

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRIA EN TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



“COMPUESTOS FENÓLICOS, TOCOFEROLES, ÁCIDOS GRASOS, CAROTENOIDES, FITOESTEROLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE 16 CULTIVARES DE SEMILLAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)”

Presentado por
GLEDY LISSETH ZULOETA ARIAS

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGÍSTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Lima – Perú

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POST GRADO

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

“COMPUESTOS FENÓLICOS, TOCOFEROLES, ÁCIDOS GRASOS, CAROTENOIDES, FITOESTEROLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE 16 CULTIVARES DE SEMILLAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE

MAGÍSTER SCIENTIAE

Presentado por:

GLEDY LISSETH ZULOETA ARIAS

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Mg. Sc. Fanny Ludeña Urquizo

PRESIDENTE

Dra. Rosana Chirinos Gallardo

PATROCINADOR

Mg. Sc Gloria Pascual Chagman

MIEMBRO

Dr. Enrique Morales Moreno

MIEMBRO

DEDICATORIA

*A **Dios**, por estar siempre presente en mí, por tu misteriosa forma de obrar, por tu silencioso pero infalible apoyo, por tu mano siempre lista para ayudarme a levantar y por haberme dado otra prueba más de tu presencia y de tu eterno amor.*

*A mis amados padres: **Ernesto y Blanca**, porque ni mi vida bastaría para agradecer por todo su apoyo, por su ejemplo de lucha y constancia, y por su inmenso e incondicional amor. Cada paso logrado es por y para ustedes.*

*A mi querido hermano **César** y mi sobrino **Matías** quienes fueron y son una de mis razones de motivación, fuerza y constante lucha. Gracias por su apoyo y cariño.*

*Al amor de mi vida, **Alfredo R.**, por creer siempre en mí, por su fiel confianza, constante apoyo e inagotable amor, porque en todo el camino nunca soltó mi mano.*

*A mi familia entera, que estuvieron conmigo a pesar de la distancia, porque siempre sentí su apoyo y cariño, a todos y cada uno de ellos, que son la base y cimiento de lo que me constituye, porque sin ellos, todo sería más difícil. Y en especial a la familia **Richter Arias**, por todo el apoyo incondicional brindado, por haberme abierto las puertas de su hogar y tratado como un miembro más de su familia y a mi mamita **Blanca B.** por sus oraciones, enseñanzas y gran cariño.*

*A mi inolvidable y fiel amigo **Dumbi**, gracias por tu compañía y cariño eterno, siempre estarás presente, promesa cumplida.*

Los amo.

AGRADECIMIENTOS

En muestra de mi gratitud y cariño quiero expresar mi más profundo y sincero agradecimiento:

Al proyecto PIC: "Projet d'initiative propre: Études approfondies sur la valorisation de composés bioactifs de plantes andines et amazoniennes pour un développement régional durable" que ha contribuido con el financiamiento del presente trabajo de investigación.

Al Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), por su colaboración con los cultivos de semillas de sacha inchi.

Al Instituto de Biotecnología (IBT) de la UNALM, Laboratorio de Biotecnología Industrial dirigido por el Dr. David Campos Gutiérrez a quien dejo mi gratitud, respeto y admiración por su arduo espíritu de investigación, disciplina y constancia. Al igual que al equipo que lo integra entre ellos la Dra. Ana Aguilar y la Tec.Lab. Adelaida Pardo, gracias por su inmenso apoyo y amistad brindadas. Al igual que a mis compañeros y amigos, en especial a Tesoro Alagón, por el apoyo, la gran amistad y momentos compartidos.

A mi patrocinadora, la Dra. Rosana Chirinos a quien dejo mi admiración y cariño por su calidad humana y profesional. Gracias por la inmensa confianza, respaldo, comprensión, apoyo constante y amistad brindada a lo largo de la investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
2.1. Sacha inchi	3
2.1.1. Generalidades	3
2.1.2. Composición química	5
2.1.3. Potencial económico y usos	6
2.2. Compuestos fenólicos	7
2.2.1. Distribución	7
2.2.2. Clasificación	8
2.2.3. Propiedades	8
2.3. Tocoferoles	9
2.3.1. Distribución	9
2.3.2. Clasificación y estructura química	9
2.3.3. Propiedades	9
2.3.4. Tocoferoles y sachá inchi	10
2.4. Ácidos grasos omega-3 y omega-6	10
2.4.1. Distribución	10
2.4.2. Clasificación y estructura química	11
2.4.3. Importancia	11
2.4.4. Ácidos grasos y sachá inchi	12
2.5. Carotenoides	13
2.5.1. Distribución	13
2.5.2. Clasificación y estructura química	13
2.5.3. Importancia	14
2.6. Fitoesteroles	14
2.6.1. Distribución	14
2.6.2. Estructura química	14
2.6.3. Propiedades	15
2.7. Capacidad antioxidante	16

2.7.1.	Métodos empleados para medir la capacidad antioxidante	17
a.	Capacidad antioxidante expresada en equivalentes Trolox o ABTS	17
b.	Actividad reductora del hierro férrico /poder antioxidante (ensayo FRAP)	18
c.	Capacidad de absorción de radicales oxígeno (ensayo ORAC)	18

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.	Lugar de ejecución	19
3.2.	Materia prima	19
3.3.	Materiales, reactivos y equipos	19
3.3.1.	Materiales	19
3.3.2.	Reactivos	20
3.3.3.	Equipos	20
3.4.	Métodos de análisis	21
3.4.1.	Peso, diámetro y espesor de las semillas de sachá inchi	21
3.4.2.	Determinación del contenido de humedad	21
3.4.3.	Determinación del contenido de compuestos fenólicos	21
3.4.4.	Determinación del contenido de tocoferoles	22
3.4.5.	Determinación del contenido de ácidos grasos	23
3.4.6.	Determinación del contenido de carotenoides totales	24
3.4.7.	Determinación del contenido de fitoesteroles	25
3.4.8.	Determinación de la capacidad antioxidante	26
3.5.	Procedimiento experimental	28
3.6.	Análisis estadístico	29

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Caracterización física	30
4.2	Determinación de la humedad	32
4.3	Determinación de compuestos fenólicos	33
4.4	Determinación de tocoferoles	35
4.5	Determinación de ácidos grasos	38
4.6	Determinación de carotenoides totales	43
4.7	Determinación de fitoesteroles	44

4.8	Determinación de la capacidad antioxidante	46
4.8.1	Determinación de la capacidad antioxidante por el método de FRAP	47
4.8.2	Determinación de la capacidad antioxidante hidro y lipofílica por el método de TEAC-ABTS	49
4.8.3	Determinación de la capacidad antioxidante hidro y lipofílica por el método de ORAC	51
4.8.4	Correlación entre la capacidad antioxidante hidrofílica y los compuestos fenólicos	54
4.8.5	Correlación entre la capacidad antioxidante lipofílica y tocoferoles, fitoesteroles	56
V	CONCLUSIONES	59
VI	RECOMENDACIONES	61
VII	BIBLIOGRAFIA	62
VIII	ANEXOS	75

ÍNDICE DE CUADROS

N°	Título	Pág
		.
1	Composición química de las semillas de sachá inchi	5
2	Comparación del contenido de ácidos grasos hallados por diferentes investigadores en aceite de semillas de sachá inchi	12
3	Características físicas de los 16 cultivares de semillas de sachá inchi	30
4	Porcentaje de cáscara y almendra en las semillas de 16 cultivares de sachá inchi.	32
5	Contenido de humedad en 16 cultivares de semillas de sachá inchi	33
6	Contenido de compuestos fenólicos de 16 cultivares de semillas de sachá inchi	34
7	Contenido de tocoferoles (mg/100g) en 16 cultivares de semillas de sachá inchi	36
8	Contenido ácidos grasos (g/100g de semilla) en 16 cultivares de semillas de sachá inchi	42
9	Contenido de β -caroteno (mg/100g semilla) en 16 cultivares de sachá inchi	43
10	Contenido de los principales fitoesteroles(mg/100g semilla hallados en 16 cultivares de sachá inchi	45
11	Capacidad antioxidante hidrofílica FRAP en 16 cultivares de sachá inchi	48
12	Capacidad antioxidante ABTS hidrofílica, lipofílica y total en 16 cultivares de sachá inchi	50
13	Capacidad antioxidante ORAC hidrofílica, lipofílica y total en 16 cultivares de sachá inchi	53
14	Correlación entre la capacidad antioxidante hidrofílica y los compuestos fenólicos totales	55
15	Correlación entre la capacidad antioxidante lipofílica y tocoferoles, fitoesteroles	56

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	Título	Pág.
1	Semillas y almendras de sachá inchi	4
2	Determinación de medidas en semillas de sachá inchi	22

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A

N°		Pág.
1	Ficha de datos del material genético de la colección nacional de Sacha Inchi	76
2	Galería de fotografías de las semillas y de las almendras de los 16 cultivares de sachá inchi	77
3	Curva estándar de los compuestos fenólicos	82
4	Curva estándar de tocoferoles	82
5	Curva estándar de fitoesteroles	83
6	Curva estándar usada en el método TEAC-ABTS	84
7	Curva estándar usada en el método de capacidad antioxidante con FRAP	85
8	Curva estándar usada en el método de capacidad antioxidante con ORAC	85
9	Cromatograma de CG de Fitoesteroles	86
10	Cromatograma HPLC de Tocoferoles	87
11	Cromatograma de CG de Ácidos grasos	87

Anexo B

N°	Título	
1	Análisis estadístico para evaluar el contenido de humedad de las almendras de sachá inchi	88
2	Análisis estadístico para evaluar el contenido de compuestos fenólicos	88
3	Análisis estadístico para evaluar el contenido de compuestos tocoferoles	88
4	Análisis estadístico para evaluar el contenido de ácidos grasos	89
5	Análisis estadístico para evaluar el contenido de carotenoides	91
6	Análisis estadístico para evaluar el contenido de fitoesteroles	91
7	Análisis estadístico para evaluar la capacidad antioxidante por el método de FRAP	92
8	Análisis estadístico para evaluar la capacidad antioxidante por el método de ABTS	92
9	Análisis estadístico para evaluar la capacidad antioxidante por el método de ORAC	93

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el contenido de compuestos fenólicos, tocoferoles, ácidos grasos, carotenoides, fitoesteroles y capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica, mediante tres diferentes metodologías: FRAP, TEAC y ORAC de 16 cultivares de semillas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) procedentes del material genético de la colección nacional de Sachá Inchi, otorgado por el INIA.

Se encontraron diferencias estadísticas para todos los compuestos evaluados en los 16 cultivares de semillas de sachá inchi. En cuanto al contenido de ácidos grasos, el α -linolénico y el linoleico fueron los predominantes, y alcanzaron un valor promedio de 14.6 y 13.3 g/100g semilla respectivamente. De otro lado el γ y σ -tocoferol fueron los más representativos, con valores promedio de 64.5 y 37.5 mg/100 g semilla respectivamente. Respecto a los fitoesteroles, el β -sitoesterol y el estigmasterol fueron los más importantes, con valores de 48.8 y 24.2 mg/100 g semilla respectivamente.

El contenido de compuestos fenólicos alcanzó valores entre 64.6 y 80 mg AGE/100g semilla. La capacidad antioxidante hidrofílica, lipofílica y total exhibida por el método de ABTS resultó con valores entre 1.40 – 3.22 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla, 7.04 – 12.86 $\mu\text{mol TE/100 g}$ semilla y 8.9 – 14.9 $\mu\text{mol TE/100 g}$ semilla respectivamente. Mediante el método de ORAC, se encontró el rango de valores entre 5.99, 2.01 y 8.00 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla respectivamente para la capacidad antioxidante hidrofílica, lipofílica y total. Finalmente con el método de FRAP, se encontró un valor promedio de 1.03 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla de capacidad antioxidante hidrofílica.

El estudio realizado es importante porque muestra los diversos compuestos bioactivos encontrados en el sachá inchi, lo que le otorga gran potencial para el uso en nuevos productos alimentarios o farmacéuticos, para promover la salud y el bienestar, revalorando así su importancia tanto en la industria alimentaria y farmacéutica como de consumo para la sociedad.

Palabras claves: semillas de sachá inchi, *Plukenetia volubilis* L., compuestos bioactivos, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

In this study, the seeds of sixteen *Plukenetia volubilis* L. cultivars, from the genetic material of the sacha inchi national collection given for the INIA, total phenolic content, tocopherols, fatty acids, carotenoids, phytosterols, hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity were analyzed using: FRAP, TEAC and ORAC methods.

Results demonstrated of significant statistical differences between the sixteen cultivars and the content of all the compounds studied. Fatty acids, α -linolenic and linoleic acids were found, with average values of 14.6 and 13.3 g/100 g seed, respectively. On the other hand, the γ and σ -tocopherol were the most representative ones with average total values of 64.5 y 37.5 mg/100g seed, respectively. As for phytosterols, β -sitosterol and stigmasterol were the most important ones with average values of 48.8 and 24.2 mg/100 g seed, respectively, and the total carotenoid content reached an average value of 0.08 mg β -carotene/100 g seed.

The total phenolic content, reached values between 64.6 y 80 mg AGE/100 g seeds. The antioxidant capacity hydrophilic, lipophilic, and total exhibited for the cultivars by ABTS assay reached values between 1.40 - 3.22 μ mol TE/g seed, 7.04 – 12.86 μ mol TE/g seed and 8.9 - 14.91 μ mol TE/100 g seed respectively. Results of the ORAC assay were found ranges of 5.99, 2.01 and 8.01 μ mol TE/g seeds respectively, for the hydrophilic, lipophilic, and total capacity. Finally, the average value found by the FRAP assay was 1.03 μ mol TE/g seeds for the hydrophilic capacity.

Finally, this study is important because it shows the presence of different bioactive compounds in sacha inchi seeds, which gives them a great potential for using in new food or pharmaceutical products to promote health and welfare, therefore it increases the interest in and importance of the sacha inchi for the food and pharmaceutical industry, but also for consumers.

Keywords: sacha inchi seeds, *Plukenetia volubilis* L., bioactive compounds, antioxidant capacity.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años el mercado de los productos naturales usados como alimentos funcionales se ha visto incrementado significativamente. Una causa importante de ello es la tendencia actual del consumidor por adquirir cada vez más productos naturales que le brinden características nutritivas y reduzcan el riesgo del desarrollo de ciertas enfermedades.

Las diversas investigaciones realizadas hasta el día de hoy afirman, que las nueces y granos enteros, son ricos en compuestos fenólicos, pigmentos, y otros antioxidantes naturales incluyéndose a la vitamina A, C y E, y que están asociadas con la protección y o tratamiento de enfermedades crónicas tales como diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, cáncer y otras condiciones médicas (Block y Thonson, 1995, Hansen *et al.*, 2003, Huang *et al.*, 2007).

Gracias a la biodiversidad nativa del Perú, existe una planta que posee semillas, cuyo potencial, ha comenzado a estudiarse, éstas son las semillas de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), usadas por las poblaciones de la sierra y selva, en la preparación de diferentes comidas y bebidas, al igual que en la cosmética y en la medicina tradicional (Hamaker *et al.*, 1992).

La *Plukenetia volubilis* L. está captando cada vez más la atención de mercados internacionales debido a la composición que posee; principalmente por su contenido de proteínas y su perfil aminoacídico (Hamaker, 1992), fitoesteroles (Muñoz *et al.*, 2010; Bondioli *et al.*, 2006), ácidos grasos esenciales (destacando los omega-3 y -6) (Gutiérrez *et al.*, 2011; Follegati-Romero *et al.*, 2009; Merino, 2009; Bondioli *et al.*, 2006; Pascual y Mejía, 2000 y Hamaker, 1992) y tocoferoles. (Follegati-Romero *et al.*, 2009; Arana y Paredes, 2008; Bondioli, 2006 y Hamaker, 1992). Según Guillen *et al.* (2003) los ácidos grasos omega-3 y -6 del sacha inchi destacan por estar presentes en altas cantidades en comparación con otras semillas, como el maní, palma, soya, maíz, colza y girasol.

Dada la importancia de esta especie a razón de sus diversas cualidades (aunque aún no muy difundidas en los mercados local e internacional) y por la falta de estudios desarrollados con respecto a los componentes bioactivos más importantes presentes en diferentes cultivares de las semillas de sacha inchi tales como los compuestos fenólicos, tocoferoles, ácidos grasos, carotenoides, fitoesteroles, es que surge la necesidad de obtener evidencia científica de los constituyentes más importantes que corroboren su potencial antioxidante, nutricional y posiblemente funcional.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

- Determinar el contenido de compuestos fenólicos totales, tocoferoles, ácidos grasos, carotenos y fitoesteroles en 16 cultivares de semillas de sacha inchi.
- Determinar la capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica de los 16 cultivares de semillas de sacha inchi mediante 3 métodos analíticos: ABTS (2,2 azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sulfonate), FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) y ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)

2.1.1. GENERALIDADES

La especie *Plukenetia volubilis* L. es conocida de acuerdo al idioma o lugar con los siguientes nombres: “sacha inchi”, “sacha maní”, “maní del inca”, “maní del monte”, “inca peanuts”, “blanca”, “amaeube”, “amui-o”, “sacha yachi”, “sacha yuchi”, “sacha yuchiqui”, “yuchi”, “samppannankii”, “swaa” (Brack, 1999; Pariona, 2008).

Es una planta de la Amazonía peruana conocida por los nativos desde hace miles de años, la utilizaron los pre-incas y los incas como lo testimonian cerámicos encontrados en tumbas (huacos Mochica-Chimú) (Pariona, 2008). Esta oleaginosa de la familia Euphorbiaceae comprende plantas anuales de importancia ornamental, medicinal, alimentaría e industrial, que se caracterizan principalmente por la presencia de una sustancia lechosa, tipo látex y frutos tricapsulares. Abarca alrededor de 1,280 géneros con 8,000 especies aproximadamente (Valles, 1992).

Las semillas son ovaladas, de color marrón oscuro y miden alrededor de 1.5 a 2 cm de diámetro (Figura 1a). Así mismo, las almendras son de forma ovalada, miden en promedio 1.30 cm de diámetro y son de color amarillo pálido y tienen un peso promedio de 0.5 g (Figura 1b). Estas contienen alrededor de 54% de aceite y 27% de proteínas. Su harina y aceite son consumidos por la población nativa y son usados en la elaboración de diferentes comidas y bebidas (Follegati-Romero *et al.*, 2009)

Arévalo (1996) y Valles (1992) refieren algunas características del cultivo de sacha inchi como: crecen a altitudes entre los 80 y 1 700 m.s.n.m., las hojas son alternas acorazadas, planta hermafrodita con flores femeninas pequeñas, en racimo y flores masculinas en la base de cada racimo., los frutos son cápsulas de 3 - 5 cm de diámetro, dehiscentes de color verde intenso, cuando maduran son de color marrón oscuro y usualmente presentan 4 lóbulos, pero algunos frutos presentan de 5 – 7 lóbulos. Las

semillas se encuentran dentro de los lóbulos de las cápsulas y miden de 15 – 20 mm de ancho, por 7 - 8 mm de espesor. El peso de semillas varía de 0.8 a 1.4 g. Las semillas contienen de 49 - 54% de aceite, en éstas se encuentran los cotiledones a manera de almendras, cubiertas de una fina película blanquecina que cubre a la almendra que es la materia prima para la extracción del aceite. La composición de la semilla es de 33 - 35% de cáscara y 65 - 67% de almendra (Valles, 1992).



FIGURA 1: (a) Semillas y (b) almendras de sachá inchi

Según la clasificación del sistema de Adolph Engler (Mostacero y Mejía, 2003) el “maní del inca” se encuentra ubicado taxonómicamente de la siguiente forma:

División	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Sub-clase	Archichlamideae
Orden	Geraniales
Familia	Euphorbiaceae
Género	Plukenetia
Especie	<i>Plukenetia volubilis</i> L.

Doster *et al.* (2009) afirman que el área de distribución de *P. volubilis* se extiende desde las Antillas menores, Surinam y el sector noroeste de la cuenca amazónica en Venezuela y Colombia hasta Ecuador, Perú, Bolivia y Brasil. En nuestro país se encuentra

distribuida en Madre de Dios, Amazonas, Loreto, Cuzco, Huánuco, Oxapampa, San Martín, Cuenca del Ucayali (Pucallpa, Contamana y Requena), Putumayo y alrededores de Iquitos y Caballococha. En San Martín se le encuentra a lo largo de la Cuenca del Huallaga hasta Yurimaguas, en el Alto Mayo, Bajo Mayo, Sub Cuenca del Cumbaza y en áreas del sector Lamas-Shanusi (Pariona, 2008; Doster *et al.*, 2009).

2.1.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA

En cuanto a la composición química, en un estudio realizado en Colombia por Gutiérrez *et al.* (2011) se determinó la composición química en las semillas de sachá inchi que se muestra en el Cuadro 1.

CUADRO 1: Composición química de las semillas de sachá inchi.

Componente	Valor (% , b.s)
Humedad	3.3 +-0,3
Grasa	42.0+-1,1
Proteínas	24.7+-0,5
Cenizas	4.0+-0,7
Carbohidratos	30.9+-0,6

Fuente: Gutiérrez *et al.* (2011)

Merino (2009) realizó pruebas de análisis proximal en 10 ecotipos de sachá inchi y encontró en promedio valores de 6.74% en humedad, 2.24% en valor de cenizas, el valor de proteínas fue de 20.03%, el porcentaje de carbohidratos alcanzó un 49.58% y el de grasa en promedio un 12.71%, este último valor difirió significativamente con el encontrado por Gutiérrez *et al.* (2011), que fue de 42%, esto podría deberse a la diferencia entre los lugares de procedencia de las semillas.

El sachá inchi es una de las semilla con más alto contenido en aceite comparado con otras semillas oleaginosas y comparable al maní y girasol. La diferencia notable entre el aceite de sachá inchi y los otros es el nivel de ácido α -linolénico existente en el mismo (Hamaker *et al.*, 1992). Por esta razón se le considera dentro del grupo de aceites linolénicos, donde se incluyen aceites que albergan cantidades sustanciales de dicho ácido

como los aceites de linaza, de cáñamo y de perilla (Bernardini, 1981, citado por Ángeles, 2002).

Los ácidos linoleico y el α -linolénico, presentes en el sachá inchi, son considerados ácidos grasos esenciales de suma importancia en el cumplimiento de funciones fisiológicas en el cuerpo humano. Por ello su deficiencia, exceso o desproporción entre ellos, está involucrada en la aparición de problemas metabólicos relacionados con alteraciones de la piel, arteroesclerosis, exacerbaciones de las complicaciones diabéticas, alteraciones de la inmunidad, fenómenos inflamatorios y trombóticos, enfermedades cardiovasculares y predisposición al cáncer, debido a las importantes funciones que cumplen dichos ácidos grasos en el organismo (Tivizay, 1995, citado por Avellano, 2003).

Respecto al contenido en compuestos minerales Merino (2009), para 10 ecotipos de semillas de sachá inchi, identificó la presencia de ciertos minerales, obteniéndose en promedio las siguientes cantidades en mg/100g: 0.7 de manganeso, 796.5 de potasio, 253.9 de magnesio, 83.2 de calcio, 4.9 de hierro, 10.3 de zinc, 113.7 de sodio y 0.94 de cobre. Gutiérrez *et al.* (2011) reportó los mismos minerales con excepción del manganeso. Además los mismos autores encontraron notorias diferencias en las cantidades de algunos minerales reportados en el anterior estudio, tal como el caso del sodio con 1.54 mg/100g, calcio con 240.6 mg/100g y potasio con 556.3 mg/100g.

De otro lado Hamaker *et al.* (1992) reportaron la presencia de cantidades importantes de aminoácidos en las semillas de sachá inchi, en comparación con las de otras oleaginosas, siendo los aminoácidos de mayor participación la cisteína, tirosina, treonina y triptófano; por el contrario los niveles de leucina y lisina fueron los más bajos.

2.1.3. POTENCIAL ECONÓMICO Y USOS

La Ley N° 11367 – 2004 ha declarado a la *Plukenetia volubilis* L. como patrimonio genético nacional y producto alternativo de la pobreza. En el artículo 107 de la Constitución Política del Perú y en concordancia con el artículo 75 del Reglamento del Congreso de la República se declara al sachá inchi como un importante recurso genético y un valioso aporte de la Amazonía peruana a la humanidad por sus cualidades nutraceúticas, alimenticias, cosméticas, entre otras (Higuchi, 2004).

Actualmente se está incrementando las exportaciones de sachá inchi, debido al interés despertado en los países a nivel mundial, gracias a las propiedades farmacéuticas, medicinales, alimentarias y cosmetológicas que se le otorgan. En el año 2009 se registró un volumen bruto exportado de 67,362.96 kg de los productos del sachá inchi; siendo los principales compradores Japón, Estados Unidos y Francia, seguidos por Suiza, España, China y Alemania (PROMPERU, 2009). Además, *Plukenetia volubilis* L. es considerada por el Programa Amazónico Regional de Biocomercio, PROMPEX, como un producto de aplicación industrial con gran potencial dentro del grupo de ingredientes naturales, cosméticos y alimenticios (INS, 2008).

De otro lado, la semilla es consumida por la población nativa y mestiza de algunas áreas rurales de la población de San Martín de diversas formas, tostada, cocida con sal, en confituras, en mantequilla y como ingrediente de diversos platos típicos como inchi cucho (ají con maní), lechona api (mazamorra de plátano con maní), inchi capi (sopa de gallina con maní o sopa de res con maní), donde el sachá inchi reemplaza al maní. También en algunos lugares se obtienen aceites en forma artesanal para la alimentación y combustibles de iluminación (Arévalo, 1996).

Las mujeres nativas usan la mezcla del aceite y la harina de sachá inchi, agregando aceite de ungurahui para preparar una crema que revitaliza y rejuvenece la piel. Asimismo, es usado como frotación para calmar dolores musculares y reumáticos (Fernández, 2007). También se ha registrado el consumo de la semilla cruda como medicina tradicional, como laxante, recomendándose no más de dos semillas, porque podrían causar intoxicación (usado en lenguaje popular, cuando se provocan diarreas o cólicos) (Flores, 2010).

2.2. COMPUESTOS FENÓLICOS

2.2.1. DISTRIBUCIÓN

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, que contribuyen al crecimiento y reproducción de la planta. Su distribución en células y tejidos vegetales no es constante, y depende del tipo de compuesto químico del que se trate, situándose en el interior de la célula o en la pared celular (Martínez - Velarde *et al.*, 2000). Protegen además a las plantas contra daños oxidativos, llevando a cambio la misma

función que en el organismo (Vasconcellos, 2001). Actúan también frente a la acción de patógenos de plantas, siendo secretados como mecanismos de defensa (Martínez - Velarde *et al.*, 2000).

