–6–sulfónico) (ABTS, Aldrich Chemie, Munich, Germany), el radical catión ($ABTS^{\cdot+}$) fue producido al reaccionar ABTS desde una solución inicial con persulfato de potasio hasta una concentración final de 7mM y 2.45mM, respectivamente en 10mL de agua, la mezcla se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente durante 24 horas antes de su uso. Se diluyó la solución de $ABTS^{\cdot+}$ con una solución 5mM de amortiguador fosfato salino (PBS) de pH 7.4, hasta una absorbancia de 0.70 (± 0.02) a 734 nm en una cubeta de 1 cm a 30 º C. Posteriormente se adicionaron 2mL de la solución diluida $ABTS^{\cdot+}$ a 20µL de aceite de sacha inchi o de 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox, Aldrich Chemie) con concentraciones finales de Trolox que van de 0 a 8 $\mu g\ mL^{-1}$ en PBS, la absorbancia se registró cada minuto durante 10 min a 30 ºC. Se efectuó una prueba blanco para cada ensayo. Se calculó y dibujó el porcentaje de inhibición de la absorbancia a 734nm en función de la concentración de antioxidantes, se usó Trolox como referencia. Para calcular la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (CEAT), se dividió el gradiente de la gráfica el porcentaje de inhibición de la absorbancia Vs. concentración de la muestra por el gradiente de la gráfica para Trolox. Lo que permitió calcular el CEAT en un momento específico. (Huang D, 2005)

3.3.5. Estabilidad del aceite de sacha inchi

Esta prueba se realiza mediante la metodología Rancimat en la cual se determina el tiempo de vida de aceites, grasas yproductos sólidos con contenido de aceite; en el caso del aceitede sacha inchi la muestra se llevadirectamente al Rancimat, el cual tiene un sistema automático, que mediante una célula de conductividad examina continuamente los productos volátiles de descomposición y emite durante la prueba un reporte impreso del tiempo de vida de las muestras de

aceiteanalizado, con estos resultados se realizan los cálculos correspondientes para obtener el tiempo de vida de los aceites

Las muestras del aceite de sacha inchi aanalizar, se extrajeron por dos métodos: *Soxhlet* y extracción por prensado. El proceso consistió en ingresar los parámetros de marcha del Rancimat (temperatura: 120 ℃ y cauda l deaire de 20 L/h), luego se colocó2,5 g de la muestra de aceite en el canal del Rancimat, y se realizaron todas las conexiones respectivas, finalmente se puso en marcha hasta que terminó automáticamente el ensayo.

3.4. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE LA TORTA

3.4.1. ANÁLISIS PROXIMAL DE LA TORTA

A continuación se indica la metodología empleada para el análisis proximal de la almendra desengrasada, denominada torta:

Tabla 7. Métodos para el análisis composicional de la torta de sacha inchi

DETERMINACIÓN	MÉTODO	DESCRIPCIÓN
Humedad	A.O.A.C. 950.43*	Deshidratación: Desecación a 100-105ºC en estufa a presión constante hasta peso constante por 3 horas
Ceniza	A.O.A.C. 920.53*	Calcinación a 550ºC, por 4 horas
Extracto etéreo	A.O.A.C. 991.36*	Extracción Soxhlet, por 4 horas
Proteína bruta	A.O.A.C. 968,06*	Kjeldahl: Digestión acida y destilación de nitrógeno
Fibra bruta	A.O.A.C. 985.29*	Weende: Digestión acido-base y calcinación
Extracto no nitrogenado	-	Por diferencia

3.4.2. Análisis cromatográfico de aminoácidos presentes en la torta

Los aminoácidos se determinaron con un sistema de análisis Pico-Tag Waters, equipado con una columna de fase reversa Pico-Tag Waters HPLC para análisis de aminoácidos hidrolizados. Para esto se añade metionilsulfona a la muestra como patrón interno antes de la homogenización y la posterior hidrólisis con vapor de HCl 6 N en un vial sellado al vacío, a 112 ℃ durante 24 h en la estación de trabajo PICO-TAG, se efectuó secado al vacío, se mezcló con 15 µL de metanol/agua/trimetilamina (2:2:1 en volumen), y se secó. Se derivatizó con 20 µL de solución metanol/trietilamina/agua/fenilsiotiocianato (PITC) (7:1:1:1 en volumen) y se diluyó con 200 µL de solución diluyente de muestra PICO-TAG. Después de la filtración a través de un filtro jeringa, los aminoácidos se separaron y analizaron por cromatografía líquida.

3.4.3. Digestibilidad *in vitro* de la torta

La digestibilidad *in vitro* de las proteína hidrolizada se determinó modificando el método descrito por Yagoub *et al.*(Yagoub, 2004), 300 mg de muestra se colocaron en 30 mL de solución HCl 0.1 N, con 3 mg de pepsina. El conjunto anterior se incubóa 37 ℃ durante 3 horas, se ajust óel pH de la mezcla entre 7.5 - 8.0, empleando NaOH 0.2 N. Se adicionóuna solución de buffer fosfato (7.5 mL, pH 7.4) conteniendo 4 mg de pancreatina, 1 mM $CaCl_2$ y 0.01% NaN_3.Para asegurar la digestión, se incuba a 37 ℃ durante 24 horas.

La proteína que permaneció sin digerir se precipitó con ácido tricloroacético al 30 % y se separó por filtración al vacío sobre papel filtro cuantitativo, se secó por evaporación a presión reducida y se evaluó por el método Dumas (Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Dirección de Alimentación y Nutrición Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe., 2010). Se realizó un blanco a las mismas condiciones, sin adicionar muestra. Finalmente se calculóla digestibilidad a través de la ecuación:

$$\textbf{Digestibilidad (\%)} = \frac{\text{Proteína total en la muestra}}{\text{Proteína no digerida(m-b)}} \times 100 \qquad (\textbf{Ecuación 2})$$

4. DISCUSIÓN

A continuación se lleva a cabo la interpretación y el análisis de los datos registrados durante el desarrollo experimental.

4.1. MATERIA PRIMA

La obtención de la materia prima consistió en dos etapas, la primera fue la obtención de la semilla y la segunda la extracción del aceite con su correspondiente subproducto agroindustrial, la torta de sacha inchi.

4.1.1. TOMA DE MUESTRAS

Para el presente estudio se conto con material vegetal suministrado por empresas ECHZ, para su cosechase consideróque las semillas debían ser recolectadas a partir del mayor número posible de plantas individuales para que la muestra en estudio sea representativa.

Considerando que el mínimo de individuos aceptable para conservar algo de la variabilidad en la población de una localidad es de 30 unidades o más, siempre y cuando dichos individuos sean producto de reproducción sexual y no clonal, se muestrearon aproximadamente 100 individuos por unidad de muestreo. Aunque un número mayor de individuos y áreas de recolección más amplias permiten una mejor representación de tal variabilidad se considera que el presente estudio busca analizar la calidad del aceite y la torta de sacha inchi obtenido a partir de la semilla cultivada en Colombia, en especial en la región de La Hormiga (Putumayo), por lo tanto el material escogido se considera apropiado para dicho fin.

Para la recolección en campo de las semillas analizadas se considero su calidad en relación al nivel apropiado de maduración, tomándose este como el estadio de la capsula en la cual se presenta coloración marrón y dureza en su cubierta, antes de ese momento la semilla pueden estar aún inmadura fisiológica o estructuralmente. Además, por observación directa se seleccionaron semillas sin ataque por parte de microorganismos o daño mecánico. Así como también se evitó la recolección de semillas del suelo y de semillas vanas.

Una vez colectadas las semillas se conservaron con el fin de evitar o reducir su exposición a condiciones que afecten su composición.

4.1.2. Extracción de aceite de semillas de sacha inchi

La extracción del aceite de sacha inchi se llevo a cabo mediante prensadoa los 50℃, con el fin de no alterar la composición fisic oquímica del aceite.

4.1.3. Obtención de la torta

Una vez realizadoel prensado de la semilla, se obtuvo un porcentaje de torta del 62.1% y de aceite del 37.9%. Estos resultados muestran una altaobtención de subproducto, lo que conduce a la necesidad de determinar su composición, y asi proponer alternativas de aprovechamiento, que eviten la acumulación de residuos sólidos.

Por otro lado, se realizóel desengrasado de la semillamediante extracción de la fracción lipídicacon éter de petróleo,y se encontró que el material desengrasado correspondió al 66%. Sin embargo y para fines industriales, es necesario el análisis de la torta obtenida mediante prensado mecánico, ya que son las condiciones reales de la obtención del subproducto oleaginoso y sumado a esto parte del valor nutricional de la torta lo puede constituir el remanente de lípidos.

4.2. ANÁLISIS FISICOQUIMICO DE LA SEMILLA

Para el análisis fisicoquímico de la semilla se consideró la determinación de características físicas y su análisis composicional.

4.2.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA SEMILLA

La caracterización física de la semilla de sacha inchi se realizó teniendo en cuenta aspectos como: forma de la capsula (tri-,tetra- o pentamera), forma de la semilla, tamaño, color y textura. En la tabla 8 se presenta la información obtenida.

Tabla 8. Características físicas de la semilla de sacha inchi

Característica	Almendra	Semilla
Forma	Lenticular	Lenticular
Color	Beige	Marrón
Espesor (mm)	7,89 ± 0,34	8,91 ± 0,32
Diámetro menor (mm)	12,9 ± 0,42	17,0 ± 0,70
Diámetro mayor (mm)	15,8 ± 0,47	20,2 ± 0,69
Peso (g)	0.819 ± 0.0340	1.23 ± 0.0545
Capsulas	Tetra y pentámeras	

Figura 4: Forma y tamaño de las semillas de sacha inchi

4.2.2. Análisis composicional de la semilla

Los análisis fisicoquímicos, para determinar la composición en macronutrientes de la semilla de sacha inchi, fueron llevados a cabo haciendo por separado el análisis de la cascara y la almendra (Figura 5). Como primer resultado,la semilla mostró estar constituida por cascara en un 33.7% y por almendraen un 66.3%.

En la Tabla 9 se presentan los resultados del análisis composicional de la cascara de sacha inchi.

Figura 5. Almendra y cascara de la semilla de sacha inchi

Tabla 9. Análisis composicional de la cascara

Componente	Porcentaje (%)
Cenizas	1.75 ± 0.084
Grasa	0.39 ± 0.018
Proteína	2.75 ± 0.028
Fibra Bruta	77.80 ± 0.630
Extracto No Nitrogenado	17.30

En la Tabla 10 se muestra el análisis composicional de la almendra de sacha inchi y se compara con otras semillas oleaginosas.

El contenido de humedad de la almendra de sacha inchi (4.96%) se encuentra dentro del rango entre el 0-13% lo cual indica que permite almacenarse bajo condiciones adecuadas, evitando daños por parte de microorganismos a los triglicéridos u otras sustancias de alto valor nutricional, así como también impidereacciones en medio acuoso que conduzcan al deterioro de la misma alterando su composición hasta el momento del análisis o procesamiento.

El contenido de cenizas encontrado en las semillas cosechadas en el Putumayopresentan un valor cercano al encontrado en otros estudios para sacha inchi (Hamaker B., 1992; Gutiérrez L. F., 2011). La utilidad de esta fracciónse encuentra asociada ala determinacióndel contenido en minerales presentes enla

cascara. Mediante el análisis espectroscópico de estaporción, se determinó la concentración de algunos metales (Anexo 1),encontrándoseen esta valoración realizada espectrofotometricamente un alto contenido en calcio y magnesio, elementos que potencian elaprovechamiento integral de las semillas de Sacha inchi.

El contenido de grasa (42,75±0,05) muestra estar dentro de los valores reportados en estudios de sacha inchi (Hamaker B., 1992; Guillen MD, 2003; Krikankova B, 2007), en los cuales se ha determinado un contenido de aceite en la semilla entre el 35 y 60%. El resultado encontrado en el presente estudio, aunque es un valor relativamente bajo muestra un contenido similar al determinado en las plantaciones de sacha inchi del Caquetá(Gutiérrez L. F., 2011), sin embargo y como no se han realizado en Colombia estudios acerca de las variedades más productivas, el presente resultado es un dato que genera indicios sobre la buena calidad de semilla plantada en Colombia y es un valor que permite generar nuevas investigaciones que apunten a la búsqueda y selección de ecotipos colombianos con altos rendimientos de esta fracción.

