

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA: BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Tesis previa a la obtención del título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

EVALUACIÓN LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS ACEITES Y DE SU FRACCIÓN INSAPONIFICABLE DE LOS FRUTOS DE: *Mauritia flexuosa* (Morete), *Bactris gasipaes* (Chonta), *Plukenetia volubilis* (Sacha inchi) y *Oneocarpus batahua* (Ungurahua) UTILIZANDO LOS MÉTODOS DPPH Y EL TEST DEL B-CAROTENO.

AUTORA:

ANA MARÍA MARTÍNEZ CHILQUINGA

DIRECTOR:

QUÍMICO PACO NORIEGA MSC.

Quito, Septiembre del 2011

APROBACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, dejo constancia que he leído el Trabajo de Grado presentado por la señorita Ana María Martínez Chiliquina para optar por el título en Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales, cuyo título es: **Evaluación la actividad antioxidante de los aceites y de su fracción insaponificable de los frutos de: *Mauritia flexuosa* (Morete), *Bactris gasipaes* (Chonta), *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi) y *Oneocarpus batahua* (Ungurahua) utilizando los métodos DPPH y el test del β -caroteno**; y certifico que reúne los méritos suficientes para ser sometido a evaluación por el jurado examinador.

En la ciudad de Quito a los 8 días del mes de septiembre del 2011

(f)_____

Paco Fernando Noriega Rivera.
DIRECTOR DE TESIS

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Los conceptos desarrollados, análisis realizados y conclusiones del presente trabajo, son de exclusiva responsabilidad de:

Quito, Septiembre 8 del 2012.

(f)_____

Ana María Martínez

DEDICATORIA

Durante estos cinco años de lucha constante, gratas vivencias, momentos de éxito, aunque también de angustias; para poder cumplir mis objetivos; queda demostrado que lo que en realidad importa no renunciar jamás.

Los deseos de alcanzar uno de mis anhelos, culminar mi carrera, eran tan grandes que vencer todos los obstáculos encontrados para ello fue un dulce aprendizaje, un camino más por el cual agradezco, ya que ha colaborado con mi autoconocimiento y crecimiento personal.

Por ello, permitiéndome usar las palabras de Rubén Sada, debo dedicar este triunfo a quien de verdad lo vivió:

A ti, que no posees ningún pavor ni miedo,
que has atravesado la subida y también el descenso,
que has estado en la cima, y en el pozo ciego,
no bajes los brazos, pasará el mal momento.

animalito

El mejor ángel y héroe que conozco

AGRADECIMIENTO

A Dios por bendecirme tanto, dejarme ser quien soy y darme fuerzas para terminar mi carrera y esta investigación cumpliendo así una más de mis metas.

A mis padres Laura y Darío por ser todo para mi, el mejor ejemplo de vida, brindarme todo el amor, apoyo y confianza. Lo hicimos juntos.

A mi ñaña Blanca, eje en la mayoría de mis decisiones, siempre me ha aconsejado para ser mejor cada día, a mis primos y tíos por ser una fuente más de inspiración y dedicación.

Con grato cariño y reconocimiento al MSC. Paco Noriega, por ser el guía en cada uno de los procedimientos realizados, gracias por su amistad y toda la dedicación prestada.

Al Qm. Christian Larenas lector y miembro del tribunal examinador de esta investigación, por brindarme su tiempo para la revisión

A la Dra. María Elena Maldonado por su colaboración, amabilidad y agilidad en todo trámite a lo largo de la carrera y de la presentación de esta tesis.

A los docentes de Biotecnología por el tiempo y enseñanzas impartidas.

Al CIVABI junto a su equipo de trabajo, la Ing. Tatiana Mosquera que aprobó el desarrollo de mi proyecto en las instalaciones a su cargo y especialmente a Angelita y Sandra, que con su apoyo diario, facilitaron el desarrollo de esta investigación. Mis más sentidos agradecimientos.

Con especial cariño a Cesar Iván y Cristina, más que mis ñaños son mis hermanos.

A mis amigos del colegio, por tanto tiempo juntos y su amistad incondicional: Carly, Elsitá, Joyce, Paúl, Pao, Sofy, Luisda, Vane, nada hubiera sido igual sin ustedes chic@s

A mis compañeros de carrera: la primera promoción de Biotecnólogos de la Universidad; marquemos la diferencia.

A mis ñaños: Miriam, Diego, Jomy, Andre; mis guambras; todos partes importantes en diferentes etapas de mi vida, siempre los llevare en mi corazón.

Y a todos los que de un modo u otro impulsaron de manera desinteresada el proyecto hasta que concluya de manera satisfactoria.

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN DEL TUTOR	II
DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO	V
ÍNDICE GENERAL.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XIII
ÍNDICE DE ANEXOS	XV
1.- GENERALIDADES.	- 1 -
1.1. Objetivos	- 1 -
1.1.1. General	- 1 -
1.1.2. Específicos	- 1 -
1.2. Justificación	- 1 -
1.3. Introducción	- 3 -
2. MARCO TEÓRICO.....	- 5 -
2.1. Especies vegetales.....	- 5 -
2.1.1. “Chonta”, <i>Bactris gasipaes</i> K., <i>Arecaceae</i>	- 5 -
2.1.1.1. Taxonomía	- 5 -
2.1.1.2. Descripción	- 5 -
2.1.1.3. Hábitat.....	- 6 -
2.1.1.4. Geobotánica.....	- 6 -
2.1.1.5. Distribución	- 6 -
2.1.1.6. Composición química	- 7 -
2.1.1.7. Usos.....	- 7 -
2.1.2. “Morete”, <i>Mauritia flexuosa</i> L.f., <i>Arecaceae</i>	- 8 -
2.1.2.1. Taxonomía	- 8 -
2.1.2.2. Descripción	- 8 -
2.1.2.3. Hábitat.....	- 9 -
2.1.2.4. Geobotánica.....	- 9 -
2.1.2.5. Distribución	- 9 -
2.1.2.6. Composición química	- 10 -
2.1.2.7. Usos.....	- 10 -
2.1.3. “Ungurahua”, <i>Oenocarpus bataua</i> M. , <i>Arecaceae</i>	- 12 -
2.1.3.1. Taxonomía	- 12 -

2.1.3.2. Descripción	- 12 -
2.1.3.3. Hábitat.....	- 13 -
2.1.3.4. Geobotánica.....	- 13 -
2.1.3.5. Distribución	- 13 -
2.1.3.6. Composición química	- 14 -
2.1.3.7. Usos.....	- 14 -
2.1.4. “Sacha Inchi”, <i>Plukenetia volubilis</i> L.f, Euphorbiaceae.....	- 14 -
2.1.4.1. Taxonomía	- 14 -
2.1.4.2. Descripción	- 15 -
2.1.4.3. Hábitat.....	- 15 -
2.1.4.4. Geobotánica.....	- 16 -
2.1.4.5. Distribución	- 16 -
2.1.4.6. Composición química	- 16 -
2.1.4.7. Usos.....	- 17 -
2.2. Aceites Fijos	- 18 -
2.2.1. Procesos de extracción	- 18 -
2.2.2. Clasificación de los aceites fijos	- 20 -
2.2.3. Análisis de aceites.....	- 22 -
- Índice de acidez (IA).-	- 23 -
- Índice de saponificación (IS)	- 23 -
- Índice de Peróxidos (IP).....	- 23 -
- Composición de los aceites fijos.-	- 24 -
2.2.4. Usos de los aceites fijos	- 24 -
2.3. Insaponificable.....	- 25 -
2.3.1 Categorización de los insaponificables	- 26 -
2.4. Actividad Antioxidante	- 28 -
2.4.1 Antioxidantes.....	- 29 -
2.4.1.1. Categorización de los Antioxidantes.....	- 29 -
Antioxidantes enzimáticos:.....	- 30 -
2.4.2 Métodos de evaluación de la actividad antioxidante	- 34 -
2.4.3. Importancia de la actividad antioxidante	- 39 -
2.4.4. Aplicaciones de los antioxidantes	- 40 -
2.4.5. Uso industrial de los antioxidantes	- 41 -
2.4.6. Aceites con actividad antioxidante.....	- 42 -
3.- MARCO METODOLÓGICO	- 45 -
3.1. Extracción u obtención de aceites fijos	- 45 -
3.1.1. Recolección del material vegetal	- 45 -
3.1.1.1 Extracción del aceite de Chonta	- 45 -
3.1.1.2 Extracción del aceite de Morete	- 46 -
3.1.1.3 Aceite de Sacha Inchi.....	- 46 -

3.1.1.4 Aceite de Ungurahua.....	- 46 -
3.2 Análisis de calidad de los aceites en estudio	- 46 -
3.2.1. Constantes físicas	- 47 -
3.2.1.1. Peso específico.....	- 47 -
Materiales, equipos y reactivos	- 47 -
3.2.1.2 Índice de refracción	- 47 -
Materiales, equipos y reactivos	- 48 -
3.2.2. Constantes químicas	- 48 -
3.2.2.1 Índice de acidez	- 48 -
Materiales, equipos y reactivos	- 48 -
3.2.2.2 Índice de saponificación	- 49 -
Materiales y/o Equipos y reactivos	- 49 -
3.2.2.3. Índice de peróxidos	- 50 -
Materiales, equipos y reactivos	- 50 -
3.2.3. Cuantificación del contenido de Carotenoides	- 51 -
Materiales y/o Equipos y reactivos	- 51 -
3.2.4. Análisis cualitativo y cuantitativo de la composición de ácidos grasos	- 52 -
Materiales, equipos y reactivos	- 52 -
Condiciones de análisis.....	- 52 -
Diagrama de Flujo	- 54 -
3.3. Extracción y cuantificación de la fracción Insaponificable.	- 55 -
Materiales y/o equipos y reactivos.....	- 55 -
Diagrama de Flujo	- 56 -
3.4. Evaluación de la actividad Antioxidante	- 57 -
3.4.1. Método DPPH	- 57 -
Materiales y/o Equipos y reactivos	- 58 -
3.4.2. Test del β -caroteno.	- 60 -
Materiales y/o Equipos y reactivos	- 61 -
Diagrama de flujo	- 62 -
3.5. Flujograma del proceso investigativo	- 59 -
4.- RESULTADOS	- 60 -
4.1 Rendimiento los aceites extraídos	- 60 -
Aceite de Chonta.....	- 60 -
Aceite de Morete	- 60 -
4.2. Análisis de los aceites.....	- 61 -
4.2.1 Constantes físicas y químicas	- 61 -
4.2.2. Cuantificación de Carotenoides.....	- 62 -
4.2.3. Perfil de ácidos grasos de los aceites por cromatografía gaseosa	- 63 -

4.3.	Porcentaje de fracción insaponificable	- 65 -
4.4.	Evaluación de la Actividad Antioxidantes	- 65 -
4.4.1.	Método DPPH	- 65 -
4.4.1.1.	BHA (antioxidante de referencia).....	- 65 -
4.4.1.2.	Aceite de Chonta.....	- 67 -
4.4.1.3.	Aceite de Morete	- 68 -
4.4.1.4.	Aceite de Ungurahua.....	- 69 -
4.4.1.5.	Aceite de Sacha Inchi.....	- 70 -
4.4.1.6.	Fracción insaponificable del Aceite de Chonta	- 71 -
4.4.1.7.	Fracción insaponificable del Aceite de Morete.....	- 72 -
4.4.1.8.	Fracción insaponificable del Aceite de Ungurahua	- 73 -
4.4.1.9.	Fracción insaponificable del Aceite de Sacha Inchi	- 74 -
4.4.10.	Comparación entre Valores de IC 50	- 75 -
4.4.2	Test del β -caroteno.....	- 76 -
4.4.2.1.	Aceites	- 76 -
4.4.2.2.	Fracciones Insaponificables	- 79 -
4.4.3	Comparación entre % de la Actividad Antioxidante (AA) ...	- 81 -
4.4.3.1.	Aceites	- 82 -
4.4.3.2.	Insaponificables de los Aceites	- 82 -
5.-	DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	- 84 -
5.1.	De la Extracción de Aceites:	- 84 -
5.2.	De los análisis de calidad de los aceites.....	- 84 -
5.3.	De la extracción de las fracciones insaponificables	- 88 -
5.4.	De la evaluación de la actividad antioxidante	- 89 -
5.4.1.	Método del DDPH.....	- 89 -
5.4.2	Test del β -caroteno	- 91 -
	BIBLIOGRAFÍA	- 93 -
	ANEXOS.....	- 99 -
	FOTOS DEL PROCESO DE RECOLECCIÓN Y TROCEADO.....	- 99 -
	FOTOS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITES	- 100 -
	FOTOS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE INSAPONIFICABLES	- 102 -
	FOTOS DEL PROCESO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	- 103 -
	Tablas para obtención de las constantes físicas	- 104 -
	Tablas para obtención de las constantes químicas	- 104 -

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Familia de lípidos	- 21 -
Tabla 2: Concentraciones usadas para aplicar el método del DPPH.....	- 57 -
Tabla 3: Calculo del rendimiento del aceite de Chonta.....	- 60 -
Tabla 4: Calculo del rendimiento del aceite de Morete	- 60 -
Tabla 5.- Ficha Técnica del Aceite de “Chonta”. <i>Bactris gasipaes</i>	- 61 -
Tabla 6.- Ficha Técnica del Aceite de “Morete”, <i>Mauritia flexuosa</i>	- 61 -
Tabla 7.- Ficha Técnica del Aceite de “Ungurahua”, <i>Oenocarpus bataua</i> -	62 -
Tabla 8.- Ficha Técnica del Aceite de “Sacha Inchi”, <i>Plukenetia volubilis</i> -	62 -
Tabla 9: Cuantificación de carotenoides en los aceites	- 63 -
Tabla 10: Porcentaje de ácidos grasos en el aceite de Chonta	- 63 -
Tabla 11: Porcentaje de ácidos grasos en el aceite de Morete	- 64 -
Tabla 12: Porcentaje de ácidos grasos en el aceite de Ungurahua	- 64 -
Tabla 13: Porcentaje de ácidos grasos en el aceite de Sacha Inchi	- 64 -
Tabla 14: Calculo de la fracción insaponificable extraída de cada aceite .-	65 -
Tabla 15: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del BHA	- 66 -
Tabla 16: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del Aceite de Chonta	- 67 -
Tabla 17: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del Aceite de Morete	- 68 -
Tabla 18: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del Aceite de Ungurahua	- 69 -
Tabla 19: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del Aceite de Sacha Inchi	- 70 -
Tabla 20: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición de la fracción Insaponificable del Aceite de Chonta	- 71 -

Tabla 21: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición de la fracción Insaponificable del Aceite de Morete.....	- 72 -
Tabla 22: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición de la fracción Insaponificable del Aceite de Ungurahua	- 73 -
Tabla 23: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición de la fracción Insaponificable del Aceite de Sacha Inchi	- 74 -
Tabla 24: Comparación entre valores de IC50 de los aceites.....	- 75 -
Tabla 25: Comparación entre valores de IC 50 de las fracciones Insaponificables de los aceites.....	- 75 -
Tabla 26.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno del Aceite de Chonta	- 77 -
Tabla 27.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno del aceite de Morete	- 77 -
Tabla 28.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno del aceite de Ungurahua.....	- 77 -
Tabla 29.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno del aceite de Sacha Inchi.....	- 78 -
Tabla 30.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno de la fracción insaponificable del aceite de Chonta.	- 79 -
Tabla 31.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno de la fracción insaponificable del aceite de Morete	- 80 -
Tabla 32.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno de la fracción insaponificable del aceite de Ungurahua	- 80 -
Tabla 33.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno de la fracción insaponificable del aceite de Ungurahua	- 80 -

Tabla 34.- Resumen de los % de la Actividad Antioxidante en los Aceites de Chonta, Morete, Ungurahua y Sacha Inchi, según el test del β -caroteno . -	82 -
Tabla 35.- Resumen de los % de la Actividad Antioxidante en las fracciones insaponificables de los aceites de Chonta, Morete, Ungurahua y Sacha Inchi, según el test del β -caroteno	82 -
Tabla 36: Calculo de peso específico de los aceites	104 -
Tabla 37: Calculo del índice de refracción de los aceites	104 -
Tabla 38: Calculo del índice de acidez de los aceites	104 -
Tabla 39: Calculo del índice de saponificación de los aceites	105 -
Tabla 40: Calculo del índice de peróxidos de los aceites (N = 0.1)	105 -
Tabla 41: Calculo del índice de peróxidos de los aceites (N = 0.01)	105 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Reacción de reducción del DPPH.....	38 -
Gráfico 2.- Reacción de la formación del radical peróxido.....	39 -
Gráficos 3 y 4.- Absorbancia del BHA (der.) y % de Inhibición del BHA (izq.) versus la concentración del antioxidante.....	66 -
Gráfico 5 y 6: Absorbancia del Aceite de Chonta (der.) y % de Inhibición del Aceite de Chonta (izq.).....	67 -
Gráfico 7 y 8.- Absorbancia del Aceite de Morete (der.) y % de Inhibición del Aceite de Morete (izq.)	68 -
Gráfico 9 y 10 : Absorbancia del Aceite de Ungurahua (der.) y % de Inhibición del Aceite de Ungurahua (izq.).....	69 -
Gráfico 11 y 12: Absorbancia del Aceite de Sacha Inchi (der.) y % de Inhibición del Aceite de Sacha Inchi (izq.)	70 -
Gráfico 13 y 14.- Absorbancia del Insaponificable del Aceite de Chonta (der.) y % de Inhibición del insaponificable Aceite de Chonta (izq.)	71 -

Gráfico 15 y 16.- Absorbancia del Insaponificable del Aceite de Morete (der.) y % de Inhibición del insaponificable Aceite de Morete (izq.)	- 72 -
Gráfico 17 y 18.- Absorbancia del Insaponificable del Aceite de Ungurahua (der.) y % de Inhibición del insaponificable Aceite de Ungurahua (izq.) ...	- 73 -
Gráfico 19 y 20.- Absorbancia del Insaponificable del Aceite de Sacha Inchi (der.) y % de Inhibición del insaponificable Aceite de Sacha Inchi (izq.) ..	- 74 -
Gráfico 21: Comparación del IC50 de los aceites y sus fracciones insaponificables	- 76 -
Gráfico 22: Absorbancia de los aceites Chonta, Morete, Ungurahua y Sacha Inchi en 0, 30, 60, 90 y 120 minutos respectivamente.....	- 78 -
Gráfico 23.- Absorbancia de las fracciones insaponificables de los aceites de Chonta, Morete, Ungurahua y Sacha Inchi en 0, 30, 60, 90 y 120 minutos respectivamente.....	- 81 -
Gráfico 24: Comparación entre % de la Actividad Antioxidante (AA) en los aceites estudiados según el test del β -catoreno.....	- 83 -
Gráfico 25.- Comparación entre % de la Actividad Antioxidante (AA) en las fracciones insaponificables de los aceites estudiados según el test del β -catoreno.....	- 83 -
Gráfico 26: Palma de Chonta	- 99 -
Gráfico 27: Recolección de los frutos bajados de la palma de Chonta	- 99 -
Gráfico 28: Morete secado en la estufa. Gráfico 29: Troceado del Morete..	- 100 -
Gráfico 30: Sistema de extracción (solxhet) de los aceites de Chonta y Morete	- 100 -
Gráfico 31 : Aceite Chonta y Morete extraídos	- 101 -
Gráfico 32: Aceite de Ungurahua y Sacha Inchi (comprados)	- 101 -
Gráfico 33: Equipo de Reflujo para la obtención de insaponificables	- 102 -
Gráfico 34: Separación de las fases acuosa y Etérea para el proceso de extracción de insaponificable	- 102 -
Gráfico 35: Recolección de la fase etérea final, previa a la evaporación	- 102 -

Grafico 36: Evaporación en el rotavapor del eter	- 102 -
Grafico 37: Fracciones insaponificables de chonta (derecha) morete(izquierda) en vasos de precipitación de 10 ml.....	- 102 -
Gráfico 38: Pruebas para el método del DPPH	- 103 -
Gráfico 39: Pruebas para el Test del β -caroteno	- 103 -
Gráfico 40: Cromatograma del Aceite de Chonta	- 106 -
Gráfico 41: Cromatograma del Aceite de Morete	- 106 -
Gráfico 42: Cromatograma del Aceite de Ungurahua	- 107 -
Gráfico 43: Cromatograma del Aceite de Sacha Inchi	- 107 -

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Fotografías del Proceso de recolección, extracción, análisis y evaluación de los aceites.	- 99 -
Anexo 2: Tablas de análisis realizadas a los aceites.....	- 104 -
Anexo 3: Cromatogramas de los aceites.....	- 106 -
Anexo 4: Tabla resumen de los % de fracción insaponificables extraídos de cada aceite	- 108 -

RESUMEN

La técnica utilizada para obtener los aceites de “chonta” y “morete”, fue una extracción por solvente (hexano). Con los aceites de chonta, morete, ungurahua y sachá Inchi se realizaron análisis de calidad y dos experimentos de evaluación de la actividad antioxidante, el método del DPPH y el test del β -caroteno. Se llegó a demostrar que todos los aceites junto a sus fracciones insaponificables poseen cierta actividad antioxidante.

Los resultados del DPPH para los aceites fijados diluidos en DMSO de “Chonta” *Bactris gasipaes*, “Morete” *Maurita Flexuosa*, “Ungurahua” *Oneocarpus Bataua* y “Sachá Inchi” *Plukenetia volubilis*, expresados en IC_{50} fueron de 1018 mg/L, 2627.3 mg/L, 400.8 mg/L y 1929.3 mg/L., mientras que para sus fracciones insaponificables fueron de 1400 mg/L, 252.33 mg/L, 494.5 mg/L y 4050 mg/L respectivamente. De acuerdo con los datos del IC_{50} de cada aceite y al existir una relación inversamente proporcional, a mayor valor del IC_{50} menor actividad antirradical (Sánchez-Moreno y otros, 1998), se concluye que el Insaponificable de Morete presenta la mejor actividad antirradical, seguido del Aceite de Ungurahua, del Insaponificable de ungurahua, Aceite de Chonta, Insaponificable de chonta, Aceite de Sachá y del aceite de morete, mientras que insaponificable de Sachá Inchi tiene la menor actividad.

En el test del β -caroteno, el aceite de Sachá Inchi presentó siempre mayores porcentajes de AA (448,35; 150,18; 24,18 ; 7,69 y 3,30 %) en los diferentes tiempos en los que se hicieron las lecturas; seguido del aceite de Ungurahua (92,76; 43,41; 30,49; 4,39 y 0,00%), aceite de chonta(64,44; 30,12; 6,01; 1,81 y 0,86%) y el aceite de Morete(21,73; 4,81; 1,69; 1,25 y 0,80%). Del mismo

modo, en las fracciones insaponificables, la del aceite de Sacha Inchi, presentó valores más altos de %AA : 93,02; 85,79; 51,68; 17,83 y 2,33 %, seguida de la fracción insaponificable del Aceite de Morete (26,96; 14,83; 11,43; 7,94 y 0,79%), luego del la fracción insaponificable del aceite de Chonta (27,98; 16,40; 3,45; 2,22 y 0,53%) y finalmente de la fracción insaponificable del aceite de Ungurahua (33,70; 8,17; 1,19; 0,83 y 0,46 %), es decir fue la que retardó más el proceso de decoloración por acción sobre los radicales libres que se forman en el sistema. Por esto se considera la existencia de sustancias antioxidantes en estos aceites, aunque los resultados emitidos por los dos métodos fueron distintos, esto los hace recomendables para su uso en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética, etc.

Palabras clave: Actividad Antioxidante, aceites, grasas, fracción insaponificable, DPPH, β - caroteno.

ABSTRACT

The technique used to get chonta and morete oils is the solvent extraction with n-hexane. The oil was used for quality analysis and two experiments for evaluating the antioxidant activity, according to the method of DPPH and β -carotene test. Using these methodologies, we show that the oil and the unsaponifiable fraction have antioxidant activity.

The results of DPPH for fixed oils diluted in DMSO "Chonta", "Morete", "Ungurahua" and "Sacha Inchi" were expressed in IC_{50} : 1018 mg / L, 2627.3 mg / L, 400.8 mg / L and 1929.3 mg / L, while for the unsaponifiable fraction: 1400 mg / L, 252.33 mg / L, 494.5 mg / L and 4050 mg / L respectively. There is an inverse relationship, the lower index IC_{50} the higher value of antiradical activity. (Sánchez-Moreno and others, 1998) It concludes that the unsaponifiable Morete presents the best antiradical activity, followed by Ungurahua's Oil, unsaponifiable Ungurahua, Chonta's oil, unsaponifiable chonta, Sacha-Inchi's oil and morete's oil, while unsaponifiable Sacha Inchi has the lowest activity.

Test of β -carotene shows that Sacha Inchi presented higher percentages of AA (448.35, 150.18, 24.18, 7.69 and 3.30%) in different times (0,30,60,90 y 120 minuts), followed by the oils: Ungurahua (92.76, 43.41, 30.49, 4.39 and 0.00%) Chonta (64.44, 30.12, 6.01, 1.81 and 0.86%) and Morete (21.73, 4.81, 1.69, 1.25 and 0.80%). Similarly, in unsaponifiable fraction, the oil Sacha Inchi, presented higher values of % AA: 93.02, 85.79, 51.68, 17.83 and 2.33%, followed by unsaponifiable fraction of Morete's oil (26.96, 14.83, 11.43, 7.94 and 0.79%), then the unsaponifiable fraction of Chonta's oil (27.98, 16.40, 3.45, 2, 22 and 0.53%) and finally by unsaponifiable fraction of

Ungurahua's oil (33.70, 8.17, 1.19, 0.83 and 0.46%). It showed that all oils had antioxidant activity, although the results given by two methods were different, this feature makes them desirable for use in pharmaceutical, food, cosmetics, etc.

Keywords: Antioxidant activity, oils, fats, unsaponifiable fraction, DPPH, β -carotene.

1.- GENERALIDADES.

1.1. Objetivos

1.1.1. General

Evaluar la actividad antioxidante de los aceites extraídos y de su fracción insaponificable de los frutos de: *Mauritia flexuosa* (Morete), *Bactris gasipaes* (Chonta), *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi) y *Oneocarpus batahua* (Ungurahua) utilizando los métodos DPPH y el test del β -caroteno

1.1.2. Específicos

- ✓ Extraer los aceites de los frutos de *Bactris gasipaes* (Chonta) y *Mauritia flexuosa* (Morete), mediante procesos químicos y adquirir los aceites de *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi) y *Oneocarpus batahua* (Ungurahua).
- ✓ Evaluar la calidad de los cuatro aceites usando métodos físicos y/o químicos.
- ✓ Extraer y cuantificar la fracción insaponificable de los cuatro aceites.
- ✓ Valorar la actividad antioxidante de los cuatro aceites y de sus fracciones insaponificables.

1.2. Justificación

La formación de radicales libres mediante procesos naturales conduce a la oxidación de biomoléculas, dando lugar a diversas enfermedades (Pratico y Delanty, 2000)¹, expertos piensan que al menos el 80% de todas las enfermedades degenerativas están relacionadas con los efectos de los radicales libres, los daños generales por esta oxidación, llevan a envejecimiento prematuro, cataratas, carcinogénesis y aterosclerosis, entre otros. Ciertos hábitos y condiciones a los que constantemente estamos expuestos estimulan también la producción excesiva de estos radicales como

1 PRACTICO, D. y DELANTY, N., *Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease*. Am. J. [en línea], format html, disponible en Internet: . Med. 109:577-585. 2000

son el consumo de tabaco y alcohol; la contaminación atmosférica por carcinógenos, mutágenos; insecticidas y/o herbicidas; la exposición excesiva a rayos ultravioleta, a reactores y a desastres nucleares; los agentes químicos para procesar alimentos, y los medicamentos anticancerosos, etc. (Ansari, 1996)² de allí la necesidad de evitarlos o prevenirlos.

Existen organismos fotosintéticos que están expuestos a ambientes muy oxidativos, por lo que han desarrollado y poseen un sistema antioxidante muy eficaz (Finkel y Holbrook, 2000)³.

Se han desarrollado diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante (Antolovich y otros, 2002)⁴, ya sea in vitro o in vivo. Una de las estrategias más aplicadas en las medidas in vitro de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración (Arena y otros, 2001)⁵.

En este trabajo se presentan dos métodos sencillos para la evaluación de la actividad antioxidante de los aceites y de las fracciones insaponificables de los frutos de *Mauritia flexuosa* (Morete), *Bactris gasipaes* (Chonta), *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi) y *Oneocarpus batahua* (Ungurahua), como son el método de DPPH y el Test del β - caroteno.