2.2.2. CLASIFICACIÓN

La mayoría de los compuestos fenólicos conocidos presentan una alta diversidad molecular y pueden ser clasificados de acuerdo al número de átomos de carbono de su esqueleto básico molecular y su estructura, pero también de acuerdo a su origen, a partir de síntesis química y a partir de la ruta biosintética natural (Soto *et al.*, 2011; García, 2005). Poseen un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo y sus estructuras pueden tener un rango, desde una molécula fenólica simple (fenol, ácidos fenólicos y alcoholes fenólicos) a un polímero complejo de alto peso molecular (ligninas y taninos) (Balasundram *et al.*, 2006; D'Archivio *et al.*, 2007). Pueden ser clasificados dentro de diferentes grupos en función al número de anillos aromáticos que contienen y de los elementos estructurales que unen estos anillos a otros (Manach *et al.*, 2004).

Según Naczk y Shahidi (2006), los 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 lignina.

2.2.3. PROPIEDADES

A los compuestos fenólicos se les atribuyen propiedades biológicas, farmacológicas y medicinales, y se dice que previenen enfermedades gracias a sus efectos antibacterianos, antioxidantes, anti-inflamatorios (bloquean la acción de enzimas específicas que causan inflamación), anti-alérgicos, antitrombóticos (modifican los pasos metabólicos de las prostaglandinas, protegiendo así la aglomeración de las plaquetas) y vasodiladores (disminuyen la permeabilidad de los vasos capilares y mejoran así la circulación sanguínea) (Rice-Evans *et al.*, 1997).

Además, Huang *et al.* (2007) afirma que los compuestos fenólicos pueden ser usados en la prevención de enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas. Estudios epidemiológicos han indicado que el consumo regular de alimentos ricos en compuestos fenólicos (frutas, vegetales, cereales de grano entero, vino tinto, té) está

asociado con la reducción de enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas y ciertos tipos de cáncer (Hansen *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2007).

Aún no se han reportado estudios acerca de los compuestos fenólicos presentes en las semillas del sachá inchi, sin embargo Arana y Paredes (2008) realizaron un estudio del contenido de compuestos fenólicos presentes en el aceite del sachá inchi procedentes del distrito Pinto Recodo- Región San Martín y reportaron una concentración de 2.32 mg de ácido clorogénico equivalente/100 g de aceite.

2.3. TOCOFEROLES

2.3.1. DISTRIBUCIÓN

Los tocoferoles generalmente están presentes en las nueces y aceites vegetales comunes (germen de trigo y girasol), en cambio los tocotrienoles se encuentran en mayor concentración, en cereales de granos (avena, cebada y centeno) y ciertos aceites vegetales (aceite de palma y aceite de salvado de arroz) (Schwenke, 2002).

2.3.2. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA QUÍMICA

Vitamina E es el término genérico usado para describir a una familia de 8 antioxidantes liposolubles con dos tipos de estructuras: los tocoferoles (α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol) y los tocotrienoles (α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol y δ -tocotrienol), los mismos que se diferencian en la saturación de la cadena lateral, los primeros tienen una cadena saturada y los segundos una insaturada con tres dobles enlaces.

Su estructura consta de dos partes primarias, un anillo complejo “cromano” con un hidroxilo (6- hidroxicromano) y una larga cadena lateral de 16 carbonos constituidas por la unión de tres unidades de isopreno saturado. El grupo cromano puede estar metilado en diferentes posiciones para generar diferentes componentes con actividad vitamínica (Bramley *et al.*, 2000; Hai, 2007).

2.3.3. PROPIEDADES

Se ha señalado que la función más importante de la vitamina E en el cuerpo es su actividad antioxidante y el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares. El

grupo hidroxilo libre, contenido en el anillo aromático, es responsable de las propiedades antioxidantes y el átomo de hidrógeno de su grupo puede ser donado a los radicales libres resultando un radical de vitamina E estable. La vitamina E también ha mostrado tener un rol en la función inmunológica, en la reparación de ADN y otros procesos metabólicos (Hai, 2007).

Yoshida *et al.* (2003) sostienen que cada uno de los tocoles que conforman esta vitamina poseen diferente actividad antioxidante *in vitro*, la cual decrece en el orden $\alpha > \beta > \gamma > \delta$, al igual que su potencial biológico. Considerándose generalmente, al α -tocoferol la forma más importante por ejercer una mayor actividad biológica.

2.3.4. TOCOFEROLES Y SACHA INCHI

Estudios referidos al contenido de tocoferoles presentes en el aceite del sacha inchi (mas no referidos a la semilla) han sido realizados, sin embargo la diversidad de técnicas empleadas para la obtención de aceites, los diferentes ecotipos de las semillas empleadas para la obtención del aceite y los lugares de recolección han dado resultados muy variados, tales son los encontrados por Hamaker *et al.* (1992) que solo reportaron la presencia de α -tocoferol en cantidades entre 3.8 - 6.3 mg/100g de aceite, mientras que Arana y Paredes (2008) encontraron tocoferoles del tipo δ y γ . Del primero hallaron 12.5 mg/100 g aceite y del segundo 70.5 mg/100 g aceite; estos mismos tipos de tocoferoles fueron encontrados por Follegatti-Romero *et al.* (2009) sin embargo las cantidades obtenidas fueron diferentes, se encontró 125 mg/100 g de δ -tocoferol y 114 mg/100 g de aceite de γ -tocoferol. Sólo trazas de δ -tocoferol fue encontrado por Bondioli *et al.* (2006), mientras que cantidades de α -tocoferol de 143 mg/100 g de aceite fue reportado, además de la presencia de 83 mg de $\beta + \gamma$ -tocoferol/100g de aceite.

2.4. ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y OMEGA-6

2.4.1. DISTRIBUCIÓN

Los omega-3 se encuentran presentes en aceites vegetales como la soya y canola, en pescados como jurel, sardina, salmón y bacalao, en las semillas de lino, nueces, mostaza, pepas de calabaza, hortalizas de hojas verde y cereales; y los omega-6 podemos encontrarlos en aceites vegetales de: girasol, maíz, soja, calabaza, pepita de uva y germen de trigo (Pariona, 2008).

2.4.2. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA QUÍMICA

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos de cadena larga. Por lo general, contienen un número par de átomos de carbono, mayormente 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 derivan de la metilación de un ácido graso de cadena par (Holub, 2002).

Según la naturaleza de la cadena hidrocarbonada los ácidos grasos se clasifican en saturados e insaturados. Los ácidos grasos saturados tienen un comportamiento químico que se caracteriza por ser muy poco reactivo. Por lo general, contienen un número par de átomos de carbono, todos sus átomos están llenos de hidrógenos. En los ácidos grasos insaturados frecuentemente aparecen insaturaciones en forma de dobles enlaces en la misma cadena, estos no aparecen conjugados (alternados), sino cada tres átomos de carbono (Holub, 2002).

2.4.3. IMPORTANCIA

Algunos ácidos grasos poliinsaturados 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 y son el ácido linoleico (omega-6) y el ácido α -linolénico (omega-3), que cumplen funciones importantes en el organismo (Pariona, 2008). Es importante mantener un adecuado equilibrio entre los ácidos grasos omega-3 y -6, ya que ambos contribuyen en la preservación de la salud (Jones, 2002).

La deficiencia de ácidos grasos esenciales y la relación en desequilibrio omega- 6/-3 está asociada con serias condiciones de salud, tales como ataques cardíacos, cáncer, asma, lupus, esquizofrenia, depresión, depresión post parto, envejecimiento prematuro, obesidad, diabetes, artritis, Alzheimer entre otras (Jones, 2002). De allí que se considera importante el suministro de las mismas en la dieta.

2.4.4. ÁCIDOS GRASOS Y SACHA INCHI

En el Cuadro 2 se compara los diferentes resultados obtenidos de ácidos grasos, a partir de aceite de sacha inchi, donde se aprecia que todos muestran un mismo perfil cualitativo, es decir se hallaron los ácidos α -linolénico, linoleico, oleico, palmítico y esteárico, como los más representativos; sin embargo existen diferentes variaciones en los porcentajes obtenidos, la causa de ello podrían ser las diferentes técnicas aplicadas tanto para la cuantificación de ácidos grasos como para la obtención del aceite de sacha inchi, así como la procedencia de los ecotipos de semillas.

En cuanto al omega-3 los máximos, Gutiérrez *et al.* (2011) encontró 50.8% y Pascual y Mejía (2000), reportaron un 43.75%. En cuanto al nivel de omega-6 se han reportado valores de 36.99 y 33.4 % (Pascual y Mejía, 2000 y Gutiérrez *et al.*, 2011 respectivamente). También, Hamaker (1992) y Pascual y Mejía (2000) determinaron cantidades de omega-9 de 9.6% mientras que Follegatti-Romero *et al.* (2009) determinó un 8.41%.

CUADRO 2: Contenido de ácidos grasos reportados en el aceite de sacha inchi

Ácidos Grasos (%)	Hamaker (1992)	Pascual y Mejía (2000)	Bondioli <i>et al.</i> (2006)	Arana y Paredes (2008)	Follegatti-Romero <i>et al.</i> (2009)	Gutiérrez <i>et al.</i> (2011)
Acido α -linolénico	45.2	43.75	50.73	48.16	50.41	50.8
Acido linoleico	36.8	36.99	33.67	34.1	34.08	33.4
Ac. oleico	9.60	9.60	8.77	8.91	8.41	9.10
Ac. palmítico	4.50	5.61	3.79	4.71	4.24	4.40
Ac. esteárico	3.20	2.23	2.65	3.33	2.50	2.40
Lugar de procedencia	Tarapoto	INIA Pucallpa	Lima	II-AP Tarapoto	Tingo María	Colombia

2.5. CAROTENOIDES

2.5.1. DISTRIBUCIÓN

El nombre carotenoides es derivado del hecho de que éstos son el mayor pigmento en las zanahorias *Daucus carota*, y sin duda están entre los pigmentos más importantes y distribuidos dentro de los organismos vivos.

Los carotenoides son los pigmentos responsables de los colores de muchas plantas, frutas y flores. Estos son nutrientes liposolubles y clasificados en xantófilas o carotenos de acuerdo a su composición química. La mayoría de las xantófilas se encuentran en vegetales verdes frondosos y los carotenos en vegetales amarillos. Los carotenoides más importantes son los alfa y beta carotenos, beta-cryptoxantina, luteína, violaxantina, neoxantina y el licopeno (Zeb y Mehmood, 2004).

Numerosos aceites vegetales incluyendo el de maíz, soya, linaza, oliva, cebada, girasol, algodón, colza y cacahuete, contienen carotenoides (Zeitlin *et al.*, 1992). La concentración en que se encuentran es generalmente baja, menos de 100 ppm. De los aceites vegetales que son mayormente consumidos, el aceite de palma es el que contiene la más alta concentración conocida en carotenoides (Zeb y Mehmood 2004). Hamaker (1992) reportó un contenido de carotenoides en el aceite de sacha inchi de 0.08 mg de β -caroteno/100 g de aceite.

2.5.2. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA QUÍMICA

La estructura de los carotenoides está basada en sistemas de enlaces conjugados dobles dentro de cadenas largas y alifáticas. Siendo su estructura básica un tetraterpeno simétrico y lineal de 40 carbonos, formado a partir de ocho unidades isoprenoides de 5 carbonos unidas de manera que el orden se invierte al centro. La gran mayoría de carotenos naturales tienen dobles enlaces en la posición *trans*, y sólo unos pocos exhiben una configuración *cis-trans*; a este tipo de estructuras se les llama carotenos.

Sin embargo otra parte del grupo de carotenos son oxigenados, con diversas combinaciones, por ejemplo hidroxí-, epoxi-, alcohol-, aldehído-, keto-, lactona-, ácido carboxílico-, éster- o funciones fenólicas-. A estos compuestos se les denomina xantófilas.

Los grupos funcionales que contienen oxígeno se localizan al final de las cadenas. Además cerca de la mitad de carotenos naturales son quirales, conteniendo generalmente de uno a seis centros quirales (Fehl *et al.*, 2005).

2.5.3. IMPORTANCIA

Estos pigmentos cumplen funciones importantes en las plantas, ya que proveen la pigmentación esencial para la fotosíntesis, reproducción y protección. Actúan también como antioxidantes en los estados lipídicos de muchos sistemas biológicos por medio de su habilidad para reaccionar con radicales libres formando productos de radicales libres menos reactivos (Hai, 2007). Tienen poderosas actividades contra el oxígeno singulete generado a partir de la peroxidación lipídica o radiación. Los beta-carotenos, alfa-carotenos y beta-cryptoxantina tienen actividad pro-vitamina A.

Resultados de numerosos estudios epidemiológicos y de laboratorio sugieren que los carotenoides pueden ser importantes en la prevención de diferentes tipos de cáncer, y el consumo de una dieta rica en carotenoides después de un diagnóstico de cáncer ha devenido en un pronóstico favorable (Rock *et al.*, 1996). Otro beneficio en la salud de los carotenoides es que quizás estén relacionados a su potencial antioxidante, incluye la mejora de la función del sistema inmune. El licopeno previene la oxidación de las LDL o lipoproteínas de baja densidad, reduciendo el riesgo de desarrollar aterosclerosis y patologías relacionadas con el corazón (Zeb y Mehmood, 2004).

2.6. FITOESTEROLES

2.6.1. DISTRIBUCIÓN

Los esteroides y estanoles están presentes en frutas, vegetales, nueces, semillas, aceites de semillas, legumbres, aceites vegetales entre otros; siendo los estanoles los que se encuentran presentes en menores cantidades que los esteroides. Existe una gran variedad de fitoesteroides en plantas cuyos rangos van desde 800-1500 mg/100 g en aceite de maíz hasta 70-100 mg/100 g en aceite de palma (Phillips *et al.*, 2002).

2.6.2. ESTRUCTURA QUÍMICA

La palabra fitoesteroides encierra a los esteroides y estanoles de plantas, que son similares en estructura al colesterol. Difieren solamente en los grupos de cadenas laterales

(Hai, 2007) y se caracterizan porque poseen un grupo extra, ya sea etil (sitosterol) o metil (campesterol), en el lado de la cadena (Jong *et al.*, 2003). Los fitoesteroles son compuestos fitoquímicos, con las mismas funciones básicas en plantas como el colesterol en animales. Regulan la fluidez de células vegetales y tienen otras funciones fisiológicas asociadas con la biología de las plantas (Brufau *et al.*, 2008). Hai (2007) señala que los esteroides de plantas más comunes son: el sitosterol, campesterol y stigmasterol, y que los estanoles de plantas más comunes son: el sitostanol, campestanol y stigmastanol. Ambos son polvos cristalinos de color blanco, con una limitada solubilidad en grasa y no pueden ser sintetizados por humanos tanto los esteroides y estanoles presentes en el cuerpo humano, se originan de la dieta.

2.6.3. PROPIEDADES

Recientemente diversos estudios han mostrado que ambos ésteres de plantas (estanol y esteroles) disminuyen las concentraciones de colesterol LDL, sin efecto en las concentraciones del colesterol HDL o en los niveles de triglicéridos (Plat *et al.*, 2000). Los fitoesteroides compiten con el colesterol para formar micelas en el lumen intestinal e inhiben la absorción del colesterol (Nissinen *et al.*, 2002). Bouic (2001) menciona que además de la disminución del colesterol, los esteroides de plantas tienen otros efectos positivos como: anti-inflamatorios, anti-oxidativos (Homma *et al.*, 2003) y anti-aterosclerótico. Los fitoesteroides también demostraron tener un efecto protector contra úlceras (Jayaraj *et al.*, 2003) y además tener actividad anti-fúngica (Li *et al.*, 2005). Así mismo, Award *et al.* (2003) sostiene que el consumo de esteroides de plantas es benéfico para prevenir o tratar diferentes tipos de cáncer, incluyendo el de mama, próstata (Bennani *et al.*, 2007), pulmón (Schabath *et al.*, 2005), estómago (De Stefani *et al.*, 2000a), esófago (De Stefani *et al.*, 2000b), endometrio (McCann *et al.*, 2000), y de ovario (McCann *et al.*, 2003).

A pesar que los estanoles y esteroides de plantas son ingeridos diariamente en la dieta, las cantidades son bastante bajas por lo que en algunos países están incorporando tales componentes en productos alimenticios de consumo cotidiano.

En el aceite de sacha inchi se ha reportado la presencia de fitoesteroides, así en un estudio realizado por Bondioli *et al.* (2006), el contenido de esteroides totales llega a un

nivel de 247.2 mg/100g de aceite, siendo los encontrados en mayor porcentaje β -sitosterol, estigmasterol, y campesterol; además, cantidades trazas fueron hallados de avenasterol y colesterol.

2.7. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Los efectos benéficos y el rol que desempeñan los antioxidantes contra varios desórdenes e infecciones inducidas por estrés oxidativo están generando mucha atención. Muchos tipos de antioxidantes con diferentes funciones realizan un rol en la cadena de defensas en vivo. Los antioxidantes secuestradores de radicales libres son una de las clases más importantes de antioxidantes y la evaluación de su capacidad ha sido el motivo de estudios extensos y de discusión (Niki, 2010).

Muchos intentos se han realizado para cuantificar la capacidad y expresarla en términos numéricos como “capacidad antioxidante total (TAC)” (Serafini y Del Río, 2004). TAC quiere decir la capacidad del antioxidante (contenido en la muestra) de atrapar al radical libre. El TAC de vegetales, frutos, bebidas, especies y otros productos alimenticios, ha sido medido por métodos como ORAC, TEAC, TRAP y FRAP con el fin de investigar el rol de los antioxidantes en la dieta. Frecuentemente el Trolox es usado como un componente de referencia y la capacidad es expresada como equivalente de Trolox (Niki, 2010).

Se ha evaluado la capacidad de los antioxidantes en numerosos estudios por diferentes métodos en diferentes condiciones, son todos métodos de inhibición, donde se usa una especie generadora de radicales libres y una sustancia que detecta estas especies. La capacidad antioxidante de la muestra añadida inhibe la generación de estos radicales (Alonso *et al.*, 1999).

No hay un método universal por el cual la capacidad antioxidante sea evaluada. Esto puede resultar comprensible, ya que existen varias especies activas, las características de la reacción y los mecanismos están implicados en el estrés oxidativo en el cuerpo humano, y por tanto es difícil encontrar un método simple y universal por el cual se puede evaluar con precisión la capacidad antioxidante y cuantificarla (Niki, 2010; Magalhaes *et al.*, 2008).

Actualmente, existen diversos métodos, algunos incluyen distintos pasos para la oxidación y la consiguiente medida de su resultado y los elementos que intervienen son el sustrato, el antioxidante, el iniciador, productos finales o intermedios, y ellos pueden usarse para medir la actividad antioxidante. El término “capacidad” parece ser aplicado a identificar la “actividad” como la medida de una o varias pruebas comunes o normales como el índice de peróxido, dienos conjugados, test de Kreis, índice de *p*-anisidina, formación de hexanal, ensayo ABTS⁺, DPPH, etc. (Antolovich *et al.*, 2002).

2.7.1. MÉTODOS EMPLEADOS PARA MEDIR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Algunos de los métodos más utilizados para medir la capacidad antioxidante en los ensayos de laboratorio son:

a. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EXPRESADA EN EQUIVALENTES TROLOX (ENSAYO TEAC) O ABTS.

El ensayo del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotioazolín-6-sulfónico) (ABTS) se basa en la captación, por los antioxidantes, del radical catión ABTS⁺ generado en el medio de reacción (Navas, 2005). El radical catión del ABTS posee una coloración verde-azulada con un máximo de absorción a 414 nm y una serie máximos secundarios de absorción a 645, 734 y 815 nm. Sin embargo, a 734 nm se minimiza la interferencia producida por otros compuestos o por turbidez de la muestra (Antolovich *et al.*, 2002). Los resultados son expresados en comparación con un estándar como el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxílico (Trolox), un análogo sintético hidrosoluble de la vitamina E (Lien *et al.*, 1999).

Para el desarrollo del método se suelen emplear dos estrategias; la inhibición y la decoloración. En la primera, los antioxidantes se añaden previamente a la generación del radical ABTS⁺ y lo que se determina es la inhibición de la formación del radical, que se traduce en un retraso en la aparición de la coloración verde-azulada. En la segunda estrategia, los antioxidantes se añaden una vez que el ABTS⁺ se ha formado y se determina entonces la disminución de la absorbancia debida a la reducción del radical, es decir la

decoloración de éste. Este ensayo presenta además variaciones en el modo mediante el cual se genera el radical catión ABTS (Prior *et al.*, 2005).

b. CAPACIDAD REDUCTORA DEL HIERRO FÉRRICO/PODER ANTIOXIDANTE (ENSAYO FRAP).

A diferencia del método anterior éste no se basa en la capacidad de captación de radicales libres, pero si en la capacidad de reducción del hierro. En un medio ácido, el complejo fierro-tripiridiltriazina se reduce a su forma ferrosa, formando una coloración en presencia del antioxidante, causando un incremento en la absorbancia a 595 nm. La absorbancia encontrada es interpolada en una curva de calibración de Trolox, y los resultados son expresados como equivalentes de Trolox (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto, 2006).

El método determina la capacidad de la muestra para reducir un complejo constituido por hierro férrico con la molécula tripiridil-5-triazina (TPTZ) a su forma ferrosa. De este modo se genera una coloración de intensidad proporcional a la actividad reductora de la muestra, que puede cuantificarse por colorimetría en base a un patrón de hierro ferroso. La capacidad para reducir el hierro se considera un índice del poder antioxidante de la muestra (Prior *et al.*, 2005).

c. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE RADICALES OXIGENO (ENSAYO ORAC).

Este método se basa en la medición de la capacidad global que tienen todos los antioxidantes presentes en una muestra para neutralizar los radicales peroxilo. Estos radicales son generados térmicamente a partir del compuesto AAPH y reaccionan con fluoresceína como sustrato. Como resultado de tal reacción, la fluorescencia de este último compuesto decrece a través del tiempo, configurando un área bajo la curva (fluorescencia versus tiempo). Cuando esta reacción se realiza en presencia de antioxidantes, éstos reaccionan rápidamente con los radicales peroxilo inhibiendo la pérdida de intensidad de fluorescencia y esta inhibición es proporcional a la capacidad antioxidante (Antolovich *et al.*, 2002).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación fue realizado en los laboratorios de Biotecnología Industrial del Instituto de Biotecnología (IBT) ubicado en el campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) y en los laboratorios del Instituto de Ciencias de la Vida de la Facultad de Ingeniería Biológica, Agronómica y Ambiental de la Universidad Católica de Louvania (UCL), Bélgica.

3.2. MATERIA PRIMA

La materia prima utilizada en la investigación fueron cultivares de semillas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis L.*), procedentes de la Colección Nacional de Material Genético de sachá inchi, proporcionados por la Estación Experimental Agraria (EEA) “El Porvenir” del Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA. En total se analizaron 16 cultivares de la colección de semillas, de las cuales nueve correspondieron al Departamento de San Martín y siete a Loreto. Los datos de procedencia e identificación, al igual que las imágenes de cada cultivar se detallan en el Anexo A 1.

3.3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

3.3.1. MATERIALES

Balones de 200 mL, 250 mL, matraces esmerilados de 250 mL, vasos de precipitados de 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL, baguetas, probetas de 5 mL, 10 mL, 50 mL, 100 mL, 500 mL y 1000 mL, tubos de ensayo, peras de decantación de 250 mL, frascos color ámbar de 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL y 30 mL, termómetros, (Boeco Germany), matraz kitasato de 250 mL, pipetas de 2 mL, 5 mL, 10 mL, fiolas de 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL, 100 mL, 500 mL, placas petri de 5 cm de diámetro, mortero, soporte universal, pinzas, magnetos, parafilm “M” (Laboratory Film), tubos de centrífuga de 10 y 50 mL (Falcon), gradillas, cronómetro, micropipetas de 5 -50 μ L, 100 - 1000 μ L y 500-5000 μ L (Hirschmann Laborgerate); 50- 250 μ L (Brand); 5-20 μ L (Gilson); 5-50 μ L (Wheaton) y otros materiales necesarios para los análisis.

3.3.2. REACTIVOS

Ácido clorhídrico fumante al 37% (Merck), propanol grado HPLC (Tedia), alcohol etílico comercial (Yohisa), alcohol etílico absoluto G.A (J.T Baker), hidróxido de sodio (Mallinckrodt), hidróxido de potasio (Merck), Folin Ciocalteau 2N (Merck), carbonato de sodio (Mallinckrodt), 2,2'-azino - bis (3 - etilbenzotiazolina - 6 - ácido sulfónico) sal de diamonio 98% o ABTS (Sigma Aldrich), persulfato de potasio (Sigma), metanol (Sigma Aldrich), nitrógeno gaseoso (AGA), ácido acético glacial (Merck), butil hidroxitolueno BHT (Sigma Aldrich), alcohol metílico (Fermont), diclorometano (Merck), acetona (Fermont), hexano (Sigma), Hexano grado HPLC (Sigma), acetato de sodio (Himedia), 2,4,6- TRIS (2-Pyridyl)-5-triazine o TPTZ (Sigma), FeCl₃.6H₂O (Riedel De Haen), K₂HP0₄ (Merck), KH₂P0₄ (Merck), 6- Hydroxy-2,3,7,8 tetramethyl-chromon-2- carboxylic acid 97%) o TROLOX (Aldrich), AAPH (2,2-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride) (Sigma), fluoresceína (Sigma), éter de petróleo (Tedia), cloruro de sodio (J.T.Baker), sulfato de sodio anhidro (J.T.Baker), 5- α cholestane 97% (Sigma), acetonitrilo grado HPLC (Fisher Scientific), 2 propanol grado HPLC (Tedia), agua destilada, agua miliQ, heptano (Tedia), ciclodextrina (Cyclolab), estándares de α , β , δ , γ , tocoferol (Chromadex), estándares de campesterol, sistosterol, stigmasterol (Chromadex), estándar de FAME (éster metílico de ácidos grasos, Sigma Aldrich), estándar interno C11 (Metil Undecanoato, Sigma Aldrich).