El contenido deproteína muestra estar cercano alos valoresreportados en la literatura(Hamaker B., 1992), y además de un valor ligeramente superior al contenido de esta fracción encontrada en la semilla de sacha inchi del Caquetá(Gutiérrez L. F., 2011),

Para la almendra de sacha inchi recolectada en el Putumayo (presente estudio), se determino un contenido de fibra bruta de 2.91% y de extracto no nitrogenado del 16.5%

Según los datos presentados en la Tabla 10, se puede observar que la fracción lipídica obtenida en el presente estudio,en relación a valores reportados en elPerú (Hamaker B., 1992)para Sacha inchi,son ligeramente bajos,sin embargo al comparar con otras oleaginosas como maní y girasol susvaloresson próximos;también se puede observar queel contenido de proteína de la semilla de Sacha inchi presenta un valor similar a la soya. Sin embargo, es importante discutir el valor nutricional desde el punto de vista del perfil de aminoácidos y digestibilidadde la proteína de Sacha inchicomoseharámásadelante.

Tabla 10. Análisis composicional de la almendra de Sacha inchi expresada en porcentaje

Componente	Presente estudio	Gutiérrez *et al.,*2011	Hamakere *t al.,*1992	Soya*	Maní*	Girasol*
Humedad	4,96 ± 0,022	3.3	-	-	-	-
Cenizas	3,06 ± 0,011	4.0	-	-	-	-
Grasa	42,75 ± 0,049	42.0	33-60	19	45	48
Proteína	29,85 ± 0,085	24.7	27-30	28	23	24
Fibra Bruta	2,91 ± 0,039	-	-	-	-	-
Extracto No Nitrogenado	16,5 ± 0,000	-	-	-	-	-

*(Hamaker *et al.*1992)

4.3. ANÁLISIS FISICOQUMICO DEL ACEITE

Losanálisis de laboratorio planteados para el aceite de Sacha inchi se llevaron a cabo mediante las siguientes etapas

4.3.1. Caracterización fisicoquímica

El aceite de sacha inchi obtenido presentó un color amarillo pálido debido a pigmentos propios de la semilla; un suave aroma a Sacha inchiy un aspecto líquido por encima de 4ºC lo cual indica la presencia de ácidos grasos poliinsaturados.

El aceite se caracterizó con respecto a constantes fisicoquímicas de importancia para la industria de aceites, los resultados se presentan en la Tabla 11 y se compara con otros reportes de sacha inchi en Colombia(Gutiérrez L. F., 2011), y Perú (Pascual G, 2000; Bondioli P, 2006), así como también con el aceite de maní, girasol y oliva, por su altademanda para consumo humano.

Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos del aceite de sacha inchi

Parámetro	Presente estudio	Gutiérrez *et al.,* 2011	Pascual *et al.* 2000	Oliva*	Maní*	Girasol*
Densidad (g/cc) a 25℃	0.919± 0.020	0.918±0.02	0.929	0.918	0.915	0.919
Índice de refracción a 25℃	1.4791	1.4791	1.4801	1.4672	1.4690	1.4610
Viscosidad a 20℃ mPaxs	35.5 ± 0.3	35.4 ± 0.4	-			
Índice de yodo (g de I_2/100g aceite)	198.1 ± 0.7	193.1± 1.0	189	87	98	104
Índice de saponificación (mg KOH/g aceite)	190.3 ± 0.5	185.2±0.5	229.6	180.4-190.4	182.6-191.2	188-194
Índice de acidez (mg KOH/g aceite)	0.241± 0.005	-	-	-	-	-
Índice de peróxidos	2	-	-	-	-	-
Punto de humo (℃)	215 ± 2	-	-	-	-	-
Beta-caroteno IU/100 g	255	-	-	-	-	-
Vitamina E mg / 100 g	84	-	-	-	-	-

*(CODEX, 1999)

Al observar los datos se encuentra que, debido a que la densidad y la viscosidad son propiedades físicasde los aceites que en razón delas grandes semejanzas entre sus moléculas de triglicéridos,en la mayoría de ellos no se presentan diferencias notables.

El índice de refracción para el aceite en estudio, presenta un valor acorde al rango para muestras de aceites vegetales comerciales. El índice de refracción aumenta con el peso molecular y tiene una relación que crece de modo aproximadamente lineal con el grado de insaturación de las grasas naturales.Considerando lo anterior el resultado obtenido muestra un índice de refracción ligeramente alto, en comparación a otros aceites como el aceite de oliva, maní y girasol(Tabla 11), lo cual podría indicar que se trata de un aceite altamente insaturado y que existe gran cantidad de cadenas de ácidos grasos largos. Sin embargo, esto se puede corroborar con los resultados encontrados en el perfil de ácidos grasos (Tabla 12), donde se demuestra que en su composición,el aceite tiene una alta cantidad de ácido linolénico (C18:3).

El índice de yodo indica el grado de insaturación de los aceites y grasas. Se puede decir también que se expresa como el número de gramos de yodo absorbidos por 100 gramos de grasa o aceite.El índice de iodo encontrado en el aceite de sachainchi crudo (198.1 g de iodo/100g de grasa),se acerca al valordel índice de aceites marinos, como el de lasardina (189-193 g de I/g grasa) (Mehlembacher, V.C.; Hopper, T.H.; E.M., Salle; Link, W.E.; R.O., Walker; R.C., Walker; D., Firestone D., 1994). Este índice se explicapor la alta insaturación del aceite de sachainchi, pues como se explicará posteriormente,presenta un alto contenido de ácidos grasospoliinsaturados.Debido a su alto índice deiodo, este aceite tiene propiedades secantes.

El valor de saponificación se mide como el peso en miligramos del hidróxido de potasio requerido para hidrolizar (saponificar) un gramo de grasa. El índice de saponificación del aceite de sacha inchi en el presente estudio (190.3 mg KOH/g.grasa), es similar al reportado recientemente en el Caquetá (185.2±0.5mg KOH/g). Los datos registrados también muestran similitud de este índice con respecto a otras semillas oleaginosas. Sin embargo se aprecia que el valor de este índice en comparación con lo reportado en el Perú, para el aceite de Sacha inchi es menor.

Como se observa en la Tabla 11 el aceite en estudio, presenta índices de acidez superiores al aceite de oliva,maní y girasol indicando nuevamente, una fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados.El índice de acidez para el aceite de sacha inchi fue de 0.241±0.005 mg KOH/g aceite, indicando una aceptable característica de calidad, según el CODEX19-1981,para grasas y aceites comestibles no regulados por nomas individuales (FAO/WHO Food standards, 2009), el cual permite valores para el índice de acidez de hasta de 4.0 mg KOH/g aceite.

El índice de peróxido para el aceite en estudio fue de 2 meq O_2/Kg de aceite; mostrando serapto para consumo humano, ya que el límite máximo permisible es de 15 meq O_2/Kg de aceite. Este valor también indica que el aceite no ha presentado durante los procesos de almacenamiento y extracción deterioros en su composición de ácidos grasos insaturados,al no superar el valor máximo de 20 meq/Kg. Indicando que el aceite no es altamente propenso a generar rancidez oxidativa a cortos tiempos de almacenamiento.

El punto de humo es la temperatura hasta la cual se puede calentar un aceite antes de que se forme “humo” y pierda sus propiedades. La descomposición también implica decoloración, el aceite se torna de color oscuro, también su textura se vuelve más viscosa y emite mal olor. Esto se debe a la formación de sustancias llamadas acroleínas, siendo potencialmente cancerígenas. (Stier, 1997) El punto de humo determinado para el aceite de sacha inchi fue de 215 $\pm$ 2 ºC.

El aceite de sacha inchi en estudio presenta un contenido de β-caroteno de 255 IU/100g y de vitamina E 84 mg/100 g

El análisis fisicoquímico del aceite de sacha inchien estudio,en comparación con los resultados encontrados en el Caquetá(Gutiérrez L. F., 2011),demuestransimilitud entre sus parámetros,y se observan algunas diferencias significativas con respecto alo reportado en el Perú.Sin embargo,es de esperarse debido a las condiciones edafoclimáticas y varietales de los materiales en estudio.

4.3.2. Cuantificación cromatográfica de ácidos grasos

La composición en ácidos grasos del aceite de sacha inchi se resume en la Tabla 12. La muestra analizada presenta en su composición un alto contenido de insaturaciones (Ver Tabla 13, Figura 6), constituidoen un 9.39% por ácidos grasos monoinsaturados y un 83.3% por ácidos grasos poliinsaturados, lo cual explica el alto índice de yodo presentado en los parámetros fisicoquímicos del aceite. También se encontró un bajo contenido de ácidos grasos saturados correspondiente al 7.3%.

Tabla 12.. Perfil de ácidos grasos del aceite de sacha inchi *

Ácido Graso		Presente estudio	Gutiérrez *et al.*,2011	Hamaker *et al.*, 1992	Pascual *et al,* 2010[4]	Follegati *et al*.2009	GRASA VEGETAL[1]			GRASA ANIMAL[2]	
							Soya	Mani	Palma	Mantequilla	Grasa cerdo
C16:0	Palmítico	4,20	4.4	4.5	5.61	4.24	9.4	9.3	8.7	25	25
C17:0	Margárico	0,091	NR	0.0			-	-	-	-	-
C18:0	Esteárico	2,89	2.3	3.2	2.23	2.50	-	-	-	10	50
C18:1	Oleico (**ω9**)	8,45	9.1	9.6	9.60	8.41	21.6	44.7	18.1	25	50
C18:2 n6	Linoléico (**ω6**)	35,3	33.4	36.8	36.99	34.08	55.2	35.8	2.9	5	6
C20:0	Araquídico	0,080	NR	NR	NR	NR	-	-	-	-	-
C20:1	Eicosenóico	0,23	NR	NR	NR	NR	-	-	-	-	-
C18:3 n3	Linolénico (**ω3**)	47,7	50.8	45.2	43.75	50.41	9.4	-	-	-	-
C20:1	Gadoléico	0.23	NR	0.0	NR	0.16					

* Composición en porcentaje.[1](Romo S., 2006)[2](Pariona N., 2008)

Tabla 13. Resumen y comparación de la composición en porcentaje (%) de ácidos grasos del aceite de sacha inchi

Ácidos grasos	Putumayo
Saturados	7.3
Monoinsaturados	9.4
Poliinsaturados	83.3

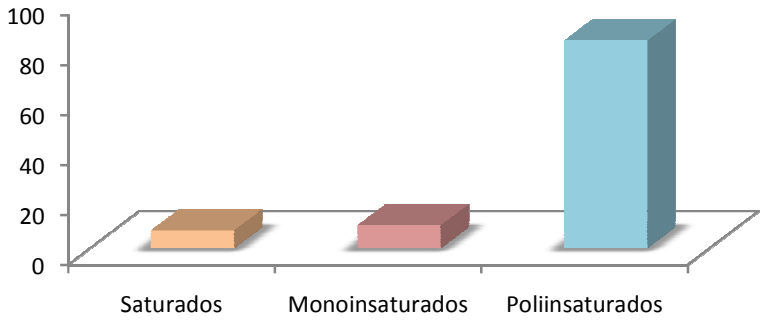


Figura 6. Composición en porcentaje de ácidos grasos en el aceite de sacha inchi

El perfil de ácidos grasos del aceite de Sacha ínchi en el presente estudio(Putumayo), en conjunto con lo reportado para plantaciones del Caqueta (Gutierrez*et al.*, 2011), los resultados obtenidos por Hamaker *et al*(1992)., Pascual *et al*.(2000), y Follegati(Follegatti-Romero LA, 2009), muestran como ácidos grasos mayoritarios el acido palmítico, esteárico, oléico, linoléico y linolénico, donde se destaca que por su alto contenido en ácido linolénico el aceite de sacha inchi se clasifica como perteneciente al grupo de los ácidos linolénicos, donde se encuentran los aceites de soya, germen de trigo, linaza y cáñamo.

El acido palmítico es el acido graso saturado más abundante de la dieta, y es el menos saludable debido a que es considerado aterogénico, es decir, aumenta los niveles de colesterol en la sangre. La Figura 7, presenta la comparación del contenido en acido oléico del aceite de sacha inchi en el presente estudio; con estudios sobre su contenido en Perú (Hammaker *et al*1992; Pascual *et al.,* 2000) y Brasil (Follegati *et al.,* 2000), además del contenido de acido palmítico en el aceite de otras oleaginosos de uso común. Los datos muestran que el aceite de sacha ínchi es más saludable con respecto a este contenido, que el

proveniente de otras oleaginosas como soya, maní y palma. Además los resultados en el presente estudio junto con lo reportado por Follegati *et al.*(2000),presentan los menores contenidos de este acido graso en el aceite de sacha inchi.

