

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



“INFLUENCIA DEL TOSTADO DE LA SEMILLA DE *Plukenetia huayllabambana* EN EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y COMPUESTOS BIOACTIVOS”

Presentado por:

DANIELA CRISTINA ZORRILLA SALMÓN

**TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERO EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Lima - Perú

2015

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme concluir con este importante paso en mi desarrollo profesional.

A mi madre Carmen Rosa, por su constante apoyo, guía y amor en todo momento.

A mis abuelos Marina y Víctor, por sus consejos, orientación y amor incondicional.

A mi padre Tobías, quien sé que desde el cielo se siente muy orgulloso de mí.

AGRADECIMIENTO

- A los doctores Rosana Chirinos Gallardo y David Campos Gutiérrez por su dedicación, guía, paciencia y motivación para mi formación como investigador.
- Al área de Biotecnología Industrial del IBT y a los que forman y formaron parte de él; por los recursos técnicos y académicos puestos al alcance para la realización de esta investigación.
- A mi familia por sus consejos, amor y apoyo en todo momento.
- A Edgar por su constante apoyo, aliento y cariño.
- A los grandes amigos que hice a raíz de esta investigación: Erika y Manuel.

Índice General

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. El sachu inchi	3
2.1.1. Morfología general.....	3
2.1.2. Distribución geográfica.....	4
2.1.3. Características agronómicas.....	5
2.1.4. Composición química.....	6
2.1.5. Propiedades benéficas.....	7
2.2. Los antioxidantes.....	7
2.3. La capacidad antioxidante.....	8
2.4. Los compuestos fenólicos.....	9
2.5. Los tocoferoles.....	11
2.6. Los ácidos grasos.....	13
2.6.1. Los ácidos grasos saturados.....	14
2.6.2. Ácidos grasos insaturados.....	14
a. Ácidos grasos <i>cis</i> -insaturados.....	15
b. Ácidos grasos <i>cis</i> -poliinsaturados.....	15
c. Ácidos grasos <i>trans</i>	17
2.7. Los fitoesteroles.....	17
2.8. La oxidación lipídica.....	19
2.9. Tostado.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1. Lugar de ejecución.....	22
3.2. Materia prima.....	22
3.3. Reactivos, materiales y equipos.....	22
3.3.1. Reactivos.....	22
3.3.2. Materiales.....	23
3.3.3. Equipos.....	24

3.3.4. Estándares.....	25
3.4. Métodos de análisis.....	25
3.4.1. Ácidos grasos libres.....	25
3.4.2. Índice de peróxido.....	26
3.4.3. Dienos y trienos conjugados.....	27
3.4.4. Índice de <i>p</i> -anisidina.....	28
3.4.5. Humedad y materia seca.....	29
3.4.6. Contenido de aceite.....	29
3.4.7. Contenido de ácidos grasos.....	30
3.4.8. Contenido de tocoferoles.....	30
3.4.9. Contenido de fitoesteroles.....	31
3.4.10. Contenido de compuestos fenólicos.....	31
3.4.11. Capacidad antioxidante ORAC (<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>) hidrofilica y lipofilica.....	32
3.5. Metodología experimental.....	33
3.6. Análisis estadístico.....	34
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
4.1. Efecto del tostado sobre la estabilidad oxidativa del aceite de la <i>P.</i> <i>huayllabambana</i>	36
4.1.1. Contenido de ácidos grasos libres.....	36
4.1.2. Índice de peróxido.....	38
4.1.3. Dienos conjugados.....	40
4.1.4. Índice de <i>p</i> -anisidina.....	41
4.2. Efecto del tostado sobre el rendimiento en aceite y los compuestos bioactivos de la semilla de la <i>P. huayllabambana</i>	42
4.2.1. Rendimiento de extracción del aceite.....	42
4.2.2. Contenido de ácidos grasos.....	44
4.2.3. Contenido de tocoferoles.....	48
4.2.4. Contenido de fitosteroles.....	52
4.2.5. Compuestos fenólicos.....	55
4.2.6. Capacidad antioxidante ORAC hidrofilica y lipofilica.....	58
V. CONCLUSIONES.....	61
VI. RECOMENDACIONES.....	63

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
VIII. ANEXOS.....	77

Índice de Cuadros

Cuadro 1: Contenido de macronutrientes en dos muestras de semillas de <i>Plukenetia huayllabambana</i>	6
Cuadro 2: Contenido de ácidos grasos en el aceite de dos muestras de semilla de <i>Plukenetia huayllabambana</i>	6
Cuadro 3: Estructura de ácidos grasos de diferentes fuentes.....	13
Cuadro 4: Acidez expresada como ácido oleico del aceite obtenido a partir de la semilla de la <i>P. huayllabambana</i> sometida a diferentes tratamientos de tostado.....	37
Cuadro 5: Índice de peróxido del aceite obtenidos a partir de la almendra de la <i>P. huayllabambana</i> sometida a diferentes tratamientos de tostado.....	38
Cuadro 6: Dienos conjugados del aceite obtenido a partir de la almendra de la <i>P. huayllabambana</i> sometida a diferentes tratamientos de tostado.....	40
Cuadro 7: Índice de <i>p</i> -anisidina del aceite obtenido de la almendra de la <i>Plukenetia huayllabambana</i> sometida a diferentes tratamientos de tostado.....	42
Cuadro 8: Contenido ácidos grasos de la semilla de la <i>P. huayllabambana</i> (g/100 g de almendra, b.s.) sometidas a diferentes temperaturas y tiempos de tostado.....	45
Cuadro 9: Contenido de tocoferoles de la semilla de la <i>P. huayllabambana</i> (mg/100 g de almendra, b.s.) sometidas a diferentes temperaturas y tiempos de tostado.....	49
Cuadro 10: Contenido de fitoesteroles de la semilla de la <i>P. huayllabambana</i> (mg/100 g de almendra, b.s.) sometidas a diferentes temperaturas y tiempos de tostado.....	54
Cuadro 11: Compuestos fenólicos de la semilla de la <i>P. huayllabambana</i> sometida a diferentes tratamientos de tostado.....	56
Cuadro 12: Capacidad antioxidante (CAOX) hidrofílica y lipofílica de la semilla de la <i>P. huayllabambana</i> sometida a diferentes tratamientos de tostado.....	59

Índice de Figuras

Figura 1: Semillas de seis agrupaciones del género <i>Plukenetia</i> encontradas en la Amazonía peruana: A= <i>P. brachybotrya</i> ; B= <i>P. lorentensis</i> ; C= <i>P. volubilis</i> (procedencia San Martín); D= <i>P. volubilis</i> (procedencia Cusco); E= <i>P. huayllabambana</i> ; F= <i>P. polyadenia</i>	4
Figura 2: Estructuras y posiciones metilo de los ocho tipos naturales de vitamina E	12
Figura 3: Estructura química de los ácidos grasos <i>cis</i> y <i>trans</i>	17
Figura 4: Estructura de los fitosteroles.....	18
Figura 5: Flujo de operaciones para el procesamiento de las semillas de <i>P. huayllabambana</i>	35
Figura 6: Evolución del rendimiento en aceite obtenido a partir de las semillas tostadas de la <i>P. huayllabambana</i>	43
Figura 7: Evolución del contenido de ácidos grasos saturados (a), monoinsaturados (b) y poliinsaturados (c) en las semillas de la <i>P. huayllabambana</i> sometidas a diferentes tratamientos de tostado.....	46
Figura 8: Evolución del contenido de tocoferoles totales en las semillas de la <i>P. huayllabambana</i> sometidas a diferentes tratamientos de tostado.....	51

Índice de Anexos

ANEXO 1: Método para la determinación del contenido de ácidos grasos (Michotte <i>et al.</i> , 2011) con ligeras modificaciones.....	78
ANEXO 2: Curvas estándares de ácidos grasos.....	79
ANEXO 3: Método de determinación del contenido de tocoferoles (Amaral <i>et al.</i> , 2005) con ligeras modificaciones.....	84
ANEXO 4: Curvas estándares tocoferoles.....	86
ANEXO 5: Método para la determinación del contenido de fitoesteroles (Duchateau <i>et al.</i> , 2002) con algunas modificaciones.....	88
ANEXO 6: Curvas estándares fitosteroles	89
ANEXO 7: Curva estándar de compuestos fenólicos totales	92
ANEXO 8: Curvas estándares ORAC.....	93
ANEXO 9: Humedad de la almendra de <i>Plukenetia huayllabambana</i> sometida a diferentes tratamientos de tostado.....	95
ANEXO 10: Análisis estadísticos.....	96

RESUMEN

El efecto del tostado de la semilla de *Plukenetia huayllabambana* en el contenido de ácidos grasos y compuestos bioactivos fue investigado. Las semillas fueron sometidas a tostados a temperaturas de: 100, 120, 140, 160 y 180 °C por 10, 20 y 30 minutos, para cada temperatura. Las muestras después del tostado fueron evaluadas con respecto al grado de oxidación del aceite (índice de peróxido, ácidos grasos libres, índice de *p*-anisidina y dienos conjugados) y en contenido de ácidos grasos, tocoferoles, fitosteroles y capacidad antioxidante tanto hidrofílica como lipofílica de las almendras. Los resultados mostraron que el tostado incrementó la oxidación del aceite de esta semilla. El contenido de los ácidos grasos, tocoferoles, fitosteroles y compuestos fenólicos se incrementó a las más bajas temperaturas evaluadas y menores tiempos de tostado. La capacidad antioxidante hidrofílica presentó un comportamiento similar al de los compuestos fenólicos; sin embargo, la capacidad antioxidante lipofílica se mantuvo casi constante, solo incrementándose en el tostado realizado a 180 °C. Por otro lado, el tostado permitió una mayor extracción del aceite de esta semilla.

Palabras clave: *Plukenetia huayllabambana*, oxidación lipídica, ácidos grasos, tocoferoles, fitosteroles, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

The effect of *Plukenetia huayllbambana* seed roasting in the fat acid content and bioactive compounds, was investigated. The seeds were subjected to roasting at temperatures of: 100, 120, 140, 160, and 180 °C for 10, 20 and 30 minutes, for each temperature. The samples after being roasted were evaluated with respect to the degree of the oil oxidation (peroxide index, free fatty acids, p-anisidine index and conjugated dienes) and the fatty acids contents, tocopherols, phytosterols and antioxidant capacity, both hydrophilic and lipophilic of the almonds. The results showed that the roasting increased the lipid oxidation of this seed. The content of the fatty acids, tocopherols, phytosterols and phenolic compounds increased in the first times and temperatures of roasting.

The hydrophilic antioxidant capacity, presented a similar behavior to the phenolic compounds; however, the lipophilic antioxidant capacity remained almost constant, only increasing when roasted at 180 °C. On the other hand, the roasting allowed a greater extraction of oil from this seed.

Key words: *Plukenetia huayllabambana*, lipid oxidation, fatty acids, tocopherols, phytosterols, antioxidant capacity.

I. INTRODUCCIÓN

Existe un creciente interés en el consumo de los cultivos nativos, sobre todo de aquellos que presentan propiedades funcionales. La semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*), recurso nativo de nuestra Amazonía, ha sido empleada por muchos años por las comunidades nativas de la Amazonía, las cuales la consumen principalmente en forma de aceite y harina con fines medicinales y/o alimenticios.

El sachá inchi supera en porcentaje de ácidos grasos poli-insaturados a muchas semillas oleaginosas utilizadas para la producción de aceites para consumo humano, como: oliva, soya, girasol y palma, entre otros (Chirinos *et al.*, 2009). Últimamente, la tendencia mundial de consumo de aceites vegetales se ha incrementado, Estados Unidos es el segundo mercado más importante pues, sus consumidores son cada vez más conscientes de la necesidad de una alimentación sana, nutritiva y equilibrada para evitar problemas de salud, lo que incluye el menor consumo de grasas de origen animal (Chirinos *et al.*, 2009).

Actualmente, el sachá inchi se comercializa, principalmente, como granos tostados que fácilmente se encuentran en la mayoría de las tiendas naturistas, en tanto que en autoservicios se comercializa el aceite, que en su fase de industrialización está dirigido a un segmento pequeño y selectivo de la población limeña (Tito y Bautista, 2009).

Recientemente una nueva especie de *Plukenetia* ha sido identificada en el departamento de Amazonas la *Plukenetia huayllabambana* R. W. Bussmann, C. & A. Gleba Téllez sp. nov. A. y parece ser una especie endémica de zonas rocosas de la región del bosque nuboso de la provincia de Rodríguez de Mendoza. Esta especie sólo se encuentra por encima de 1,300 m.s.n.m. y se diferencia claramente en su pequeño número de estambres, longitud de la columna estilar y el gran tamaño de sus frutos y semillas. En el Perú, *Plukenetia* spp. son ampliamente conocidas como "sachá inchi" y la *Plukenetia huayllabambana* podría tener un buen potencial para convertirse en una fuente de ingresos para las comunidades locales (Bussman *et al.*, 2009).

Tomando en cuenta, su valor nutritivo, el alto contenido de ácidos grasos poli-insaturados (omega-3 y omega-6) y sustancias antioxidantes (tocoferoles y compuestos fenólicos) (Muñoz *et al.*, 2013) que presenta esta semilla, se busca ofrecer la almendra de *P. huayllabambana* tostada, como un alimento de consumo fácil y rápido, así mismo determinar a qué condiciones de temperatura y tiempo, no se afecta la calidad ni el contenido de compuestos bioactivos.

Por otro lado, la operación de tostado puede proporcionar un aumento de la biodisponibilidad y la funcionalidad de ciertos componentes nutricionales (Boekel *et al.*, 2010). Además, McDaniel (2011) señala la importancia de comprender el proceso de tostado debido a que es una etapa crítica para productos del tipo semillas al influir sobre las características finales del producto.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del tostado de la semilla de la *Plukenetia huayllabambana* a diferentes temperaturas y tiempos, sobre el perfil de ácidos grasos, contenido de compuestos bioactivos (compuestos fenólicos, fitosteroles, tocoferoles), capacidad antioxidante y la estabilidad oxidativa de la almendra.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El sachá inchi

Es una planta trepadora, semi-leñosa y agronómicamente rústica perteneciente al género *Plukenetia* que poseen semillas oleaginosas dentro de sus frutos (IIAP, 2009). También conocida con los nombres de sachá inchi, sachá maní, maní del inca, maní del monte, maní jíbaro o inca peanuts (Arévalo, 2000).

Según la GBIF (2012), la clasificación botánica del cultivo de esta especie es la siguiente:

- Reino: Plantae
- Phylum: Magnoliophyta
- Orden: Magnoliopsida
- Familia: Euphorbiaceae
- Género: *Plukenetia*
- Especie: *Plukenetia huayllabambana*

2.1.1. Morfología general

Según Rodríguez *et al.* (2010), la planta de *Plukenetia huayllabambana* posee ciertas características que permiten diferenciarla de otras especies dentro de su género:

- Posee un par de glándulas basilaminares relativamente distantes del pecíolo.
- Sus hojas tienen bordes crenados y bases caudadas.
- La base del tallo es hexagonal.
- Posee un fruto (cápsula) de aproximadamente 6 a 8 cm. de diámetro, de forma cuadrangular con ángulos quillados y superficie rugosa.

- La semilla es de color marrón y ligeramente aplanada. Al abrir las semillas se encuentra los cotiledones a manera de almendras cubiertas de una película blanquecina.

Bussman *et al.* (2009) indican que esta especie posee una semilla de gran tamaño con crestas pronunciadas.



Figura 1: Semillas de seis agrupaciones del género *Plukenetia* encontradas en la Amazonía peruana: A= *P. brachybotrya*; B= *P. lorentis*; C= *P. volubilis* (procedencia San Martín); D= *P. volubilis* (procedencia Cusco); E= *P. huayllabambana*; F= *P. polyadenia*

FUENTE: Rodríguez *et al.* (2010)

2.1.2. Distribución geográfica

Según Manco (2006), la presencia del sacha inchi ha sido registrada en la Amazonía Peruana, encontrándose en estado silvestre en lugares como: San Martín, Ucayali, Huánuco, Amazonas, Madre de Dios y Loreto.

La especie *Plukenetia huayllabambana* es conocida en la Amazonía peruana, en las provincias de Rodríguez de Mendoza, Bongará y Chachapoyas, en las laderas orientales de los Andes peruanos. Crece de forma dispersa entre las profundas quebradas del bosque húmedo tropical a altitudes entre los 1,300 y 2,200 m.s.n.m. Esta nueva especie se diferencia claramente de la *Plukenetia volubilis* L. por su pequeño número de estambres, la longitud de la columna estilar y el gran tamaño de sus frutos y semillas (Busmann *et al.*, 2009).

2.1.3. Características agronómicas

Ésta es una planta que se adapta a suelos arcillosos y ácidos, se desarrolla mejor en climas cálidos y presenta características muy favorables para la reforestación. La siembra del sacha inchi con tutores vivos, que consisten en plantas arbóreas que sirven como soporte para el sacha inchi y le permiten estar totalmente expuesta a la radiación solar, al contorno de los cerros (laderas) protegería a los suelos de la erosión indiscriminada, situación en la que se encuentran la mayoría de los suelos de la Región San Martín (Manco, 2006).

Arévalo (2000) señala que es una planta de rápido crecimiento, requiere de disponibilidad permanente de agua para tener un crecimiento sostenido y abundante luz para el proceso de fotosíntesis. Manco (2006) menciona que la producción se inicia a los seis y medio meses del trasplante, obteniéndose en el primer año rendimientos promedios de 0.7 a 2.0 t/HA. Además, si se desarrolla en asociación y con cultivos de cobertura, alcanza edades hasta de 10 años. Según Pariona (2008) esta planta hermafrodita presenta crecimiento vegetativo y fructificación continuo durante todo el año, sin embargo en verano el número de cápsulas se incrementa y baja en invierno.

Manco (2006) menciona que los parámetros de temperaturas adaptables a esta semilla están entre 10 y 36 °C, temperaturas altas son desfavorables porque ocasiona aborto en flores y la conformación de semillas pequeñas. La luz es otro factor importante en esta especie; mientras más luz reciba la cubierta vegetal, mayor es la población de brotes, flores y frutos.

2.1.4. Composición química

Muñoz *et al.* (2013) determinó el contenido nutricional de las semillas de *Plukenetia huayllabambana* de dos campos de cultivo de la provincia de Rodríguez de Mendoza de la región Amazonas, los resultados que obtuvieron se presentan en el Cuadro 1.

Por otro lado, Muñoz *et al.* (2013) determinaron que existía una ligera diferencia en el contenido de ácidos grasos palmítico (5.4%), oleico (9.8%) y linoleico (28.5%) entre las dos muestras estudiadas, encontrándose mayor contenido en la muestra 1, siendo el ácido graso más abundante el linolénico (54%) presente en mayor concentración en la muestra dos, tal como se observa en el Cuadro 2.

Cuadro 1: Contenido de macronutrientes en dos muestras de semillas de *Plukenetia huayllabambana*

Macronutrientes	Muestra 1 (% , b.s.)	Muestra 2 (% , b.s.)
Grasa	45.87	48.84
Proteínas	21.13	20.33
Agua	4.82	7.84
Cenizas	2.36	2.30
Fibra	2.62	2.63
Carbohidratos	25.84	20.70

FUENTE: Muñoz *et al.* (2013)

Cuadro 2: Contenido de ácidos grasos en el aceite de dos muestras de semilla de *Plukenetia huayllabambana*

Perfil de ácidos grasos	Muestra 1 (g/100 g)	Muestra 2 (g/100g)
Palmítico (C16:0)	5.36	5.16
Esteárico (C18:0)	2.41	2.17
Oleico (C18:1)	9.80	9.33
Linoleico (C18:2)	28.47	28.09
Linolénico (C18:3)	52.67	54.00

FUENTE: Muñoz *et al.* (2013)

2.1.5. Propiedades benéficas

En los últimos años, la *P. volubilis* ha sido objeto de un redescubrimiento, debido a sus altas concentraciones de los ácidos grasos omega-3, omega-6 y proteínas, superiores a los aceites de semillas oleaginosas tradicionales (Hazen *et al.*, 1980; citado por Manco, 2006). Estas características químicas son las que confieren a esta especie propiedades ideales para mejorar la dieta alimenticia de las personas, así como para la recuperación de enfermos, disminuir el colesterol y la obesidad (Ronayne, 2000; Lunn y Hannah., 2006); propiedades que podrían verse comprendidas también en la *P. huayllabambana* al poseer un perfil de ácidos grasos omegas y contenido de proteínas cercano a la *P. volubilis* (Muñoz *et al.*, 2013).

Los ácidos grasos linoleico (pertenecientes a la familia omega-6 de los ácidos grasos) y los ácidos grasos α -linolénico (pertenecientes a la familia de los omega-3) son considerados esenciales, ya que no pueden ser sintetizados por los mamíferos y deben ser obtenidos mediante los alimentos (Moreira y Mancini, 2004).

Investigaciones previas señalan que el sacha inchi posee las siguientes propiedades curativas del sacha inchi son las siguientes: ayuda a transportar el oxígeno de las células de la sangre a los tejidos, disminuye el colesterol reduciendo el riesgo de enfermedades coronarias, tiene efecto antihipertensivo, regula la presión arterial, mantiene la fluidez y rigidez de las membranas celulares, regula las transmisiones nerviosas y de comunicación. También se presume que se pueden lograr mejoras en la salud como por ejemplo: en diabetes, artritis e incluso en ciertos trastornos psicológicos y cáncer (cáncer de mama, carcinoma de próstata) (Tito y Bautista, 2009; Hanssen y Schmitz-Hübsch, 2011).

2.2. Los antioxidantes

Según Porkony *et al.* (2005), los antioxidantes de los alimentos pueden ser definidos como cualquier sustancia que es capaz de aplazar, retardar o prevenir el desarrollo de la rancidez en el alimento u otro deterioro del *flavor* que se produzca como consecuencia de la oxidación. Los antioxidantes retardan el desarrollo de *flavores* inadecuados prolongando el período de inducción de esta reacción, por lo que su adición al final de este período no consigue retardar el desarrollo del enranciamiento.

Así mismo Antolovich *et al.* (2002), señala que un antioxidante puede ser definido como cualquier sustancia que cuando está presente en bajas concentraciones, comparadas con aquellas del sustrato oxidable, retarda significativamente o inhibe la oxidación del sustrato.

Los antioxidantes se utilizan para evitar la oxidación de los compuestos que son propensos a reaccionar con el oxígeno, tales como vitaminas y ácidos grasos insaturados. La oxidación es típicamente un problema para los alimentos procesados almacenados y, el uso de antioxidantes en combinación con materiales adecuados de envasado es claramente beneficioso (Boekel *et al.*, 2010).

Por conveniencia, los antioxidantes han sido tradicionalmente divididos en dos clases, antioxidantes primarios y antioxidantes secundarios o preventivos. Los antioxidantes secundarios o preventivos son compuestos que retardan la velocidad de oxidación. Esto se puede lograr de diversas formas incluyendo la remoción de sustrato o bloqueando el oxígeno singlete. Los antioxidantes primarios, cuando están presentes en cantidades trazas, pueden retardar o inhibir el paso de la iniciación mediante la reacción con un radical lipídico o inhibiendo el paso de propagación mediante la reacción con radicales peroxilos o alcoxilos (Antolovich *et al.*, 2002).

2.3. La capacidad antioxidante

Los alimentos de origen vegetal no sólo proporcionan a nuestra dieta vitaminas antioxidantes como la vitamina C, vitamina E y provitamina A, sino también una compleja mezcla de otras sustancias naturales con capacidad antioxidante (Krinsky, 1989; citado por Arnao *et al.*, 2001). Según numerosos estudios, esta actividad antioxidante parece estar estrechamente relacionada con la prevención de enfermedades degenerativas, tales como los diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurológicas, cataratas y disfunciones de estrés oxidativo (Frei, 1994; Gey *et al.*, 1991; Mackerras, 1995; Riemersma, 1994; Schwartz, 1996; citados por Arnao *et al.*, 2001).

Según Boekel *et al.* (2010), la capacidad antioxidante es un índice que describe la habilidad de los antioxidantes presentes en los alimentos para barrer los radicales libres previamente formados. Además de ser importante desde un punto de vista nutricional, la capacidad antioxidante de un ingrediente alimenticio también es importante desde la

perspectiva de ofrecer estabilidad a los alimentos, como los efectos frente a la oxidación de alimentos que a menudo conduce a sabores inaceptables, colores, o la pérdida de nutrientes (Davis *et al.*, 2010).

Antolovich *et al.* (2002) indica que la capacidad antioxidante no puede ser medida directamente, sino más bien mediante los efectos de los antioxidantes en el control del grado de oxidación. Los métodos muestran gran diversidad. Los componentes de una oxidación son un sustrato, un oxidante y un iniciador, productos intermedios y finales; la medición de cualquiera de estos pueden ser utilizados para evaluar la actividad antioxidante.

Los métodos para medir la capacidad antioxidante están básicamente clasificados en dos grupos, dependiendo del mecanismo de reacción: métodos basados en la transferencia del átomo de hidrógeno (TAH) y métodos basados en la transferencia de electrones (TE) (Huang *et al.*, 2005; citados por Zulueta *et al.*, 2009). La mayoría de los ensayos basados en la TAH aplican un esquema competitivo, en el que el antioxidante y el sustrato compiten por los radicales peroxilo generados térmicamente a través de la descomposición de compuestos azo. Los ensayos basados en la TE miden la capacidad de un antioxidante en la reducción de un oxidante, que cambia de color cuando es reducido. La intensidad del cambio de color está correlacionada con las concentraciones de antioxidantes en la muestra. Los ensayos de capacidad antioxidante equivalente Trolox (ABTS) y capacidad antioxidante del radical oxígeno (ORAC) son los más métodos más usados en TE y TAH, respectivamente (Zulueta *et al.*, 2009).

2.4. Los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son considerados metabolitos secundarios sintetizados por las plantas durante su desarrollo normal y como respuesta a las condiciones de estrés como: infecciones, heridas, radiación ultravioleta, entre otros. Los compuestos fenólicos de las plantas incluyen a los fenoles simples, ácidos fenólicos (derivados del ácido benzoico y cinámico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolizables y condensados, lignanos y ligninas (Naczk y Shahidi, 2004).

Según Avello y Swuwalsky (2006), estructuralmente, los compuestos fenólicos comprenden un anillo aromático teniendo uno o más sustituyentes hidróxilo y van desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos polimerizados.

La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento (Proestos *et al.*, 2005).