3.3.3. EQUIPOS

Equipo soxhlet, rotavapor (Laborota 4000 Heidolph), ultrasonido (Ultrasonic Cleaners 2510 Branson), centrífuga (Hettich), espectrofotómetros Genesys 20 y Genesys 10 UV (Thermo), agitador magnético (Ceramic midi Polimax 2010 Ika), vortex Mixer (Wizard & Classic Velp), refrigeradoras (LG), congeladora horizontal (Electrolux), congeladora -70°C (Ilshin), potenciómetro (410 Aplus ThermoOrion), balanza analítica (Ohaus Adventurer), balanza electrónica (0,1 g) Sartorius, destilador de agua (G.F.L.), cocina eléctrica (TEBA), estufa Memmert, estufa Fravill, bomba de vacío Membrand, equipo para la purificación de agua MilliQ Millipore, agitador de muestras Heidolph Polymax 2040, baño maria (G.F.L), microcentrífuga (Mikro 20_Hettick), HPLC (Waters 2695), cromatógrafo de gases CG-2010 Plus (Shimatzu Plus), Lector de placa de fluorescencia Synergy 2 Biotek (Winooski, VT).

3.4 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1. PESO, DIÁMETRO Y ESPESOR DE LAS SEMILLAS DE SACHA INCHI

Para la caracterización se tomaron valores promedio de peso, diámetro ecuatorial y polar, así como espesor, tanto de las semillas (cáscara mas almendra), como de las almendras, para ello se utilizó una balanza digital y un vernier (Figura 2). Además, se determinó el porcentaje de la cáscara y almendra de la semilla.

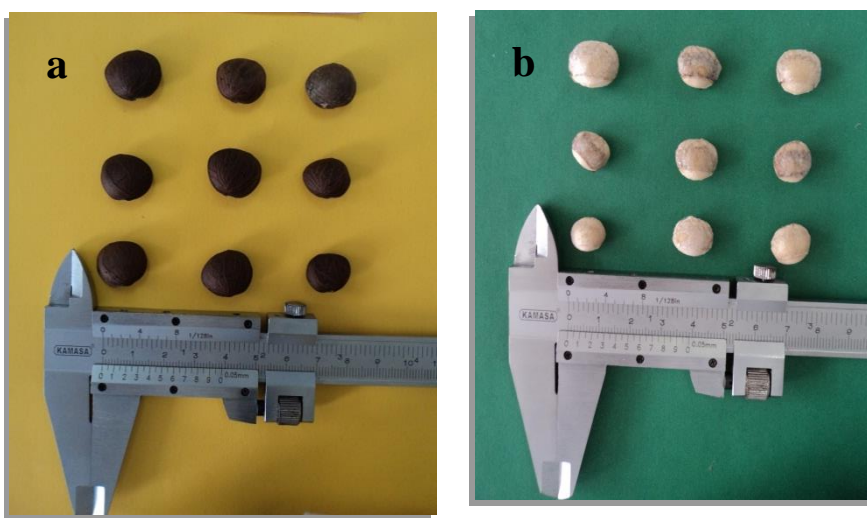


FIGURA 2: Determinación de medidas en semillas de sacha inchi (a) semilla (con cáscara) y (b) almendra (sin cáscara).

3.4.2. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

Se utilizó el método gravimétrico porcentual, donde un peso determinado de semillas molidas (sin cáscara) fue secado en estufa al vacío a 100 °C hasta obtener un peso constante (7 horas) a una presión de 4 mmHg. El contenido de humedad fue el resultado de la diferencia entre 100 y el valor de humedad fue expresado en porcentaje (AOAC, 1995).

3.4.3. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENOLICOS

Se siguió el método de Folin-Ciocalteu recomendado por Singleton y Rossi (1965). El procedimiento fue el siguiente, se pesó 0.5 g de torta desengrasada y se mezcló con 10 mL de acetona al 70%; el conjunto se dejó en reposo por 20 horas a 4°C, luego se centrifugó por 10 min a 4,000 rpm y se procedió a recuperar el sobrenadante el cual fue almacenado a -20°C hasta el momento del análisis respectivo.

Para la cuantificación de los compuestos fenólicos totales se hizo reaccionar 250 μL de reactivo Folin Ciocalteu 1 N con 1250 μL de una solución de carbonato de sodio 0.5 M y 500 μL de la muestra (extracto). La mezcla se dejó reaccionar por 30 minutos bajo oscuridad. También se preparó un blanco con agua destilada en lugar de muestra. La absorbancia fue medida a 755 nm. El contenido de compuestos fenólicos totales se estimó a partir de una curva estándar elaborada con una solución de ácido gálico como patrón (Anexo A 3). Los resultados se expresaron como mg ácido gálico equivalente (AGE)/100g de semilla.

3.4.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE TOCOFEROLES

Se siguió el método reportado por Amaral *et al.* (2005a), con algunas modificaciones. Se procedió de la siguiente forma, se pesó 400 mg de semilla descascarada molida (partículas < 0.5 mm) con un mortero, se agregó 75 μL de BHT (a una concentración de 10 mg/mL de hexano) y luego 2 mL de etanol grado analítico, se homogenizó con la ayuda de un vortex por un minuto. En seguida se adicionó 4 mL de hexano, se homogenizó por 1 minuto, luego se agregó 2 mL de una solución saturada de cloruro de sodio y nuevamente el conjunto se homogenizó por un minuto. Se centrifugó a 4,000 rpm a 1°C por cuatro min y luego el sobrenadante fue colectado. Se volvió a realizar dos extracciones más con hexano, recuperándose en cada extracción el sobrenadante. El conjunto de sobrenadantes fueron llevados a sequedad con la ayuda de nitrógeno y sobre baño maría a temperatura entre 35 y 40°C. El residuo fue recuperado en 1.5 mL de hexano y deshidratado con 0.5 g de sulfato de sodio anhidro. El conjunto fue centrifugado a 10,000 rpm. El sobrenadante fue transferido a los viales de inyección para su cuantificación por 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 μm 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 un sistema de gradiente isocrático.

La cantidad de muestra inyectada fue de 10 uL. La detección y cuantificación fue realizada a las longitudes de onda de excitación = 290nm y de emisión = 330nm. Las muestras y fase móvil fueron pasadas por filtros millipore de 0.22um, tipo GV (Millipore, Bedford, MA) antes de ser inyectados al HPLC. La duración de la corrida cromatográfica fue de 13 minutos. La identificación del α -, β -, γ - y δ - tocoferol 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. Los resultados fueron expresaron como mg de tocoferol/100 g de semilla considerando las curvas estándar para cada tofoferol evaluado (Anexo A 5).

3.4.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS

Se utilizó el método reportado por Michotte (2009). El método consta de tres etapas: la metilación, extracción y cuantificación por cromatografía gaseosa, las mismas que se describen a continuación. Para la metilación se procedió a pesar en un tubo de 70 mL unos 500 mg de aceite de sacha inchi (obtenido previamente por extracción soxhlet con éter de petróleo por 6 horas a temperatura no mayor a 40°C). Al aceite se le adicionó 10 mL de KOH 0.1M y el conjunto se colocó en baño maría a 70°C por una hora. Posteriormente los tubos fueron enfriados y se adicionó 4 mL de una solución de HCl 1.2 N en MeOH (metilación), el tubo fue agitado y colocado en baño maria a 70°C por 20 min para posteriormente ser puestos a enfriar a 4 °C.

La extracción se realizó adicionando 20 mL de hexano a los tubos ya enfriados, así como 10 mL de agua MilliQ, el conjunto se agitó en un vortex. Seguidamente, la mezcla se colocó en refrigeración a 4°C durante una noche, luego de lo cual se observó la separación de dos fases. Se tomó 150 μ L de la fase superior y se llevó a un volumen de 20 mL con hexano, adicionalmente esta mezcla contenía 1 mL del estándar interno C11 (metil undecanoato) a la concentración de 0.75 mg/mL. Previo al análisis cromatográfico 400 μ L de la muestra fue combinada con 400 μ L de hexano, se procedió a filtrarla y se colocó en un vial para ser pasado por el cromatógrafo de gases.

El análisis de ácidos grasos se realizó utilizando un cromatógrafo de gases Trace GC de Thermo Finnigan, un detector fotométrico de llama (FID), un inyector automático Pal GC de CTC Analítico y como software se empleó el programa *ChromQuest* 3.0. El gas

utilizado fue el hidrógeno que trabajó a una presión constante (200 kPa). La columna utilizada fue una RESTEK Rt-2560 compuesta de biscianopropil polisiloxano (100 m de longitud, 0.25 mm de diámetro y 0.2 μm de película interior). El gas portador que trabajó a presión constante fue el helio. El programa de gradiente de temperatura empleado fue el siguiente:

1. Temperatura inicial : 80°C
2. Incremento de la T° (25°C/min) hasta 175°C
3. Primer nivel : 175°C durante 25 min
4. Incremento de la T° (10°C/min) hasta 205°C
5. Segundo nivel : 205°C durante 4 min
6. Incremento de la T° (10°C/min) hasta 225°C
7. Tercer nivel: 225°C durante 20 min
8. Descenso de la T° (20°C/min) hasta 80°C

La cantidad de muestra inyectada fue de 1 μL . El tiempo de corrida cromatográfica fue de 33 minutos por cada muestra. Los ácidos grasos de la muestra fueron identificados en función a los tiempos de retención, por comparación de estándares previamente inyectados. Los resultados fueron expresados como g de ácido graso/100 g de semilla, considerándose en los cálculos los rendimientos en aceite obtenido a partir de la semilla.

3.4.6. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES

Se utilizó el método reportado por Talcott y Howard (1999). El procedimiento seguido fue el siguiente, se pesaron 0.5 g de semilla molida y se adicionó 5 mL de una solución acetona-etanol (1:1) que contenía a su vez 200 mg/L de BHT. Todo se mezcló hasta obtener una consistencia uniforme. La mezcla se filtró en papel Whatman N° 1 y los residuos del papel fueron lavados con el solvente indicado anteriormente hasta llegar a un volumen de 5 mL. El filtrado se pasó a un tubo de 70 mL, se le adicionó 2.5 mL de hexano, se agitó vigorosamente y se dejó en reposo por 30 min; luego se añadió agua destilada, se agitó y se dejó en reposo por 20 min donde se observó la separación de dos fases. Se tomó una alícuota de la fase hexano (fase superior) y se leyó en el espectrofotómetro a 470 nm, usando como blanco hexano. El contenido de carotenoides se calculó utilizando una curva

estándar de β -caroteno. Los resultados fueron expresados como mg de β -caroteno equivalente (β CE)/100g de semilla.

3.4.7. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FITOESTEROLES

Se empleó el método recomendado por Da Costa *et al.* (2010) y Ducheteau *et al.* (2002). El procedimiento fue el siguiente, se pesó 100 mg de aceite al cual se le agregó 100 μ L del estándar interno (solución de β -colestanol a una concentración 5 mg/25 mL en n-heptano). Luego se adicionó 1 mL de una solución etanólica de hidróxido de potasio al 12%, el cual fue preparado minutos antes de cada ensayo; el conjunto se homogenizó por 5 segundos. Cada tubo fue colocado en baño maría a 60°C por 1.5 h bajo agitación lenta y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se procedió a extraer la parte insaponificable para lo cual se agregó 1 mL de agua destilada y 5 mL de n-heptano, todo se homogenizó por 5 segundos e inmediatamente fue transferido todo el volumen en una pera de decantación y se dejó reposar hasta que se observó separación de fases. Seguidamente fue transferida la fase orgánica en un tubo (fase superior) para su recolección. Se procedió a realizar este procedimiento dos veces más, juntándose finalmente los sobrenadantes obtenidos. Al conjunto se procedió a adicionar sulfato de sodio anhidro para deshidratar la mezcla. El producto final obtenido fue evaporado a sequedad en un rotavapor a 40°C. Finalmente el residuo obtenido fue recuperado en 1mL de n-heptano, para posteriormente ser filtrado e inyectado al cromatógrafo de gases.

El análisis de los fitoesteroles se realizó utilizando un cromatógrafo de gases CG-2010 (Shimadzu Plus GC-2010-Kioto, Japón) equipado con un detector de flama de ionización (FID-2010) y un autoinyector AOC - 20i. La columna capilar empleada fue una Supelco SAC TM-5 (St. Louis, MO, USA) de dimensiones de 30 m \times 0.25 mm ID y con una película interna de 0.25 μ m que contenía 5% phenyl/95% dimethylpolysiloxano. Las condiciones cromatográficas de corrida fueron las siguientes: la temperatura del horno inicial de 250°C por dos minutos, incrementándose rápidamente a 285°C a 25°C/min; luego siguió un periodo isotérmico de 285 °C por 32 minutos. El tiempo total de corrida fue de 40 min, el gas empleado como transportador fue el Helio y se inyectó un volumen de 1 μ L de muestra por corrida.

Los fitoesteroles fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de los estándares previamente inyectados (β -sitosterol, campesterol, estigmasterol, Anexo 2 d). El contenido de fitoesteroles en las muestras se calculó utilizando una curva estándar de los tres fitoesteroles empleados como estándar de referencia (Anexo A5). Los resultados se expresaron como mg /100g de semilla, considerándose en los cálculos el rendimiento en aceite obtenido a partir de la semilla.

3.4.8. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La medida de la capacidad antioxidante se realizó por tres diferentes métodos de ensayo: el método del ABTS, FRAP y ORAC, los cuales se describen a continuación:

a. Método de la capacidad antioxidante ABTS hidrofílica y lipofílica

En primer lugar se procedió a obtener los extractos hidrofílicos y lipofílicos a partir de las semillas de sacha inchi, para ello se procedió a realizar extracciones sucesivas las que se describen a continuación. Se mezcló 1 g de semilla de sacha inchi finamente molida con 15 mL de metanol al 80%, al conjunto se le dejó en reposo por 20 horas, bajo oscuridad a 4 °C. Luego se centrifugó 4,000 rpm por 10 min y el sobrenadante obtenido fue recolectado y almacenado en oscuridad a -20°C hasta su posterior análisis; este extracto es considerado como el extracto hidrofílico. Para la obtención del extracto lipofílico, el pellet residual fue mezclado con 10 mL de diclorometano, la mezcla se agitó vigorosamente por 20 min a temperatura ambiente para luego ser filtrado. El líquido resultante fue almacenado en oscuridad a -20°C hasta su posterior análisis.

La capacidad antioxidante se determinó según el método del ABTS descrito por Arnao (2000). Para la cuantificación de la capacidad antioxidante se hizo reaccionar 150 μ L de muestra (extracto hidrofílico o lipofílico) con 2,850 μ L de la solución diluida de ABTS⁺ (preparada según la recomendación de Arnao, 2000). Un blanco fue preparado con 150 μ L de etanol o diclorometano (según el tipo de capacidad antioxidante a medir) para obtener un factor de corrección. La mezcla se agitó y se dejó reaccionar por un tiempo determinado hasta cuando la lectura de la absorbancia fuera constante. Al concluir este tiempo, se procedió a la lectura en el espectrofotómetro a 734 nm tanto de la muestra (extracto hidrofílico y lipofílico) como del blanco. La capacidad antioxidante ABTS hidrofílica y lipofílica fueron estimadas a partir de las absorbancias del blanco y de las

muestras que fueron reemplazadas en curvas estándar considerando al Trolox como equivalente químico (Anexo A 6) Los resultados se expresaron como μmol de Trolox equivalente (TE) por gramo (g) de semilla.

b. Método de la capacidad antioxidante FRAP

Para la medida de la capacidad antioxidante FRAP se trabajó con el extracto hidrofílico obtenido de la etapa anterior. El método empleado fue el descrito por Benzie y Strain (1996). Se tomó una alícuota de 150 μL del extracto metanólico al 80% y se mezcló con 2,850 mL del reactivo FRAP (reactivo preparado según Benzie y Strain, 1996). La mezcla fue incubada a temperatura ambiente por dos horas y media bajo agitación constante, para luego determinar su absorbancia a 593 nm. Un blanco fue preparado bajo las mismas condiciones reemplazándose la muestra por metanol. Las lecturas de absorbancia a 593 nm de la muestra y el blanco, fueron reemplazadas en una curva estándar elaborada con Trolox como equivalente químico (Anexo A 7). Los resultados fueron expresados como μmol Trolox equivalente (TE)/g de semilla.

c. Método de la capacidad antioxidante ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) hidrofílica y lipofílica

Se utilizó el método recomendado por Arnao *et al.* (2000) con algunas modificaciones. Un gramo de semilla de sachá inchi fue puesta en contacto con 15 mL de metanol al 80% (para la fracción hidrofílica) y mezclada, el sobrenadante fue recuperado y la torta residual fue re-extraída con 10 mL de diclorometano (para la fracción lipofílica). Ambas fracciones fueron centrifugadas a 4,000 rpm durante 10 min a 4 °C; y los sobrenadantes fueron luego almacenadas a -20°C hasta el momento del análisis respectivo. Posteriormente la fracción lipofílica se secó con nitrógeno y se redisolvió en acetona que contenía 7 % de RMDC (β -ciclodextrina metilada al azar). 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 se utilizaron los procedimientos descritos por Ou *et al.* (2001) y Huang *et al.* (2002) con ligeras adaptaciones. 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 μM para la construcción de una curva estándar (Anexo A 8).

Para el ensayo ORAC se procedió a reaccionar 25 μL del blanco (buffer fosfato para el ensayo de CAH-ORAC o la solución al 7 % RMCD para el ensayo de CAL-ORAC) o el estándar de TROLOX o las muestras diluidas con 250 μL de fluoresceína (55 nM) e incubadas por 10 min a 37 °C hasta la inyección automática de 25 μL 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 μmol de trolox equivalente (TE)/g de semilla.

3.5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

A continuación se describen a las diferentes etapas seguidas en la presente investigación que comprendió desde la recepción de las muestras de estudio hasta la realización de los análisis respectivos. Cada etapa es descrita a continuación:

- **Recepción y selección:** Las muestras fueron recibidas del INIA, bajo codificación, contando con la procedencia de cada cultivar. Las cantidades de cada cultivar estuvieron comprendidas entre 500 y 1,000 g. Las muestras fueron pasadas por un proceso de selección para evitar la presencia de semillas en mal estado. A las muestras seleccionadas se les procedió a determinar las características físicas de peso, diámetro y grosor, así como la humedad (según se indica en el acápite 4.2). Los cultivos fueron conservados a -20 °C en bolsas de polipropileno debidamente codificadas y selladas hasta el momento de la ejecución de los análisis de caracterización química.

- **Descascarado:** Previo a los procesos de caracterización física y química, se procedió a acondicionar la muestra para ello se abrió cada semilla con la ayuda de un martillo pequeño y luego se siguió de un descascarado manual. Esta operación se hizo en condiciones de oscuridad.
- **Molienda:** Las almendras, ya sin cáscara, fueron molidas lo más finamente posible (menos de 2 mm) con la ayuda de un mortero bajo condiciones de oscuridad.
- **Acondicionamiento y caracterización química de las muestras:** En esta etapa se procedió a acondicionar las muestras para que sean sujetas a los análisis de caracterización química. Así para la evaluación de ácidos grasos y tocoferoles, se hizo una previa extracción del aceite mediante el método de Soxhlet utilizando como solvente al éter de petróleo, por un periodo de 6 horas. Posterior a la extracción se determinó el contenido de aceite por muestra. Para la evaluación de los compuestos fenólicos, β -caroteno, fitoesteroles, capacidad antioxidante hidrofílica por los métodos de ABTS, FRAP y ORAC y capacidad antioxidante lipofílica por los métodos de ABTS Y ORAC, se usaron diferentes técnicas de extracción las cuales han sido descritas en los acápites anteriores.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis fueron realizados por triplicado determinándose de ellos el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variabilidad. Los promedios de los resultados finales fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANVA) a un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$) para determinar la existencia de diferencias significativas entre las 16 unidades experimentales evaluadas. Si el ANVA resultó significativo se aplicó la prueba de diferencias de medias de Tukey. Para establecer la relación entre la capacidad antioxidante hidro y lipofílica y los compuestos posiblemente responsables de dicha capacidad en las semillas de sachá inchi, se utilizó la correlación de Pearson a un nivel de significancia de 0.01. Para la evaluación estadística se utilizó el programa estadístico Statistical Package for the Social Scienses (SPSS) versión 19 en entorno MS-Windows 7.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA

Las características de peso, diámetro ecuatorial y polar y espesor para las semillas y almendras de los 16 cultivares de semilla de sachá inchi fueron determinadas y los resultados se presentan en el Cuadro 3.

CUADRO 3: Características físicas de los 16 cultivares de semillas de sachá inchi

Cultivar	Semilla*				Almendra*			
	Peso (g)	Diámetro Ecuatorial (mm)	Diámetro Polar (mm)	Espesor (mm)	Peso(g)	Diámetro Ecuatorial (mm)	Diámetro Polar(mm)	Espesor (mm)
PER000394	0.79	17.1	14.0	8.1	0.52	13.0	10.9	6.8
PER000395	0.82	16.9	14.6	8.0	0.54	13.3	11.0	7.0
PER000401	0.72	16.0	13.8	7.8	0.46	12.7	10.8	6.8
PER000403	0.79	16.7	14.6	7.7	0.50	13.2	11.2	6.7
PER000405	0.67	15.9	13.9	7.3	0.44	12.5	10.8	6.5
PER000406-A	0.75	17.1	13.9	7.5	0.49	13.8	11.0	6.6
PER000406-B	0.65	15.7	13.2	7.3	0.42	12.6	10.7	6.2
PER000408-B	0.74	17.1	14.0	7.7	0.46	13.1	10.6	6.7
PER000416	0.68	15.7	13.8	7.6	0.44	12.4	10.8	6.6
PER000417	0.70	16.4	14.0	7.4	0.45	12.8	10.8	6.3
PER000418	0.76	16.7	14.3	7.6	0.49	13.3	11.1	6.6
PER000420	0.71	16.8	14.1	7.4	0.45	13.2	10.6	6.3
PER000421	0.78	17.5	15.0	7.5	0.49	13.8	10.8	6.5
PER000422	0.72	16.1	14.5	7.7	0.48	12.9	11.1	6.7
PER017597	0.75	16.1	14.5	7.6	0.48	12.8	10.9	6.6
PER017598	0.79	16.5	14.4	7.8	0.54	13.7	11.4	6.9

*Todos los valores son el promedio de una muestra representativa de cada cultivar de semillas de sachá inchi

Del Cuadro 3, se observa que el peso de las semillas fue variable entre los cultivares, el más bajo lo tuvieron las semillas del cultivar PER000406-B (0.65 g) y el más alto el

cultivar PER000395 (0.82 g). El peso promedio de los 16 cultivares ascendió a 0.74 g, el cual fue más bajo que el reportado por Pascual y Mejía (2000) que fue de 1.20 g. De otro lado los diámetros ecuatorial y polar presentaron un valor promedio de 16.5 y 14.1 mm, respectivamente; siendo el primero de ellos inferior al encontrado por Pascual y Mejía (2000) que fue 18 mm. El espesor de las semillas en promedio alcanzó el valor de 7.61 mm, a diferencia del hallado por Pascual y Mejía (2000) que fue de 10 mm. Al respecto Pantástico (1984), citado por Pascual y Mejía (2000) señala que el tamaño de la semilla de los frutos es muy variable y es característico de cada variedad, clima, suelo, cultivo entre otros. Con respecto al color y forma, las semillas tuvieron un color marrón oscuro, de forma ovalada, ligeramente abultada en el centro y aplastada hacia el borde, lo cual coincide con lo mencionado por Valles (1995), además de presentar líneas a manera de nervaduras a nivel de la superficie.

Los pesos de las almendras para los 16 cultivares estuvieron comprendido en un rango en 0.42 (PER000406-B) y 0.54 g (PER000395) con un peso promedio de 0.48 g, valor notoriamente más bajo que el de las semillas estudiadas por Pascual y Mejía (2000) con 0.77 g. Los diámetros ecuatorial, polar y espesor promedio fueron de 13.0, 10.9 y 6.6 mm, respectivamente; al respecto Pascual y Mejía (2000) encontraron valores de 14.9 y 7.97 mm para el diámetro ecuatorial y espesor de las almendras, respectivamente. El color de las almendras para todos los cultivares fue un crema pálido.

Otro aspecto importante en la caracterización física fue la determinación porcentual de la cáscara y almendra en la semilla de sachá inchi (Cuadro 4), éstos valores representaron en promedio un 35.9 y 64.1 %, respectivamente. El cultivar PER000401 difirió de los demás por su mayor porcentaje de cáscara (42.8 %) y menor porcentaje de contenido de almendra (57.2 %). Bada *et al.* (2004) determinaron un 52.3% de cáscara para la semilla de avellana, valor superior al promedio encontrado para las semillas de sachá inchi.

CUADRO 4: Porcentaje de cáscara y almendra en las semillas de 16 cultivares de sachá inchi.

Cultivar	Porcentaje (%)	
	Cáscara	Almendra
PER000394	34.68	65.32
PER000395-A	33.84	66.16
PER000401	42.81	57.19
PER000403	35.28	64.72
PER000405	35.75	64.25
PER000406-A	35.95	64.05
PER000406-B	36.85	63.15
PER000408-B	34.22	65.78
PER000416	33.82	66.18
PER000417	36.10	63.90
PER000418	33.87	66.13
PER000420	34.38	65.62
PER000421	37.47	62.53
PER000422	35.97	64.03
PER000597	36.69	63.31
PER000598	36.52	63.48

4.2. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

La humedad de las semillas de sachá inchi se determinó mediante el uso de una estufa al vacío (AOAC, 1995). Según Sierra y Morante (2007) esta técnica es recomendada para el caso de alimentos con sustancias volátiles presentes o con compuestos que se descomponen con el calor.

La humedad estuvo comprendida en 3.90% (PER000406-B) y 4.62% (PER000418), llegando a un valor promedio de 4.33 %, valor muy similar al encontrado por Follegatti-Romero *et al.* (2009) con 4.30%; pero resultó ser más bajo que los determinados por Pascual y Mejía (2000) y Merino *et al.* (2008) con 6.37 y 6.42%, respectivamente. Gutiérrez *et al.* (2011) encontraron un valor medio de 3.3% de humedad para 9 cultivares de sachá inchi. Se encontraron diferencias significativas entre las muestras ($p < 0.05$), como se muestra en el Cuadro 5.

CUADRO 5: Contenido de humedad en 16 cultivares de semillas de sachá inchi

Cultivar	Humedad (%)
PER000394	4.12± 0.2 ^{abc}
PER000395A	3.94± 0.2 ^{ab}
PER000401	4.27± 0.1 ^{abc}
PER000403	4.42± 0.3 ^{abc}
PER000405	4.24± 0.1 ^{abc}
PER000406A	4.45± 0.1 ^{abc}
PER000406B	3.90± 0.1 ^a
PER000408B	4.25± 0.1 ^{abc}
PER000416	4.31± 0.2 ^{abc}
PER000417	4.40± 0.3 ^{abc}
PER000418	4.62± 0.2 ^c
PER000420	4.24± 0.3 ^{abc}
PER000421	4.56± 0.3 ^{bc}
PER000422	4.53± 0.3 ^{bc}
PER017597	4.52± 0.1 ^{abc}
PER017598	4.57± 0.1 ^{bc}

*Los valores presentados son el promedio ± desviación estándar (n=3), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas, (p< 0,05).