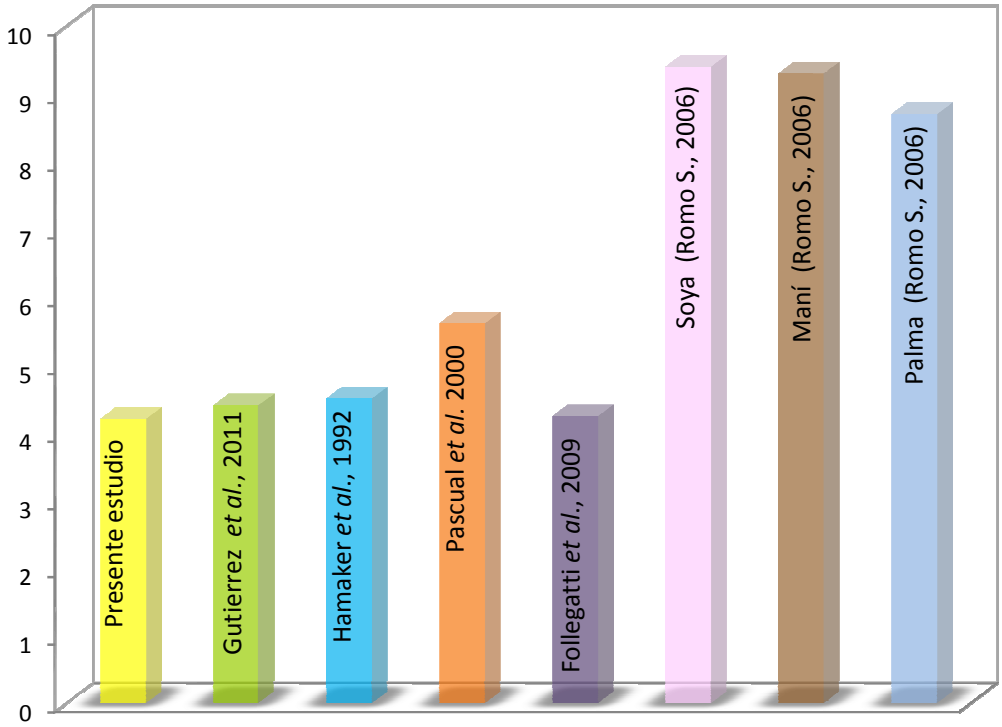


Figura 7. Contenido de acido palmítico en sacha inchi y otras oleaginosas

El contenido de acido esteárico para la muestra en estudio muestra similitud con los resultados encontrados en los reportes ya mencionados (Figura 8),evidenciando un valor ligeramente superior en el estudio reportado por Pascual *et al.* (Pascual G, 2000).

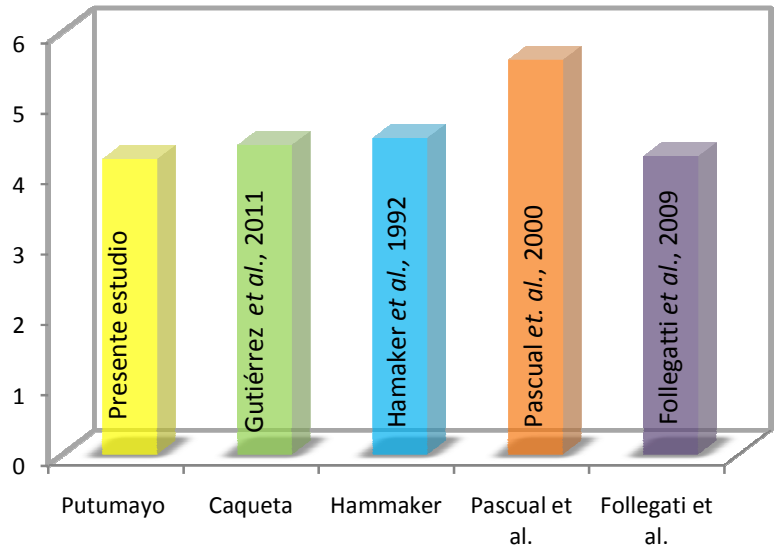


Figura 8. Contenido de acido esteárico en aceite de sacha inchi

Con respecto al contenido de acido oléico, según la Figura 9,se puede observar que no existen diferencias significativas entre los resultados encontrados para sacha inchi, sin embargo es importante resaltar que su contenido no es tan alto como en otras oleaginosas, pese a esto, el aceite de sacha es una buena fuente de este acido graso esencial.

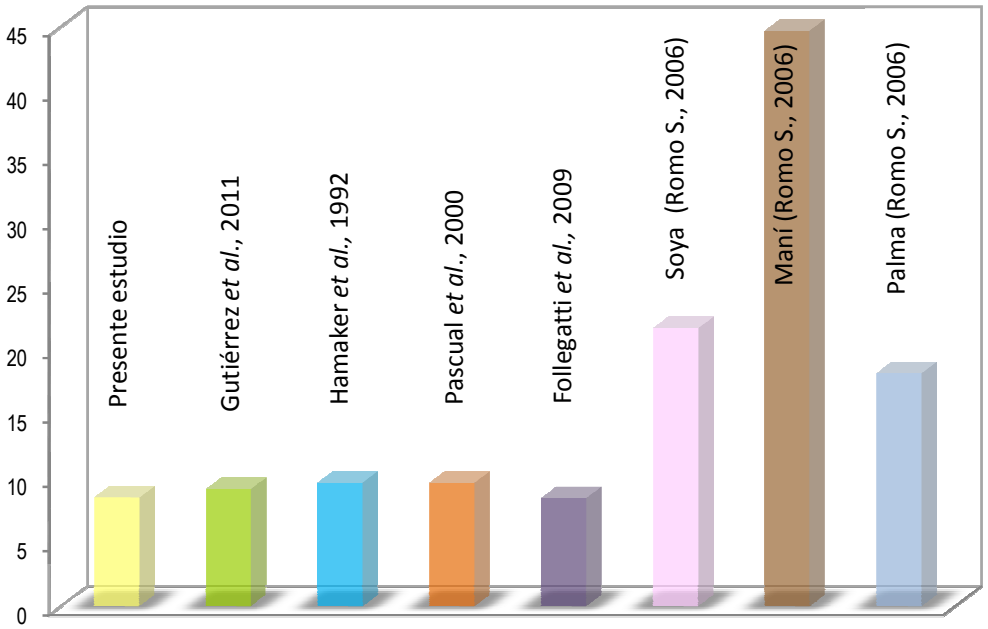


Figura 9. Contenido de acido oleico en sacha inchi y otras oleaginosas

De igual manera el contenido de ácido linoléico encontrado en el presente estudio,se compara con otros reportes a través dela Figura 10.Los resultados muestran que el contenido de este ácido graso esencial en el presente estudio, es ligeramente superior a los reportados por Gutierrez (2011)y Follegati (2009); sin embargo en comparación a otras oleaginosas presenta valores similares al maní, superiores a la palma e inferiores a la soya.

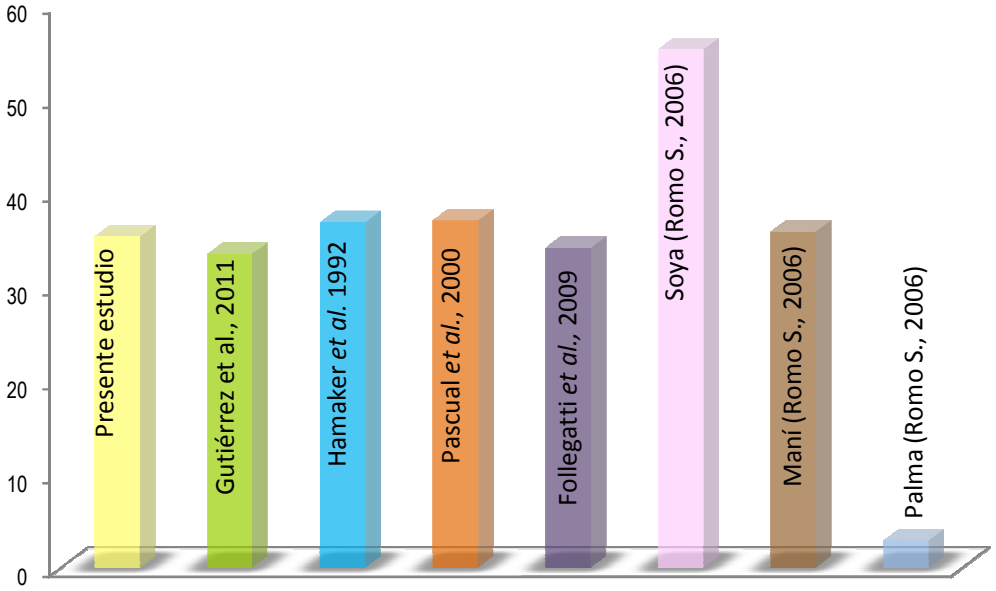


Figura 10. Contenido de acido linoléico en sacha inchi y otras oleaginosas

Es importante resaltar que en las investigaciones sobre el perfil lipídico de sacha inchi realizadas hasta el momento solo se reporta el contenido de ácido linoléico, sin considerar sus isómeros; en el presente estudio, la determinación se llevo a cabo mediante un método oficial de la AOAC (Association of oficial agricultural chemistry, 2000) que permite separar isómeros *cis* y *trans* previamente derivatizados a esteres metílicos. Los datos cromatográficos mostraron que del contenido de acido linoléico (C18:2), el 35.3% corresponde al isómero cuyos dobles enlaces tienen isomería *cis,* mientras que el 0,061% corresponde al isómero donde sus dobles enlaces tienen isomería *cis* y *trans*.

Es importante considerar que aunque el consumo de ácidos grasos *trans* ha sido fuertemente cuestionado por los comités de expertos en nutrición, ya que la evidencia científica indica que estos isómeros son dañinos para la salud por sus efectos a nivel de los lípidos sanguíneos (Bouziane M, 1994), por su acción inhibitoria sobre la actividad de enzimas hepáticas (Morgado N, 1998), por la modificación que producen en las membranas celulares, entre otras que se traducen, entre otros efectos, en un mayor potencial aterogénico (Mensik RP, 1992). La recomendación es evitar el consumo de ácidos grasos *trans*, y la

legislación sanitaria de muchos países obliga a declarar el contenido total de ácidos grasos *trans* de productos como las margarinas y las mantecas. Sin embargo, a la luz del conocimiento actual, la generalización del concepto dañino de los ácidos grasos *trans* es examinada, ya que algunos de estos isómeros como es el caso del ácido linoléico conjugado con isomería *trans*, tiene efectos benéficos en la nutrición y salud humana (Sanhueza J, 2002).

El contenido de ácido linolénico para el aceite de sacha inchi en el presente estudio se presenta en la Figura 11, en conjunto con valores de este ácido graso esencial presente en soya.

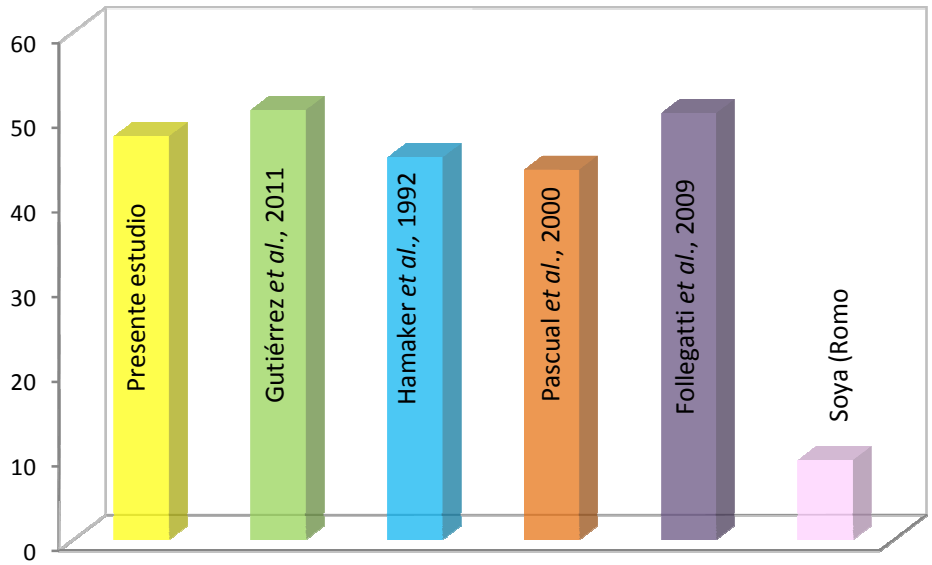


Figura 11. Contenido de ácido linolénico en sacha inchi y soya

El resultadoobtenido para el contenido de ácido linolénico muestra estar dentro del rango de valores reportados para sacha inchi; todos ellos con un contenido en este acido graso esencial significativamente superior a la soya.Sin embargo, al considerar estevalor como un alto contenido de ácido linolénico, al llevarlo a la industrialización,se hace máspropenso a la oxidación, siendo necesario el proceso de refinación, con una hidrogenación selectiva a nivel de ácido linolénico, llevándolo a ácido linoléico con la posterior adición de antioxidantes naturales.