Según Manach *et al.* (1997) citados por Soler (2009), los mecanismos de acción y particularidades por los que fenoles presentan actividad antioxidante son diversos. Cada fenol actuará por uno o más mecanismos, según sus propiedades características. La explicación química de estos mecanismos que han sido elucidados son los siguientes:

- Prevenir la iniciación de la cadena de reacciones de oxidación mediante la combinación con los radicales iniciadores, tales como los radicales hidroxilo. Ejm: los ácidos y alcoholes fenólicos como el ácido cafeico o el hidroxitirosol (Bourne y Rice-Evans, 1998; Boersma *et al.*, 2002; Dinella *et al.*, 2007; citados por Soler, 2009).
- Descomponer peróxidos al convertirlos en especies no radicales, tales como alcoholes (Shishikura *et al.*, 2006; citados por Soler, 2009).
- Actuación como secuestradores de radicales libres. Cada uno de los fenoles tiene distinta especificidad por las distintas especies oxidantes que se generan en el organismo (Soler, 2009).
- De forma indirecta, actúan como agentes quelantes de metales de transición, ya que al unirse a ellos reducen la capacidad de éstos para generar radicales libres, mediante reacciones de Fenton (Ruano *et al.*, 2007; citados por Soler, 2009).
- Por su solubilidad pueden localizarse sobre las superficies de estructuras celulares, biomoléculas, etc., disminuyendo el consumo de antioxidantes propios de éstas, como pueden ser la vitamina E o los carotenoides, e incluso en algunos casos regenerando estos antioxidantes, una vez oxidados (Visiulli *et al.*, 2004; citados por Soler, 2009).
- Por su capacidad de inducir, inhibir, activar o proteger determinadas enzimas en el organismo (Vanharanta *et al.*, 1999; citados por Soler, 2009).

2.5. Los tocoferoles

Los tocoferoles son sistemas de autoprotección contra la oxidación para preservar la calidad del aceite, ellos actúan mediante la donación de hidrógeno a los radicales peróxido y retardan la producción de sabores desagradables (Bostyn *et al.*, 2008 citados por Varidya y Choe, 2011). Los tocoferoles son compuestos beneficiosos que comúnmente se encuentran en aceites comestibles y son más sensibles a la temperatura que a la luz (Henry *et al.*, 1998; citados por Vaidya y Choe, 2011). Wall (2010) menciona que estos compuestos han demostrado contribuir a la estabilidad de la semilla de avellanas y nueces.

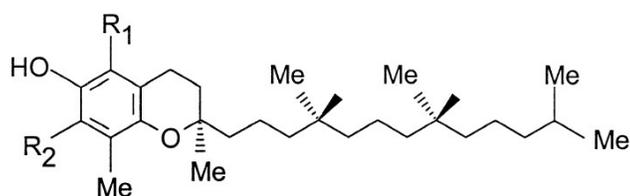
La estructura de los tocoferoles, consta de dos partes primarias, un anillo complejo cromanol con un hidroxilo (6- hidroxicromano) y una larga cadena lateral de 16 carbonos constituidas por la unión de tres unidades de isopreno saturado (Pita, 1997 y Bramley *et al.*, 2000; citados por Núñez, 2007).

Según Sayago *et al.* (2007), la vitamina E está formada por un grupo de 8 vitámeros. Estos se dividen en 2 grupos fundamentales: 4 tocoferoles y 4 tocotrienoles que se diferencian en la saturación de la cadena lateral; los tocoferoles tienen una cadena saturada y los tocotrienoles una insaturada con 3 dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11. Dentro de cada grupo, los vitámeros difieren en el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromanol, designándose como α , β , γ y δ (Figura 2).

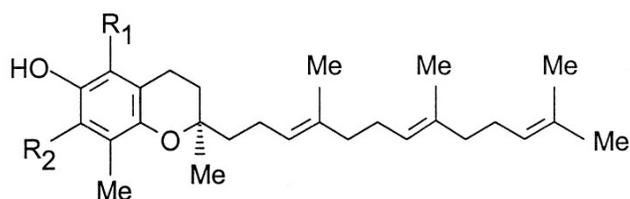
Seppanen *et al.* (2010) menciona que los tocoferoles se encuentran en los granos enteros, las semillas, las nueces, los aceites vegetales, las frutas, las verduras, la carne, el pescado, la leche y los productos derivados. Los tocoferoles están presentes principalmente en aceite de semillas, aceites, carnes y partes verdes de las plantas superiores, mientras que los tocotrienoles se encuentran principalmente en el germen y el salvado fracción de ciertas semillas y cereales. Los más abundantes antioxidantes naturales de los aceites vegetales son la α - y γ -tocoferoles.

El rol principal de la vitamina E es la inhibición de los procesos de oxidación de lípidos en alimentos y sistemas biológicos. En las plantas son biosintetizados en los cloroplastos, por lo que cumpliría una función clave en la protección del complejo fotosintético y la

protección de las semillas durante el almacenamiento, la germinación, y el temprano desarrollo (Schneider, 2005; citado por Núñez, 2007).



Tocoferoles



Tocotrienoles

Estructura tocol	Estructura trienol	R ₁	R ₂
α-Tocoferol (α-T) (5,7,8-trimetil tocol)	α-Tocotrienol (α-3) (5,7,8-trimetil tocotrienol)	Me	Me
β-Tocoferol (β-T) (5,8-dimetil tocol)	β-Tocotrienol (β-3) (5,8-dimetil tocotrienol)	Me	H
γ-Tocoferol (γ-T) (7,8-dimetil tocol)	γ-Tocotrienol (γ-3) (7,8-dimetil tocotrienol)	H	Me
δ-Tocoferol (δ-T) (8-monometil tocol)	δ-Tocotrienol (δ-3) (8-monometil tocotrienol)	H	H

Figura 2: Estructuras y posiciones metilo de los ocho tipos naturales de vitamina E.

FUENTE: Kamal-Eldin *et al.* (2000)

La actividad antioxidante de los tocoferoles se debe a su capacidad para donar su hidrógeno fenólico a los radicales libres de los lípidos y retrasar el proceso autocatalítico de peroxidación lipídica. Originalmente el poder donar hidrógeno se cree que está en el orden de un $\alpha > \beta > \gamma > \delta$ en los homólogos de tocoferol (Kamal-Eldin y Appelqvist; 1996 citados por Seppanen *et al.*, 2010). El α -tocoferol es el más importante para la salud humana y tiene la mayor actividad de la vitamina E. Esto es porque la forma α - es la única especie de tocoferol que puede ser absorbida y transportada en el cuerpo humano (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996 citados por Munné-Bosch y Alegre, 2002).

2.6. Los ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos de cadena larga. Por lo general, contienen un número par de átomos de carbono, normalmente entre 12 y 24. Ello se debe a que la síntesis biológica tiene lugar mediante la unión sucesiva de unidades de dos átomos de carbono. Sin embargo también existen ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono, que probablemente se derivan de la metilación de un ácido graso de cadena par (Pariona, 2008). En el Cuadro 3 se muestra la composición de algunos ácidos grasos provenientes de diferentes fuentes.

Cuadro 3: Estructura de ácidos grasos

Nombre	Carbonos	Estructura
<i>Saturados</i>		
Láurico	12	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Mirístico	14	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmítico	16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Esteárico	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Araquídico	20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
<i>Insaturados</i>		
Palmitoleico	16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}(\text{cis})$
Oleico	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}(\text{cis})$
Linoleico	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}(\text{cis, cis})$
α -Linolénico	18	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ (cis)
Araquidónico	20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}(\text{todo cis})$

FUENTE: Pariona (2008)

Los ácidos grasos constitutivos de los triglicéridos de las grasas y aceites dietéticos satisfacen una buena parte de nuestras exigencias energéticas y cuando se consumen en exceso, contribuyen al acúmulo del tejido adiposo en nuestro cuerpo (Coultate, 2002).

Según la naturaleza de la cadena hidrocarbonada se clasifican en: Ácidos grasos saturados e insaturados.

2.6.1. Los ácidos grasos saturados

Están formados por una cadena lineal de átomos de carbono unidos por enlaces sencillos (sin enlaces dobles). Los enlaces de la cadena entre los carbonos restantes están ocupados por hidrógenos. Se clasifican de acuerdo con la longitud de la cadena: corta (menor de 6 carbonos), media (entre 6 a 10 carbonos) y larga (igual a 12 carbonos o mayor). En general, las grasas de los alimentos con mayor proporción de ácidos grasos saturados de cadena larga permanecen sólidas a temperatura ambiente. Una propiedad importante de los ácidos grasos saturados es que son más resistentes a la oxidación, al calor y a la luz (Velásquez, 2006).

2.6.2. Ácidos grasos insaturados

Velásquez (2006) menciona que se clasifican según el número de dobles enlaces y de hidrógenos en la cadena de carbonos, es decir, a menor número de hidrógenos menor saturación. A causa de la presencia de dobles enlaces, los ácidos grasos insaturados son más reactivos químicamente que los ácidos grasos saturados. El grado de insaturación (número de dobles enlaces) determina el punto de fusión, temperatura a la cual la grasa sólida se hace líquida. Si un alimento contiene mayor proporción de ácidos grasos insaturados, se requiere menor temperatura para alcanzar el punto de fusión y al contrario es necesaria más temperatura si contiene mayor cantidad de ácidos grasos saturados, como sucede en la manteca de cerdo que es una grasa de consistencia dura. A diferencia de los ácidos grasos saturados que tienen una estructura lineal, los insaturados tienen una unión flexible en los dobles enlace.

Por lo general, las insaturaciones de los ácidos grasos son del tipo *cis*. Esto hace que la disposición de la molécula sea angulada, con el vértice en la insaturación. Los dobles enlaces en *trans* distorsionan poco la simetría cristalina, que es muy parecida a la de los ácidos grasos saturados (Pariona, 2008).

Los ácidos grasos insaturados comprenden:

a. Ácidos grasos *cis*-monoinsaturados

Su denominación *cis* significa que tienen una unión flexible en este doble enlace y los dos hidrógenos al mismo lado de los carbonos del doble enlace. Del total de ácidos grasos *cis*-monoinsaturados que se encuentran en los alimentos, cerca del 92% es ácido oleico (Velásquez, 2006).

b. Ácidos grasos *cis*-poliinsaturados

Estos ácidos grasos poseen más de un doble enlace. A este grupo pertenecen los ácidos grasos linoleico (dos dobles enlaces) y el α -linolénico (tres dobles enlaces). Estos ácidos forman parte de dos familias importantes los ácidos grasos omega-6 y omega-3, también se pueden utilizar las letras griega o latina “ ω ” o “n”. El nombre de cada familia se denomina según la posición del primer doble enlace de la cadena de los ácidos grasos, contando a partir del grupo metilo. Si éste está localizado entre los carbonos sexto y séptimo, el ácido graso pertenece a la familia omega-6, y si está entre los carbonos tres y cuatro a la familia omega-3. Esta misma lógica se aplica para los ácidos omega-9 con doble enlace entre los carbonos nueve y diez. En los alimentos el ácido graso α -linolénico es el principal ácido graso de la familia omega-3, el ácido linoleico del grupo de los omega-6 y el oleico de los omega-9 (Velásquez, 2006).

Según Pariona (2008), algunos ácidos grasos poliinsaturados (linoleico, linolénico y araquidónico) no pueden ser sintetizados por los animales superiores (incluido el hombre) y como su función biológica es fundamental, deben ser suministrados en la dieta. Por este motivo reciben el nombre de ácidos grasos esenciales. Velásquez (2006) indica que las células del organismo sólo producen dobles enlaces en los ácidos grasos, después del carbono 9 y no entre el grupo metilo y el carbono-9. Al contrario, el organismo sintetiza los ácidos grasos de la familia omega-9, dado que el doble enlace está después del carbono 9.

Velásquez (2006) señala que el ácido α -linolénico es esencial para el crecimiento y precursor de las síntesis de ácidos grasos de cadena muy larga: eicosapentanoico (EPA) y

docosahexanoico (DHA). Estos ácidos grasos hacen parte de la corteza cerebral y del centro de la visión del ojo, la retina, y son necesarios para el cumplimiento de funciones y desarrollo de estos órganos.

Coultate (2002) menciona que los animales, y entre ellos los seres humanos, sintetizan fácilmente ácidos grasos saturados de hasta 18 átomos de carbono. Sin embargo, la desaturación, es decir, la inserción de dobles enlaces, sólo puede efectuarse entre los carbonos 9 y 10, o, menos frecuentemente, en otras posiciones más próximas al grupo carboxílico. Esto significa que los animales son incapaces de sintetizar ácido linoleico, pero los seres humanos son capaces de convertir el ácido linoleico en ácido araquidónico. Los aceites de pescado y de linaza son comúnmente fuentes de ácidos grasos poliinsaturados (Rubio-Rodríguez *et al.*, 2010; citados por Prado *et al.*, 2011).

Entre las funciones de los ácidos grasos omega-3 se encuentran (Pariona, 2008):

- Ayudan en las enfermedades con reacciones fisiológicas y fisiopatológicas tales como alteraciones cardiovasculares, prevalencia de diabetes tipo 2, trombosis, hipersensibilidad (artritis reumatoidea, alergias) y coagulación sanguínea.
- Su consumo actúa mejorando la función inmunológica, disminuyendo la agregación de las plaquetas, reduciendo la respuesta inflamatoria en enfermedades y mejorando la dilatación de las arterias.
- Su ingesta baja los triglicéridos.
- Su consumo eleva el colesterol bueno o HDL (protegiendo al corazón y las arterias).
- Estudios más recientes han determinado que la suplementación del omega-3 podría ser provechosa contra muchas enfermedades inflamatorias.

Con respecto a los ácidos grasos omega-6, Pariona (2008) menciona las siguientes funciones:

- Son considerados esenciales con amplios efectos biológicos positivos para la salud, como el alivio de la inflamación relacionada con la artritis reumatoide y los síntomas del síndrome premenstrual. Los efectos biológicos del omega-6 interactúan con los efectos de los ácidos grasos omega-3.

- Un consumo adecuado de omega-6 baja el nivel del colesterol total y del colesterol LDL (colesterol malo).

c. Ácidos grasos *trans*

Velásquez (2006) menciona que son ácidos grasos insaturados que contienen por lo menos un doble enlace. Los dos átomos de hidrógeno de dicho enlace se localizan a los lados opuestos de éste y no al mismo lado como en la configuración *cis* del ácido monoinsaturado oleico y de los ácidos grasos poliinsaturados (Figura 3).



Figura 3: Estructura química de los ácidos grasos *cis* y *trans*

FUENTE: Velásquez (2006)

Estos ácidos grasos se hallan en forma natural en algunos alimentos, como en la grasa de la leche, de la carne y en las grasas que se obtienen especialmente de los aceites vegetales sometidos al proceso de hidrogenación, como las margarinas y las mantecas. En las últimas décadas ha surgido la preocupación por el consumo de ácidos grasos *trans* y el riesgo de enfermedad cardiovascular. En diversas investigaciones, se afirma que estos ácidos grasos son un riesgo para la salud arterial y coronaria (Velásquez, 2006).

2.7. Los fitoesteroles

Según Muñoz *et al.* (2011), los esteroides son compuestos que se encuentran distribuidos en los reinos animal y vegetal, formando parte de la estructura de las membranas celulares y como precursores de hormonas, ácidos biliares y vitamina D.

Los fitoesteroides y fitoestanoles, son esteroides vegetales (compuestos con 28 o 29 átomos de carbono), de estructura similar al colesterol (27 carbonos). Derivan del ciclopentano perhidrofenantreno, diferenciándose en la cadena hidrocarbonada lateral en C-24 (Valenzuela, 2004; Martins *et al.*, 2004; citados por Muñoz *et al.*, 2011).

En la naturaleza, se han descrito más de 200 tipos diferentes de esteroides vegetales en diferentes especies de plantas, siendo los más abundantes: el β -sitosterol, campesterol y stigmasterol, constituyendo el 95-98% de los fitoesteroides identificados (Valenzuela, 2004; citado por Muñoz *et al.*, 2011). En la Figura 4 se muestra la estructura del colesterol y de los principales fitoesteroides.

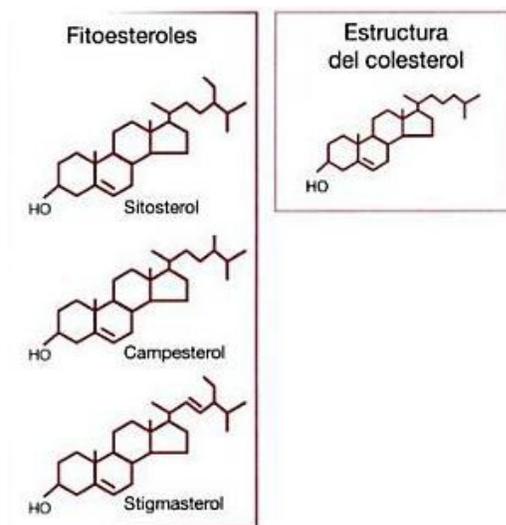


Figura 4: Estructura de los fitosteroides.

FUENTE: Aranceta (2009)

Estos compuestos no son sintetizados por el organismo y son escasamente absorbidos por el intestino (Ros, 2006; citado por Muñoz *et al.*, 2011). La ingesta diaria, es variable, ya que depende de los hábitos alimentarios, encontrándose en un rango de 160 a 500 mg/día (Valenzuela, 2004; citado por Muñoz *et al.*, 2011).

Se ha documentado la actividad hipocolesterolemica de algunos fitosteroides (esteroides de soja, por ejemplo, componentes de aceites vegetales y sitosterol). Los análogos de saturados de los fitosteroides y sus ésteres se han sugerido como eficaces agentes reductores del colesterol que ofrecen beneficios de salud cardiológicos (Abidi, 2001).

Se han descrito numerosos efectos fisiológicos de los fitoesteroides y fitoesteroides. Se les atribuye propiedades antiinflamatorias, antitumorales, bactericidas y antifúngicas. Sin embargo, el efecto mejor caracterizado y científicamente demostrado de estos compuestos

es su acción hipocolesterolémica, tanto a nivel del colesterol total como del colesterol-LDL (Aranceta, 2009). Muñoz *et al.* (2011) indica que hay numerosas evidencias científicas, de estudios clínicos controlados, en las que se indica que el consumo de fitoesteroles o estanoles en dosis de 1.5-4 g/día disminuye la colesterolemia en promedio de 10%, con una variabilidad entre 5 y 25%.

2.8. La oxidación lipídica

La oxidación es una de las principales causas de deterioro del aceite dando lugar a sabores desagradables y rancidez (Warner *et al.*, 2002). Navarro *et al.* (2004) menciona que el deterioro oxidativo se debe a la peroxidación de los componentes insaturados de los aceites, siendo la auto-oxidación, un complejo conjunto de reacciones de naturaleza auto-catalítica, una de las vías más importantes de adición del oxígeno a los lípidos. La auto-oxidación tiene lugar a través de un mecanismo de reacciones en cadena, ocasionado por radicales libres, esta se divide en tres fases: iniciación, propagación y terminación.

La oxidación se inicia mediante la generación de un radical, en general, un radical alquilo de un ácido graso poliinsaturado mediante la acción de un iniciador, que podría ser diversas formas de oxígeno activo (ejem. $\text{OH}\cdot$, $\text{HO}_2\cdot$), la lipoxigenasa, el calor, la luz y/o trazas de metales (Munné-Bosch y Alegre, 2002).

A continuación se detallan cada una de las fases (Hamilton, 1999; citado por Navarro *et al.*, 2004):

- **Iniciación:** en este paso, un radical libre ataca a un grupo metileno de la cadena carbonada del ácido graso, extrayendo un átomo de hidrógeno, lo que da lugar a un nuevo radical libre. En los ácidos grasos altamente insaturados, esta reacción se ve favorecida debido a la alta reactividad de los grupos metilenos adyacentes a los dobles enlaces. Los radicales libres lipídicos tienden a estabilizarse mediante un reordenamiento interno dando lugar a los dienos conjugados.
- **Propagación:** El radical $\text{R}\cdot$ producido en la fase de iniciación puede reaccionar para formar un radical lipídico $\text{ROO}\cdot$ el que puede reaccionar posteriormente para dar un hidroperóxido ROOH . En la segunda reacción dentro de la fase de propagación,

- además se produce un nuevo radical libre $R\cdot$, lo que hace que el proceso sea auto-propagable.
- **Terminación:** La reacción puede detenerse mediante la incorporación de un antioxidante. El antioxidante actúa atrapando a los radicales libre, finalizando la fase propagación. El electrón no apareado del antioxidante se deslocaliza dentro de la estructura del anillo aromático lo que estabiliza al compuesto formado. Otra vía de que concluya la auto-oxidación es que cualquier clase de radical libre alquílico del lípido $R\cdot$ reaccione con un radical libre lipídico peroxi $ROO\cdot$ dando lugar a una especie relativamente estable, no-iniciadora y no-propagadora. De forma similar dos radicales libre alquílicos $R\cdot$ pueden unirse también.

2.9. El Tostado

El tratamiento térmico de los granos, frutas, y verduras produce muchos cambios, no sólo en las características físicas y el sabor, sino también en la composición química. Muchos estudios han demostrado que el tratamiento térmico preserva los efectos benéficos de salud por la mejora de la actividad antioxidante (Dewanto *et al.*, 2002; Jaramillo *et al.*, 2003; Nicoli *et al.*, 1997).

Según Boekel *et al.* (2010), el tostado es importante para aumentar la seguridad de los alimentos mediante la eliminación de patógenos y la mejora de los parámetros de calidad mediante la creación de un sabor más deseable y el perfil de textura para el consumidor. El tostado también puede proporcionar un aumento de la biodisponibilidad y la funcionalidad de ciertos componentes nutricionales.

La comprensión del proceso de tostado es de interés debido a que es una etapa crítica, no sólo para el maní sino para otros productos alimenticios tales como café, cacao, granos y otros frutos. El tostado es fundamental para el desarrollo de color, sabor y textura, a través de reacciones químicas, de la transferencia de calor y del secado que se producen durante esta etapa (Saklar *et al.*, 1999; Simsek, 2007).

McDaniel (2011) evaluó el tostado en maníes a temperaturas en el rango de 147-187 °C y tiempos entre 10 y 70 minutos, señalando que durante el tostado los tocoferoles ayudan a prevenir la oxidación de los maníes mediante la interrupción de las reacciones en cadena de radicales libres. Con el incremento de tiempo y calor, se espera que el contenido de tocoferoles disminuya a medida que se utiliza como un antioxidante. Sin embargo, se ha reportado que la capacidad antioxidante de los maníes tostados es significativamente mayor que la de los maníes crudos (Davis *et al.*, 2010; Talcott *et al.*, 2005). Los maníes crudos contienen un nivel inicial de antioxidantes inherente, durante el tostado algunos antioxidantes se pierden debido a la inestabilidad de calor, mientras que otros se formarán a través reacciones químicas tales como la reacción de Maillard (Acar *et al.*, 2009).

Oliviero *et al.* (2009) señala que el tostado es un método de tratamiento térmico que utiliza tratamiento con calor seco y provoca que los compuestos fenólicos se degraden y quedan ligados a estructuras poliméricas, dependiendo de las condiciones de tostado.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo se llevó a cabo en el área de Biotecnología Industrial del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2. Materia prima

Semillas de *Plukenetia huayllabambana* procedentes de la Provincia de Rodríguez de Mendoza del Departamento de Amazonas (Perú).

3.3. Reactivos, materiales y equipos

3.3.1. Reactivos

- 2,2'-Azobis(2-metilpropionamidina)dihidroclorido 97%, SIGMA-ALDRICH (EE.UU.)
- 2,6-Di-ter-butil-4-metil-fenol 99%, SIGMA-ALDRICH (Alemania)
- Acetona, J. T. BAKER (EE.UU.)
- Ácido acético glacial, FERMONT (México)
- Ácido clorhídrico p.a. grado reactivo, J. A. ELMER (Perú)
- Alcohol etílico absoluto, FERMONT (México)
- Almidón soluble, J.T. BAKER (EE.UU.)
- β -ciclodextrina metilada, CYCLOLAB (Hungria)
- Carbonato de sodio anhidro, J.T. Baker (EE.UU.)
- Cloroformo, FERMONT (México)
- Cloruro de sodio, J. T. Baker (EE.UU.)
- Diclorometano, J. T. Baker (EE.UU.)
- Éter de petróleo, TEDIA (EE.UU.)

- Fenolftaleína extra pura, MERCK (Alemania)
- Fosfato de potasio monobásico, MERCK (Alemania)
- Fluoresceína sal de sodio, SIGMA-ALDRICH (EE.UU.)
- Hexano p.a., J. T. Baker (EE.UU.)
- Hexano (95% n-hexano) grado HPLC, J. T. Baker (EE.UU.)
- Hidrogenofosfato dipotásico anhidro, MERCK (Alemania)
- Hidróxido de potasio, MERCK (Alemania)
- Hidróxido de sodio, MERCK (Alemania)
- Isooctano (2,2,4-trimetilpentano), FERMONT (México)
- Metanol, FERMONT (Alemania)
- Nitrógeno líquido
- Nitrógeno gaseoso
- n-Heptano 99% grado HPLC, TEDIA (EE.UU.)
- *p*-Anisidina 99%, ALDRICH (EE.UU.)
- Reactivo del fenol según Folin-Ciocalteu, MERCK (Alemania)
- Sulfato de sodio anhidro, FERMONT (México)
- Tiosulfato de sodio, MERCK (Alemania)
- Yoduro de potasio, FERMONT (México)

3.3.2. Materiales

- Bureta de 25 ml
- Campana desecadora
- Embudo
- Frascos ámbar
- Gradilla
- Microbureta de 2 ml
- Micropipetas 10-200 μ l, 100-1,000 μ l y 0.5-5 ml
- Microplaca 96 pocillos
- Microtubos con tapa rosca
- Papel de filtración rápida grado FP0856, Hahnemühle Fineart (Alemania)
- Papel *tissue*
- Parafilm M, Pechiney Plastic Packaging (EE.UU.)

- Pera de succión
- Peras de decantación de 60 ml
- Pinzas
- Placas petri
- Tubos plásticos de centrífuga con tapa rosca de 15 ml
- Tubos plásticos de centrífuga con tapa rosca de 50 ml
- Tubos de microcentífuga de 1.5 ml
- Tubos de microcentífuga de 2 ml

3.3.3. Equipos

- Agitador elíptico, HEIDOLPH Polymax 2040
- Agitador magnético con temperatura, IKA WORKS USA Ceramag Midi
- Agitador Vortex Mixer Wizard, VELP SCIENTIFICA 0-3000 rpm
- Balanza analítica, OHAUS Adventurer AR2140
- Baño maría con agitación, GFL Modelo 1083
- Bomba al vacío Diaphragm Vacuum Pump, VACUUBRAND ME 2C
- Campana extractora
- Centrífuga Rotofix 32, HETTICH ZENTRIFUGEN
- Congeladora MIRAY, Modelo MF-110
- Cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) Waters 2695 Separation Module con columna YMC-Pack-Sil
- Cromatógrafo de gases CG-2010 Plus SHIMADZU con autoinyector AOC-20i SHIMADZU y automuestreador AOC-20s SHIMADZU con columna Restek Rt-2560 (Bellefonte, PA) (0.2 μ m, 100 m x 0.25 mm ID)
- Desionizador de agua, Simplicity UV MILLIPORE
- Destilador de agua, 2008 G.F.L.
- Equipo soxhlet con calentador, GLAS-COL Combo Mantle
- Espectrofotómetro, THERMO ELECTRON CORPORATION Modelo Genesys 10UV
- Estufa al vacío, VWR INTERNATIONAL Modelo 1400E-2 de 0-30 in.Hg
- Horno con flujo de aire, VENTICEL MMM Medcenter Einrichtungen GmbH
- Potenciómetro, THERMO ORION Modelo 410
- Refrigeradora, LG

- Rotavapor, HEIDOLPH Laborota 400-Efficient
- Microcentrífuga Mikro 20, HETTICH ZENTRIFUGEN

3.3.4. Estándares

- Ácido gálico, SIGMA-ALDRICH
- Tocoferol D-Alfa, CHROMADEX (EE.UU.)
- Tocoferol D-Beta, CHROMADEX (EE.UU.)
- Tocoferol D-Delta, CHROMADEX (EE.UU.)
- Tocoferol D-Gamma, CHROMADEX (EE.UU.)
- Campesterol, CHROMADEX (EE.UU.)
- Sitosterol B-, CHROMADEX (EE.UU.)
- Stigmasterol, CHROMADEX (EE.UU.)
- β -colestanol, CHROMADEX (EE.UU.)
- Ácido graso C11:0, SUPELCO (EE.UU.)
- Ésteres metílicos de 37 ácidos grasos. Estándar FAMES 37 Comp. FAME Mix 10 mg/mL, SUPELCO (EE.UU.)
- Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-carboxílico) grado HPLC, FLUKA (Alemania)

3.4. Métodos de análisis

En el aceite se determinaron los siguientes análisis:

3.4.1. Ácidos grasos libres

Se determinó según el método de la AOAC 940.28 (1998) para aceites crudos. Se procedió de la siguiente forma:

Se pesaron 7.05 g de aceite en un matraz de 250ml. Se añadió 50 ml de etanol grado analítico, previamente neutralizado con solución estándar NaOH 0.1 N en presencia de fenolftaleína 0.1% hasta producir un color rosado tenue permanente.