2 ANSARI, K.U. *Free radical induced diseases*. JIMA, 94: 238-239. 1996

3 FINKEL T., Holbrook N.J. *Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing*. Nature 408:239- 247 2000

4 ANTOLOVICH M., PRENZLER P.D., PATSALIDES E., MCDONALD S., ROBARDS K. (2002) Methods for testing antioxidant activity. Analyst 127: 183-198

5 ARENA, E., B. Fallico and E. Maccarone. *Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage*. Food Chem., pags.74: 423-427. 2001

1.3. Introducción

Las palmas amazónicas son objeto de intensos estudios para determinar nuevas y potenciales especies aptas para la extracción de aceite. Dentro de las especies promisorias que se dispone en el Ecuador y con grandes perspectivas para explotación tenemos palmeras como el Ungurahua, Morete y Chontaduro, que a más de servir como alimento para las comunidades indígenas, tienen la facultad de regenerar el bosque y se localizan en lugares inundables poco aptos para otras especies. Actualmente en los mercados del Ecuador se pueden conseguir los frutos y los aceites extraídos de forma artesanal de estas especies vegetales. Los antioxidantes son sustancias que presentes en bajas concentraciones en relación a las moléculas oxidables (biomoléculas) retardan o previenen la oxidación de las mismas por los radicales libres. Algunos antioxidantes incorporados con la dieta son las vitaminas C, E, A y los carotenoides, compuestos polifenólicos, como flavonoides y taninos, entre otros que por lo general se encuentran en una amplia variedad de vegetales, frutas y productos derivados.

Para entender la presente investigación, debemos familiarizarnos tanto con el conocimiento de sustancias antioxidantes como con la información de las especies vegetales de interés para la obtención de aceite, de igual manera que con los términos de extracción de aceites y de sus fracciones insaponificables, análisis químicos y físicos para la calidad y métodos de evaluación de la actividad antioxidante (AA) sobre todo con las dos técnicas conocidas como: método del DPPH y el test del β -caroteno.

El proceso investigativo inicia con la recolección del material vegetal, seguido por la extracción del aceite de los frutos de las plantas, luego por la de la fracción insaponificable; ya con los aceites se aplican análisis que comprobaran su calidad y los caracterizarán; y finalmente se evalúa la

actividad antioxidante. Los métodos usados para ello han sido el DPPH y el test del β -caroteno, los cuales, presentan buena estabilidad a ciertas condiciones. En el método del DPPH, el resultado final se basa en la comparación de curvas entre estándares determinados por sustancias antioxidantes conocidas (BHA) y las muestras de los aceites o de la fracción insaponificable, de las que se obtiene el IC_{50} , mientras que el test del β -caroteno evidencia la reducción de la absorbancia de las muestras y con ello % de actividad antioxidante calculado, provocado por la disminución de la absorción durante la oxidación conjunta del β -caroteno y ácido linoléico.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Especies vegetales

2.1.1. “Chonta”, *Bactris gasipaes* K., Arecaceae

2.1.1.1. Taxonomía

- División: Magnoliophyta
- Orden: Arecales Bromhead
- Familia: Arecaceae
- Especie: *Bactris gasipaes* Kunth

2.1.1.2. Descripción

La chonta o chontaduro es una palma, cuyo tallo alcanza aproximadamente alturas mayores a 20 m, frecuentemente las plantas tienen alturas de 12 a 15 cm y un diámetro de entre 15 y 30 cm. Los tallos presentan espinas de hasta 8 cm de longitud. Estas espinas protegen a la planta contra los daños mecánicos, evitando que el agua de las lluvias caiga directamente en el estípite y así se disminuye la presencia de insectos, hongos y plantas epífitas que aparecen por la acumulación de la humedad, el tallo generalmente produce brotes (Mattos-Silva y Mora-Urpi, 1996)⁶. Los frutos en estado inmaduro son verdes, al madurar varían entre amarillo claro a rojo. La semilla es dura y de color oscuro, con una almendra blanca que es similar en color y textura al coco verde (Villachica, 1996)⁷. Anualmente pueden producirse 25 racimos de frutos por tronco, aunque normalmente es de 5 a 15. Las raíces son generalmente laterales y superficiales, gruesas y sin pelos, forman una red tupida de aproximadamente 10 m; depende de las micorrizas para la toma de nutrientes (especialmente fósforo) a menor temperatura y mayor sombra más se favorece la formación de micorrizas.

6 MATTOS, L. y MORA J. Descripción morfológica general del pejibaye cultivado [*Bactris (Guilielma) gasipaes*KunthArecaceae], (1): 24-37, 1996

7 VILLACHICA H. Cultivo de pijuayo (*Bactrisgasipaes*Kunth) para palmito en la Amazonía. Pag 153, 1996

2.1.1.3. Hábitat

El chontaduro crece muy bien en alturas que van desde el nivel del mar hasta los 1000 metros. Se adapta fácilmente a suelos permeables que faciliten el buen drenaje. (Shiguango, 1996)⁸

2.1.1.4. Geobotánica

El chontaduro es propio de regiones tropicales, prefiere zonas con alta precipitación pluvial y alta temperatura y suelos no inundables ni compactos. El medio más propicio son zonas cálidas con alta humedad. En la zona ecológica húmeda y muy húmeda tropical requiere de una temperatura anual promedio 24-25 C° y una precipitación anual de 2000 a 4000 milímetros, es muy susceptible al exceso de agua. (Shiguango, 1996)⁹

2.1.1.5. Distribución

El chontaduro es una palma muy conocida en los sectores tropicales de América. (Shiguango, 1996)¹⁰, crece naturalmente desde México a través de América Central hasta Brasil, Bolivia, Perú y Ecuador, incluyendo República Dominicana y Trinidad y Tobago en el Caribe. Se cree que su origen es América del Sur y que fue dispersada a los demás países en tiempos precolombinos (Cordero y otros, 2003)¹¹. En el Ecuador se encuentra en la región Costa y Amazónica, específicamente en las provincias de Carchi, Esmeraldas, Morona-Santiago, Napo, Pastaza, dentro de las áreas protegidas Jatun Sacha. (Balslev, y Borchsenius, 1999)¹²

8 SHIGUANGO, Ricardo, *Información general sobre el cultivo de chontaduro bactris gasipaes h.b.k de la region amazónica ecuatoriana particularmente zona Archidona – Loreto*. Mayo 1996. En línea:

http://www.sumaco.org/download_documentos/AGR073_Cultivo%20Chontaduro_RShiguango.pdf

9 Ídem, Ref. de nota al pie 8

10 Ídem, Ref. de nota al pie 8

11 CORDERO Jesús; BOSHIER David; BARRANCE A. et. All.; *Arboles de centro América: Un manual para extensionistas*, pag. 378. 2003

12 BALSLEV, H. y BORCHSENIUS, F. *Arecaceae*. Pp. 248–255. En: P.M. Jørgensen & S. León-Yáñez (eds.) *Catalogue of the vascular plants of Ecuador*. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 75. 1999

2.1.1.6. Composición química

El fruto de *Bactris gasipaes*, es una fuente importante de carbohidratos, calcio, fósforo, grasa, bajo en fibra y fuente de vitaminas (composición por cada 100 g de mesocarpio de la fruta: agua 56%, calorías 194, proteína 3.01%, grasa 6.14%, carbohidratos 33.05%, fibra 1.02%, ceniza 0.88%, calcio 44.6 mg, fósforo 101.84 mg, tiamina 0.030 mg, niacina 0.455 mg, riovflavina 0.068 mg, caroteno 1.28 mg. (Johnson, 1997)¹³.

2.1.1.7. Usos

El fruto se consume después de ser hervido en agua salada durante 30 minutos, del mesocarpio del fruto también se extrae aceite para cocinar. Las semillas se pueden consumir como frutos secos. La harina del fruto de chonta se fermenta para hacer chicha, una cerveza casera de buen sabor y propiedades nutritivas, o se usa también para pan, pasteles y masas y como sustituto de la patata en guisos de carne y pescado. La parte central tierna del tallo de la planta, conocida como palmito, es un alimento que se comercializa fresco, seco y enlatado para su uso en ensaladas, sopas y rellenos, o como trocitos asados. El ensilado de los frutos se considera una excelente manera de almacenarlos para alimento de cerdos, aunque también se usa para vacunos o caballos. Las hojas proporcionan cubierta para los tejados de casas y material para hacer cestos. En algunos países la planta es muy apreciada como ornamental. La inflorescencia es una buena fuente de polen para las abejas y las flores masculinas cocinadas sirven como condimento. La palma, incluyendo la hoja y partes del tallo, produce buena fibra para fabricar papel. También se puede producir celulosa para celofán y rayón. El tronco es un material duradero para arcos, flechas, cañas de pescar, arpones y tallas de madera. La parte blanda del tallo puede usarse para hacer licor. La madera es dura pero elástica, y tiene un amplio rango de

13 JOHNSON, Dennis. *The role of palms in future tropical production systems and strategic palm species for human nutrition*. EN: V Seminario-Taller Internacional 'Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria' y Primer Seminario Internacional 'Palmas en Sistemas de Producción Agropecuaria para el Trópico'. Organizado por la Fundación CIPAV, agosto, Cali, 1997

usos, incluyendo construcción de casas, pisos, muebles y mangos de herramientas. De las hojas se obtiene un colorante verde para teñir tejidos. Las raíces proporcionan un veneno para gusanos. En plantaciones, las hojas y partes del tallo que no se usan se emplean como fertilizante orgánico. La cáscara del fruto constituye un remedio popular contra enfermedades hepáticas. (Cordero y otros, 2003)¹⁴

2.1.2. “Morete”, *Mauritia flexuosa* L.f., Arecaceae

2.1.2.1. Taxonomía

- División: Magnoliophyta
- Orden: Arecales Bromhead
- Familia: Arecaceae Bercht. y J. Presl
- Especie: *Mauritia flexuosa* L.f.

2.1.2.2. Descripción

El Morete o aguaje es una palmera de hasta 40 m, de altura y 30 a 60 cm., de diámetro, con hojas palmadas de 8 a 20 dispuestas en espiral, vaina abierta con una capa fibrosa, pecíolo de 1.6 a 4 m, de longitud, lamina cerca de 2.5 m, de longitud y 4.5 m, total, separados en cerca de 200 folíolos pendulados que miden de 4 a 5 cm, de ancho. La inflorescencia es interfoliar, con flores simples, estaminadas densamente coronados en la raquila, sépalos de 3.5 a 4.5 cm, pétalos lanceolados de 1 a 11 cm, de longitud. Flores pistiladas de 8 mm, de longitud, sépalos de 0.8 cm. El fruto es una drupa, oblongos o elipsoides hasta 7 cm, de longitud y 5 cm, de diámetro, el peso varía 40 a 80 g., el epicarpio es escamoso de color pardo a rojo oscuro,

14 Ídem, Ref. de nota al pie 11

el mesocarpio suave, amiláceo y aceitoso, de color amarillo, anaranjado rojizo, generalmente con una semilla. (Gonzales y otros, 2005)¹⁵

2.1.2.3. Hábitat

El hábitat donde se desarrolla el Morete es muy variado, desde tierras bajas inundadas permanentemente o estacionalmente hasta los terrenos bajos de tierra firme; desde el nivel del mar en la costa Atlántica hasta los 1000 msnm., en la ladera de los Andes; en suelos pantanosos, fértiles o arenosos, por lo que se puede afirmar que es una palmera con amplia plasticidad fisiológica (Rojas, 2000)¹⁶.

2.1.2.4. Geobotánica

El Morete crece en pantanos y zonas de drenaje pobre, donde predominan los suelos permanente o temporalmente inundados. (Del Castillo y otros, 2006)¹⁷

2.1.2.5. Distribución

La *Mauritia flexuosa* está ampliamente distribuida en toda la Amazonia desde el occidente por Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia; hacia el oriente –a través de las cuencas del Amazonas y del Orinoco– por Venezuela, las Guayanas, Trinidad y los estados brasileños de Bahía, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais y Sao Paulo (Del Castillo y otros, 2006)¹⁸. En Ecuador se encuentra en la región Amazónica, en las provincias de Morona-Santiago, Napo, Sucumbíos, dentro de las áreas protegidas de Jatun Sacha y el parque nacional Yasuní. (Balslev y Borchsenius., 1999)¹⁹

15 GONZALES, Ernesto. y otros. *Plan de Manejo Forestal de Mauritia flexuosa "aguaje", Reserva Nacional Pacaya Samiria*, Iquitos-Peru, 2005. En línea:

<http://www.iiap.org.pe/promamazonia/sbiocomercio/Upload%5CLineas%5CDocumentos/522.pdf>

16 ROJAS, R. *Estado del Conocimiento sobre el Aguaje (Mauritia flexuosa L.f.)*. Iquitos – Perú. 62 p. (en prensa).2000

17 DEL CASTILLO T, Dennis. Y otros. *Aguaje, La maravillosa palmera de la amazonia*, Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 2006. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/publicaciones/CD/documentos/L028.pdf>

18 Ídem, Ref. de nota al pie 17

19 Ídem, Ref. de nota al pie 12

2.1.2.6. Composición química

El fruto es comestible con una pulpa es altamente nutritiva que contiene minerales, proteínas, grasa, vitaminas y carbohidratos, posee mayor reserva de betacaroteno, vitamina A. Su alto contenido de vitamina A lo convierte en un recurso inigualable para la dieta de niños y madres gestantes, pues ayuda a la formación y el mantenimiento de dientes sanos, de tejidos blandos y óseos, de las membranas mucosas y de la piel. Esta vitamina contribuye a mejorar la visión, especialmente ante la luz tenue y también es necesaria durante la reproducción y la lactancia. (Del Castillo y otros, 2006)²⁰. El contenido en 100g es de: calorías 526, proteína 11.0%, grasa 38.6%, carbohidratos 46.0%, fibra 41.9%, ceniza 4.4%, calcio 415.4 mg, fósforo 69.9 mg, tiamina 0.11 mg, niacina 2.57 mg y rivo flavina 0.85 mg; (Johnson, 1997)²¹

2.1.2.7. Usos.

En la actualidad, ninguna fruta en la Amazonía es comercializada en tantas diferentes formas como el Morete: maduro, verde, pulpa, aguajina (refresco en Perú), chupetes, helados, mermeladas y yogures (Del Castillo y otros, 2006)²². En el mercado de Iquitos el morete, se expende en diversas formas: como fruto entero, de color rojo vinoso; como masa amarilla o anaranjada, obtenida del mesocarpo y como bebida fermentada llamada chicha del mesocarpo cocido y fermentado, que posee un alto valor nutritivo (Schultes y Rauffauf, 1990)²³ La masa sirve también para preparar helados y pasteles. Su contenido en vitamina A hace recomendable su consumo para la prevención de la xeroftalmia (Testua y Aspajo, 1987)²⁴ Según ciertos rumores

20 Idem, Ref. de nota al pie 17

21 Idem, Ref. de nota al pie 13

22 Idem, Ref. de nota al pie 17

23 SCHULTES,, Richard y Rauffauf ,Robert . *The healing forest: medicinal and toxic plants of the northwest Amazonia*. Portland, OR: Dioscorides Press. Portland, Oregon. 1990

24TESTUA ,L.A. y ASPAJO, J.C.. *Estúdio de la extracción de caroteno (pro-vitamina A) a partir del aguaje (Mauritia flexuosa L.f.)*. Tesis Ingeniero químico, UNAP, Iquitos. 1987

recientes, serviría como remedio contra el SIDA (Padoch, 1988)²⁵. Las hojas sirven a menudo para confeccionar techos y tabiques de viviendas rurales o para la fabricación de esterillas para puertas, cortinas y hamacas con la fibra del árbol (Alvarado, 1956)²⁶. Otro uso frecuente es la confección de juguetes, así como de tapones para los botellones de aguardiente, utilizando en este caso la parte mediana del peciolo. Existen propuestas para utilizar los peciolo en la producción de pasta de papel (Bresani, 1924; De los Heros y Zarate, 1980; Araujo, 1982).²⁷ El estípite tiene un alto contenido de almidón (Ruddle y otros, 1978)²⁸, y se cortan para la confección de puentes flotantes en las vegetaciones inundadas. Una vez derribada la palmera, larvas de coleópteros (*Rhynchophorus palmarum*) se desarrollan en ella, estos gusanos blancos, gordos y sebosos no son otra cosa que una manteca viva que es una vianda muy sabrosa y sustancial (Gumilla, 1963)²⁹. Un estípite puede contener hasta 500 larvas (Borgtoft Pedersen y Balslev, 1990)³⁰, que pueden ser fuente de aceite para el consumo humano (Campos, 1988)³¹. También se extraía el vino de palma, como se hace actualmente en África (Gumilla, 1963)³²

25 PADOCH, C. . *Aguaje (Mauritia flexuosa L.f.) in the economy of Iquitos*, Peru. Advances in Economic Botany, 6: 214–224. 1988

26 ALVARADO L. *Datos etnográficos de Venezuela*. Ed. Rangon C.A., Caracas, 1996.

27 BRESANI, E. *La palmera "aguaje" como productora de celulosa*. Boletín de la Sociedad Geográfica de Lima. Tomo XLI: 209–210. 1924

DE LOS HEROS G.M.J. y ZÁRATE, J.B. *Posibilidades papeleras de pulpa al sulfato de peciolo de aguaje*. Revista Forestal del Perú, 10: 83–90. 1980

ARAUJO ,V.A. *Pulpa química y semiquímica al sulfato de hojas de palma aceitera (Elaeis guineensis Jacq.) y de peciolo de aguaje (Mauritia flexuosa L.f.)*. Tesis Ing. forestal, UNALM, Lima.1982

28 RUDDLE, Kenneth; JOHNSON, Dennis; TOWNSED, Patricia K. y REES, John D. *Palm Sago. A tropical starch from marginal lands*. Honolulu, The University Press of Hawaii, XVI + 208 págs.1978

29 Gumilla, Revista SIC, Nº 133, Caracas, 1963 Disponible en: <http://www.gumilla.org/biblioteca>

30 BORGTOFT PEDERSEN, F. y BALSLEV, H. *Ecuadorian palms for agroforestry*. AAU Reports 23, Aarhus.1990

31 CAMPOS, A. Estudio de extracción por solventes y caracterización físico-química del aceite de suri (*Rhynchophorus palmarum* L.). Tesis Ing° Ind. Aliment., UNALM, Lima.1988

32 Ídem, Ref. de nota al pie 29

2.1.3. “Ungurahua”, *Oenocarpus bataua* M. , Arecaceae

2.1.3.1. Taxonomía

- División: Angiospermae
- Orden: Arecales Bromhead
- Familia: Arecaceae Bercht. y J. Presl
- Especie: *Oenocarpus bataua* Mart.

2.1.3.2. Descripción

El seje o ungurahua es una palma monoica, solitaria y grande que llega a medir de 30 a 35 m de altura y de 20 a 30 cm de diámetro; presenta hojas grandes, erectas y pinneadas, llegando a medir hasta 6 m de largo, y 65 -110 pinnas a cada lado de la hoja, sus frutos llegan a medir 3-7 cm largo por 2-3 cm de ancho, presentando una pulpa delgada y con semilla dura. (Gómez y otros, 1996)³³. Es una palmera de tallo simple, el número de hojas está entre 8 y 16, extendidas, dispuestas en espiral y producidas durante todo el año. En la axila de cada hoja adulta se produce una sola inflorescencia, alcanzando maduración completa durante el año de una a tres inflorescencias. Fruto oblongo o elipsoide, de 2,5 a 3,5 cm de largo y 2,0 a 2,5 cm de diámetro, de color violeta oscuro o negro en la madurez, agrupado en racimos con peso entre 2 y 32 kg, con 500 a 4,000 frutos. Epicarpio liso, rojo oscuro a la maduración, cubierto por una delgada capa cerosa, blanquecina. Mesocarpio carnoso, oleaginoso, de color entre blanco y violeta con elevado contenido de aceite, semilla recubierta por fibras delgadas. Endocarpo duro, leñoso, cubierto por grandes fibras oscuras; endosperma ruminado. El conjunto de la cáscara y la pulpa tiene un espesor de 0.2 a 0.3 cm. Los troncos jóvenes están habitualmente cubiertos con vainas de hojas viejas, los troncos más viejos están limpios y tienen nudos más o menos

33 GÓMEZ, D.; L. LEBRUN; N. PAYMAL y A.SOLDI. Palmas útiles en la provincia de Pastaza, Amazonia ecuatoriana. Manual práctico. Serie Manuales de plantas útiles amazónicas 1: 1-71. Fundación Omaere. Quito , 1996

conspicuos. Posee flores unisexuales de color pardo cremoso. (Díaz y Ávila, 2002)³⁴

2.1.3.3. Hábitat

Se encuentra en regiones inundadas, crecen en lugares con alturas que van desde 0 hasta 1350 msnm., siendo plantas predominantes dentro del ecosistema regional. (Gómez y otros, 1996)³⁵

2.1.3.4. Geobotánica

Las palmas de Ungurahua se encuentran como plantas aisladas en los suelos bien drenados de las partes altas, prospera en terrenos no inundables y con buen drenaje, así como en áreas temporal o permanentemente inundadas con drenaje deficiente. Se adaptan a diversidad de suelos ricos en materia orgánica, ultisoles, oxisoles, inceptisoles, alfisoles, entisoles y especialmente a spodosoles arenosos pobres en nutrientes. (Díaz y Ávila, 2002.)³⁶

2.1.3.5. Distribución

Oenocarpus bataua es una palma que se localiza en el norte de Sur América y sur de Centro América, en la región amazónica, especialmente en la costa del Pacífico: Ecuador, Colombia y Panamá. (Andrade, 2009)³⁷ En Ecuador se encuentra en la región Costa y Amazónica, específicamente en las provincias de Carchi, Esmeraldas, Los Ríos, Morona-Santiago, Napo, Pastaza, Pichincha, Sucumbíos, Zamora-Chinchipec, dentro de las áreas protegidas de Jatun Sacha y el parque nacional Yasuní (Balslev y Borchsenius, 1999)³⁸

34 DIAZ, José Andrés y AVILA, Lina María. Sondeo del mercado mundial de Aceite de Seje (*Oenocarpus bataua*) , Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogota, Colombia. Pag,18. 2004

35 Ídem, Ref. de nota al pie 33

36 Ídem, Ref. de nota al pie 34

37 ANDRADE, V. Cultivos energéticos alternativos: Presente y futuro de las oleaginosas en el Ecuador, Proyecto: Centro Iberoamericano de Investigación y Transferencia de Tecnología en Oleaginosas, Ibarra – Ecuador, pag 60, 2009

38 Ídem, Ref. de nota al pie 12

2.1.3.6. Composición química

El fruto de Ungurahua es considerado como una fuente de proteína de muy alto valor, comparable con la carne o con la leche. La pulpa de la fruta es rica en lípidos, proteínas y vitaminas. Cada fruta fresca pesa entre 5 y 14 g, promedio 8 g (Díaz y Ávila, 2002.)³⁹

2.1.3.7. Usos.

Es una palma que presenta gran variedad en sus usos ya sea medicinal, para la extracción de aceites, o como alimento, ya que se pueden realizar jugos o consumir frutos cocidos hasta obtener una colada, la bebida preparada con la pulpa aplastada en agua y tamizada ("chapo" o "vino"), tiene un alto valor nutritivo y energético. También las inflorescencias son consumidas en la dieta de los pobladores de la región. Las hojas se utilizan en la construcción de viviendas (techados), los troncos se utilizan para fabricar arcos y herramientas de uso diario en las comunidades. En cuanto al uso medicinal para el tratamiento de enfermedades respiratorias (resfriados, asma o bronquitis), reumatismo, como anti parasitario, para controlar la diarrea y los dolores de cabeza o jaqueca (Gómez ,1996; Díaz y Ávila, 2002)⁴⁰. La demanda de aceite ha incrementado por sus cualidades cosméticas, para combatir la calvicie y fortalecer el crecimiento del cabello. (Andrade, 2009)⁴¹

2.1.4. “Sacha Inchi”, *Plukenetia volubilis* L.f, Euphorbiaceae

2.1.4.1. Taxonomía

- División: Magnoliophyta
- Orden: Malpighiales Juss. ex Bercht. y J. Presl

39 Ídem, Ref. de nota al pie 34

40 Ídem, Ref. de nota al pie 34 y 33

41 Ídem, Ref. de nota al pie 37

- Familia: Euphorbiaceae Juss.
- Especie: *Plukenetia volubilis* L.f

2.1.4.2. Descripción

El Sacha Inchi es una planta trepadora, voluble, semileñosa, de altura indeterminada. Sus hojas son alternas, de color verde oscuro, elíptico, aseruladas y pinnitinervias, de 9 a 16 cm de largo y 6 a 10 cm de ancho. El ápice es puntiagudo y la base es plana o semi-arriñonada, el cultivo presenta un alto porcentaje de polinización cruzada, lo cual implica que se trata de una especie alógama. El tipo de reproducción es de suma importancia para futuros trabajos de mejoramiento genético de la especie. En Sacha Inchi se observan 2 tipos de flores: Masculinas.- Pequeñas, blanquecinas, dispuestas en racimos, y femeninas.- se encuentran en la base del racimo y ubicadas lateralmente. El fruto, es una cápsula, de 3,5 a 4,5 cm de diámetro, con 4 lóbulos aristados (tetralobados) dentro de los cuales se encuentran 4 semillas. La semilla es ovalada, de color marrón oscuro, ligeramente abultadas en el centro y aplastadas hacia el borde. (Manco, 2006)⁴².

2.1.4.3. Hábitat

Crece desde los 100 hasta 1500 msnm. Comúnmente se le encuentra en bordes de bosques secundarios (purmas), en cañaverales, sobre cercos vivos y como maleza en platanales y cultivos permanentes (Valles, 1995)⁴³. Tiene buen comportamiento a diversas temperaturas que caracterizan a la Amazonía Peruana (mín. 10°C y máx. 36°C). Las temperaturas muy altas son desfavorables y ocasionan la caída de flores y frutos pequeños, principalmente los recién formados. (Manco, 2006)⁴⁴

42 MANCO, C. E. *Cultivo de Sacha Inchi*, INIEA – SUDIRGEB - EEA. "EL PORVENIR, San Martín Perú, 2006. Disponible en: <http://www.incainchi.es/pdf/1358.pdf>

43 VALLES, C. Investigador agrario. Profesor asociado de la Facultad de Agrónoma de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto (UNSM). Investigador de la especie *Plukenetia*. Entrevista personal. 1995

44 Ídem, Ref. de nota al pie 42

2.1.4.4. Geobotánica

El sachá Inchi es una planta rústica, crece en suelos ácidos y con alta concentración de aluminio (Valles, 1995)⁴⁵. Tiene amplia adaptación a diferentes tipos de suelo; necesita terrenos con drenaje adecuado, que eliminen el exceso de agua tanto a nivel superficial como profundo. Para ello se considera la textura del suelo, ésta es importante para el desarrollo del cultivo. (Manco, 2006)⁴⁶

2.1.4.5. Distribución

Plukenetia volubilis es una planta de amplia distribución en la amazonía peruana, en el trópico latinoamericano; se ha recolectado plantas en Madre de Dios, Huánuco, San Martín, Ucayali, Iquitos, y áreas del estrecho amazónico (Valles, 1995)⁴⁷, ya que en estos lugares se encuentra en estado silvestre. (Manco, 2006)⁴⁸. En Ecuador, esta liana se ha localizado en la región Costa y Amazónica, específicamente en las provincias de Carchi, Los Ríos, Napo, Sucumbíos, dentro de las áreas protegidas como son: la estación biológica Bilsa, Cordillera del Cóndor, Jatun Sacha y el parque nacional Yasuní. (Webster, 1999)⁴⁹

2.1.4.6. Composición química

Se han reportado los siguientes resultados con respecto a la composición química del fruto de sachá inchi: proteína 24.22%, humedad 5.63%, grasa 43.10%, carbohidratos 7.72% y ceniza 2.80%. (García, 1992)⁵⁰. Las semillas de Sachá Inchi consisten de 54% de aceite, el cual es una de las fuentes

45 Ídem, Ref. de nota al pie 43

46 Ídem, Ref. de nota al pie 42

47 Ídem, Ref. de nota al pie 43

48 Ídem, Ref. de nota al pie 42

49 WEBSTER, G. L... *Euphorbiaceae*. Pp 455–468. En: P.M. Jørgensen & S. León-Yáñez (eds.) *Catalogue of the vascular plants of Ecuador*. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 75., 1999

50 GARCÍA, H. *Resumen de investigaciones apoyadas por Fundeagro 1988-1992*. Tomo I. Proyecto de transformación de la tecnología agropecuaria.TTA. Lima. P.61-63. 1992

vegetales más grandes de Omega. El aceite contiene 48,6% de Omega 3, así como 36,8% de Omega 6 y 8,3% de Omega 9 (ProFound, 2008)⁵¹

2.1.4.7. Usos.

El aceite obtenido de las semillas se puede usar en la industria cosmética, farmacéutica, alimentaria y de suplementos nutricionales, o para la producción de biodiesel. El aceite tiene un sabor suave y de ligero parecido al de las nueces y puede utilizarse como aderezo para ensaladas, sin embargo, no se recomienda su uso para hornear. En el Perú, se está procesando Sacha Inchi en harina y en varias comidas. Tradicionalmente, las etnias indígenas secoyas, amueshas, cashibos y bora comen la nuez del Sacha Inchi tostada para adquirir fuerzas. Debido a su alto contenido de Omega 3, el aceite de Sacha Inchi se puede utilizar como un suplemento nutricional. Omega 3 es esencial para la salud humana y se tiene que obtener de productos alimenticios. Un suplemento de Omega 3 y 6 puede ser especialmente útil para personas que no consumen suficiente pescado o productos que los contienen, ya que ambos desempeñan un papel crucial en la función del cerebro y en el crecimiento y desarrollo normal. Las mujeres de varios grupos étnicos peruanos mezclan el aceite de Sacha Inchi con la harina, lo cual resulta en una crema que revitaliza la piel y da un aspecto saludable (anti-envejecimiento). Hace la piel suave y brillante, actúa como un humectante y se puede utilizar contra las arrugas y para hidratar una piel seca, también para elaborar jabones (como un factor para dar cohesión y espuma), shampoo y acondicionador del cabello. Finalmente, también se puede aplicar aceite de Sacha Inchi en masajes en áreas adoloridas o estresadas y como terapia relajante. (ProFound, 2008)⁵².