Las diferencias composicionalesen relación a los ácidos grasos esenciales, para los estudios presentados en la Tabla 12en el aceite de sacha inchi, están relacionadas con las diferencias varietales, condiciones agroclimáticas y de fertilidad del suelo de cada uno de los diferentes materiales de estudio empleados en cada investigación.

Dentro de los ácidos grasos minoritarios para el aceite de sacha inchi en el presente estudio, se cuantificó la presencia de ácido palmitoleico (C16:1) 0.046%, ácido araquídico (C20:0) 0.080%, ácido gadoléico (C20:1) 0.23%:

Teniendo en cuenta el perfil de ácidos grasos, las características fisicoquímicas del aceite y la viabilidad en la obtención de la materia prima para la obtención del aceite, es posible proponer para su estudio algunas aplicaciones a nivel industrial, alimentario u otros fines.

4.3.3. Perfil de triglicéridos

Los aceites comestibles están compuestos principalmente de triacilgliceroles (TAG´s) y el análisis de estos es un paso crítico para entender las propiedades físicas y químicas de un aceite vegetal, además de permitir confirmar la autenticidad del mismo, puesto que los ácidos grasos están distribuidos en las moléculas de glicerol de acuerdo a ciertos patrones de posición específica.

Por tal motivo, se considera importante la determinación del perfil de TAG´s en el aceite de sacha inchi. En la Tabla 14 se muestra la distribución de triglicéridos en éste, observándose que contiene 12 especies, de las cuales 4 no fueron identificadas porque no se contó con los estándares necesarios para su identificación. De acuerdo con el perfil de ácidos grasos se puede decir que entre los ácidos grasos que forman parte de los TAG´s no distinguidos, está el ácido α-linolénico, principal constituyente del aceite de sacha inchi según los resultados obtenidos en el perfil de ácidos grasos, ya que no se encuentra en ninguno de los TAG´s determinados. Al mismo tiempo, los TAG´s no identificados son los componentes mayoritarios del aceite (ver figura 23). Sin embargo, no es posible conocer de manera certera la posición de dicho ácido (sn-1, sn-2, o sn-3), ni su proporción respecto a los demás ácidos grasos, en los TAG´s noreconocidos. Los resultados obtenidos reflejan la estrecha relación entre el contenido de ácidos grasos y triglicéridos del aceite, y por ende, con las propiedades físicas y químicas del mismo (Nergiz y Dönmez, 2004). Es importante resaltar que en todos los estudios realizados con la semilla de sacha inchi, tanto en Perú como en Colombia, no se había efectuado el análisis de la composición de triglicéridos del aceite extraído a partir de ésta.

Las variaciones entre los resultados obtenidos para la semilla de sacha inchi cultivada en el departamento del Putumayo y los reportados por otros autores, se atribuyen, principalmente, a las diferentes subespecies, en algunos casos a la metodología empleada, al proceso de extracción de aceite de la semilla, a la diferencia del lugar y tiempo de recolección de la semilla, pues la mayoría de estudios se han llevado a cabo con semillas provenientes del Perú, en Colombia, Castaño (2010), Gómez (2005) y Gutiérrez (2011) han efectuado análisis con semillas procedentes de los Departamentos del Caquetá y Tolima (Aranda, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2011).

Tabla 14. Perfil de triacilgliceroles del aceite de sacha inchi

TAG	Tiempo de Retención (min)	g/100 g de aceite
PPP	5,302	2,27
POP	6,940	7,29
PLP	7.310	4,80
POO	9,070	2,85
PLO	9,584	2,02
PLL	10,108	6,08
SSS	10,782	8,97
SOO	11,384	5,29
NI	13,050	10,63
NI	13,685	14,56
NI	14,499	21,13
NI	15,289	14,11

NI: triacilgliceridos no identificados; durante el análisis químico se detectó la presencia de triacilgliceridos de los cuales no se contó con los estándares acordes a los tiempos de retención presentados y no pudieron ser identificados.

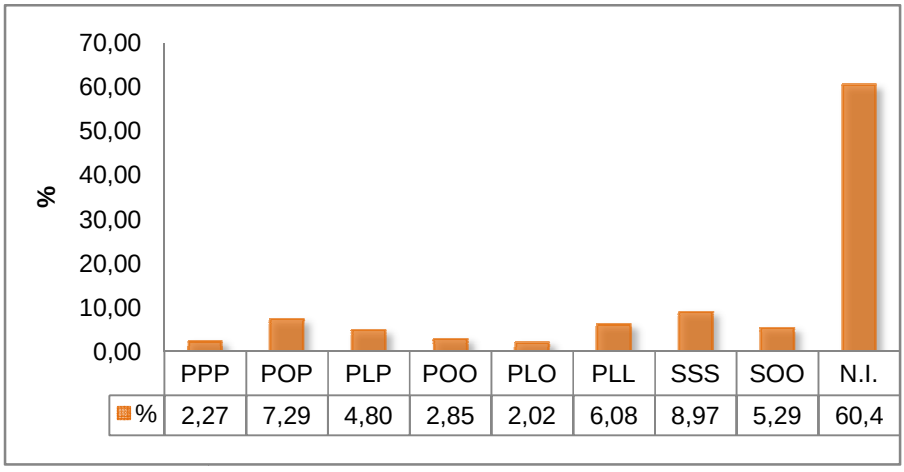


Figura 12. Composición de TAG´s en el aceite de sacha inchi (N.I.: No identificado)

4.3.4. Actividad antioxidante

En los seres vivos aerobios se generan continuamenteradicales libres y especies reactivas de oxigeno tales como anión superóxido, radicalhidroxilo y oxigeno singlete, derivados de procesosfisiológicos normales, como la fosforilación oxidativay como resultado de la exposición diaria a laradiación ionizante, la contaminaciónatmosférica,el humo del cigarrillo, entre otros (Halliwell B, 2000).Los radicales libres son especies muy reactivasque pueden dañar biomoléculas como carbohidratos,proteínas, lípidos, y ADN y, por consiguiente, afectar la membrana plasmática y organelas como la mitocondria y el núcleo celular (Choksi RB, 2004). La célula se protege de los radicales libres mediante la acción desistemas enzimáticos antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la lactoferrina, la catalasa yla glutatión peroxidasa, y de sistemas no enzimáticos donde se incluyen antioxidantes como las vitaminasE y C, flavonoides y carotenoides provenientes de ladieta. (Yilmaz S, 2003; Szeto Y, 2002)Sin embargo, cuando los radicales libresproducidos en el organismo sobrepasan la capacidadde la célula para protegerse o repararse por si misma, conducen al estrés oxidativo, el cual esta asociado aenfermedades degenerativas o crónicas como elcáncer, la arterioesclerosis, la artritis reumatoidea, elmal de Parkinson, diabetes mellitus, envejecimientoy la infertilidad masculina. (Mark R, 1999; Dinçer Y, 2003)

La acción oxidativa causada por los radicaleslibres puede ser neutralizada mediante el uso deantioxidantes naturales o sintetizados químicamente.En la literatura se encuentra ampliamente referenciada la necesidad de utilizar más de un método cuando se evalúa la capacidad antioxidante de diferentes productos de origen vegetal, debido a que los antioxidantes pueden actuar por mecanismos diferentes, dependiendo del sistema de reacción o la fuente radicalaria(Ilhami G, 2010).

Considerando lo anterior, la actividadantioxidante en el aceite de sacha inchi se determina por el método de decoloración del β-caroteno y el método de barrido de radicales libres.Ambosmétodos abarcan componentes antioxidantes que son capaces de reaccionarcon cada reactivo diferente en cada método; por lo tanto no necesariamente van a coincidirlos métodos aplicados.

La actividad de barrido de radicales libres para el aceite de sacha inchi se determinó y comparó con los resultados encontrados para BHA (hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado), α-tocopherol empleando DPPH (α,α-difenil-β-picril-hidrazilo) y ABTS (ácido 2,2'azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico).

A continuación se presentan los resultados en ladeterminación de la actividad antioxidante.

Método de decoloración del β-caroteno

Este método fue escogido para determinar la actividad antioxidante debido a que la prueba se realiza en emulsión, un estado frecuente en alimentos. Por

reacción del β-caroteno en presencia de ácido linoléico como sustrato oxidable, en una solución acuosa de tween 40 como agente emulsificante para producir la decoloración del β-caroteno al disminuir su conjugación cuando reacciona con los radicales libres formados en el proceso de oxidación del ácido linoléico.

Los resultados del ensayo de decoloración del β-caroteno se presentan a continuación, y permiten deducir que para el aceite de sacha inchi a pesar de presentar una actividad antioxidante menor que el BHT, posee una capacidad antioxidante significativa.

Tabla 15. Actividad antioxidante en el ensayo de β-caroteno/ácido linoléico

SUSTANCIA	β-CAROTENO/ INHIBICIÓN ÁC. LINOLEICO
Aceite de Sacha	74.6± 0.7
BHT	90.3 ± 1.1

Actividad de barrido de radicales libres DPPH

En este ensayo se evalúa la capacidad de un posible antioxidante para reducir el radical DPPH. Un radical estable que presenta una coloración violeta intensa y que absorbe radiación a 517 nm, por lo que su concentración se determina por métodos espectrométricos, para lo cual se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante, una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de la radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie oxidante (Figura 13).

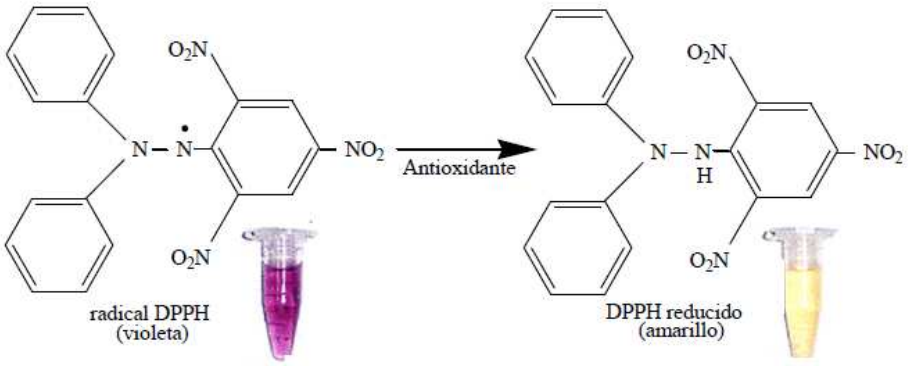


Figura 13. Mecanísmo de acción del radical DPPH

De acuerdo a los resultados obtenidos (Tabla 16), el aceite de sacha inchi presentó actividad antirradical en relación al DPPH, con un valor IC_{50} de 54.4 ± 0.7. Con respecto a su actividad inhibitoria o a su capacidad de captación de radicales DPPH, se encontró que se requiere mayor concentración del aceite

de sacha inchi para alcanzar una capacidad inhibitoria del 50%, que de los estándar empleados.Siendo el BHT 2.7 veces y BHA y 4.4 veces más activos que el aceite de sacha inchi.

Considerando lo anterior cabe resaltar que el aceite de sacha inchi a pesar de poseer menor actividad antioxidante, es una fuente natural de estos, que al estar presentes en baja concentración inhiben o neutralizan sustancias oxidantes en exceso, ypermiten mantener un equilibrio entre la cantidad de especies reactivas necesarias y benéficas, y las defensas antioxidantes para la supervivencia de los seres vivos.