4.3. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

En el Cuadro 6, se muestra el promedio de los resultados obtenidos del contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) por 100 g de semilla para cada cultivar de sachá inchi y en el Anexo B 2 se presentan los resultados estadísticos.

El cultivar que tuvo el mayor contenido de CFT fue el PER000422 con 80 mg AGE/100g de semilla, mientras que el contenido más bajo fue de 64.6 mg AGE/100g de semilla para el cultivar PER000406B, llegando a un contenido promedio de 69.9 mg AGE/100g entre los 16 cultivares. Al realizar los análisis estadísticos (Anexo B 2) diferencias significativas entre los cultivares ($p < 0.05$) fueron encontradas.

CUADRO 6: Contenido de compuestos fenólicos en 16 cultivares de semillas de sachá inchi

Cultivar	Compuestos fenólicos totales (mgAGE/100 g semilla)
PER000394	66.7 ± 0.7 ^{gh}
PER000395A	68.4 ± 0.2 ^{fg}
PER000401	73.8 ± 0.6 ^{bcd}
PER000403	72.2 ± 1.6 ^{cd}
PER000405	66.9 ± 0.2 ^{gh}
PER000406A	65.9 ± 0.3 ^{gh}
PER000406B	64.6 ± 0.5 ^h
PER000408B	66.9 ± 0.5 ^{fgh}
PER000416	67.0 ± 0.0 ^{fgh}
PER000417	69.6 ± 0.1 ^{ef}
PER000418	67.5 ± 1.0 ^{fg}
PER000420	68.1 ± 0.2 ^{fg}
PER000421	75.2 ± 2.3 ^b
PER000422	80.0 ± 1.8 ^a
PER017597	74.6 ± 4.4 ^{bc}
PER017598	71.3 ± 0.7 ^{de}

*Los valores presentados son el promedio ± desviación estándar (n=3), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas, (p< 0,05).

En el aceite de sachá inchi se han analizado a los CFT (Muñoz *et al.*, 2010; Arana y Paredes, 2008) más no en sus almendras. Diversos estudios han evaluado las cantidades de CFT en semillas oleaginosas; como el realizado por Yang *et al.* (2009) quienes encontraron en almendras, nueces de Brasil, castaña, avellanas, nueces de macadamia, maní, pecanas, piñones, pistachos y nueces contenidos de CFT de 212.9, 169.2, 316.4, 314.8, 497.8, 645.9, 1,463.9, 152.9, 571.8 y 1,580.5 mg AGE/100 g de producto respectivamente; también se tiene el trabajo de Wu *et al.* (2004) quienes al evaluar almendras, nueces de Brasil, castañas, avellanas, macadamias, maní, pecanas, pistachos y nueces, encontraron valores en el rango entre 156 y 2,016 mg AGE/100g bs, rango mayor al compararlo con el valor promedio obtenido en este estudio (74.4 mg AGE/100 g bs). Mientras que en linaza de origen egipcio y finlandés se han determinado valores entre 80 y 290.2 mg AGE/100 g (bs)

(Kähkönen *et al.*, 1999 y El-Beltagi *et al.*, 2007, respectivamente). En función a los datos presentados se observa que las almendras de sachá inchi presentan contenidos menores de CFT en comparación a productos oleaginosos similares.

4.4. DETERMINACIÓN DE TOCOFEROLES

Los contenidos de α , β , γ y δ -tocoferol por 100 g de semilla fueron determinados para los 16 cultivares de sachá inchi, los resultados se presentan en el Cuadro 7 y en el Anexo B 3 diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) se presentaron en el contenido de los diferentes tocoferoles, así como, en el total de tocoferoles entre los 16 cultivares de sachá inchi. Bondioli *et al.* (2006) en un estudio realizado en aceite de sachá inchi encontró los mismos tocoferoles. Concentraciones de α , γ y δ -tocoferol han sido reportados en el mismo aceite por Fanali *et al.* (2011), mientras que Follegatti-Romero *et al.* (2009) y Arana y Paredes (2008) sólo encontraron γ y δ -tocoferol y Hamaker *et al.* (1992) reportó sólo la presencia de α -tocoferol. Esta variación a nivel de la presencia de los diversos tipos de tocoferoles en el sachá inchi estaría influenciada por la procedencia de la semilla (entorno medio ambiental donde se desarrollan) así como a los diferentes procedimientos de cuantificación empleados.

De los cuatro tocoferoles hallados: α , β , γ y δ , los 2 últimos se encontraron en mayor cantidad para todos los cultivares de sachá inchi; así el γ -tocoferol estuvo presente en un contenido promedio de 64.5 mg/100g y el δ -tocoferol en 37.5 mg/100g. Cantidades promedio de 1.19 y 0.82 mg/100g fueron encontradas para el α y β -tocoferol, respectivamente. El γ -tocoferol representó más del 50% del total de tocoferoles de las semillas, lo que coincide con lo reportado por Fanali *et al.* (2011) para el aceite de sachá inchi. Además este autor menciona que el γ y δ -tocoferol son los tocoferoles de mayor presencia en aceites altamente insaturados como en el caso del aceite de soya y girasol. Adicionalmente, Follegatti-Romero *et al.* (2009) y Fanali *et al.* (2011), mencionan que la actividad antioxidante *in vitro* tomando en cuenta al tipo de tocoferol decrece en el siguiente orden $\gamma > \delta > \beta > \alpha$, ello indicaría que la capacidad antioxidante lipofílica en el sachá inchi se explicaría en gran medida por la presencia de los tocoferoles γ y δ y, que los mismos podrían contribuir a la estabilidad oxidativa del producto.

CUADRO 7: Contenido de tocoferoles (mg/100g semilla) en 16 cultivares de semillas de sachá inchi

Cultivar	α - Tocoferol	β - Tocoferol	γ - Tocoferol	δ - Tocoferol	Total Tocoferol
PER000394	1.17 \pm 0.02 ^{d^{efgh}}	0.81 \pm 0.06 ^{efg}	65.1 \pm 1.6 ^{d^e}	34.2 \pm 0.8 ^f	100.2 \pm 2.3 ^{d^e}
PER000395A	1.17 \pm 0.06 ^{d^{efgh}}	0.77 \pm 0.02 ^{fg}	65.4 \pm 1.3 ^{d^e}	38.2 \pm 0.7 ^g	104.5 \pm 2.0 ^d
PER000401	1.17 \pm 0.03 ^{d^{efgh}}	0.77 \pm 0.02 ^{fg}	60.6 \pm 3.2 ^{ef}	39.0 \pm 1.9 ^{d^e}	100.4 \pm 5.1 ^{d^e}
PER000403	1.19 \pm 0.03 ^{b^{cdefgh}}	0.91 \pm 0.04 ^{bc}	66.6 \pm 3.2 ^{cd}	41.0 \pm 2.1 ^{c^{d^e}}	108.6 \pm 5.3 ^{cd}
PER000405	1.26 \pm 0.03 ^{ab}	0.82 \pm 0.02 ^{d^e}	68.5 \pm 1.8 ^c	32.7 \pm 0.8 ^{fg}	102.1 \pm 2.6 ^{d^e}
PER000406A	1.27 \pm 0.02 ^a	0.77 \pm 0.02 ^{fg}	64.3 \pm 3.1 ^{d^e}	29.2 \pm 1.4 ^h	94.3 \pm 4.5 ^f
PER000406B	1.20 \pm 0.03 ^{abc^{def}}	0.75 \pm 0.03 ^g	60.8 \pm 3.2 ^{d^{ef}}	38.1 \pm 1.8 ^g	99.8 \pm 5.1 ^{d^e}
PER000408B	1.19 \pm 0.02 ^{b^{cdefg}}	0.67 \pm 0.02 ^h	56.8 \pm 1.8 ^g	30.2 \pm 1.1 ^h	87.8 \pm 3.0 ^f
PER000416	1.25 \pm 0.07 ^{abc}	0.78 \pm 0.01 ^{fg}	60.5 \pm 1.7 ^{ef}	33.4 \pm 1.0 ^{fg}	94.8 \pm 2.8 ^{ef}
PER000417	1.13 \pm 0.02 ^{gh}	0.79 \pm 0.02 ^{efg}	49.0 \pm 4.8 ^g	28.7 \pm 2.7 ^h	78.6 \pm 7.5 ^g
PER000418	1.16 \pm 0.02 ^{efgh}	0.79 \pm 0.01 ^{fg}	57.8 \pm 2.1 ^f	29.2 \pm 1.9 ^g	87.8 \pm 4.1 ^f
PER000420	1.20 \pm 0.03 ^{abc^{def}}	0.92 \pm 0.03 ^{ab}	81.4 \pm 2.1 ^a	54.6 \pm 1.3 ^a	137.0 \pm 3.5 ^a
PER000421	1.22 \pm 0.06 ^{abc^{d^e}}	0.87 \pm 0.02 ^d	69.6 \pm 1.2 ^{b^c}	47.6 \pm 2.2 ^b	118.1 \pm 3.5 ^b
PER000422	1.14 \pm 0.01 ^{fgh}	0.86 \pm 0.05 ^d	61.0 \pm 4.0 ^{d^{ef}}	44.3 \pm 2.4 ^c	106.3 \pm 6.5 ^{cd}
PER017597	1.24 \pm 0.06 ^{abcd}	0.82 \pm 0.03 ^{d^{ef}}	74.8 \pm 7.2 ^b	37.8 \pm 4.2 ^d	113.5 \pm 11.4 ^{b^c}
PER017598	1.13 \pm 0.01 ^h	0.95 \pm 0.01 ⁱ	70.1 \pm 0.9 ^{b^c}	42.2 \pm 0.4 ^{cd}	113.3 \pm 1.4 ^{b^c}

*Los valores presentados son el promedio \pm desviación estándar (n=3), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas, (p< 0,05).

Del Cuadro 7, también se observa que el cultivar PER000420 alcanzó el más alto valor de tocoferoles totales con 137 mg/100g de semilla y el de menor contenido fue para el cultivar PER000417 con un contenido de 78.6 mg/100g de semilla; llegándose a un valor promedio de tocoferoles totales para los 16 cultivares de sachá inchi de 102.9 mg/100g de semilla. Este último valor, contrasta con lo hallado por Sotero *et al.* (2009) en una investigación realizada con semillas seleccionadas de sachá inchi, donde se obtuvo una concentración promedio de 41.23 mg/100g. El contenido de tocoferoles totales promedio de la semilla de sachá inchi es más alto comparado con el contenido de otras semillas, como figura en el estudio realizado por Da Costa *et al.* (2010) donde encontraron en nueces de Brasil tan sólo un promedio de 15.28 mg/100g (152.8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$); mientras que Amaral *et al.* (2005b) reportaron valores promedio de 15.87 mg/100g (158.72 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en 6 cultivares de avellanas. Además El-Beltagi *et al.* (2007), Oomah *et al.* (1997) y Budin *et al.* (1995) han encontrado valores de 7.9, 9.3 y 12.74 mg/100g en semillas de linaza,

respectivamente. Las diferencias encontradas en el nivel de tocoferoles entre las semillas de sachá inchi y entre éstas y otras semillas de otro origen podría deberse a que la presencia y cantidad de ellos se ve afectada por la especie, estado de madurez o edad de la planta, condiciones en su crecimiento (el clima, estación, intensidad de la radiación solar y suelo), tiempo y forma de cosecha (Chun *et al.*, 2006). Amaral *et al.* (2006) añaden a lo mencionado anteriormente, que las variaciones podrían ser causadas además por el tiempo y condiciones de almacenamiento de las muestras, procedimientos del proceso, las diferentes metodologías usadas para la identificación y separación de los compuestos.

Haciendo una evaluación respecto al contenido individual de cada tocoferol se tiene que el cultivar con mayor cantidad de α -tocoferol fue el PER000406-A con 1.27mg/100 g y el más bajo se encontró en los cultivares PER000417 y PER017598 con 1.13 mg/100 g semilla. El rango de valores citados se encuentra dentro de los valores encontrados en la nuez para tres años de cosecha (1.36, 1.16 y 1.05 mg /100 g ; Amaral *et al.*, 2005b), es mayor al encontrado en semillas de linaza por Oomah *et al.* (1997) y Budin *et al.* (1995) de 0.06 y 0.88 mg /100 g respectivamente; sin embargo es inferior a las presentadas en avellana 14.97 mg /100 g (149.66 $\mu\text{g/g}$), almendra 15.18 mg/100g (151.8 $\mu\text{g/g}$) y nuez de Brasil de 7.26 mg /100 g (72.55 $\mu\text{g/g}$) (Amaral *et al.* 2005a; Savage, 2000 citado por Nuñez, 2007 y Da Costa *et al.*, 2010). Al respecto, hoy en día existe gran interés por investigar el contenido de tocoferoles y tocotrienoles (vitamina E) en los alimentos, pues hasta hace poco, se consideraba al α -tocoferol como el tocol más importante por su potencial biológico, sin embargo hallazgos recientes señalan que los demás tocoles contribuyen también al total de bioactividad de esta vitamina además, de ser importantes por el rol que podrían cumplir frente al desarrollo de distintas enfermedades (Theriault *et al.*, 1999).

El β -tocoferol, fluctuó en valores entre 0.95 mg/100 g (PER017598) y 0.67 mg/100 g (PER000408-B); estos valores fueron mayores que los hallados en semillas de avellana con 0.63 mg/100 g (6.25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), en nueces con 0.12, 0.09 y 0.10 mg /100g para tres años consecutivos de cosecha, almendras con 0.31 mg/100 g (3.1 mg/kg), no encontrándose este tipo de tocoferol en nueces de Brasil (Amaral *et al.*, 2005a, Amaral *et al.*, 2005b; Savage, 2000, citado por Nuñez, 2007 y Da Costa *et al.*, 2010), ni en semillas de linaza (Oomah *et al.*, 1997 y Budin *et al.*, 1995)

Con respecto al γ -tocoferol, el cultivar con mayor contenido fue el PER000420 donde se halló 81.4 mg/100 g y el menor fue para el cultivar PER000417 con 49.0 mg/100 g y tal como ya se indicó anteriormente éste fue el principal tocoferol encontrado en todos los cultivares de sachá inchi. Al respecto Wagner *et al.* (2004) mencionan que dicho tocoferol es la forma más prevalente de vitamina E en semillas de plantas, especialmente en las semillas tipo nuez. El rango de valores citados resultó bastante mayor con la encontrada en la avellana: 0.22 mg/100g (2.19 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), según lo reportado por Amaral *et al.* (2005a). También fue mayor que el contenido determinado en 6 cultivares de nueces cosechadas en tres años consecutivos con 24.55, 22.79 y 20.60 mg de γ -tocoferol/100 g (245.49; 227.86; 205.96 mg/kg) (Amaral *et al.*, 2005b); igualmente que en el estudio realizado por Savage (2000), citado por Nuñez (2007) en almendras, donde reportó 6.03 mg/100g (60.3 mg/kg), en el contenido de nueces de Brasil con 7.44mg/100g (74.35 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Da Costa *et al.*, 2010) y en el de semillas de linaza con 9.0-9.4 mg/100g semilla (Oomah *et al.*, 1997 y Budin *et al.*, 1995).

Finalmente, el rango de valores encontrados del δ -tocoferol se situó entre 54.6 mg/100g (cultivar PER000420) y 28.7 mg/100g (cultivar PER000417). Al igual que en casos anteriores el rango encontrado en las semillas de sachá inchi fueron mucho mayores a los determinadas en semillas como la avellana 0.06 mg/100g (0.62 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Amaral *et al.*; 2005a), en las nueces de Brasil con 0.59mg/100g (5.9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Da Costa *et al.*, 2010) y en semillas de linaza con 0.2 mg/100g (Oomah *et al.*, 1997 y Budin *et al.*, 1995); mientras que en almendras no se encontró presente este tipo de tocoferol (Savage, 2000, citado por Nuñez, 2007).

En función a los resultados encontrados, se tiene que las semillas de sachá inchi son una fuente importante de tocoferoles y que podrían aportar a éstos compuestos de ser consideradas dentro de la dieta humana.

4.5. DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

Los resultados de la composición de ácidos grasos, ácidos grasos saturados (AGS), ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y ácidos grasos poli-insaturados (AGPI) de los 16 cultivares en estudio expresados en g por 100 g de semilla se muestran en el Cuadro 8. La

evaluación estadística (Anexo B 4) indicó diferencias significativas entre los diferentes cultivares ($p < 0.05$) para las diferentes determinaciones de ácido grasos evaluadas.

De acuerdo a los resultados, aproximadamente el 92% del total de ácidos grasos está representado por los ácidos grasos insaturados, cantidad muy cercana (93%) a la encontrada (93%) por Fanali *et al.* (2011) en el aceite obtenido a partir de las semillas de sachu inchi. El bajo contenido de AGS y el considerable alto contenido encontrado de AGPI (aproximadamente 79%) indicaría que las semillas de sachu inchi son propensas a la oxidación una vez procesadas. Para los 16 cultivares los ácidos grasos más abundantes en orden descendiente fueron el ácido α -linolénico, el ácido linoleico y el ácido oleico (promedio de 14.6, 13.3 y 4.1 g/100g semilla, respectivamente) y entre los menos importantes en cantidad se encontró al ácido palmítico, esteárico y vaccénico (promedio de 1.9, 1.2 y 0.3 g/100g semilla, respectivamente). Al respecto Fanali *et al.* (2011) mencionan que los aceites de plantas comestibles contienen diferentes porcentajes de los cinco primeros ácidos grasos mencionados anteriormente y que para el caso del sachu inchi ellos representaron aproximadamente el 99.6% del total de ácidos grasos encontrados en las semillas.

Los AGPI alcanzaron en promedio el 79% del total de ácidos grasos, en las semillas de sachu inchi, estando conformados por el ácido linoleico (omega-6) y el α -linolénico (omega-3), esta característica ubica a la semilla del sachu inchi como una fuente de gran interés para la formulación de dietas balanceadas y representa una buena alternativa ante los alimentos basados en pescado y suplementos que hasta hoy han representado la principal fuente de omega-3 (Fanali *et al.*, 2011). En los últimos años se ha visto incrementado dramáticamente el interés por los AGPI como nutrientes promotores de la salud así como la amplia gama de literatura que ilustra sus beneficios asociados a la mejora de enfermedades cardiovasculares, condiciones inflamatorias, enfermedades del corazón, aterosclerosis, desórdenes autoinmunes, diabetes y otras enfermedades (Ramadan *et al.*, 2006).

El alto grado de insaturación de los ácidos grasos haría suponer que las semillas se oxiden con mayor facilidad sobre todo si son expuestas a altas temperaturas (ejm. tostado) y/o que presentan una pobre vida de anaquel (Bada *et al.*, 2004). Se ha encontrado que el

ácido linoleico se oxida 50 veces más rápido que el ácido oleico (Brinkamnn, 2000). Sin embargo en estudios anteriores mostraron que el sachá inchi parece ser estable, especulando que podría deberse a la presencia de otros compuestos que actuarían protegiéndolo frente a la oxidación (Follegatti- Romero *et al.*, 2009), entre los cuales podrían estar los tocoferoles.

Evaluando la participación individual de cada uno de los ácidos grasos, se tiene que el α -linolénico representó en promedio más del 40% de los ácidos grasos totales (AGT), lo que indica que este aceite es una fuente importante de omega-3 y podría ser considerado como materia prima potencial de diversos productos dentro de la industria de alimentos y nutraceuticos. El promedio obtenido del α -linolénico fue 14.7 g/100g semilla donde el mayor valor fue obtenido por el cultivar PER00401 con 16 g/100g y el menor por el cultivar PER000401 con 12.8 g/100 g. Mientras que Gutiérrez *et al.* (2011) determinaron en semillas procedentes de Colombia un contenido de 21.33g/100 g semilla. Valores similares se determinaron en las semillas de linaza, en un rango de 16.0 y 26.9 g/100 g (Ciftci *et al.*, 2012, Ostojich y Sangronis, 2012, Popa *et al.*, 2012, y El-Beltagi *et al.* 2007), también en las semillas de chia (20.9 g/100 g de semilla, Ciftci *et al.*, 2012).

De otro lado, el ácido linoleico representó aproximadamente el 38% de los AGT, con un promedio de 13.3 g/100 g semilla; el mayor contenido fue encontrado en los cultivares PER000403 y PER000597 con 14.1 g/100 g semilla y en el cultivar PER000420 fue donde se halló en un 12.4 g/100 g semilla, dichos valores fueron cercanos al encontrado por Gutiérrez *et al.* (2011) con 14 g/100 g semilla de sachá inchi y mayores a los encontrado en semillas de linaza cuyo contenido varía entre 5.2 y 7.2 g/100 g semilla (Ciftci *et al.*, 2012, Ostojich y Sangronis, 2012, Popa *et al.*, 2012, y El-Beltagi *et al.* 2007), y de chia (7.1 g/100 g semilla, Ciftci *et al.*, 2012). El α -linolénico y el linoleico son importantes ya que se les atribuye efectos nutricionales favorables y beneficios fisiológicos como el efecto positivo sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteinemia (Bays *et al.*, 2008 y Garmendia *et al.*, 2011) al igual que en la prevención de enfermedades coronarias y cáncer (Oomah *et al.*, 2000).

La participación del ácido oleico (omega-9) en las semillas de los 16 cultivares alcanzó en promedio aproximadamente el 12% de los AGT, con una concentración

promedio de 4.1 g/100 g de semilla; siendo el cultivar PER000395A con mayor contenido de ácido oleico (4.7 g/100 g) y el de menor contenido el PER000408B con 3.5 g/100 g. Estas cantidades fueron similares a las encontradas en semillas de sachá inchi de procedencia colombiana por Gutiérrez *et al.* (2011) de 3.8g/100 g semilla y en semillas de chia (3.7 g/100 g) por Ciftci *et al.* (2012). Sin embargo valores mayores fueron encontrados en semillas de linaza (5.5 – 8.3 g/100 g) por Ciftci *et al.* (2012), Ostojich y Sangronis (2012), Popa *et al.* (2012) y El-Beltagi *et al.* (2007). Los ácidos grasos palmítico, esteárico y vaccénico representaron el 5.4, 3.4 y 0.7% de los AGT, con valores promedio de 1.85, 1.18 y 0.26 g/100 g de semilla respectivamente.

El perfil de ácidos grasos encontrado guarda estrecha relación con diversos estudios realizados sobre el perfil de ácidos grasos del aceite de sachá inchi donde se determinó el siguiente grado de participación en orden decreciente: α -linolénico > linoleico > oleico > palmítico > esteárico y la existencia de otros encontrados en niveles de trazas (Sánchez, 2012; Gutiérrez *et al.*, 2011; Fanali *et al.*, 2011; Follegatti-Romero *et al.*, 2009; Merino *et al.*, 2008; Arana y Paredes, 2008; Bondioli *et al.*, 2006; Pascual y Mejía, 2000 y Hamaker *et al.*, 1992). Sin embargo, existen variaciones cuantitativas en la participación de cada ácido grasos de un estudio al otro.

Algunos autores mencionan que el perfil en ácidos grasos puede depender a factores climáticos, características del suelo, factores genéticos y ambientales en el desarrollo de estos frutos (Cai *et al.*, 2012) al igual que de las condiciones ambientales, del cultivar, edad y madurez de la planta y de las prácticas de horticultura (Grauke *et al.*, 2001; citados por Villarreal *et al.*, 2007) y de la especie de cada cultivar (Bada *et al.*, 2004). Así se indica que al incrementar la cantidad de nitrógeno durante la fertilización, se incrementará la saturación de ácidos grasos monoinsaturados al igual que la proporción de poliinsaturados, debido a la disminución de los ácidos grasos monoinsaturados (Heaton, 1969, citado por Villarreal *et al.*, 2007).

De forma general los resultados indican que las semillas de sachá inchi son una fuente importante de ácidos grasos de omega-3 y omega-6, por lo que su consumo (tostado), sería apropiado para contribuir a las necesidades de consumo de estos nutrientes.