Después se añadió 500 µl de fenolftaleína 0.1% a la mezcla y se procedió a titular con solución estándar de NaOH 0.25 N agitando continuamente hasta la aparición de un color rosado tenue que persista por un tiempo mayor o igual a un minuto. El reporte como porcentaje de ácidos grasos se expresa como ácido oleico; los ml de NaOH 0.25N usados en la titulación corresponden a este porcentaje.

Los cálculos se realizaron con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ ácidos grasos libres (como ácido oleico)} = \frac{V \times N \times 282}{10 \times P}$$

Donde:

V: Volumen (en mililitros) de hidróxido de sodio usado para titular la muestra.

N: Normalidad de la solución de hidróxido de sodio estandarizada (0.25).

P: Peso del aceite en gramos.

Los resultados se expresaron en gramos de ácido oleico por 100 gramos de aceite.

3.4.2. Índice de peróxido

Se determinó según el método recomendado de la AOAC 965.33 (1998), se realizó de la siguiente manera: Se pesaron 5 g del aceite en un matraz de 250 ml, seguidamente se agregaron 30 ml de una solución de ácido acético:cloroformo (3:2; v/v) para disolver la muestra. Luego se añadieron 500 µl de solución de yoduro de potasio saturada y se agitó vigorosamente por un minuto. Posteriormente se adicionaron 30 ml de agua destilada y 1ml de solución de almidón al 1%. Finalmente, la solución se tituló con tiosulfato de sodio 0.01 N estandarizado hasta la desaparición del color azul.

El índice de peróxido se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{(M-B) \times N}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

Donde:

M: Volumen (en mililitros) de tiosulfato de sodio usado para titular la muestra.

S: Volumen (en mililitros) de tiosulfato de sodio usado para titular el blanco.

N: Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio estandarizada (0.01).

Los resultados se expresaron en miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de aceite (meq O₂/Kg aceite).

3.4.3. Dienos y trienos conjugados

Se siguió el método de la AOAC 957.13 para ácidos poliinsaturados en aceites y grasas (1998). El procedimiento fue el siguiente: se pesaron 15.0 ± 0.5 y 100 ± 0.5 miligramos de la muestra de aceite en tubos de centrífuga para analizar dienos y trienos, respectivamente. Las muestras se diluyeron con 6 y 5 ml de isooctano, respectivamente. Luego los tubos se agitaron enérgicamente por un par de minutos. Seguidamente se realizaron lecturas en la región ultravioleta a longitudes de onda de 233 nm para dienos y 262, 268 y 271 nm usando cubeta de cuarzo. Para el blanco se usó isooctano.

Los cálculos se realizaron de la siguiente manera:

- a. Determinación de las absorptividades (a)

$$a = A/b.c$$

Donde:

A = Absorbancia según la longitud de onda.

b = Longitud de la celda en centímetros.

c = Concentración en gramos de aceite por litro de solvente.

- b. Cálculo para conocer la cantidad de dienos propiamente dicha

$$a_D = a_{233} - a_B$$

Donde:

a_D = Absortividad para los dienos conjugados.

a_0 = 0.03 (coeficiente para ácidos grasos).

a_{233nm} = Absortividad determinada a 233 nm.

c. Cálculo para conocer la cantidad de trienos

$$a_T = 2.8 \left(a_{268nm} - \frac{1}{2} (a_{262nm} + a_{274nm}) \right)$$

Donde:

a_T = Absortividad para los trienos conjugados.

a_{268nm} = Absortividad determinada a 268 nm.

a_{262nm} = Absortividad determinada a 262 nm.

a_{274nm} = Absortividad determinada a 268 nm.

Los resultados para ambos análisis fueron expresados como valores absolutos.

3.4.4. Índice de *p*-anisidina

Se determinó según el método de la IUPAC (1987). El procedimiento fue el siguiente: se pesaron 2.5 g de aceite en un tubo de centrifuga de 15 ml, seguidamente se adicionaron 7 ml de isooctano y se agitó la solución con la ayuda de un vortex hasta conseguir la disolución de la muestra; luego se tomó la medida de la absorbancia a 350 nm (A_b). A continuación se tomó una alícuota de 5 ml, la cual fue colocada en un tubo de vidrio para luego adicionarle 1 ml del reactivo de *p*-anisidina, se agitó hasta homogenizar correctamente y se dejó reposar por 10 minutos; paralelamente se preparó un blanco para calibrar el espectrofotómetro siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente, pero reemplazando la muestra por 5 ml de isooctano. Al término del tiempo de reposo, se procedió a tomar la lectura de la absorbancia a 350 nm (A_s). Para leer la absorbancia se colocó la muestra en una cubeta de cuarzo.

Los cálculos se realizaron con la siguiente fórmula:

$$\text{Valor de } p - \text{anisidina} = \frac{V (1.2A_s - A_b)}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

Donde:

Ab: Absorbancia de la muestra sin reaccionar.

As: Absorbancia de la muestra después de 10 minutos de reacción.

V: Volumen de isooctano empleado para disolver el aceite.

Los resultados fueron expresados como valores absolutos.

En la almendra se determinaron los siguientes análisis:

3.4.5. Humedad y materia seca

Se utilizó el método AOAC 925.40 (1998) para nueces y productos de nueces. Este es un método gravimétrico porcentual donde un peso determinado de almendras molidas (sin cáscara) fue secado en estufa al vacío a 100 °C hasta obtener un peso constante (7 horas) a una presión de vacío entre 48.8 y 100 mmHg, se realizó por triplicado para cada muestra. El contenido de humedad fue el resultado de la pérdida de peso al término del tiempo indicado y el valor de humedad expresado en porcentaje. El valor de materia seca se obtuvo por diferencia del cien por ciento y el valor de la humedad en porcentaje.

3.4.6. Contenido de aceite

Se utilizó el método AOAC 948.22 (1998) para nueces y productos de nueces empleando éter de petróleo como solvente de extracción en Soxhlet. Los resultados se reportaron como porcentaje.

3.4.7. Contenido de ácidos grasos

Se determinó según el método reportado por Michotte *et al.* (2011) con ligeras modificaciones (ANEXO 1), ya que la dilución que se inyectó al cromatógrafo de gases fue 150 µl de extracto/10 ml de hexano, mientras que Michotte *et al.* (2011) reportan que la inyección fue directa, sin dilución.

Este método se basa en la metilesterificación de los ácidos grasos, de esta forma se da la extracción de los ésteres metílicos de ácidos grasos, los cuales luego fueron inyectados en el cromatógrafo de gases para su cuantificación.

Las curvas de calibración para los ácidos grasos fueron construidos con diferentes concentraciones de ésteres metílicos de ácidos grasos dentro del rango de 6-90 mg/l (ANEXO 2). Los resultados fueron expresados como g de ácidos grasos por 100 g de almendra, en base seca (b.s.).

3.4.8. Contenido de tocoferoles

Se determinó según el método descrito por Amaral *et al.* (2005) con algunas modificaciones (ANEXO 3), ya que se usaron 400 mg de almendra molida de *P. huayllabambana* en vez de los 300 mg señalados en el método original, luego se le adicionaron 75 µl de una solución de BHT (10 mg/ml de hexano). Por otro lado, la fase móvil usada para la separación cromatográfica fue una mezcla de n-hexano/2-propanol/ácido acético (1000: 6: 5, v/v/v) en vez de hexano/dioxano (95.5:4.5, v/v).

Este método consiste en una extracción simplificada sólido-líquido, el extracto obtenido luego fue inyectado en el HPLC para su cuantificación.

Los resultados se expresaron como mg de tocoferol por 100 gramos de almendra (b.s.) considerando las curvas estándar para cada tocoferol evaluado (ANEXO 4).

3.4.9. Contenido de fitoesteroles

Se determinó según el método reportado por Duchateau *et al.* (2002), con algunas modificaciones (ANEXO 5), ya que se usaron 100 mg de aceite en vez de 50 mg y saponificación en baño de maría se realizó a 60 °C por una hora y media en vez de 70 °C por 50 minutos.

Este método se basa en la saponificación de toda la muestra seguida de una extracción líquido/líquido de un solo paso, la determinación y cuantificación cromatográfica sin derivatización usando un estándar interno (β -colestano).

Las curvas estándares de los diferentes fitosteroles fueron determinados utilizando un rango de concentraciones de 5-100 mg/l (ANEXO 6). Los resultados fueron expresados en mg de fitosterol por 100 g de almendra (b.s.).

3.4.10. Contenido de compuestos fenólicos

Se determinó según el método de Folin – Ciocalteu reportado por Singleton y Rossi (1965). Los resultados se expresaron como mg ácido gálico equivalente (AGE) por 100 gramos de almendra (b.s.). Previo al proceso de cuantificación se procedió a la obtención del extracto fenólico, según se describe a continuación:

a. Obtención del extracto fenólico

Se pesó 0.5 g de almendra molida en un tubo de centrifuga de 15 ml y se mezcló con 8 ml de acetona al 70% en un tubo, se agitó por 5 minutos y se dejó reposar por 20 horas a 4 °C bajo oscuridad. Los tubos se centrifugaron a 4,000 rpm por 10 minutos. Después, el sobrenadante fue separado y se anotó el volumen obtenido. El extracto se guardó en frasco ámbar a -20 °C hasta su posterior análisis.

b. Determinación del contenido de compuestos fenólicos

En tubo de vidrio protegido de la luz, se colocaron 500 μ l del extracto, 250 μ l del reactivo de Folin Ciocalteu 1 N y 1,250 μ l de la solución de carbonato de sodio (75g/l). El

conjunto se homogenizó en un vórtex, se dejó reposar por espacio de 30 minutos en oscuridad y luego se procedió a leer la absorbancia a la longitud de onda de 755 nm. Se corrió un blanco empleando 500 µl de agua destilada en lugar de la muestra.

El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó a través de una curva estándar determinada a 755 nm (ANEXO 7) que tiene la siguiente fórmula:

$$y = 29.596 x - 0.1763$$

Donde:

y: Absorbancia.

x: miligramos de ácido gálico equivalente (AGE) por mililitro.

3.4.11. Capacidad antioxidante ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) hidrofílica y lipofílica

Se utilizó el método recomendado por Arnao *et al.* (2001) con ligeras modificaciones con respecto a la relación entre cantidad de almendra y la cantidad de solvente. Se pesó 1 g de almendra molida y se mezcló con 15 ml de metanol al 80% (para la fracción hidrofílica), el sobrenadante fue recuperado y posteriormente la torta residual fue re-extraída con 10 ml de diclorometano (para la fracción lipofílica). Ambas fracciones se centrifugaron a 4,000 rpm durante 10 min a 4 °C y fueron luego almacenadas a -20°C hasta el momento del análisis respectivo.

La fracción lipofílica se secó bajo nitrógeno y se redisolvió en acetona que contenía 7 % de RMDC (β-ciclodextrina metilada). Dicha mezcla fue empleada para la medida de la capacidad antioxidante lipofílica (CAL), mientras que la fracción hidrofílica fue utilizada directamente para medir la capacidad antioxidante hidrofílica (CAH).

Para los análisis ORAC fueron adaptados los procedimientos descritos por Ou *et al.* (2001) y Huang *et al.* (2002). Los ensayos de capacidad antioxidante se realizaron en una placa lectora de fluorescencia Synergy 2 Biotek (Winooski, VT). El reactivo AAPH, compuesto azo hidrosoluble fue empleado como el generador de los radicales peroxilo. Se utilizó como solución estándar al trolox, además de la solución de fluoresceína. La solución stock

de trolox fue diluida con el buffer fosfato (75 mM, pH 7.4) (para la CAH-ORAC) o con 7% RMCD (para la CAL-ORAC) y se prepararon diferentes concentraciones: 4, 8, 16, 24 y 32 μ M para la construcción de una curva estándar (ANEXO 8).

Para el ensayo ORAC se procedió a reaccionar 25 μ l del blanco (para el ensayo de CAH-ORAC fue buffer fosfato y para el ensayo de CAL-ORAC fue la solución al 7% RMCD), 25 μ l del estándar de TROLOX y 25 μ l de las muestras diluidas; con 250 μ l de fluoresceína (55 nM) y fueron incubadas por 10 min a 37 °C hasta la inyección automática de 25 μ l de solución de AAPH (153 nM). La fluorescencia fue medida a cada minuto durante un período de 50 min. Los filtros de fluorescencia fueron empleados a una longitud de onda de excitación de 485 nm y a una longitud de onda de emisión de 520 nm. Los valores de la CAH-ORAC y CAL-ORAC final fueron calculados usando el área que se observó bajo la declinación de las curvas y fueron expresados como μ mol de trolox equivalente (TE)/g de almendra (b.s.).

3.5. Metodología experimental

El flujo de operaciones para evaluar el proceso de tostado de las semillas de sachá inchi se muestra en la Figura 5 y el detalle de cada una de éstas se describe a continuación:

- a. Limpieza y selección:** Se retiró el polvo y las partículas extrañas que estuvieron presentes en la materia prima. Se consideraron en el estudio sólo las semillas que se encontraron en buen estado.
- b. Tostado:** Se colocaron las semillas de sachá inchi en un horno con circulación de aire. Se evaluaron las temperaturas de tostado de 100, 120, 140, 160 y 180 °C y para cada una de ellas se consideraron como tiempos de tostado: 10, 20 y 30 min. Cada muestra representó 200 g de semilla. Concluido cada tratamiento se dejaron enfriar las semillas hasta alcanzar temperatura ambiente.
- c. Descascarado:** Se realizó dando un pequeño golpe a la semilla para separar las almendras de la cáscara.

d. Molienda: Se realizó una molienda criogénica de las almendras utilizando CO₂ líquido. Las almendras fueron molidas a un tamaño de partícula menor de 1 mm, después guardadas en bolsas selladas y con nitrógeno gaseoso, conservadas en oscuridad a -20 °C hasta el momento del análisis.

Todas las pruebas de tostado fueron realizadas por triplicado (tres muestras independientes) y se compararon con una muestra control (muestra sin haber sido sometida al tratamiento de tostado). A todas las muestras se les determinó los análisis indicados en el acápite 3.4.

3.6. Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) para analizar el efecto de la temperatura y tiempo de tostado de la almendra de *P. huayllabambana*, teniendo como variables respuesta los ácidos grasos libres, índice de peróxido, contenido de tocoferoles, contenido de fitoesteroles, perfil de ácidos grasos, capacidad antioxidante ORAC hidrofílica y lipofílica y contenido de compuestos fenólicos totales. De encontrarse diferencias significativas se procedió a realizar una prueba de comparación de medias de Duncan. Las pruebas estadísticas se hicieron considerando un nivel de significancia $p < 0.05$.

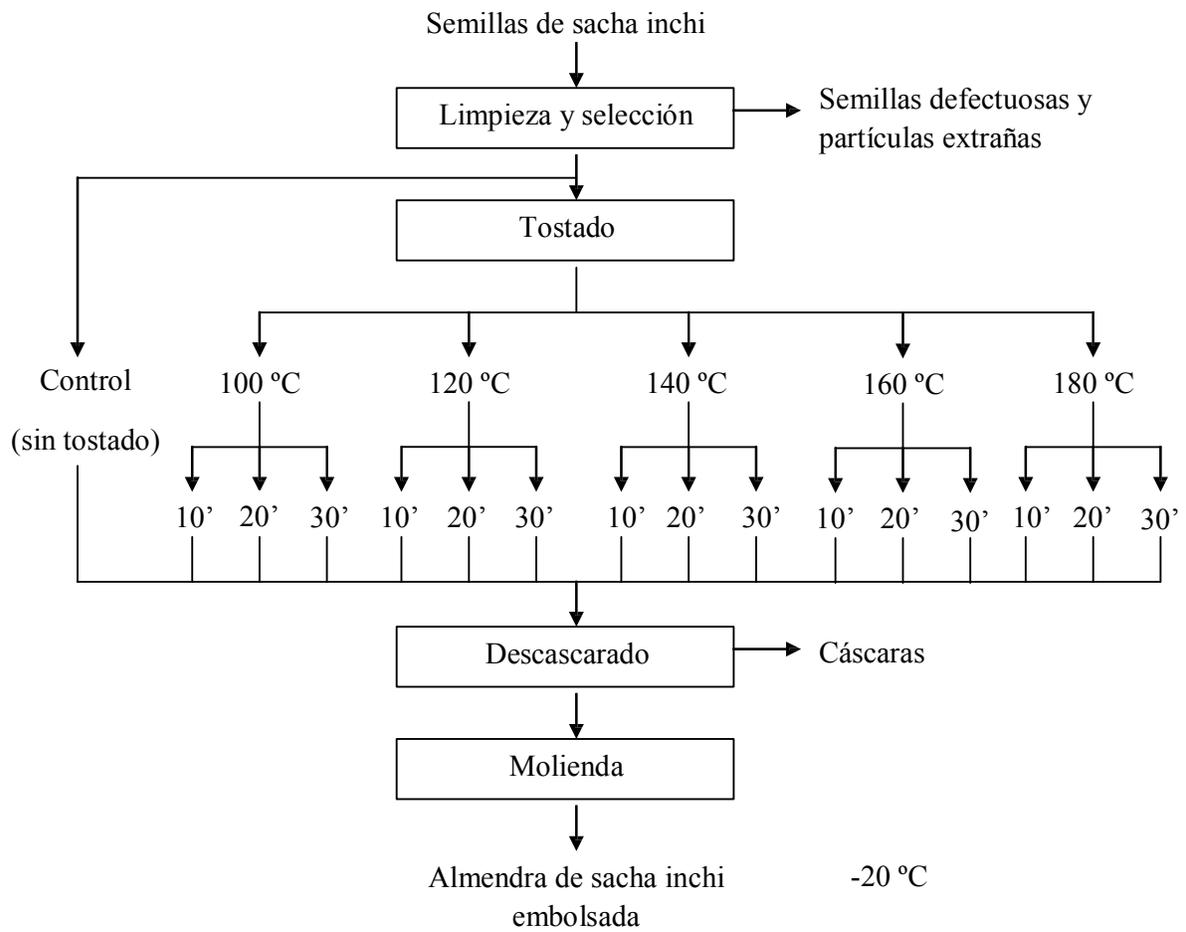


Figura 5: Flujo de operaciones para el proceso de tostado de las semillas de la *P. huayllabambana*

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto del tostado sobre la estabilidad oxidativa del aceite de la *Plukenetia huayllabambana*

4.1.1. Contenido de ácidos grasos libres

El contenido de ácidos grasos libres expresado como ácido oleico aumentó significativamente para el aceite de la *P. huayllabambana* con el incremento de temperatura y tiempo de tostado de las semillas (Cuadro 4); así, se incrementó de un valor de 0.33 por ciento para el aceite obtenido a partir de la almendra sin tostar (control) a valores entre 0.56 y 3.73 por ciento, para las almendras tostadas a las diferentes temperaturas. El valor obtenido en la muestra control fue similar al 0.3 por ciento de ácido oleico encontrado por Maurer *et al.* (2012) para un aceite de sachá inchi comercial. También fue menor al 3 por ciento de ácido oleico del aceite de sachá inchi de procedencia colombiana (Follegati-Romero *et al.*, 2009), así como al 1.3 por ciento de ácido oleico encontrado para el aceite de chia (Ixtaina *et al.*, 2012), este último presenta al igual que el sachá inchi una alta concentración en ácidos grasos poliinsaturados.

Teniendo en cuenta el límite máximo de ácidos grasos libres recomendado por el Codex Alimentarius (2003) para aceites extra vírgenes que corresponde a 1 por ciento de ácido oleico, se observa que los tratamientos de tostado que cumplen con este límite son la muestra control, las muestras sometidas a 100 °C, 120 °C, 140 °C y 160 °C por 10 minutos y 100 °C por 20 minutos.

En el Cuadro 4 se observa que entre los tratamientos 100 °C por 20 minutos, 120 °C por 10 minutos, 140 °C por 10 minutos y 160 °C por 10 minutos; entre los tratamientos 120 °C por 20 minutos y 140 °C por 20 minutos; y entre los tratamientos 100 °C por 30 minutos, 120 °C por 30 minutos y 140 °C por 30 minutos, no existen diferencias estadísticas significativas (ANEXO 7a).

Cuadro 4: Ácidos grasos libres expresados como ácido oleico del aceite obtenido a partir de la almendra de la *P. huayllabambana* sometida a diferentes tratamientos de tostado

Tratamiento	Ácido oleico (% g/ 100 g de aceite) ^{1,2}
Control	0.33 ± 0.03 ^k
100 °C por 10 min	0.56 ± 0.03 ^j
100 °C por 20 min	0.82 ± 0.07 ⁱ
100 °C por 30 min	2.53 ± 0.22 ^f
120 °C por 10 min	0.82 ± 0.07 ⁱ
120 °C por 20 min	1.04 ± 0.08 ^h
120 °C por 30 min	2.65 ± 0.21 ^{e,f}
140 °C por 10 min	0.84 ± 0.04 ⁱ
140 °C por 20 min	1.15 ± 0.07 ^h
140 °C por 30 min	2.77 ± 0.07 ^{d,e}
160 °C por 10 min	0.87 ± 0.03 ⁱ
160 °C por 20 min	1.39 ± 0.08 ^g
160 °C por 30 min	2.92 ± 0.03 ^d
180 °C por 10 min	3.24 ± 0.05 ^c
180 °C por 20 min	3.49 ± 0.11 ^b
180 °C por 30 min	3.73 ± 0.04 ^a

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

² Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

El incremento de los ácidos grasos libres concuerda con lo señalado por Araújo *et al.* (2011) y la AOCS (1995), citados por Epaminondas *et al.* (2011) los que afirman que el calor y el proceso de oxidación asociado a la rancidez hidrolítica afectan el índice de refracción y contribuyen al aumento de la acidez del aceite.

4.1.2. Índice de peróxido

Los valores del índice de peróxido para los aceites de *P. huayllabambana* obtenidos de los diferentes tratamientos de tostado se presentan en el Cuadro 5.

Cuadro 5: Índice de peróxido del aceite obtenido a partir de la almendra de la *P. huayllabambana* sometida a diferentes tratamientos de tostado

Tratamiento	Índice de peróxido (meq O ₂ /Kg aceite) ^{1,2}
Control	6.31 ± 0.40 ^h
100 °C por 10 min	10.08 ± 0.49 ^f
100 °C por 20 min	11.62 ± 0.69 ^e
100 °C por 30 min	16.55 ± 0.77 ^d
120 °C por 10 min	19.81 ± 1.06 ^c
120 °C por 20 min	21.40 ± 0.22 ^{b,c}
120 °C por 30 min	21.73 ± 1.81 ^{b,c}
140 °C por 10 min	20.02 ± 0.51 ^c
140 °C por 20 min	22.15 ± 0.30 ^b
140 °C por 30 min	22.55 ± 1.60 ^b
160 °C por 10 min	25.64 ± 1.52 ^a
160 °C por 20 min	22.15 ± 2.51 ^b
160 °C por 30 min	22.16 ± 1.17 ^b
180 °C por 10 min	9.37 ± 0.51 ^{f,g}
180 °C por 20 min	7.84 ± 0.51 ^{g,h}
180 °C por 30 min	8.01 ± 0.00 ^{g,h}

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

² Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05).

El aceite de la muestra control tuvo un índice de peróxido de 6.3 meq O₂/Kg aceite, siendo este valor inferior al máximo recomendado por el Codex Alimentarius (2003), quienes aceptan que un aceite virgen prensado en frío tenga un valor de hasta 15 meq O₂/Kg aceite, mientras que el COI (2003) para el aceite de oliva estipula un valor máximo de 20 meq O₂/Kg aceite. Valores inferiores de 4.1, 4.34, 3.4 y 0.57 meq O₂/Kg aceite, han sido reportados para muestras de aceite de sachi inchi sin tostar (Pascual y Mejía, 2000; Cedano, 2009; Maurer *et al.*, 2012; Cisneros *et al.*, 2014). Para otros aceites de similar grado de insaturación se han encontrado valores de 2.0 y 2.64 meq O₂/Kg aceite, para los

aceites de linaza y de chía, respectivamente (Rudnik *et al.*, 2001; Alonso-Calderón *et al.*, 2013).

Los valores de índice de peróxido incrementaron progresivamente conforme aumentó la temperatura y el tiempo de tostado al que se sometieron las semillas hasta los 160 °C por 10 minutos de tostado; mientras que a la temperatura de 180 °C para todos los tiempos evaluados el índice de peróxido descendió drásticamente, habiéndose encontrado diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos realizados (ANEXO 7b). Este comportamiento se puede relacionar con el aumento progresivo de los ácidos grasos libres (%) (punto 4.1.1) debido al deterioro sufrido por el aceite provocado por la intensidad de los tratamientos a los que fue sometido.

El índice de peróxido es una de las pruebas más utilizadas para la medición de la rancidez oxidativa en aceites y grasas. Según Navarro *et al.* (2004) durante las primeras etapas de la oxidación es que se da la formación de hidroperóxidos. El valor de peróxido, durante un proceso oxidativo, alcanza un pico máximo durante la fase de propagación y luego decrece durante la fase de terminación cuando la cinética de descomposición de los hidroperóxidos es mayor que la cinética de formación (Laguerre *et al.*, 2007). Lo mismo señala Matissek (1999), quién indica que el índice de peróxido brinda información sobre la oxidación de la muestra, si ésta está muy avanzada se producirá un aumento progresivo de la degradación de peróxidos, con lo que el índice de peróxido descenderá. Este fenómeno se pudo observar en las muestras sometidas a 180 °C, ya que luego de tener valores altos de peróxidos éstos decaen. La reducción en el índice de peróxido observada indica una fase avanzada de oxidación, ya que se tienen peróxidos muy inestables, reactivos y fácilmente degradables que conducen a la formación de productos más estables como dímeros, trímeros y polímeros (Reda, 2004; citado por Araújo *et al.*, 2011). Este mismo comportamiento ha sido observado en el aceite obtenido a partir de la almendra de sachá inchi tostada a condiciones menos severas que las del presente estudio, así a las condiciones de tostado de 75-81 °C por 9 min, 83-86 °C por 10 min y 99-102 °C por 10 min, se obtuvieron valores de índice de peróxido de 3.35; 4.09 y 0.5 meq O₂/Kg aceite, respectivamente (Cisneros *et al.*, 2014).