Tabla 16. Actividad antioxidante en el ensayo de DPPH

SUSTANCIA		**IC_{50}**
Aceite de Sacha inchi		54.4 ± 0.7
Referencia	BHT	20.1 ± 0.9
	BHA	12.3 ± 0.5
Blanco		ND

Actividad de barrido de radicales libres ABTS

El método ABTS es una técnica que se usa para medir la capacidad antioxidante de un material biológico, compuestos puros o extractos de plantas de naturaleza hidrofilica o lipofilica.Involucra un compuesto coloreado de naturaleza radical (Radical ABTS $^{\bullet +}$), con el fin de simular especies reactivas de oxigeno y nitrógeno; de esta manera la presencia del antioxidante conduce a la desaparición de este radical coloreado. El radical ABTS ha sido validado por su estabilidad, reproducibilidad y por ser una alternativa mucho mas viable económicamente a otros métodos de evaluación de capacidad antioxidante. (Kuskoski E, 2005)

Los resultados de la actividad antioxidante se presentan en la Tabla 17. Estosindican que el aceite de sacha inchino presenta actividad antioxidante importante frente al radical $ABTS^{+}$**.** Su capacidad expresada en términos de **mmol Trolox/Kg** es baja, en relación a las sustancias de referencia (BHT, BHA y α-Tocoferol), esto debidoa que la actividad a través de este ensayo, es generada por sustancias con capacidad de ceder protones, como compuestos de tipo fenólicosy por ende se puede inferir que la capacidad antioxidante en el aceite de sacha inhi no se debe principalmente a la presencia de derivados de fenilpropanoides, fenoles o sustancias donadoras de protones en su composición.

Tabla 17. Actividad antioxidante en el ensayo de ABTS

SUSTANCIA		Capacidad antioxidante (mmol Trolox/Kg)
	Aceite de Sacha	19.4 ± 0.5
Referencia	BHT	950 ± 34
	BHA	6870 ± 59
	α-Tocoferol	2495 ± 25
	Blanco	0.01 ± 0.01

La actividad antioxidante obtenida porlos diferentes métodos permite recomendar el consumo de aceite de sacha inchi en una alimentaciónsaludableque permita mejorar la calidad de vida.Los antioxidantes naturales son potentes inhibidores de la oxidación del colesterol que evitan su transformación en oxiesteroles formados durante la manufactura y procesamiento de alimentos. La presencia de antioxidantes contrarrestan los efectos de los oxiesteroles que son citotóxicos, mutagénicos, aterogénicos, carcinogénicos y que están presentesen los alimentos preparados mediante fritura con aceites vegetales y/o animales.(Zavaleta J, 2005; Valenzuela A, 2004; Céspedes T, 2000; Vasquez A., 2007)

4.3.5. Estabilidad del aceite de sacha inchi

Los resultados de estabilidad del aceite de sacha inchi mediante Rancimat son reportados a continuación:

Tabla 18. Resultados Rancimat para el aceite de sacha inchi y otros aceites

Muestra	Tiempo (horas)	Tiempo de vida (Meses)
Aceite de sacha inchi (Soxhlet)	2	1.1
Aceite de sacha inchi (Prensado)	3	1.6
Aceite de palma	12	6.4
Estearina	15	8
Aceite de girasol	5	2.7
Aceite de soya	5	2.7
Aceite de canola	9	4.8

El cálculo del tiempo de vida se realiza con el reporte que emite el Rancimat, el cual da el tiempo expresado en horas y se hacen las conversiones correspondientes para expresar el tiempo en meses. Los resultados muestran que el aceite de sacha inchi es mas susceptible a la oxidación entre los aceites analizados. Podemos apreciar que los tiempos de vida obtenidos con el método de extracción en frío son ligeramente mayores que los del método de extracción *Soxhlet*; esto puede deberse a que en la extracción *Soxhlet* el aceite está sometido a un calentamiento (en el caso del hexano a su temperatura de ebullición, 68 ℃) que podrí a acelerar la oxidación.

Pese a la baja estabilidad del aceite de sacha inchi frente a otros aceites de uso comercial bajo las condiciones de análisis, esto indica que el envasado del aceite debe evitar el flujo de corrientes de aire y asegurar el uso de recipientes ambar que permitan conservar las propiedades nutraceúticas del aceite de sacha inchi.

4.4. ANALISIS FISICOQUIMICO DE LA TORTA

4.4.1. Análisis proximal de la torta

En la Tabla 19se presentan los resultados obtenidos para el análisis composicional de la almendra desengrasada o torta, considerada subproducto agroindustrial en la extracción del aceite de sacha inchi, que por la composición ya estudiada en la semilla entera se puede esperar un alto contenido nutricional con aplicabilidad al sector alimentario o elaboración de piensos. Los datos son representados a través delafigura 14.

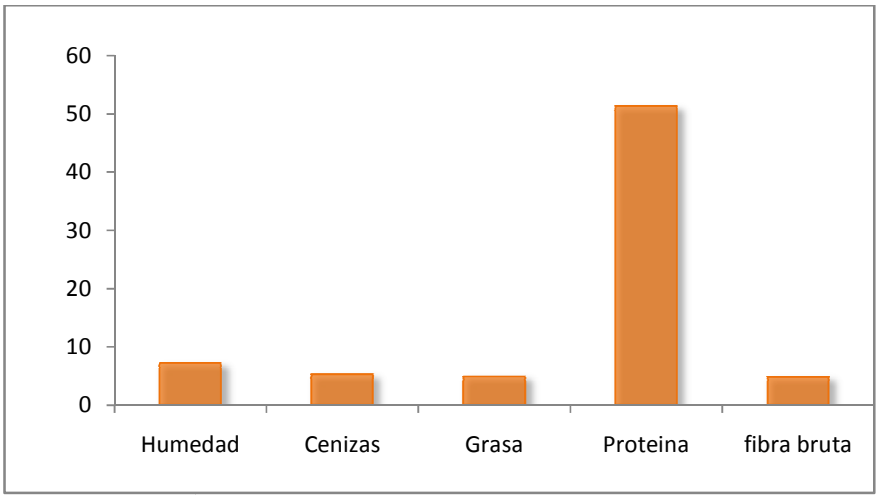


Figura 14. Composición proximal de la torta de sacha inchi

Los resultados de la composición proximal de la torta de sacha inchi en base seca, muestran como componente mayoritario el contenido de proteína, y una fracción lipídica significativa; estos resultados son comparados con los datos reportados por Pascual *et. al*(2000) y Mondragón (2009),a través de la tabla 19, figura 15.

Tabla 19. Composición proximal detorta de sacha inchi

Componente	Presente estudio	Pascual *et al*(2000).	Mondragón (2009)
Humedad	7,15 ± 0,24	0.70	5.09
Cenizas	5,19 ± 0,01	8.72	3.24
Grasa	4,84 ± 0,02	6.93	37.33
Proteína	51,23 ± 0,10	59.13	34.26
Fibra Bruta	4,79 ± 0,02	17.30	3.16
Extracto No Nitrogenado	26,50 ± 0,00	7.91	22.01

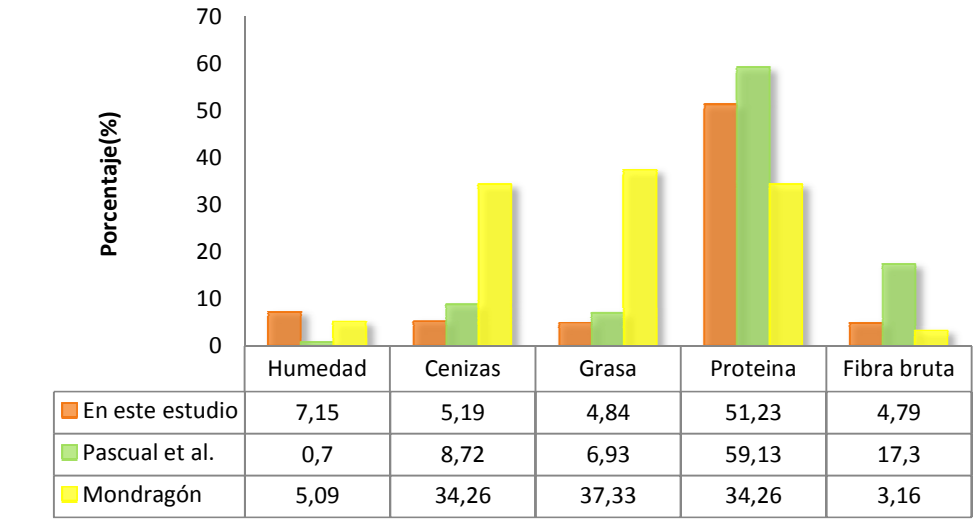


Figura 15. Análisis proximal de la torta de sacha inchi

De lo anterior se puede concluir que el proceso de prensado empleado por las empresas ECHZ conduce a la obtención de un subproducto con elevado contenido de humedad en comparación a lo reportado por Pascual *et al.*(2000) y Mondragón (2009). Es importante considerar que un alto contenido de humedad en la materia prima (Mayor al 10%), la hace propensa al deterioro por parte de microorganismos y por ende a la disminución de su calidad y valor nutricional.

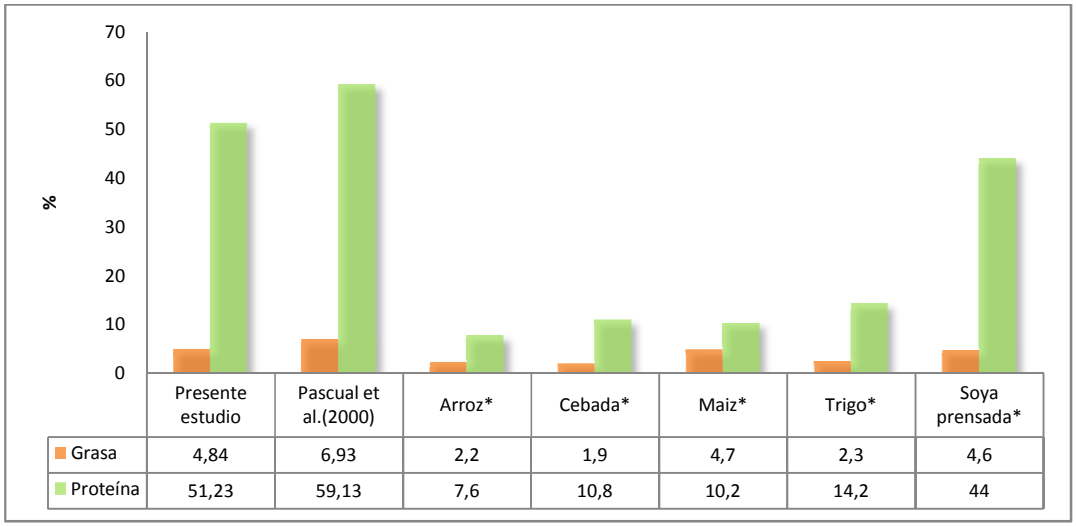
La composición lipídica en la torta de sacha inchi presenta un valor de 4.84%, siendo una fracción importante y no mayor al 10%, brinda la oportunidad de realizar peletizado del material, ya que el funcionamiento de los extrusores para materias primas con valores de grasa superiores a este valor,impiden su buen funcionamiento.El contenido de grasa para la torta en este estudio es cercano al encontrado por Pascual *et al.*(2000) y significativamente inferior al reportado por Mondragón (2009). Atribuido a las diferencias varietales y edafoclimaticas de la muestra en estudio, así como al procesado de la materia prima:

El contenido de proteína encontrado es significativamente elevado (51.23%) y de acuerdo al perfil de aminoácidos podría constituirse en una excelente alternativa a la torta de soya.El valor de proteína en el presente estudio en comparación con el encontrado por Pascual *et al*.(2000)es similar y con respecto a Mondragón es superior. Que de acuerdo al perfil de aminoácidos,podría constituir la principal ventaja para este subproducto

El contenido de ceniza para la torta de sacha inchi en el presente estudio fue de 5.19%, menor al valor al encontrado por Pascual *et al.*y cercanoal reportado por Mondragón. Con respecto al valor de fibra bruta determinado de 4.79%,se observa diferencia con el valor encontrado por Pascual *et al.* de 17.3% y cercano al resultado encontrado por Mondragón (2009), con un valor de 3.16%.

Los datos permiten deducir que la composición proximal para la torta de sacha inchi en el presente estudio presenta similitud con los resultados obtenidos por Pascual *et al*.(2000) y Mondragón (2009), sin embargo algunos parámetros se alejan entre si, como se menciono anteriormente, como resultado de las condiciones edafoclimáticas, época de cosecha, condiciones de prensado, y principalmente diferencias varietales.

En la figura 16 se representan los valores de grasa y proteína para la torta de sacha inchi y se compara con las mismas fracciones para cereales como arroz, cebada, maíz, trigo y soya prensada. En relación a los cereales se observa una mayor composición lipídica para la torta de sacha inchi, incluso mayor que para la soya prensada, incrementado con respecto al contenido de ácidos grasos esenciales su valor nutricional de proteína. El contenido de proteína es relativamente superior al encontrado en el grano entero de arroz, cebada, maíz y trigo. Posicionando nuevamente a la torta de sacha inchi como una alternativa a la torta de soya.