CUADRO 8: Contenido ácidos grasos (g/100g de semilla) en 16 cultivares de semillas de sachá inchi

Cultivar	Palmítico (C16:0)	Estearico (C18:0)	Oleico (C18:1 n-9)	Vaccénico (C18:1 n-11)	Linoleico (C18:2)	α -Linolénico (C18:3)	AGS	AGMI	AGPI	AGT
PER000394	1.7 ± 0.0 ^f	1.2 ± 0.0 ^{fg}	3.9 ± 0.0 ^h	0.24 ± 0.02 ^{cd}	13.4 ± 0.0 ^d	15.0 ± 0.1 ^{bc}	2.8 ± 0.0 ^g	4.1 ± 0.0 ^h	28.3 ± 0.1 ^b	35.2 ± 0.1 ^{fg}
PER000395A	1.8 ± 0.0 ^{cd}	1.3 ± 0.0 ^a	4.7 ± 0.0 ^a	0.25 ± 0.01 ^{bcd}	13.8 ± 0.0 ^c	15.6 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.0 ^{bc}	5.0 ± 0.0 ^a	29.3 ± 0.1 ^a	37.4 ± 0.1 ^a
PER000401	1.9 ± 0.0 ^c	1.2 ± 0.0 ^b	4.0 ± 0.1 ^h	0.26 ± 0.01 ^{bcd}	13.0 ± 0.0 ^f	16.0 ± 0.6 ^{bc}	3.1 ± 0.0 ^{bc}	4.2 ± 0.0 ^g	28.0 ± 0.5 ^c	35.4 ± 0.4 ^{ef}
PER000403	2.0 ± 0.0 ^b	1.2 ± 0.0 ^{ef}	4.1 ± 0.0 ^{gh}	0.28 ± 0.02 ^{bcd}	14.1 ± 0.1 ^a	12.8 ± 0.0 ⁱ	3.1 ± 0.0 ^{bc}	4.3 ± 0.0 ^{fg}	27.0 ± 0.1 ^{fg}	34.9 ± 0.2 ^{kl}
PER000405	1.8 ± 0.0 ^{cd}	1.1 ± 0.0 ^{fg}	4.0 ± 0.1 ^{gh}	0.28 ± 0.03 ^{bc}	13.2 ± 0.0 ^e	14.8 ± 0.1 ^{cd}	3.0 ± 0.0 ^{ef}	4.3 ± 0.0 ^{fg}	27.9 ± 0.1 ^c	35.9 ± 0.1 ^{fg}
PER000406A	2.0 ± 0.0 ^b	1.2 ± 0.0 ^{bcd}	4.4 ± 0.0 ^{bc}	0.28 ± 0.02 ^{bc}	13.9 ± 0.0 ^b	13.7 ± 0.1 ^h	3.2 ± 0.0 ^b	4.6 ± 0.0 ^{bc}	27.6 ± 0.1 ^d	35.4 ± 0.1 ^{ef}
PER000406B	1.9 ± 0.0 ^b	1.2 ± 0.0 ^{fg}	4.1 ± 0.1 ^{ef}	0.26 ± 0.01 ^{bcd}	12.8 ± 0.0 ^h	14.4 ± 0.1 ^{efg}	3.1 ± 0.1 ^{cd}	4.4 ± 0.1 ^{ef}	27.2 ± 0.1 ^{fg}	34.6 ± 0.1 ^{jk}
PER000408B	1.8 ± 0.0 ^d	1.1 ± 0.0 ^h	3.5 ± 0.1 ^j	0.26 ± 0.01 ^{bcd}	12.9 ± 0.0 ^g	15.7 ± 0.1 ^a	2.8 ± 0.1 ^g	3.8 ± 0.1 ^j	28.4 ± 0.1 ^b	35.0 ± 0.0 ^{hi}
PER000416	1.8 ± 0.0 ^{de}	1.2 ± 0.0 ^{def}	4.2 ± 0.0 ^d	0.26 ± 0.02 ^{bcd}	12.6 ± 0.1 ⁱ	14.6 ± 0.1 ^{de}	3.0 ± 0.1 ^{ef}	4.4 ± 0.1 ^{de}	27.3 ± 0.1 ^{ef}	34.8 ± 0.1 ^{ij}
PER000417	1.8 ± 0.0 ^{cd}	1.2 ± 0.0 ^{bcdde}	4.3 ± 0.0 ^c	0.24 ± 0.02 ^d	13.2 ± 0.0 ^e	14.2 ± 0.0 ^{fg}	3.1 ± 0.0 ^{de}	4.6 ± 0.0 ^{cd}	27.5 ± 0.1 ^{de}	35.1 ± 0.0 ^{gh}
PER000418	1.8 ± 0.0 ^{cde}	1.2 ± 0.0 ^{cde}	4.2 ± 0.0 ^{de}	0.25 ± 0.02 ^{bcd}	13.7 ± 0.0 ^c	14.6 ± 0.0 ^{de}	3.0 ± 0.0 ^{ef}	4.4 ± 0.0 ^{ef}	28.3 ± 0.1 ^b	35.8 ± 0.1 ^d
PER000420	1.9 ± 0.0 ^c	1.1 ± 0.0 ^g	4.2 ± 0.0 ^{de}	0.26 ± 0.02 ^{bcd}	12.4 ± 0.0 ^j	14.4 ± 0.1 ^{def}	3.0 ± 0.0 ^{ef}	4.4 ± 0.0 ^{ef}	26.9 ± 0.0 ^{gh}	34.3 ± 0.0 ^l
PER000421	2.1 ± 0.0 ^a	1.2 ± 0.0 ^{bcdde}	4.4 ± 0.0 ^b	0.29 ± 0.0 ^a	14.0 ± 0.0 ^a	15.0 ± 0.1 ^{bc}	3.2 ± 0.1 ^a	4.7 ± 0.1 ^b	29.1 ± 0.1 ^a	37.1 ± 0.0 ^b
PER000422	1.6 ± 0.0 ^g	1.1 ± 0.0 ^h	3.8 ± 0.0 ⁱ	0.23 ± 0.02 ^d	12.6 ± 0.0 ⁱ	14.2 ± 0.0 ^g	2.6 ± 0.0 ^h	4.0 ± 0.0 ⁱ	26.8 ± 0.1 ^h	33.4 ± 0.0 ^m
PER017597	1.8 ± 0.0 ^c	1.2 ± 0.0 ^{bc}	4.2 ± 0.0 ^{de}	0.28 ± 0.02 ^{bc}	14.1 ± 0.0 ^a	15.2 ± 0.0 ^b	3.1 ± 0.0 ^{bc}	4.4 ± 0.0 ^{ef}	29.2 ± 0.1 ^a	36.8 ± 0.1 ^c
PER017598	1.9 ± 0.0 ^c	1.3 ± 0.0 ^a	3.8 ± 0.1 ⁱ	0.26 ± 0.03 ^{bcd}	13.4 ± 0.0 ^d	15.0 ± 0.1 ^b	3.2 ± 0.0 ^{bc}	4.0 ± 0.0 ^{hi}	28.4 ± 0.1 ^b	35.6 ± 0.1 ^{de}

*Los valores presentados son el promedio ± desviación estándar (n=3), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas, (p<0,05).

AGS: ácidos grasos saturados, AGMI: ácidos grasos monoinsaturados, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados, AGT: ácidos grasos total.

4.6. DETERMINACIÓN DE CAROTENOIDES TOTALES

En el Cuadro 9, se presentan los contenidos de β -caroteno de los 16 cultivares de semillas de sachá inchi. Se obtuvo una cantidad no mayor de 0.091 mg/100g semilla y una mínima cantidad de 0.063 mg/100g, perteneciente a los cultivares PER000403 y PER000420, respectivamente. En tanto que el promedio obtenido de β -caroteno fue de 0.077 mg/100 g de semilla. A pesar que este compuesto se obtuvo sólo en cantidades trazas, se halló diferencias significativas entre los cultivares (Anexo B 5). Rodríguez-Bernaldo y Costa (2006) indican que el contenido de carotenoides en frutos y vegetales depende de diferentes factores como variedad genética, estado de madurez, almacenamiento post cosecha.

CUADRO 9: Contenido de β -caroteno (mg/100g semilla) en 16 cultivares de sachá inchi

Cultivar	β -caroteno
PER000394	0.079 \pm 0.00 ^{e,f,g}
PER000395A	0.079 \pm 0.00 ^{f,g,h}
PER000401	0.087 \pm 0.00 ^{g,h}
PER000403	0.091 \pm 0.00 ^h
PER000405	0.080 \pm 0.00 ^{f,g,h}
PER000406A	0.078 \pm 0.00 ^{e,f,g}
PER000406B	0.081 \pm 0.01 ^{e,f,g}
PER000408B	0.082 \pm 0.00 ^{f,g,h}
PER000416	0.065 \pm 0.00 ^{a,b}
PER000417	0.076 \pm 0.00 ^{d,e,f}
PER000418	0.077 \pm 0.00 ^{e,f,g}
PER000420	0.063 \pm 0.00 ^a
PER000421	0.073 \pm 0.00 ^{b,c,d}
PER000422	0.074 \pm 0.00 ^{c,d,e}
PER017597	0.067 \pm 0.00 ^{a,b,c}
PER017598	0.076 \pm 0.00 ^{d,e,f}

*Los valores presentados son el promedio \pm desviación estándar (n=3), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas,(p< 0,05).

De manera similar que en este estudio, aunque con resultados expresados en base al aceite, se encontraron pequeñas cantidades de carotenoides totales en una muestra de aceite de sacha inchi procedente de Tarapoto (San Martín) (Hamaker *et al.*, 1992). A excepción de este estudio, no existe información concerniente al contenido de carotenoides en semillas de sacha inchi en la literatura. Warner y Frankel (1987), mencionan que los componentes nutricionalmente importantes como los carotenos (provitamina A) y los tocoferoles son importantes ya que contribuyen con la estabilidad y valor nutricional del aceite; además de impartir el color al aceite.

4.7. DETERMINACIÓN DE FITOSTEROLES

El contenido y composición de los fitoesteroles determinados en las semillas de sacha inchi se muestra en el Cuadro 10. En todos los cultivares se encontraron en orden de participación decreciente al β -sitosterol > estigmasterol > campesterol con variaciones significativas ($p < 0.05$) entre los cultivares (Anexo B 6). La presencia mayoritaria de estos tres fitoesteroles en el aceite de sacha inchi ha sido reportada previamente por Bondioli *et al.* (2006) además de otros presentes en cantidades menores. Kamm *et al.* (2001) afirman que la distribución de los esteroides es típica según la familia a la que pertenece la planta. En un estudio realizado por Muñoz *et al.* (2010) en aceite de sacha inchi, no se evidenció la presencia del campesterol. Ningún dato adicional ha sido hallado en la literatura relacionado con la presencia de estos compuestos en semillas de sacha inchi.

El total de los tres fitoesteroles alcanzó un rango promedio entre 75.8 (PER000394) y 86.3 mg/100 g de semilla (PER000408B). El β -sitosterol fue el fitoesterol predominante, alcanzando un aproximado del 60% del contenido total de los tres fitoesteroles, seguido por estigmasterol con un 30% y el campesterol con 10%. El mayor contenido de β -sitosterol se encontró en el cultivar PER000408B con 53.2 mg/100g semilla, mientras el mínimo contenido fue hallado en el cultivar PER000597 con 45.2 mg/100. Al respecto Fierro (2004) citado por Muñoz (2010) afirman que el sacha inchi presenta mayor contenido de β -sitosterol en relación con otros alimentos como los frejoles y arvejas, y que otros aceites en el mercado (Aparicio, 1999, citado por Muñoz, 2010). El nivel de β -sitosterol promedio para los 16 cultivares alcanzó un 48.8 mg/100g de semilla, valor que se sitúa por debajo del reportado en nuez de Brasil (65.5 mg/100 g semilla), linaza (83.6 mg/100 g semilla) y nuez (88.9 mg/100g producto). Mayores cantidades han sido encontradas en otras semillas como la pecana (116.5 mg/100 g semilla), avellana

(102.2 mg/100 g semilla), castaña (112.6 mg/100 g semilla), linaza molida (83.6 mg/100 g semilla), almendra (143.4 mg/100 g semilla), pistacho (209.8 mg/100 g semilla) y en ajonjolí (231.7 mg/100 g semilla) (Phillips *et al.*, 2005).

CUADRO 10: Contenido de los principales fitoesteroles (mg/100g semilla) hallados en 16 cultivares de sachá inchi

Cultivar	β -sitosterol	Estigmasterol	Campesterol
PER000394	46.6 \pm 0.4 ^{def}	21.9 \pm 0.5 ^{fg}	7.4 \pm 0.3 ^{cde}
PER000395A	49.2 \pm 1.2 ^{bcd}	25.4 \pm 1.1 ^{abc}	8.5 \pm 0.5 ^{ab}
PER000401	45.4 \pm 1.0 ^f	23.4 \pm 0.4 ^{bcd}	7.1 \pm 0.4 ^e
PER000403	49.8 \pm 1.7 ^{bcd}	25.5 \pm 3.6 ^{ab}	7.8 \pm 0.3 ^{abcde}
PER000405	50.1 \pm 2.1 ^{abc}	25.2 \pm 0.5 ^{abc}	8.3 \pm 0.7 ^{abc}
PER000406A	45.9 \pm 1.6 ^{ef}	26.9 \pm 0.7 ^a	8.8 \pm 0.7 ^a
PER000406B	48.2 \pm 1.9 ^{cdef}	21.2 \pm 1.3 ^g	8.0 \pm 1.2 ^{abcde}
PER000408B	53.2 \pm 2.0 ^a	24.8 \pm 1.1 ^{abcd}	8.2 \pm 0.5 ^{abcd}
PER000416	48.0 \pm 0.2 ^{cdef}	24.9 \pm 0.4 ^{abcd}	7.6 \pm 0.2 ^{bcde}
PER000417	46.7 \pm 0.7 ^{def}	23.5 \pm 0.4 ^{bcd}	7.4 \pm 0.4 ^{cde}
PER000418	49.4 \pm 0.5 ^{bcd}	22.9 \pm 0.8 ^{cdef}	7.2 \pm 0.6 ^{de}
PER000420	48.9 \pm 0.7 ^{bcde}	23.7 \pm 0.7 ^{bcd}	7.6 \pm 0.4 ^{bcde}
PER000421	50.8 \pm 2.0 ^{abc}	24.2 \pm 1.1 ^{bcde}	7.7 \pm 0.5 ^{bcde}
PER000422	50.7 \pm 3.9 ^{abc}	25.8 \pm 2.2 ^{ab}	7.9 \pm 0.3 ^{abcde}
PER017597	45.2 \pm 3.1 ^f	25.5 \pm 1.4 ^{abc}	7.4 \pm 0.5 ^{cde}
PER017598	52.2 \pm 0.3 ^{ab}	22.5 \pm 0.6 ^{efg}	8.4 \pm 0.4 ^{abc}

*Los valores presentados son el promedio \pm desviación estándar (n=3), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas, (p< 0,05)

Referente al contenido de estigmasterol, se observó que este representó, en contenido, la mitad del presente en β - sitoesterol. Esta misma proporción fue obtenida por Bondioli *et al.* (2006) en aceite sachá inchi, pero resultados diferentes han sido reportados por Muñoz *et al.* (2010) ya que encontraron al estigmasterol como componente principal del perfil de fitoesteroles y con valores cercanos de β -sitoesterol. El estigmasterol no alcanzó cantidades mayores a 25.8 mg/100g de semilla (PER000406B), siendo el menor contenido de 21.2 mg/100g de semilla PER000422. El valor promedio de estigmasterol obtenido de los 16 cultivares de sachá inchi fue de 24.2 mg/100g; siendo éste mayor al

encontrado por Da Costa *et al.* (2010) en nuez de Brasil (11.33 mg/100g de semilla), y con los valores mostrados por Phillips *et al.* (2005) en pecana (2.6 mg/100g de semilla), avellana (<2.5 mg/100g de semilla), castañas (< 1.2 mg/100g de semilla), linaza molida (8.6 mg/100g de semilla) almendras (5.0 mg/100g de semilla), pistacho (2.3 mg/100g de semilla) y ajonjolí (22.2 mg/100g de semilla).

El campesterol, estuvo presente en una cantidad promedio de 7.8 mg/100g de semilla, y fue en los cultivares PER000406A (8.8 mg/100 g semilla) y el PER000401 (7.1 mg/100 g semilla) donde se halló el máximo y mínimo contenido respectivamente. Bondioli *et al.* (2006) también determinó este compuesto como el tercero de los principales fitoesteroles en aceite de sacha inchi. El contenido promedio de campesterol determinado fue mayor comparado al de otras semillas como la nuez de Brasil (4 mg/100 g semilla, Da Costa *et al.*, 2010), al de la almendra (4.9 mg/100 g semilla), pecana (5.9 mg/100 g semilla) y nuez inglesa (4.9 mg/100 g semilla); sin embargo fue menor al de ajonjolí (53.1 mg/100 g semilla), linaza molida (40.2 mg/100 g semilla), pistacho (10.1 mg/100 g semilla), y castaña (8.9 mg/100 g semilla) (Phillips *et al.*, 2005).

La variación en la participación de cada uno de los fitoesteroles encontrados entre los cultivares podría deberse a la variedad de semilla, las prácticas culturales, geografía u otras como almacenamiento, etc. Aunque, Ramadan *et al.* (2007) mencionan que la concentración de fitoesteroles se ve menos afectada por factores ambientales y de cultivo.

Debido a los posibles mecanismos de acción de los fitoesteroles sobre los procesos que afectan el metabolismo del colesterol, carcinogénesis y otras actividades biológicas que se les ha atribuido. Se hace importante estudiar a los fitoesteroles que están presentes en los alimentos (Phillips *et al.*, 2005). Los aceites de plantas y los productos derivados de ellos son considerados como importantes fuentes de fitoesteroles, ya que contienen más altas cantidades que en las frutas y vegetales (Phillips *et al.*; 2002).

4.8. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

De acuerdo con Ou *et al.* (2002) existen diversos métodos para evaluar la capacidad antioxidante (CAOX) en un producto. De forma general esta determinación ha sido dividida en función a su mecanismo de reacción en dos grupos: aquellas que están basadas

en la reacción de transferencia de electrones, donde están incluidos los métodos FRAP, DPPH y TEAC (ABTS), y los métodos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno, que miden la capacidad del antioxidante para atrapar radicales peroxil, como es el caso del método ORAC y del TRAP (Parámetro antioxidante de captación del radical). Teniendo en cuenta las características funcionales de los fitoquímicos y los resultados obtenidos por los ensayos comúnmente más usados en la literatura científica, además de considerar las diferentes condiciones oxidativas existentes, los sistemas de composición y los mecanismos antioxidantes (Prior *et al.*, 2005), es que se consideró evaluar la capacidad antioxidante de las semillas de *sacha inchi*, mediante los métodos de FRAP, ABTS y ORAC, los resultados obtenidos se presentan a continuación.

4.8.1. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE HIDROFÍLICA POR EL METODO DE FRAP

Este método permite determinar sólo la capacidad antioxidante hidrofílica, ya que el FRAP es básicamente un ensayo de medida de la acción de los antioxidantes hidrofílicos y que no responde bien a antioxidantes lipofílicos. Además de estar asociado con el cromóforo divalente $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ que tiene una gran afinidad hacia la fase acuosa, debido a las interacciones ión-dipolo de los cromóforos con las moléculas solventes en agua (Apak *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos de la CAOX hidrofílica mediante el método de FRAP son mostrados en el Cuadro 11.

Variaciones en la CAOX FRAP entre los diferentes cultivares fueron observadas, lo cual fue corroborado en el análisis estadístico al presentarse diferencias significativas ($p < 0.05$, Anexo B 7). El valor promedio de la CAOX FRAP fue de 1.03 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla, con rangos entre 0.70 y 1.54 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla, perteneciente a los cultivares PER000394 y PER000422 respectivamente. Al respecto Ou *et al.* (2002) mencionan que la variabilidad de los resultados obtenidos entre los cultivares puede ser explicado por el efecto de la influencia de las diferentes variedades, zona de origen, condiciones en el crecimiento, cambios estacionales durante su crecimiento, temporada de cosecha, diferencias genéticas, condiciones de almacenamiento, entre otras, lo que en su conjunto podría afectar a la concentración de los antioxidantes presentes en cada cultivar y por tanto en su capacidad antioxidante.

CUADRO 11: Capacidad antioxidante hidrofílica FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$) en 16 cultivares de sachá inchi

Cultivar	Capacidad antioxidante FRAP
PER000394	0.70 ± 0.01^a
PER000395A	0.99 ± 0.01^{cde}
PER000401	1.19 ± 0.01^h
PER000403	1.09 ± 0.04^g
PER000405	0.86 ± 0.01^b
PER000406A	1.22 ± 0.00^h
PER000406B	0.88 ± 0.02^b
PER000408B	1.00 ± 0.02^{de}
PER000416	1.02 ± 0.03^{def}
PER000417	1.05 ± 0.03^{efg}
PER000418	0.90 ± 0.01^b
PER000420	1.08 ± 0.03^{fg}
PER000421	0.98 ± 0.01^{cd}
PER000422	1.54 ± 0.04^i
PER017597	0.93 ± 0.01^{bc}
PER017598	1.10 ± 0.02^g

*Los valores presentados son el promedio \pm desviación estándar ($n=3$), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Hasta el momento no se han reportado investigaciones que hayan utilizado este método para medir la capacidad antioxidante en semillas de sachá inchi; sin embargo diversos estudios se han realizado en otras fuentes de alimentos como por ejemplo en cuatro variedades de guayaba donde se encontró un promedio de $52.28 \mu\text{mol TE/g}$ (Rojas-Barquera y Narváez- Cuenca, 2009) también se ha reportado para 15 cultivares de arándano cantidades promedio de $12.14 \mu\text{mol TE/g}$ (Rodrigues *et al.*, 2011); del mismo modo Ou *et al.* (2002) determinaron la capacidad antioxidante por el método de FRAP de diferentes especies vegetales y encontraron el valor más alto en pimiento rojo ($183 \mu\text{mol TE/g}$, b.s), seguido de la beterraga, coliflor, espinaca, tomate, pimiento verde, brocoli, repollo blanco, cebolla púrpura, zanahoria, cebolla blanca, frejol, y finalmente garbanzo donde hallaron el valor más bajo de $5 \mu\text{mol TE/g}$ (b.s). Todos los valores hallados son más

altos que los de las semillas de sachá inchi, ello podría deberse a que los productos citados arriba poseen una alta concentración de antioxidantes hidrofílicos en comparación a los que estarían presentes en las semillas del sachá inchi o a que los antioxidantes hidrofílicos de la semilla del sachá inchi no reaccionan eficientemente frente al ensayo FRAP o a que tienen una baja actividad aun cuando tienen una estructura potencialmente oxidable de grupos hidroxilo (Halvorsen y Blomhoff, 2011).

4.8.2. DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE HIDROFILICA Y LIPOFILICA POR EL METODO DEL ABTS

Tanto los fitoquímicos hidrofílicos como los lipofílicos pueden atrapar con efectividad a los radicales libres, por tanto son importantes en la prevención del estrés oxidativo. Debido a que los frutos consumidos son mayormente pobres en antioxidantes lipofílicos es también importante determinar más fuentes ricas en estos antioxidantes, así como evaluar la contribución de dicha fracción lipofílica hacia la capacidad antioxidante total. Los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 12 donde se observa la variación encontrada entre los diferentes cultivares para la capacidad antioxidante hidrofílica (CAH), lipofílica (CAL) y total (CAT). Estadísticamente se encontraron diferencias significativas entre los cultivares ($p < 0.05$, Anexo B 8).

La CAH ABTS fluctuó entre 1.4 y 3.2 $\mu\text{mol TE/g}$ de semilla, perteneciente a los cultivares PER000420 y PER000406-B, respectivamente. El valor promedio entre los 16 cultivares fue 2.20 $\mu\text{mol TE/g}$. Existen resultados hallados en otros frutos tipo nuez, como los que se reportaron por Arcan y Yemenicioglu (2009), quienes determinaron la CAH ABTS de las avellanas, nueces y pistachos con valores de 12.8, 33.6 y 16.3 $\mu\text{mol TE/g}$, siendo estos valores entre seis a dieciséis veces más que los encontrados en el presente estudio. Valores ABTS más altos han sido encontrados en frutos y vegetales como en la guaba (31.1 $\mu\text{mol TE/g}$; Thaipong *et al.*, 2006) y col rizada (58.7 $\mu\text{mol TE/g}$, Zhou y Lu, 2006). Valores más próximos al del sachá inchi han sido reportados para la manzana, durazno, tomate, lechuga y papa (1.6, 1.2, 2.6, 1.7 y 2.3 $\mu\text{mol TE/g}$; Scalzo *et al.*, 2005, Proteggente *et al.*, 2002 y Zhou y Lu, 2006).

CUADRO 12: Capacidad antioxidante ABTS hidrofílica, lipofílica y total ($\mu\text{mol TE/g}$) en 16 cultivares de sachá inchi.

Cultivar	Capacidad antioxidante hidrofílica	Capacidad antioxidantes lipofílica	Capacidad antioxidante total
PER000394	1.72 ± 0.1^{ab}	8.5 ± 0.3^{bcd}	10.17 ± 0.3^{bcd}
PER000395A	1.91 ± 0.1^{bc}	10.3 ± 0.2^a	12.19 ± 0.3^{cde}
PER000401	2.21 ± 0.1^{cde}	8.5 ± 0.4^{cd}	10.72 ± 0.4^{cd}
PER000403	2.05 ± 0.1^{bcd}	12.9 ± 0.4^a	14.91 ± 0.4^e
PER000405	1.88 ± 0.1^{bc}	12.0 ± 0.3^a	13.91 ± 0.3^{de}
PER000406A	1.86 ± 0.1^{bc}	7.0 ± 0.4^a	8.90 ± 0.4^{bc}
PER000406B	1.40 ± 0.1^a	11.1 ± 0.1^{fg}	12.49 ± 0.1^{cde}
PER000408B	2.97 ± 0.1^f	7.1 ± 0.2^{ab}	10.12 ± 0.5^{bcd}
PER000416	1.91 ± 0.1^{bc}	8.8 ± 0.5^{cd}	10.71 ± 0.2^{cd}
PER000417	2.00 ± 0.1^{bc}	7.7 ± 0.1^{abc}	9.73 ± 0.4^{bc}
PER000418	2.39 ± 0.2^{de}	7.7 ± 0.1^{abc}	10.10 ± 0.6^{bcd}
PER000420	3.22 ± 0.1^f	8.7 ± 0.6^{cd}	11.95 ± 0.4^{cde}
PER000421	2.24 ± 0.0^{cde}	7.5 ± 0.5^{abc}	9.69 ± 0.5^b
PER000422	2.50 ± 0.1^e	11.6 ± 0.7^{fgh}	14.09 ± 0.3^a
PER017597	2.02 ± 0.1^{bcd}	11.8 ± 0.5^{gh}	13.82 ± 0.5^a
PER017598	2.94 ± 0.1^f	9.4 ± 0.9^{de}	12.37 ± 0.4^a

*Los valores presentados son el promedio \pm desviación estándar ($n=3$), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas, ($p < 0,05$).

De otro lado, el rango en el que estuvo comprendida la CAL ABTS para los 16 cultivares de semillas de sachá inchi estuvo comprendida entre 7.04 (PER000406-A) y 12.86 $\mu\text{mol TE/g}$ (PER000403). Mientras que el promedio alcanzado fue de 9.42 $\mu\text{mol TE/g}$. Al respecto Thaipong *et al.* (2006), en un estudio realizado en 4 cultivares de frutos de guaba determinaron que la CAL fue en promedio 0.44 $\mu\text{mol TE/g}$, lo que representa un valor bajo en comparación con lo hallado en las semillas de sachá inchi.

De acuerdo a los resultados, los compuestos lipofílicos mostraron mayor capacidad antioxidante con el método ABTS, lo cual estaría influenciado por los diversos componentes antioxidantes lipofílicos presentes en la matriz de la semillas de sachá inchi, que podrían estar en mayor cantidad o tener mayor potencia que los componentes

hidrofílicos. Del mismo modo, podría haber mayor capacidad de reacción entre los compuestos antioxidantes del extracto lipofílico y la especie radical no biológica empleada en este método de ensayo.