51 PROFOUND – Advisers in Development , *Estudio Preliminar de Mercado Sacha Inchi*, Perú, diciembre de 2008. En línea: <http://www.biocomercioperu.org/admin/recursos/productos/ESTUDIO-PRELIMINAR-DE-MERCADO-SACHA-INCHI.pdf>

52 Idem, Ref. de nota al pie 51

2.2. Aceites Fijos

La química divide a los aceites en dos clases: los aceites volátiles o esenciales y los aceites fijos objetos de la investigación. Los aceites fijos y las grasas son mezclas de ésteres de glicerilos, de los llamados ácidos grasos superiores, es decir ácidos alifáticos de alto peso molecular, en especial palmítico, esteárico y oleico. (Cabrera y otros, 2008)⁵³, cuando en los aceites predominan los ácidos grasos saturados, se mantienen sólidos o semisólidos a temperatura ordinaria, 20 °C, constituyendo las grasas (de origen animal y en algún caso de origen vegetal), mientras que si predominan los ácidos grasos no saturados son líquidos a dicha temperatura componiendo los aceites que se denominan fijos. (Restrepo ,2006)⁵⁴. Los aceites grasos vegetales o fijos se obtienen de las semillas, el fruto de diversas plantas por expresión o extracción con disolvente y a continuación posiblemente refinado e hidrogenado. Puede añadirse, si es necesario, un antioxidante adecuado (Real Farmacopea Española, 2002).⁵⁵

2.2.1. Procesos de extracción

La forma de extracción debe proteger al aceite de cualquier tipo de degradación, preservando sus componentes menores, que contribuyen significativamente a su calidad y a su buena conservación. (Kiritsakis y Markakis, 1978)⁵⁶, tecnológicamente se pueden describir dos métodos de obtención de aceite:

✓ Extracción por presión: prensas continuas y discontinuas

Es la más antigua, aunque tiene menores rendimientos. En el caso de las semillas oleaginosas se recurre a la extracción por presión cuando el

53 CABRERA, H.y otros, *Characterization of fat acids from leaves of Pedilanthus tithymaloides (L.) Poit.*, Laboratorio Central de Farmacología. Facultad Ciencias Médicas «Dr. Salvador Allende». Carvajal s/n e/ Agua Dulce y A, Cerro, Ciudad de La Habana, Cuba, diciembre 2008. En línea: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol14_1_09/pla04109.htm

54 RESTREPO, León Jaime. *Aceites vegetales*, Colombia, 2006. En línea: <http://higuerillo.blogspot.com>

55 REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA . Ministerio de Sanidad y Consumo. 2ª edición, 2002.

56 KIRITSAKIS A. y MARKAKIS P. *Olive oil: a review*. Advance in food research. Vol 31, p453- 482.1978

contenido en aceite es mayor del 20%. Para extraer el aceite del material que lo contiene por presión, las paredes de las células que lo contienen tienen que romperse. Esto se puede conseguir molturando la semilla o fruto, haciéndolos copos, pasándolos por rodillos o sometidos a grandes presiones. El prensado aún se emplea en nuestro país en viejas plantas o en combinación con nuevas unidades de extracción por solvente. (Señoráns, 2006)⁵⁷

✓ **Extracción sólido: líquido con solventes (hexano)**

En esta se forma un sistema en el que la semilla y la pulpa son tratadas con un solvente (hexano), formando una miscela, la cual posteriormente es destilada para separar el aceite y recuperar el solvente. (Franco, 2007)⁵⁸. El aceite del material vegetal es extraído a través del solvente, mientras que la proteína permanece en la torta residual con fibra e hidratos de carbono de la que se puede extraer harina. Los parámetros de extracción a considerar son el tamaño y espesor de los trozos de semilla o pulpa. La temperatura óptima de extracción está en el rango de 60 a 65° C. ya que valores superiores llevarían a una excesiva presurización del extractor y posibles escapes de solvente. Por el contrario temperaturas inferiores reducen la velocidad de extracción. La humedad de la materia prima debe estar entre el 9,5 y el 10,5 %, dado que a valores inferiores el material tiene tendencia a romperse. En operaciones a gran escala, la extracción con disolventes es un medio más económico que la extracción por presión, y su aplicación va aumentando rápidamente. Se suele realizar cuando el valor del aceite en sí mismo es considerablemente mayor que como parte de la torta. Como disolventes en los métodos comerciales de extracción se recurre a compuestos hidrocarbonados volátiles purificados, especialmente las distintas clases de

57 SEÑORÁNS Javier. *Extracción de aceites de semillas y de orujo de aceitunas*. Universidad Autónoma de Madrid. 2006. En línea: http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alimento/Apuntes/TCAC-T4-Extraccion-aceites-semillas.pdf

58 FRANCO, Daniel. *Oleaginosas, Aceites vegetales, Proceso de elaboración*. Ministerio de Agricultura, ganadería y pesca, Agosto 2007. Argentina. Disponible en: www.alimentosargentinos.gov.ar/.../WEB_Tecnologia_de_Aceites_20080401.pdf

bencinas de petróleo, conocidas comúnmente como éter de petróleo, hexano o heptano. El hexano es el más utilizado tradicionalmente. En el caso de que la materia a extraer contenga gran cantidad de aceite, más del 20%, es común someterla a un prensado previo a su extracción, en prensa de tornillo. De esta forma se elimina una parte importante de aceite, porque si no se formarían emulsiones con el disolvente, y hay ruptura de estructuras celulares, facilitando la posterior extracción con disolventes. (Señoráns, 2006)⁵⁹.

2.2.2. Clasificación de los aceites fijos

Según CEM (2009)⁶⁰, los lípidos se clasifican en:

- Saponificables.- Pueden ser simples (Aciglicéridos y Céridos) o compuestos (Isofoglicéridos y Esfingolípidos)
- Insaponificables.- Son Isoprenoides, Esteroides o Prostaglandinas.
- Ácidos grasos.- Los ácidos grasos que intervienen en la composición de los glicéridos son los que confieren las características particulares de cada aceite y determinan su comportamiento como nutriente. Según Arango (2002)⁶¹; el principal criterio de clasificación de los aceites fijos vegetales, objetos de la presente investigación, es el grado de insaturación de los ácidos grasos que los componen. Esta insaturación esta función del número total de dobles enlaces y se mide por el índice de yodo como lo indica la Tabla 1; esto permite clasificar los lípidos vegetales en:

✓ Saturados: Presentan enlaces simples en la cadena hidrocarbonada. Esta se dispone en el espacio en zigzag, son sólidos y flexibles a 25°C, temperatura ambiente. Los aceites secantes son sensibles a la oxidación

59 Idem, Ref. de nota al pie 57.

60 CEM, CENTRO DE ESTUDIOS MIRASIERRA, *Los lípidos*, 15-A. 28034, Madrid. 2009. Disponible en : [www.selectividad.net/cem.](http://www.selectividad.net/cem/) / Moralarzaral

61 ARANGO, Gabriel. *Metabolitos primarios de interés farmacológico*, Medellín, 2002. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/carbohidratos2001.pdf>

produciendo enranciamiento. Ejemplo: palmítico, mirístico, laurico. (CEM,2009)⁶²

✓ Insaturados: Formados por uno o varios enlaces dobles en su cadena hidrocarbonada. Esto provoca la aparición de codos en la cadena hidrocarbonada. Suelen ser rígidos al nivel del doble enlace y son líquidos aceitosos (SAN, 2009)⁶³, a la vez estos pueden ser:

a) Monoinsaturados: El ácido oleico (omega9) es el ácido graso más ampliamente distribuido, se encuentra en todos los aceites o grasas. Es el principal componente de la mayor parte de los aceites vegetales líquidos alcanzando el 20% o más del total de los ácidos grasos. En los aceites vegetales el ácido oleico está invariablemente asociado al ácido linoléico. (Bailey, 1961)⁶⁴

b) Poliinsaturados: linolénico (omega3) y linoléico (omega 6). El ácido linolénico se encuentra en cantidades variables en algunos de los aceites vegetales más insaturados constituyendo muchas veces el 40% o más del total de ácidos grasos (Bailey, 1961)⁶⁵. En los aceites vegetales poco insaturados, tales como soja, linaza, perilla, etc., hay más ácido linoléico que oleico.

Tabla 1.- Familia de lípidos

Índice de Yodo	# aprox. de =s/ molec.	Familia	Ejemplos
<60	<1	Grasas Vegetales (solidas a temperatura ambiente)	Coco, palma, manteca de cacao
80-100	1	Aceite (de tipo oleico)	Cacahuete, oliva
100-130	1-2	Aceites insaturados	Girasol, soja, maní, algodón, colza
>170	>2	Aceites secantes	Lino

Fuente: Arango, 2002

62 Ídem, Ref. de nota al pie 60

63 SAN, SOCIEDAD ARGENTINA DE NUTRICION. *Grasas y aceites, charlas para la comunidad*, a cargo de Dra. Marcela de la Plaza y Lic Begoña Zugasti. Argentina.2009. Disponible en: <http://www.sanutricion.org.ar/Grasas-y-Aceites.pdf>

64 BAILEY, A. E. *Aceites y grasas industriales*. Editorial Reverté. Cap. I p 4 - 32; p 398, 1961

65 Ídem, Ref. de nota al pie 64

2.2.3. Análisis de aceites

Es necesario realizar controles en los aceites aplicando normas estandarizadas en el CODEX PARA ACEITES VEGETALES ESPECIFICADOS, con el objetivo de presentarlos de forma idónea para el consumo humano. A los aceites se les puede determinar constantes físicas (peso específico, viscosidad, poder rotatorio, punto de fusión, índice de refracción), y/o índices químicos (índice de saponificación, índice de yodo, índice de acidez, índice de éster), que revelan el grado de calidad y conservación; se expresan en tablas conocidas como Fichas Técnicas, en ellas también pueden ser mencionadas la composición química del aceite y la cuantificación de Carotenoides.

- **Peso específico.**- El peso específico es la relación entre la masa de un volumen determinado del aceite a investigar a 20 °C y la masa del mismo volumen de H₂O pura a 20 °C; esta se determina por picnometría (Fennema 1993)⁶⁶.

- **Índice de Refracción.**- Mide la relación aire/sustancia de una muestra concreta. Identifica un tipo de aceite o investiga adulteraciones en el mismo. Su determinación se realiza a una temperatura en la cual el producto esté fundido (Millán y Sanjuán, 2005)⁶⁷. El índice de refracción de un aceite se define como la razón de la velocidad de la luz en el vacío con respecto a la velocidad de la luz en el aceite evaluado. El índice de refracción es característico dentro de ciertos límites para cada aceite por lo que es un indicador de pureza del mismo. Este valor está relacionado con el grado de saturación, con la razón cis/trans de los dobles enlaces y puede estar influenciado por el daño que sufre el aceite tras la oxidación. (Hamilton y Rossell, 1986)⁶⁸

66 FENNEMA O.; *Química de alimentos*; Acirbia, segunda edición; España 1993

67 MILLÁN, R y SANJUÁN. *Higiene, Inspección y Control de alimentos*. Unidad didáctica de Higiene, Inspección y Control Alimentario. Facultad de Veterinaria de la ULPGC. 2005

68 HAMILTON R.J y ROSSELL J.B. *Analysis of Oils and Fats*, Ed. Elsevier Applied Science Publishers.1986

- **Índice de acidez (IA).**- Es consecuencia del contenido de ácidos grasos libres, provenientes de la hidrólisis de los glicéridos. Se expresa normalmente como grado de acidez o acidez libre, que representa el tanto por ciento de dichos ácidos expresados en ácido oleico. También puede expresarse como índice de acidez, que es número de miligramos de KOH necesarios para neutralizar 1 g de grasa (Millán, R y Sanjuán 2005)⁶⁹. Un valor elevado para este índice nos muestra un alto grado de enranciamiento de los aceites (Hamilton y Rossell, 1986)⁷⁰

- **Índice de saponificación (IS)** Es una medida aproximada del peso molecular promedio de los ácidos grasos. Se define como el “número de mg de KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres y los ésteres, es decir, saponificar 1 g de grasa”. (Arango, 2002)⁷¹

- **Índice de Peróxidos (IP).**- Indica en que extensión a experimentado el aceite la rancidez oxidativa. Se define como miliequivalente de peróxido por Kg de grasa. El O₂ atmosférico actúa sobre la grasa produciendo la oxidación de los ácidos grasos al fijarse átomos de O₂ a su cadena, inicialmente en los dobles enlaces, dando lugar a peróxidos. Este fenómeno se acelera por la acción de la luz y el calor. Su determinación se basa en la capacidad de los peróxidos (generados en la oxidación de las grasas) de liberar yodo del yoduro potásico en presencia del ácido acético y la posterior valoración de aquel. (Millán y Sanjuán, 2005)⁷² El valor peróxido es un buen indicador de la calidad del aceite, un aceite fresco debe tener valores menores a 1. Algunos aceites almacenados por algún tiempo después de refinación pueden llegar hasta valores de 10 antes de presentar problemas de sabor pero sí se presentan problemas de olor por las cetonas y aldehídos en los que se descompone. (Hamilton y Rossell, 1986)⁷³

69 Idem, Ref. de nota al pie 67

70 Idem, Ref. de nota al pie 68

71 Idem, Ref. de nota al pie 61

72 Idem, Ref. de nota al pie 67

73 Idem, Ref. de nota al pie 68

- **Cuantificación de carotenoides.**- Se fundamenta en la medición de la absorbancia de los carotenoides presentes en cierta cantidad de aceite diluido en un solvente polar (acetona), mediante la aplicación de la fórmula, se calcula el contenido de carotenoides en la muestra. Se adaptó la metodología descrita por Higby (1962)⁷⁴. La absorbancia de la solución de carotenoides se mide a 450 nm, utilizándose un espectrofotómetro ultravioleta/visible, son normalmente extraídos con solventes orgánicos miscibles en agua como acetona, metanol o etanol, siendo el primero el más utilizado.

- **Composición de los aceites fijos.**- Las características de sus ácidos grasos se determinan luego de la saponificación completa y se pueden identificar por métodos cromatográficos, cromatografía en capa fina CCF o cromatografía gaseosa CG directamente o metilados (Arango, 2002)⁷⁵

2.2.4. Usos de los aceites fijos

El principal empleo de los aceites fijos se da en la alimentación en la fabricación de margarinas o mantequillas vegetales son empleados muchas grasas en estado natural o aceites luego de hidrogenación. Estas margarinas son emulsiones entre la fase grasa (82% de aceites) y fase acuosa (16% de agua o leche dependiendo del uso cocina o mesa). La fase grasa pueden ser aceites fluidos (líquidos a 15°C) como el aceite de colza, maní, girasol, etc.; o aceites sólidos (15°<pf<44°C) como el aceite de palma, aceite de coco o de algodón hidrogenado. Las tortas o el marco que queda luego de extraer el aceite y eliminar posibles sustancias tóxicas son útiles para preparar alimentos concentrados para animales. Algunos tienen también importante uso en la industria farmacéutica con acción terapéutica específica como el aceite de ricino y el de chaulmoogras, por ejemplo, o como excipientes en

74 HIGBY,WK. *A simplified method for determination of the carotenoid distribution in natural and carotene fortified orange juice.* J.,Food Sci, 27, 42-49.1962

75 Idem, Ref. de nota al pie 61

solutos inyectables y preparaciones dermatológicas. Además, ciertos aceites insaturados tienen poder hipocolesterolemiantes y antiarterioesclerosis. También para se utilizan dentro la industria hidrocarbúrfica como base o fuente importante de subproductos, como el biodiesel, alternativa ecológica a los combustibles. (Arango, 2002)⁷⁶. La mayoría de aceites obtenidos de especies vegetales se encuentran bajo investigación con el fin de conocer más sobre sus bondades, atribuirles más aplicaciones y así hacerlos rentables para producción industrial.

2.3. Insaponificable

Todas las sustancias grasas sean de origen vegetal o animal, están constituidas en un elevado porcentaje por ácidos grasos combinados con glicerina (glicéridos). Los ácidos grasos constituyen el 94% a 96% del peso total de las moléculas que conforman el aceite. (Kirschembauer, 1954)⁷⁷. Las células grasas, contienen también otros lípidos en pequeñas cantidades, llamados insaponificables, es decir que no pueden ser hidrolizados en ácidos grasos (Trevejo, 1984)⁷⁸. El término "insaponificable" se aplica a las sustancias, no volátiles, obtenidas por extracción, con un solvente orgánico, de una solución de la sustancia a examinar después de saponificación de un aceite vegetal o animal. (Pharmacopée européenne, 2002)⁷⁹ La fracción insaponificable de los aceites vegetales se considera minoritaria con respecto a la fracción glicéridica, sin embargo puede ejercer una gran influencia en las propiedades biológicas de cada aceite. De hecho, la terapia inmunosupresiva en numerosas enfermedades inflamatorias se asocia, no exclusivamente al efecto de los ácidos grasos que se liberan tras la manipulación de la dieta

76 Ídem, Ref. de nota al pie 61

77 KIRCHEMBAUER. *Grasas y aceites. Química y tecnología*. Editorial continental S.A. México.p 309.1954

78 TREVEJO, Ch. *Etude Physico-Chimique et Raffinage D'une huile de sardine Peruvienne (Sardinops sagax)* Tesis. Facultades Sciences Agronomiques de L'Etat Gembloux - Belgique. 1984

79 PHARMACOPEE EUROPEENNE, 2 edition, European Directorate For The Quality Of Medicines (EDQM) European Pharmacopoeia Commission. Pp. 2002

con aceite ricos en ácidos grasos poliinsaturados, sino a otros componentes, probablemente los componentes menores o insaponificables. (Calder y otros, 1994)⁸⁰. Los aceites obtenidos de las frutas frescas o de las cáscaras de frutas, tales como el aceite de palma, aceite de oliva, contienen como principales componentes ácidos, el palmítico, oleico y el linoléico (Kirschembauer, 1954)⁸¹. El contenido de materia insaponificable de la mayor parte de los aceites naturales oscila normalmente entre 0.5 y 2.6%. La materia insaponificable extraída del aceite es fraccionada por cromatografía en capa fina sobre silicagel y alúmina, clasificado por Rf creciente, encontrándose esteroides, tocoferoles, carotenos, hidrocarburos, etc. (Trevejos, 1984)⁸². La extracción de insaponificables consiste en saponificar completamente un aceite con KOH, luego realizar una serie de extracciones con éter de petróleo, y lavados con etanol hasta obtener la fase en la que se encuentra diluida la fracción insaponificable, se elimina el solvente y finalmente se pesa el residuo.

2.3.1 Categorización de los insaponificables

Los lípidos insaponificables se caracterizan por la ausencia de ácidos grasos por lo que no tienen la capacidad de formar jabones (CEM, 2009)⁸³, pueden ser:

- **Terpenos.**- formados por la polimerización de isoprenos. Son abundantes en células vegetales y se clasifican según el número de isoprenos que contiene, así tenemos:
 - ✓ Monoterpenos: dos isoprenos Ej. Geraniol, mentol
 - ✓ sesquiterpenos: 3 isoprenos Ej. Farnesol

80 CALDER, P. C., Yaqoob, P., Newsholme, E. A. Triacylglycerol metabolism by lymphocytes and the effect of triacylglycerol on lymphocyte proliferation. *Biochem. J.* 298, 605-611. 1994.

81 Ídem, Ref. de nota al pie 77

82 Ídem, Ref. de nota al pie 78

83 Ídem, Ref. de nota al pie 60

- ✓ diterpenos: 4 isoprenos. Ej. Fitol: forma parte de la clorofila y es precursor de la vitamina A
- ✓ triterpeno: 6 isoprenos. Ej. escualeno.
- ✓ tetralerpeno: 8 isoprenos. Ej. xantofilas y carotenos.
- ✓ Politerpeno: más de 8 isoprenos. Ej. caucho. (CEM, 2009)⁸⁴.

Son moléculas lineales o cíclicas que cumplen funciones muy variadas, entre los que se pueden citar:

- ✓ Esencias vegetales como el mentol, el geraniol, limoneno, alcanfor, eucaliptol, vainillina.
- ✓ Precursor del colesterol y de Vitaminas, como la vit.A, vit.E, vit.K.
- ✓ Pigmentos vegetales, como la carotina y la xantofila (IENS,2000)⁸⁵

- **Esteroides.**- Derivan del estereno o ciclo pentanoperhidrofenantreno (CEM, 2009)⁸⁶ Los esteroides son lípidos que derivan del esterano. Comprenden dos grandes grupos de sustancias:

- ✓ Esteroles: Como el colesterol, ácidos biliares, vitamina D, estradión.
- ✓ Hormonas esteroideas: las hormonas suprarrenales (aldosterona, cortisol) y las hormonas sexuales (progesterona, testosterona) (IENS, 2000)⁸⁷

Tiene función dinámica debido a todas las acciones de las hormonas. Función estructural ya que el colesterol forma parte de la membrana plasmática. (CEM, 2009)⁸⁸

- **Prostaglandinas.**- Las prostaglandinas son lípidos cuya molécula básica está constituida por 20 átomos de carbono que forman un anillo ciclopentano y dos cadenas alifáticas. Las funciones son diversas. Entre

84 Idem, Ref. de nota al pie 60

85 IENS, INSTITUTO DE ESTUDIOS SALUD NATURAL, *Bases Biológicas, Químicas y Energéticas de los Alimentos*. Octubre 2000. Disponible en: <http://www.oocities.org/ceniuschile/lipidos.html>

86 Idem, Ref. de nota al pie 60

87 Idem, Ref. de nota al pie 85

88 Idem, Ref. de nota al pie 60

ellas destaca la producción de sustancias que regulan la coagulación de la sangre y cierre de las heridas; la aparición de la fiebre como defensa de las infecciones; la reducción de la secreción de jugos gástricos. Funcionan como hormonas locales. (IENS, 2000)⁸⁹

2.4. Actividad Antioxidante

La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, terminan estas reacciones quitando intermediarios del radical libre e inhibiendo otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos, por ello se los conoce como agentes reductores (Sies, 1997)⁹⁰. Pueden ser de origen natural o sintético, debido a que algunos de los antioxidantes sintéticos, son altamente inestables bajo las condiciones de trabajo y en ciertos casos ocasionan efectos adversos sobre la salud de animales de experimentación, los investigadores han intentado encontrar sustancias más estables, eficaces, versátiles y/o menos tóxicas. Para cumplir con este objetivo, se han obtenido diferentes tipos de compuestos a partir de rutas sintéticas o fuentes naturales. Así por ejemplo, entre los compuestos de origen natural se encuentran: carotenoides, vitaminas C y E, tocoferoles, tocotrienoles, flavonoides y licopenos, entre otros (Pokorny y otros, 2001)⁹¹.

89 Idem, Ref. de nota al pie 85

90 SIES H. *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*. Exp Physiol 82 (2):291-5.1997

91 POKORNY, J. YANISHLIEVA, N. GORDON, M. *Antioxidants in Food: Practical Applications*; CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2001.

2.4.1 Antioxidantes

El organismo posee una serie de sistemas de naturaleza enzimática y no enzimática diseñados para protegerse de la acción de los radicales libres por él generados: se denominan antioxidantes. Halliwell en 1996⁹² definió antioxidante como “cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones comparado con el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación de este sustrato” (Sies, 1993; Halliwell y Gutteridge, 1995;)⁹³. Pueden actuar de las siguientes formas:

- ✓ Previendo la formación de ROS
- ✓ Interceptando el ataque de ROS,
- ✓ Secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas
- ✓ Amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de ROS;
- ✓ Facilitando la reparación del daño causado por ROS y, por último
- ✓ Manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes. (Muñoz, 2007)⁹⁴

2.4.1.1. Categorización de los Antioxidantes

Puede darse bajo el punto de vista de la fisiología celular o bioquímico, en el primero podemos dividirlos en antioxidantes primarios, secundarios y terciarios; desde el segundo punto de vista, el bioquímico, encontramos: antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos:

92 HALLIWELL, B. *Free radicals, proteins and DNA: oxidative damage versus redox regulation*. Biochemical Society Transactions 24(4): 1023-1027.1996

93 SIES, H. *Damage to plasmid DNA by singlet oxygen and its protection*. Mutation Research 299(3/4): 183. 1993

HALLIWELL, B. and J. M. GUTTERIDGE. *The definition and measurement of antioxidants in biological systems*. Free Radic Biol Med 18(1): 125-6.1995

94 MUÑOZ, Diego. *Actividad física y organismos biológicos: Sistemas Antioxidantes*, pag16 , 2007

Antioxidantes enzimáticos:

Previenen la formación de nuevos radicales libres, esto lo consiguen convirtiendo los radicales libres existentes en moléculas menos perjudiciales antes de que puedan reaccionar o evitando la formación de radicales libres a partir de otras moléculas, por ejemplo:

- ✓ Superóxido dismutasa (SOD)
- ✓ Glutación peroxidasa.
- ✓ Catalasa
- ✓ Tioredoxina
- ✓ Glutaredoxina
- ✓ Proteínas de unión a metales (Ferritina, Ceruloplasmina): Limitan la disponibilidad de Fe necesaria para formar el radical OH. (Gutteridge y Stocks, 1981; Halliwell y Gutteridge, 1989)⁹⁵.

Antioxidantes No enzimáticos:

Son protectores no enzimáticos o captadores de radicales libres que intervienen cuando hay superproducción de radicales libres y los sistemas enzimáticos están desbordados, previniendo así las reacciones en cadena. (Halliwell y Gutteridge, 1990)⁹⁶. Dentro de ellos mencionamos:

- ✓ Tocoferoles.- Dan protección de membranas lipídicas. Bloqueo de la cadena de reacciones de peroxidación. Ej: Vitamina E (α - tocoferol)
- ✓ Ácido ascórbico.- Ayudan a la regeneración de tocoferoles. Ej. Vitamina C (ascorbato). La vitamina C (ácido ascórbico) es probablemente el antioxidante más importante del medio extracelular, con funciones de

95 GUTTERIDGE, J. M. and J. STOCKS. *Caeruloplasmin: physiological and pathological perspectives*. Crit Rev Clin Lab Sci 14(4): 257-329. 1981

HALLIWELL, B. and J. M. C. GUTTERIDGE. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford, Clarendon Press, Reino Unido. 1989

96 HALLIWELL, B. and J. M. GUTTERIDGE. *The antioxidants of human extracellular fluids*. Arch Biochem Biophys 280(1): 1-8.1990

cofactor enzimático. Su función antioxidante deriva de su capacidad de actuar como donante de electrones (Andresen y otros, 2006).⁹⁷

✓ Glutati6n.- Antioxidante enzimático, remueve el oxígeno de los compuestos altamente reactivos. (Frankel, 1998)⁹⁸.

✓ Ácido alfa lipoico.- Neutraliza directamente a los Radicales Libres, también regenera a la vitamina C, que a su vez regenera a la vitamina E durante el estrés oxidativo (Coombes y otros, 2000)⁹⁹

✓ Carotenoides.- Bloquean la cadena de reacciones de peroxidación. Ej. β -caroteno. La principal funci6n biol6gica de los carotenoides es la de servir como pigmentos accesorios en la recolecci6n de la luz durante el proceso fotosintético, y como sustancias fotoprotectoras, inhibiendo la propagaci6n de especies reactivas de oxígeno y otros radicales libres, por tanto impidiendo la acci6n nociva de éstos a nivel celular. (Mínguez-Mosquera y otros, 1994)¹⁰⁰.