Considerando lo indicado por el Codex Alimentarius (2003) respecto al límite máximo permitido de índice de peróxido para los aceites vírgenes prensados en frío (15 meq O₂/Kg

aceite) podemos indicar que no sería aconsejable realizar tostado de las semillas a temperaturas por encima de los 100 °C por 20 min para evitar iniciar procesos oxidativos en el aceite a obtener.

4.1.3. Dienos y trienos conjugados

En el Cuadro 6 se presenta los valores de dienos conjugados obtenidos para el aceite de la *Plukenetia huayllabambana* obtenido a los diferentes tratamientos de tostado.

Cuadro 6: Dienos conjugados del aceite obtenido a partir de la almendra de la *P. huayllabambana* sometida a diferentes tratamientos de tostado

Tratamiento	Dienos conjugados ^{1,2}
Control	0.080 ± 0.00 ⁱ
100 °C por 10 min	0.078 ± 0.01 ⁱ
100 °C por 20 min	0.099 ± 0.00 ^e
100 °C por 30 min	0.116 ± 0.01 ^{b,c,d}
120 °C por 10 min	0.101 ± 0.01 ^e
120 °C por 20 min	0.116 ± 0.00 ^{b,c,d}
120 °C por 30 min	0.134 ± 0.01 ^a
140 °C por 10 min	0.133 ± 0.00 ^a
140 °C por 20 min	0.106 ± 0.00 ^{d,e}
140 °C por 30 min	0.113 ± 0.01 ^{c,d,e}
160 °C por 10 min	0.118 ± 0.00 ^{b,c,d}
160 °C por 20 min	0.116 ± 0.01 ^{b,c,d}
160 °C por 30 min	0.106 ± 0.01 ^{d,e}
180 °C por 10 min	0.121 ± 0.00 ^{a,b,c}
180 °C por 20 min	0.129 ± 0.00 ^{a,b}
180 °C por 30 min	0.117 ± 0.01 ^{b,c,d}

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

² Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

Se puede observar que el contenido de dienos conjugados se incrementó ligeramente, manteniéndose entre los valores de 0.080 y 0.134. Los aceites de las muestras tostadas a 160 y 180 °C no muestran mucha diferencia entre sus valores, ya que no existen diferencias estadísticas significativas entre estos (ANEXO 7c). Según Codony *et al.* (2010), a medida que aumenta la destrucción de los peróxidos (como se observó en el punto 4.1.2 para la temperatura de 180 °C), el nivel de dienos conjugados llega a estabilizarse e incluso a disminuir con el tiempo.

Cabe indicar que al realizar la medición de los trienos conjugados se obtuvieron valores iguales a cero, indicando la ausencia de estos compuestos.

4.1.4. Índice de *p*-anisidina

Los valores *p*-anisidina encontrados en los aceites sometidos a las diferentes condiciones de tostado se reportaron en el Cuadro 7. El índice de *p*-anisidina de la muestra control fue 0.214, este valor es inferior al reportado por Cisneros *et al.* (2014) y por Cedano (2009) para el aceite de sacha inchi con valores de 0.43 y 1.43, respectivamente y es cercano al obtenido para el aceite de chia con 0.3 (Ixtaina *et al.*, 2012); también se encuentra muy cercano a los valores reportados por Miraliakbari y Shahidi (2008) para la nuez de nogal (0.230) y la nuez de Brasil (0.189).

Del Cuadro 7 se observa que el valor *p*-anisidina se incrementa lentamente hasta la temperatura de tostado de 160 °C presentándose valores entre 0.3 y 1.3. A la temperatura de 180 °C la *p*-anisidina se incrementó significativamente llegando a estar entre 5.6 y 8.1 (ANEXO 7d). Estos resultados guardan relación por lo encontrado por Cisneros *et al.* (2014) quienes mencionan que los aceites de sacha inchi que fueron extraídos de semillas tostadas tienden a incrementar el valor de *p*-anisidina, así en las muestras sin tostar el valor fue de 0.4 mientras que en las semillas tostadas a las temperaturas de 75-81, 83-86 y 99-102 °C todas por 10 min los valores fueron de 3.7, 9.3 y 12.3, respectivamente.

Cuadro 7: Índice de *p*-anisidina del aceite obtenido de la almendra de la *P. huayllabambana* sometida a diferentes tratamientos de tostado

Tratamiento	Índice de <i>p</i>-anisidina^{1,2}
Control	0.21 ± 0.02 ¹
100 °C por 10 min	0.25 ± 0.04 ¹
100 °C por 20 min	0.28 ± 0.04 ¹
100 °C por 30 min	0.69 ± 0.08 ^{g,h}
120 °C por 10 min	0.21 ± 0.07 ^h
120 °C por 20 min	0.91 ± 0.08 ^{t,g}
120 °C por 30 min	1.02 ± 0.09 ^{e,t}
140 °C por 10 min	1.07 ± 0.02 ^{e,t}
140 °C por 20 min	1.19 ± 0.16 ^{d,e}
140 °C por 30 min	1.31 ± 0.04 ^d
160 °C por 10 min	0.78 ± 0.08 ^g
160 °C por 20 min	1.09 ± 0.11 ^{d,e,t}
160 °C por 30 min	1.21 ± 0.09 ^{d,e}
180 °C por 10 min	5.57 ± 0.54 ^c
180 °C por 20 min	6.34 ± 0.26 ^b
180 °C por 30 min	8.13 ± 0.10 ^a

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

² Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

4.2. Efecto del tostado sobre el rendimiento en aceite y los compuestos bioactivos de la almendra de la *Plukenetia huayllabambana*

4.2.1. Rendimiento de extracción del aceite

En la Figura 6 se observa que la cantidad de aceite obtenido a partir de las almendras de la *P. huayllabambana* tostadas se incrementan respecto a las que no fueron sometidas a tratamiento térmico alguno (control). El contenido de aceite inicial fue de 44.1%, este valor es cercano al reportado por Muñoz *et al.* (2013) quienes encontraron valores entre 45.8 y 48.8% para *P. huayllabambana*. El contenido de aceite del control resultó ser superior al

reportado por Chirinos *et al.* (2013) para 16 cultivares de *P. volubilis* (entre 33.4 y 37.6%) y cercano al obtenido por Gutiérrez *et al.* (2011) con 42% para la misma especie. Las diferencias en el contenido de aceite procedente de ambas especies de Plukenetias que han sido reportadas previamente por Muñoz *et al.* (2013).

Durante el tostado, rendimientos en aceite entre 53.7 y 62.4% fueron encontrados para los tratamientos evaluados. Los mayores rendimientos fueron alcanzados a la temperatura de 100 °C (entre 55.9 y 62.4%) y a 160 °C (entre 55.1 y 62.1%) (ANEXO 7e). Al respecto Perren y Escher (1997) indican que la deshidratación destruye la microestructura nativa de los compartimentos celulares vegetales lo que hace aumentar la porosidad de la misma con la consecuente difusión intracelular del aceite. A pesar de los altos rendimientos de extracción conseguidos a las condiciones de 100 y 160 °C por 30 min, de acuerdo a los resultados obtenidos de estabilidad oxidativa de los aceites de la *P. huayllabambana*, no se aconsejaría tostar a la semilla a condiciones mayores a 100 °C por 20 min.

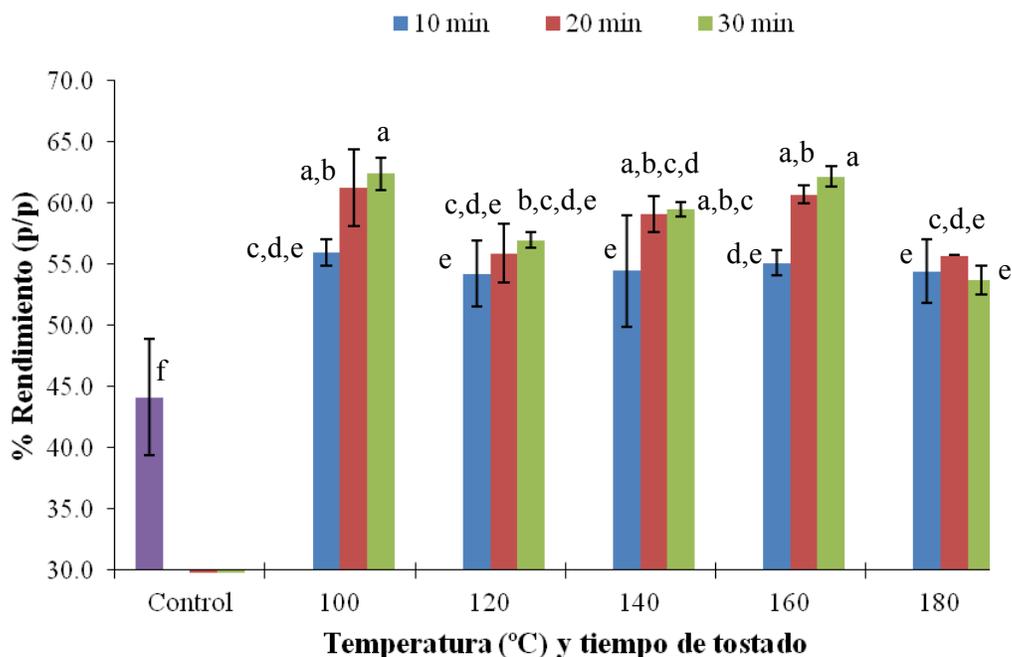


Figura 6: Evolución del rendimiento en aceite obtenido a partir de las semillas tostadas de la *P. huayllabambana*

Barras con la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En los siguientes análisis se presentan los resultados con respecto a la almendra de *P. huayllabambana* en base seca (b.s.) (ANEXO 9).

4.2.2. Contenido de ácidos grasos

Se determinó el contenido y perfil de ácidos grasos presentes en las semillas de la *P. huayllabambana* sin tostar (control) y sometidas a los diferentes tratamientos de tostado, los resultados se presentan en el Cuadro 8.

Un total de 5 ácidos grasos fueron los más representativos y de acuerdo al orden de importancia se tuvo a: α -linolénico > linoleico > oleico > palmítico > esteárico. Los mismos ácidos grasos han sido reportados en el aceite de la *P. huayllabambana* por Muñoz *et al.* (2013) y por Ruíz *et al.* (2013). Del mismo modo estos ácidos grasos han sido reportados en aceite de *P. volubilis* (Hamaker *et al.*, 1992; Guillén *et al.*, 2003; Follegati-Romero, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2011; Maurer *et al.*, 2012; Chirinos *et al.*, 2013).

Las semillas sin tratamiento térmico (control) presentaron contenidos de 2.5, 2.0, 4.8, 12.0 y 25.2 g/100 g de almendra (b.s.) para el ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico y α -linolénico, respectivamente. Chirinos *et al.* (2013) encontraron en 16 cultivares de la *P. volubilis* rangos de valores entre 1.6 - 2.1; 1.1 - 1.3; 3.5 - 4.7; 12.4 - 14.1 y 12.8 - 16.0 g/100 g de semillas (b.s.) para el ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico y α -linolénico, respectivamente; mientras que Gutiérrez *et al.* (2011) reportaron para *P. volubilis* de procedencia colombiana valores de 1.8, 5.8, 3.9, 14.4 y 22.0 g/100 g semilla para el ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico y α -linolénico, respectivamente. Las diferencias encontradas con los resultados del presente estudio pueden ser atribuidos a las especies evaluadas. Las cantidades de ácidos grasos saturados (AGS), ácidos grasos mono-insaturados (AGMI) y ácidos grasos poli-insaturados (AGPI) fueron de 4.5, 4.8 y 37.1 g/100 g almendra (b.s.) para la muestra control, respectivamente (Figura 7).

Cuadro 8: Contenido de ácidos grasos^{1,2} de la semilla de la *P. huayllabambana* (g/100 g de almendra, b.s.) sometidas a diferentes temperaturas y tiempos de tostado

Ácido graso	Control	Temperatura y tiempo de tostado														
		100 °C			120 °C			140 °C			160 °C			180 °C		
		10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min
Ácido palmítico	2.5±0.0 ^f	3.4±0.4 ^b	3.6±0.4 ^a	3.8±0.2 ^a	3.0±0.1 ^{cde}	3.1±0.1 ^{bcd}	3.3±0.1 ^b	3.0±0.1 ^{cde}	3.3±0.3 ^b	3.4±0.3 ^b	3.2±0.5 ^{bc}	3.6±0.3 ^a	3.6±0.0 ^a	2.9±0.2 ^{de}	3.0±0.2 ^{cd}	2.8±0.2 ^e
Ácido esteárico	2.0±0.4 ^{cde}	2.0±0.1 ^{de}	2.2±0.1 ^{a,b}	2.4±0.0 ^a	1.9±0.1 ^{ef}	2.0±0.2 ^{de}	2.0±0.0 ^{cde}	1.9±0.0 ^{def}	2.0±0.2 ^{cde}	2.1±0.2 ^{abc}	2.0±0.4 ^{cde}	2.3±0.2 ^a	2.2±0.0 ^a	2.9±0.2 ^{ef}	3.0±0.2 ^g	2.8±0.2 ^f
Ácido oleico	4.8±0.1 ⁱ	6.3±0.8 ^d	6.6±0.7 ^{ab}	6.7±0.4 ^a	5.8±0.4 ^{efg}	5.9±0.0 ^{ef}	6.1±0.0 ^{de}	5.7±0.0 ^{fg}	6.3±0.2 ^{bc}	6.2±0.2 ^{cd}	5.9±0.6 ^{efg}	6.4±0.5 ^{bc}	6.4±0.1 ^{abc}	5.6±0.2 ^g	5.7±0.2 ^{fg}	5.3±0.2 ^h
Ácido linoleico	12.0±1.0 ⁱ	16.0±2.7 ^{bcd}	17.3±3.0 ^a	17.3±0.2 ^a	15.3±0.8 ^{fg}	15.7±0.7 ^{def}	15.9±0.1 ^{cde}	15.1±0.1 ^g	16.2±0.2 ^{bcd}	16.3±0.2 ^{bc}	15.2±1.0 ^{fg}	16.1±1.2 ^{bcd}	16.5±0.2 ^b	15.2±0.2 ^{fg}	15.5±0.3 ^{efg}	14.4±0.1 ^h
Ácido α-linolénico	25.2±0.1 ⁱ	23.19±3.8 ^{cd}	34.2±3.9 ^a	33.9±0.1 ^a	30.8±1.3 ^e	30.7±1.3 ^e	31.5±0.0 ^d	30.2±0.1 ^f	32.1±0.5 ^{bc}	31.9±0.5 ^{cd}	29.9±1.8 ^{fg}	31.8±2.1 ^{cd}	32.6±0.2 ^b	29.9±0.3 ^{fg}	29.5±0.3 ^g	28.3±0.2 ^h

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

² Valores en la misma fila seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

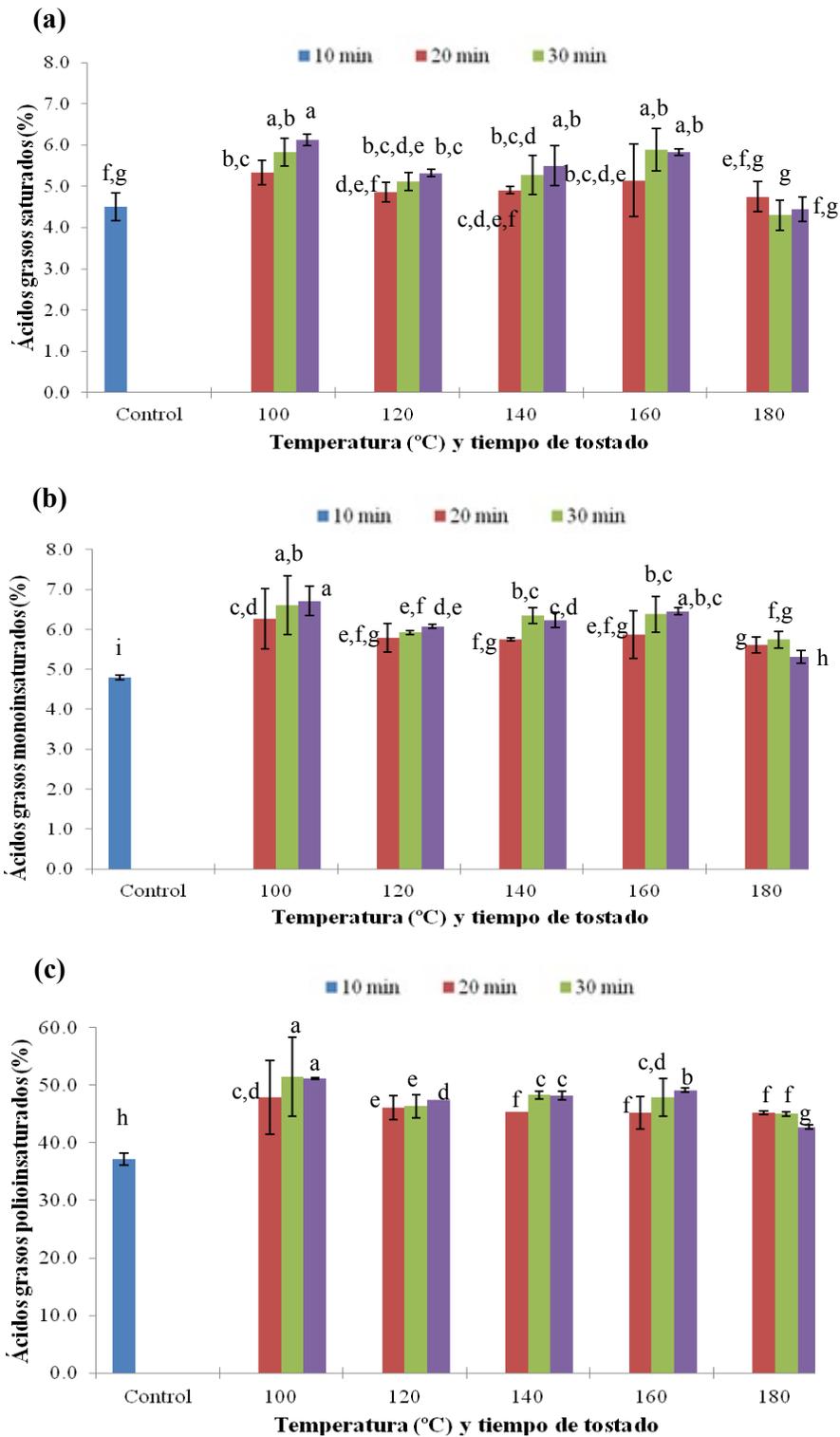


Figura 7: Evolución del contenido de ácidos grasos saturados (a), monoinsaturados (b) y poliinsaturados (c) en las semillas de la *P. huayllabambana* sometidas a diferentes tratamientos de tostado

Barras con la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

A medida que incrementó la intensidad del tostado se observó que hubo una ligera variación en el contenido de los diferentes ácidos grasos (ANEXO 7f). En el Cuadro 8 se observa que de forma general, el tostado tiende a incrementar en la almendra los contenidos de los diferentes ácidos grasos evaluados respecto a la muestra inicial (control), los mayores contenidos de ácidos grasos en las almendras se encontraron en los tratamientos de tostado de 100 °C, y los menores contenidos a los tratamientos de 180 °C. Esto estaría asociado al mayor rendimiento de extracción de aceite obtenido a las condiciones de tostado de 100 °C; al respecto como ya se expuso en el punto 4.2.1, el tostado incrementa la cantidad de aceite extraído respecto al control, debido a que se ve favorecida la dilatación de las células vegetales facilitando por tanto la disponibilidad del aceite a la extracción y por ende la de los ácidos grasos.

Al respecto, Veldsink *et al.* (1999) menciona que el tostado es responsable de los cambios en las características físicas, químicas y nutricionales de las semillas y del aceite extraído. Después del tostado, se determinó cantidades entre 2.8 y 3.8; 1.3 y 2.4; 5.3 y 6.7; 14.4 y 17.3 y, 28.3 y 34.2 g/100 g almendra (b.s.) para el ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico y α -linolénico, respectivamente.

Los AGS, AGMI y AGPI estuvieron comprendidos entre 4.3 y 6.1, 5.3 y 6.7 y, 42.7 y 51.5 g/100 g almendra (b.s.), respectivamente (Figuras 7a, b y c, respectivamente). Cisneros *et al.* (2014) en el estudio sobre el tostado de las semillas de sachá inchi, encontró que esta operación no tuvo efecto significativo sobre el perfil de ácidos grasos del aceite; sin embargo, los autores emplearon temperaturas y tiempos de tostado inferiores (75 - 102 °C por un máximo de 10 min) a los evaluados en el presente trabajo.

El alto contenido de AGPI en la almendra de *P. huayllabambana* como es el ácido linoleico, le confiere un alto valor bioactivo, tal como indica Fanali *et al.* (2011) este ácido contribuye al alivio de enfermedades inflatorias y es precursor del ácido araquidónico, el cual conduce la producción de compuestos esenciales como prostaglandinas y leucotrienos, esenciales para la función inmunológica y la agregación plaquetaria. Por otro lado, diversos estudios han reportado que los ácidos grasos insaturados ω -6 y sobre todo ω -3 tienen efectos beneficiosos en la salud humana, previniendo numerosas enfermedades como: cáncer, enfermedades coronarias, e hipertensión; además del efecto hipocolesterolémico. La relación óptima entre el ácido linoleico y el ácido α -linolénico en

la dieta, en la mayoría de casos, reportados en la literatura con valores que oscilan entre 4:1 a 5:1, sin exceder 10:1.

4.2.3. Contenido de tocoferoles

Los contenidos de α -, β -, γ - y δ - tocoferol de la almendra sin tostar de la *P. huayllabambana* alcanzaron valores de 0.09, 0.005, 32.5 y 15.0 mg/100 g almendra (b.s.), respectivamente. El total de tocoferoles fue de 47.6 mg/100 g (b.s.). La presencia del α -, γ - y δ -tocoferol ha sido previamente reportado por Fanali *et al.* (2011) en el aceite de la *P. volubilis* destacando en participación el γ -tocoferol seguido del δ -tocoferol. De otro lado, rangos de contenidos de α -, β -, γ -, δ - tocoferol y de tocoferoles totales entre 1.13 -1.25, 0.75 - 0.95, 56.8 - 81.4, 29.2 - 47.6 y 78.6-137.0 mg/100 g semilla, han sido determinados para 16 cultivares de sacha inchi (Chirinos *et al.*, 2013). Comparando estos últimos valores con los obtenidos en el presente estudio encontramos que los contenidos de γ - y δ -tocoferol y de tocoferoles totales fueron inferiores entre 1.7 - 2.5, 1.9 - 3.1 y, 1.64 - 2.9 veces menos, respectivamente. Diferencias asociadas al cultivar, condiciones de cultivo, condiciones geográficas de crecimiento, condiciones de extracción, entre otros pudieron influir en los resultados encontrados.

El γ - y δ - tocoferol representaron el 68.3 y 31.4% del total de tocoferoles, respectivamente. De forma similar Chirinos *et al.* (2013) encontraron porcentajes de γ - y δ - tocoferol entre 57.4 y 68.2% y 30.9 y 40.3%, respectivamente, guardando relación con los resultados del presente estudio. Los tocoferoles son reconocidos como potentes compuestos antioxidantes lipofílicos. Schmidt y Pokorný (2005) indican que la actividad antioxidante de los tocoferoles evaluadas en sistemas lipídicos sigue el orden: $\gamma > \delta > \alpha > \beta$, por tanto la participación mayoritaria del γ - y δ - tocoferol en las almendras de la *P. huayllabambana* constituirían un factor de protección antioxidante no solo para la almendra sino también para el aceite obtenido de ella. Los γ - y δ - tocoferol han demostrado en estudios previos tener buenas características *in vitro*.

Los cambios en los contenidos del α -, β -, γ - y δ - tocoferol, así como de los tocoferoles totales de la almendra de la *P. huayllabambana* después de los diferentes tratamientos tostado, se presentan en el Cuadro 9.

Cuadro 9: Contenido de tocoferoles^{1,2} de la semilla de la *P. huayllabambana* (mg/100 g de almendra, b.s.) sometidas a diferentes temperaturas y tiempos de tostado

Tocoferol	Control	Temperatura y tiempo de tostado														
		100 °C			120 °C			140 °C			160 °C			180 °C		
		10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min
α-tocoferol	0.090 ±0.01 ^{bc}	0.083 ±0.0 ^{bcdef}	0.075 ±0.0 ^{cdefg}	0.068 ±0.02 ^{defg}	0.114 ±0.03 ^a	0.079 ±0.01 ^{cdefg}	0.072 ±0.01 ^{efg}	0.084 ±0.02 ^{defg}	0.072 ±0.01 ^{efg}	0.075 ±0.02 ^{bcde}	0.080 ±0.00 ^{bcdef}	0.095 ±0.01 ^b	0.089 ±0.01 ^{bcd}	0.068 ±0.00 ^{fg}	0.064 ±0.01 ^g	0.071 ±0.01 ^{efg}
β-tocoferol	0.005 ±0.00 ^d	0.005 ±0.00 ^d	0.005 ±0.00 ^d	0.005 ±0.00 ^d	0.008 ±0.00 ^d	0.005 ±0.00 ^d	0.005 ±0.00 ^d	0.006 ±0.00 ^d	0.005 ±0.00 ^d	0.025 ±0.00 ^{bc}	0.021 ±0.00 ^c	0.027 ±0.01 ^{bc}	0.029 ±0.01 ^{ab}	0.031 ±0.00 ^{ab}	0.026 ±0.00 ^{bc}	0.033 ±0.00 ^a
γ-tocoferol	32.52 ± 3.40 ^{abc}	40.12 ± 3.91 ^a	36.25 ± 4.50 ^{ab}	32.92 ± 2.64 ^{abc}	41.16 ± 4.80 ^a	35.10 ±2.19 ^{ab}	28.76 ± 0.80 ^{bc}	33.25 ± 1.74 ^{abc}	34.46 ±0.33 ^c	32.35 ± 4.94 ^{abc}	23.63 ±1.94 ^c	24.21 ±0.32 ^c	28.29 ±1.45 ^{bc}	24.54 ±1.17 ^c	24.95 ±0.34 ^c	27.87 ±1.28 ^{bc}
δ-tocoferol	14.96 ±0.96 ^{bc}	17.57 ±1.57 ^a	16.03 ±2.11 ^{ab}	14.51 ±0.84 ^{ab}	17.42 ±1.09 ^a	15.46 ± 0.81 ^{bc}	12.43 ±0.35 ^d	13.70 ±0.30 ^{cd}	15.07 ±0.39 ^{bc}	14.01 ±1.65 ^{cd}	4.64 ±1.13 ^e	5.22 ±0.78 ^e	5.94 ±0.35 ^e	4.61 ±0.59 ^e	4.13 ±0.15 ^e	4.94 ±0.82 ^e
Tocoferoles totales	47.58 ±2.46 ^{bc}	57.79 ±5.48 ^a	52.36 ±6.62 ^{ab}	47.51 ±3.48 ^{bc}	58.70 ±5.76 ^a	50.65 ± 3.01 ^b	41.26 ±1.16 ^{cd}	47.05 ±1.82 ^{bc}	49.62 ±0.70 ^b	46.46 ±6.60 ^{bc}	28.37 ±3.07 ^f	29.55 ±0.52 ^f	36.33 ±3.87 ^{de}	29.26 ±1.00 ^f	29.17 ±0.20 ^f	32.92 ±2.11 ^{ef}

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

² Valores en la misma fila seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

Las cantidades de α -tocoferol tienden a mantenerse casi constantes durante el tostado con valores cercanos al control. El β -tocoferol tiende a presentar un incremento respecto a la muestra control a las condiciones de 140 °C por 30 min, de 160 y 180 °C para todos los tiempos evaluados.