Finalmente la CAT ABTS más alta se encontró en el cultivar PER000403 con 14.91 $\mu\text{mol TE/g}$ mientras que el cultivar PER000406-A fue en el que se observó la más baja con 8.90 $\mu\text{mol TE/g}$; siendo el promedio obtenido para los 16 cultivares de sachá inchi de 11.62 $\mu\text{mol TE/g}$. Este valor fue mayor o similar al reportado por Acar *et al.* (2009) en algunos frutos y semillas como el maní (14.3 $\mu\text{mol Trolox/g}$), castaña (8.1 $\mu\text{mol Trolox/g}$), lentejas verdes (10.9 $\mu\text{mol Trolox/g}$), semillas de ajonjolí (12 $\mu\text{mol Trolox/g}$), semillas de calabaza (6.6 $\mu\text{mol Trolox/g}$); pero fue menor al presentado por las nueces (224 $\mu\text{mol Trolox/g}$), frejol negro (55.6 $\mu\text{mol Trolox/g}$), soya amarilla (36 $\mu\text{mol Trolox/g}$), pistachos (48.7 $\mu\text{mol Trolox/g}$), avellanas (41.4 $\mu\text{mol Trolox/g}$), almendras (27.8 $\mu\text{mol Trolox/g}$) semillas de girasol (48.6 $\mu\text{mol Trolox/g}$).

4.8.3. DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE HIDROFILICA Y LIPOFILICA POR EL METODO ORAC

El ensayo ORAC es el método más ampliamente utilizado por los investigadores, así como por las industria de suplementos y alimentos (Huang *et al.*, 2005) y es muy aceptado por que mide la capacidad antioxidante de plantas, hierbas, nutraceúticos (Madhujitch y Shahidi, 2007) y de diferentes frutas (Wu *et al.*, 2004). Además de usar al radical peroxilo, una fuente de radicales importante biológicamente, combina el tiempo y grado de inhibición en la determinación (Dávalos *et al.*, 2004).

Los resultados encontrados de CAH, CAL y CAT para los 16 cultivares de semillas de sachá inchi se presentan en el Cuadro 13. Se observó variabilidad de resultados en función al cultivar, lo cual fue estadísticamente comprobado ($p < 0.05$; Anexo B9). La mayor CAH fue encontrada en el cultivar PER000417 con 7.3 $\mu\text{mol TE/g}$ de semilla, mientras que el cultivar PER017598 mostró la más baja capacidad antioxidante con 4.3 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla. El promedio obtenido de los 16 cultivares fue 6.0 $\mu\text{mol TE/g}$.

Los valores de CAH ORAC promedio encontrado para los cultivares de sachá inchi (6.0 $\mu\text{mol TE/g}$ y 6.3 $\mu\text{mol TE/g}$ en base seca) fueron bastante cercanos al de los piñones y nueces de Brasil con 4.4 $\mu\text{mol TE/g}$ y 8.6 $\mu\text{mol TE/g}$ respectivamente; mientras que en el

caso de las pecanas, nuez, avellana, pistacho, almendra, maní, castaña y macadamia los valores de CAH ORAC fueron más altos (entre 14.4 y 175.2 $\mu\text{mol TE/g}$, Wu *et al.* 2004). También valores mayores de CAH ORAC han sido encontrados (entre 19 y 154 $\mu\text{mol TE/g}$ bs) para los siguientes productos: pimiento verde, espinaca, cebolla morada, brócoli, remolacha, col, pimiento rojo, cebolla blanca, tomate y zanahoria (Ou *et al.*, 2002); mientras que valores cercanos de la CAH ORAC del sachá inchi se determinaron para la piña, plátano, col, cebolla dulce, pimiento verde, y el maíz (entre 5.4 y 8.1 $\mu\text{mol TE/g}$, Wu *et al.* 2004).

La CAL estuvo comprendida en un rango entre 1.0 y 2.8 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla, pertenecientes a los cultivares PER000405 y PER000408-B, respectivamente, llegando a un valor promedio para los 16 cultivares de 2.0 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla. En un estudio realizado en diferentes tipos de nueces por Wu *et al.* (2004) se determinó la CAL que fue mayor en las nueces de Brasil (5.6 $\mu\text{mol TE/g}$), además en las nueces, castañas, pistacho, pecana, avellana, piñones, maní, macadamia y almendras se obtuvo valores comprendidos entre 1.7 y 4.8 $\mu\text{mol TE/g}$. Los últimos cuatro productos mencionados alcanzaron una CAL similar a la hallada en las semillas de sachá inchi en el presente estudio.

De otro lado los valores obtenidos de CAH de los cultivares de sachá inchi resultaron ser en promedio casi 5 veces más que la CAL, es decir las primeras representaron el 75% de la CAT. Según Rautenbach y Venter (2010) y Prior (2003) la CAH para la mayor parte de productos vegetales contribuye en un 85 y 95% de la CAT, respectivamente. Es de destacar que para dos cultivares de sachá inchi la CAH no fue un componente predominante de la CAT como lo fue para la mayoría; así se tuvo a los cultivares PER017598 y PER000406-B cuyas CAH alcanzaron el 54 y 61% de CAT, respectivamente. Similar tendencia fue observada por Wu *et al.* (2004) en un estudio en piñones y nueces de Brasil donde las CAH alcanzaron sólo el 62 y 61% de la CAT. En función a los resultados obtenidos se podría indicar que las semillas de sachá inchi presentan compuestos lipofílicos que contribuyen de forma importante a la CAT.

En cuanto a la capacidad antioxidante total, el promedio obtenido para los 16 cultivares de sachá inchi fue de 8.0 $\mu\text{mol TE/g}$ semillas, con un rango entre 6.5 y 9.8 $\mu\text{mol TE/g}$ perteneciente a los cultivares PER000405 y PER000422, respectivamente.

CUADRO 13: Capacidad antioxidante ORAC hidrofílica, lipofílica y total en 16 cultivares de sachá inchi

Cultivar	Capacidad antioxidante hidrofílica (μmol TE/g)	Capacidad antioxidante lipofílica (μmol TE/g)	Capacidad antioxidante total (μmol TE/g)
PER000394	5.8 ± 0.4 ^{cd}	1.6 ± 0.1 ⁱ	7.4 ± 0.5 ^{hij}
PER000395A	5.7 ± 0.5 ^{cd}	1.8 ± 0.0 ^{fg}	7.4 ± 0.4 ^{ghi}
PER000401	5.8 ± 0.3 ^{cd}	1.8 ± 0.1 ^f	7.6 ± 0.2 ^{ghi}
PER000403	6.1 ± 0.5 ^{bc}	1.6 ± 0.1 ^{hi}	7.7 ± 0.6 ^{efg}
PER000405	5.5 ± 0.0 ^d	1.0 ± 0.0 ^j	6.5 ± 0.0 ^k
PER000406A	5.6 ± 0.2 ^d	1.6 ± 0.0 ^{hi}	7.2 ± 0.2 ^{ij}
PER000406B	4.9 ± 0.4 ^e	1.7 ± 0.0 ^{gh}	6.6 ± 0.4 ^k
PER000408B	6.4 ± 0.0 ^b	2.8 ± 0.0 ^a	9.2 ± 0.0 ^b
PER000416	6.3 ± 0.1 ^b	2.2 ± 0.1 ^d	8.5 ± 0.1 ^{cd}
PER000417	7.3 ± 0.3 ^a	1.7 ± 0.2 ^{fg}	9.0 ± 0.1 ^b
PER000418	6.4 ± 0.1 ^b	2.5 ± 0.0 ^b	8.9 ± 0.1 ^{bc}
PER000420	6.9 ± 0.1 ^a	2.4 ± 0.0 ^c	9.3 ± 0.1 ^b
PER000421	5.8 ± 0.1 ^{cd}	2.1 ± 0.0 ^d	7.9 ± 0.1 ^{ef}
PER000422	7.2 ± 0.1 ^a	2.6 ± 0.0 ^b	9.8 ± 0.1 ^a
PER017597	6.1 ± 0.0 ^{bc}	2.0 ± 0.1 ^e	8.1 ± 0.1 ^{de}
PER017598	4.3 ± 0.2 ^f	2.6 ± 0.0 ^b	6.9 ± 0.3 ^{jk}

*Los valores presentados son el promedio ± desviación estándar (n=3), las letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas, (p < 0,05). CAH: Capacidad antioxidante hidrofílica, CAL: Capacidad antioxidante lipofílica y CAT: capacidad antioxidante total.

En un estudio realizado en diversos frutos por Wu *et al.* (2004) encontraron que las pecanas tenían la mayor CAT (179.4 μmol TE/g), seguidas por las nueces (135.4 μmol TE/g); mientras que los piñones fueron los más pobres en cuanto a la CAT (7.19 μmol TE/g). Estos valores son mayores que los encontrados para el promedio de los 16 cultivares de semillas de sachá inchi (8.0 μmol TE/g)

Diferencias estadísticas (p < 0.05) fueron encontradas para los valores de CAH, CAL y CAT para los 16 cultivares de sachá inchi (Anexo B 9). Al respecto Wu *et al.* (2004)

mencionan que el contenido antioxidante de vegetales puede verse afectado por el cultivar, el nivel de madurez, así como por las condiciones durante el crecimiento como la ubicación geográfica, radiación solar, clima y las prácticas de agricultura. El resultado de cualquiera de esos factores podría provocar una variación en el contenido de antioxidantes en las mismas especies vegetales, como lo demostrado por Stewart *et al.* (2000), que encontraron que la procedencia de tomates de climas más cálidos y soleados aumentaba el contenido de los flavonoides antioxidantes.

La capacidad antioxidante ABTS de las semillas de sachá inchi mostró una menor CAH en comparación al método ORAC, donde hubo mayor presencia de la CAH. Esta diferencia podría estar basada en que en ambos ensayos consideran distintos tipos de radicales libres sobre el cual los antioxidantes van a actuar y dependiendo de la naturaleza y afinidad del antioxidante hacia la especie radical se medirá la CAOX. Además se debe considerar que cada técnica posee diferentes condiciones de reacción donde los antioxidantes son dependientes de factores como la polaridad del medio, la temperatura, las condiciones de oxidación, el estado físico del sistema, y finalmente el hecho de la presencia de otros compuestos, que puedan ejercer relaciones contrarias o sinérgicas con las moléculas evaluadas (Espin *et al.*, 2000; Ramadan *et al.*, 2003).

4.8.4. CORRELACIÓN ENTRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE HIDROFÍLICA Y LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Debido a la existencia de extensa bibliografía a nivel mundial que indica a los compuestos fenólicos como importantes antioxidantes en vegetales, el contenido de fenólicos fue correlacionado con la capacidad antioxidante hidrofílica medida con los métodos FRAP, ABTS y ORAC.

De acuerdo al Cuadro 14 existe una correlación media entre la capacidad antioxidante hidrofílica y los compuestos fenólicos ($r=0.61$). Una correlación baja fue observada con los métodos de ABTS y ORAC, lo que indicaría que los compuestos fenólicos no son los únicos y/o mayores contribuyentes a la capacidad antioxidante de las semillas de sachá inchi. Vasco *et al.* (2008) halló correlaciones medias entre los compuestos fenólicos totales y los métodos FRAP y ABTS ($r=0.62$ y 0.56 respectivamente), en su estudio realizado en frutos de Ecuador como la zarzamora, capulí, guaba, ciruela, chirimoya, zapote, granadilla, maracuyá entre otros. También se ha

establecido una correlación similar o más baja entre estas dos variables (CFT y FRAP) por Kwee y Niemeyer (2011) para quince cultivares de albahaca ($r=0.74$). Al respecto Thaipong *et al.* (2006) indican que la variación en las correlaciones establecidas entre los compuestos fenólicos y las diferentes capacidades antioxidantes puede ser atribuida al solvente empleado en la extracción de los antioxidantes (afinidad que tienen hacia el solvente), la hidrofiliidad de los componentes, la muestra y al tipo de compuestos fenólicos presentes, lo cual significa que dichos compuestos fenólicos reaccionan en diferentes formas en los ensayos. Por tanto cada método provee solo un estimado de capacidad antioxidante que es subjetivo a sus condiciones y reactivos (Vasco *et al.*, 2008). Considerando que la respuesta antioxidante de los compuestos fenólicos varía notablemente dependiendo de su estructura química, a ellos se podría atribuir la falta de correlación entre fenólicos totales y la capacidad antioxidante (Sreeramulu y Raghunath, 2010). Pietta (2000) añade que la presencia de compuestos que no son fenólicos y que son cuantificados por el método de Folin Ciocalteu y que la presencia de algunos fenólicos que son más efectivos que otros en una reacción antioxidante también puede contribuir a bajas correlaciones (Pietta, 2000).

CUADRO 14: Correlación entre la capacidad antioxidante hidrofílica y los compuestos fenólicos totales

Correlación Pearson	<i>r</i>
Fenólicos totales y capacidad antioxidante FRAP	0.61
Fenólicos totales y capacidad antioxidante ABTS	0.26
Fenólicos totales y capacidad antioxidante hidrofílica ORAC	0.29

Correlación de Pearson (*r*) es significativa al nivel 0.01.

Los compuestos fenólicos aportan la mayor porción de la capacidad antioxidante en muchas plantas (Duthie y Crozier, 2000), sin embargo existen otros antioxidantes presentes en los vegetales como la vitamina C, compuestos tioles, etc. (Ou *et al.*, 2002). En la matriz de la semilla de sachá inchi posiblemente exista otros componentes antioxidantes que puedan actuar de manera aislada o sinérgica influyendo en los resultados encontrados.

En general, los resultados de la determinación de la capacidad antioxidante de un producto dependen de la metodología usada, quien es el sustrato oxidante y el oxidable utilizado. Además es importante comparar diferentes métodos analíticos variando al iniciador de la oxidación y el blanco con el fin de entender la actividad biológica de un antioxidante (Cao y Prior, 1998).

4.8.5. CORRELACIÓN ENTRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE LIPOFILICA Y LOS TOCOFEROLES Y CAROTENOIDES

De acuerdo al Cuadro 15 existe una correlación baja entre la capacidad antioxidante lipofílica y el contenido total de tocoferoles, medida por los método del ABTS y ORAC, lo mismo se observó entre CAL y el contenido de fitoesteroles, medida por el método de ABTS; sin embargo una mayor relación fue observada entre la CAL ORAC y el contenido de fitoesteroles. Los resultados indicarían que no sólo los tocoferoles y fitoesteroles de forma aislada juegan un papel importante en la capacidad antioxidante de las semillas de sachá inchi, también otros compuestos y/o antioxidantes, como los carotenoides, podrían estar actuando sinérgicamente, éstos últimos alcanzaron una mayor correlación con respecto a la CAL ORAC.

CUADRO 15: Correlación entre la capacidad antioxidante lipofílica (CAL) y tocoferoles, fitoesteroles y carotenoides

Correlación Pearson	<i>r</i>
Tocoferoles totales y CAL ABTS	0.31
Tocoferoles totales y CAL ORAC	0.10
Fitoesteroles y CAL ABTS	0.13
Fitoesteroles y CAL ORAC	0.33
Carotenoides y CAL ABTS	0.18
Carotenoides y CAL ORAC	0.65

Correlación de Pearson (*r*) es significativa al nivel 0.01.

Ya que en la mayoría de frutos y vegetales la CAH constituye más del 90% de la CAT (Wu *et al.*, 2004) es poco común encontrar en la literatura correlaciones que se establecen con la CAL. El contenido de tocoferoles totales relacionado con el método de la

CAL ABTS alcanzó un $r = 0.31$, que fue relativamente mayor al hallado con la CAL ORAC ($r = 0.10$). Konczac y Roulle (2011) determinaron un nivel de correlación ($r = 0.60$) entre el contenido total de compuestos lipofílicos identificados, (entre ellos los tocoferoles y la luteína), y la CAL ORAC, en un estudio realizado en ocho frutos australianos.

Evidencias recientes han mostrado que los tocoles pueden contribuir al total de bioactividad de la vitamina E, además de otorgar diferentes beneficios contra diferentes enfermedades (Theriault *et al.*, 1999).

Yoshida *et al.* (2003) mencionan que tanto los tocoferoles y los tocotrienoles tienen la misma reactividad hacia radicales libres y que ejercen la misma actividad antioxidante contra peroxidación de lípidos, además que ambos poseen movilidad similar dentro de las membranas celulares, sin embargo los tocotrienoles serían transferidos e incorporados más fácilmente que los tocoferoles. También se ha mencionado en la literatura que los tocotrienoles son mejores antioxidantes que los correspondientes tocoferoles, debido a sus dobles enlaces en el lado de la cadena y que el γ -tocotrienol, el cual posee la mayor capacidad antioxidante (Theriault *et al.*, 1999), sería el encargado de conservar a los tocoferoles homólogos en especial al α -tocoferol, el cual se asocia a la mayor actividad biológica de la vitamina E (Rossi *et al.*, 2007). Los tocotrienoles han mostrado tener propiedades funcionales en contraste con el α -tocoferol. Estudios han demostrado que dichos tocotrienoles pueden reducir niveles de colesterol en el plasma, así como algunos factores de riesgo, lipídico o no, relacionados con enfermedades cardiovasculares (Theriault *et al.*, 1999).

Según lo mencionado anteriormente y ya que el potencial de actividad antioxidante también estaría dado por los tocotrienoles, cuyo estudio no fue realizado, sería importante obtener información del contenido de dichos compuestos para conocer su aporte a la capacidad antioxidante, lo que podría explicar el bajo valor obtenido del índice de correlación.

De otro lado la variación de los r obtenidos con el método de ABTS y el de ORAC, podría deberse a las diferentes respuestas de los diversos compuestos que se forman en los distintos sistemas de ensayo empleados (Sreeramulu y Raghunath, 2010).

Con respecto a la CAL y el contenido de fitoesteroles se encontró una correlación (r) de 0.13 y 0.33 con los métodos de ABTS y ORAC respectivamente. El valor del índice de Pearson obtenido por el método de ORAC infiere una pequeña a mediana influencia de los fitoesteroles en la capacidad antioxidante. Ramadán y Mörsel (2000), mencionan que generalmente es difícil encontrar una correlación entre el perfil lipídico de diferentes aceites y la actividad antioxidante, sin embargo los autores encontraron una correlación positiva de acuerdo al contenido de fitoesteroles y de insaponificables y la CAL medida por el método de DPPH.

En cuánto a la correlación hallada entre el contenido de carotenoides y la CAL, se encontró un $r= 0.18$ y 0.65 de acuerdo a los métodos de ABTS y ORAC respectivamente. El mayor valor obtenido indica un aporte positivo de los carotenoides en la CAL.

Según los resultados obtenidos los carotenoides y los fitoesteroles estarían involucrados en mayor proporción frente a otros compuestos en la CAL de las semillas de sachá inchi.

Finalmente las propiedades antioxidantes se relacionan tanto con la cantidad total de los antioxidantes presentes en la matriz de un alimento, como con la presencia de específicos compuestos, es decir la capacidad antioxidante podría deberse a la acción combinada de diferentes antioxidantes endógenos, así como por la presencia de compuestos bioactivos que pueden actuar individual o sinérgicamente con otros bioactivos o con los antioxidantes (Ramadán y Mörsel, 2000) otorgando la actividad antioxidante.

V. CONCLUSIONES

- Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de fenólicos totales, carotenoides, fitoesteroles, tocoferoles, ácidos grasos y capacidad antioxidante para los 16 cultivares de semillas de sachá inchi.
- El contenido de compuestos fenólicos totales, carotenoides totales, fitoesteroles (estigmasterol, campesterol y β -sitosterol) y tocoferoles (α -, β -, γ - y δ -tocoferol) estuvieron en un rango entre 64.6 y 80 mg AGE/100g semilla; 0.06 y 0.09 mg β -caroteno/100 g semilla; 75.7 y 86.2 mg/100 g y 78.6 y 137.0 mg/100 g semilla, respectivamente.
- De los tres fitoesteroles evaluados en las semillas de sachá inchi el fitoesterol más representativo fue el β -sitosterol, seguido por el estigmaterol y el campesterol con valores promedio de 48.7, 24.2 y 7.8 mg/100 g de semilla.
- En función al grado de participación dentro de los 16 cultivares de semillas de sachá inchi el γ -tocoferol fue el más importante seguido por el δ -, α - y β -tocoferol, con valores medios de 64.5, 37.5, 1.19 y 0.82 mg/100 g de semilla, respectivamente.
- Los ácidos grasos mayoritarios en las semillas de sachá inchi fueron el ácido α -linolénico y el linoleico participando en cantidades promedio de 14.6 y 13.3 g/100 g de semilla, respectivamente. Los ácidos grasos oleico, palmítico, esteárico y vaccénico estuvieron presentes en un 4.1, 1.8, 1.1 y 0.26 g/100 g de semilla, respectivamente.
- La capacidad antioxidante hidrofílica medida por el método de FRAP, ABTS y ORAC alcanzó valores promedio de 1.03, 2.2 y 5.99 μ mol TE/g semilla; mientras

que la capacidad antioxidante lipofílica ABTS y ORAC presentó valores de 9.4 y 2.01 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla. La capacidad antioxidante total ABTS y ORAC fue en promedio de 11.62 $\mu\text{mol TE/g}$ y 8.0 $\mu\text{mol TE/g}$ semilla, respectivamente.

- Cada cultivar evaluado presentó una importante composición y contenido de fenólicos, carotenoides, fitoesteroles, tocoferoles, ácidos grasos poliinsaturados, compuestos que otorgan propiedades benéficas al sachá inchi y por ende podría constituir una fuente de beneficios potenciales para la salud.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizarse estudios en relación a los diversos factores, durante el desarrollo de sachá inchi, que podrían influir o afectar la composición y contenido de los compuestos estudiados.
- Futuros estudios sobre el perfil y composición química de los compuestos fenólicos son necesarios para determinar su influencia y relación con la capacidad antioxidante.
- Realizarse estudios sobre el contenido de tocotrienoles en las semillas de sachá inchi, ya que según fuentes bibliográficas estarían asociados notoriamente con la capacidad antioxidante.
- Deberían continuarse los estudios sobre el contenido de compuestos bioactivos del sachá inchi ya que es un producto nativo que por su alto contenido en proteína, y la gama de fitoquímicos que ofrece, podría ofrecer potenciales beneficios para la salud.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Acar, Ö.; Gökmen, V.; Pellegrini, N. and Fogliano, V. 2009. Direct evaluation of the total antioxidant capacity of raw and roasted pulses, nuts and seeds. *European Food Research technology*. 229:961-969.
2. Alonso, P.; Salucci, M.; Lázaro, R.; Malani, G.; Ferro-Luzzi, A. 1999. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Rev. Cubana Alim. Nutric.* 13 (2): 104-111.
3. Amaral, J.; Casal, S.; Torres, D.; Seabra, R.; Oliveira, B. 2005a. Simultaneous Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Hazelnuts by a Normal Phase Liquid Chromatographic Method. *Analytical Sciences*. 21: 1545-1549.
4. Amaral, J.; Alves, M.; Seabra, R.; Oliveira, B. 2005b. Vitamin E Composition of walnuts: a 3 year comparative study of different cultivars. *Journal Agricultural and Food Chemistry*.53: 5467-5472.
5. Amaral, J.; Casal, S.; Alves, M.; Seabra, R. and Oliveira, B. 2006 . Tocopherol and tocotrienol content of hazelnut cultivars grown in Portugal. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 54: 1329-1336.
6. Ángeles, J. Determinación de la estabilidad del aceite crudo y semirefinado de la semilla de sachá inchi sometidos a temperaturas variables de almacenamiento. 2002. Tesis Ing. Ind. Alim. Lima, Perú. 109p.
7. Antolovich, M.; Prenzler, P.; Patsalides, E.; McDona, S.; Robards, K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 127:183-198.
8. AOAC (Official Methods of Analysis). 1995. Oils and Fat. 15 ed. Washington, DC. Association of Official Analytical Chemists. Chap. 41.
9. Apak, R.; Güçlü, K.; Demirata, B.; Ozyürek, M.; Celik, S. E.; Bektaşoğlu, B.; Berker, K. I. and Ozyurt, D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 12(7):1496- 1547.
10. Arana, A. y Paredes, D. Estabilidad oxidativa y capacidad antioxidante de aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) extraído de semillas tostadas a diferentes

- condiciones. 2008. Tesis Ing. Agroind. Lima, Perú. Universidad San Ignacio de Loyola. Facultad de Ingeniería. 150 p.
11. Arcan, I. and Yemenicioglu, A. 2009. Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22: 184-188.
 12. Arévalo, G. 1996. El cultivo del sacha inchi en la amazonia. INIA. Lima, Perú.
 13. Arnao, MB. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science and Technology* 11: 419 – 421.
 14. Avellano, P. 2003. Utilización de enzimas en la extracción del aceite de semilla de sacha inchi. Tesis Ing. Ind. Alim. Lima, Perú. 97p.
 15. Award, AB.; Roy, R.; Fink, CS. 2003. β -sitosterol, A Plant Sterol, Induces Apoptosis and Activates Key Caspases in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells. *Oncology Reports*. 10: 497-500.
 16. Balasundram, N.; Sundram, K.; Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99: 191–203.
 17. Bada, J.; León-Camacho, M.; Prieto, M. and Alonso, L. 2004. Characterization of oils of hazelnuts from Asturias, Spain. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106: 294-300.
 18. Bays, H.; Tighe, A.; Sadovsky R. and Davidson M. 2008. Prescription omega-3 fatty acids and their lipid effects: Physiologic mechanism of action and clinical implications. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 6(3):391-409.
 19. Bennani, H.; Drissi, A.; Giton, F.; Kheuang, L.; Fiet, J.; Adlouni, A. 2007. Antiproliferative Effect of Polyphenols and Sterols of Virgin Argan Oil on Human Prostate Cancer Cell Lines. *Cancer Detect. Prev.* 31(1): 64-69.
 20. Benzie, I. and Strain, J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239 (1): 70-76.
 21. Block, A.; Thomson, CA. 1995. Position of The American Dietetic Association: phytochemicals and functional foods. *Journal American Dietetic Association* 95: 493-496.
 22. Bondioli, P.; Della, 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.