	Presente estudio	Pascual et al.(2000)	Arroz*	Cebada*	Maiz*	Trigo*	Soya prensada*
Grasa	4,84	6,93	2,2	1,9	4,7	2,3	4,6
Proteína	51,23	59,13	7,6	10,8	10,2	14,2	44

* Mondragón (2006)

Figura 16. Valores de grasa y proteína para la torta de sacha inchi y cereales

4.4.2. Análisis cromatográfico de aminoácidos

El valor biológico de una proteína depende fundamentalmente de la cantidad y proporción de aminoácidos parasatisfacer las necesidades nutricionales.

El análisis de aminoácidos en el presente estudiodependió del uso de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), que constituye unatécnica cuantitativa, rápida y altamente sensible. En la metodología para la determinación, previa al análisis cromatográfico, lasmuestras se hidrolizaron en medio ácido, en estas condiciones,existenreportes de degradación de triptófano, asparagina, glutamina y lisina que explica por qué nofue posible determinar el triptófano, y apunta a la posibilidad que los datos de lisina seansubestimados.

El perfil deaminoácidos obtenido en esta investigación se presentaen la Tabla 20 y es comparado con los resultados obtenidos por Hamaker *et al.,* 1992, ytambién se compara con el perfil de aminoácidos de otros alimentos. Los datos muestran valores ligeramente superiores de Histidina, isoleucina, leucina, lisina y cisteína en comparación a los resultados reportados por Hamaker, y una diferencia significativa con respecto a Treonina, encontrándose en el presente estudio cerca del doble del contenido reportado por Hamaker; en comparación con otros alimentos presenta de igual manera un valor superior con respecto a este aminoácido; la importancia biológica de la treonina está asociada al mantenimiento de niveles adecuados de proteínas en el organismo y a que participa en la formación de colágeno, elastina y del esmalte dentario.

La Tabla 20 también permite observar un contenido importante en aminoácidos no esenciales con valores superiores a los encontrados por Hamaker con respecto a Alanina; valores similares con respecto a Arginina, Asparagina+ácido aspártico, acido glutámico+glutamina y prolina. Así como

también seencontraron valores inferiores con respecto a Serina y Glicina. Y por ultimo, es importante considerar que el contenido de arginina en la almendra desengrasada se encuentra dentro del rango de los valores presentes en otros alimentos.

Las diferencias encontradas en el presente estudio en relación a lo reportado con Hamaker*et al.,*(1992) esta asociado probablemente a las características varietales y condiciones agroecológicasde los materiales en estudio, así como también al proceso de obtención de la almendra desengrasada en ambos estudios.

En general, el contenido de aminoácidos esenciales es un buen indicador de la calidad de una proteína, particularmente si la digestibilidad es alta, por lo tanto; si se conoce el contenido de aminoácidos esenciales de un alimento, como metionina, cisteína, lisina, treonina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina y triptófano, y se comparan con un patrón de referencia, se puede calcular su calidad respecto a cada aminoácido.

Tabla 20. Comparativo de los aminoácidos de la torta de sacha inchi con otros alimentos (mg AA/100 g proteína)

ESENCIALES	Presente estudio	Hamaker*et al.*,1992	Arroz[1]	Maíz[1]	Trigo[1]	Frijol[1]	Carne[1]	Pescado[1]	Leche[1]
Histidina (His)	2.8	2.6	2.1	2.6	2	3.1	3.5		2.7
Isoleucina (Ile)	5.7	5.0	4.1	4.0	4.2	4.5	5.2	5.1	10
Leucina (Leu)	6.8	6.4	8.2	12.5	6.8	8.1	8.3	7.5	6.5
Lisina (Lys)	5.2	4.3	3.8	2.9	2.6	7.0	8.7	8.8	7.9
Metionina (Met)	1.2	1.2	2.2	2.0	1.4	1.2	2.5	2.9	2.5
Cisteína (Cys)	2.8	2.5	-	-	-	-	-	-	-
Met + Cys	4.0	3.7	-	-	-	-	-	-	-
Fenilalanina (Phe)	2.1	2.4	5.0	4.7	4.8	5.4	4.1	37	1.4
Tirosina (Tyr)	5.5	5.5	-	-	-	-	-	-	-
Phe + Tyr	7.6	7.9							
Treonina (Thr)	8.8	4.3	3.8	3.8	2.8	3.9	4.4	4.3	4.7
Triptófano (Trp)	ND	2.9	1.1	0.7	1.2	1.1	1.2	1.0	1.4
Valina (Val)	4.4	4.0	6.1	5.0	4.4	5.0	5.5	5.0	7.0
NO ESENCIALES									
Alanina (Ala)	7.6	3.6	-	-	-	-	-	-	-

Arginina (Arg)	5.5	5.5	6.9	4.2	4.5	6.2	6.4	5.1	3.7
Asparagina +acido aspartico (Asp + Asn)	11.4	11.1	-	-	-	-	-	-	-
Acido glutámico+ glutamina (Glu + Gln)	13.8	13.3	-	-	-	-	-	-	-
Glicina (Gly)	6.3	11.8	-	-	-	-	-	-	-
Prolina (Pro)	5.1	4.8	-	-	-	-	-	-	-
Serina (Ser)	4.3	6.4	-	-	-	-	-	-	-
RESUMEN									
TEAA	45.3								
TAA	99.3								

[1](Romo S., 2006)

Considerando lo anterior, en la Tabla 21, se hace la comparación del contenido de aminoácidos esenciales de la torta de sacha inchi con las necesidades de los mismos para diferentes grupos de edad(Tapia M., 2007; FAO/WHO Food standards, 2009).

Tabla 21. Comparativo de los aminoácidos de la torta de sacha inchicon las necesidades de los mismos para diferentes grupos de edad (mg/100 g proteina)

Aminoácidos esenciales	Preescolares [1] (2 a 5 años)	Escolares [1] (10-12 años)	Adultos [1]	Torta de sacha inchiPresenteestudio
Isoleucina	28	28	13	57
Leucina	66	44	19	68
Lisina	58	44	16	52
Metionina+Cisteina	25	22	17	40
Fenilalanina+Tirosina	63	22	19	76
Treonina	34	28	9	88
Triptofano	11	9	5	ND
Valina	35	25	13	44
Histidina	19	19	16	28
Total	339	241	127	453

[1](FAO/WHO Food standards, 2009)

La torta de sacha inchi presenta valores superiores a las diferentes necesidades con respecto a los siguientes aminoácidos: isoleucina, leucina, Metionina + Cisteína, Fenilalanina + Tirosina, Treonina, Valina e Histidina.

También se puede observar que la torta presenta un menorvalor al requerimiento de lisina para el grupo de preescolares (2-5 años) y de igual manera para el triptófano, en relación a los tres grupos. Sin embargo, es importante resaltar queno fue detectable, probablemente comoconsecuenciadel pretratamiento cromatográfico,mas noa su ausencia en lamuestra estudiada.

Así, el contenido de aminoácidos esenciales muestra que la torta de sacha inchi puede constituir un suplemento alimenticio para la preparación de mezclas nutritivas en principio, para consumo humano.

El valor nutricional de una proteína puede ser definido como el grado por el cual las ingestas son suficientes en cantidad para satisfacer los requerimientos de nitrógeno de un individuo y al mismo tiempo sus requerimientos para cada uno de los aminoácidos esenciales para la síntesis de proteínas.

A la luz de esta premisa, se examina la proteína de la torta de sacha inchi para preescolares, escolares y adultos.De acuerdo a la FAO/OMS, las necesidades de aminoácidos esenciales por grupo de edad se determinan teniendo en cuenta los requerimientos de proteína/ peso (kg/día). Se recomienda 0.75g de proteína/kg de peso corporal para los adultos; 0.99 para los niños de 10 a 12 años y 1.10 para los niños de 2 a 5 años de edad.

Considerando lo anterior y para evaluar la calidad de proteína de la torta de sacha inchi se emplean los siguientes parámetros: **Puntaje** quees la relación entre los miligramos de aminoácidos recomendados para cada grupo de edad y los miligramos de aminoácidos que aporta la torta de sacha inchi. **Indice de calidad proteica:** es la relación de los requerimientos de proteína con el aminoácido limitante en sujetos de la misma edad.

$$\textbf{Puntaje} = \frac{\text{Miligramos de aminoácido en la torta de sacha inchi x 100.}}{\text{Miligramos de aminoácido en el patrón de referencia}} \quad \textbf{(Ecuación 3)}$$

$$\textbf{Índice de calidad proteica} = \frac{\text{Requerimiento de la proteína por edad x 100.}}{\text{Requerimientos del AA más limitante en sujetos de la misma edad}} \quad \textbf{(Ecuación 4)}$$

Estos parámetros se calculan y registran a continuación.

Tabla 22. Puntaje de proteína e índice de calidad en la torta de sacha inchi en el presente estudio,para diferentes grupos de edad[1,2]

Aminoácidos esenciales	Preescolares (2 a 5 años)[1,2]	Escolares (10-12 años) [1,2]	Adultos[1,2]
Isoleucina	2.04	2.04	4.35
Leucina	1.03	1.54	3.57
Lisina	0.90	1.18	3.22
Metionina+Cisteina	1.61	1.82	2.38
Fenilalanina+Tirosina	1.20	3.45	4.00
Treonina	2.56	3.12	10.00
Triptofano	ND	ND	ND
Valina	1.25	1.75	3.33
Histidina	1.47	1.47	1.75
Requerimiento/edad g/Kg	1.1	0.99	0.75
Índice de calidad proteica(Presente estudio)	82	119	233

[1](Ayala G., 2011). [2](FAO/WHO Food standards, 2009)

De acuerdo a la información anterior(Tabla 22), los cálculos del índice de calidad proteica de la torta de sacha inchi para la edad preescolar, muestran un valor de 82%, lo que significa quela proteína de la torta no cubre los requerimientos de aminoácidos esenciales, o que el preescolar deberia consumir 1.1g/kg/d de proteína de torta de sacha inchi para satisfacer el requerimiento del aminoácido más limitante, en este caso la lisina, uno de los aminoácidos esenciales más importantes que interviene en diversas funciones, incluyendo el crecimiento, reparación de tejidos, anticuerpos del sistema inmunológico y síntesis de hormonas. Es importante mencionar que el aminoácido limitante determina la eficiencia de utilización de la proteína presente en un alimento o en combinación de alimentos.Considerando lo anterior, el perfil de aminoácidos de la torta no cubre la necesidad proteica para este grupo etario.

En la Tabla 22, el índice de calidad proteica de la torta para escolares es 119%, esto indica que la proteína de la torta cubre los requerimientos de aminoácidos esenciales para este grupo etario, hasta sobrepasa un 19 % del requerimiento

de proteínas y de las cantidades requeridas de cada uno de los aminoácidos esenciales más limitantes para síntesis de proteína tisular en el organismo.Sin embargo hay que considerar que esto es cierto, si se arroga que existe una absorción total de la proteína para completar así los requerimientos de cada aminoácido esencial. Para este grupo el aminoácido limitante es también la lisina.

El índice de calidad proteínica de la torta de sacha inchi para adultos es 233%, esto indica que la proteína de la torta cubre los requerimientos de aminoácidos esenciales para este grupo etario, hasta sobrepasa un 133% como se mencionó anteriormente suministrando las cantidades requeridas de cada uno de los aminoácidos esenciales más limitantes para síntesis de proteínas en el organismo. Estas cifras sugieren que los índices de calidad proteínica son dependientes de la edad, además es importante resaltar que para este grupo etario el aminoácido limitante en la torta de sacha inchi es la Histidina, aminoácido primordial para la producción de histamina, un neurotransmisor, vital en el cerebro y en el sistema nervioso que actúa como vasodilatador para mantener la presión arterial en su nivel normal.

Por otra parte, una alternativa adicionalparadeterminar la calidad proteica, es a través de la calificación química o computo químico, y por lo general, examina la utilización eficiente de las proteínas en los alimentos consumidos, un poco más exigente,compara su composición de aminoácidos con la de la proteína que se sabe es de alta calidad. Así, el computo químico de la proteína contenida en la torta de sacha inchi, se basa en la comparación del patrón aminoacídico de la proteína en estudio, con el de una proteína denominada patrón,en este caso la proteína de huevo, la que presenta una eficiencia de retención de nitrógeno de 100%. El aminoácido que está en menor proporción con relación al patrón se denomina aminoácido limitante y es en este caso el que define la calidad proteica.El cómputo químico se calcula usando la siguiente ecuación:

$$\textbf{COMPUTO QUÍMICO} = \frac{\text{Aminoácido esencial del producto en estudio}}{\text{Aminoácido esencial del huevo}} \text{ X } 100$$

(Ecuación 5)

Tabla23 Resultados cómputo químico de la torta de sacha inchi en relación a la proteína del huevo

Aminoácidos esenciales	Huevo[1]	Almendra desengrasada Presente estudio	Computo químico
Isoleucina	59.34	57	97
Leucina	91.57	68	74
Lisina	66.86	52	78
Metionina+Cisteina	58.68	40	68
Fenilalanina+Tirosina	101.57	76	75
Treonina	47.77	88	184
Triptofano	15.29	ND	-
Valina	73.31	44	60
Histidina	28.10	28	100

[1](FAO/WHO Food standards, 2009)

De acuerdo a los cálculos se observa que el aminoácido limitante en la torta de *Plukenetia volubilis* L.,en relación a la proteína del huevo es la valina, con un valor de 60 .No se pueden hacerinferencias sobre el triptófano debido a que no fue posible determinarlo en esta investigación.