Además de la contribuci6n de los carotenoides al color atractivo de las frutas y verduras, destaca, por su importancia a nivel fisiol6gico y dietético, la propiedad de algunos de ellos de tener actividad como provitamina A (Isler, 1971. y Simpson, 1983)¹⁰¹. La vitamina A es esencial para la visi6n nocturna y para mantener sanos la piel y los tejidos superficiales. La actividad antioxidante de estos pigmentos depende de su estructura química (tamaño, número de sustituyentes, configuraci6n cis o trans, etc.), su concentraci6n, la presi6n parcial de oxígeno o su interacci6n con otros antioxidantes, sobre todo las vitaminas C y E . En un principio, se llevaron a cabo estudios basándose principalmente en el β -caroteno; el mecanismo de la actividad antioxidante de este compuesto está relacionado con su carácter hidrofóbico y con su capacidad para "retirar" el oxígeno y desactivar radicales libres. Se

97 ANDRESEN M, REGUERIA T, LEIGHTON F. *Estrés oxidativo en el paciente crítico*. Rev Méd Chile. 134:649656. 2006

98 FRANKEL, E.N. 1998. *Lipid Oxidation*. Ed. The oil press. Davis, California. U.S.A. pp. 11- 12.1998

99 COOMBES, J., S. Powers, K. Hamilton, H. Demirel, R.A. Shanely, M. Zergeroglu, C. Sen, L. Packer, and L. Ji. *Improved cardiac per-formance after ischemia in aged rats supplemented with vitamin E and alpha-lipoic acid*.. *Physiol*. pg279.2000

100 MÍNGUEZ MOSQUERA M. I, PÉREZ A. Y HORNERO D. *Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples colorantes naturales*. Grupo de química y bioquímica de pigmentos. Departamento de biotecnología de alimentos. Instituto de la grasa, csic. Sevilla España.1994

101 ISLER O. Carotenoids. Stuttgart: Birkhäuser Verlag Basel; 1971. y SIMPSON KL. *Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A*. Proc Nutr Soc 1983

ha sugerido asimismo que el β -caroteno puede pasar de ser antioxidante a prooxidante en función de la concentración y la presión de oxígeno, entre otros factores. Existen estudios in vitro que apuntan que la actividad antioxidante de este compuesto es mayor que la del α -tocoferol (<biblio>¹⁰². También se ha demostrado que otros carotenoides, como la astaxantina luteína, zeaxantina, cantaxantina y licopeno son buenos antioxidantes. (Mínguez Mosquera M. I y otros, 2004)¹⁰³

✓ Antioxidantes Naturales.- Se encuentran en casi todas las partes de las plantas, ya que las protegen contra lesiones del tejido, oxidándose y combinándose con otros componentes, también pueden servir como defensa contra herbívoros. Los polifenoles son el grupo más numeroso de componentes antioxidantes y están presentes en las frutas y los vegetales, las semillas leguminosas, los granos, los téis, las hierbas, las especias y los vinos (Horubala, 1999; Borowska, 2003)¹⁰⁴. Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios producidos por los vegetales, presentan en su estructura química la presencia de anillos aromáticos con grupos hidroxilos responsables de su actividad (Cano y otros, 2005)¹⁰⁵.

Ácidos fenólicos. Los ácidos fenólicos se comportan como antioxidantes muy eficientes en los sistemas biológicos, pueden actuar como receptores de radicales libres y neutralizadores de la cadena alifática. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo

102 JIALAL I, Norkus EP, Cristol L, Grundy SM. β -carotene inhibits the oxidative modification of low density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta*; 1086: 134-138. 1991

NAKAGAWA K, Fujimoto K, Miyazawa T. β -carotene as a high-potency antioxidant to prevent the formation of phospholipid hydroperoxides in red blood cells of mice. *Biochim Biophys Acta*; 1299: 110-116. 1996

103 Ídem, Ref. de nota al pie 100

104 HORUBALA A. *Antioxidant capacity and their changes in fruit and vegetables processing*. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.* pg 30–31.1999

BOROWSKA, J. *Fruits and vegetables as source of natural antioxidants*. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.* 1: 11-12. 2003

105 CANO, M.P.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE PASCUAL-Teresa, S. y DE ANCOS, B. . *Procesado mínimo y valor nutricional*. En González-Aguilar G.A.; Gardea, A.A.; Cuamea-Navarro, F.(Eds.) *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. Logiprint Digital. Guadalajara, México. pp. 119-152. 2005

aromático (Duthie y otros, 2003)¹⁰⁶. Ej. Ácido protocatequico, ácido cafeíco, ácido gálico, etc. Recientemente se han descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes, los compuestos fenólicos. Algunas fuentes son los frijoles (isoflavonas), cítricos (flavonoides), cebolla (quercetina) y polifenoles (aceitunas). También se han encontrado algunos antioxidantes fenólicos en el café, vino tinto y té. (Avello M. y Suwalsky M., 2006)¹⁰⁷

Flavonoides. Están presentes en casi todas las partes de la planta y pueden comúnmente poseer actividad antioxidante. La estructura básica de un flavonoide consiste en dos anillos aromáticos unidos por una cadena alifática de tres carbonos (C6-C3-C6), los cuales se condensan en forma de pirano, o menos comúnmente, en un anillo furano (Pratt, 1972)¹⁰⁸. Pratt y Watts (1964)¹⁰⁹ han considerado a los flavonoides como antioxidantes primarios que actúan como receptores del radical libre y neutralizador de la cadena. Ej. Flavonas, flavononas, chalconas, isoflavonas, etc.

Estilbenos. Son otro tipo de compuestos fenólicos (C6-C2-C6) donde se encuentran los derivados del resveratrol (Burns y otros., 2001)¹¹⁰. La uva es una fuente importante de estos compuestos que tienen la mayor actividad de absorción de radicales peroxilo incluso por arriba de los flavonoides (Yilmaz y Toledo, 2004)¹¹¹.

Taninos. Son compuestos fenólicos complejos que tienen pesos moleculares en el rango de 500-6000 Da (Gustavson, 1956; Foo y

106 DUTHIE, GG; GARDNER, PT; JAM, Kylie. *Plant polyphenols: are they the new magic bullet?* Proc Nutr Soc. 62:599-603, 2003

107 AVELLO, Marcia y SUWALSKY, Mario. *Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección*, pag. 165. 2006

108 PRATT, D.E. *Water-Soluble Antioxidant Activity in Soybeans*. J. Food Sci. 37: 322-323. 1972

109 PRATT, D. E. y WATTS, B. M. *Antioxidant activity of vegetable extracts (2) flavone aglycones*. J. Food Sci. 29: 27-33. 1964.

110 BURNS, J.; GARDNER, P.T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G.G.; LEAN, M.E.J.; y CROZIER, A. *Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification*. J. Agric. Food Chem. 49: 5797-5808. 2001

111 YILMAZ, Y. y Toledo, R.T.. *Health aspect of functional grape seeds constituents*. Trends food SCI Technol, 15 422:433.2004

Porter, 1980)¹¹². Abarcan una cantidad considerable de la cáscara y de las capas de las semillas oleaginosas. Pueden ser clasificados como condensados o hidrolizables, basado en su tipo y reactividad estructural hacia agentes hidrolíticos (Haslam, 1966; Roux y otros, 1980)¹¹³.

2.4.2 Métodos de evaluación de la actividad antioxidante

Puede evaluarse la actividad antioxidante (AA) a través de pruebas químicas *in vitro* dentro de las que podemos mencionar:

- ✓ Actividad reductora del hierro férrico/poder antioxidante (Ensayo FRAP):

Esta técnica fue desarrollada por Benzie y Strain (1996)¹¹⁴ como método de medida de la capacidad antioxidante plasmática, aunque posteriormente ha sido aplicado a muestras de alimentos. El método determina la capacidad de la muestra para reducir un complejo por hierro férrico con la molécula tripiridil-s-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. El ensayo FRAP es sencillo y fácilmente automatizable. Es rápido, generalmente la reacción se completa entre 4 y 8 minutos. Sin embargo, en el caso de algunos polifenoles se han descrito reacciones más lentas, llegando incluso a requerir 30 minutos hasta completar la reducción del complejo. Se considera un método adecuado para evaluar la capacidad de los antioxidantes para modular el tono redox de células y tejidos. Sin embargo, cuando se aplica en plasma o suero no es capaz de detectar la

112 GUSTAVSON, K. H. *The Chemistry of Tanning Process*, Academic Press, New York. 1956

113 HASLAM, E. *Chemistry of Vegetable Tannins*, Academic Press, New York..1966

ROUX, D.G.; FERREIRA, D. y BOTHA, J.J. *Structural considerations in predicting the utilization of tannins*. J Agric. Food Chem. 28: 216-222. 1980

114 BENZIE IFF y STRAIN JJ. *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant powe, FRAP assay*. Anal Biochem.239:70-76. 1996

actividad de antioxidantes con grupos sulfhidrilo como el glutatión o algunas proteínas, por lo que dará valores de capacidad antioxidante del suero o plasma ligeramente más bajos de los reales. Además, cuando se analizan alimentos vegetales, se han descrito interferencias de azúcares y ácido cítrico (Prior y otros, 2005).¹¹⁵

- ✓ Capacidad antioxidante expresada en equivalentes Trolox (Ensayo TEAC)

El ensayo TEAC o ensayo del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotioazolín-6-sulfónico) (ABTS) está basado en la captación por los antioxidantes del radical catión ABTS·+ generado en el medio de reacción. El radical catión del ABTS posee una coloración verde-azulada con un máximo de absorción a 415 nm y una serie máximos secundarios de absorción a 645, 660, 734, 815 y 820 nm. Para el desarrollo del método se suelen emplear dos estrategias; inhibición y 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 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 este (Sánchez-Moreno 2002)¹¹⁶. El orden de adición de los reactivos ha hecho que el método sea criticado, ya que posibles interferencias de los antioxidantes con el sistema de generación de radicales puede llevar a una estimación de los valores de actividad antioxidante por debajo de los reales (Prior y otros, 2005)¹¹⁷. Sin embargo, se trata de un método ampliamente utilizado en ensayos clínicos, al ser un método rápido, sencillo y automatizable; además, el ABTS·+ es soluble en

115 PRIOR RL, WU X, SCHAICH K. *Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements*. J Agric Food Chem. 53:4290-4302. 2005

116 SÁNCHEZ-MORENO C. *Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems*. Food Sci Tech Int. 8:121- 137. 2002

117 Idem, Ref. de nota al pie 115

solventes acuosos y orgánicos, lo cual lo hace un método apto para determinar la capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica de extractos y fluidos biológicos (Schlesier y otros, 2002; Prior y otros, 2005)¹¹⁸.

✓ Ensayo de los fenoles totales con el reactivo de Folin-Ciocalteu.

El ensayo Folin-Ciocalteu ha sido utilizado como una medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos naturales. La oxidación de los fenoles presentes en la muestra causa la aparición de una coloración azul que presenta un máximo de absorción a 765 nm y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico. Se trata de un método simple, preciso y sensible pero que sufre de numerosas variaciones, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes empleados de muestra, concentraciones de reactivos, y tiempos y temperaturas de incubación. Existen además diversas sustancias de naturaleza no fenólica que interfieren en las determinaciones y que pueden dar lugar a concentraciones de compuestos fenólicos aparentemente elevadas, por lo que deben hacerse correcciones para estas sustancias. Entre ellas destacan las proteínas, el ácido ascórbico, el ácido úrico, algunos aminoácidos y nucleótidos, azúcares y algunas sales inorgánicas (Prior y otros, 2005)¹¹⁹. Se emplea al tratarse de un parámetro que generalmente muestra una estrecha correlación con diferentes métodos de medida de la actividad antioxidante (Schlesier y otros, 2002; Sun y otros, 2002)¹²⁰. El ensayo de Folin-Ciocalteu también se ha empleado en estudios in vivo para la determinación de los niveles de compuestos fenólicos totales en plasma/suero tras la ingesta de vino y zumos de frutas ricos en compuestos fenólicos (Pedersen y otros, 2000)¹²¹.

118 SCHLESIER K, HARWAT M, BÖHM V, BITSCH R. *Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods*. Free Rad Res. 36:177-187. 2002

119 Idem, Ref. de nota al pie 115

120 SCHLESIER K, HARWAT M, BÖHM V, BITSCH R. *OP. Cit.* Free Rad Res. 36:177-187. 2002

SUN J, CHU YF, WU X, LIU RH. *Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits*. J Agric Food Chem. 50:7449-7454. 2002

121 PEDERSEN, Kyle , JENKINSON AMcE, GARDNER PT, MCPHAIL DB, DUTHIE GG. . *Effects of blueberry and cranberry juice consumption on the plasma antioxidant capacity of healthy female volunteers*. Eur J Clin Nutr. 54:405-408. 2000

✓ Captura del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (Ensayo DPPH)

El ensayo DPPH es un método rápido y sencillo que no requiere un equipamiento sofisticado, sencillamente un espectrofotómetro. El DPPH se comercializa ya en la forma de radical y sencillamente requiere su disolución en metanol para el desarrollo del método. Por esta razón se trata de un método ampliamente utilizado para evaluación de la actividad antioxidante total. Es un método adecuado para medir la actividad antioxidante en alimentos y extractos vegetales, (Sánchez-Moreno 2002)¹²². Se basa en la reducción del radical DPPH por los antioxidantes de la muestra (Brand-Williams y otros, 1995).¹²³ El fundamento consiste en que el DPPH tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm. Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radical libre DPPH a una concentración en mg/L (Chávez, 2004)¹²⁴. El radical del DPPH es estable, con una coloración púrpura que se pierde progresivamente cuando se añade la muestra conteniendo sustancias antioxidantes. La cuantificación se realiza por lo general empleando soluciones patrón de Trolox o BHA. En general la reacción puede medirse a los 30 minutos del inicio, ya que en este intervalo se espera que la mayoría de sustancias completen la reacción con el DPPH (Schlesier y otros, 2002)¹²⁵. La reacción que se lleva a cabo la donación de un hidrógeno al DPPH de los antioxidantes RH (Gráfico 1). El radical DPPH es de un color morado, en su forma reducida es incoloro, por lo que la adición de un agente antioxidante incentiva a la solución a ponerse amarilla.

122 Ídem, Ref. de nota al pie 116.

123 BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, BERSET C. *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. Lebensm Wiss Technol. 28:25-30. 1995

124 CHÁVEZ J. *Curso Principios bioactivos de plantas andinas y amazónicas del Perú*. Capacidad antioxidante de compuestos bioactivos. Facultad de Ciencias, Departamento de Química. UNALM 2004.

125 Ídem, Ref. de nota al pie 117

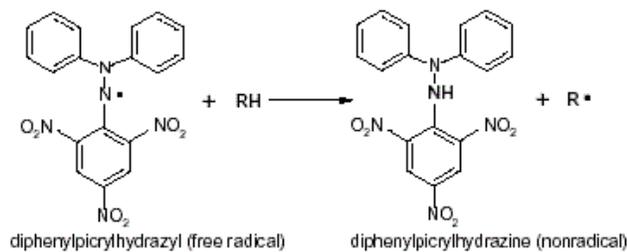


Grafico 1: Reacción de reducción del DPPH

La actividad "captadora de radicales ha sido evaluada por Wang y otros (1998)¹²⁶ y Muzzoli y otros (2003)¹²⁷, que prevé la reducción del radical estable DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) en presencia de compuestos antioxidantes presentes en los aceites. El resultado general se basa en la actividad antiradical o IC₅₀ (Concentración Eficaz 50), definida como la concentración del antioxidante que disminuye la absorción tanto del DPPH a un 50% de la cantidad inicial. Existe una relación inversamente proporcional, a mayor valor del EC50 menor actividad antiradical (Sánchez-Moreno y otros., 1998)¹²⁸

✓ Test del β-Caroteno o Método de decoloración del β-caroteno

La prueba se realiza siguiendo el método espectrofotométrico de (Miller, 1971)¹²⁹ que se basa en la capacidad de diversos extractos de disminuir la decoloración oxidativa del β-caroteno en una emulsión ácida de β-caroteno/ácido linoléico. Este método de evaluación de extractos de plantas se basa en el acoplamiento de la oxidación del ácido β-caroteno y ácido linoléico: que se produce en presencia de oxidantes en la oxidación del ácido linoléico (C13) con la formación de los radicales peroxilo. Esta se propaga

126 WANG, Y., D. RIND, C.R. TREPTE, G.S. KENT, G.K. YUE, AND K.M. SKEENS. *An empirical model study of the tropospheric meridional circulation* based on SAGE. 1998

127 MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M. y BRUNI, R.. *Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobial foods*. *Food Chemistry* 91: 621-632. 2005

128 Idem, Ref. de nota al pie 116

129 MILLER H. *A simplified method for the evaluation of antioxidant* . *J Am Oil Chem Soc*; pag91-98, 1971

radical de la cadena de robo de un radical hidrógeno o una segunda molécula de ácido linoléico o β -caroteno (Gráfico 2).

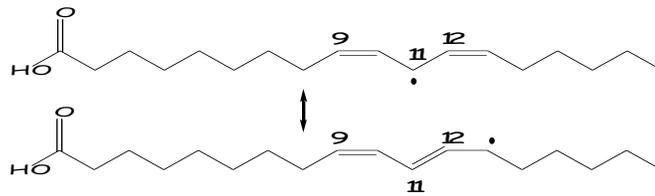


Gráfico 2.- Reacción de la formación del radical peróxido

La técnica consiste en la medición de la decoloración (blanqueo) de β -caroteno causado por productos de degradación oxidativa de ácido linoléico debido a la temperatura (Taga y otros, 1984)¹³⁰. Los radicales hidroperóxidos del ácido linoléico atacan y oxidan el β -caroteno, el cual se decolora rápidamente, registrándose una disminución de las lecturas de la absorbancia. La presencia de extractos antioxidantes puede retardar el proceso de decoloración por acción sobre los radicales libres que se forman en el sistema

2.4.3. Importancia de la actividad antioxidante

Los posibles mecanismos de acción de los antioxidantes, fueron investigados por primera vez cuando se reconoció que una sustancia con actividad antioxidante probablemente era una que se oxidaba a sí misma fácilmente. La investigación de cómo la vitamina E prevenía el proceso de peroxidación de lípidos condujo a la identificación de antioxidantes como agentes reductores que previenen reacciones oxidativas, a menudo depurando especies reactivas del oxígeno antes de que puedan dañar las células. (Lee y otros, 2004)¹³¹

Aunque las reacciones de oxidación son cruciales para la vida, también pueden ser perjudiciales, por lo tanto las plantas y los animales mantienen complejos sistemas de múltiples tipos de antioxidantes, tales como las

130 TAGA, M.S., MILLER, E.E., y PRATT, D.E. *Chía seeds as a source of natural lipid antioxidants*. Journal of the American Oil Chemist's Society; 61:928-931. 1984

131 LEE J, KOO N, MIN DB. *Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 3:21. 2004

vitaminas C y E, enzimas (catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa), así como proteínas de unión a metales, etc. Los niveles bajos de antioxidantes o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células del organismo (Wikipedia, 2011)¹³². Muchos de los efectos beneficiosos asociados al consumo de alimentos de origen vegetal se atribuyen en gran medida a los compuestos fenólicos (Manach y otros, 2004)¹³³, antioxidantes no enzimáticos. En la actualidad este grupo de compuestos de origen vegetal presenta interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. De hecho, desde 1990, varias organizaciones internacionales en el ámbito de la nutrición recomiendan un consumo diario de al menos 5 raciones de frutas y/o verduras para asegurar una adecuada ingesta de antioxidantes y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (World Health Organization 1990; World Cancer Research Foundation and American Institute for Cancer Research 1997)¹³⁴.

2.4.4. Aplicaciones de los antioxidantes

Las primeras investigaciones sobre el rol de los antioxidantes en biología se centraron en su uso para la prevención de la oxidación de grasas insaturadas, que es la principal causa de rancidez en los alimentos. La identificación de las vitaminas A, C y E como antioxidantes revolucionó el campo y condujo a dilucidar la importancia de los antioxidantes en la bioquímica de los organismos vivos. (Wolf, 2005)¹³⁵

132 WIKIPEDIA. *Antioxidantes*. En línea: <http://es.wikipedia.org/wiki/Antioxidante>. Consulta: 25 de junio del 2011

133 MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, RÉMÉSY C, JIMÉNEZ L. *Polyphenols: food sources and bioavailability*. Am J Clin Nutr. 79:727-747. 2004

134 WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Diet, nutrition and the prevention of chronic disease*. Technical Report series 797. Geneva: World Health Organization. 1990

135 WOLF ,G. *The discovery of the antioxidant function of vitamin E: the contribution of Henry A. Mattill*. J Nutr 135 (3): 363-6.2005

2.4.5. Uso industrial de los antioxidantes

A finales del siglo XIX y a principios del siglo XX, extensos estudios, fueron dedicados a las aplicaciones de antioxidantes en importantes procesos industriales, tales como la prevención de la corrosión del metal, la vulcanización del caucho, y la polimerización de combustibles en la formación de escoria en motores de combustión interna. (Jacob, 1996)¹³⁶

Los antioxidantes sintéticos se han considerado relativamente seguros y se aplican ampliamente en una serie de productos manufacturados incluidos los productos farmacéuticos, cosméticos, alimentos para humanos, y en la alimentación animal (Valenzuela y Nieto, 1996)¹³⁷.

En la industria alimenticia, el ácido ascórbico y sus derivados, el conjunto de tocoferoles conocidos como vitamina E, el BHA, el BHT, entre otros, son muy utilizados en productos cárnicos, conservas vegetales, bebidas refrescantes, zumos, productos de repostería y en la cerveza, para eliminar el oxígeno del espacio de cabeza. Contribuyen a evitar el oscurecimiento de la fruta cortada en trozos y a evitar la corrosión de los envases metálicos. Se utilizan en aceites de semillas, en conservas vegetales y en quesos fundidos. El Butil-hidroxi-anisol (BHA), es un antioxidante sintético que se utilizó inicialmente en la industria petrolífera. Desde los años cuarenta se utiliza como aditivo alimentario, al igual que el Butil-hidroxi-tolueno (BHT), o el cloruro estannoso (como aditivo exclusivamente para espárragos enlatados, aunque prácticamente ya no se utiliza). Empresas como Mayzo, proporcionan una variedad de antioxidantes, que son útiles para proteger adhesivos, lubricantes, plásticos, elastómeros, y las capas de la oxidación durante el

136 JACOB R. *Three eras of vitamin C discovery*. Subcell Biochem 25: 1–16.1996

137 VALENZUELA, A. y NIETO, S. *Synthetic and Natural Antioxidants: Food Quality Protectors*. Grasas y Aceites. 47:186–196. 1996

procesamiento a alta temperatura y / o la exposición a temperaturas elevadas durante el uso final (Mayzo, 2011)¹³⁸

2.4.6. Aceites con actividad antioxidante

La Real Farmacopea Española recoge la monografía de diversos aceites de origen vegetal:

✓ **Aceite de “ricino”, *Ricinus communis* L., Euphorbiaceae**

La semilla de la higuera contiene 10% de glúcidos y 50% de lípidos llamado aceite de ricino (aceite de castor) es obtenido por compresión en frío de color amarillo pálido, espeso, soluble en etanol absoluto, su poder rotatorio es destrógiro y está constituido por 75% de triglicérico del ácido ricinoléico C18 D9 OH12. La presencia del hidroxilo en 12 responsables de propiedades particulares (solubilidad, actividad biológica, etc.). En el insaponificable se encuentran esteroides y a-tocoferol, además se encuentra un cianocalcoide tóxico la ricinin. El aceite de ricino es purgativo e irritante gástrico debido al ácido ricinoleico, además es usado como materia prima en la fabricación de pinturas, lubricantes, tinturas en la industria textil. (Arango, 2002)¹³⁹

✓ **Aceite de “coco”, *Cocos nucifera* L. , Arecaceae**

La manteca o aceite de coco contiene mayoritariamente 50% de trilaurina (triglicérido del ácido láurico) acompañado de trimiristicina y tricaprilinea además, se encuentra vitamina D. Se emplea luego de hidrogenación, como excipiente en supositorios, en la preparación de jabones finos o como detergente luego de sulfonación. (Arango, 2002)¹⁴⁰

138 MAYZO. *Antioxidants* En línea: <http://www.mayzo.com>. Consultado: 15 de mayo del 2011.

139 Ídem, Ref. de nota al pie 61

140 Ídem, Ref. de nota al pie 61

✓ **Aceite de “almendra dulce”, *Prunus sect. Amygdalus* L., Rosaceae**

Las semillas contienen 45% de lípidos ricos en trioleinas, su IY es aproximado a 100 y su principal uso es en cosméticos. (Arango, 2002)¹⁴¹

✓ **Aceite de “oliva”, *Olea europea* L., Oleaceae**

Está formado principalmente por trioleinas 70-80% y ácido linoléico, su insaponificable contiene fitosteroles y vitamina A. El aceite tiene propiedades colagogas y es usado principalmente en alimentación y en la preparación de jabones finos. (Arango, 2002)¹⁴²

✓ **Aceite de “maíz”, *Zea sect. Mays Kuntze*, Poaceae**

Es extraído del germen o embrión por expresión, es de color amarillo oro, su composición es principalmente trioleina y trilinoleina, debido a su gran insaturación, debe ser protegido de la luz. (Arango, 2002)¹⁴³

✓ **Aceite de “colza”, *Brassica napus* L., Brassicaceae**

Es un aceite insaturado extraído de los granos o semillas de colza rico en glicéridos de ácido oléico y linoléico, contiene además un ácido insaturado de 22 carbonos el ácido erúico. (Arango, 2002)¹⁴⁴

✓ **Aceite de “soya”, *Glycine soja* S. & Z., Fabaceae**

Los granos de soya o soja contienen 20% de aceite con IY entre 130 y 145 y cuya composición es: ácido linoléico 50%, ácido oléico 30% y un 15% de ácidos insaturados, el insaponificable del aceite contiene esteroides y tocoferol. (Arango, 2002)¹⁴⁵

141 Ídem, Ref. de nota al pie 61

142 Ídem, Ref. de nota al pie 61

143 Ídem, Ref. de nota al pie 61

144 Ídem, Ref. de nota al pie 61

145 Ídem, Ref. de nota al pie 61

✓ **Aceite de “Sésamo”, *Sesamum orientale* L., Pedaliaceae**

Las semillas contienen entre 40 y 50% de aceite rico en trioleinas y trilinoleinas con un IY entre 105 y 110. El insaponificable contiene el lignano sesamina el cual contribuye a la estabilidad del aceite, se usa en farmacia como laxativo suave, en jabones y cosméticos y como sinergista de insecticidas. (Arango, 2002)¹⁴⁶

✓ **Aceite de “cacahuete”, *Arachis hypogaea* L., Fabaceae**

Obtenido a partir de las semillas descascarilladas de *Arachis hypogaea* L. Puede contener un antioxidante apropiado. El aceite contiene como componentes mayoritarios, ácidos oleico (35-72%) y linoléico (13-43%). Posee además ácidos: palmítico, esteárico, behénico, lignocérico, araquídico, gadoleico, erúcico, etc. En el insaponificable se han identificado principalmente beta-sitosterol y campesterol, así como alfa y gamma tocoferol. (Real Farmacopea Española, 2002)¹⁴⁷

✓ **Aceite de germen de “trigo”, *Triticum aestivum* L., Poaceae**

El aceite tiene como componentes mayoritarios ácidos linoléico (52-59%), oleico (12-23%), palmítico (14-19%) y linolénico (3-10%). La presencia en el insaponificable de un importante contenido en vitamina E hace que pueda considerarse este aceite como una fuente fácilmente asimilable de la misma. En ratas, la ingestión del aceite supone un rápido incremento de los niveles de vitamina E en cerebro, hígado, pulmones, riñones y bazo, disminuyendo la peroxidación lipídica. (Real Farmacopea Española, 2002)¹⁴⁸

146 Ídem, Ref. de nota al pie 61

147 Ídem, Ref. de nota al pie 55

148 Ídem, Ref. de nota al pie 55

3.- MARCO METODOLÓGICO

3.1. Extracción u obtención de aceites fijos

3.1.1. Recolección del material vegetal

Los frutos de *Mauritia flexuosa* y *Bactris gasipaes* fueron recolectados en la parroquia San Luis del Upano, cantón Sucúa, provincia de Morona Santiago específicamente, sector cubierto por vegetación de sucesión secundaria y se encuentra a una latitud de 820 msnm, entre las coordenadas S52°28'43" latitud y O 78°8'59" longitud, así presenta un clima subtropical con temperaturas que varían entre los 18°C (mínima) y 32°C (máxima)

3.1.1.1 Extracción del aceite de Chonta

Después de la recolección, el material vegetal (*Bactris gasipaes* o *Mauritia flexuosa*), fue lavado, troceado y secado en la estufa por 3 días a 40°C, para evitar su descomposición, cuando se eliminó más del 80 % de agua, se realizó la molienda manual y el polvo extraído se almacenó en frascos de vidrio debidamente etiquetados. Se realizó la extracción del aceite por el método soxhlet, utilizando como solvente n-hexano en una relación muestra volumen de 1:10 durante un tiempo de 30 minutos. En esta extracción semicontinua con un disolvente orgánico, el disolvente se calentó, se volatilizo y condensa goteando sobre el material molido, el cual quedo sumergido en el disolvente. Posteriormente éste fue sifoneado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso, según lo indica Nielsen, 2003¹⁴⁹, obteniéndose una mezcla de hexano y aceite; esta, se separó con la ayuda del rotavapor a una temperatura no mayor de 40°C, el hexano que se recuperó se lo reutilizó para más extracciones, mientras que el aceite fue almacenado en un frasco ámbar debidamente etiquetado a temperatura ambiente.

149 NIELSEN S. " Food Analysis Laboratory Manual; Kluwer Academic/Plenum", Publishers, Nueva York, 2003.

Materiales, Equipos y Reactivos

- ✓ Balones de fondo redondo, refrigerantes, mangueras, soportes, pinzas y nueces, cartuchos de celulosa , papel filtro
- ✓ Molino
- ✓ Cocinetas
- ✓ Sorbona
- ✓ Rotavapor
- ✓ Hexano
- ✓ Aceite de vaselina

3.1.1.2 Extracción del aceite de Morete.- Se utilizó el mismo método de extracción por solvente usado para la chonta.

3.1.1.3 Aceite de Sacha Inchi.- El aceite de Sacha Inchi se adquirió de Agroindustrias Floris S.A.C., laboratorio ubicado en Lima - Perú.

www.santanatura.com.pe .