23. Bouic, P. J. 2001. The Role of Phytosterols and Phytosterolins in Immune Modulation: a Review of the Past 10 Years. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 4: 471-475.
24. Brack, A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos “Bartolomé de las Casas” 1999: 400.
25. Bramley, P.; Elmadfa, I.; Kafatos, A.; Kelly, F.; Manios, Y.; Roxborough, H.; Schuch, W.; Sheehy, P.; Wagner, K. 2000. Review vitamin E. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80 (1): 913- 938.
26. Brinkamnn. 2000. Quality criteria of industrial frying oils and fats. *European Journal of Lipid science and technology* .102: 539-541.
27. Brufau, G.; Canela, MA.; Rafecas, M. 2008. Phytosterols: physiologic and metabolic aspects related to cholesterol-lowering properties. *Nutrition Research* 28: 217–225.
28. Budin, J.; Breene, W. and Putnam, D. 1995. Some compositional properties of camelina (*Camelina sativa* L. Crantz) seeds and oils. *Journal of American Oil Chemistry Society*. 72: 309-315.
29. Cai, Z.; Jiao, D.; Tang, S.; Dao, X.; Lei, Y. and Cai, C. 2012. Leaf photosynthesis, growth, and seed chemicals of Sacha Inchi plants cultivated along an altitud gradient. *Crop Science*.52: 1859 - 1867.
30. Cao, G. and Prior, R. 1998. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry*. 44: 1309-1315.
31. Cerchiara, T.; Chidichimo, G.; Ragusa M.I.; Belsito, E.L.; Liguori, A.; Arioli, A. 2010. Characterization and utilization of Spanish Broom seed oil. *Industrial crops and products*. 31:423-426.
32. Chun, J.; Lee, J.; Ye, I.; Exler, J. y Eitenmiller, R. 2006. Tocopherol nad tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 196-204.
33. Ciftci, O.; Przybylsky, R. and Rudzinska.2012. Lipid components of flax, perilla and chia seeds. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 33 (3). <http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201100207>. [Citado 5 abril 2012]
34. Corbett, P.2003. It is time for and oil change! Opportunities for high oleic vegetables oils. *Inform* 14: 480-481.
35. Da Costa, P.; Ballus, C.; Texeiro - Filho, J.; Texeira, H. 2010. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. *Food Research International*.43: 1603-1606.

36. Dávalos, A.; Gómez-Cordovés; C and Bartolomé, B. 2004. Extending applicability of oxygen radical absorbance capacity assay. *Journal of agricultural and Food Chemistry*. 52: 48-54.
37. D'Archivio, M.; Filesi, C.; Di Benedetto, R.; Gargiulo, R.; Giovannini, C. and Masella, R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita* 43(4): 348-361.
38. De Stefani, E.; Boffetta, P.; Ronco, AL.; Brennan, P.; Deneo-Pellegrini, H.; Carzoglio, JC.; Mendilaharsu, M. 2000a. Plant Sterols and Risk of Stomach Cancer: A Case-control Study in Uruguay. *Nutr. Cancer* 37: 140-144.
39. De Stefani, E.; Brennan, P.; Boffetta, P.; Ronco, AL.; Mendilaharsu, M.; Deneo-Pellegrini, H. 2000b. Vegetables, Fruits, Related Dietary Antioxidants, and Risk of Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus: A Case-control Study in Uruguay. *Nutr. Cancer*. 38: 23-29.
40. Doster, N. ; Roque, J. ; Brokamp, G. ; Cano, A. ; La Torre, M. Datos botánicos de sacha inchi. 2009. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH: Programa Desarrollo Rural Sostenible-PDRS. Lima. 3-5.
41. Ducheteau, G.; Bauer - Plank; C.; Louter, A.; Van Der Ham, M.; Boerma, J.; Van Rooijen, J.; Zandbelt, P. 2002. Fast and accurate method for total 4- desmethyl sterol(s) content in spreads, fat – blends, and raw materials. *JAOCS*.79 (3): 273-278.
42. Dhutie, G. and Crozier, A. 2000. Plant derived phenolic antioxidants. *Curr. Opin. Lipidol*. 11:43-47.
43. El-Beltagi, H. S.; Salama, Z.A. and El- Hariri, D. M. 2007. Evaluation of fatty acids profile and the content of some secondary metabolites in seeds of different flax cultivars (*Linum usitatissimum* L.). *Gen. Appl. Plant Physiology*. 33(3-4): 187-202
44. Espin, J.; Rivas, C. and Wichers, H. 2000. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2000. 48: 648-656.
45. Fanali, Ch.; Dugo,L. Cacciola, F.; Beccaria, M.; Grasso, S.; Dacha, M.; Dugo, P. and Mondello, L. 2011. Chemical characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59: 13043-13049.
46. Feltl, L.; Pacákova, V.; Stulik, K. and Volkka, K. 2005. Reliability of Carotenoid Analyses: A Review. *Current Analytical Chemistry*. 1: 93-102

47. Fernández, I. M. 2007. Sacha Inchi – Planta promisorio. Exposición en evento. Rev. Acad. Perú Salud 14 (2):52.
48. Flores, D. Información bibliográfica sobre historia y usos tradicionales de 3 plantas seleccionadas [en línea]. Base de Datos Proyecto Perú Biodiverso. Agosto 2010. <http://es.scribd.com/doc/77786837/Uso-historico-del-Sacha-Inchi>. [Citado 28 Setiembre 2011].
49. Follegatti-Romero, L; Piantino, C; Grimaldi, R; Cabral, F. 2009. Supercritical CO₂ extraction of Omega 3 rich Oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. The Journal of Supercritical Fluids 49(3): 323-329.
50. Garmendia, F.; Prado, R. y Roncero, G. 2011. Efecto del aceite de sachá inchi sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteinemia. Rev Peru Med Exp salud Publica. 28(4): 628-632.
51. Guillén, M.; Ruiz, A.; Cabo, N.; Chirinos, R.; Pascual, G. 2003. Characterization of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR Spectroscopy and HNMR. Comparison with Linseed oil. JAOCS. 80: 755-762.
52. Gutiérrez, L.; Rosada, L. F.; Jiménez, Á. 2011. Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. Grasas y aceites 62 (1): 76-83.
53. Hai, R. 2007. Whole grain phytochemicals and health. Journal of Cereal Science
54. Halvorsen, B. and Blomhoff, R. 2011. Validation of a quantitative assay for the total content of lipophilic and hydrophilic antioxidants in foods. Food Chemistry 127: 761-768.
55. Hamaker, B.; Valles, C.; Gilman, R.; Hardmeier, RM.; Clark, D.; Garcia, HH.; Gonzales, AE.; Kohlstad, I.; Castro, M.; Valdivia, R.; Rodriguez, T.; Lescano, M.. 1992. Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis*). Cereal Chem. 69(4): 461-463.
56. Hansen, S.; Purup, S.; Christensen, L. 2003. Bioactivity of falcarinol and the influence of processing and storage on its content in carrots (*Daucus carota* L). Journal of the Science of Food and Agriculture 83(10): 1010-1017.
57. Higuchi, S., 2004. Proyecto de Ley N° 11367/2004 – C12: Ley que declara al sachá inchi como patrimonio genético Nacional y producto alternativo en la lucha contra la pobreza. Lima, 08 septiembre 2004. 14p.
58. Holub, BJ. 2002. Clinical Nutrition: 4. Omega-3 Fatty Acids in Cardiovascular Care. CMAJ. 166 (5): 608-615.

59. Homma, Y.; Ikeda, I.; Ishikawa, T.; Tateno, M.; Sugano, M.; Nakamura, H. 2003. A Randomized, Placebo-controlled Trial: Decrease in Plasma Low-density Lipoprotein Cholesterol, Apolipoprotein B, Cholesteryl Ester Transfer Protein, and Oxidized Low-density Lipoprotein by Plant Sterol-containing Spread. *Nutrition* 19(4): 369-374.
60. Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill.; Flanagan, J. and Deemer, E. 2002. Development and Validation of Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay for Lipophilic Antioxidants Using Randomly Methylated α -Cyclodextrin as the Solubility Enhancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:1815-1821.
61. Huang, D.; Ou, B. and Prior, R. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1841-1856.
62. Huang, Z.; Wang, B.; Eaves, D.; Shikany J.; Pace, R. 2007. Phenolic compound profile of selected vegetables frequently consumed by African Americans in the southeast United States. *Food Chemistry* 103: 1395–1402.
63. Instituto Nacional de Salud (INS). I Foro “Investigación y biocomercio de plantas medicinales y alimenticias de uso tradicional en el Perú”. 2008.
64. Jayaraj, PA.; Tovey, FI.; Hobsley, M. 2003. Duodenal Ulcer Prevalence: Research Into the Nature of Possible Protective Dietary Lipids. *Phytother. Res.* 17: 391-398.
65. Jones, P. J. 2002. Clinical Nutrition: 7. Functional foods — More Than Just Nutrition. *CMAJ*. 166(12): 1555-1563.
66. Jong, A.; Plat, J. and Mensink, P. 2003. Metabolic effects of plant sterols and stanols-Review. *Journal of Nutritional Biochemistry* 14: 362–369.
67. Kähkönen, M.; Hopia, A.; Vuorela, H.; Rahua, J.; Pihlaja, K.; Kulaja, T. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47: 3954-3962.
68. Kamm, W.; Dionisi, F.; Hischenhuber, C. and Engel, K. 2001. Authenticity assesment of fats and oils. *Food Rev.Int.* 17: 249-290.
69. Kwee, E. and Niemeyer, D. 2011. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry*. 128(4): 1044-1050.
70. Konczak, I. and Roule, P. 2011. Nutritional properties of commercially grown native Australian fruits: Lipophilic antioxidants and minerals. *Food Research International*. 44: 2339-2344.

71. Li, H.; Matsunaga, S.; Fusetani, N. 2005. A New 9,11-secoesterol, Stelletasterol from a Marine Sponge *Stelletta* sp. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 50(8):771-773
72. Lien, E.; Ren, S.; Bui, H.; Wang, R. 1999. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine* 26 (3-4): 285-294.
73. Magalhaes, LM.; Segundo, MA.; Reis, S.; Lima, JFC. 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal. Chem. Acta* 613:1–19.
74. Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C. Rémésy, C.; Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79(5): 727.
75. Madhujitch, T and Shahidi, F. 2007, Antioxidant and antiproliferative properties of selected barley cultivars and their potential for inhibition of low density lipoprotein cholesterol oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.55: 5018-5024.
76. Martínez-Valverde, I.; Perriago, M.; Ros, G. 2000. Significado nutricional de los componentes fenólicos de la dieta. *Arch Latinoamer Nutr.* 50 (1): 5-18.
77. Mccann, SE; Freudenheim, JL; Marshall, JR.; Brasure, JR; Swanson, MK.; Graham, S. 2000. Diet in the Epidemiology of Endometrial Cancer in Western New York (United States). *Cancer Causes Control*.11: 965-974.
78. Mccann, SE; Freudenheim, JL; Marshall, JR; Graham, S. 2003. Risk of Human Ovarian Cancer is Related to Dietary Intake of Selected Nutrients, Phytochemicals and Food Groups. *J. Nutr.* 133, 1937-1942.
79. Merino, C.; Vásquez-Ocmín, P.; Maco, M.; Del Castillo, D.; Vásquez, G.; Cachique, D.; Pasquel, A. y Sotero, V. 2008. Caracterización química de nueve accesiones de *Plukenetia volubilis* L. de los Departamentos de Loreto y San Martín. *Folia amazónica* 17 (1-2): 39-45.
80. Merino, C. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos de diez ecotipos de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha Inchi) de los departamentos de Loreto, San Martín y Amazonas. 2009. Tesis Ing. Ind.Alim. Iquitos, Perú. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 60p.
81. Michotte, D., 2009. Etude de la stabilité oxydative de l'huile de lin en présence de composés phénoliques naturels. Mémoire Bioingénieur en Agronomie, orientation Sciences, Technologie et Qualité des Aliments. Université Catholique de Louvain.50p.

82. Mostacero L.; Mejía, C. 1993. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Trujillo: CONCYTEC.219.
83. Muñoz, A.; Ramos, F.; Alvarado C.; Castañeda, B.; Barnett, E.; Yañez, J. y Cajalcón, D. 2010. Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semillas de sachá inchi. *Rev Soc Quim Perú.* 76(3):234-241.
84. Naczk, M.; Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41(5): 1523-1542.
85. Navas, J. 2005. Optimización y control de la calidad y estabilidad de aceites y productos de fritura. Memoria para optar el grado de Doctor. Barcelona, España. Universidad de Barcelona. 64 - 214p.
86. Niki, E. 2010. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo-Review. *Free Radical Biology and Medicine* 49: 503–515.
87. Nissinen, M.; Gylling, H.; Vuoristo, M.; Miettinen, TA. 2002. Micellar distribution of cholesterol and phytosterols after duodenal plant stanol ester infusion. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 282: 1009–1015.
88. Nuñez, R. Evaluación del contenido de tocoferoles y tocotrienoles en aceite de nuez de selecciones clonales de Gevuina avellana Mol.2007. Tesis Lic. Agron. Chile. Valdivia, Chile. 97p.
89. Oomah, B. D.; Kenaschuk, E. and Mazza, G. 1997. Tocopherols in flaxseed. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 45:2076-2080.
90. Oomah, B. D; Ladet, S.; Godfrey, V. D.; Liang, J. and Giarard, B. 2000. Characteristics of raspberry seed oil. *Journal of Food Chemistry.*69:187-193.
91. Ou, B.; Hampsh-Woodill, M.; Prior, R. 2001. Development and validation of an improved Oxygen Radical Absorption Capacity assay using fluorescein as a fluorescent Probe. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 49: 4619–4626.
92. Ou, B.; Huang, D.; Hampsch, M.; Flanagan, J. and Deemer, E. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxigen radical absorbance capacity (ORAC) and Ferric reducing antioxidant Power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 50: 3122-3128.
93. Ostojich, Z. y Sangronis, E. 2012. Caracterización de semillas de linaza cultivadas en Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 6(2):192-200.

94. Pariona, N. 2008. Obtención de ácidos grasos del aceite de la *Plukenetia volubilis* L. “sacha inchi” para la utilización en la industria y estudio fotoquímico cualitativo de la almendra. Tesis Ing. Qca. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 79p.
95. Pascual, G. y Mejía, M. 2000. Extracción y caracterización de aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Anales Científicos UNALM* 42: 146-160.
96. Pérez-Jiménez, J. and Saura-Calixto, F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International* 39(7): 791-800.
97. Phillips, KM.; Ruggio, DM.; Toivo, JI.; Swank, MA. and Simpkins, AH. 2002. Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *Journal of Food Composition and Analysis*. 15:123-42.
98. Phillips, K.; Ruggio, D. and Ashraf, M. 2005. Phytosterol compositions of nuts and seeds commonly consumed in the United States. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53: 9436-9445.
99. Pietta, P. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63: 1035-1042.
100. Plat, J.; Van Onselen, EN.; Van Heugten, MM. and Mensink, RP. 2000. Effects on serum lipids, lipoproteins and fat soluble antioxidant concentrations of consumption frequency of margarines and shortenings enriched with plant stanol esters. *European Journal Clinical of Nutrition* 54: 671-677.
101. Popa, V-M.; Gruia, A.; Raba, D-N.; Dumbrava, D.; Moldovan, C.; Bordean, D. and Mateescu, C. 2012. Fatty acids composition and oil characteristics of linseed (*Linum usitatissimum* L.) from Romania. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 18(2): 136-140.
102. Prior, R. 2003. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *American journal of Clinical Nutrition*. 78: 5705-5785.
103. Prior, R.; Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53(1): 4290-4302.
104. PROMPERU (Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo). 2009. *Natural Products*. Perú. 28p.

105. Proteggente, A.; Pannala, G.; Van Buren, L.; Wagner, E. and Wiseman, S. 2002. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free radical Research*. 36: 217-223.
106. Ramadan, M. and Mörsel, J. T. 2000. Direct isocratic normal-phase HPLC assay of fat-soluble vitamin and β -carotene in oilseeds. *Eur Food Res Technol*. 214: 521-527.
107. Ramadan, M.; Kroh, L. W. and Moersel, J. T. 2003. Radical scavenging activity of black cumin (*Nigella sativa L*), coriander (*Coriandrum sativum L*) and niger (*Guizotia abyssinica Cass*) crude seed oils and oil fractions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51(24): 2691-2969.
108. Ramadan, M.; Sharanabasappa, G.; Seetharam, Ramadan, M.; Sharanabasappa, G.; Seetharam, Y.; Seshagiri, M. and Moersel, J-T. 2006. Characterisation of fatty acids and bioactive compounds of kachnar seed oil. *Food Chemistry* 98: 359-365.
109. Ramadan, M. F.; Zayed, R.; El-Shamy, H. 2007. Screening of bioactive lipids and radical scavenging potential of some solanaceae plants. *Food Chemistry* 103. 885-890.
110. Rautenbach, F. and Venter, I. 2010. Hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity of commonly consumed South African fruits, vegetables, grains, legumes, fat/oils and beverages. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23: 753-761.
111. Rice-Evans, C.; Miller, N.; Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2(4): 152-159.
112. Rock, C.; Fada, RD.; Jacob, R.; Bowen, P. 1996. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: Vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *J. Am. Diet. Assoc.* 96: 693-702.
113. Rodrigues, L.; Poerner, N.; Rothenbach, I.; Valdemir, L.; Ribas, C. and Fett, R. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of blueberry cultivars grown in Brazil. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 31(4). http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010120612011000400013&script=sci_arttext. [Citado 1 Abril 2013].
114. Rodriguez- Bernaldo, A. and Costa, H. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 97-111.
115. Rojas-Barquera, D. and Narváez-Cuenca C. E. 2009. Vitamin C, total phenolic compounds and antioxidant activity in guava (*Psidium guajava L.*) fruits from Colombia. *Quím. Nova* 32 (9):49-60.

116. Rossi, M.; Alamprese, C. and Ratti, S. 2007. Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chemistry* 102: 812-817.
117. Sanchez, G. Caracterización y cuantificación de los ácidos grasos Omega 3 y Omega 6 presentes en el aceite de sacha inchi. 2012. Tesis Msc. Ciencias Qcas. Medellín, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. 131p.
118. Scalzo, J.; Politi, A.; Pellegrini, N.; Mezzeti, B. and Battino, M. 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic content in fruit. *Nutrition*: 21. 207-213.
119. Schabath, MB.; Hernandez, LM.; Wu, X.; Pillow, PC.; Spitz, MR. 2005. Dietary Phytoestrogens and Lung Cancer Risk. *JAMA* 294(12): 1493-504.
120. Schwenke, W. 2002. Does lack of tocopherols and tocotrienols put women at increased risk of breast cancer?. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 2 -20.
121. Serafini, M. and Del Rio, D. 2004. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Report* 9:145-152.
122. Sierra, I.; Morante, S. 2007. *Ciencias experimentales y tecnología*. Madrid. Editorial Dykinson. 164p.
123. Simpson, K. L.; Tsu, S. C. S.; Chichester, C. O. 1985. Vitamin A: Methods of vitamin assay. 185-220.
124. Singleton, V. L. and Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology Viticulture*. 16: 2349-2351.
125. Sotero V.; Silva L.; Imán S. y García, D. 2009. Actividad antioxidante y caracterización por HPLC de los principios bioactivos del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.) y Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Rev. Soc. Quím. Perú*. 75(3): 293-299.
126. Soto, M.; Moure, A.; Domínguez, H.; Parajó, J. 2011. Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: A review. *Journal of Food Engineering* 105(1): 1-27.
127. Sreeramulu, D. and Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Research International*. 43:1017-1020.

128. Stewart, A. J.; Bozonnet, S.; Mullen, W.; Jenkins, G.I.; Lean, M. and Crozier, A. 2000. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2663-2669.
129. Talcott, TS.; Howard, RL. 1999. Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47: 2109-2115.
130. Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros, L. and Hawkins, D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Composition and Analysis*. 19: 669–675.
131. Theriault, A.; Chao, J.; Wang, Q.; Gapor, A. and Adeli, K. 1999. Tocotrienol: A review of its therapeutic potential. *Clinical Biochemistry*. 32 (59): 309-319.
132. Valles, CR. 1992. *Revista Pura Selva*. Tingo María, Perú..
133. Valles, C. R. 1995. “Sacha inchi”. *Revista Agronómica Agroenfoque*. Lima, Perú.
134. Vasco, C.; Ruales, J. and Kamal Eldin, A. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry* 111: 816-823.
135. Vasconcellos, A. 2001. *Alimentos Funcionales. Conceptos y beneficios para la salud*. Orange, California, USA. Departamento de Ciencia de Alimentos y Nutrición. Universidad de Chapman.
136. Villarreal, J., Lombardini, L. and Cisneros, L. 2007. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan cultivars. *Food Chemistry*. 102: 1241-1249.
137. Wagner, K.; Kamal-Eldin, A. y Elmadfa, I. 2004. γ -Tocopherol-an underestimated vitamin? *Annals of nutrition and metabolism*. 48(39):169-188.
138. Warner, K. y Frankel, E.N. 1987. Effect of β -carotene on light stability of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 64: 213-218.
139. Wu, X.; Beecher, G. Holden, M.; Haytowitz, D.; Gebhardt, S.; Prior, R. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J. Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52:4026-4037.
140. Yang, J.; Hai, R.; Halim, L. 2009. Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds. *Food science and Technology* 42(1): 1-8.
141. Yoshida, Y.; Niki, E.; Noguchi, N. 2003. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. *Chemistry and Physical of Lipids* 123(1): 63 – 75.
142. Zeb, A.; Mehmood, S. 2004. Carotenoids Contents from Various Sources and Their Potential Health Applications. *Pakistan Journal of Nutrition* 3(3): 199-204.

143. Zeitlin, MF.; Megawangi, R.; Kramer, EM.; Armstrong, HC. 1992. Mothers and children's intakes of vitamin A in rural Bangladesh. *Am. J. Clin. Nutr.* 56:136-137.
144. Zhou, K and Lu, L. 2006. Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. *L.W.T.* 39:1155-1162.







ANEXOS









ANEXO A









1. Ficha de datos del material genético de la colección nacional de Sacha Inchi: procedente de la Estación Experimental Agraria « El Porvenir » del INIA. Campaña 2010-2011




CODIGO	IDENTIFICACION	DEPARTAMENTO	PROVINCIA	DISTRITO
PER000394	Shilcayo	San Martín	Maynas	Banda de Shilcayo
PER000395-A	Pinto Recodo	San Martín	Lamas	Pinto recodo
PER000401	Caballococha	Loreto	Mariscal R. Castilla	Ramón Castilla
PER000403	Santa Clara Alto	Loreto	Maynas	Alto Nanay
PER000405	Muyuy	Loreto	Requena	Capelo
PER000406-A	Pacaya	Loreto	Requena	Puinahua
PER000406-B	Pacaya	Loreto	Requena	Puinahua
PER000408-B	Río Mamón	Loreto	Maynas	Punchana
PER000416	Chazuta	San Martín	San Martin	chazuta
PER000417	Saposoa	San Martín	Huallaga	Saposoa
PER000418	Moyobamba	San Martín	Moyobamba	Moyobamba
PER000420	Río Palmira	Loreto	Maynas	Alto Nanay
PER000421	Alto Shamboyacu	San Martín	Lamas	Lamas
PER000422	Alto pucayacu	San Martín	Lamas	Zapatero
PER000597	Chirapa	San Martín	El Dorado	Santa Rosa
PER000598	Shapaja	San Martín	San Martin	Shapaja

2. Galería de fotografías de las semillas y de las almendras de los 16 cultivares de sachá inchi

Código/Identificación/ Departamento	SACHA INCHI	
	SEMILLAS	ALMENDRAS
<p>PER000394 Shilcayo San Martín</p>		
<p>PER000395- A Pinto Recodo San Martín</p>		
<p>PER000401 Cabalcocha Loreto</p>		

<p>PER000403 Santa Clara Alto Loreto</p>	 <p>CODIGO: PER000403 IDENTIFICACION: SANTA CLARA ALTO DEPARTAMENTO: LORETO</p>	 <p>CODIGO: PER000403 IDENTIFICACION: SANTA CLARA ALTO DEPARTAMENTO: LORETO</p>
<p>PER000405 Muyuy Loreto</p>	 <p>CODIGO: PER000405 IDENTIFICACION: MUYUY DEPARTAMENTO: LORETO</p>	 <p>CODIGO: PER000405 IDENTIFICACION: MUYUY DEPARTAMENTO: LORETO</p>
<p>PER000406-A Pacaya Loreto</p>	 <p>CODIGO: PER000406-A IDENTIFICACION: PACAYA DEPARTAMENTO: LORETO</p>	 <p>CODIGO: PER000406-A IDENTIFICACION: PACAYA DEPARTAMENTO: LORETO</p>
<p>PER000406-B Pacaya Loreto</p>	 <p>CODIGO: PER000406-B IDENTIFICACION: PACAYA DEPARTAMENTO: LORETO</p>	 <p>CODIGO: PER000406-B IDENTIFICACION: PACAYA DEPARTAMENTO: LORETO</p>

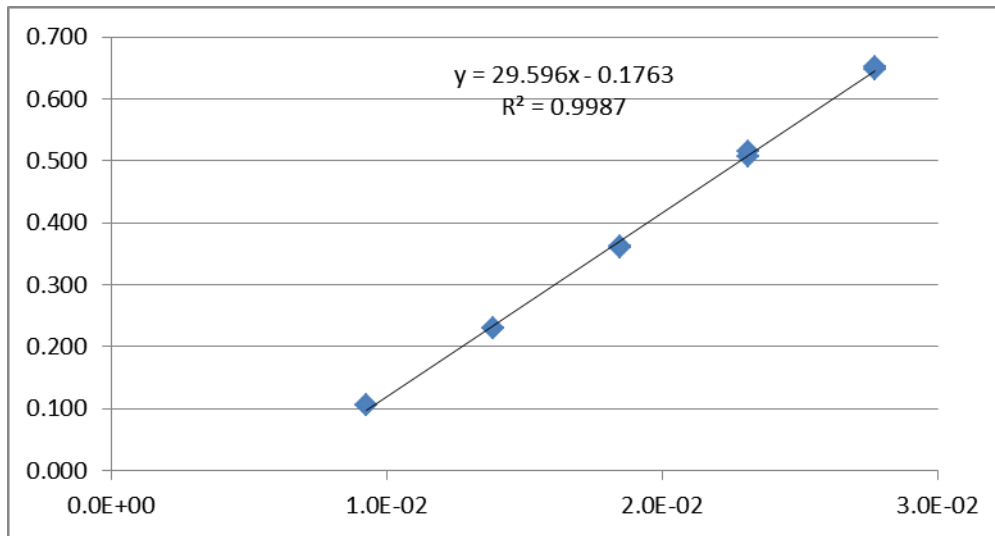
<p>PER000408-B Rio Mamon Loreto</p>		
<p>PER000416 Chazuta San Martín</p>		
<p>PER000417 Saposoa San Martín</p>		
<p>PER000418 Moyobamba San Martín</p>		

<p>PER000420 Rio Palmira Loreto</p>		
<p>PER000421 Alto Shamboyacu San Martín</p>		
<p>PER000422 Alto Pucayacu San Martín</p>		
<p>PER017597 Chirapa San Martín</p>		