El valor químico de una proteína no tiene en cuenta factores como la digestibilidad de esta, o el hecho de que algunos aminoácidos pueden estar en formas químicas no utilizables, sin embargo, es un parámetro fácilmente medible y sus resultados pueden ser comparables con otros estudios.

En vista que el triptófano no es un aminoácidolimitante, que reportan la literatura, el no haber generado este dato en el presente estudio, no es unfactor crítico para evaluar la calidad de la proteína. Por el contrario, un aminoácido señalado por la FAO como limitante en la dieta, es la lisina, sin embargo esta se encuentra en una cantidad superior a lo requerido por este organismo internacional.Por último, cabe resaltar que el contenido de aminoácidos azufrados en la torta de sacha inchi es significativo y muy importante al considerar este subproducto como parte de una dieta equilibrada.

4.4.3. Digestibilidad *in vitro*

Los métodos para medir la digestibilidad de nutrientes implican el uso de animales, peroresultan costosos en cuanto a tiempo, mano de obra calificada y número de análisis químicos. Sin embargo, se utilizan métodos químicos para su determinación ylos valores obtenidos son denominados digestibilidad *in vitro,* método empleado en este trabajo.

Los resultados de la digestibilidad *in vitro*se pueden interpretar como estimaciones de la digestibilidad real de los alimentos, ya que no hay interferencia por la presencia de aminoácidos de origen endógeno en la digesta, tal y como ocurre cuando se utilizan métodos *in vivo*. Diversos estudios muestran que los valores de digestibilidad *in vitro* e *in vivo* están significativamente correlacionados

Los datos de digestibilidad*in vitro* para la proteína de sacha inchi se registran a continuación:

Tabla 24. Digestibilidad *in vitro* de la proteína de sacha inchi

Muestra	% Digestibilidad de la proteína
Almendra de sacha inchi molida	75.14±0.12 %
Almendra de sacha inchi molida (Calentada a 70℃, 2horas)	85.21±0.09 %
Torta de sacha inchi	88.49±0.07 %
Torta de sacha inchi (Calentada a 70℃, 2horas)	93 .55±0.04 %

Para la determinación de la digestibilidad de la proteína *in vitro*, se encontró un alto porcentaje de proteínadigerible en la almendra de sacha inchi molida, lo cual es un valor importante considerando quela presencia de lípidospodría inhibir el proceso, sin embargo los ácidos grasos de cadena corta y los insaturados como los que se encuentran presentes en esta oleaginosa, se digieren mejor que los ácidos grasos saturados, lo cual explica en parte la alta digestibilidad en la almendra molida. Otro factor importante que respalda este importante valor es que el proceso de molienda de los granos mejora su digestibilidad al aumentar la superficie para el ataque enzimático.

El aumento en la digestibilidad dela almendra molida después de ser sometida a calentamiento, era de esperarse comoresultado de la inactivación de inhibidores de proteinasa y a la apertura de la estructura proteínica a través de la desnaturalización.

Los resultados también mostraron una alta digestibilidad de la torta en relación a la almendra molida, con valores de digestibilidad *in vitro*de 88.49%, y 93.55% para la torta de sacha inchi y la torta de sacha inchi sometida a calentamiento, respectivamente. Los datos anteriores permiten deducir la alta digestibilidad de la proteína contenida en la semilla de sacha inchi, reflejando además ausencia de daño durante los procedimientos de extracciónde aceite y análisis de la muestra. Sin embargo, pese a la alta digestibilidad que muestra la proteína de Sacha Inchi para consumo humano, para grupos etarios de 2 a 5 años podría resultar deficiente en lisina(Ver Tabla 21).

Considerando lo anterior, cuando se necesita conocer la utilización de los aminoácidos en el organismo, es necesario realizar la corrección del puntajede acuerdo a la digestibilidad proteica (PDCAAS). El valor del puntaje corregido por digestibilidad se obtiene al comparar el perfil de aminoácidos esenciales de la proteína, con los requerimientos de aminoácidos esenciales establecidos por la FAO/OMS, para edades fluctuantes entre 2-5 años (La selección de este patrón de requerimientos para hacer la corrección se justifica por presentar las mayores exigencias, con excepción de menores de dos años), seleccionando la relación de aminoácidos más baja y multiplicando por la digestibilidad de la proteína(Vázquez *et al*., 2003; Soriano, 2012).

PDCAAS= Relación de aminoácidos más baja x Digestibilidad**(Ecuación 6)**

El puntaje químico de aminoácido corregido por digestibilidad da como resultado la digestibilidad proteica que se presenta a continuación.

Tabla 25. Puntaje químico de aminoácido corregido por digestibilidad (PDCAAS)

Muestra	% Digestibilidad verdadera
Almendra de sacha inchi molida	67.62
Almendra de sacha inchi molida (Calentada a 70℃, 2horas)	76.69
Torta de sacha inchi	79.64
Torta de sacha inchi (Calentada a 70℃, 2horas)	84 .20

Los resultados muestran que tanto la semilla entera como la torta tienen una alta digestibilidad, lo cual indica que la torta de sacha inchi no solo es una buena fuente de aminoácidos sino que son altamente asimilables. De los cuatro materiales analizados, la mayor digestibilidad la presenta la torta de sacha inchi sometida a calentamientocon un 84.20%, resultado que nos lleva a deducir que este subproducto agroindustrial tiene un gran potencial alimenticio y económico.

5. CONCLUSIONES

La cascara de sacha inchi posee en su fracción mineral un alto contenido de calcio y magnesio, elementos que potencian el uso integral de la semilla;así como también posee un alto contenido de fibra que permite su aprovechamiento como subproducto agroindustrial en la elaboración de aglomerados

Se encontró que el ácido linolénico es el mayoritario con respecto a los demás ácidos grasos, presentando niveles superiores a otros aceites vegetales como el de soya y oliva, demostrando que el aceite de sacha inchi es una buena fuente de este acido graso esencial, cuyo consumo está asociado a un riesgo menor de enfermedad cardiovascular,

La almendra de sacha inchi en estudio presentó un contenido de grasa y proteína importante y acorde a valores reportados para variedades estudiadas en el Perú, lo cual demuestra que el cultivo de sacha inchi en nuestro país tiene un alto potencial nutricional y económico.

El aceite de sacha inchi presenta un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (83.5%), que por su alto contenido en omega 3 (ω-3), se clasifica en el grupo de los ácidos linolénicos, donde se encuentran los aceites de soya, germen de trigo y linaza.

El aceite de sacha inchi es más saludable en relación al acido palmítico,que otros aceites como el aceite de soya, maní y palma, y tambiéndebido a su alto contenido en ácidos grasos esenciales (omega 3, 6 y 9).

El perfil de ácidos grasos en conjunto con las características fisicoquímicas y la viabilidad en la obtención de la materia prima, hacen del aceite de sacha inchi una alternativa con un amplio rango de aplicaciones a nivel industrial y alimenticio, como un producto nutracéutico

Los ensayos de actividad antioxidante permitieron corroborar que el aceite de sacha inchi es una fuente natural de antioxidantes, que convierten a esta oleaginosa en una especie promisoria para el aislamiento de principios activos que permitan inhibir o neutralizar sustancias oxidantes en exceso y mantener un equilibrio entre la cantidad de especies reactivas necesarias y benéficas, y las defensas antioxidantes.

El contenido de aminoácidos esenciales presentes en la torta de sacha inchi, en conjunto con la digestibilidad, mostraron que su composición nutricional permite predecir una aplicabilidad como alimento o suplemento alimenticio para la preparación de mezclas nutritivas, o la elaboración de piensos;y surge así además como alternativa de la torta de soya en la actividad avícola y pecuariagracias a su alto valor y calidad proteica.

La obtención de una tabla con los valoresde computo químico, digestibilidad y PDCAAS de la torta de sacha inchi,puede resultar un aporte de utilidad cuando se desea seleccionaralimentos en función de sucalidad proteica.

1.1 BIBLIOGRAFÍA

FAO/WHO Food standards. (2009). *Normas oficiales del Codex*. Recuperado el 15 de Enero de 2011, de http://www.codexalimentarius.net/web/Standard_list.do?lang=es

A.O.A.C. (2000). *Official method of Analysis. Chapter 41: Oils and Fats.* Association of official Analytical chemist.

ALIMENTARIUS, C. (s.f.). *CODEX STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS.*Recuperado el 15 de Enero de 2011, de CODEX STAN 210-1999: www.codexalimentarius.org/input/download/standards/336/CXS_210e.pdf

Aparicio, R., & Harwood, J. (2003). *Manual del aceite de oliva.* España: AMV Ediciones.

Ayala G., O. L. (2011). Recuperado el 14 de 1 de 2011, de CAPITULO VIII: VALOR NUTRITIVO Y USOS DE LA QUINUA: http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro03/cap8_1.htm

Belitz, H. D., & Grosch, W. (1993). *Química de lo Alimentos. Segunda Edición.*Zaragoza, España: Editorial ACRIBIA S.A.

Blois, M. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature, 26*, 1199–1200.

Bondioli P, D. B. (2006). Alpha linolénic acid rich oils. Composition of Plukenetia Volubilis (Sacha Inchi) oil from Perú. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse., 83* (3).

Bouziane M, P. J. (1994). Changes in fatty acid composition of total serum and lipoproteins particles, in growing rtas given protein-deficients diet with eitherhydrogenated coconut or salmon oils as fat sources. *Brit. J. Nut., 71*, 375-387.

Calvo, M. (1998). *Bioquímica de los alimentos. Capitulo Grasas y Aceites. .* Zaragoza, España. : Creative Commons.

Céspedes T, S. D. (2000). Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo; el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Instituto de cardiologia y cirugia cardiovascular.* Habana, Cuba.

Choksi RB, B. W. (2004). Oxidatively damaged proteins of heart mitochondrial electron transport complexes. *Biochim Biophys Acta, 1688* (2), 95-101.

CODEX. (s.f.). *CODEX STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS CODEX STAN 210-1999.*Recuperado el 15 de Enero de 2011, de www.codexalimentarius.org/input/download/standards/336/CXS_210e.pdf

Coronado M., V. S. (2006). *LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y OMEGA-6: NUTRICIÓN, BIOQUÍMICA Y SALUD.* Recuperado el 4 de 10 de 2011, de http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2006/03/e_AcidosGrasos.pdf

Dinçer Y, A. T. (2003). DNA damage and antioxidant defense in peripheral leukocytes of patients with Type I diabetes mellitus. *Mutat Res, 527*, 49–55.

Dostert N., R. J. (Septiembre de 2009). *Factsheet: Datos botánicos de Sacha Inchi. Desarrollo de monografías botánicas (factsheets) para cinco cultivos peruanos. Hojas Botánicas: Sacha inchi – Plukenetia volubilis L.* Recuperado el 1 de Noviembre de 2010, de http://www.biocomercioperu.org/admin/recursos/contenidos/Sacha_Inchi_Factsheet_final.pdf

Follegatti-Romero LA, P. C. (2009). Supercritical CO2 extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) seeds. *J. Supercrit. Fluid., 49*, 323-329.

Follegatti-Romero LA, Piantino CR, Grimaldi R, Cabral FA. (2009). Supercritical CO2 extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) seeds. *J. Supercrit. Fluid., 49*, 323-329.

Gomez, J. (2005). *Monografia y cultivo de sacha inchi(Plukenetia volubilis): oleaginosa promisoria para la diversificación productiva en el trópico. .* Recuperado el 10 de 12 de 2010

Gomez, J. (2005). *Monografia y cultivo de sacha inchi(Plukenetia volubilis): oleaginosa promisoria para la diversificación productiva en el trópico.* (Corpoica-Pronatta, Ed.) Bogota, Colombia : Impresión y encuadernación editores.