3.1.1.4 Aceite de Ungurahua.- El aceite de Ungurahua se compró en la ciudad del Puyo, Provincia Pastaza. Sector cubierto por vegetación de sucesión secundaria y se encuentra a una latitud de 950 msnm, entre las coordenadas 0° 59' -1" S latitud y 77° 49' 0" W longitud, así presenta un clima subtropical con temperaturas que varían entre los 15°C (mínima) y 25°C (máxima)

3.2 Análisis de calidad de los aceites en estudio

Los métodos de análisis y muestreos fueron obtenidos de la Norma del Codex para aceites Vegetales especificados, CODEX STAN 210-1999¹⁵⁰

150 CODEX STAN 210-1999, NORMA DEL CODEX PARA ACEITES VEGETALES ESPECIFICADOS.[en línea]. Fecha de descarga: 24-05-2011. Disponible en formato http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad/marco_regulatorio/normativa/codex/stan/codex_stan_210.htm

3.2.1. Constantes físicas

3.2.1.1. Peso específico.

El peso específico se determinó de conformidad con: UIQPA 2.101.¹⁵¹ Se determinó mediante el método del picnómetro, este se pesa vacío (m_1), luego se llena completamente (incluido el capilar) con agua destilada y se pesa (m_2). Finalmente se llena con el aceite cuya densidad se desea determinar y se pesa (m_3). Con estos datos se puede calcular el peso específico aparente a 20/20°C del aceite la siguiente fórmula:

$$P_{especifico} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}$$

Se repitió el proceso por triplicado y para cada aceite. Para los cálculos se obtuvo una medida promedio de las lecturas utilizando la media aritmética.

Materiales, equipos y reactivos

- ✓ Picnómetro
- ✓ Balanza Analítica
- ✓ Papel secante
- ✓ Aceites objeto de estudio
- ✓ Agua destilada

3.2.1.2 Índice de refracción

El índice de refracción se determinó de conformidad con ISO 6320:2000 o AOCS Cc 7-25 (02). Método del Codex Tipo II¹⁵². Para esto se calibró el refractómetro con agua destilada a una temperatura ambiente de 20 °C, las lecturas se hicieron colocando una gota de aceite sobre el prisma, anotando hasta la cuarta cifra decimal, se realizan las mediciones por triplicado. Para expresar la medida promedio se obtuvo la media aritmética de las tres lecturas de cada aceite.

151 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

152 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

Materiales, equipos y reactivos

- ✓ Gotero, papel secante
- ✓ Refractómetro con aproximación hasta la cuarta cifra decimal con temperatura controlada en $\pm 0,1$ °C.
- ✓ Aceites objeto de estudio.
- ✓ Agua destilada

3.2.2. Constantes químicas

3.2.2.1 Índice de acidez

Para obtener el índice de acidez se utilizó la Norma Ac5-41 de la AOCS (1994)¹⁵³ se pesó en un matraz 5-10 g de aceite, y se disolvió en 50 ml de una mezcla alcohol-éter con fuerte agitación, se añadió 5 ml de solución fenolftaleína y se valoró con la solución álcali (KOH). Los cálculos se expresaron de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{V * N * 56.1}{P}$$

Donde:

V= volumen en ml. De la solución álcali utilizados

N= Normalidad de la solución de KOH

P= peso en gramos de la muestra utilizada

Expresar los resultados en porcentaje (%)

Materiales, equipos y reactivos

- ✓ Erlenmeyer de 100 ml, pipeta de 10 ml., probeta de 100 ml., bureta graduada., embudo de vidrio, tubo de ensayo.
- ✓ Solución etanólica de KOH 0.1 N ó NaOH 0.1 N
- ✓ Solución alcohólica de fenolftaleína al 1 por 100.

¹⁵³ Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

- ✓ Mezcla etanol-éter etílico 1:1, neutralizada con el álcali en presencia de fenolftaleína.

3.2.2.2 Índice de saponificación

Para la determinación del índice de saponificación se usó la metodología descrita por el método oficial de la AOAC (Matissek y otros, 1998)¹⁵⁴. Se preparó una disolución alcohólica de hidróxido de potasio (potasa alcohólica), mezclando bajo el flujo laminar 50 ml. de etanol y 14 g de KOH con constante agitación durante 30 minutos. Se pesó una muestra de aproximadamente 2,5 ml de aceite y se colocó en un Erlenmeyer de 250 ml., luego se adicionó 25,0 ml. de potasa alcohólica. Se hizo una preparación en blanco usando la misma cantidad de potasa alcohólica 0,5 N. Las muestras fueron calentadas en reflujo, hasta que la grasa este completamente saponificada (aproximadamente 30 minutos). Una vez enfriadas, fueron tituladas con HCl a 0,5 N utilizando como indicador 1 ml de fenolftaleína. El índice de saponificación fue calculado usando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de saponificación} = \frac{(V_B - V_M) * N * 56.1}{\text{peso de la muestra}}$$

Donde:

V_b = volumen de HCl 0,5 N gastado para titular el blanco

V_m = volumen de HCl 0,5 N gastado para titular la muestra

N = Normalidad (0,5)

Reportar el índice de saponificación como los mg de KOH requeridos para saponificar un gramo de grasa.

Materiales y/o Equipos y reactivos

- ✓ Solución alcohólica de hidróxido de potasio (KOH) 0,5 N

154 MATISSEK, R, SCHNEPEL, F Y STEINER, G. 1998 Análisis de los Alimentos. Fundamentos-Métodos - Aplicaciones. Edit. Acribia S.A.pg. 430, Zaragoza. España.

- ✓ Ácido clorhídrico (HCl) 0,5 N
- ✓ Solución de Fenolftaleína al 1% en alcohol de 95%

3.2.2.3. Índice de peróxidos

Se encontró de conformidad con AOCS Cd 8b-90 (02); o ISO 3961: 2001. Método del Codex Tipo I¹⁵⁵. Para ello se añadió en un matraz de 250 ml. 2 g de aceite y 30 ml de la solución HOAC-CHCl₃, se agito para disolver, luego se agregó 0,5 ml de la solución saturada de KI, con vigorosa agitación, se dejó reposar en la oscuridad durante 2 minutos y se añadió 30 ml de agua. Se tituló inmediatamente el yodo liberado con tiosulfato 0,01 N; agitando vigorosamente hasta que el color amarillo casi desaparezca. Se agregó 0,5 ml de solución de almidón al 1% y se continuó titulando y agitando hasta que el color azul desaparezca. El blanco se corrió conjuntamente con la muestra y el resultado fue restado al resultado obtenido al de la muestra. Se expresó el índice de peróxido como meq. de peróxido/ Kg de grasa según la siguiente fórmula:

$$Ip = \frac{N * (V - B) * 1000}{P}$$

Donde:

Ip= Índice de peróxido, como miliequivalentes de O₂ por 1000 gr. de muestra.

N= normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

V= ml de tiosulfato consumidos en la titulación de la muestra

B= ml de tiosulfato consumidos en la titulación del blanco

P= peso de la muestra

Materiales, equipos y reactivos

- ✓ Bureta de 50 ml
- ✓ Solución de ácido acético-cloroformo (60:40)
- ✓ Solución saturada de yoduro de potasio (KI) (20 °C)
- ✓ Tiosulfato de sodio (0,01 N)

¹⁵⁵ Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

- ✓ Almidón al 1%

3.2.3. Cuantificación del contenido de Carotenoides

La absorbancia de la solución de carotenoides se midió de conformidad con BS 684 Sección 2.20. Método del Codex Tipo I¹⁵⁶, a 450 nm., utilizándose un espectrofotómetro ultravioleta/visible. Se diluyó 0.1 g de aceite en 10 ml. de acetona y se realizaron las lecturas, utilizando agua para encerrar el equipo y como blanco solo el solvente. El contenido de carotenoides totales, expresado en mg/100g de muestra fueron calculados utilizando la ecuación:

$$\text{Carotenoides totales} = \frac{A_{450} * 100 * f}{250 * L * W}$$

Donde:

250 L/g cm = coeficiente de absortividad

L = Longitud de la celda (cm);

W = cantidad de muestra (g) en el volumen final de la dilución;

f = factor de dilución. (1)

Materiales y/o Equipos y reactivos

- ✓ Balones aforados de 10ml con tapa
- ✓ Micropipetas de 100 µl regulable
- ✓ Espectrofotómetro
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Celdas de cuarzo
- ✓ Aceites de chonta morete, Ungurahua y Sacha Inchi
- ✓ Acetona.
- ✓ Agua destilada

156 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

3.2.4. Análisis cualitativo y cuantitativo de la composición de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos de los aceites se realizó por cromatografía gaseosa. De conformidad con el Método de ISO 5508: 1990 y 5509: 2000; o AOCS Ce 2-66 (97) y Ce 1e-91 (01) o Ce 1f- 96 (02)¹⁵⁷. Para esto se trabajó con los cuatro aceites por separado para conocer la composición química de los mismos. Se tomó 0,5 g del aceite y se diluyó en 2 ml de éter anhidro, se llevó a la estufa por 2 horas a 70 ° C hasta que el solvente se evaporó, se agregaron 5 ml de hexano y se llevó a la centrifuga a 4000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente, se inyectaron 2µL de cada muestra en el equipo GSM estableciendo previamente las condiciones de análisis, obteniéndose los cromatogramas de los aceites. (*Bactris gasipaes*, *Mauritia Flexuosa*, *Oenocarpus bataua* y *Plukenetia volubilis*)

Materiales, equipos y reactivos

- ✓ Tubos de ensayo de centrifuga , vaso de precipitación de 400 ml , pipetas de 5 ml, pera
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Estufa a 70 °C
- ✓ Centrifuga
- ✓ GC-MS
- ✓ Sorbona
- ✓ Éter Anhidro
- ✓ Hexano

Condiciones de análisis

- ✓ Condiciones del cromatógrafo

Gas: Helio

¹⁵⁷ Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

Flujo: 1ml/min

✓ Condiciones de la columna:

T° C	Rampa (°C/m)	Hold (minutos)	Total minutos
100	0	2	2
150	30	0	3,67
290	10	1	18,67

Fuente: La autora con base en los datos obtenidos del equipo

Modelo del equipo: Varian 3900

Temperatura del inyector: 290 °C

Split ratio: 150

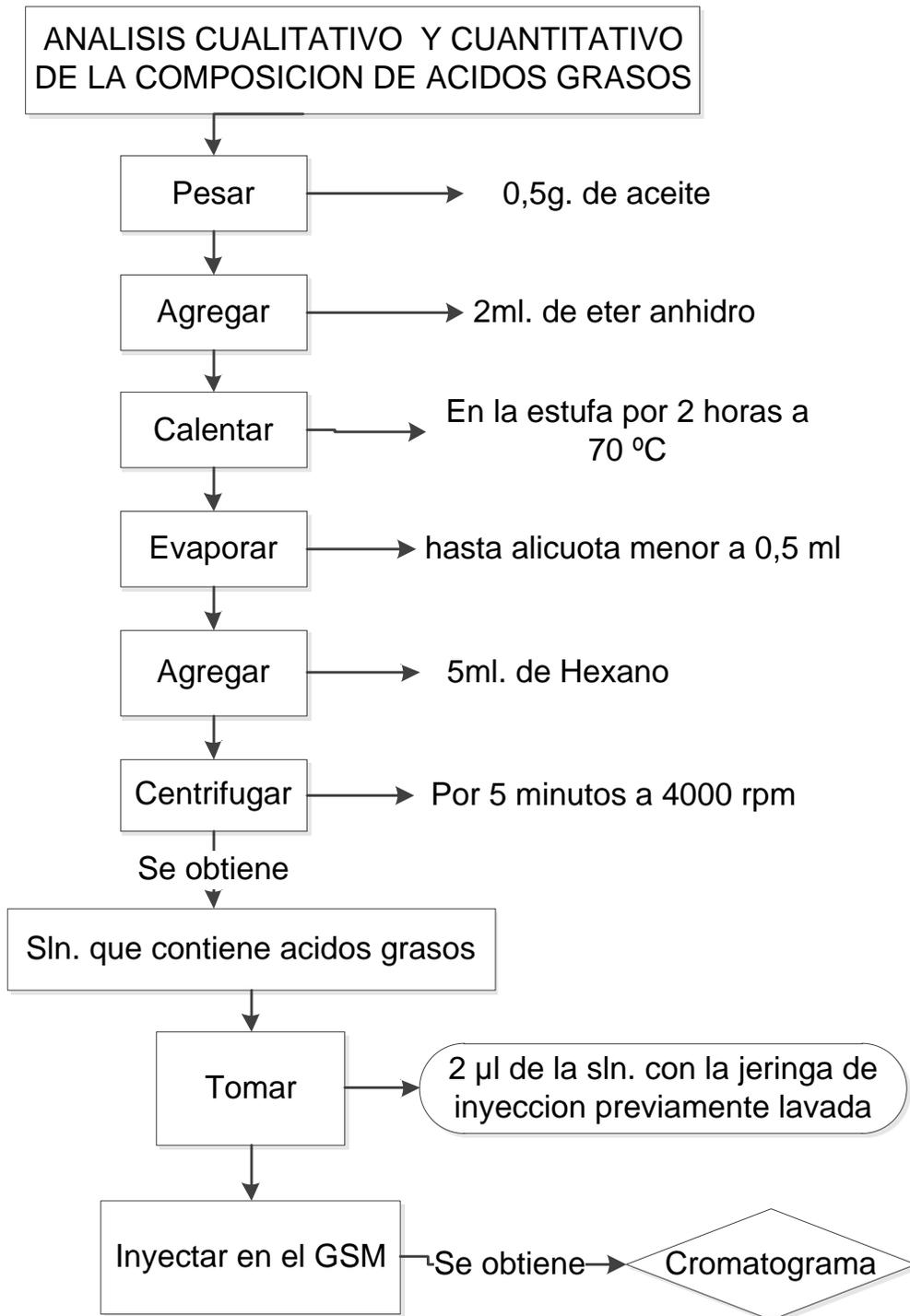
✓ Condiciones de Espectrómetro de masas

Rango de masas: 45 m/z a 660 m/z

Energía de ionización: 70 electrón- voltios

Emisión de corriente: 10 micro amp

Diagrama de Flujo



3.3. Extracción y cuantificación de la fracción Insaponificable.

La metodología utilizada para la extracción de la fracción insaponificable fue según Arrigo (1996) y es de conformidad con la norma ISO 3596:2000; o ISO 18609: 2000; o AOCS Ca 6b-53 (01). Método del Codex Tipo I¹⁵⁸. Se reflujo 50 gramos exactos de grasa con 250 ml de solución etanólica de hidróxido de potasio KOH (2N) por 1 hora, después se trasvasó la mezcla a un embudo separador A, se aclaró y arrastró las últimas porciones lavando el balón con 50 ml de agua destilada. Luego se agregó 50 ml de éter de petróleo, con el embudo separador tapado, se agitó enérgicamente durante 1 minuto, eliminando la presión (invirtiendo el embudo de decantación y abriendo la llave constantemente). Se dejó reposar hasta la separación completa de las dos fases, se trasegó la fase jabonosa hidroalcohólica (inferior) a otro embudo separador B y la fase etérea (superior) se recogió en un tercer embudo de decantación C. Se repitió la extracción de la fase jabonosa, que se encontraba en el embudo de separación B, dos veces más con 50 ml. de éter de petróleo en cada extracción. Se juntaron todas las fases etéreas en el embudo separador B y se lavo de la misma manera 3 veces con 50 ml. de mezcla de etanol-agua al 50% agitando vigorosamente y eliminando la capa hidroalcohólica después de cada lavado. Se filtró la fase etérea, en un balón adaptable al rotavapor, Se eliminó el solvente a 40 °C, hasta obtener aproximadamente 5 ml de mezcla, que se trasvaso a un vaso de precipitación de peso conocido, dejó reposar en la sorbona para eliminar los últimos residuos de éter, obteniéndose la fracción insaponificable Finalmente se pesó hasta tener un valor constante y se repitió el proceso hasta que se obtuvo la cantidad necesaria para el resto de pruebas.

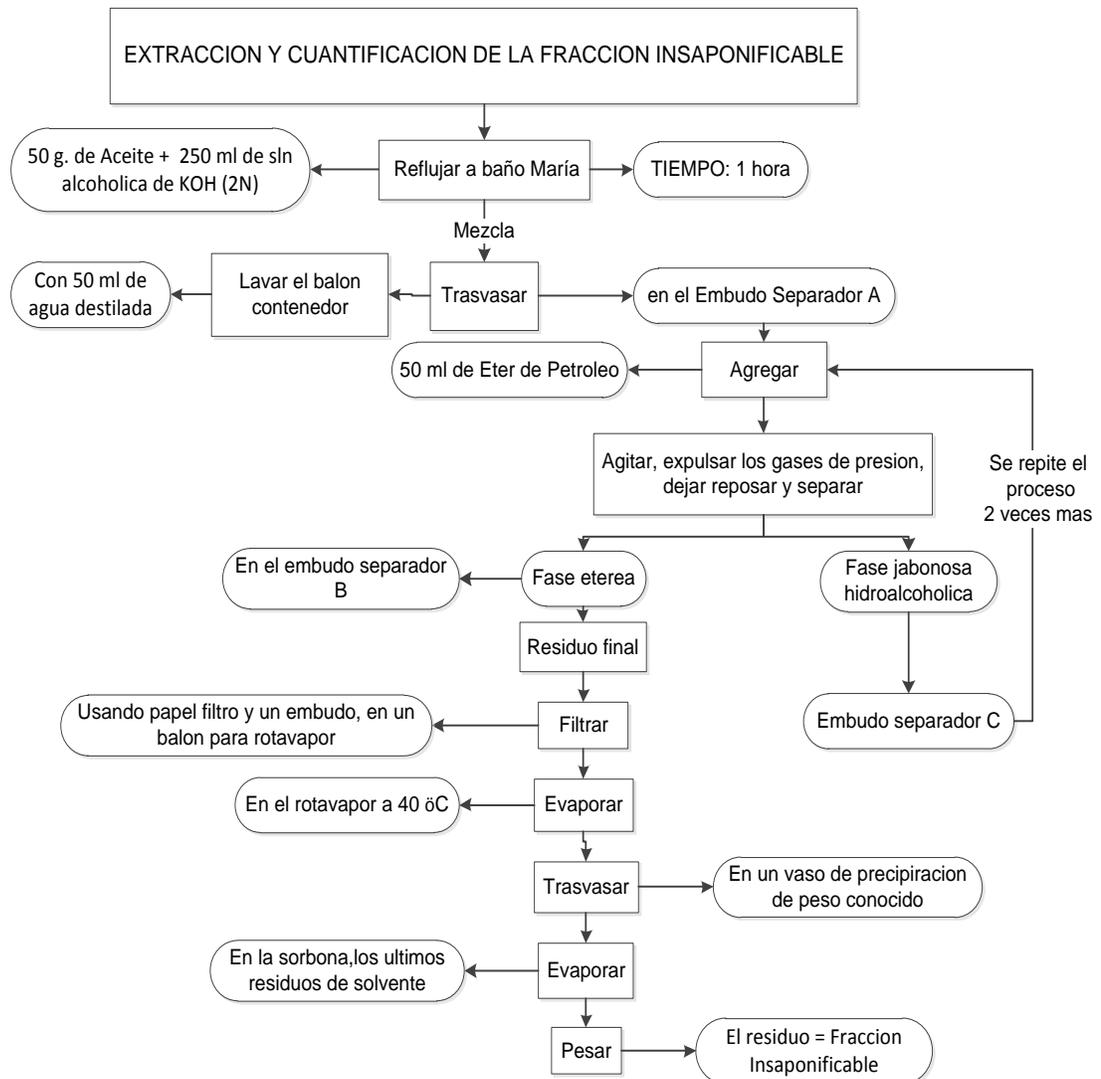
Materiales y/o equipos y reactivos

✓ Embudos separadores o de decantación, soportes, pinzas, nueces, aros, probetas, vasos de precipitación, balón de fondo redondo

158 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

- ✓ Agitador magnético
- ✓ Rotavapor
- ✓ Estufa
- ✓ Sorbona
- ✓ Hidróxido de potasio alcohólico 2N
- ✓ Éter de petróleo 50 o 70°
- ✓ Alcohol etílico 50 °
- ✓ Agua destilada

Diagrama de Flujo



3.4. Evaluación de la actividad Antioxidante

3.4.1. Método DPPH

La actividad "captadora de radicales" ha sido evaluada siguiendo el procedimiento reportado por Wang y otros (1998)¹⁵⁹ y Muzzolia y otros (2003)¹⁶⁰, para ello; se pesaron las siguientes cantidades de aceites fijos, fracciones insaponificables y/o BHA (estándar) en balones aforados de 10 ml según como lo muestra la tabla 2 y se aforaron con DMSO (dimetil sulfoxido).

Tabla 2: Concentraciones usadas para aplicar el método del DPPH

Muestra	Peso del aceite, insaponificable y/o BHA aforado a DMSO	Concentración del análisis
1	100mg /10 ml de DMSO	0,0238 mg/ml
2	90mg /10 ml de DMSO	0,0595 mg/ml
3	80mg /10 ml de DMSO	0,0714 mg/ml
4	70mg /10 ml de DMSO	0,0952 mg/ml
5	60mg /10 ml de DMSO	0,119 mg/ml
6	50mg /10 ml de DMSO	0,1428 mg/ml

Obteniéndose 54 muestras, 6 con BHA (estándares), 24 con Aceites (6 de Chonta, 6 de morete, 6 de Ungurahua y 6 de Sacha Inchi) y 24 con las fracciones insaponificables. También se prepararon las soluciones de: Tween 20 (0,5%) y buffer TRIS-HCl 0,5 M pH 7,4 previo al análisis. La actividad antiradical se midió mediante el descenso en la absorbancia a 517 nm de longitud de onda de una solución metanólica de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) provocado por la muestra. La solución 1×10^{-4} Molar del Reactivo DPPH de almacenamiento, se preparó disolviendo 0,0394g en 1 litro de alcohol al 96%. Para el medio de análisis se mezcló en un vial ámbar de 3 ml de capacidad una alícuota de 100 μ l concentración de la muestra (BHA,

159 WANG, Y., D. RIND, C.R. TREPTE, G.S. KENT, G.K. YUE, and K.M. SKEENS, 1998: *An empirical model study of the tropospheric meridional circulation based on SAGE II observations*. J. Geophys. Res., 103, 13801-13818, doi:10.1029/98JD00204.

160 MUZZOLIA, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M. y BRUNI, R.. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobial foods. Food Chemistry 91: 621-632. 2003

Aceite o fracción insaponificable), a la que se le adiciona 1,8 ml (1800 µl) de solución Tris HCL, 100 µl de la solución de tween 20(0,5%), 2 ml de la solución de DPPH y 200 µl de DMSO. El blanco se hizo de la misma manera, sin añadir muestra. Después de 30 minutos de reposo en obscuridad, se realizaron las lecturas en el espectrofotómetro utilizando celdas de plástico y encerándolo con agua, se leyó el blanco y las muestras, al final se volvió a leer el blanco obteniéndose el dato de la absorbancia final, de ella se obtiene el % de inhibición. Con la siguiente fórmula:

$$\%inhibicion = 1 - \frac{abs.de\ la\ muestra}{abs.del\ DPPH} * 100\%$$

A partir del grafico de este porcentaje versus la concentración de la muestra se obtiene la ecuación $y = aX+b$, y para obtener de ella el IC_{50} se aplicó la fórmula:

$$IC_{50} = \frac{(50 - b)}{a}$$

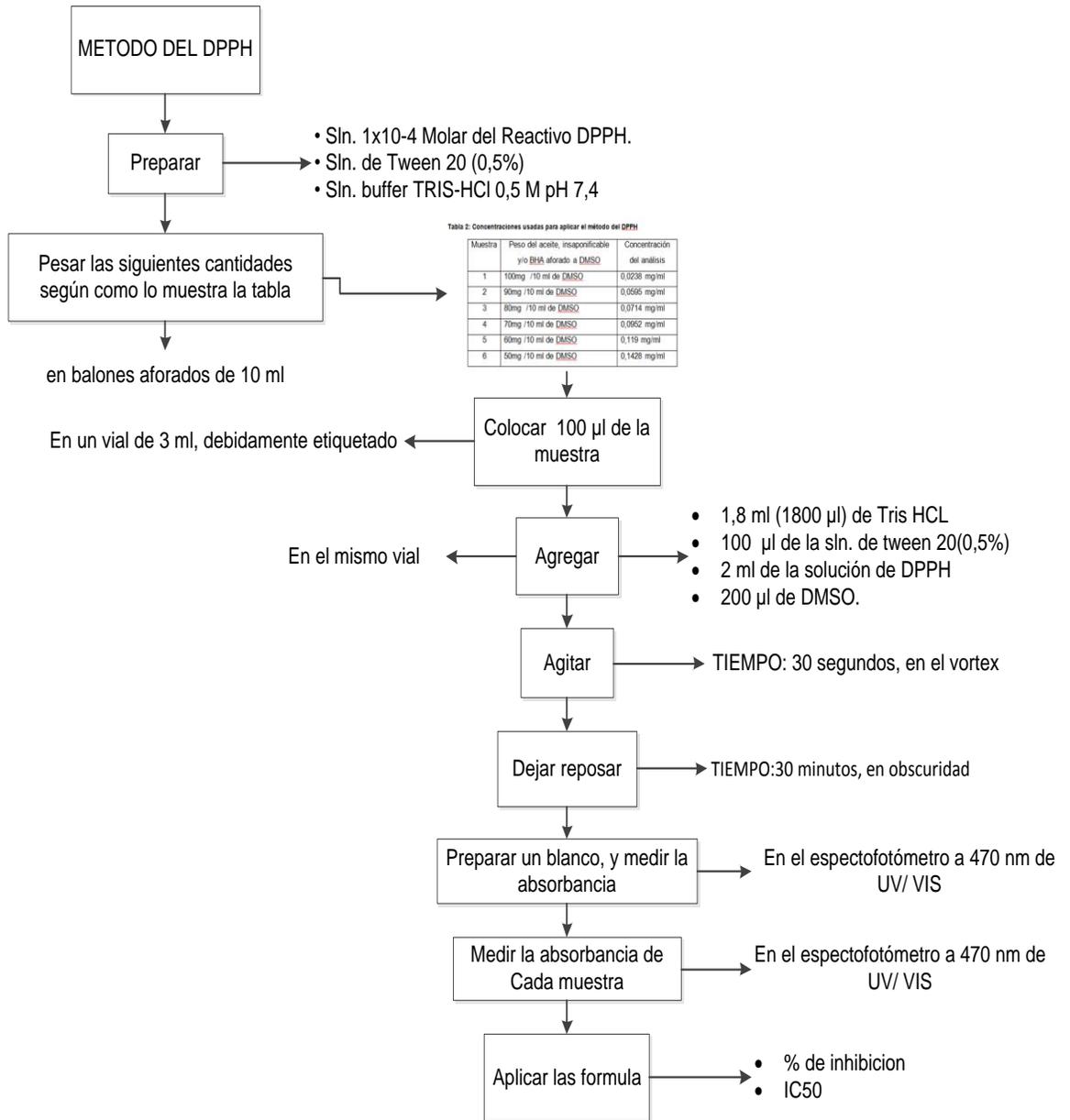
El IC_{50} es definido como la cantidad de la muestra (g de muestra) necesarios para disminuir en un 50% la absorbancia. A valores más bajos de IC_{50} mayor la actividad antioxidante. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y se expresaron los valores como los promedios. Este procedimiento se aplicó para cada aceite y fracción insaponificable.