PER017598
Shapaja
San Martín

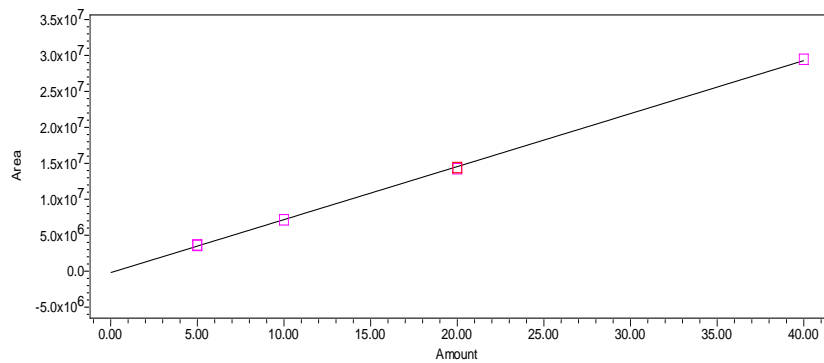


3. Curva estándar de los compuestos fenólicos

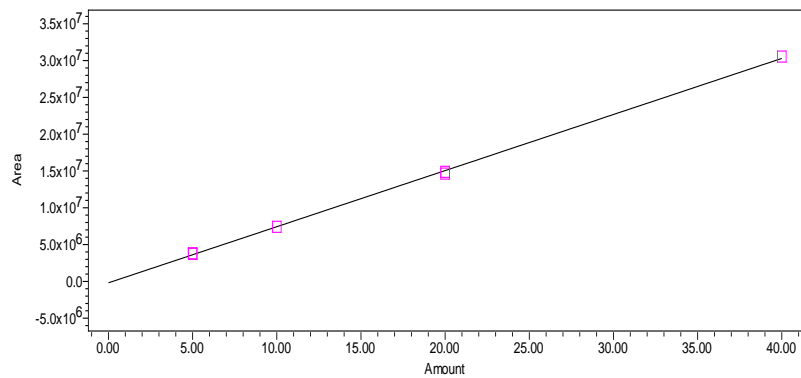


4. Curva estándar de tocoferoles

α - tocoferol
 $y = 7.37 \times 10^5 x - 1.94 \times 10^5$
 $R^2 = 0.999$
"x" en ug/ml



β - tocoferol
 $y = 7.62 \times 10^5 x - 1.93 \times 10^5$
 $R^2 = 0.999$
"x" en ug/ml

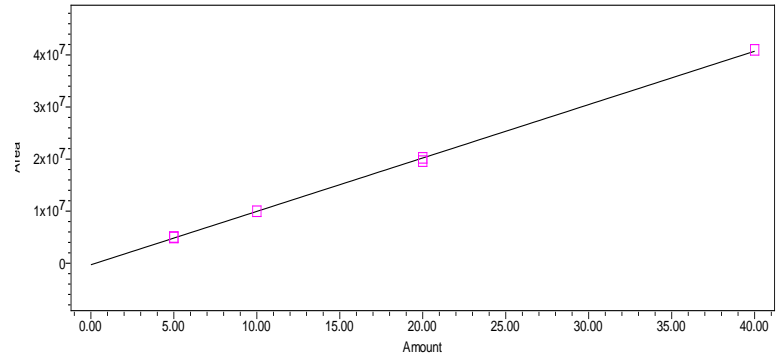


γ - tocoferol

$$y = 9.33 \times 10^5 x - 1.76 \times 10^5$$

$$R^2 = 0.999$$

"x" en ug/ml

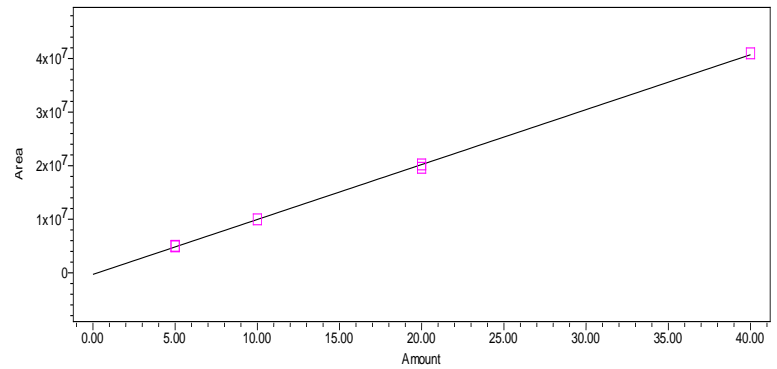


σ - tocoferol

$$y = 1.03 \times 10^6 x - 2.94 \times 10^5$$

$$R^2 = 0.999$$

"x" en ug/ml



5. Curva estándar de fitoesteroles

Campesterol

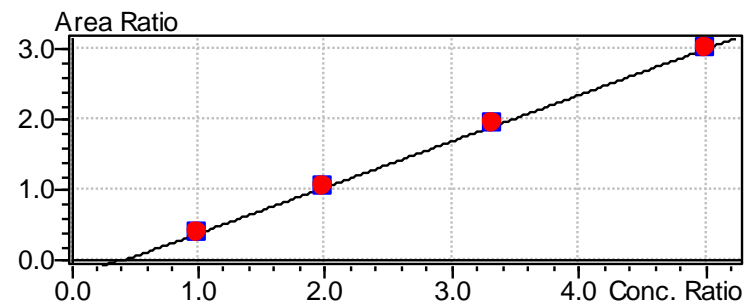
$$Y = aX + b$$

$$a = 0.6545996$$

$$b = -0.2517545$$

$$R^2 = 0.9998544$$

$$R = 0.9999272$$



Estigmasterol

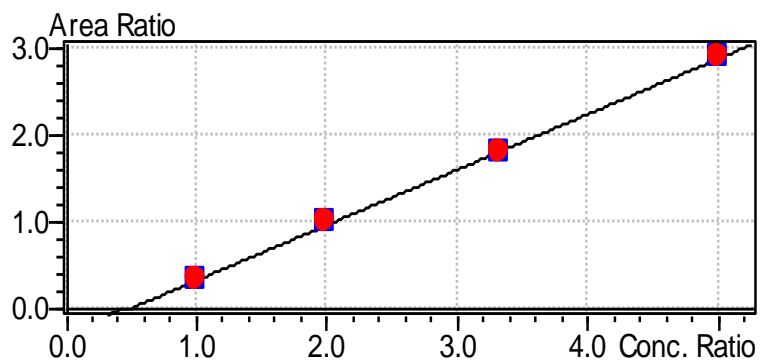
$$Y = aX + b$$

$$a = 0.6327479$$

$$b = -0.2814789$$

$$R^2 = 0.9999166$$

$$R = 0.9999583$$



β - Sitosterol

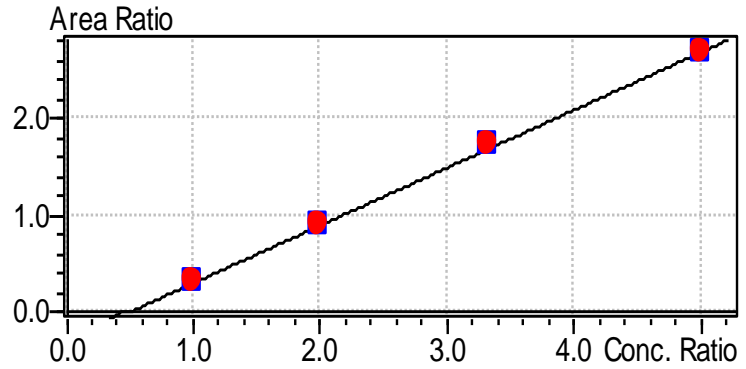
$$Y = aX + b$$

$$a = 0.5927812$$

$$b = -0.2785481$$

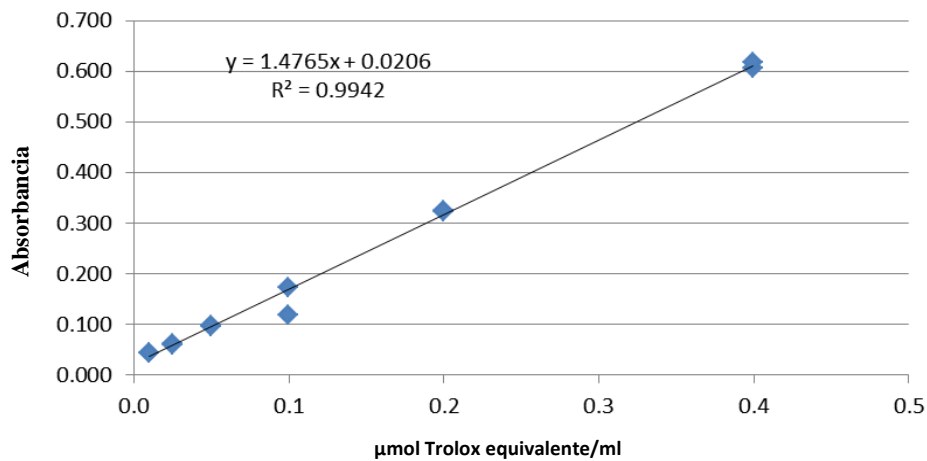
$$R^2 = 0.9996837$$

$$R = 0.9998418$$

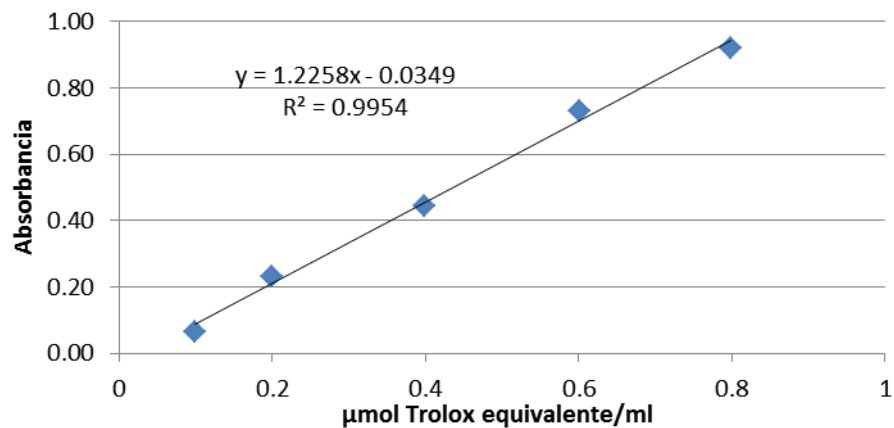


6. Curva estándar usada en el método TEAC-ABTS

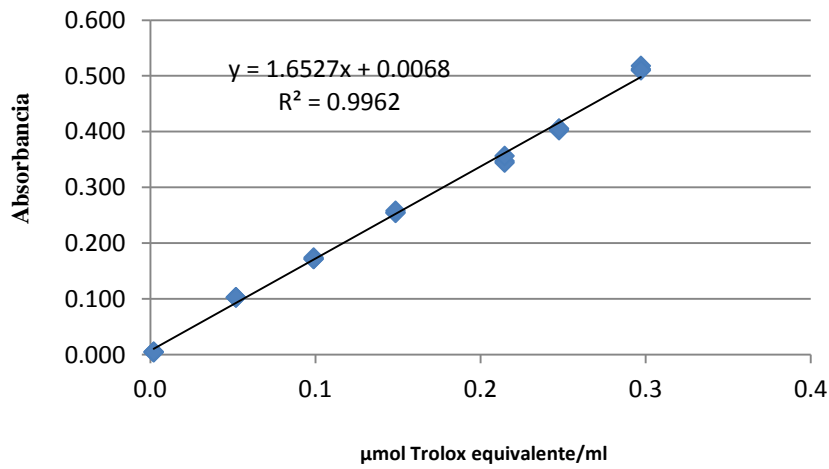
- Capacidad antioxidante hidrofílica.



- Capacidad antioxidante lipofílica

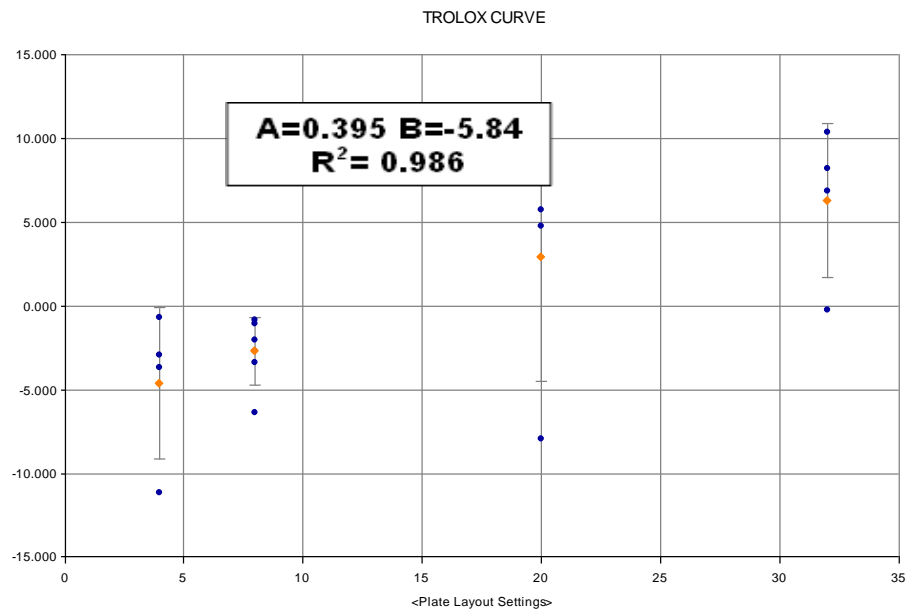


7. **Curva estándar usada en el método de capacidad antioxidante con FRAP**

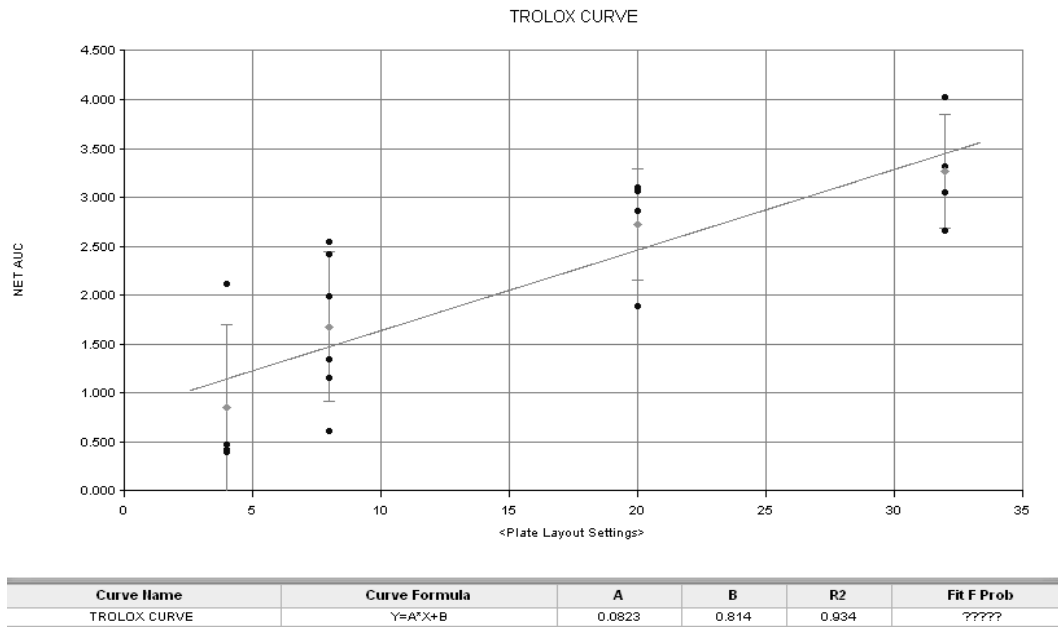


8. **Curva estándar usada en el método de capacidad antioxidante con ORAC**

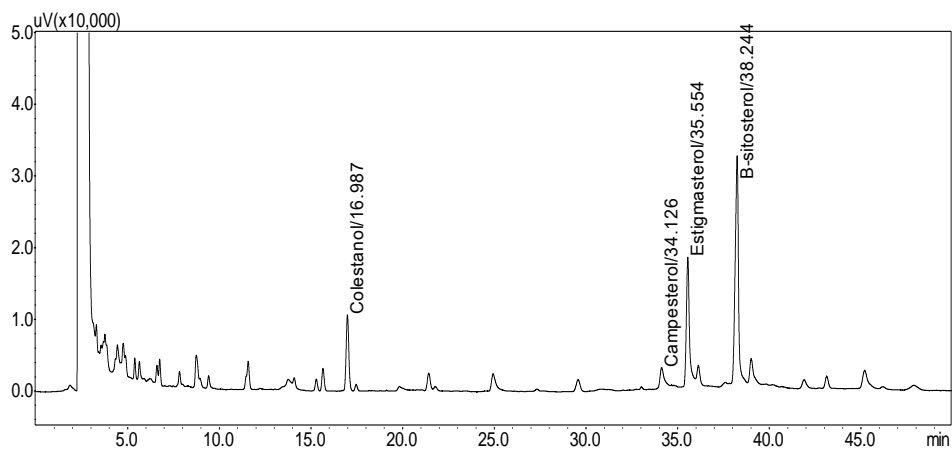
- **ORAC hidrofílico**



- **ORAC lipofílico**

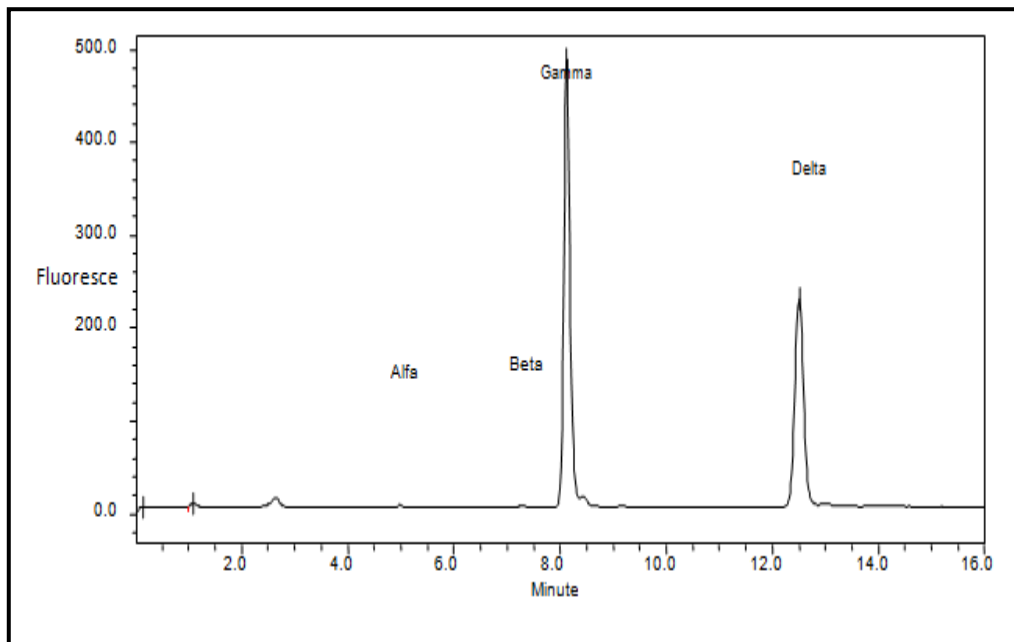


9. Cromatograma de CG de Fitoesteroles
Cultivar PER000420



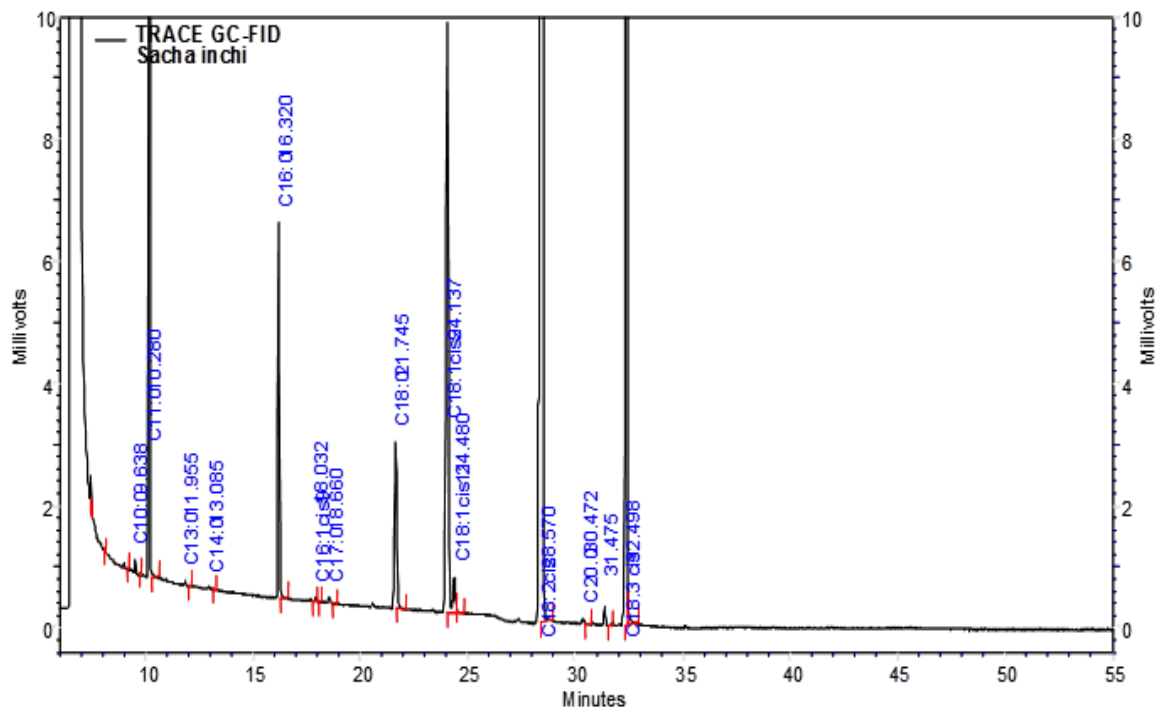
10. Cromatograma HPLC de Tocoferoles

Cultivar PER000420



11. Cromatograma de CG de Ácidos grasos

Cultivar PER000420



ANEXO B

1. Análisis estadístico para evaluar el contenido de humedad de las almendras de sachá inchi

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,155	15	,144	3,247	,003
Intra-grupos	1,416	32	,044		
Total	3,572	47			

2. Análisis estadístico para evaluar el contenido de compuestos fenólicos

ANOVA

FENOLICOS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	790,519	15	52,701	25,202	,000
Intra-grupos	66,916	32	2,091		
Total	857,434	47			

3. Análisis estadístico para evaluar el contenido de tocoferoles

- alfa tocoferol

ANOVA

ALFATOCOFEROL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,085	15	,006	4,398	,000
Intra-grupos	,041	32	,001		
Total	,126	47			

- beta-tocoferol

ANOVA

BETATOCOFEROL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,239	15	,016	20,245	,000
Intra-grupos	,025	32	,001		
Total	,264	47			

- **gamma-tocoferol**

ANOVA

GAMMATOCOFEROL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2618,550	15	174,570	17,868	,000
Intra-grupos	312,632	32	9,770		
Total	2931,182	47			

- **delta-tocoferol**

ANOVA

DELTATOCOFEROL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2393,764	15	159,584	42,991	,000
Intra-grupos	118,784	32	3,712		
Total	2512,549	47			

4. Análisis estadístico para evaluar el contenido de Ácidos grasos

- **Ácido Palmítico**

ANOVA

AC.PALMÍTICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,618	15	,041	35,564	,000
Intra-grupos	,037	32	,001		
Total	,655	47			

- **Ácido Esteárico**

ANOVA

ÁC. ESTEÁRICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,271	15	,018	25,555	,000
Intra-grupos	,023	32	,001		
Total	,293	47			

- **Ácido Oleico**

ANOVA

ÁC. OLEICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,953	15	,264	118,877	,000
Intra-grupos	,071	32	,002		
Total	4,024	47			

- **Ácido Vaccénico**

ANOVA

ÁC. VACCENICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,012	15	,001	1,930	,058
Intra-grupos	,013	32	,000		
Total	,026	47			

- **Ác.Linoleico**

ANOVA

ÁC.LINOLEICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	14,506	15	,967	698,017	,000
Intra-grupos	,044	32	,001		
Total	14,550	47			

- **Ác. α -linolénico**

ANOVA

ÁC α -LINOLÉNICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	20,167	15	1,344	60,233	,000
Intra-grupos	,714	32	,022		
Total	20,881	47			

5. Análisis estadístico para evaluar el contenido de carotenoides

ANOVA

CAROTENOIDES

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,002	15	,000	13,944	,000
Intra-grupos	,000	32	,000		
Total	,003	47			

6. Análisis estadístico para evaluar el contenido de fitosteroles

- Campesterol

ANOVA

CAMPESTEROL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11,220	15	,748	2,549	,000
Intra-grupos	9,389	32	,293		
Total	20,609	47			

- Estigmasterol

ANOVA

ESTIGMASTEROL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	109,634	15	7,309	4,181	,000
Intra-grupos	55,945	32	1,748		
Total	165,579	47			

- Sitosterol

ANOVA

SITOSTEROL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	258,714	15	17,248	5,557	,000
Intra-grupos	99,321	32	3,104		
Total	358,035	47			

7. Análisis estadístico para evaluar la capacidad antioxidante por el método FRAP

ANOVA

FRAP

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1,573	15	,105	195,684	,000
Intra-grupos	,017	32	,001		
Total	1,590	47			

8. Análisis estadístico para evaluar la capacidad antioxidante por el método ABTS

ANOVA

CAT- ABTS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	844,102	15	56,273	35,443	,000
Intra-grupos	50,807	32	1,588		
Total	894,910	47			

ANOVA

ABTS-HIDROFÍLICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11,013	15	,734	46,447	,000
Intra-grupos	,506	32	,016		
Total	11,519	47			

ANOVA

ABTS-LIPOFÍLICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8286,790	15	552,453	4,281	,000
Intra-grupos	4129,218	32	129,038		
Total	12416,008	47			

9. Análisis estadístico para evaluar la capacidad antioxidante por el método ORAC

ANOVA

CAT-ORAC

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	46,733	15	3,116	45,096	,000
Intra-grupos	2,211	32	,069		
Total	48,943	47			

ANOVA

ORAC-HIDROFÍLICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	27,262	15	1,817	26,164	,000
Intra-grupos	2,223	32	,069		
Total	29,484	47			

ANOVA

ORAC-LIPOFÍLICO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11,312	15	,754	161,599	,000
Intra-grupos	,149	32	,005		
Total	11,461	47			