Por otro lado, a las condiciones de 100 y 120 °C por 10 min se observa un incremento del γ -tocoferol respecto al control; mientras que a las condiciones de 160 y 180 °C para todos los tiempos de tostado disminuye. El δ -tocoferol siguió un comportamiento bastante similar al presentado por el γ -tocoferol durante la evaluación del tostado; sin embargo, la disminución fue más drástica a las temperaturas de 160 y 180 °C para este último tocoferol. Estos resultados indicarían que tanto el γ - como el δ -tocoferol son susceptibles a degradarse ante condiciones de altas temperaturas (entre 160 y 180 °C por tiempos entre 10 y 30 min). Este hecho también podría deberse a que al tostar las semillas a las temperaturas indicadas, ambos tocoferoles tienden a manifestar su poder antioxidante retrasando el inicio de la oxidación de los lípidos o secuestrando a los radicales libres generados, consumiéndose de esta forma durante estas condiciones de tostado. Con respecto a esto, McDaniel (2011) indica que con el incremento de tiempo y temperatura de tostado se espera que el contenido de tocoferoles disminuya debido a que son consumidos como antioxidantes por la almendra. Cisneros *et al.* (2014) encontraron que, al tostar las semillas de la *P. volubilis* a temperaturas de 75-81 °C por 9 min, 83-86 °C por 10 min y 99-102 °C por 10 min, el contenido de γ -tocoferol disminuyó ligeramente en el aceite obtenido a partir de ellas, mientras que el contenido del δ -tocoferol permaneció constante.

Respecto al contenido de los tocoferoles totales (Figura 8), se observa que en promedio las temperaturas de tostado entre 100 y 140 °C a los tiempos entre 10 y 20 min no afectaron la integridad de los tocoferoles totales en las almendras respecto al control; inclusive un incremento significativo fue encontrado a las temperaturas de 100 y 120 °C por 10 min de tostado, mientras que las temperaturas de 160 y 180 °C a los diferentes tiempos evaluados hacen que disminuyan (ANEXO 7g). Una posible explicación del aumento de tocoferoles luego de la aplicación de las primeras temperaturas es que la extractabilidad se incrementa por la temperatura de tostado debido a la desnaturalización de la proteína y/o el daño a las membranas celulares de las semillas (Yoshida y Kajimoto, 1994 y Lee *et al.*; 2004 citados por McDaniel, 2011) y por ello el aceite extraído a partir de ellas tiene mayor contenido de tocoferoles. Además, deMan (1999), citado por McDaniel (2011) señala que a pesar de que

el tostado puede mejorar la extracción del aceite y por lo tanto aumentar los tocoferoles totales, también se espera que el contenido de tocoferoles disminuya con este tratamiento térmico, ya que el calor aumenta la oxidación. De esta forma plantea que el contenido de tocoferoles disminuiría con tiempos de calentamiento más largos (usando una misma temperatura de tostado) y también disminuiría eventualmente al aumentar la temperatura de tostado.

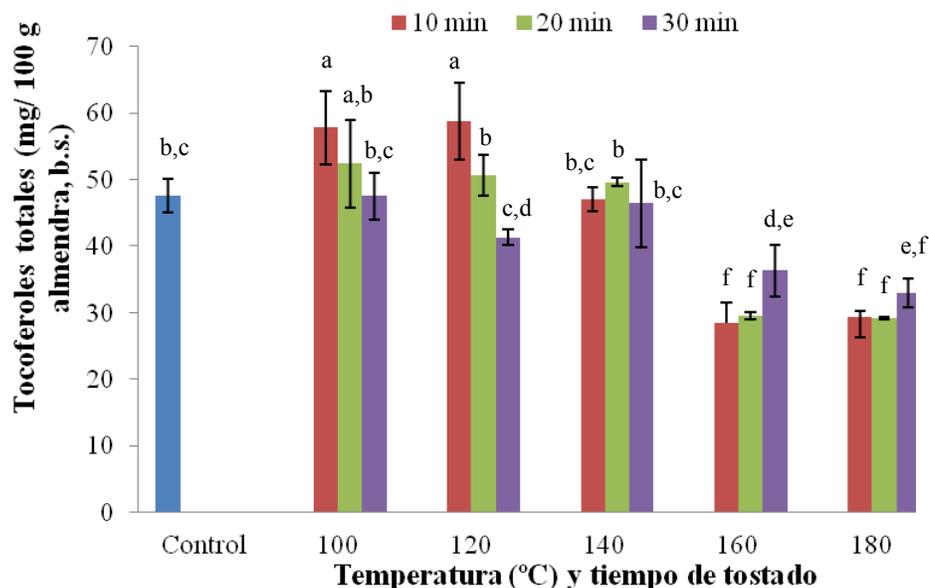


Figura 8: Evolución del contenido de tocoferoles totales en las semillas de la *P. huayllabambana* sometidas a diferentes tratamientos de tostado

Barras con la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cabe indicar que las tendencias observadas en el contenido de tocoferoles totales en este estudio son resultado directo del conjunto γ - y δ -tocoferol, al ser ellos los tocoferoles mayoritarios en la *P. huayllabambana*.

Diferentes tendencias han sido reportadas en la literatura respecto al efecto de la temperatura y tiempos de tostado de semillas o nueces sobre el contenido de tocoferoles. Así, Lee *et al.* (2004) encontraron que el contenido del α -tocoferol incrementó gradualmente en el aceite de canola, cuando sus semillas fueron sometidas a temperaturas de tostado entre 140 y 180 °C, comportamiento similar fue observado para el β - y γ -tocoferol. Yen y Shyu (1989) reportaron que los niveles de tocoferoles en los aceites de

sésamo incrementaron cuando las semillas fueron calentadas en horno eléctrico a temperaturas de hasta 200 °C. Durmaz y Gökmen (2011) también encontraron que el tostado de las semillas de la *Pistacia terebinthus* a 180 °C por tiempos entre 5 y 30 min, produjo decrementos en el contenido del α -, β - y δ -tocoferol, y de los tocoferoles totales; sin embargo, el γ -tocoferol tendió a incrementarse ligeramente. El tratamiento térmico puede no provocar cambios (Chiou y Tsai, 1989), incrementar (Kim *et al.*, 2002) o disminuir (Anjun *et al.*, 2006) el contenido de tocoferoles de diferentes semillas y nueces. Así, los diferentes resultados encontrados implican que el tostado puede afectar a la proporción de los tocoferoles de diferentes formas, ello dependería de la variedad de la semilla o del tipo e intensidad del tratamiento térmico empleados (Durmaz y Gökmen, 2011). También se ha mencionado que los diferentes isómeros podrían presentar diferentes comportamientos con respecto a su sensibilidad térmica durante el tostado (Casal *et al.*, 2006; citados por Durmaz y Gökmen, 2011).

El contenido total de tocoferoles de la almendra de *P. huayllabambana* (28.4 – 57.8 mg/100 g almendra, b.s.) es considerablemente mayor al encontrado de otras nueces de alto consumo (13.7 – 18.9 mg/100 g semilla) (almendras, pistachos, avellanas, entre otras) por Kornsteiner *et al.* (2006) y al contenido reportado por Oomah *et al.* (1997) para la linaza de 9.3 – 14.3 mg/100 g semilla. El contenido de tocoferoles encontrado es importante, porque tal como señala Sayago *et al.* (2007), éstos son considerados importantes antioxidantes que aportan sustanciales efectos al organismo. Esta actividad antioxidante radica en su capacidad de protección de las membranas celulares, impidiendo la oxidación de las mismas por los radicales libres. Dicha oxidación llevaría a una degradación del organismo, especialmente a la aparición de enfermedades cardíacas o posibles cánceres. Como antioxidante, defiende las células reduciendo el estrés oxidativo, estimula el sistema inmunológico y frena el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.

4.2.4. Contenido de fitosteroles

En un trabajo previo realizado por Bondioli *et al.* (2006) encontraron que los fitoesteroles en mayor proporción en el aceite de la *P. volubilis* fueron en orden de importancia el β -sitosterol > campesterol > estigmasterol representado en conjunto ~ 92% del total de fitoesteroles en el aceite de sacha inchi. Bajo estos resultados se procedió a evaluar el contenido de β -sitosterol, campesterol, estigmasterol y la suma de los tres fitoesteroles en

las almendras de la *P. huayllabambana* sin tostar (control) y sometidas a diferentes condiciones de tostado, los resultados se presentan en el Cuadro 10.

En la muestra control el β -sitosterol, campesterol y estigmasterol estuvieron presentes en 60.5, 24.8 y 5.5 mg/100 g almendra (b.s.), respectivamente haciendo un total de 90.8 mg/100 g almendra (b.s.); donde se observa la notoria participación del β -sitosterol. Chirinos *et al.* (2013) encontraron en las semillas de 16 cultivares de la *P. volubilis* rangos entre 45.2 - 52.2, 21.2 - 26.9 y 7.1 - 8.8 mg/100 g semilla para el β -sitosterol, campesterol y estigmasterol, respectivamente, llegando a un total entre 77 - 84 mg/100 g semilla, siendo estos resultados cercanos a los encontrados en el presente estudio.

A medida que incrementó la intensidad del tostado, comportamientos diversos se presentaron en los contenidos de los diferentes fitoesteroles evaluados. El campesterol, de forma general, tiende a sufrir ligeros cambios, valores entre 3.9 y 6.0 mg/100 g almendra (b.s.) fueron encontrados ante las diferentes condiciones de tostado, tendiendo a disminuir ligeramente conforme las intensidades del tostado se fueron incrementando. Respecto al contenido de estigmasterol se observó un incremento en su contenido respecto al control para todos los tratamientos en estudio, rangos entre 22.6 y 34.9 mg/100 g almendra (b.s.) fueron determinados. A las condiciones de tostado de 100 °C a los diferentes tiempos se obtuvieron las mayores recuperaciones de este compuesto (entre 31.8 - 34.9 mg/100 g almendra, b.s.).

Para el caso del β -sitosterol se observó cantidades que oscilaron entre 51.9 y 73.0 mg/100 g almendra (b.s.), mostrando un marcado incremento a la temperatura de 100 °C, para posteriormente ir disminuyendo de forma progresiva conforme la intensidad del tratamiento térmico avanzaba. Los mayores contenidos del β -sitosterol se dieron a las condiciones del tostado de 100 °C a los diferentes tiempos (entre 63.7 - 70.4 mg/100 g almendra, b.s.); sin embargo, los tratamientos realizados no presenta diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) para el β -sitosterol (ANEXO 7h).

Cuadro 10: Contenido de fitoesteroles^{1,2} de la semilla de la *P. huayllabambana* (mg/100 g de almendra, b.s) sometidas a diferentes temperaturas y tiempos de tostado

Fitoesterol	Control	Temperatura y tiempo de tostado														
		100°C			120°C			140°C			160°C			180°C		
		10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min	10 min	20 min	30 min
Campesterol	5.5 ±0.6 ^{abc}	5.7 ±0.3 ^{ab}	5.2 ±0.8 ^{abcde}	5.5 ±0.2 ^{abcd}	4.7 ±0.2 ^{cdef}	6.0 ±0.7 ^a	4.8 ±0.2 ^{bcdef}	4.4 ±0.4 ^{ef}	4.5 ±0.5 ^{ef}	4.8 ±0.4 ^{cdef}	3.9 ±0.2 ^f	4.6 ±0.4 ^{cdef}	4.8 ±0.7 ^{bcdef}	4.9 ±0.4 ^{bcde}	4.6 ±0.5 ^{cdef}	4.3 ±0.5 ^{def}
Estigmasterol	24.8 ±1.8 ^{de}	31.8 ±1.0 ^{abc}	33.1 ±2.0 ^{ab}	34.9 ±1.0 ^a	33.2 ±0.2 ^{ab}	33.5 ±0.7 ^{ab}	32.0 ±1.4 ^{abc}	29.1 ±4.8 ^{bc}	29.2 ±4.9 ^{bc}	30.2 ±0.8 ^{bc}	28.4 ±0.6 ^{cd}	29.6 ±2.3 ^{bc}	30.2 ±1.3 ^{bc}	22.6 ±2.0 ^e	29.4 ±0.3 ^{bc}	29.4 ±0.4 ^{abc}
β-sitosterol	60.5 ±5.1 ^a	70.1 ±6.2 ^a	63.7 ±2.9 ^a	66.3 ±4.0 ^a	61.0 ±0.2 ^a	73.0 ±4.9 ^a	61.5 ±3.1 ^a	56.0 ±5.0 ^a	55.0 ±8.5 ^a	60.3 ±4.2 ^a	51.9 ±1.4 ^a	57.2 ±5.6 ^a	61.0 ±3.6 ^a	51.3 ±2.6 ^a	57.4 ±2.5 ^a	55.2 ±2.9 ^a
Fitoesteroles totales³	90.8 ±7.2 ^{defg}	107.6 ±6.4 ^{abc}	102.0 ±3.0 ^{abcd}	106.3 ±4.8 ^{ab}	98.9 ±0.2 ^{bcde}	112.5 ±6.3 ^a	98.3 ±4.4 ^{cde}	89.6 ±9.5 ^{defg}	88.7 ±13.9 ^{efg}	95.4 ±5.3 ^{cdef}	84.3 ±1.7 ^{fg}	91.5 ±6.0 ^{defg}	96.0 ±3.1 ^{cdef}	78.7 ±1.0 ^g	91.4 ±2.6 ^{defg}	88.9 ±3.7 ^{defg}

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

² Valores en la misma fila seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

³ Fitoesteroles totales= Campesterol + Estigmasterol + β-sitosterol

Finalmente, la tendencia seguida para el total de los tres fitoesteroles determinados, fue de incrementarse significativamente a las temperaturas de 100 y 120 °C por los diferentes tiempos para luego tender a disminuir progresivamente llegando a los 180 °C a valores cercanos a la de la muestra control, lo que podría ser un indicativo de su inestabilidad al tostado. Murkovik *et al.* (2004) encontró que el contenido de esteroides de las semillas de calabaza, que fueron tostadas a 150 °C por tiempos de hasta 60 min, manifestaron una disminución en los primeros tiempos (10 - 20 min) para luego ir incrementándose progresivamente, llegando hacia los 60 min a alcanzar valores superiores al de la muestra sin tostar. Los autores indican que la tendencia mostrada se debería a los cambios de humedad que se presentarían en la muestra durante el tostado (los resultados fueron expresados en base húmeda) o porque se ve facilitada la extractabilidad de los esteroides.

Los resultados obtenidos de fitoesteroides indican que la *P. huayllabambana* debe ser considerada como una importante fuente de estos compuestos, los cuales como señala Tapiero *et al.* (2003) además de presentar actividad hipocolesterolémica, también se ha reportado que podrían proteger contra el desarrollo de cáncer (de colon, de mama y de próstata). Por otro lado, el β -sitosterol ha mostrado que ayuda a disminuir el crecimiento tumoral en diversos estudios independientes.

4.2.5. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos totales se encontraron en un 91.5 mg AGE/100 g almendra (b.s.) de *Plukenetia huayllabambana* en la muestra sin tostar (control). El valor de compuestos fenólicos hallado es mayor al reportado para 16 cultivares de semillas de sachá inchi entre 64.6 y 80 mg AGE/100 g semilla (Chirinos *et al.*, 2013). El contenido de fenólicos para la muestra control fue más alto que el reportado para la avellana, pistacho, almendra, macadamia y la nuez del pino (32-47 mg AGE/100 g), cercano al de la nuez de nogal y pecana (81.6 y 84.1 mg AGE/100 g, b.s.); sin embargo, valores superiores han sido encontrados en las nueces de Brasil, anacardos, avellanas, maníes, pecanas, pistachos y nueces (de 112 a 1625 mg AGE/100 g) (Kornsteiner *et al.*, 2006; Miraliakbari y Shahidi, 2008; John y Shahidi, 2010). Así como Bozan y Temelli (2008) determinaron valores de 383 y 559 mg AGE/100 g para las semillas de lino y cártamo. En un estudio realizado por Muñoz *et al.* (2010) en las semillas de la *P. volubilis*, identificó como principales compuestos fenólicos al ácido cafeico, ferúlico, a la hesperidina, rutina y morina. El

tostado parece no afectar de manera sustancial la integridad de los compuestos fenólicos, dado que en general las cantidades de compuestos fenólicos fueron similares o se incrementaron respecto a la de la muestra sin tostar (control) (Cuadro 11).

Cuadro 11: Contenido de compuestos fenólicos de la almendra de la *P. huayllabambana* sometida a diferentes tratamientos de tostado

Tratamiento	Compuestos fenólicos (mg AGE/ 100 g almendra, b.s.) ^{1,2}
Control	91.5 ± 4.5 ^{c,d,e}
100 °C por 10 min	104.7 ± 9.4 ^b
100 °C por 20 min	100.6 ± 6.5 ^{b,c}
100 °C por 30 min	99.9 ± 6.9 ^{b,c,d}
120 °C por 10 min	92.1 ± 3.2 ^{c,d,e}
120 °C por 20 min	96.9 ± 6.2 ^{b,c,d}
120 °C por 30 min	94.5 ± 4.6 ^{b,c,d}
140 °C por 10 min	95.9 ± 6.5 ^{b,c,d}
140 °C por 20 min	90.0 ± 3.4 ^{c,d,e}
140 °C por 30 min	97.9 ± 5.3 ^{b,c,d}
160 °C por 10 min	90.8 ± 1.8 ^{c,d,e}
160 °C por 20 min	83.7 ± 2.4 ^e
160 °C por 30 min	89.7 ± 0.5 ^{d,e}
180 °C por 10 min	100.4 ± 1.9 ^{b,c,d}
180 °C por 20 min	104.9 ± 8.8 ^b
180 °C por 30 min	127.1 ± 5.8 ^a

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

² Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

Un mayor contenido de fenólicos fue evidenciado a la temperatura de 100 °C a todos los tiempos evaluados (entre 99.9 y 104.7 mg AGE/100 g almendra, b.s.), luego conforme la temperatura se incrementó este contenido comenzó a disminuir gradualmente llegando a un mínimo a los 160 °C (entre 83.7 y 90.8 mg AGE/100 g almendra, b.s.) para después volver a incrementar significativamente a los 180 °C (entre 100.4 y 127.1 mg AGE/100 g almendra, b.s.) (ANEXO 7i). Al respecto, McDaniel (2011) al estudiar el efecto del tostado

en maníes, determinó que el tostado también aumenta el contenido de polifenoles en el maní y otros alimentos debido a la liberación de compuestos tales como ácido *p*-cumárico y compuestos hidroxibenzoicos. También Vujasinovic *et al.* (2012) encontraron que el proceso de tostado de las semillas de calabaza a temperaturas entre 90 y 130 °C por tiempos de 30 y 60 min tendía a incrementar el contenido de los compuestos fenólicos en los aceites obtenidos a partir de ellas; del mismo modo Durmaz y Gökmen (2011) encontraron que el contenido de compuestos fenólicos en aceites obtenidos a partir de semillas tostadas de la *Pistacia terebinthus* a 180 °C por tiempos entre 5 y 40 min, tendía a incrementarse conforme el tiempo de tostado se prolongaba; ambos autores atribuyeron este hecho al efecto del tostado en el ablandamiento de las estructuras celulares favoreciendo la salida de los fenólicos hacia el aceite. Por otro lado, Ee *et al.* (2011) observaron que al tostar semillas de acacia australiana a 200 °C por tiempos entre 5 y 30 min se presentaban incrementos en el contenido de compuestos fenólicos. Los mismos autores conjuntamente con Dewanto *et al.* (2002), citados por Kim *et al.* (2011) atribuyen este comportamiento a que el tostado podría destruir parcialmente las paredes celulares de las semillas, resultando en la liberación de algunos de los compuestos fenólicos enlazados a ellas, lo cual favorece su extracción.

Del mismo modo, el aumento en el contenido de los compuestos fenólicos durante el proceso térmico se da por la formación de productos de la reacción de Maillard, como el hidroximetilfurfural (HMF), con estructuras tipo fenólicos (Yang *et al.*, 2010 y Boateng *et al.*, 2008; citados por Córdoba, 2012). Estos productos de la reacción de Maillard que actúan como reductores pueden ser estructuras cíclicas, estructuras fenólicas y estructuras no fenólicas. Boateng *et al.* (2008) y Randhir *et al.* (2008), citados por Córdoba (2012) indican que el aumento de compuestos fenólicos debido al tratamiento térmico podría deberse a la liberación de ácidos fenólicos unidos a los constituyentes celulares, seguida de alguna polimerización y oxidación de estos constituyentes fenólicos.

El consumo de compuestos fenólicos es importante debido a su virtud como antioxidante mediante sus propiedades de donadores de hidrógenos como también de donadores de electrones para detener las reacciones de radicales libres (John y Shahidi, 2010). Además, Proestos *et al.* (2005) menciona que estos compuestos presentan funciones antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento.

4.2.6. Capacidad antioxidante ORAC hidrofílica y lipofílica

La capacidad antioxidante (CAOX) ORAC hidrofílica y lipofílica de las almendras de *Plukenetia huayllabambana* sin tostar y tostadas se determinaron y los resultados se muestran en el Cuadro 12. Las almendras sin tostar presentaron una CAOX ORAC hidrofílica y lipofílica de 7.7 y 13.0 $\mu\text{mol TE/g}$ almendra (b.s.), respectivamente. Chirinos *et al.* (2013) han reportado en semillas de 16 cultivares de *P. volubilis* valores ORAC hidrofílico entre 4.3 y 7.2 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla y entre 1.0 y 2.8 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla para el ORAC lipofílico. Se observa que las CAOX hidrofílica y lipofílica fueron superiores a las del rango encontrado para los 16 cultivares. Características asociadas a la variedad, condiciones de crecimiento y geográficas, pudieron influir en estas diferencias.

El tostado tiende a incrementar la CAOX ORAC hidrofílica respecto a la muestra control, valores comprendidos entre 7.9 y 26.7 $\mu\text{mol TE/g}$ almendra (b.s.), fueron encontrados. La CAOX hidrofílica se incrementa significativamente a los 100 °C (entre 12.6 - 20.4 $\mu\text{mol TE/g}$ almendra, b.s.) respecto a la muestra sin tostar, luego a las temperaturas comprendidas entre 120 y 160 min tiende a disminuir para luego aumentar significativamente a 180 °C (22.1 - 26.7 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla, b.s.) (ANEXO 7j). Una tendencia parecida a esta, ha sido ya expuesta para los compuestos fenólicos (reconocidos agentes antioxidantes hidrofílicos) durante el curso del tostado (punto 4.2.5), lo que hace suponer que los compuestos fenólicos estarían influyendo en esta característica. El aumento de la capacidad antioxidante se debería al aumento de componentes antioxidantes adicionales como los compuestos fenólicos creados debido a la reacción de Maillard durante el tostado (Acar *et al.*, 2009; Chandrasekara y Shahidi, 2001; Davis *et al.*, 2010 y Talcott *et al.*, 2005; citados por McDaniel, 2011). Randhir *et al.* (2008), citado por Córdoba (2012) menciona que la aglicosilación también puede ser causa del aumento de la actividad antioxidante; así como los efectos aditivos y sinérgicos entre otros fitoquímicos y fenólicos alterados térmicamente. Talcott *et al.* (2005) encontró que el contenido de compuestos fenólicos totales de los maníes aumentó al tostarlos a 175 °C por 10 minutos, y este incremento se asoció con el incremento correspondiente de CAOX ORAC hidrofílico. Es muy probable que este fenómeno haya ocurrido del mismo modo para la almendra de *P. huayllabambana*.

Cuadro 12: Capacidad antioxidante (CAOX) hidrofílica y lipofílica de la almendra de la *P.huayllabambana* sometida a diferentes tratamientos de tostado

Tratamiento	CAOX hidrofílica ^{1,2} ($\mu\text{mol Trolox equivalente/ g}$ almendra, b.s.)	CAOX lipofílica ^{1,2} ($\mu\text{mol Trolox equivalente/ g}$ almendra, b.s.)
Control	7.73 \pm 0.77 ^j	13.05 \pm 0.86 ^{c,d}
100 °C por 10 min	14.81 \pm 1.73 ^{f,g}	10.69 \pm 1.93 ^{c,d}
100 °C por 20 min	20.38 \pm 2.63 ^{c,d}	12.06 \pm 1.51 ^{c,d}
100 °C por 30 min	12.65 \pm 1.78 ^{g,h}	12.15 \pm 0.65 ^{c,d}
120 °C por 10 min	11.40 \pm 1.57 ^h	11.93 \pm 0.53 ^{c,d}
120 °C por 20 min	15.78 \pm 1.24 ⁱ	14.46 \pm 1.63 ^c
120 °C por 30 min	13.88 \pm 0.78 ^{f,g}	8.45 \pm 0.55 ^d
140 °C por 10 min	7.85 \pm 0.73 ^j	8.99 \pm 1.03 ^d
140 °C por 20 min	15.73 \pm 1.26 ⁱ	12.62 \pm 0.92 ^{c,d}
140 °C por 30 min	18.12 \pm 0.26 ^e	12.49 \pm 0.62 ^{c,d}
160 °C por 10 min	10.94 \pm 1.32 ^{h,i}	13.09 \pm 0.99 ^{c,d}
160 °C por 20 min	18.91 \pm 0.69 ^{d,e}	12.98 \pm 1.20 ^{c,d}
160 °C por 30 min	8.92 \pm 0.59 ^{l,j}	13.81 \pm 0.95 ^c
180 °C por 10 min	24.38 \pm 0.54 ^b	70.08 \pm 3.64 ^a
180 °C por 20 min	22.13 \pm 1.21 ^c	72.46 \pm 3.49 ^a
180 °C por 30 min	26.72 \pm 0.22 ^a	61.53 \pm 7.26 ^b

¹ Promedio \pm SD de tres repeticiones

² Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En otros trabajos similares se han reportado comportamientos semejantes así, Durmaz y Gökmen (2011) encontraron que, la CAOX DPPH y ABTS hidrofílicas de los aceites obtenidos a partir de las semillas tostadas de la *Pistacia terebinthus* (180 °C por 5 – 40 min) incrementaban progresivamente, lo cual lo asociaron con los niveles de fenólicos presentes en el mismo aceite. Cisneros *et al.* (2014) también observaron que la CAOX DPPH hidrofílica del aceite de sacha inchi, obtenido a partir de semillas tostadas, incrementaba conforme la temperatura de tostado aumentó (de 77 a 100 °C) y este

comportamiento también fue encontrado en los compuestos fenólicos de los aceites obtenidos a partir de las semillas tostadas.