Materiales y/o Equipos y reactivos

- ✓ Balones aforados de 100, 10 ml., Viales ámbar, vasos de precipitación de 100 y 1000 ml, botellas ámbar 100 ml, tubos de precipitación de 15 ml, tubos capilares, varilla de agitación, vidrios de reloj pequeños
- ✓ Micro pipetas de 1000, 100 µl y regulable
- ✓ Celda de cuarzo y de plástico
- ✓ Espectrofotómetro UV A 517 nm
- ✓ Balanza Analítica
- ✓ Agitador magnético con plancha de calentamiento
- ✓ Vortex

- ✓ Butil Hidroxianisol (BHA)
- ✓ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- ✓ Tris HCl,(búfer pH=7,4)
- ✓ Dimetil sulfóxido (DMSO)
- ✓ HCl (1 N)
- ✓ Etanol
- ✓ Agua destilada

Diagrama de Flujo



3.4.2. Test del β -caroteno.

Se preparó una solución A, de β -caroteno en cloroformo de 1mg/ml. y las muestras matrices, de 25 mg de aceite o fracción insaponificable en 50mL de acetona respectivamente. Se tomo 2mL de la solución A en un tubo de precipitación, que previamente contenía 40mg de ácido linoléico y 200mg de tween 80. Tras retirar el cloroformo por evaporación, a 45 grados centígrados por 4 minutos, al residuo se adiciono 100mL de agua destilada con agitación fuerte por varios minutos hasta que se formó una emulsión lechosa. Se tomaron 5mL de esta emulsión y se añadieron 2mL de la muestra matriz, mezclando en el vortex por 1 minuto. Previamente se estableció la longitud de onda del espectrofotómetro a 470 nm. Se enceró el UV/VIS con agua, se preparó un blanco (todos los componentes excepto las matrices) y finalmente se midió la absorbancia de la solución en los minutos 0, 30, 60, 90 y 120, manteniendo las soluciones a baño de María a 45°C. Cada aceite o fracción insaponificable fue evaluada por triplicado. Finalizadas las lecturas de las muestras, se leyó nuevamente el blanco. Obteniéndose la media de las lecturas de la absorbancia, se aplicó la fórmula:

$$AA = 1 - \frac{A_0 - A_t}{A'_0 - A'_t} * 100\%$$

Como se indica en la metodología de Shahzad y otros (2006)¹⁶¹. Donde:

AA= actividad antioxidante

Ao= Blanco inicial

Ao'= Blanco final

At = Abs. media de cada lectura

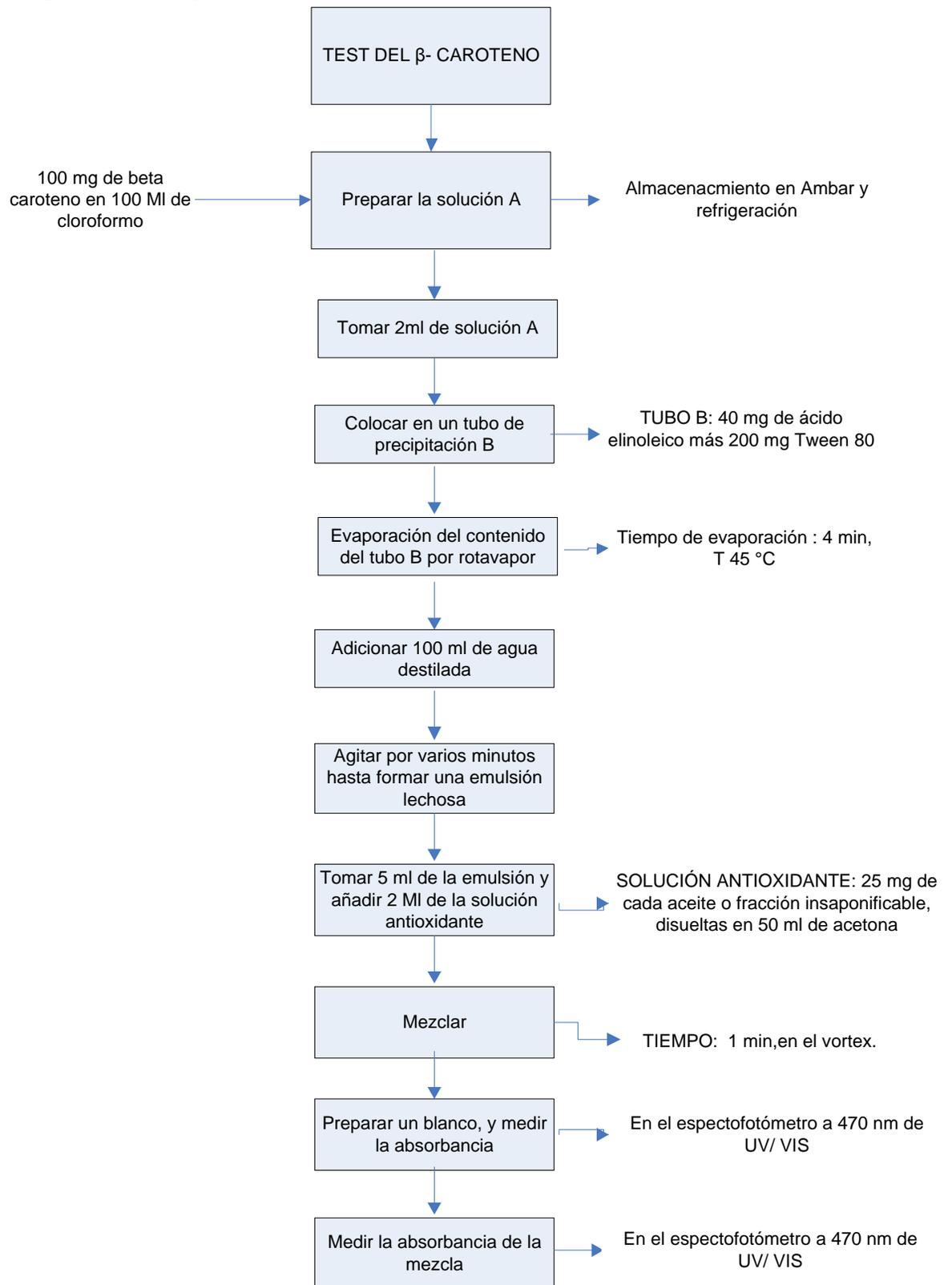
At'= Abs. después de 120 minutos

¹⁶¹Shahzad Ali; Shahid Chatha, Abdullah Ijaz Hussain, Jawad-ur-Rehman Bajwa, Syed Tufail Hussain Sherazi, Aiza Shaukat , *“Extracto de salvado de trigo: una potente fuente de antioxidantes naturales para la estabilización del aceite de canola”*, Grasas y Aceites, Vol 62, No 2, doi:10.3989/gya.089310, 2006.

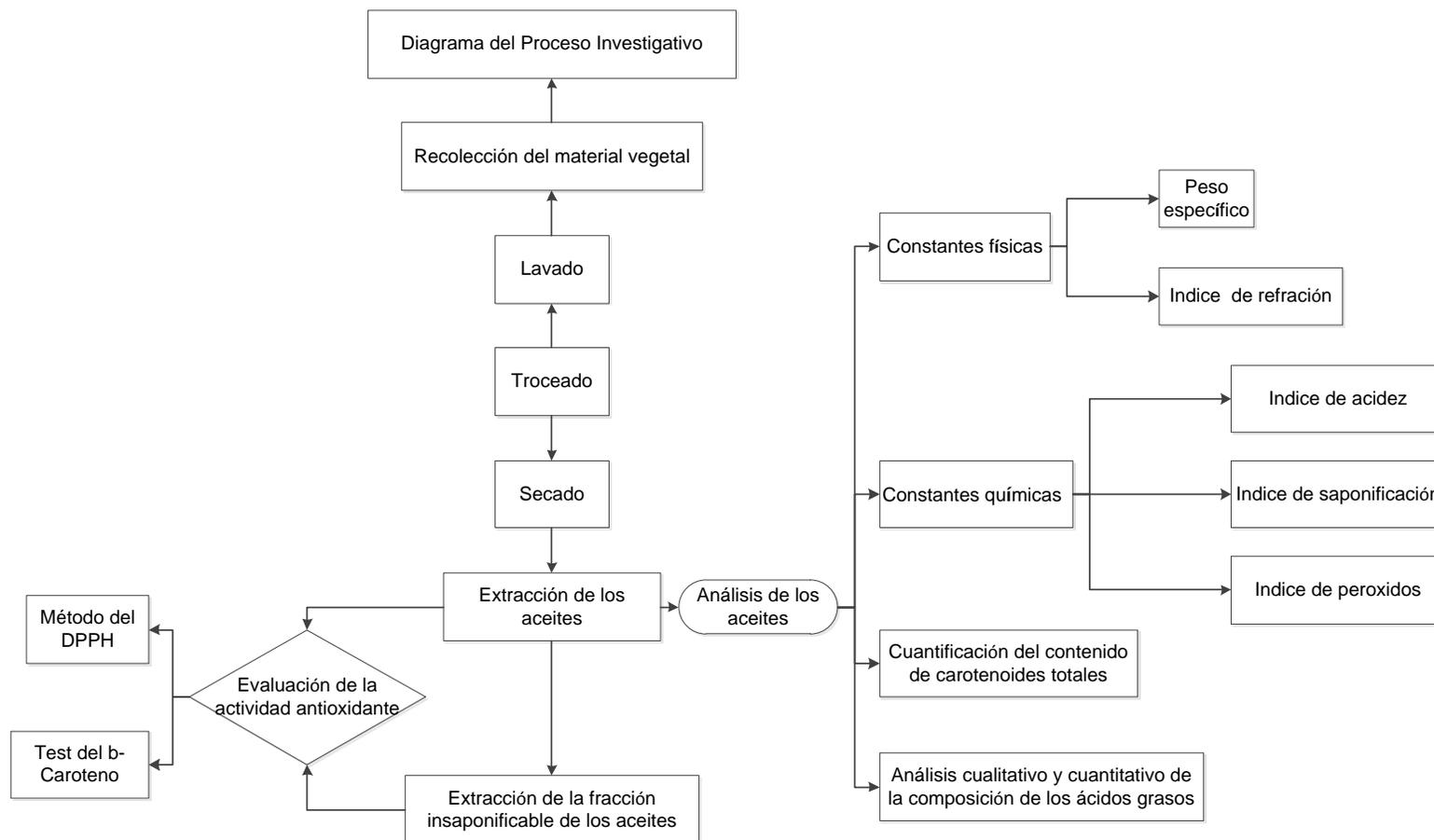
Materiales y/o Equipos y reactivos

- ✓ Balón aforado de 100 y 1000 ml, embudos pequeños, botellas ámbar de 250 y 1000 ml con tapa, varilla de agitación, vasos de precipitación de 500 y 250 ml, pipetas de vidrio de 1 y 5 ml, tubos de ensayo de 5 ml, soporte, pinzas y nueces, pinzas para tubo de ensayo, termómetro, cocineta
- ✓ Rotavapor
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Agitador magnético e imán
- ✓ Ultrasonido
- ✓ espectrofotómetro y celdas de plástico
- ✓ Cronometro
- ✓ Solución de β -caroteno en cloroformo (disolver 1mg de β -caroteno en 1 ml de cloroformo) para 25 ml de solución, 25 mg de β -caroteno
- ✓ Ácido Linoléico
- ✓ Tween 80
- ✓ Agua destilada
- ✓ BHA
- ✓ Aceites, insaponificables de los aceites

Diagrama de flujo



3.5. Flujograma del proceso investigativo



4.- RESULTADOS

4.1 Rendimiento los aceites extraídos

En las Tablas 3 y 4, se muestra la cantidad de aceite extraído en gramos por cada 100 gramos de droga cruda (% p/p), el rendimiento total en porcentaje para cada aceite es obtenido por media aritmética

Aceite de Chonta

Tabla 3: Calculo del rendimiento del aceite de Chonta

Nº	Peso de la droga (g)	Peso del aceite (g)	Rendimiento(% p/p)
1	100	2,6355	2,6355
2	100,01	2,5389	2,538646135
3	100,03	3,4358	3,434769569
4	100,03	2,7485	2,747675697
Total:			2,83914785

Aceite de Morete

Tabla 4: Calculo del rendimiento del aceite de Morete

Nº	Peso de la droga (g)	Peso del aceite (g)	Rendimiento (%p/p)
1	100	9,5216	9,5216
2	100,01	10,1279	10,12688731
3	100,01	9,82475	9,824243656
Total:			9,824243656

4.2. Análisis de los aceites

En las tablas 5, 6, 7 y 8, se exponen las constantes físicas y químicas obtenidas de los análisis y resumidas en fichas técnicas, por las que se nos facilita la caracterización de cada aceite (Basadas en los cálculos adjuntados en el Anexo 2)

4.2.1 Constantes físicas y químicas

El aceite de “chonta”, *Bactris gasipaes*, obtenido presentó un color rojo muy oscuro, un aroma fuerte característico del fruto de la planta y líquido a temperatura ambiente.

Tabla 5.- Ficha Técnica del Aceite de “Chonta”. *Bactris gasipaes*

Peso específico (g/ml)	0,8473
Índice de refracción	1,6233
Índice de acidez (%)	4,5185
Índice de saponificación (mg KOH/g)	237,3342
Índice de peróxidos (meq O ₂ /Kg)	19,8098
Cantidad de carotenoides	9,3220

El aceite de “morete”, *Mauritia flexuosa*, obtenido presentó un color tomate oscuro y un aroma fuerte, es líquido a temperatura ambiente.

Tabla 6.- Ficha Técnica del Aceite de “Morete”, *Mauritia flexuosa*

Peso específico (g/ml)	0,8499
Índice de refracción	1,4507
Índice de acidez (%)	1,8994
Índice de saponificación (mg KOH/g)	143,1736
Índice de peróxidos (meq O ₂ /Kg)	19,5461
Cantidad de carotenoides	1.1376

El aceite de “ungurahua”, *Oenocarpus bataua*, presentó un color amarillo transparente y un aroma a rancidez, es líquido a temperatura ambiente.

Tabla 7.- Ficha Técnica del Aceite de “Ungurahua”, *Oenocarpus bataua*

Peso específico (g/ml)	0,9036
Índice de refracción	1,4583
Índice de acidez (%)	0,9480
Índice de saponificación (mg KOH/g)	170,5372
Índice de peróxidos (meq O ₂ /Kg)	7,5394
Cantidad de carotenoides	0,2297

El aceite de “Sacha Inchi”, *Plukenetia volubilis*, presentó un color amarillo claro transparente sin aroma, es líquido a temperatura ambiente.

Tabla 8.- Ficha Técnica del Aceite de “Sacha Inchi”, *Plukenetia volubilis*

Peso específico (g/ml)	0,9298
Índice de refracción	1,4835
Índice de acidez (%)	1,0303
Índice de saponificación (mg KOH/g)	160,2409
Índice de peróxidos (meq O ₂ /Kg)	11,5313
Cantidad de carotenoides	0,2218

4.2.2. Cuantificación de Carotenoides

La tabla 9 muestra la cantidad de carotenoides totales equivalentes a 1 mg por cada 100g de aceite, medidos según el método del espectrofotómetro, el resultado final es obtenido hallando la media aritmética de las absorbancias medidas.

Tabla 9: Cuantificación de carotenoides en los aceites

Aceite	Absorbancia	Peso del aceite	Carotenoides totales (mg/100g de muestra)	Media (mg/100g de muestra)
Chonta	2.466	0.1062	9.2881	9.3220
	2.484	0.1062	9.3559	
Morete	0.338	0.1134	1.1922	1.1376
	0.307	0.1134	1.0829	
Ungurahua	0.063	0.1036	0.2432	0.2297
	0.056	0.1036	0.2162	
Sacha Inchi	0.055	0.1055	0.2085	0.2218
	0.062	0.1055	0.2351	

4.2.3. Perfil de ácidos grasos de los aceites por cromatografía gaseosa

La composición porcentual de los ácidos grasos del aceite de *Bactris gasipaes*, *Mauritia Flexuosa*, *Oenocarpus bataua* y *Plukenetia volubilis*, figuran en las tablas 10, 11,12 y 13; respectivamente (en el Anexo 3 se encuentran los cromatogramas que evidencian estos porcentajes)

Tabla 10: Porcentaje de ácidos grasos en el aceite de Chonta

#	Tiempo de Retención (min.)	Nombre del compuesto	% de ácidos grasos	% saturados	% insaturados
1	11,038	Ácido Palmitoléico	4.4272		4.4272
2	11,217	ácido palmítico	14.0340	14.0340	
3	12,817	Ácido linoléico	16.3953		16.3953
4	12,867	Ácido oleico	64.2766		64.2766
5	13,079	Acido esteárico	0.8666	0.8666	
		Total		14,9009	85,0991

Tabla 11: Porcentaje de ácidos grasos en el aceite de Morete

#	Tiempo de Retención (min.)	Nombre del compuesto	% de ácidos grasos	% saturados	% insaturados
1	11,216	ácido palmítico	14.9387	14.9387	
2	12,864	ácido oleico	83.6119		83.6119
3	13,076	ácido esteárico	1.4494	1.4494	
		Total		16,3881	83.6119

Tabla 12: Porcentaje de ácidos grasos en el aceite de Ungurahua

#	Tiempo de Retención (min.)	Nombre del compuesto	% de ácidos grasos	% saturados	% insaturados
1	9.275	Ácido mirístico	0.5305	0.5305	
2	11.231	ácido palmítico	32.8148	32.8148	
3	12.831	Acido linoléico	10.7723		10.7723
4	12.879	Ácido oleico	46.9865		46.9865
5	13.093	ácido esteárico	8.8959	8.8959	
		Total		42,2412	57,7588

Tabla 13: Porcentaje de ácidos grasos en el aceite de Sacha Inchi

#	Tiempo de Retención (min.)	Nombre del compuesto	% de ácidos grasos	% saturados	% insaturados
1	11,190	Acido palmítico	4.6856	4.6856	
2	12,788	Acido linoléico	32.4026		32.4026
3	12,851	ácido linolénico	57.4017		57.4017
4	13,050	Acido esteárico	5.51014	5.51014	
		Total		10,1957	89,8043

4.3. Porcentaje de fracción insaponificable

En la tabla 14 se encuentra los promedios, obtenidos con media aritmética, de la cantidad de fracción insaponificable extraída de cada aceite (basado en los datos adjuntados en el Anexo 4)

Tabla 14: Calculo de la fracción insaponificable extraída de cada aceite

Aceite	$\bar{x}(\%)$ p/p
Chonta	4.0406
Morete	2.2851
Ungurahua	0.1599
Sacha Inchi	0.1703

4.4. Evaluación de la Actividad Antioxidantes

Para la determinación de la actividad antioxidante se seleccionó la prueba de decoloración del b-caroteno porque se realiza en emulsión, una estado frecuente en alimentos. Por otra parte, es algo generalmente aceptado que la oxidación se inicia con el ataque de los radicales libres; por tanto, los ensayos para evaluar la actividad de barrido de radicales son representativos del potencial de un compuesto para retrasar la oxidación. Entre los ensayos de barrido de radicales, se eligió el que se basa en la utilización de DPPH debido a su simplicidad y aceptación mundial para fines comparativos (Miller, 1971)¹⁶²

4.4.1. Método DPPH

4.4.1.1. BHA (antioxidante de referencia)

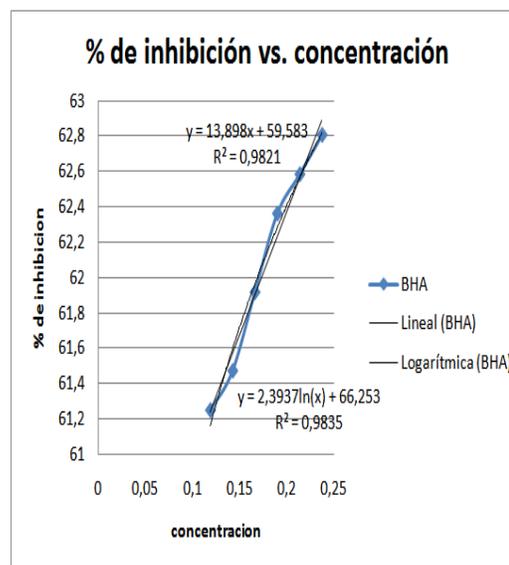
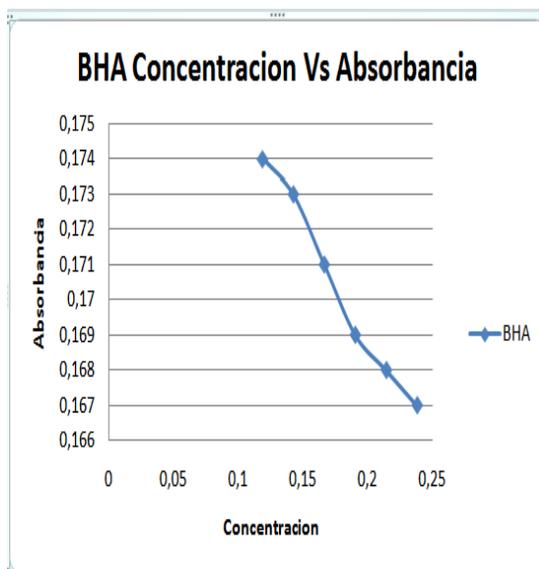
La tabla 15 y los gráficos 3 y 4, muestran las gráficas de absorbancia contra concentración y el % de inhibición de las soluciones estándar de BHA (antioxidante de referencia)

162 Miller H. *A simplified method for the evaluation of antioxidant*. J Am Oil Chem Soc 1971; 45: 91-98

Tabla 15: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del BHA

Concen.	Abs.	% de Inhibición
0	0,449	0
0,119	0,174	61,2472
0,1428	0,173	61,4699
0,1666	0,171	61,9154
0,1904	0,169	62,3608
0,2143	0,168	62,5835
0,238	0,167	62,8062

Gráficos 3 y 4.- Absorbancia del BHA (der.) y % de Inhibición del BHA (izq.) versus la concentración del antioxidante



IC50 BHA
0,0012 mg/ml

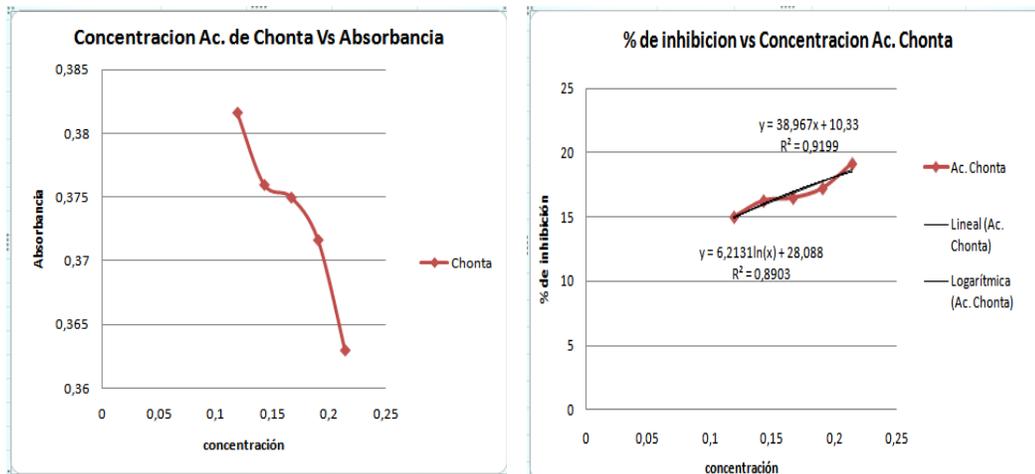
4.4.1.2. Aceite de Chonta

La tabla 16 y los gráficos 5 y 6, muestran las gráficas de absorbancia y el % de inhibición contra la concentración de diferentes soluciones del aceite de “Chonta”, *Bactris gasipaes*.

Tabla 16: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del Aceite de Chonta

Concen.	Abs.	% de Inhibición
0	0,449	0
0,119	0,3817	14,9963
0,1428	0,376	16,2584
0,1666	0,375	16,4811
0,1904	0,372	17,2235
0,2143	0,363	19,1537

Gráfico 5 y 6: Absorbancia del Aceite de Chonta (der.) y % de Inhibición del Aceite de Chonta (izq.)



IC50 Aceite de Chonta
1,0180 mg/ml.

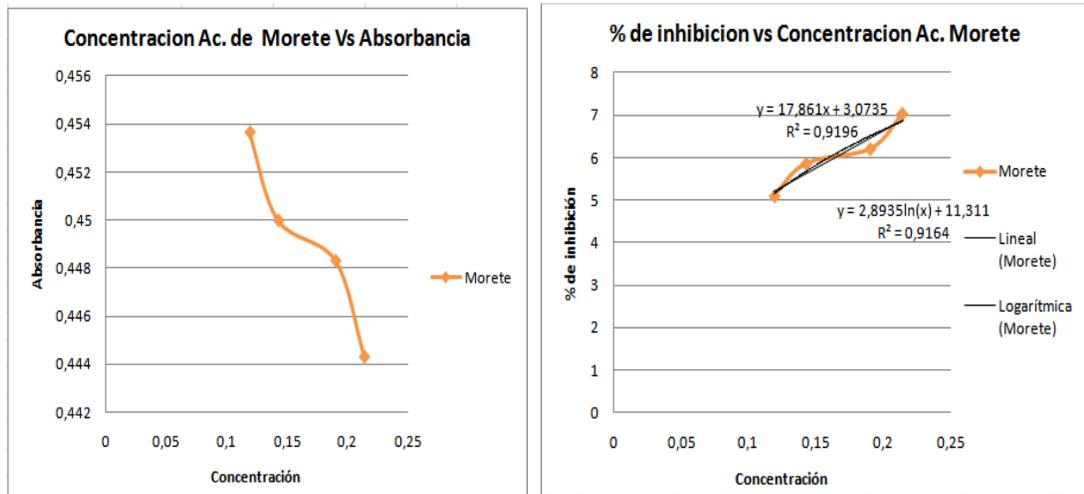
4.4.1.3. Aceite de Morete

La tabla 17 y los gráficos 7 y 8, muestran las gráficas de absorbancia y el % de inhibición contra la concentración de diferentes soluciones del aceite de “Morete”, *Mauritia flexuosa*.

Tabla 17: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del Aceite de Morete

Concen.	Abs.	% de Inhibición
0	0,478	0
0,119	0,4537	5,0907
0,1428	0,45	5,8577
0,1904	0,4483	6,2064
0,238	0,4443	7,0432

Gráfico 7 y 8.- Absorbancia del Aceite de Morete (der.) y % de Inhibición del Aceite de Morete (izq.)



IC50 Aceite de Morete
2,6273 mg/ml.

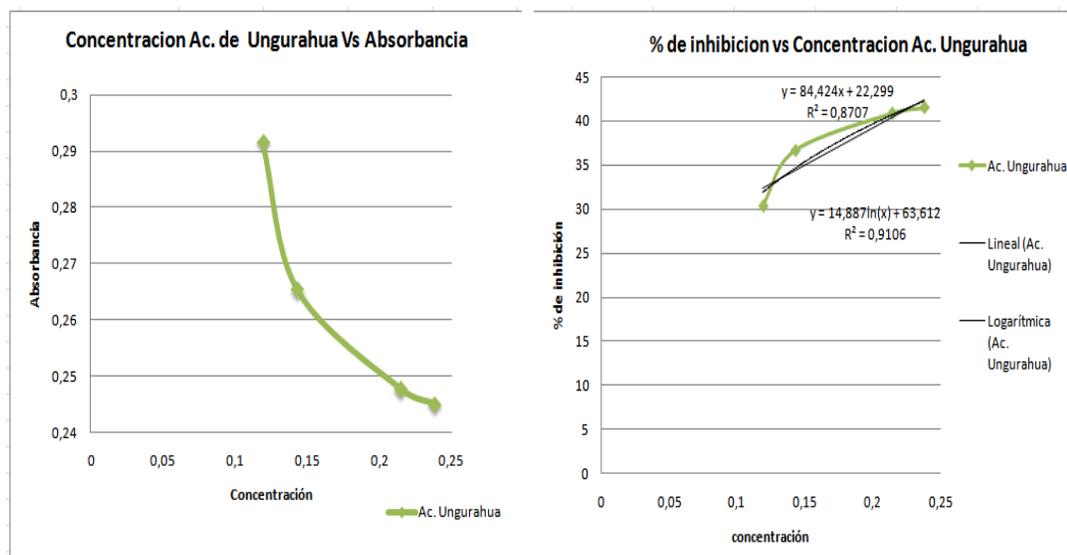
4.4.1.4. Aceite de Ungurahua

La tabla 18 y los gráficos 9 y 10, muestran las gráficas de absorbancia y el % de inhibición contra la concentración de las diferentes soluciones del aceite de “Ungurahua”, *Oenocarpus bataua*.

Tabla 18: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del Aceite de Ungurahua

Concen.	Abs. ()	% de Inhibición
0	0,419	0
0,119	0,2917	30,3898
0,1428	0,2653	36,6746
0,2143	0,2477	40,8910
0,238	0,245	41,5274

Gráfico 9 y 10 : Absorbancia del Aceite de Ungurahua (der.) y % de Inhibición del Aceite de Ungurahua (izq.)



IC50 Aceite de Ungurahua
0,4008 mg/ml.

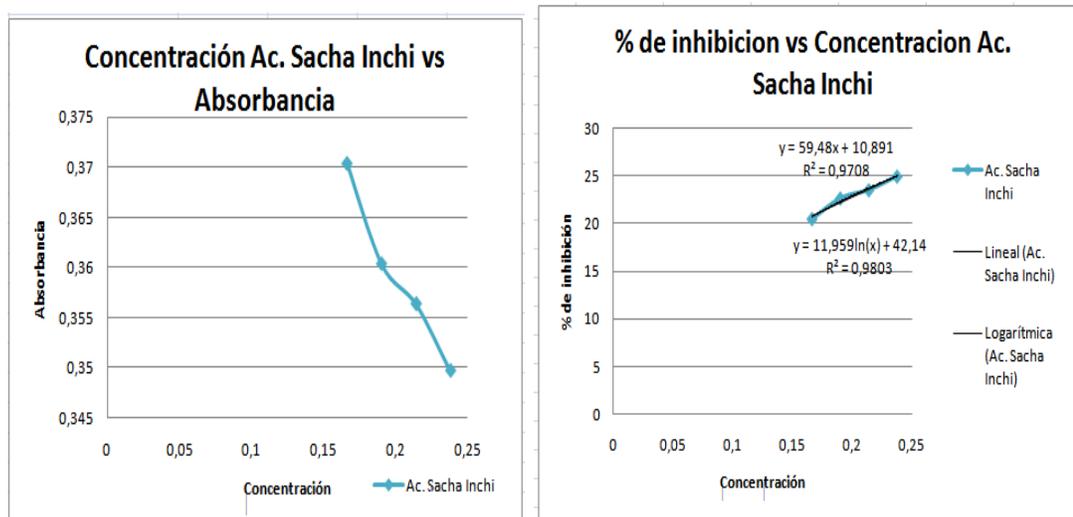
4.4.1.5. Aceite de Sacha Inchi

La tabla 19 y los gráficos 11 y 12, muestran las gráficas de absorbancia y el % de inhibición contra la concentración de las diferentes soluciones del aceite de "Sacha Inchi", *Plukenetia volubilis*

Tabla 19: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición del Aceite de Sacha Inchi

Concen.	Abs. ()	% de Inhibición
0	0,466	0
0,1666	0,3703	20,5293
0,1904	0,3603	22,6753
0,2143	0,3563	23,5336
0,238	0,3497	24,9643

Gráfico 11 y 12: Absorbancia del Aceite de Sacha Inchi (der.) y % de Inhibición del Aceite de Sacha Inchi (izq.)