Guillen MD, R. A. (2003). charactherization of sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) oil by FTIR spectroscopy and 1H HMR. Comparation with linseed oil. *J. Am. Oil Chem Soc, 80*, 755-762.

Gutiérrez L. F., R. L. (2011). Chemical composition of Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y aceites, 62* (1), 76-83.

Halliwell B. (2000). The antioxidant paradox. *Lancet, 355*, 1179-1180.

Hamaker B., V. C. (1992). Amino acid and fatty acid profile of the Inca peanut (Plukenetia volubilis). *American association of cereal chemist, 69* (4), 461- 463.

Hernández, A. G. (10 de Febrero de 2012). *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. Obtenido de http://books.google.com.co/books?id=hcwBJ0FNvqYC&pg=PT597&lpg=PT597&dq=como+calcular+el+indice+de+calidad+de+una+proteina&source=bl&ots=6

GCZMip33s&sig=N2xEdVnqYg6gaUrbIhmGzo_Khw0&hl=es&sa=X&ei=_WEUU ICyKarc6wHsyYC4CQ&ved=0CFkQ6AEwBg#v=onepage&q=como%20calc

Hernández, A. (s.f.). *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. Recuperado el 10 de Febrero de 2012, de Google books: http://books.google.com.co/books?id=hcwBJ0FNvqYC&pg=PT597&lpg=PT597 &dq=como+calcular+el+indice+de+calidad+de+una+proteina&source=bl&ots=6 GCZMip33s&sig=N2xEdVnqYg6gaUrbIhmGzo_Khw0&hl=es&sa=X&ei=_WEUU ICyKarc6wHsyYC4CQ&ved=0CFkQ6AEwBg#v=onepage&q=como%20calc

Hernandez, L., Briones, A., & Ubeda, J. (2004). *Aprovechamiento de subproductos agrícolas en la alimentación animal.* Recuperado el 2012 de 2 de 10, de www.magrama.gob.es/ministerio/pags/bibliotecas/revistas/pdf_Ganad_2004_26 _64_67.pdf

Herrera, W., Hernández, C., & Yurany, M. (2010). Potencial industrial de plantas oleaginosas del Caqueta, Amazonia Colombiana. *Ingenierías & Amazonia* , 28-39.

Huamán, J., Chávez, K., Castañeda, E., Carranza, S., Chávez, T., Beltrán, Y., y otros. (2008). *Efecto de la Plukenetia volubilis Linneo (sacha inchi) en la trigliceridemia posprandial Anales de la Facultad de Medicina.* Recuperado el 25 de 7 de 2011, de http://redalyc.uaemex.mx/pdf/379/37911928008.pdf

Huang D, O. B. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem., 53*, 1841–56.

Ilhami G, M. E. (2010). Antioxidant activity of clove oils- A powerful antioxidant source. *Arabian Journal of chemistry* , Articule in press.

Krikankova B, P. Z. (2007). Sacha inchi (Plukenetia volubilis, Euphorbiaceae) a promising oilseed crop from peruvian Amazon. . *Conference on international agricultural. Research and development.* Germany: University of Kassel.

Kuskoski E, e. a. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Cienc. Tecnol. Aliment., 25* (4), 726-732.

Manco, E. (s.f.). *Instituto Nacional De Investigación Y Extensión Agraria, Dirección De Investigación Agraria, Subdirección De Recursos Genéticos Y Biotecnología. Estación Experimental Agraria "El Porvenir" - Tarapoto .* Obtenido de Cultivo De Sacha Inchi.

Manco, E. (junio de 2006). *Instituto Nacional De Investigación Y Extensión Agraria, Dirección De Investigación Agraria, Subdirección De Recursos Genéticos Y Biotecnología. Estación Experimental Agraria "El Porvenir" - Tarapoto .* Recuperado el 28 de 1 de 2011, de Cultivo De Sacha Inchi: http://www.incainchi.es/pdf/1358.pdf

Mark R, M. B. (1999). Can antioxidants vitamins materially reduce oxidative damage in humans?. *Free Radic Biol Med, 26* (7/8), 1034-1053.

Mehlembacher, V.C.; Hopper, T.H.; E.M., Salle; Link, W.E.; R.O., Walker; R.C., Walker; D., Firestone D. (1994). *Official methods and recomended practices of the american oil chemist society.* AOACS PRESS.

Mensik RP, K. M. (1992). effects of dietary cis and trans acids on serum lipoprotein levelsa in humans. *J Lipids Res, 33*, 1493-1501.

Mondragón I. (2009). Estudio farmacognóstico y bromatológico de los residuos industriales de la extracción del aceite de Plukenetia volubilis L. (Sacha inchi). *Trabajo de grado Química Farmacéutica* . Lima, Perú.

Morgado N, G. A. (1998). Effect of the degradee of hidrogenation of dietary fish oil on the trans acid content and enzimatic activity of rat hepatic microsomes. *Lipids, 33*, 669-673.

Morris, H., Carrillo, & Bermúdez, R. (2003). Enfoque integral en la utilización de los métodos químicos de evaluación de la calidad proteica. *Rev Cubana Salud Pública , 29* (1).

Nicolas Dostert, J. R. (s.f.). *Factsheet: Datos botánicos de Sacha Inchi. Desarrollo de monografías botánicas (factsheets) para cinco cultivos peruanos. Hojas Botánicas: Sacha inchi – Plukenetia volubilis L.*

Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Dirección de Alimentación y Nutrición Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. (1 de Noviembre de 2010). Obtenido de Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. : http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/AH833S00.htm#Contents.

Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Dirección de Alimentación y Nutrición Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. (s.f.). *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. .*Recuperado el 2010

Ötles, S. (2005). *Methods of Analysis of Food Components and Additives.*Izmir, Turkey: Taylor & Francis Group.

Palanca V., R. E. (2006). Bases científicas para el desarrollo de productos cárnicos funcionales con actividad biológica combinada. *Nutrición hospitalaria, 21* (2).

Pariona N. (2008). Obtención de los ácidos grasos del aceite de la Plukenetia volubilis L. "Sacha Inchi" para la utilización en la industria y estudio fitoquímico cualitativo de la almendra. Lima, Perú.

Pascual G, M. M. (2000). Extracción y caracterización de aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.). *Anales Científicos UNALM, 42*, 146-160.

Romo S., R. A. (2006). POTENCIAL NUTRICIONAL DE HARINAS DE QUINUA (CHENOPODIUM QUINOA W) VARIEDAD PIARTAL EN LOS ANDES COLOMBIANOS. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* .

Sanhueza J, N. S. (2002). Acido linoléico conjugado: un acido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. *Rev. Chil. Nutr., 29* (2).

Siramon, P., & Ohtani, Y. (2007). Antioxidative and antiradical activities of Eucalyptus camaldulensis leaf oils from Thailand. *J. Wood Sci., 53*, 498-504.

Skoog, D., & James, H. (2001). *Principios de Análisis Instrumental.* Madrid, España: McGraw-Hill.

Soriano, J. M. (s.f.). *Nutrición básica humana.* Recuperado el 10 de Febrero de 2012, de Google books: http://books.google.com.co/books?id=-C43kg7wWBYC&pg=PA106&lpg=PA106&dq=como+calcular+el+indice+de+calidad+de+una+proteina&source=bl&ots=nbJ9ss5WXw&sig=cxT3DuwVtKhxVeH2IXNQJ-lo6Pc&hl=es&sa=X&ei=_WEUUICyKarc6wHsyYC4CQ&ved=0CFcQ6AEwBQ#v=onepage&q=como%20calc

Stier, R. (1997). *Guía de aceites comestibles, composición, aplicación, nutrición y más.* Memphis: Asociación Nacional de Productos de Semillas de Algodón de los E.U.A.

Szeto YT, C. A. (2002). Effects of dietary antioxidants on DNA damage in lysed cells using a modified comet assay procedure. *Mutat Res, 500*, 31-38.

Tapia M., M. C. (2007). *Cultivos andinos FAO.* Recuperado el 19 de 11 de 2011, de CAPITULO IV VALOR NUTRITIVO Y PATRONES DE CONSUMO: http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro10/cap04.htm

Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. (s.f.). Recuperado el 10 de Febrero de 2012, de Google books: http://books.google.com.co/books?id=hcwBJ0FNvqYC&pg=PT597&lpg=PT597&dq=como+calcular+el+indice+de+calidad+de+una+proteina&source=bl&ots=6GCZMip33s&sig=N2xEdVnqYg6gaUrbIhmGzo_Khw0&hl=es&sa=X&ei=_WEUUICyKarc6wHsyYC4CQ&ved=0CFkQ6AEwBg#v=onepage&q=como%20calc

Valadeau, C;. (2010). The rainbow hurts my skin: Medicinal concepts and plants uses among the Yanesha (Amuesha), an Amazonian Peruvian ethnic group. *Journal of Ethnopharmacology, 127*, 175–192.

Valenzuela A, S. j. (2004). Productos oxidados del colesterol en limentos: riesgos potenciales para la salud y papel preventivo de los antioxidantes. *Grasas y aceites., 55* (3), 312-320.

Vasquez A. (2007). Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de Salvia arantocensis, Salvia sochensis,Bidens reptons y Montanoa ovalifolia. *Scientia Et Técnica, XIII* (33).

Vázquez, C., & Lopez, A. I. (s.f.). *Alimentación y nutrición: Manual teórico-práctico*. Recuperado el 27 de Enero de 2012, de Google books: http://books.google.com.co/books?id=F-xV6Rul96kC&pg=PA30&lpg=PA30&dq=como+calcular+el+score+proteina+por+digestibilidad&source=bl&ots=dSL01ijL2S&sig=8RQKY8fTgziRJ88YAponGzk1Vss&hl=es&sa=X&ei=z1QUUIvqFYeJ6AHYtYHAAg&ved=0CEwQ6AEwAg#v=onepage&q=como%20calcul

Vega, J. (2005). *Efecto hipolipemiante de Plukenetia volubilis (Sacha Inchi) en modelo animal.* Universidad San Martin de Porres – USMP, Facultad de Medicina. , San Martin de Porres.

Yagoub, A. M. (2004). Study on Furundu, a traditional sudanese fermented Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) seed: Effect on in vitro protein digestibility, chemical composition, and functional properties of the total proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52*.

Yilmaz S, O. S. (2003). Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothryroidism. *Cell Biochem Function, 21*, 325-340.

Zavaleta J, M. A. (2005). Capacidad Antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Revista Horizonte Médico, 2* (5), 29-38.

ANEXOS

Anexo 1. Concentración de algunos metales en la cascara de sacha inchi

Elemento	1	2	Promedio	Unidades	Desviación	C.V. %	mg Cáscara	ppm Cáscara
Al	420,9	420,1	420,5	mg/Kg	0,57	0,13	0,4205	7,35
B	594,6	592	593,3	mg/Kg	1,84	0,31	0,5933	10,4
Ba	1846	1832	1839	mg/Kg	9,90	0,54	1,839	32,1
Be	<0,1	<0,1	<0,1	mg/Kg				0,00
Bi	<0,1	<0,1	<0,1	mg/Kg				0,00
Ca	151900	153400	152650	mg/Kg	1060,66	0,69	152,65	2668,2
Cd	4,16	4,26	4,21	mg/Kg	0,07	1,68	4,21E-03	0,074
Co	3,46	3,37	3,42	mg/Kg	0,06	1,86	3,42E-03	0,060
Cr	3,6	4,16	3,88	mg/Kg	0,40	10,2	3,88E-03	0,068
Cu	262,5	265,4	264,0	mg/Kg	2,05	0,78	0,26395	4,61
Fe	1647	1707	1677	mg/Kg	42,43	2,53	1,677	29,3
Ga	<0,1	<0,1	<0,1	mg/Kg				0,00
K	212900	214600	213750	mg/Kg	1202,08	0,56	213,75	3736,2
Li	36,3	32,74	34,52	mg/Kg	2,52	7,29	3,452E-02	0,60
Mg	39710	38630	39170	mg/Kg	763,68	1,95	39,17	684,7
Mn	2723	2709	2716	mg/Kg	9,90	0,36	2,716	47,5
Ni	19,89	19,91	19,9	mg/Kg	0,01	0,07	0,0199	0,35
Pb	17,63	19,02	18,33	mg/Kg	0,98	5,36	1,833E-02	0,32
Se	0,6	0,5	0,55	mg/Kg	0,07	12,9	5,5E-04	0,010
Sr	2062	2041	2051,5	mg/Kg	14,85	0,72	2,0515	35,9
Tl	2,97	2,69	2,83	mg/Kg	0,20	7,00	2,83E-03	0,049
Zn	1094	1103	1098,5	mg/Kg	6,36	0,58	1,0985	19,2