Con respecto a la CAOX ORAC lipofílica, se observó un comportamiento completamente diferente. La CAOX lipofílica tiende a mantenerse próxima y cercana al valor que presenta la semilla sin tostar a las temperaturas de tostado comprendidas entre 100 y 160 °C (entre 9 y 14.5 $\mu\text{mol TE/g}$ almendra, b.s.); mientras que a la temperatura de 180 °C los valores se incrementan drásticamente (entre 61.5 y 72.5 $\mu\text{mol TE/g}$ almendra, b.s.). Este hecho indicaría que habría componentes lipofílicos (diferentes a los tocoferoles y fitoesteroles) con características que tenderían a presentarse o a hacerse más disponibles a las temperaturas de 180 °C lo que se traduciría en una mayor CAOX lipofílica.

V. CONCLUSIONES

- El tostado de las semillas de *Plukenetia huayllabambana* favorece la extracción de una mayor cantidad de aceite; sin embargo, la aplicación de este tratamiento térmico provoca el deterioro oxidativo del aceite obtenido tal como se observó con el incremento de los ácidos grasos libres, la *p*-anisidina, los dienos conjugados y el comportamiento del índice de peróxido. A la temperatura de tostado de 100 °C por 20 minutos se logra aumentar el rendimiento de extracción de aceite sin afectar la estabilidad oxidativa del aceite.
- El tostado incrementó la cantidad de los ácidos grasos presentes en las almendras de la *P. huayllabambana* respecto a las que no pasaron por el tostado. Valores de ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados entre 4.3 – 6.1; 4.8 – 6.7 y 37.1 – 51.5 g/100 g de almendra (b.s) fueron encontrados.
- Los tocoferoles presentes en las almendras de *P. huayllabambana* fueron afectados por las condiciones de tostado. Los tocoferoles totales tienden a incrementarse a los tratamientos de 100 y 120 °C respecto a la muestra sin tostar (control), a los 140 °C permanecen cercanos al control y a las temperaturas 160 y 180 °C disminuyen significativamente.
- Los fitoesteroles totales de las almendras de *P. huayllabambana* también sufrieron un incremento a la temperatura de tostado de 100 y 120 °C y luego van disminuyendo progresivamente, llegando a los 180 °C a un valor cercano al de la muestra control.
- Los compuestos fenólicos de las almendras de *P. huayllabambana* tienden a incrementarse significativamente a los 100 °C, se mantienen casi constantes a las temperaturas entre 120 y 160 °C respecto al control mientras que a los 180 °C alcanzan valores superiores. La capacidad antioxidante ORAC hidrofílica de *P.*

huayllabambana tiende a mostrar una tendencia similar a la de estos compuestos, ya que estos son agentes antioxidantes hidrofílicos.

- La capacidad antioxidante ORAC lipofílica se mostró casi constante a las temperaturas entre los 100 y 160 °C, pero se incrementó sustancialmente a los 180 °C.

VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar un estudio para determinar la influencia del tostado en la vida en anaquel tanto en la almendra como en el aceite de *P. huayllabambana* y de este modo poder determinar su tiempo de vida útil.
- Realizar estudios para determinar si el tostado la integridad de la proteína y la biodisponibilidad proteica de la *P. huayllabambana*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABIDI, S. (2011). Chromatographic analysis of plants sterols in foods and vegetables oils. *Journal of Chromatography A* 935. 173-201.
2. ACAR, O.; GOKMEN V.; PELLEGRINI, N.; FOGLIANO, V. (2009). Direct evaluation of the total antioxidant capacity of raw and roasted pulses, nuts and seeds. *European Food Research and Technology*. 229(6). 961-969.
3. ALONSO-CALDERÓN, A.; CHÁVEZ-BRAVO, E.; RIVERA, A.; MONALVO-PAQUIRI, C.; ARROYO-TAPIA, R.; MONTEROSAS-SANTAMARIA, M.; JIMÉNEZ-SALGADO, T.; TAPIA-HERNÁNDEZ, A. (2013). Characterization of black chia seed (*Salvia hispanica* L.) and oil and qualification of β -sitosterol. *International Research Journal of Biological Sciences* 2(1). 70-72.
4. AMARAL, J; CASAL, S; TORRES, D; SEABRA, R; OLIVEIRA, B. (2005). Simultaneous determination of tocopherols and tocotrienols in hazelnuts by a normal phase liquid chromatographic method. *The Japan Society for Analytical Chemistry. Analytical Sciences* 21. 1545-1548.
5. ANJUM, F.; ANVAR, F.; JAMIL, A.; IQBAL, M. (2006). Microwave roasting effects on the physico-chemical composition and oxidative stability of sunflower seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 83. 777-784.
6. ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S. ROBARDS, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Royal Society of Chemistry. The Analyst* 127. 183-198.
7. AOAC (American Organization of Analytical Chemists) International. (1998). *Official Methods of Analysis*. 16 ed. Gaithersbur. Estados Unidos.

8. ARANCETA, J. (2009). Alimentos funcionales y salud en la etapa infantil y juvenil. Editorial Médica Panamericana. Madrid. España.
9. ARAÚJO, K.; EPAMINONDAS, P.; SILVA, M.; LIMA, A. de, ROSENHAIM, R.; MAIA, A.; SOLEDADE, I.; SOUZA, A.; SANTOS, I., SOZA, A.; QUEIROZ, N. (2011). Influence of thermal degradation in the physicochemical properties of fish oil. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 106. 557-561.
10. ARELLANO, P. (2003). Utilización de enzimas en la extracción del aceite de semilla de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Lima. Perú.
11. ARÉVALO, G. (2000). El cultivo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la Amazonía. Tarapoto: Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología (PRONARGEB), Estación Experimental Agraria (E. E. A.) El Porvenir. Perú.
12. ARNAO, M.; CANO, A.; ACOSTA, M. (2001). The hydrophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73. 239-244.
13. AVELLO, M.; SUWALSKY, M. (2006). Radicales libres antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Universidad de Concepción de Chile* 2. 161-172.
14. BOEKEL, M. van; FOGLIANO, V.; PELLEGRINI, N.; STATON, C.; SCHOLZ, G.; LALLJIE, S.; SOMOZA, V.; KNORR, D.; JASTI, P.; EISENBRAND, G. (2010). A review on the beneficial aspects of food processing. *Molecular Nutrition & Food Research* 54(9). 1215-1247.
15. BONDIOLI, P.; DELLA BELLA, L.; RETTKE, P. (2006). Alpha linolenic acid rich oils. Composition of *Plukenetia volubilis* (sacha inchi) oil from Perú. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*. 83(3). 120-123.
16. BOZAN, B.; TENELLI, F. (2008). Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seeds and seed oils. *Bioresource Technology* 99. 6354-6359.

17. BUSSMAN, R.; TÉLLEZ, C.; GLENN, A. (2009). *Plukenetia huayllabambana* sp. nov. (Euphorbiaceae) from the upper Amazon of Peru. *Nordic Journal of Botany* 27. 313-315.
18. CEDANO, I. (2009). Estudio de la eficacia antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos a partir de la mashua en la estabilidad del aceite de sacha inchi. Tesis Magister en Tecnología de Alimentos. EPG. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. Perú.
19. CHANDRASEKARA, N.; SHAHIDI, F. (2011). Oxidative stability of cashew oils from raw and roasted nuts. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 88. 1197-1202.
20. CHIOU, R.; TSAI, T. (1989). Characterization of peanut proteins during roasting as affected by initial moisture content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37. 1377-1381.
21. CHIRINOS, O.; ADACHI, L.; CALDERÓN, F.; DÍAZ, R.; LARREA, L.; MUCHA, G.; ROQUE, L. (2009). Exportación de aceite de sacha inchi al mercado de Estados Unidos. Universidad ESAN (Serie Gerencia Global). Lima. Perú.
22. CHIRINOS, R.; ZULOETA, G.; PEDRESCHI, R.; MIGNOLET, E.; LARONDELLE, Y.; CAMPOS, D. (2013). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Chemistry* 141(3). 1732-1739.
23. CHOONG, Y.; LIN, H.; CHEN, C.; WANG, M. (1999). A Rapid Gas Chromatographic Method for Direct Determination of Free Sterols in Animal and Vegetable Fats and Oils. *Journal of Food and Drug Analysis* 7(4). 279-290.
24. CISNEROS, F.; PAREDES, D.; ARANDA, A.; CISNEROS, L. (2014). Chemical composition, oxidative stability and antioxidant capacity of oil extracted from roasted seed of sacha-inchi (*Plukenetia volubilis*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 62(22). 5191-5197.

25. CODEX ALIMENTARIUS. (2003). Norma Comercial Aplicable a los Aceites de Oliva y los Aceites de Orujo de Oliva COI/T.15/NC n° 3/Rev. 1. Español. España.
26. CODONY, R.; GUARDIOLA, F.; BOU, R.; TRES, A. (2010). Valoración analítica y nutricional de las grasas. Departamento de Nutrición y Bromatología. Universidad de Barcelona. España. Consultado 21 nov. 2013. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/tablas_composicion_alimentos/53-10CAP_VII.pdf
27. COI (Consejo Oleícola Internacional). (2003). Norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva. COI/T.15/NC n° 3/Rev. 7. Madrid. España.
28. CÓRDOBA, C. 2012. Evaluación del efecto del secado a dos temperaturas en el contenido de compuestos fenólicos, antocianinas y capacidad antioxidante de la mashua morada (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). Tesis para optar por el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. Perú.
29. COSTA, P. da; BALLUS, C.; TEIXEIRA FILHO, J.; TEIXEIRA, H. (2010). Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts. *Food Research International* 43. 1603-1606.
30. COULTATE, T. (2002). Manual de Química y Bioquímica de los Alimentos. 3 ed. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España.
31. DAVIS, J.; DEAN, L.; PRICE, K.; SANDERS T. (2010). Roast effects on the hydrophilic and lipophilic antioxidant capacities of peanut flours, blanched peanut seed and peanut skins. *Food Chemistry* 119(2). 539-547.
32. DEWANTO, V.; WU, X.; LIU, R. (2002). Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(17). 4959-4964.
33. DUCHATEAU, G.; BAUER-PLANK, C.; LOUTER, A.; HAM, M. van der; BOERMA, J.; ROOIJEN, J. van; ZANDBELT, P. (2002). Fast and accurate method

- for total 4-desmethyl sterol(s) content in Spreads, fat-blends, and raw materials. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 79(3). 275-278.
34. DURMAZ, G.; GÖKMEN, V. (2011). Changes in oxidative stability, antioxidant capacity and phytochemical composition of *Pistacia terebinthus* oil with roasting. *Food Chemistry* 128. 410–414.
 35. EITENMILLER, R.; CHOI, S.; CHUN, J. (2011). Effectsof dry roasting in the vitamin E content and microestructura of peanut (*Arachis hypogaea*). *Journal of Agriculture & Life Science* 45(5). 121-133.
 36. EE, K.; AGBOOLA, S.; REHMAN, A.; ZHAO, J. (2011). Characterisation of phenolic components present in raw and roasted wattle (*Acacia victoriae* Bentham) seeds. *Food Chemistry* 129. 816-821.
 37. EPAMINONDAS, P.; ARAÚJO, K.; NASCIMENTO, J.; SILVA, M., ROSENHAIM, R.; SOLEDADE, L.; QUEIROZ, N.; SOUZA, A.; SANTOS, I.; SOUZA, A. (2011). Influence of toasting and the seed variety on the physico-chemical and thermo-oxidative characteristics of the flaxseed oil. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 106. 545-550.
 38. FANALI, C.; DUGO, L.; CACCIOLA, F.; BECCARIA, M.; GRASSO, S.; DACHÀ, M. (2011). Chemical characterisation of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(4). 13043-13049.
 39. FERNÁNDEZ, L. (2010). Deterioro de grasas de freído y su influencia en la calidad de papas a la francesa. Tesis para optar por el título de Licenciado en Ingeniería de Alimentos. Universidad de las Américas Puebla. México. 67 p.
 40. FOLLEGATI-ROMERO, L.; PIANTINO, C.; GRIMALDI, R.; CABRAL, F. (2009). Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) seed. *Journal of Supercritical Fluids* 49(3). 323-329.

41. GBIF (Global Biodiversity Information Facility, DK). Species: *Plukenetia huayllabambana* Bussmann, C.Téllez & A.Glenn. Consultado 13 ago 2013. Disponible en: <http://data.gbif.org/species/5939718/>
42. GUILLÉN, M.; RUÍZ, C.; CABO, N.; CHIRINOS, R.; PASCUAL, G. (2003). Characterisation of sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) oil by FTIR spectroscopy and ¹H NMR. Comparison with linseed oil. Journal of the American Oil Chemists Society 80(8). 755-762.
43. GUTIÉRREZ, L.; ROSADA, L.; JIMÉNEZ, A. (2011). Chemical composition of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characterisation of their lipid fraction. Grasas y aceites 62(1). 76-83.
44. HAMAKER, B.; VALLES, C.; GILMAN, R.; HARDMEIER, R.; CLARK, D.; GARCÍA, H.; GONZALES, A.; KOHLSTAD, I.; CASTRO, M.; VALDIVIA, R.; RODRÍGUEZ, T.; LESCANO, M. (1992). Amino acid and fatty acid profile of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis*). Cereal Chemistry Journal 69(4). 461-463.
45. HANSEN, H.; SCHMITZ-HÜBSCH, M. (2011). Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) nut oil and its therapeutic and nutritional uses. In Preedy, V; Watson, R y Patel, V. Nuts and seeds in health and disease prevention. Academic Press. 1 ed. Londres. Reino Unido. p. 991-994.
46. HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.; PRIOR, R. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50. 4437-4444.
47. IIAP (Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana). (2009). Estudio de viabilidad económica del cultivo de *Plukenetia volubilis* Linneo, sacha inchi, en el departamento de San Martín. 1 ed. Iquitos. Perú. 65 p. (Serie Avances Económicos no. 3).

48. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). (1987). Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. 7 ed. Londres. Reino Unido.
49. IXTAINA, V.; NOLASCO, S.; TOMÁS, M. (2012). Oxidative stability of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil: Effect of antioxidants and storage conditions. Journal American Oil Chemists' Society 89. 1077-1090.
50. JARAMILLO, M.; GONZÁLEZ, L.; CORNEJO, M.; DORANTES, L.; GUTIÉRREZ, G.; HERNÁNDEZ, H. (2003). Effect of thermal treatment on the antioxidant activity and content of carotenoids and phenolic compounds of cactus pear cladodes (*Opuntia ficus-indica*). Food Science and Technology International 9(4). 271-278.
51. JOHN, J.; SHAHIDI, F. (2010). Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). Journal of Functional Foods 2. 196-209.
52. KAMAL-ELDIN, A.; GÖRGEN, S.; PETTERSON, J.; LAMPI, A. (2000). Normal-phase high-performance liquid chromatography of tocopherols and tocotrienols. Comparison of different chromatographic columns. Journal of Chromatography A 881. 217-227.
53. KIM, I.; KIM, C.; YOU, J.; LEE, K.; KIM, C.; CHUNG, S.; TAE, B. (2002). Effect of roasting temperature and time on the chemical composition of rice germ oil. Journal of The American Oil Chemist's Society 79. 413-418.
54. KIM, H.; KIM, G.; OH, H.; YOO, S.; KIM, Y.; OH, M. (2011). Influence of roasting on the antioxidant activity of small black soybean (*Glycine max* L. Merrill). LWT - Food Science and Technology 44. 992-998.
55. KORNSTEINER, M.; WAGNER, K.; ELMADFA, I. (2006). Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. Food Chemistry 98. 381-387.
56. LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Progress in Lipid Research 46. 244-282.

57. LEE, Y.; OH, S.; CHANG, J.; KIM, I. (2004). Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. *Food Chemistry* 84. 1-6.
58. LUNN, J.; HANNAH, E. (2006). *Nutrition in pregnancy*. British Nutrition Foundation. Londres. Reino Unido.
59. MAGUIRRE, L.; O'SULLIVAN, S.; GALVIN, K.; O'CONNOR, T.; O'BRIEN, N. (2004). Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. *International Journal of Food Science and Nutrition* 55.171–178.
60. MANCO, E. (2006). *Cultivo de sacha inchi*. Ministerio de Agricultura. Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria. Dirección de Investigación Agraria. San Martín, PE.
61. MATISSEK, R.; SCHNEPEL, F.; STEINER, G. (1999). *Análisis de los alimentos. Fundamentos – Métodos – Aplicaciones*. Editorial Acirbia S.A. Zaragoza. España.
62. MAURER, N.; HATTA, B.; PASCUAL, G.; RODRÍGUEZ, L. (2012). Characterization and authentication of novel vegetable source of omega-3 fatty acids, sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *Food Chemistry* 134. 1173-1180.
63. McDANIEL, K. (2011). Effects of different time/temperature roast combinations on peanut flavor, mechanical and nutritional properties. Tesis Mg. Sc. Food Science. North Carolina State University. Estados Unidos. 117 p.
64. MICHOTTE, D.; ROGEZ, H.; CHIRINOS, R.; MIGNOLET, E.; CAMPOS, D.; LARONDELLE, Y. (2011). Linseed oil stabilization with pure natural phenolic compounds. *Food Chemistry* 129. 1228-1231.
65. MIRALIAKBARI, H.; SHAHIDI, F. (2008). Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. *Food Chemistry* 111. 421-427.

66. MOREIRA, A; MANCINI FILHO, J. (2004). Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. *Revista de Nutrição* 17. 411–424.
67. MUNNÉ-BOSCH, S.; ALEGRE, L. (2002). The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21(19). 31-57.
68. MUÑOZ, A.; RAMOS, F.; ALVARADO, C.; CASTAÑEDA, B.; BARNETT, E.; YÁÑEZ, J.; CAJALEÓN, D. (2010). Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semilla de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú* 76(3). 234-241.
69. MUÑOZ, A.; ALVARADO, C.; ENCINA, C. (2011). Fitoesteroles y fitoestanoles: Propiedades saludables. *Revista Horizonte Médico* 11(2). 93-100.
70. MUÑOZ, A.; ALVARADO-ORTIZ, C.; CASTAÑEDA, B.; LIZARASO, F.; BARNETT, E.; CÁRDENAS, L.; MANCO, E. (2013). Estudio nutricional de *Plukenetia huayllabambana* sp. nov. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 79(1). 847-856.
71. MURKOVIC, M.; PIIRONEN, V.; LAMPI, A.; KRAUSHOFER, T.; SONTAG, G. (2004). Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 1: non-volatile compounds). *Food Chemistry* 84. 359–365.
72. NAVARRO, G.; BRINGAS, L.; PACHECO, R. (2004). Nueva Herramienta para el estudio de la oxidación de los ácidos grasos, una de las causas fundamentales de la pérdida de calidad de los alimentos para la acuicultura. *Memoria del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 16 – 19 Noviembre 2004. Sonora. México. 24 p.
73. NAZSK, M.; SHAHIDI, W. (2004). Extraction and analysis of phenolics on food. *Journal of Chromatography* 1054. 95-111.

74. NICOLI, M.; ANESE, M.; MANZOCCO, L.; LERICI, C. (1997). Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. *LWT-Food Science and Technology* 30(3). 292-297.
75. NÚÑEZ, R. (2007). Evaluación del contenido de tocoferoles y tocotrienoles en aceite de nuez de selecciones clonales de *Gevuina avellana* Mol. Tesis para optar por el título en Licenciado en Agronomía. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. 97 p.
76. OLIVIERO, T.; CAPUANO, E.; CAMMERER, B.; FOGLIANO, V. (2009). Influence of roasting on the antioxidant activity and HMF formation of a cocoa bean model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(1). 147-152.
77. OOMAH, B.; KENASCHUK, E.; MAZZA, G. (1997). Tocopherols in flaxseed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45. 2076-2080.
78. OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49. 4619-4626.
79. 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. Tesis para optar por el título de Ingeniero Químico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú. 70 p.
80. PASCUAL, G.; MEJÍA, M. (2000). Extracción y caracterización de aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Anales Científicos UNALM* 42. p. 146-160.
81. PERREN, R.; ESCHER, F. (1997). Investigations on the hot air roasting of nuts. *The Manufacturing Confectioner* 77. 123-127.
82. PORKONY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON M. (2005). Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España.

83. PRADO, I. do; GIUFRIDA, W.; ÁLVAREZ, V.; CABRAL, V.; QUISPE-CONDORI, S.; SALDAÑA, M.; CORDOZO-FILHO, L. (2011). Phase equilibrium measurements of sacha inchi oil (*Plukenetia volubilis*) and CO₂ at high pressures. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 88(8). 1263-1269.
84. PROESTOS, C.; CHORIANOPOULOS, N.; NYCHAS, G.; KOMAITIS, M. (2005). RP- HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53. 1190-1195.
85. RODRÍGUEZ, A.; CORAZON-GUUVIN, M.; CACHIQUE, D.; MEJÍA, K.; DEL CASTILLO, D.; RENNO, J.; GARCÍA-DÁVILA, C. (2010). Diferenciación morfológica y por ISSR (Inter simple sequence repeats) de especies del género *Plukenetia* (Euphorbiaceae) de la Amazonía peruana: propuesta de una nueva especie. *Revista Peruana de Biología* 17(3).
86. RONAYNE, P. (2000). Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación del lactante. *Archivos Argentinos de Pediatría* 98(4). 231-238.
87. RUDNIK, E; SZCZUCINSKA, H; GWARDIAK, H; SZULC, A; WINIARSKA, A. (2001). Comparative studies of oxidative stability of linseed oil. *Thermochimica Acta* 370. 135-140.
88. RUÍZ, C.; DÍAZ, C.; ANAYA, J.; ROJAS, R. (2013). Análisis proximal, antinutrientes, perfil de ácidos grasos y de aminoácidos de semillas y tortas de 2 especies de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*). *Revista de la Sociedad Química del Perú* 79(1). 29-36.
89. SAKLAR, S.; UNGAN, S.; KATNAS, S. (1999). Instrumental crispness and crunchiness of roasted hazelnuts and correlations with sensory assessment. *Journal of Food Science* 64(6). 1015-1019.
90. SAYAGO, A.; MARÍN, M.; APARICIO, R.; MORALES, M. (2007). Vitaminas E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites* 58(1). 74-86.

91. SCHMIDT, Š.; POKORNÝ, J. (2005). Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for lipids - A review. *Czech Journal of Food Science* 23. 93–102.
92. SEPPANEN, C.; SONG, Q.; SAARI, A. (2010). The antioxidant functions of tocopherol and tocotrienol homologues in oils, fats, and food systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 87. 469-481.
93. SIMSEK, A. (2007). The use of 3D-nonlinear regression analysis in mathematics modeling of colour change in roasted hazelnuts. *Journal of Food Engineering* 78(4). 1361-1370.
94. SINGLETON, V.; ROSSI, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16. 144-158.
95. SOLER, A. (2009). Estudio de la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. Primeras etapas en el desarrollo de un aceite de oliva funcional. Tesis Doctoral. Universidad de Lérida. España. 259 p.
96. TALCOTT, S.; DUNCAN, C.; DEL POZO-INSFRAN, D.; GORBET, D. (2005). Polyphenolic and antioxidant changes during storage of normal, mid, and high oleic acid peanuts. *Food Chemistry* 89(1). 77-84.
97. TAPIERO, H.; TOWNSEND, D.; TEW, K. (2003). Phytoesrols in the prevention of human pathologies. Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 57. 321-325.
98. TITO, P.; BAUTISTA, E. (2009). Estrategias de comercialización del sachá inchi. Gestión en el Tercer Milenio. *Revista de Investigación de la Facultad de Ciencias Administrativas, UNMSM. Lima. Perú.* 12(23).
99. VAIDYA, B.; CHOE, E. (2011). Stability of tocopherols and lutein in oil extracted from roasted and unroasted mustard seeds during the oil oxidation in the dark. *Food Science and Biotechnology* 20(1). 193-199.

- 100.VELÁSQUEZ, G. (2006). Fundamentos de Alimentación Saludable. 1 ed. Editorial Universidad de Antioquía. Medellín. Colombia. 283 p.
- 101.VELDSINK, J.; MUUSE, B.; MEIJER, M.; CUPERUS, F.; SANDE, R. van de; PUTTE, K. van. (1999). Heat pretreatment of oilseeds: Effect on oil quality. European journal of Lipid Science and Technology 101(7). 244-248.
- 102.VUJASINOVIC, V.; DJILAS, S.; DIMIC, E.; BASIC, Z.; RADOCAJ, O. (2012). The effect of roasting on the chemical composition and oxidative stability of pumpkin oil. European journal of Lipid Science and Technology 114(5). 568-574.
- 103.WAGNER, K.; DERKITS, S.; HERR, M.; SCHUH, W.; ELMADFA, I. (2002). Antioxidative potential of melanoïdins isolated from a roasted glucose–glycine model. Food Chemistry 78. 375–382.
- 104.WALL, M. (2010). Functional lipid characteristics, oxidative stability, and antioxidant activity of macadamia nut (*Macadamia integrifolia*) cultivars. Food Chemistry 121. 1103-1108.
- 105.YEN, G.; SHYU, S. (1989). Oxidative stability of sesame oil prepared from sesame seed with different roasting temperatures. Food Chemistry 31. 215–224.
- 106.ZULUETA, A.; ESTEVE, M.; FRÍGOLA, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. Food Chemistry 114. 310-316.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Método para la determinación del contenido de ácidos grasos (Michotte *et al.*, 2011) con ligeras modificaciones

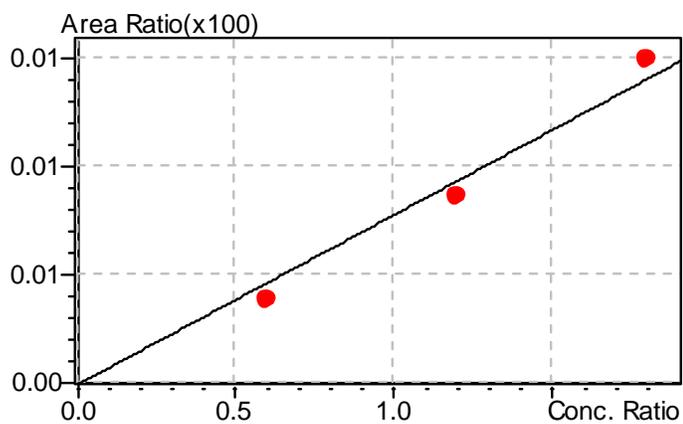
En un tubo de vidrio pyrex con tapa rosca se pesaron 500 mg de aceite, después se le adicionó 10 ml de hidróxido de potasio (0.1 M en metanol) y se procedió a cerrar el tubo herméticamente. Los tubos fueron colocados inmediatamente en un baño maría precalentado a 70 °C, por 60 minutos, estos se agitaron vigorosamente a los 5, 20 y 40 minutos. Después de transcurrido el tiempo, estos fueron enfriados a temperatura ambiente. Luego se adicionaron 4 ml de una solución de ácido clorhídrico (1.2 N en metanol) a cada tubo, luego se agitaron vigorosamente y se colocaron en baño de maría a 70 °C durante 20 minutos, agitando vigorosamente a los primeros 10 minutos; transcurrido el tiempo, los tubos se enfriaron a temperatura ambiente. Se adicionaron 20 ml de hexano y 10 ml de agua milli-Q. Estos se agitaron manualmente y se homogenizaron con el vortex. Se dejaron en refrigeración a 4 °C por toda la noche.