IC50 Aceite de Sacha Inchi
1,9293 mg/ml.

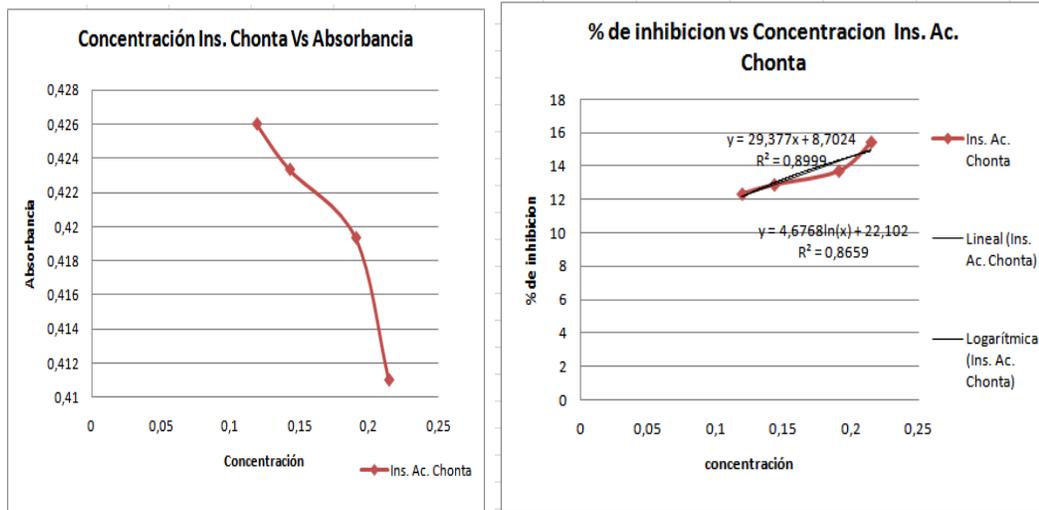
4.4.1.6. Fracción insaponificable del Aceite de Chonta

La tabla 20 y los gráficos 13 y 14; muestran las gráficas de absorbancia y el % de inhibición contra la concentración de diferentes soluciones de la fracción insaponificable del aceite de “Chonta”, *Bactris gasipaes*

Tabla 20: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición de la fracción Insaponificable del Aceite de Chonta

Concen.	Abs. ()	% de Inhibición
0	0,486	0
0,119	0,426	12,3457
0,1428	0,423	12,8944
0,1666	0,419	13,7174
0,1904	0,411	15,4321
0,2143	0,486	0

Gráfico 13 y 14.- Absorbancia del Insaponificable del Aceite de Chonta (der.) y % de Inhibición del insaponificable Aceite de Chonta (izq.)



IC50 la fracción insaponificable del Aceite de Chonta
1,4 mg/ml.

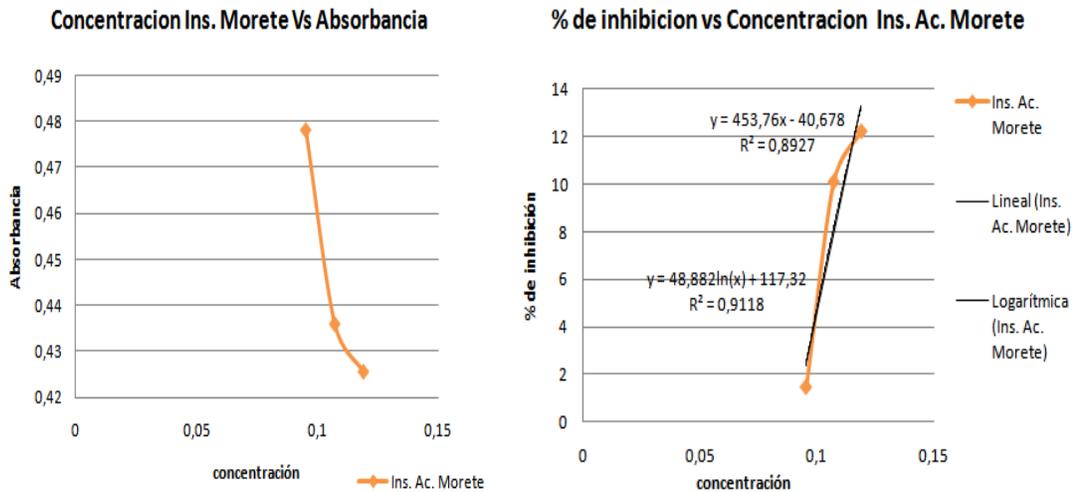
4.4.1.7. Fracción insaponificable del Aceite de Morete

La tabla 21 y los gráficos 15 y 16; muestran las gráficas de absorbancia y el % de inhibición contra la concentración de diferentes soluciones de la fracción insaponificable del aceite de “Morete”, *Mauritia flexuosa*

Tabla 21: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición de la fracción Insaponificable del Aceite de Morete

Concen.	Abs. ()	% de Inhibición
0	0,485	0
0,0952	0,478	1,443
0,10715	0,436	10,1030
0,119	0,426	12,2337

Gráfico 15 y 16.- Absorbancia del Insaponificable del Aceite de Morete (der.) y % de Inhibición del insaponificable Aceite de Morete (izq.)



IC50 la fracción insaponificable del Aceite de Morete
0,2523 mg/MI

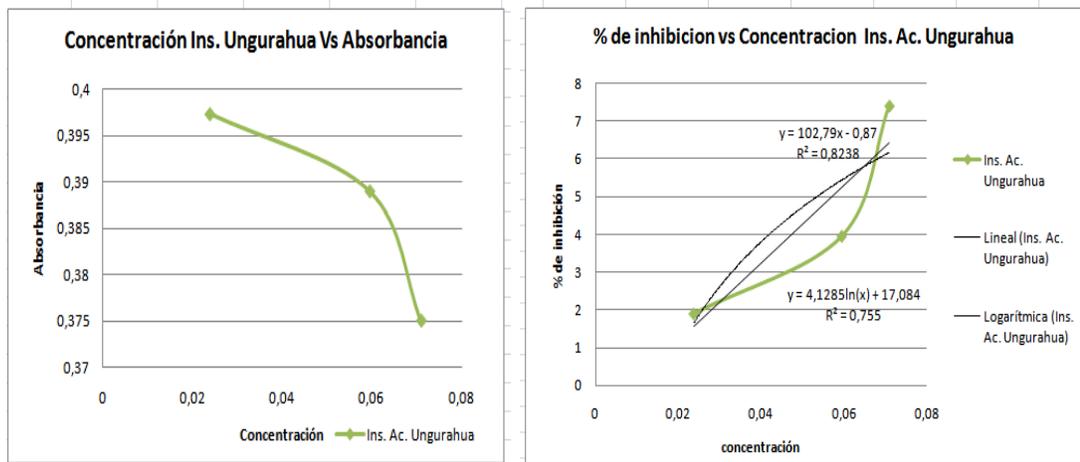
4.4.1.8. Fracción insaponificable del Aceite de Ungurahua

La tabla 22 y los gráficos 17 y 18; muestran las gráficas de absorbancia y el % de inhibición contra la concentración de diferentes soluciones de la fracción insaponificable del aceite de “Ungurahua”, *Oenocarpus bataua*

Tabla 22: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición de la fracción Insaponificable del Aceite de Ungurahua

Concen.	Abs. ()	% de Inhibición
0	0,405	0
0,0238	0,397	1,8930
0,0595	0,389	3,9506
0,0714	0,375	7,4074

Gráfico 17 y 18.- Absorbancia del Insaponificable del Aceite de Ungurahua (der.) y % de Inhibición del insaponificable Aceite de Ungurahua (izq.)



IC50 la fracción insaponificable del Aceite de Ungurahua
0,4945 mg/ml.

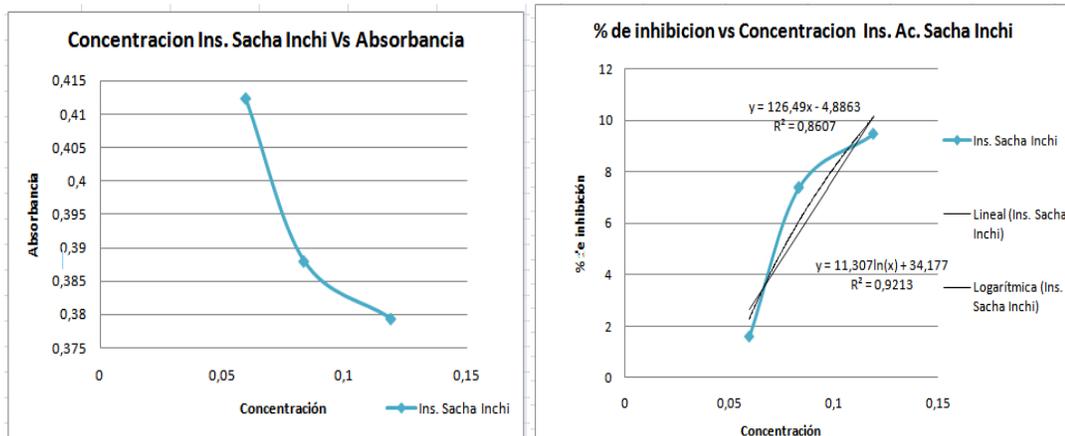
4.4.1.9. Fracción insaponificable del Aceite de Sacha Inchi

La tabla 23 y los gráficos 19 y 20; muestran las gráficas de absorbancia y el % de inhibición contra la concentración de diferentes soluciones de la fracción insaponificable del aceite de “Sacha Inchi”, *Plukenetia volubilis*

Tabla 23: Datos obtenidos de la absorbancia y % inhibición de la fracción Insaponificable del Aceite de Sacha Inchi

Concen.	Abs. ()	% de Inhibición
0	0,419	0
0,0595	0,412	1,5911
0,0833	0,388	7,3986
0,119	0,379	9,4670

Gráfico 19 y 20.- Absorbancia del Insaponificable del Aceite de Sacha Inchi (der.) y % de Inhibición del insaponificable Aceite de Sacha Inchi (izq.)



IC50 la fracción insaponificable del Aceite de Sacha Inchi

4,05 mg/ml.

4.4.10. Comparación entre Valores de IC 50

En la tabla 24 consignamos la capacidad antioxidante, medida por el IC₅₀ expresada en mg/L, para los diferentes aceites y para el BHA, utilizado como antioxidante indicador, en la tabla 25 se puede observar la capacidad antioxidante de las fracciones insaponificables medida por el IC₅₀ expresada en mg/L, y en el Gráfico 21 se evidencia una comparación entre los IC₅₀ de los aceites y sus fracciones insaponificables.

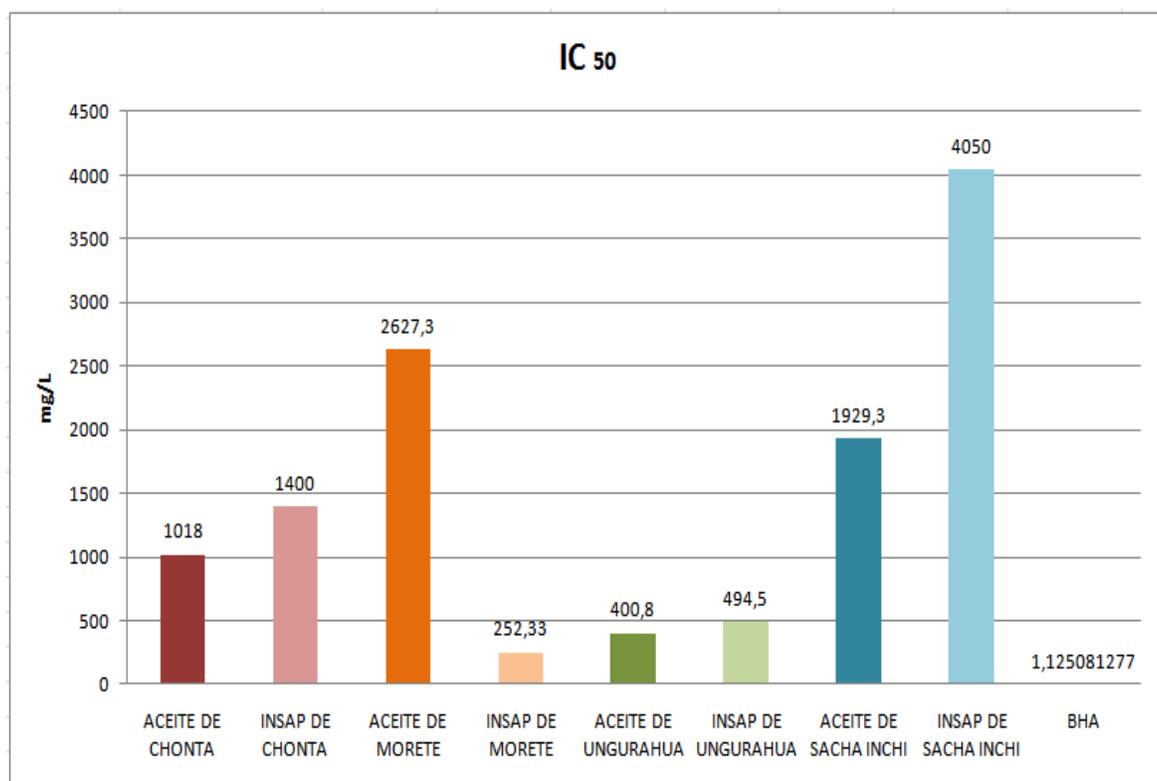
Tabla 24: Comparación entre valores de IC50 de los aceites.

Antioxidante	IC50 [mg/ml.]	Antioxidante	IC50 [mg/L]
BHA	0,0011	BHA	1,1
Aceite de Ungurahua	0,4008	Aceite de Ungurahua	400,8
Aceite de morete	2,6273	Aceite de morete	2627,3
Aceite de chonta	1,018	Aceite de chonta	1018
Aceite de Sacha inchi	1,9293	Aceite de Sacha Inchi	1929,3

Tabla 25: Comparación entre valores de IC 50 de las fracciones Insaponificables de los aceites.

Antioxidante	IC50 [Mg/ml.]	Antioxidante	IC50 [mg/L]
BHA	0,00112508	BHA	1,12508128
insaponif. morete	0,25233	insaponif. morete	252,33
insaponif. Sacha inchi	4,05	insaponif. Sacha inchi	4050
insaponif. ungurahua	0,4945	insaponif. ungurahua	494,5
insaponif. chonta	1,4	insaponif. chonta	1400

Gráfico 21: Comparación del IC50 de los aceites y sus fracciones insaponificables



4.4.2 Test del β -caroteno

4.4.2.1. Aceites

En las tablas 26, 27, 28 y 29; se encuentran las tres repeticiones de las lecturas de la absorbancia medidas en el espectrofotómetro, para los aceites de “chonta” *Bactris gasipaes*, “morete” *Mauritia flexuosa*, “Ungurahua” *Oenocarpus bataua* y “Sacha Inchi” *Plukenetia volubilis*, respectivamente; seguidas del cálculo de la media aritmética de las mismas (promedio) y del porcentaje de la Actividad Antioxidante. El gráfico 22, muestra las 4 gráficas de absorbancia en función del tiempo (0, 30, 60, 90 y 120 minutos) de los aceites mencionados, datos obtenidos según el test del β -caroteno.

Blanco Inicial = 0,431 (dato obtenido y usado de referencia para los cálculos de AA de todos los aceites y fracciones insaponificables)

Blanco final = 0,434 (dato obtenido y usado de referencia para los cálculos de AA de todos los aceites y fracciones insaponificables)

At = 0,084333

Tabla 26.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno del Aceite de Chonta

Tiempo	L1	L2	L3	Media (Ao)	% AA
0	0,318	0,304	0,298	0,307	64,44
30	0,186	0,187	0,187	0,187	30,12
60	0,117	0,092	0,098	0,102	6,01
90	0,09	0,088	0,085	0,088	1,81
120	0,088	0,083	0,082	0,084	0,86

At= 0,05966667

Tabla 27.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno del aceite de Morete

Tiempo	L1	L2	L3	Media (Ao)	AA
0	0,141	0,136	0,137	0,138	21,73
30	0,067	0,082	0,075	0,075	4,81
60	0,06	0,065	0,064	0,063	1,69
90	0,061	0,063	0,06	0,061	1,25
120	0,057	0,059	0,063	0,060	0,80

At= 0,563

Tabla 28.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno del aceite de Ungurahua

Tiempo	L1	L2	L3	Media (Ao)	AA
0	0,436	0,442	0,443	0,440	92,76
30	0,501	0,504	0,507	0,504	43,41
60	0,51	0,532	0,52	0,521	30,49
90	0,552	0,554	0,557	0,554	4,39

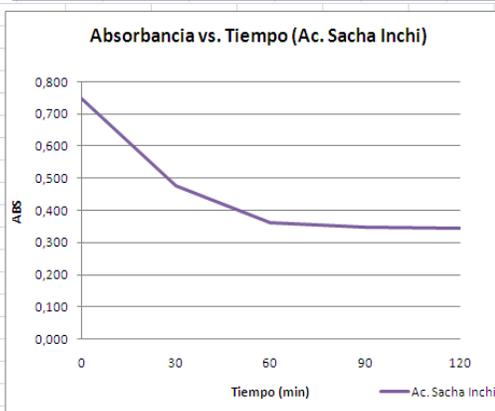
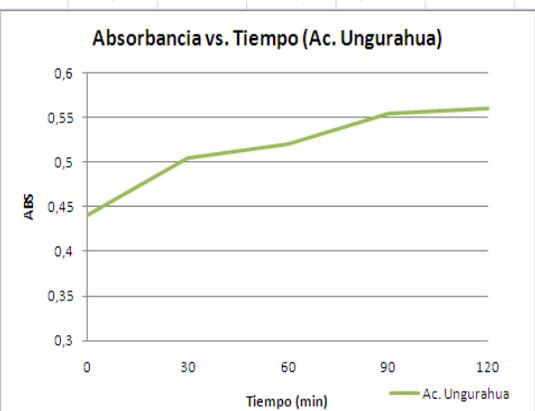
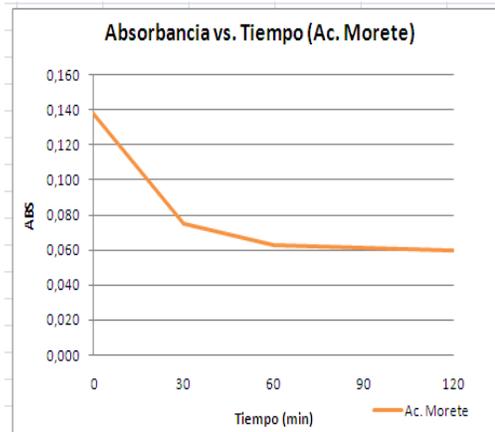
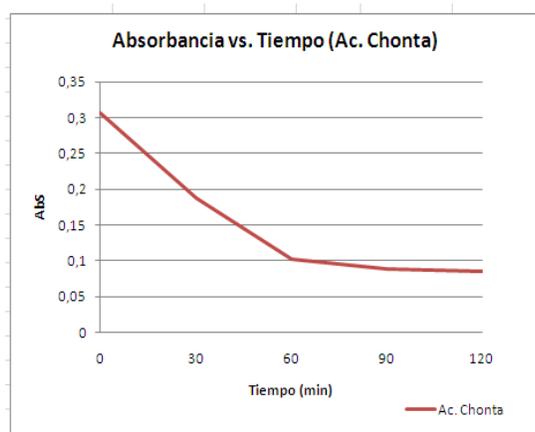
120	0,554	0,563	0,563	0,560	0,00
-----	-------	-------	-------	-------	------

At= 0,343

Tabla 29.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno del aceite de Sacha Inchi

Tiempo	L1	L2	L3	Media (Ao)	AA
0	0,833	0,719	0,692	0,748	448,35
30	0,513	0,479	0,438	0,477	150,18
60	0,372	0,369	0,345	0,362	24,18
90	0,333	0,364	0,344	0,347	7,69
120	0,349	0,343	0,337	0,343	3,30

Gráfico 22: Absorbancia de los aceites Chonta, Morete, Ungurahua y Sacha Inchi en 0, 30, 60, 90 y 120 minutos respectivamente.



4.4.2.2. Fracciones Insaponificables

En las tablas 30, 31, 32 y 33; se encuentran las tres repeticiones de las lecturas de la absorbancia medidas en el espectrofotómetro, para las fracciones insaponificables de los aceites de “chonta” *Bactris gasipaes*, “morete” *Mauritia flexuosa*, “Ungurahua” *Oenocarpus bataua* y “Sacha Inchi” *Plukenetia volubilis*, respectivamente; seguidas del cálculo de la media aritmética de las mismas (promedio) y del porcentaje de la Actividad Antioxidante. El gráfico 23, muestra las 4 gráficas de absorbancia en función del tiempo (0, 30, 60, 90 y 120 minutos) de los aceites mencionados, datos obtenidos según el test del β -caroteno.

Blanco Inicial = 0,431 (dato obtenido y usado de referencia para los cálculos de AA de todos los aceites y fracciones insaponificables)

Blanco final = 0,434 (dato obtenido y usado de referencia para los cálculos de AA de todos los aceites y fracciones insaponificables)

At= 0,052

Tabla 30.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno de la fracción insaponificable del aceite de Chonta.

Tiempo	L1	L2	L3	Media (Ao)	AA
0	1,003	1,253	1,207	1,154	27,98
30	1,383	1,394	1,035	1,271	16,40
60	1,383	1,404	1,415	1,401	3,45
90	1,404	1,415	1,42	1,413	2,22
120	1,418	1,427	1,445	1,430	0,53

At= 0,071

Tabla 31.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno de la fracción insaponificable del aceite de Morete

Tiempo	L1	L2	L3	Media (Ao)	AA
0	0,156	0,15	0,15	0,152	26,96
30	0,107	0,101	0,109	0,106	14,83
60	0,098	0,092	0,088	0,093	11,43
90	0,086	0,083	0,069	0,079	7,94
120	0,051	0,052	0,053	0,052	0,79

At= 0,305

Tabla 32.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno de la fracción insaponificable del aceite de Ungurahua

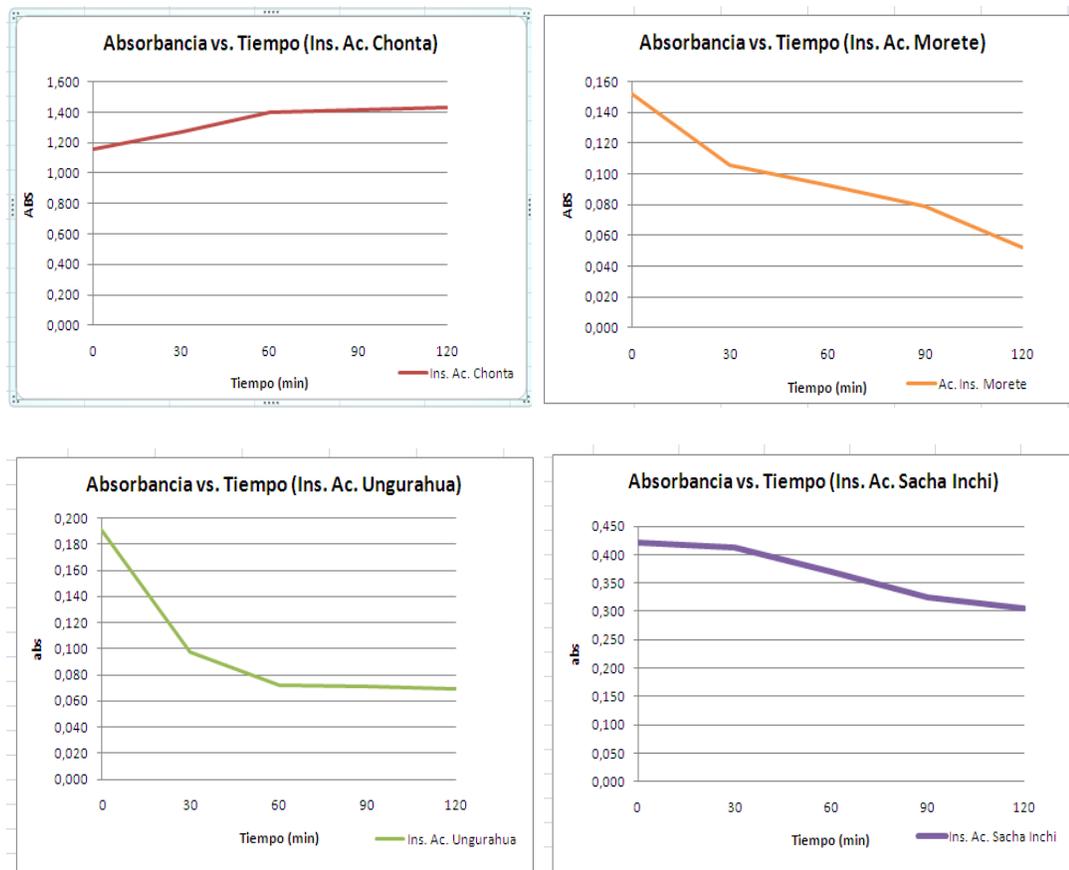
Tiempo	L1	L2	L3	Media (Ao)	AA
0	0,19	0,189	0,192	0,190	33,70
30	0,098	0,102	0,093	0,098	8,17
60	0,07	0,073	0,074	0,072	1,19
90	0,071	0,068	0,074	0,071	0,83
120	0,069	0,07	0,07	0,070	0,46

At= 0,305

Tabla 33.- Datos de las lecturas de la absorbancia y % de la acción antioxidante AA en diferentes tiempos, según el método del β -caroteno de la fracción insaponificable del aceite de Ungurahua

Tiempo	L1	L2	L3	Media (Ao)	AA
0	0,422	0,432	0,412	0,422	93,02
30	0,412	0,415	0,411	0,413	85,79
60	0,402	0,378	0,326	0,369	51,68
90	0,337	0,317	0,321	0,325	17,83
120	0,354	0,365	0,196	0,305	2,33

Gráfico 23.- Absorbancia de las fracciones insaponificables de los aceites de Chonta, Morete, Ungurahua y Sacha Inchi en 0, 30, 60, 90 y 120 minutos respectivamente



4.4.3 Comparación entre % de la Actividad Antioxidante (AA)

En las tablas 34 y 35 se encuentran todos los porcentajes calculados de la Actividad Antioxidante en los aceites de “chonta” *Bactris gasipaes*, “morete” *Mauritia flexuosa*, “Ungurahua” *Oenocarpus bataua* y “Sacha Inchi” *Plukenetia volubilis* y en la fracciones insaponificables de los mismos.

En el gráfico 24 se aprecia cómo actúa la actividad antioxidante de cada aceite objetos de la investigación en diferentes tiempos.

En el gráfico 25 se aprecia cómo actúa la actividad antioxidante de cada fracción insaponificable de los aceites objetos de la investigación en diferentes tiempos

4.4.3.1. Aceites

Tabla 34.- Resumen de los % de la Actividad Antioxidante en los Aceites de Chonta, Morete, Ungurahua y Sacha Inchi, según el test del β -caroteno

TIEMPO (minutos)	Actividad Antioxidante (AA%)			
	A.CHONTA	A. MORETE	A. UNGURAHUA	A. SACHA INCHI
0	64,44	21,73	92,76	448,35
30	30,12	4,81	43,41	150,18
60	6,01	1,69	30,49	24,18
90	1,81	1,25	4,39	7,69
120	0,86	0,80	0,00	3,30

4.4.3.2. Insaponificables de los Aceites

Tabla 35.- Resumen de los % de la Actividad Antioxidante en las fracciones insaponificables de los aceites de Chonta, Morete, Ungurahua y Sacha Inchi, según el test del β -caroteno

TIEMPO (minutos)	Actividad Antioxidante (AA%)			
	I. CHONTA	I. MORETE	I. UNGURAHUA	I. SACHA INCHI
0	27,98	26,96	33,70	93,02
30	16,40	14,83	8,17	85,79
60	3,45	11,43	1,19	51,68
90	2,22	7,94	0,83	17,83
120	0,53	0,79	0,46	2,33

Gráfico 24: Comparación entre % de la Actividad Antioxidante (AA) en los aceites estudiados según el test del β -catoreno.