Al día siguiente se realizó una dilución, tomando 150 µl de la fase superior (hexano) en una fiola de 10 ml. Seguidamente se agregó 1 ml del estándar interno C11:0 (0.4 mg/ml). Este ácido graso sintético permite corregir el volumen de inyección. Finalmente, se enrasó con hexano y se conservó a -20 °C hasta su inyección al CG.

Los ésteres metílicos de ácidos grasos formados de la etapa previa, fueron separados por inyección de 1 µl de la solución dentro del cromatógrafo de gases GC-2010 plus (Shimadzu) acoplado al detector de ionización de llama (FID-2010) y un auto inyector (AOC-20i). La columna usada fue una Restek Rt-2560 (Bellefonte, PA) (0.2 µM, 100 m x 0.25 mm ID). La temperatura del horno para la corrida se programó como sigue: inicialmente a 100 °C (por 4 minutos), se incrementó la temperatura hasta 240 °C a 3 °C/min y un periodo isotérmico de 25 min a 240 °C. Las temperaturas del inyector y detector se fijaron en 225 y 250 °C, respectivamente. Se utilizó Helio de alta pureza como gas portador. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron identificados y cuantificados mediante la comparación de sus tiempos de retención con los estándares conocidos previamente inyectados. Las curvas de calibración para los ácidos grasos fueron construidos con diferentes concentraciones de ésteres metílicos de ácidos grasos dentro del rango de 6-90 mg/l (ANEXO 2).

ANEXO 2: Curvas estándares de ácidos grasos

a. Ácido palmítico



$$y = ax + b$$

$$a = 0.7831101$$

$$b = 0.0$$

$$r^2 = 0.9932167$$

$$r = 0.9966026$$

Internal Standard

Calib.Curve:Linear

Origin:Force Through

Weight:None

Mean RF : 0.7275830

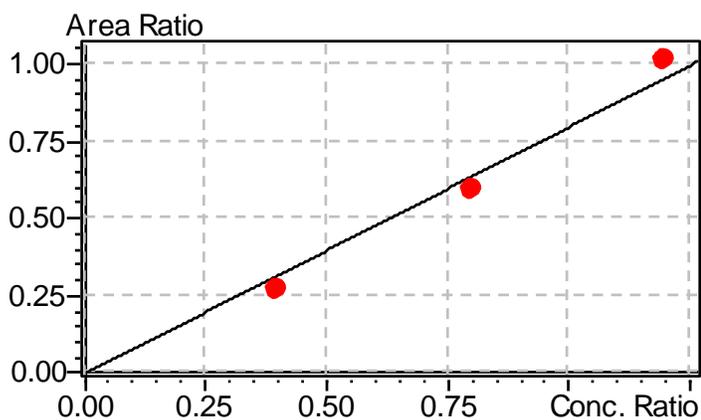
RF SD : 9.622771e-002

RF %RSD : 13.22567

Date Processed : 15/05/2012 11:01:53

ANEXO 2 (continuación)

b. Ácido esteárico



$$y = ax + b$$

$$a = 0.7981159$$

$$b = 0.0$$

$$r^2 = 0.9937857$$

$$r = 0.9968880$$

Internal Standard

Calib.Curve:Linear

Origin:Force Through

Weight:None

Mean RF : 0.7444197

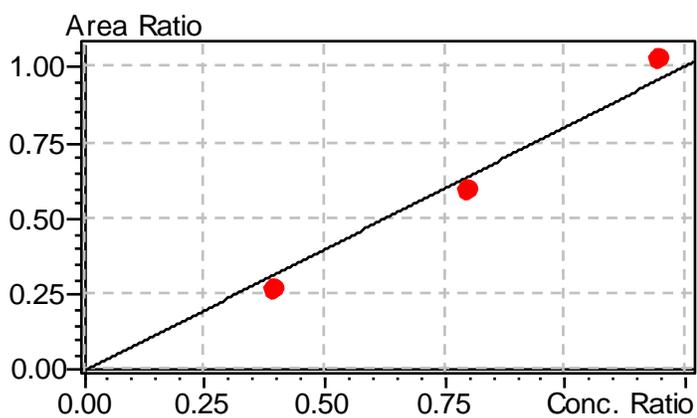
RF SD : 9.305412e-002

RF %RSD : 12.50022

Date Processed : 15/05/2012 11:01:53

ANEXO 2 (continuación)

c. Ácido Oleico



$$y = ax + b$$

$$a = 0.8048331$$

$$b = 0.0$$

$$r^2 = 0.9929991$$

$$r = 0.9964934$$

Internal Standard

Calib.Curve:Linear

Origin:Force Through

Weight:None

Mean RF : 0.7483260

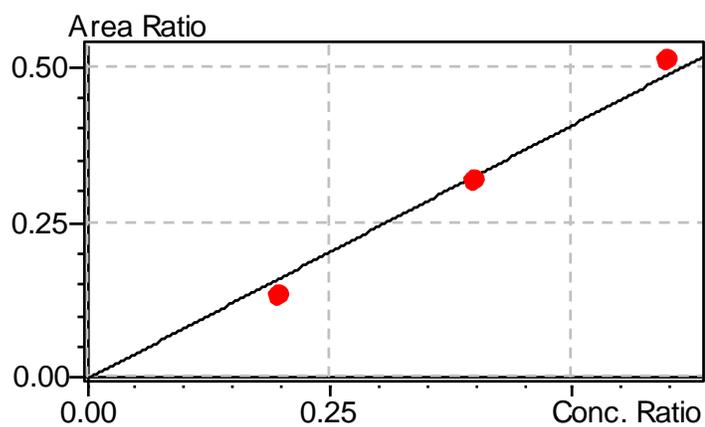
RF SD : 9.789799e-002

RF %RSD : 13.08227

Date Processed : 15/05/2012 11:01:53

ANEXO 2 (continuación)

d. Ácido linoleico



$$y = ax + b$$

$$a = 0.8162432$$

$$b = 0.0$$

$$r^2 = 0.9996263$$

$$r = 0.9998131$$

Internal Standard

Calib.Curve:Linear

Origin:Force Through

Weight:None

Mean RF : 0.7627227

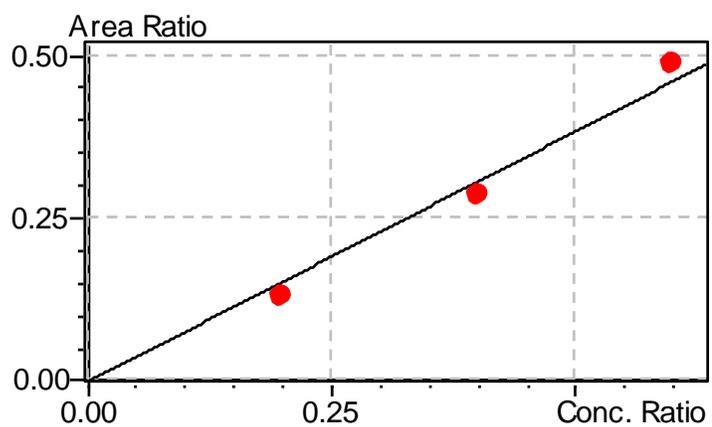
RF SD : 9.815221e-002

RF %RSD : 12.86866

Date Processed : 15/05/2012 11:01:53

ANEXO 2 (continuación)

e. Ácido linolénico



$$y = ax + b$$

$$a = 0.7703221$$

$$b = 0.0$$

$$r^2 = 0.9945844$$

$$r = 0.9972885$$

Internal Standard

Calib.Curve:Linear

Origin:Force Through

Weight:None

Mean RF : 0.7188402

RF SD : 8.932286e-002

RF %RSD : 12.42597

Date Processed : 15/05/2012 11:01:53

ANEXO 3: Método de determinación del contenido de tocoferoles (Amaral *et al.*, 2005) con ligeras modificaciones

La cáscara de las semillas fueron separadas manualmente para posteriormente moler las almendras. Se pesaron 400 mg de almendra molida en un tubo de centrífuga de 15 ml y se agregaron 75 μ l de una solución de BHT (10 mg/ml de hexano). Seguidamente se adicionó 2 ml de etanol grado analítico, se homogenizó en vortex por un minuto, se adicionó 4 ml de hexano, se homogenizó nuevamente en vortex por un minuto, se adicionó 2 ml de solución de cloruro de sodio saturado y se volvió a homogenizar en vortex por un minuto. Luego, se centrifugó a 4,000 rpm por 4 minutos, y el sobrenadante obtenido se trasvasó a un tubo de centrífuga de 15 ml. Se realizaron dos extracciones más usando 2 ml de hexano por cada una, homogenizando por un minuto, centrifugando a 4,000 rpm, para posteriormente juntar los sobrenadantes. Se homogenizó por 30 segundos el tubo conteniendo los sobrenadantes y luego se centrifugó a 4,000 rpm por 4 minutos.

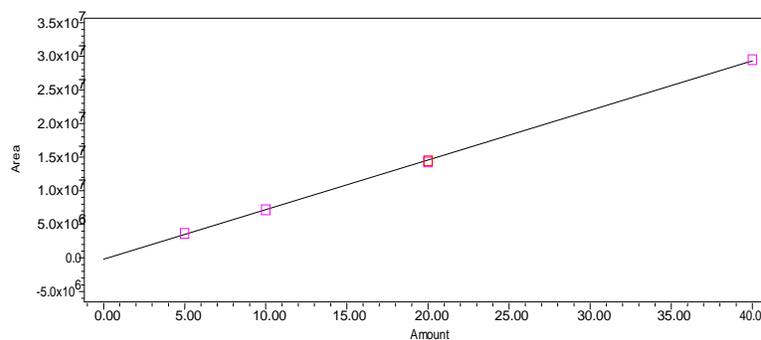
El líquido obtenido fue concentrado evaporando el hexano con nitrógeno gaseoso en baño maría 30-40 °C hasta un volumen de 1.5 ml, este se trasvasó a un tubo de microcentrífuga y se le adicionaron 0.5 g de sulfato de sodio anhidro; con el objeto de eliminar cualquier residuo de agua en la muestra. Luego el tubo pasó a la microcentrífuga a 10,000 rpm por un minuto. El líquido obtenido fue guardado en microtubos herméticos y a oscuras a -70 °C hasta el análisis respectivo en el HPLC.

La cuantificación de los tocoferoles se realizó en un equipo HPLC (Waters 2695) con un módulo de separación Waters 2695 (Waters, Milford, MA), integrado con un inyector automático, un detector de fluorescencia (Waters 2475) y se utilizó el software Empower. La separación cromatográfica fue realizada en una columna empaquetada con Silica (Marca YMC) de 3 μ m de dimensiones 250 x 4.6 mm (Kyoto, Japan) y un guarda columna de 4.0 x 2.0 mm, a la temperatura de 30 °C. Se utilizó un gradiente isocrático, donde la fase móvil empleada fue una mezcla de n-hexano/2-propanol/ácido acético (1000: 6: 5, v/v/v). El flujo del solvente de elución fue 1.4 ml/min, bajo gradiente isocrático. La cantidad de muestra inyectada fue de 10 μ l. La detección y cuantificación fue realizada a las longitudes de onda de excitación = 290 nm y de emisión = 330 nm. Las muestras y fase móvil fueron pasadas por filtros millipore de 0.22 μ m, tipo GV (Millipore, Bedford, MA) previo a su inyección al HPLC. La duración de la corrida cromatográfica fue de 13

minutos. La identificación de los tocoferoles α -, β -, γ - y δ - se realizó por comparación de los tiempos de retención de las muestras con estándares previamente inyectados. Durante el desarrollo de toda la metodología se mantuvo las muestras bajo condiciones de oscuridad.

ANEXO 4: Curvas estándares tocoferoles

a. α -tocoferol



$$y = ax + b$$

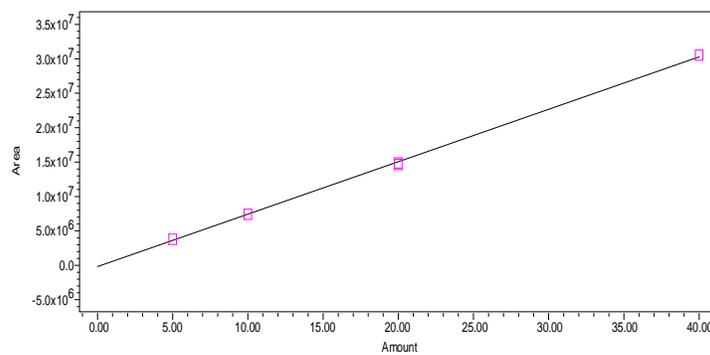
$$a = 7.37 \times 10^5$$

$$b = -1.94 \times 10^5$$

$$r^2 = 0.999$$

“x” en $\mu\text{g/ml}$

b. β -tocoferol



$$y = ax + b$$

$$a = 7.62 \times 10^5$$

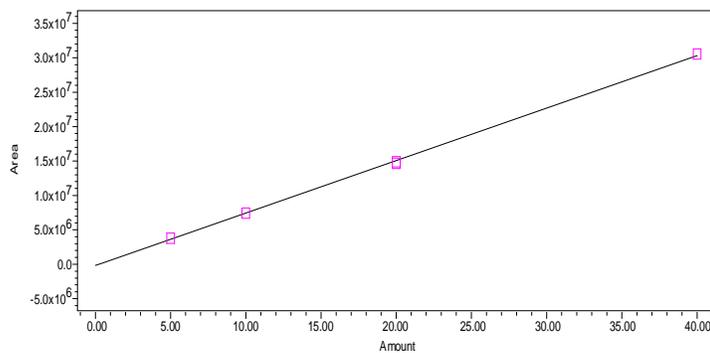
$$b = -1.93 \times 10^5$$

$$r^2 = 0.999$$

“x” en $\mu\text{g/ml}$

ANEXO 4 (continuación)

c. γ -tocoferol



$$y = ax + b$$

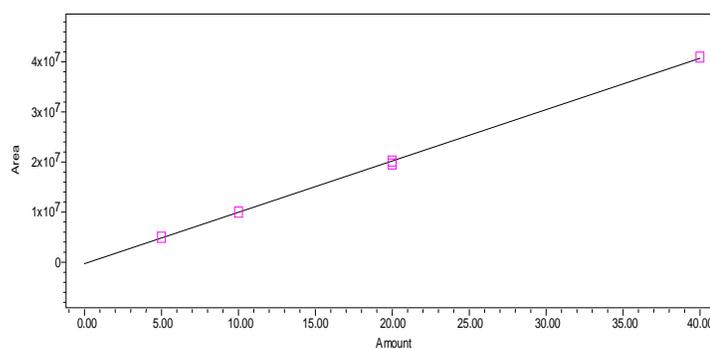
$$a = 9.33 \times 10^5$$

$$b = -1.76 \times 10^5$$

$$r^2 = 0.999$$

“x” en $\mu\text{g/ml}$

d. δ -tocoferol



$$y = ax + b$$

$$a = 1.30 \times 10^6$$

$$b = -1.76 \times 10^5$$

$$r^2 = 0.999$$

“x” en $\mu\text{g/ml}$

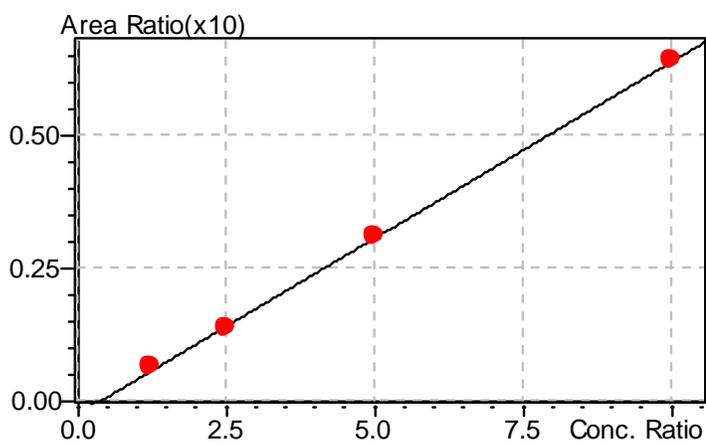
ANEXO 5: Método para la determinación del contenido de fitosteroles (Duchateau *et al.*, 2002) con algunas modificaciones

Se procedió a pesar 100 mg del aceite en un tubo de vidrio con tapa, se añadieron 500 μ l del estándar interno β -colestanol (0.02 mg/ml hexano) y 1 ml de hidróxido de potasio (12% p/v) en etanol grado analítico. Se homogenizó la solución y se llevó a baño maría con agitación a 60 °C por una hora y media. Pasado este tiempo, se dejó enfriar el tubo para luego añadir 1 ml de agua destilada y 5 ml de n-heptano grado HPLC, el conjunto se homogenizó y se pasó el contenido del tubo a una pera de decantación de 60 ml de capacidad. La fase orgánica fue transferida a un tubo conteniendo Na₂SO₄ (para eliminar residuos de agua); la extracción fue completada con la adición de 5 y 4 ml de n-heptano, progresivamente. Los extractos de n-heptano recuperados fueron combinados y homogenizados para su posterior concentración (rotavapor a 40 °C) a 1 ml de volumen. Posteriormente el homogenizado fue inyectado al cromatógrafo de gases.

Los fitosteroles fueron separados a través de la inyección de 2 μ l del homogenizado anterior al cromatógrafo de gases GC-2010 plus (Shimadzu) equipado con un detector de ionización de flama (FID-2010) y un auto inyector (AOC-20i). La columna utilizada fue una Supelco SACTM-5 (0.2 μ m, 30 m x 0.25 mm DI). La temperatura del horno fue programado como sigue: inicialmente a 250 °C (por 2 min), se incrementó hasta 285 °C a 25 °C/min y luego un periodo isotérmico a 285 °C por 32 min. El helio fue utilizado como gas portador. Los fitosteroles fueron identificados y comparados con los tiempos de retención de estándares conocidos que fueron previamente inyectados. Las curvas estándares de los diferentes fitosteroles fueron determinados utilizando un rango de concentraciones de 5-100 mg/l (ANEXO 6).

ANEXO 6: Curvas estándares fitosteroles

a. Campesterol



$$y = ax + b$$

$$a = 0.6606958$$

$$b = -0.2175896$$

$$r^2 = 0.9994727$$

$$r = 0.9997363$$

Internal Standard

Calib.Curve:Linear

Origin:Not Forced

Weight:None

Mean RF : 0.5847632

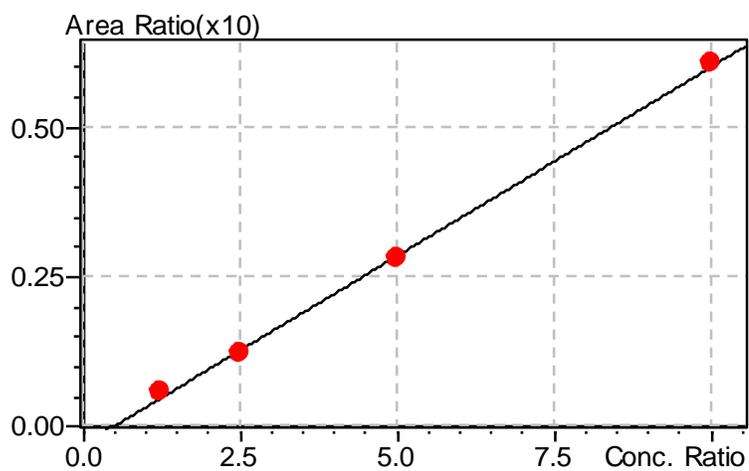
RF SD : 5.089939e-002

RF %RSD : 8.704275

Date Processed : 21/06/2012 7:54:36

ANEXO 6 (continuación)

b. Estigmasterol



$$y = ax + b$$

$$a = 0.6295568$$

$$b = -0.2792189$$

$$r^2 = 0.9990326$$

$$r = 0.9995162$$

Internal Standard

Calib.Curve:Linear

Origin:Not Forced

Weight:None

Mean RF : 0.5342859

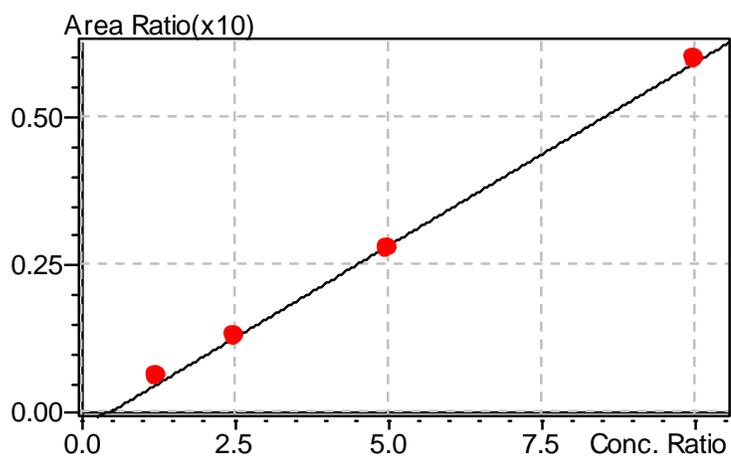
RF SD : 5.542005e-002

RF %RSD : 10.37273

Date Processed : 21/06/2012 7:54:36

ANEXO 6 (continuación)

c. β -sitosterol



$$y = ax + b$$

$$a = 0.6185482$$

$$b = -0.2543081$$

$$r^2 = 0.9990292$$

$$r = 0.9995145$$

Internal Standard

Calib.Curve:Linear

Origin:Not Forced

Weight:None

Mean RF : 0.5320460

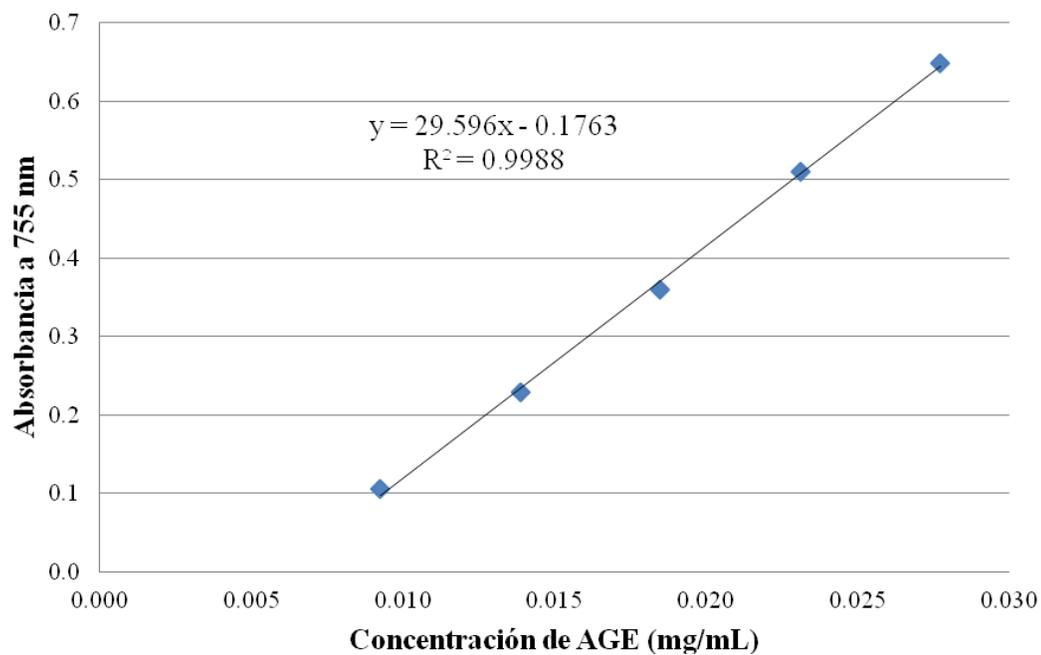
RF SD : 5.007722e-002

RF %RSD : 9.412197

Date Processed : 21/06/2012 7:54:36

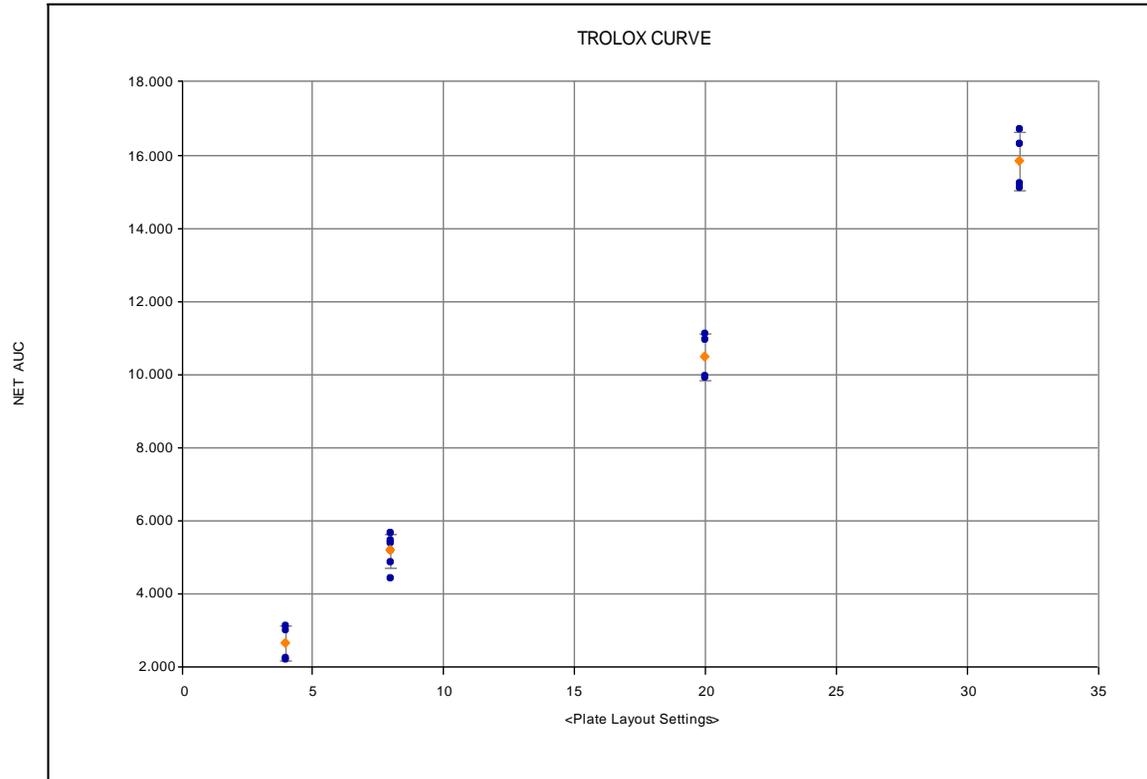
ANEXO 7: Curva estándar de compuestos fenólicos totales

Concentración de AGE (mg/mL)	Absorbancia a 755 nm	
	R1	R2
0.00925	0.106	0.105
0.01387	0.229	0.230
0.01850	0.359	0.362
0.02312	0.507	0.515
0.02774	0.647	0.651



ANEXO 8: Curvas estándares ORAC

a. Curva estándar para la CAH-ORAC



$$y = ax + b$$

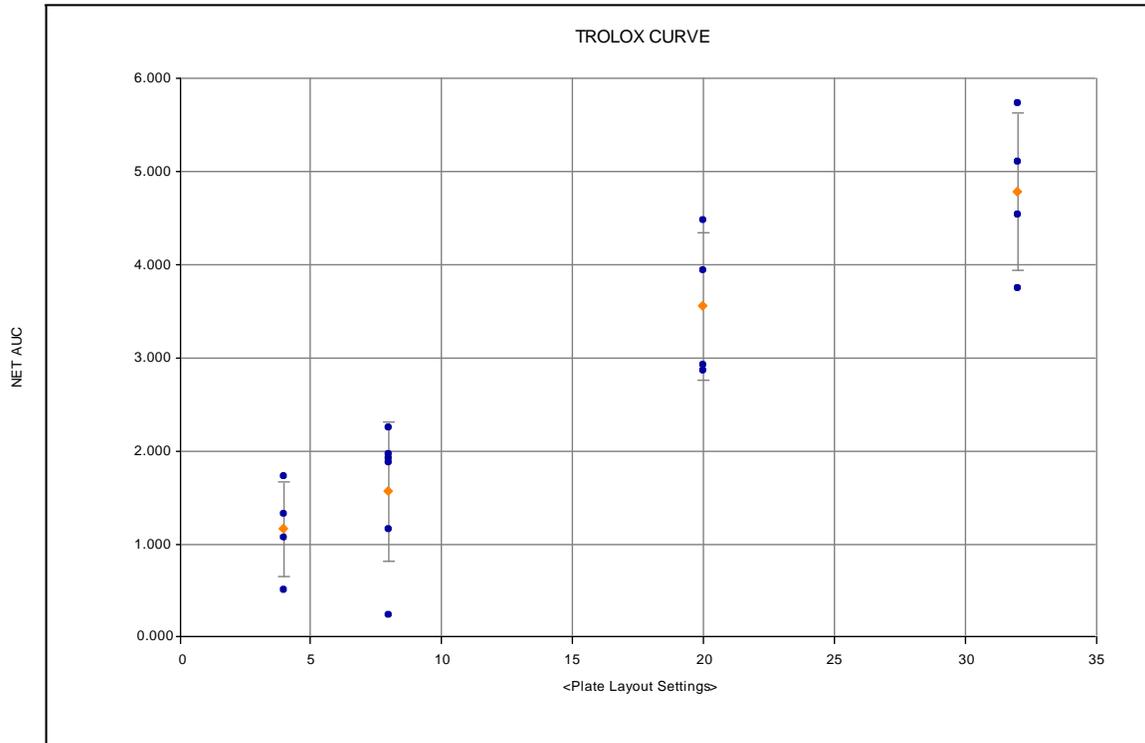
$$a = 0.463$$

$$b = 1.13$$

$$r^2 = 0.998$$

ANEXO 8 (continuación)

b. Curva estándar para la CAL-ORAC



$$y = ax + b$$

$$a = 0.134$$

$$b = 0.62$$

$$r^2 = 0.989$$

ANEXO 9: Humedad de la almendra de *Plukenetia huayllabambana* sometida a diferentes tratamientos de tostado

Tratamiento	% Humedad (bh)¹
Control	7.500
100 °C por 10 min	6.685
100 °C por 20 min	5.619
100 °C por 30 min	4.652
120 °C por 10 min	5.832
120 °C por 20 min	4.006
120 °C por 30 min	3.410
140 °C por 10 min	4.261
140 °C por 20 min	2.882
140 °C por 30 min	1.806
160 °C por 10 min	3.330
160 °C por 20 min	1.227
160 °C por 30 min	0.617
180 °C por 10 min	3.507
180 °C por 20 min	2.361
180 °C por 30 min	0.878

¹ Promedio ± SD de tres repeticiones

ANEXO 10: Análisis estadísticos

a. Contenido de ácidos grasos libres

Tabla ANOVA para % de ácidos grasos libres por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	61.9915	15	4.13277	457.43	0.0000
Intra grupos	0.289113	32	0.00903479		
Total (Corr.)	62.2806	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para % de ácido oleico en aceite por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	0.191	x
100°C por 10 min	3	0.409333	x
100°C por 20 min	3	0.667	x
120°C por 10 min	3	0.671333	x
140°C por 10 min	3	0.675667	x
160°C por 10 min	3	0.706333	x
120°C por 20 min	3	0.886333	x
140°C por 20 min	3	0.988667	x
160°C por 20 min	3	1.22233	x
100°C por 30 min	3	2.37367	x
120°C por 30 min	3	2.49967	xx
140°C por 30 min	3	2.604	x
160°C por 30 min	3	2.78333	x
180°C por 10 min	3	3.088	x
180°C por 20 min	3	3.33667	x
180°C por 30 min	3	3.572	x

ANEXO 10 (continuación)

b. Índice de peróxido

Tabla ANOVA para Índice de peroxido por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1921.0	15	128.066	105.53	0.0000
Intra grupos	38.833	32	1.21353		
Total (Corr.)	1959.83	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para PV por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	6.31167	x
180 °C por 20 min	3	7.84	xx
180 °C por 30 min	3	8.01067	xx
180 °C por 10 min	3	9.37467	xx
100 °C por 10 min	3	10.084	x
100 °C por 20 min	3	13.624	x
100 °C por 30 min	3	16.558	x
120 °C por 10 min	3	19.8137	x
140 °C por 10 min	3	20.0237	x
120 °C por 20 min	3	21.4077	xx
120 °C por 30 min	3	21.7333	xx
160 °C por 20 min	3	22.155	x
140 °C por 20 min	3	22.1567	x
160 °C por 30 min	3	22.1627	x
140 °C por 30 min	3	22.5507	x
160 °C por 10 min	3	25.6427	x

ANEXO 10 (continuación)

c. Dienes conjugados (aD)

Tabla ANOVA para aD por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.011632	15	0.000775467	13.21	0.0000
Intra grupos	0.001878	32	0.0000586875		
Total (Corr.)	0.01351	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para aD por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100°C por 10 min	3	0.0783333	x
Control	3	0.0803333	x
100°C por 20 min	3	0.0993333	x
120°C por 10 min	3	0.101	x
160°C por 30 min	3	0.105667	xx
140°C por 20 min	3	0.105667	xx
140°C por 30 min	3	0.113	xxx
160°C por 20 min	3	0.116	xxx
100°C por 30 min	3	0.116333	xxx
120°C por 20 min	3	0.116667	xxx
180°C por 30 min	3	0.117333	xxx
160°C por 10 min	3	0.118	xxx
180°C por 10 min	3	0.121333	xxx
180°C por 20 min	3	0.128667	xx
140°C por 10 min	3	0.132667	x
120°C por 30 min	3	0.133667	x

ANEXO 10 (continuación)

d. Índice de *p*-anisidina (Vp)

Tabla ANOVA para *p* anisidina por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	267.6	15	17.84	1064.47	0.0000
Intra grupos	0.536307	32	0.0167596		
Total (Corr.)	268.137	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para *p*-anisidina por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	0.213333	x
100°C por 10 min	3	0.252	x
100°C por 20 min	3	0.280333	x
120°C por 10 min	3	0.545333	x
100°C por 30 min	3	0.692333	xx
160°C por 10 min	3	0.789333	x
120°C por 20 min	3	0.912	xx
120°C por 30 min	3	1.02867	xx
140°C por 10 min	3	1.07133	xx
160°C por 20 min	3	1.09033	xxx
140°C por 20 min	3	1.19533	xx
160°C por 30 min	3	1.21	xx
140°C por 30 min	3	1.31533	x
180°C por 10 min	3	5.57367	x
180°C por 20 min	3	6.346	x
180°C por 30 min	3	8.132	x

ANEXO 10 (continuación)

e. Rendimiento de extracción del aceite

Tabla ANOVA para Rendimiento de aceite por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	903.051	15	60.2034	11.67	0.0000
Intra grupos	165.129	32	5.16027		
Total (Corr.)	1068.18	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Rendimiento de aceite por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	44.1383	x
180°C por 30 min	3	53.684	x
120°C por 10 min	3	54.2193	x
180°C por 10 min	3	54.413	x
140°C por 10 min	3	54.4577	x
160°C por 10 min	3	55.0863	xx
180°C por 20 min	3	55.6357	xxx
120°C por 20 min	3	55.8727	xxx
100°C por 10 min	3	55.9297	xxx
120°C por 30 min	3	57.6583	xxxx
140°C por 20 min	3	59.0993	xxxx
140°C por 30 min	3	59.449	xxx
160°C por 20 min	3	60.6853	xx
100°C por 20 min	3	61.214	xx
160°C por 30 min	3	62.1443	x
100°C por 30 min	3	62.4133	x

ANEXO 10 (continuación)

f. Contenido de ácidos grasos

Tabla ANOVA para Ácido palmítico por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5.27813	15	0.351875	19.87	0.0000
Intra grupos	0.566667	32	0.0177083		
Total (Corr.)	5.84479	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido palmítico por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Cobtrol	3	2.5	x
180°C por 30 min	3	2.76667	x
180°C por 10 min	3	2.9	xx
120°C por 10 min	3	2.96667	xxx
140°C por 10 min	3	3.0	xxx
180°C por 20 min	3	3.03333	xx
120°C por 20 min	3	3.13333	xxx
160°C por 10 min	3	3.16667	xx
140°C por 20 min	3	3.3	x
120°C por 30 min	3	3.33333	x
100°C por 10 min	3	3.33333	x
140°C por 30 min	3	3.36667	x
160°C por 30 min	3	3.6	x
160°C por 20 min	3	3.6	x
100°C por 20 min	3	3.63333	x
100°C por 30 min	3	3.73333	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para Ácido esteárico por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2.98646	15	0.199097	10.74	0.0000
Intra grupos	0.593333	32	0.0185417		
Total (Corr.)	3.57979	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido esteárico por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
180°C por 20 min	3	1.3	x
180°C por 30 min	3	1.7	x
180°C por 10 min	3	1.8	xx
120°C por 10 min	3	1.86667	xx
140°C por 10 min	3	1.9	xxx
100°C por 10 min	3	1.96667	xx
120°C por 20 min	3	1.96667	xx
120°C por 30 min	3	2.0	xxx
160°C por 10 min	3	2.0	xxx
Control	3	2.0	xxx
140°C por 20 min	3	2.0	xxx
140°C por 30 min	3	2.13333	xxx
100°C por 20 min	3	2.23333	xx
160°C por 30 min	3	2.26667	x
160°C por 20 min	3	2.26667	x
100°C por 30 min	3	2.36667	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para Ácido oleico por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11.1458	15	0.743056	36.77	0.0000
Intra grupos	0.646667	32	0.0202083		
Total (Corr.)	11.7925	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido oleico por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	4.76667	x
180°C por 30 min	3	5.33333	x
180°C por 10 min	3	5.63333	x
180°C por 20 min	3	5.73333	xx
140°C por 10 min	3	5.76667	xx
120°C por 10 min	3	5.8	xxx
160°C por 10 min	3	5.86667	xxx
120°C por 20 min	3	5.9	xx
120°C por 30 min	3	6.03333	xx
140°C por 30 min	3	6.23333	xx
100°C por 10 min	3	6.26667	xx
160°C por 20 min	3	6.36667	xx
140°C por 20 min	3	6.36667	xx
160°C por 30 min	3	6.46667	xxx
100°C por 20 min	3	6.56667	xx
100°C por 30 min	3	6.7	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para Ácido linoleico por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	67.6592	15	4.51061	57.74	0.0000
Intra grupos	2.5	32	0.078125		
Total (Corr.)	70.1592	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido linoleico por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	12.0	x
180°C por 30 min	3	14.4	x
140°C por 10 min	3	15.1333	x
180°C por 10 min	3	15.2333	xx
160°C por 10 min	3	15.2333	xx
120°C por 10 min	3	15.3	xx
180°C por 20 min	3	15.4667	xxx
120°C por 20 min	3	15.7	xxx
120°C por 30 min	3	15.9	xxx
100°C por 10 min	3	16.0	xxx
160°C por 20 min	3	16.1333	xxx
140°C por 20 min	3	16.1667	xxx
140°C por 30 min	3	16.2667	xx
160°C por 30 min	3	16.5	x
100°C por 30 min	3	17.2333	x
100°C por 20 min	3	17.2667	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para Ácido linolénico por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	213.981	15	14.2654	163.81	0.0000
Intra grupos	2.78667	32	0.0870833		
Total (Corr.)	216.768	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido linolénico por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	0.333667	x
100°C por 10 min	3	0.560333	x
100°C por 20 min	3	0.818	x
120°C por 10 min	3	0.823333	x
140°C por 10 min	3	0.841333	x
160°C por 10 min	3	0.872333	x
120°C por 20 min	3	1.03833	x
140°C por 20 min	3	1.15467	x
160°C por 20 min	3	1.38867	x
100°C por 30 min	3	2.52467	x
120°C por 30 min	3	2.65167	xx
140°C por 30 min	3	2.76967	xx
160°C por 30 min	3	2.92067	x
180°C por 10 min	3	3.245	x
180°C por 20 min	3	3.49367	x
180°C por 30 min	3	3.72833	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para AGS por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	13.38	15	0.892	15.18	0.0000
Intra grupos	1.88	32	0.05875		
Total (Corr.)	15.26	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para AGS por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
180°C por 20 min	3	4.33333	x
180°C por 30 min	3	4.46667	xx
Control	3	4.5	xx
180°C por 10 min	3	4.73333	xxx
120°C por 10 min	3	4.86667	xxx
140°C por 10 min	3	4.9	xxxx
160°C por 10 min	3	5.13333	xxxx
120°C por 20 min	3	5.13333	xxxx
140°C por 20 min	3	5.3	xxx
120°C por 30 min	3	5.33333	xx
100°C por 10 min	3	5.33333	xx
140°C por 30 min	3	5.5	xx
160°C por 30 min	3	5.83333	xx
100°C por 20 min	3	5.83333	xx
160°C por 20 min	3	5.86667	xx
100°C por 30 min	3	6.13333	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para AGMI por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11.1458	15	0.743056	36.77	0.0000
Intra grupos	0.646667	32	0.0202083		
Total (Corr.)	11.7925	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para AGMI por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	4.76667	x
180°C por 30 min	3	5.33333	x
180°C por 10 min	3	5.63333	x
180°C por 20 min	3	5.73333	xx
140°C por 10 min	3	5.76667	xx
120°C por 10 min	3	5.8	xxx
160°C por 10 min	3	5.86667	xxx
120°C por 20 min	3	5.9	xx
120°C por 30 min	3	6.03333	xx
140°C por 30 min	3	6.23333	xx
100°C por 10 min	3	6.26667	xx
160°C por 20 min	3	6.36667	xx
140°C por 20 min	3	6.36667	xx
160°C por 30 min	3	6.46667	xxx
100°C por 20 min	3	6.56667	xx
100°C por 30 min	3	6.7	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para AGPI por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	520.986	15	34.7324	196.14	0.0000
Intra grupos	5.66667	32	0.177083		
Total (Corr.)	526.653	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para AGPI por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	37.1333	x
180°C por 30 min	3	42.7	x
180°C por 20 min	3	45.0	x
160°C por 10 min	3	45.1333	x
180°C por 10 min	3	45.1667	x
140°C por 10 min	3	45.3333	x
120°C por 10 min	3	46.0667	x
120°C por 20 min	3	46.3667	x
120°C por 30 min	3	47.4	x
100°C por 10 min	3	47.9	xx
160°C por 20 min	3	47.9	xx
140°C por 30 min	3	48.1667	x
140°C por 20 min	3	48.2667	x
160°C por 30 min	3	49.1333	x
100°C por 30 min	3	51.1333	x
100°C por 20 min	3	51.5	x

ANEXO 10 (continuación)

g. Contenido de tocoferoles

Tabla ANOVA para α -tocoferol por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.010898	15	0.000726533	10.52	0.0000
Intra grupos	0.00221067	32	0.0000690833		
Total (Corr.)	0.0131087	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para α -tocoferol por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
180 °C por 20 min	3	0.0643333	x
180 °C por 10 min	3	0.0676667	xx
180 °C por 30 min	3	0.071	xxx
140 °C por 20 min	3	0.072	xxx
120 °C por 30 min	3	0.0723333	xxx
100 °C por 30 min	3	0.0733333	xxxx
140 °C por 10 min	3	0.0736667	xxxx
100 °C por 20 min	3	0.075	xxxxx
120 °C por 20 min	3	0.079	xxxxx
160 °C por 10 min	3	0.0806667	xxxxx
100 °C por 10 min	3	0.0826667	xxxxx
140 °C por 30 min	3	0.0856667	xxxx
160 °C por 30 min	3	0.089	xxx
Control	3	0.0896667	xx
160 °C por 20 min	3	0.0953333	x
120 °C por 10 min	3	0.13	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para β -tocoferol por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.00604125	15	0.00040275	36.75	0.0000
Intra grupos	0.000350667	32	0.0000109583		
Total (Corr.)	0.00639192	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para β -tocoferol por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100 °C por 20 min	3	0.00466667	x
100 °C por 30 min	3	0.00466667	x
140 °C por 20 min	3	0.005	x
120 °C por 30 min	3	0.005	x
100 °C por 10 min	3	0.00533333	x
120 °C por 20 min	3	0.00533333	x
Control	3	0.00533333	x
140 °C por 10 min	3	0.00666667	x
120 °C por 10 min	3	0.00833333	x
160 °C por 10 min	3	0.0213333	x
140 °C por 30 min	3	0.0253333	xx
180 °C por 20 min	3	0.0256667	xx
160 °C por 20 min	3	0.0266667	xx
160 °C por 30 min	3	0.0293333	xx
180 °C por 10 min	3	0.031	xx
180 °C por 30 min	3	0.0336667	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para γ -tocoferol por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1455.92	15	97.061	3.82	0.0007
Intra grupos	813.916	32	25.4349		
Total (Corr.)	2269.83	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para γ -tocoferol por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
160 °C por 10 min	3	23.6337	x
160 °C por 20 min	3	24.2117	x
140 °C por 20 min	3	24.469	x
180 °C por 10 min	3	24.545	x
180 °C por 20 min	3	24.957	x
180 °C por 30 min	3	27.876	xx
160 °C por 30 min	3	28.292	xx
120 °C por 30 min	3	28.7617	xx
140 °C por 30 min	3	32.3553	xxx
Control	3	32.525	xxx
100 °C por 30 min	3	32.924	xxx
140 °C por 10 min	3	33.2523	xxx
120 °C por 20 min	3	35.1053	xx
100 °C por 20 min	3	36.253	xx
100 °C por 10 min	3	40.128	x
120 °C por 10 min	3	41.1607	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para delta tocoferol por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1222.76	15	81.5175	86.92	0.0000
Intra grupos	30.0116	32	0.937864		
Total (Corr.)	1252.77	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para δ -tocoferol por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
180 °C por 20 min	3	4.12967	x
180 °C por 10 min	3	4.61667	x
180 °C por 30 min	3	4.94233	x
160 °C por 20 min	3	5.228	x
160 °C por 10 min	3	5.268	x
160 °C por 30 min	3	5.94033	x
120 °C por 30 min	3	12.4297	x
140 °C por 10 min	3	13.7073	xx
140 °C por 30 min	3	14.0167	xx
100 °C por 30 min	3	14.5173	xx
Control	3	14.9633	xx
140 °C por 20 min	3	15.077	xx
120 °C por 20 min	3	15.46	xx
100 °C por 20 min	3	16.033	xx
120 °C por 10 min	3	17.4257	x
100 °C por 10 min	3	17.5773	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para tocoferol total por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4944.09	15	329.606	25.01	0.0000
Intra grupos	421.732	32	13.1791		
Total (Corr.)	5365.82	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para tocoferoles totales por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
160 °C por 10 min	3	28.378	x
180 °C por 20 min	3	29.1767	x
180 °C por 10 min	3	29.2603	x
160 °C por 20 min	3	29.556	x
180 °C por 30 min	3	32.9293	xx
160 °C por 30 min	3	36.3363	xx
120 °C por 30 min	3	41.2693	xx
140 °C por 30 min	3	46.464	xx
140 °C por 10 min	3	47.05	xx
100 °C por 30 min	3	47.5133	xx
Control	3	47.5837	xx
140 °C por 20 min	3	49.623	x
120 °C por 20 min	3	50.6513	x
100 °C por 20 min	3	52.3663	xx
100 °C por 10 min	3	57.7933	x
120 °C por 10 min	3	58.708	x

ANEXO 10 (continuación)

h. Contenido de fitoesteroles

Tabla ANOVA para Campesterol por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	12.77	15	0.851333	3.68	0.0010
Intra grupos	7.40667	32	0.231458		
Total (Corr.)	20.1767	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Campesterol por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
160°C por 10 min	3	3.93333	x
140°C por 10 min	3	4.46667	xx
140°C por 20 min	3	4.46667	xx
180°C por 30 min	3	4.6	xxx
160°C por 20 min	3	4.63333	xxxx
120°C por 10 min	3	4.73333	xxxx
180°C por 20 min	3	4.76667	xxxx
140°C por 30 min	3	4.8	xxxx
160°C por 30 min	3	4.83333	xxxxx
120°C por 30 min	3	4.86667	xxxxx
180°C por 10 min	3	5.06667	xxxx
100°C por 20 min	3	5.13333	xxxxx
100°C por 30 min	3	5.46667	xxxx
Control	3	5.56667	xxx
100°C por 10 min	3	5.73333	xx
120°C por 20 min	3	6.0	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para Estigmasterol por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	404.68	15	26.9787	5.14	0.0001
Intra grupos	167.887	32	5.24646		
Total (Corr.)	572.567	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Estigmasterol por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
180°C por 10 min	3	23.6333	x
Control	3	24.8	xx
160°C por 10 min	3	28.4	xx
140°C por 10 min	3	29.1	xx
140°C por 20 min	3	29.1667	xx
160°C por 20 min	3	29.6	xx
160°C por 30 min	3	30.1667	xx
140°C por 30 min	3	30.2333	xx
180°C por 20 min	3	30.4	xx
180°C por 30 min	3	31.0333	xxx
100°C por 10 min	3	31.8	xxx
120°C por 30 min	3	32.0333	xxx
100°C por 20 min	3	33.1333	xx
120°C por 10 min	3	33.1667	xx
120°C por 20 min	3	33.5333	xx
100°C por 30 min	3	34.8667	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para β -sitosterol por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2103.26	15	140.217	1.56	0.1411
Intra grupos	2870.53	32	89.7042		
Total (Corr.)	4973.79	47			

Tabla ANOVA para Total fitosteroles por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3440.99	15	229.399	5.27	0.0000
Intra grupos	1394.25	32	43.5704		
Total (Corr.)	4835.24	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Total fitosteroles por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
180°C por 10 min	3	82.2667	x
160°C por 10 min	3	84.2667	xx
140°C por 20 min	3	88.7	xxx
140°C por 10 min	3	89.6	xxxx
Control	3	90.8333	xxxx
160°C por 20 min	3	91.4333	xxxx
180°C por 30 min	3	93.9	xxxx
180°C por 20 min	3	94.5333	xxxx
140°C por 30 min	3	95.3667	xxxx
160°C por 30 min	3	95.9667	xxxx
120°C por 30 min	3	98.3333	xxx
120°C por 10 min	3	98.8667	xxxx
100°C por 20 min	3	102.0	xxxx
100°C por 10 min	3	107.533	xxx
100°C por 30 min	3	110.733	xx
120°C por 20 min	3	112.5	x

ANEXO 10 (continuación)

i. Compuestos fenólicos

Tabla ANOVA para Compuestos Fenolicos por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4310.22	15	287.348	9.55	0.0000
Intra grupos	963.174	32	30.0992		
Total (Corr.)	5273.4	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para Compuestos Fenólicos por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
160°C por 20 min	3	83.7233	x
160°C por 30 min	3	89.7	xx
140°C por 20 min	3	90.0343	xxx
160°C por 10 min	3	90.7983	xxx
Control	3	91.4883	xxx
120°C por 10 min	3	92.1303	xxx
120°C por 30 min	3	94.4923	xxx
140°C por 10 min	3	95.908	xxx
120°C por 20 min	3	96.8823	xxx
140°C por 30 min	3	97.925	xxx
100°C por 30 min	3	99.9117	xxx
180°C por 10 min	3	100.401	xxx
100°C por 20 min	3	100.615	xx
100°C por 10 min	3	104.744	x
180°C por 20 min	3	104.92	x
180°C por 30 min	3	127.113	x

ANEXO 10 (continuación)

j. Capacidad antioxidante ORAC hidrofílica y lipofílica

Tabla ANOVA para CAOX hidrofílica por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1505.47	15	100.365	64.67	0.0000
Intra grupos	49.6592	32	1.55185		
Total (Corr.)	1555.13	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para CAOX hidrofílica por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	3	7.72667	x
140°C por 10 min	3	7.84767	x
160°C por 30 min	3	8.921	xx
160°C por 10 min	3	10.9407	xx
120°C por 10 min	3	11.3983	x
100°C por 30 min	3	12.648	xx
120°C por 30 min	3	13.883	xx
100°C por 10 min	3	14.8053	xx
140°C por 20 min	3	15.734	x
120°C por 20 min	3	15.782	x
140°C por 30 min	3	18.1167	x
160°C por 20 min	3	18.9077	xx
100°C por 20 min	3	20.3783	xx
180°C por 20 min	3	22.13	x
180°C por 10 min	3	24.3837	x
180°C por 30 min	3	26.7153	x

ANEXO 10 (continuación)

Tabla ANOVA para CAOX lipofílica por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	23209.4	15	1547.29	262.94	0.0000
Intra grupos	188.309	32	5.88465		
Total (Corr.)	23397.7	47			

Pruebas de Múltiple Rangos para CAOX lipofílica por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
120°C por 30 min	3	8.447	x
140°C por 10 min	3	8.98833	x
100°C por 10 min	3	10.6887	xx
120°C por 10 min	3	11.9307	xx
100°C por 20 min	3	12.0563	xx
100°C por 30 min	3	12.145	xx
140°C por 30 min	3	12.4937	xx
140°C por 20 min	3	12.623	xx
160°C por 20 min	3	12.979	xx
Sin Tratamiento	3	13.0497	xx
160°C por 10 min	3	13.0847	xx
160°C por 30 min	3	13.813	x
120°C por 20 min	3	14.4587	x
180°C por 30 min	3	61.5277	x
180°C por 10 min	3	70.077	x
180°C por 20 min	3	72.458	x