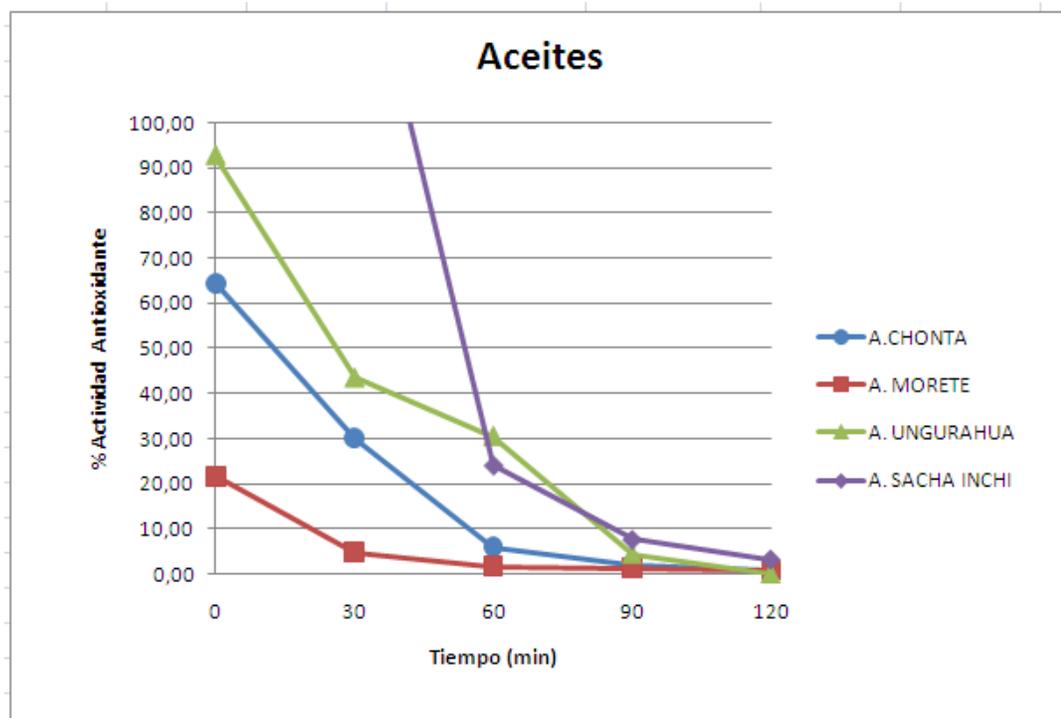
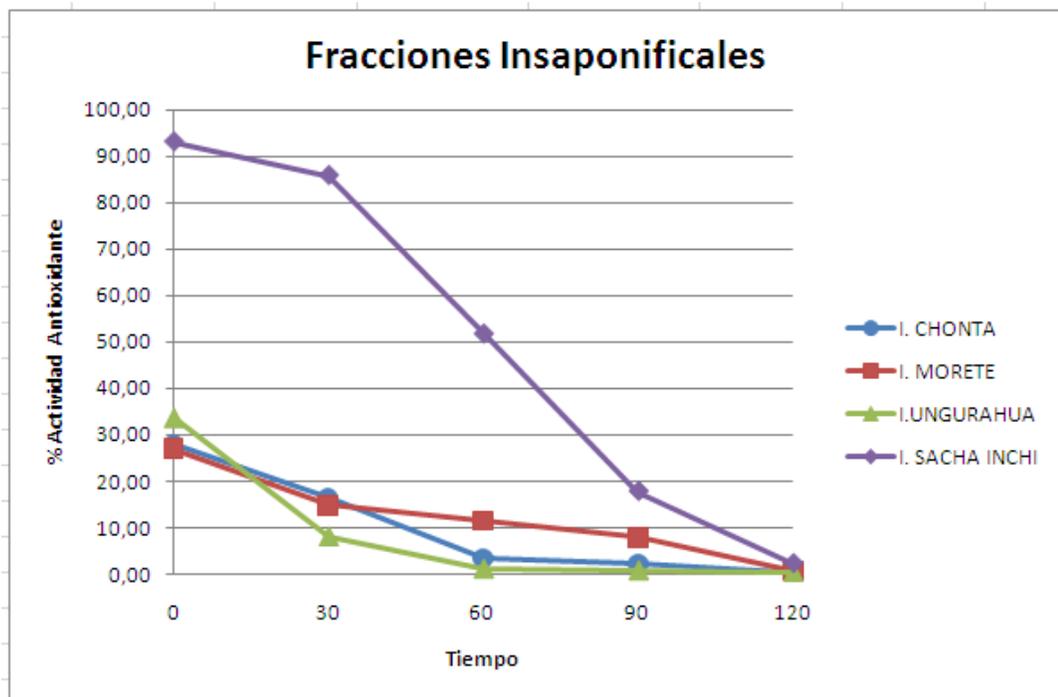


Gráfico 25.- Comparación entre % de la Actividad Antioxidante (AA) en las fracciones insaponificables de los aceites estudiados según el test del β -catoreno.



5.- DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. De la Extracción de Aceites:

Aunque para los aceites la extracción mecánica es la más recomendable por su fácil aplicación en una futura industrialización, en esta investigación se optó por la extracción con solvente, debido a que la prensa extractora provista por la fundación Chakuap, en la ciudad de Macas, no soportaba el punto de presión de la Chonta, es decir, el fruto fue muy duro en su estado crudo y al cocinarlo para ablandarlo. Cavia la posibilidad de que en esta pre-cocción se degeneren compuestos característicos del aceite como los ácidos grasos o las sustancias antioxidantes. La temperatura de extracción no debe exceder de 40 °C.

Por la época del año en la que se inició la investigación, en la que en la provincia de Morona Santiago (lugar de acopio de las especies) ya había pasado el tiempo de recolección de Ungurahua, no se encontró el material vegetal necesario para la extracción de aceite. En cuanto al Sacha Inchi, en el Ecuador crece solo de forma silvestre y está casi desaparecido, por ello se decidió comprar los aceites en la ciudad del Puyo- Ecuador y en Agroindustrias Floris S.A.C., laboratorio ubicado en Lima – Perú. Sin embargo de las especies de las que si se consiguió fruto, “chonta” *Bactris gasipaes* y “morete” *Mauritia fleuxosa*, se obtuvo un rendimiento evidenciado en 2,8391 % 9,8242% respectivamente.

Esta característica hace que el morete sea recomendable para la extracción de aceite, su producción a gran escala podría convertirse en una oportunidad rentable para una población que decida dedicarse a su cultivo, explotación y comercialización a nivel industrial.

5.2. De los análisis de calidad de los aceites

5.2.1. En la tabla 5, 6, 7 y 8 se muestran los resultados de los análisis realizados al aceite crudo de chonta, morete, unguahua y sachá inchi

Mehlenbacher (1979)¹⁶³, menciona que el peso específico está relacionado con el índice de saponificación. En el caso del aceite de *Bactris gasipaes* el peso específico es de 0,8473, mientras que el de saponificación corresponde a 237,3346 mg. KOH/g. grasa, y está relacionado con el peso molecular medio de la grasa. Para el caso del aceite de *Maurita flexuosa* el peso específico es de 0,8500 y el índice de saponificación, 143,1736 mg. KOH/g. grasa. En el aceite de *Oenocarpus bataua* es de 0,9036 y el de saponificación 170,5372 mg. KOH/g. mientras que en el aceite de *Plukenetia volubilis* corresponde a 0,9298 y el saponificación a 160,2408 mg. KOH/g. grasa.

El aceite de *Bactris gasipaes* tiene alto índice de refracción 1,6233; en comparación a los diferentes aceites *Maurita flexuosa* 1,4506; *Oenocarpus bataua* 1,4583; y *Plukenetia volubilis* 1,4835. Bailey (1961)¹⁶⁴ indica que los índices de refracción tanto de grasas como de ácidos grasos, aumentan conforme aumenta la longitud de las cadenas de hidrocarburos y los enlaces dobles de las cadenas, lo que podría indicar que el aceite de chonta es altamente insaturado; en el existe gran cantidad de cadenas de ácidos grasos largos, esto se corrobora con los resultados encontrados en los análisis de la composición de ácidos grasos, que se muestran en las tablas: 10, 11,12 y 13. Comparando en orden descendente los datos obtenidos de los índices de refracción encontramos el aceite de *Plukenetia volubilis*; *Maurita flexuosa*; *Oenocarpus bataua*, dato también reflejado en los totales en la suma del porcentaje de ácidos grasos insaturados correspondiente a cada uno 89.80%, 83.62% y 57.76% respectivamente.

El índice de peróxido es de gran importancia y de interés práctico para el reconocimiento de la descomposición autooxidativa, con esto se puede predecir la capacidad de conservación o estabilidad de las grasas

163 Mehlenbacher, V.C. *Análisis de grasas y aceites*, Enclopedia de la Química Industrial, Tomo 6 (1ª Edn.) Urmo, Bilbao.1979

164 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 64

(Mehlembacher, 1979)¹⁶⁵, este indica el nivel de rancidez y este a su vez, el nivel de instauración. En el Codex alimentarios de 1992¹⁶⁶, se acepta un índice de peróxido máximo de 10 miliequivalentes de oxígeno activo por Kg de aceite. En el aceite de Chonta el índice de peróxidos es de 19,8098 meq O₂/Kg, es decir un alto nivel de rancidez, ocasionado probablemente por la alta insaturación del aceite (tabla 10). Caso similar al aceite de Morete en el que el índice de peróxidos es 19,5461 meq O₂/Kg. con gran cantidad de ácidos grasos insaturados. (Tabla 11). En el aceite de Ungurahua el índice de peróxidos es 7.54 meq O₂/Kg., en este aceite el nivel de rancidez es medio a comparación de los demás, posee la mitad de ácidos grasos saturados y la otra mitad insaturados (tabla 12) En el aceite de Sacha Inchi el índice de peróxidos es 11,5313 meq O₂/Kg., el nivel de rancidez aceptable probablemente ocasionado por la insaturación evidenciada en la tabla 13.

Algunos antioxidantes pueden causar interferencias si poseen un espectro de absorción similar al del DPPH, como es el caso de los carotenoides (Prior y otros, 2005)¹⁶⁷. Por ello es necesario conocer la cantidad de carotenoides en los aceites. En el de Chonta igual a 9.3220 mg/100 g muestra, para el Morete a 1.1376 mg/100 g muestra, Ungurahua 0.2297 mg/100 g muestra y Sacha Inchi 0.2218 mg/100 g muestra, en los dos últimos obviamente más baja al presentar una coloración mucho más amarilla, tenue y transparente que los dos primeros.

Los índices de acidez para el aceite de chonta, morete, ungurahua y sachá inchi fueron de 4,5185 %, 1,8994%, 0,9480%. Y 1,0303 %.

Según la tabla 10, el total de ácidos grasos saturados asciende a 14.90% destacándose el ácido palmítico con 13.85%. El total de ácidos grasos insaturados es 85.10%, destacándose el ácido oléico con 64.28% y en

165 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

166 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

167 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 115.

segundo lugar el ácido linoléico con 16.40% valores que indican que este aceite es altamente insaturado.

Según la tabla 11, el total de ácidos grasos saturados en el aceite de *Maurita flexuosa*, asciende al 16.39% destacándose el ácido palmítico con 14.94%. El total de ácidos grasos insaturados es 83.62% solo de ácido oléico, valores que corroboran que el aceite que estudiamos es altamente insaturado como ya se había mencionado.

Según la tabla 12, el total de ácidos grasos saturados en el aceite de *Oenocarpus bataua*, asciende a 42.24% destacándose el ácido palmítico con 32.81%. El total de ácidos grasos insaturados es 46.99 % de ácido oléico y 10.77% de linoléico, valores que demuestran que el aceite que estudiamos es relativamente insaturado.

Según la tabla 13, el total de ácidos grasos saturados en el aceite de *Plukenetia volubilis*, asciende a 10.20% destacándose el ácido esteárico con 5.51%. El total de ácidos grasos insaturados es 89.80% con 57.40% de ácido linoléico y 32.40 de ácido linoléico, los dos ácidos grasos poliinsaturados. Braverman (1981)¹⁶⁸, menciona la importancia de estos ácidos grasos; cumplen ciertas funciones fisiológicas importantes, pero como no pueden sintetizarse en el cuerpo con suficiente rapidez deben de suministrarse en los alimentos. La cantidad de ácidos grasos polinsaturados dan la insaturación del aceite.

Actualmente, la industria busca encontrar aceites con una cantidad mínima de ácidos grasos saturados, aquellos que cuentan con esta característica son muy comercializados, como el de soja y de girasol. Los aceites estudiados, salvo el de unguahua, son altamente insaturados, convirtiéndose en factibles para la industrialización, aunque por esta particularidad, también se hacen

168 BRAVERMAN, Irwin M, *Cutaneous manifestations of general diseases; Skin manifestations*, 2nd edition, Saunders (Philadelphia), 1981

más propensos a la foto-oxidación necesitando envases que los protejan de la incidencia de la luz.

Así se concluye, que los cuatro aceites objetos de esta investigación, obtenidos a partir de semillas o frutos oleaginosos mediante procesos que se ajusten a las condiciones de higiene establecidas, se pueden recomendar como productos alimenticios o comestibles, ya que presentan aspecto límpido a 25°C, sabor, olor agradables y por sus características favorables pueden ser analizados y aceptados como inocuos por la competente autoridad sanitaria nacional.

5.3. De la extracción de las fracciones insaponificables

Normalmente, todas las grasas contienen materia insaponificable. Esta se encuentra en las grasas y aceites comunes, tanto animales como vegetales, en cantidades del 1 al 2%, o menos (Mehlembacher,1979)¹⁶⁹, sin embargo, la materia insaponificable del aceite de Chonta y de Morete fue de 4.040561% y 2.2851% respectivamente; valores más altos que el de los otros aceites, inclusive que los de Ungurahua 0.1599% y Sacha Inchi 0.17029 % (ver Tabla 14) en los que se tuvo que realizar más de 5 extracciones para obtener la cantidad de fracción insaponificable necesaria para los ensayos de A.A. Según Mehlenbacher (1979)¹⁷⁰ en esta fracción se incluye a los más altos alcoholes alifáticos, esteroides, pigmentos e hidrocarburos; lo que indica que en el aceite de “chonta” *Bactris gasipaes* y el “morete” *Mauritia flexuosa*, existe mayor cantidad de los compuestos mencionados, mayoritariamente de pigmentos conocidos como carotenos, a los que se le puede atribuir las coloraciones tan características (evidenciadas en el Gráfico 30 del Anexo 1) roja muy oscura para el aceite de chonta y tomate para el de morete; cabe la posibilidad de que por el alto contenido de

169 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

170 Ídem, Op. Cit. Ref. nota al pie 150.

estos pigmentos precursores de vitamina A los aceites sean ricos en sustancias antioxidantes.

5.4. De la evaluación de la actividad antioxidante

5.4.1. Método del DDPH

En este método se usó DMSO, por su polaridad afín con los aceites de estudio, debido a sus propiedades fisicoquímicas, actúa como solvente muy eficiente para los compuestos insolubles en agua y captura iones hidrógenos (Santos y otros., 1997)¹⁷¹ Actualmente es muy usado por su característica transportadora de anti-inflamatorios y anti-oxidantes, lo que lo hace óptimo para precautelar la conservación de los compuestos responsables de esta actividad antioxidante como los flavonoides, monofenoles y las antocianinas en aceites.

Se utilizó como estándar de comparación el BHA el cual presentó un IC₅₀ de 1.1 mg/L para la reacción con el radical DPPH.

La actividad antioxidante se determina como la actividad antirradical utilizando el radical DPPH (Padilla y otros, 2008)¹⁷². La actividad antirradical en los aceites se evaluó con los valores de IC₅₀, (cantidad de antioxidante necesaria para producir una reducción del 50% del radical libre presente, en este caso DPPH) y se muestra en el Gráfico 21.

La evaluación de la capacidad antioxidante, para los aceites fijos diluidos en DMSO de “Chonta”, “Morete”, “Ungurahua” y “Sacha Inchi”, arrojó los siguientes resultados de IC₅₀: 1018 mg/L, 2627.3 mg/L, 400.8 mg/L y 1929.3 mg/L., mientras que para las fracciones insaponificables de los mismos fueron IC₅₀ de: 1400 mg/L, 252.33 mg/L, 494.5 mg/L y 4050 mg/L respectivamente.

171 SANTOS NC, PRIETO M., MORNA GOMES A, BETBEDER D, CASTANHO M. *Structural characterization (shape and dimensions) and stability of polysaccharide/lipid nanoparticles*. Biopolymers, n.41, p.51120., 1997

172 PADILLA F.C., RINCON A.M. Y BOU-RACHED L., *Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces*. Universidad central de Venezuela, Facultad de farmacia, Unidad de analisis de alimentos, Caracas Venezuela. 2008

De acuerdo con los datos del IC_{50} de cada aceite y al existir una relación inversamente proporcional, a mayor valor del IC_{50} menor actividad antiradical (Sánchez-Moreno y otros, 1998)¹⁷³, se concluye que el Insaponificable de Morete presenta la mejor actividad antioxidante, seguido del Aceite de Ungurahua, del Insaponificable de ungurahua, Aceite de Chonta, Insaponificable de chonta, Aceite de Sacha y del aceite de morete, mientras que insaponificable de Sacha Inchi tiene la menor actividad, en una comparación de todos los aceites investigados.

La actividad antioxidante de la fracción insaponificable del Aceite de morete puede ser atribuida a la cuantiosa presencia de carotenoides ratificando lo mencionado en la bibliografía.

En el Aceite de Ungurahua se evidencia que aunque el contenido de carotenoides es bajo, existe la presencia de otras sustancias evidentemente antioxidantes, por ende, es necesario, propender el estudio fotoquímico de las especies utilizadas para la investigación, ya que al ser estos frutos, alimentos de consumo masivo en diversas regiones del país pueden considerarse un suplemento nutritivo con alto potencial para las comunidades donde se producen.

Nota1: Para las fracciones insaponificables se emplearon valores menores de concentración debido a que la actividad antioxidante del insaponificable es mayor

Nota 2: Algunos valores de las absorbancias de las lecturas tanto de aceites como de las fracciones insaponificables, que salen de los valores usados para graficar la curva de ABS no se han considerado.

173 Ídem, Ref. nota de pie 128.

5.4.2 Test del β -caroteno

En el Test del β -caroteno, el solvente para las soluciones matrices debía ser de naturaleza apolar para que en él se disuelva el aceite o el insaponificable, en este caso acetona.

Se evidencia la reducción de la absorción durante la oxidación conjunta del β -caroteno y ácido linoléico por eso disminuyó gradualmente la coloración, la absorbancia de las muestras desde el primero hasta los 120 minutos y con ello % de actividad antioxidante calculado. La presencia de extractos antioxidantes puede retardar el proceso de decoloración por acción sobre los radicales libres que se forman en el sistema (Jayaprakasha y otros, 2001)¹⁷⁴

Los resultados de la prueba con el β -caroteno y ácido linoléico se presentan en el gráfico 28 para aceites y 29 para fracciones insaponificables, basados en las tablas 34 y 35. Los radicales hidroperóxidos del ácido linoleico atacan y oxidan el β -caroteno, el cual se decolora rápidamente, registrándose una disminución de las lecturas de la absorbancia, (tablas 16, 17, 18 y 19), mas, la presencia de extractos antioxidantes puede retardar el proceso de decoloración por acción sobre los radicales libres que se forman en el sistema (Jayaprakasha y otros, 2001)¹⁷⁵. A comparación con los otros aceites, el de Sacha Inchi presentó siempre mayores porcentajes de AA (448,35; 150,18; 24,18 ; 7,69 y 3,30 %) en los diferentes tiempos en los que se hicieron las lecturas; seguido del de Ungurahua (92,76; 43,41; 30,49; 4,39 y 0,00%) Chonta (64,44; 30,12; 6,01; 1,81 y 0,86%) y Morete (21,73; 4,81; 1,69; 1,25 y 0,80%).

Del mismo modo, en las fracciones insaponificables, la extraída del aceite de Sacha Inchi fue la que retardó más el proceso de decoloración, en los diferentes tiempos (0,30,60,90 y 120 minutos), y así presentó valores más altos de AA : 93,02; 85,79; 51,68; 17,83 y 2,33 %, seguida de la fracción insaponificable del Aceite de Morete (26,96; 14,83; 11,43; 7,94 y 0,79%),

174 JAYAPRAKASHA GK, SINGH RP & SACARIAH KK. *Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro*. Food Chem, 2001; 73: 285-290

175 Idem, ref. nota al pie 174

luego del la fracción insaponificable del aceite de Chonta (27,98; 16,40; 3,45; 2,22 y 0,53%) y finalmente de la fracción insaponificable del aceite de Ungurahua (33,70; 8,17; 1,19; 0,83 y 0,46 %)

Padilla y otros (2008)¹⁷⁶ mencionan que la calificación del poder antioxidante depende del tipo de método usado y el parámetro con el cual se mide, lo cual explicaría porque se dan resultados diferentes para el método del DPPH y el test del β -caroteno, sin embargo, aunque los resultados emitidos por las dos métodos presentados fueron distintos, queda demostrada la actividad antioxidante de los cuatro aceites; esto los hace recomendables para su uso en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética, etc.

Para futuras investigaciones, hay que considerar también, que la capacidad de un componente o sistema para actuar como antioxidante *in vitro*, no significa necesariamente que pueda actuar de la misma manera *in vivo*, por ello, el uso de estas sustancias antioxidantes obtenidas de los aceites dentro del organismo sería de gran interés y utilidad; se podría evaluarlas como actividad protectora en la peroxidación de los lípidos de microsomas de células de hígado de rata (Gonzales M. y otros,2001)¹⁷⁷, que es un sistema modelo que simula mejor las condiciones *in vivo*.

176 Idem, ref. nota al pie 172.

177 GONZÁLEZ San José M.L, P. Muñiz Rodríguez y , V. Valls Bellés, " Actividad antioxidante de la cerveza: estudios in vitro e in vivo", Universidad de Valencia , España.2001.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVARADO L. Datos etnográficos de Venezuela. Ed. Rangon C.A., Caracas, 1996.
- ANDRADE, V. Cultivos energéticos alternativos: Presente y futuro de las oleaginosas en el Ecuador, Proyecto: Centro Iberoamericano de Investigación y Transferencia de Tecnología en Oleaginosas, Ibarra – Ecuador, pag 60, 2009
- ANDRESEN M, REGUERIA T, LEIGHTON F. Estrés oxidativo en el paciente crítico. Rev Méd Chile. 134:649656. 2006
- ANSARI, K.U. Free radical induced diseases. JIMA, 94: 238-239. 1996
- ANTOLOVICH M., PRENZLER P.D., PATSALIDES E., MCDONALD S., ROBARDS K. (2002) Methods for testing antioxidant activity. Analyst 127: 183-198
- ARANGO, Gabriel . Metabolitos primarios de interés farmacológico, Medellín, 2002. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/carbohidratos2001.pdf>
- ARAUJO ,V.A. Pulpa química y semiquímica al sulfato de hojas de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) y de pecíolos de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.). Tesis Ing. forestal, UNALM, Lima.1982
- ARENA, E., B. Fallico and E. Maccarone. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. Food Chem., pags.74: 423-427. 2001
- AVELLO, Marcia y SUWALSKY, Mario. Radicales libres, antioxidants naturales y mecanismos de protección, pag. 165. 2006
- BAILEY, A. E. Aceites y grasas industriales. Editorial Reverté. Cap. I p 4 - 32; p 398, 1961
- BALSLEV, H. y BORCHSENIUS, F. Arecaceae. Pp. 248–255. En: P.M. Jørgensen & S. León-Yáñez (eds.) Catalogue of the vascular plants of Ecuador. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 75. 1999
- BENZIE IFF y STRAIN JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant powe, FRAP assay. Anal Biochem.239:70-76. 1996
- BORGTTOFT PEDERSEN, F. y BALSLEV, H. Ecuadorean palms for agroforestry. AAU Reports 23, Aarhus.1990
- BOROWSKA, J. Fruits and vegetables as source of natural antioxidants. Przem. Ferm. Owoc. Warz. 1: 11-12. 2003
- BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technol. 28:25-30. 1995
- BRAVERMAN, Irwin M, Cutaneous manifestations of general diseases; Skin manifestations, 2nd edition, Saunders (Philadelphia), 1981
- BRESANI, E. La palmera "aguaje" como productora de celulosa. Boletín de la Sociedad Geográfica de Lima. Tomo XLI: 209–210. 1924
- BURNS, J.; GARDNER, P.T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G.G.; Lean, M.E.J.; y CROZIER, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. J. Agric. Food Chem. 49: 5797-5808. 2001
- CABRERA, H.y otros, Characterization of fat acids from leaves of *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit., Laboratorio Central de Farmacología. Facultad Ciencias Médicas «Dr. Salvador Allende». Carvajal s/n e/ Agua Dulce y A, Cerro, Ciudad de La Habana, Cuba, diciembre 2008. En línea: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol14_1_09/pla04109.htm
- CALDER, P. C , Yaqoob,P., Newsholme,E. A. Triacylglycerol metabolism by lymphocytes and the effect of triacylglycerol on lymphocyte proliferation. Biochem. J. 298, 605-611. 1994.

- CAMPOS, A. Estudio de extracción por solventes y caracterización físico-química del aceite de suri (*Rhynchophorus palmarum* L.). Tesis Ing° Ind. Aliment., UNALM, Lima.1988
- CANO, M.P.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE PASCUAL-Teresa, S. y DE ANCOS, B. . Procesado mínimo y valor nutricional. En González-Aguilar G.A.; Gardea, A.A.; Cuamea-Navarro, F.(Eds.) Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados. Logiprint Digital. Guadalajara, México. pp. 119-152. 2005
- CEM, CENTRO DE ESTUDIOS MIRASIERRA , Los lípidos, 15-A. 28034, Madrid. 2009. Disponible en : [www.selectividad.net/cem.](http://www.selectividad.net/cem/) / Moralzarzal
- CHÁVEZ J. Curso Principios bioactivos de plantas andinas y amazonicas del Peru. Capacidad antioxidante de compuestos bioactivos. Facultad de Ciencias, Departamento de Química. UNALM 2004.
- CODEX STAN 210-1999, NORMA DEL CODEX PARA ACEITES VEGETALES ESPECIFICADOS.[en línea]. Fecha de descarga: 24-05-2011. Disponible en formato http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad/marco_regulatorio/normativa/codex/stan/codex_stan_210.htm
- COOMBES, J., S. Powers, K. Hamilton, H. Demirel, R.A. Shanely, M. Zergeroglu, C. Sen, L. Packer, and L. Ji. Improved cardiac performance after ischemia in aged rats supplemented with vitamin E and alpha-lipoic acid.. *Physiol.* pg279.2000
- CORDERO Jesús; BOSHIER David; BARRANCE A. et. All.; Arboles de centro América: Un manual para extensionistas, pag. 378. 2003
- DE LOS HEROS G.M.J. y ZÁRATE, J.B. Posibilidades papeleras de pulpa al sulfato de pecíolos de aguaje. *Revista Forestal del Perú*, 10: 83–90. 1980
- DEL CASTILLO T, Dennis. Y otros. Aguaje, La maravillosa palmera de la amazonia, Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 2006. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/publicaciones/CD/documentos/L028.pdf>
- DIAZ, José Andrés y AVILA, Lina María. Sondeo del mercado mundial de Aceite de Seje (*Oenocarpus bataua*) , Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogota, Colombia. Pag,18. 2004
- DUTHIE, GG; GARDNER, PT; JAM, Kylie. Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proc Nutr Soc.* 62:599-603, 2003
- FENNEMA O.; Química de alimentos; Acribia, segunda edición; España 1993
- FINKEL T., Holbrook N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408:239- 247 2000
- FRANCO, Daniel. Oleaginosas, Aceites vegetales, Proceso de elaboración. Ministerio de Agricultura, ganadería y pesca, Agosto 2007. Argentina. Disponible en: www.alimentosargentinos.gov.ar/.../WEB_Tecnologia_de_Aceites_20080401.pdf
- FRANKEL, E.N. 1998. Lipid Oxidation. Ed. The oil press. Davis, California. U.S.A. pp. 11- 12.1998
- GARCÍA, H. Resumen de investigaciones apoyadas por Fundeagro 1988-1992. Tomo I. Proyecto de transformación de la tecnología agropecuaria.TTA. Lima. P.61-63. 1992
- GÓMEZ, D.; L. LEBRUN; N. PAYMAL y A.SOLDI. Palmas útiles en la provincia de Pastaza, Amazonia ecuatoriana. Manual práctico. Serie Manuales de plantas útiles amazónicas 1: 1-71. Fundación Omaere. Quito , 1996

- GONZALES, Ernesto. y otros. Plan de Manejo Forestal de Mauritia flexuosa "aguaje", Reserva Nacional Pacaya Samiria, Iquitos-Peru, 2005. En línea: <http://www.iiap.org.pe/promamazonia/sbiocomercio/Upload%5CLineas%5CDocumentos/522.pdf>
- GONZÁLEZ San José M.L , P. Muñiz Rodríguez y , V. Valls Bellés," Actividad antioxidante de la cerveza: estudios in vitro e in vivo", Universidad de Valencia , España.2001.
- GUMILLA, Revista SIC, N° 133, Caracas, 1963 Disponible en: <http://www.gumilla.org/biblioteca>
- GUSTAVSON, K. H. The Chemistry of Tanning Process, Academic Press, New York. 1956
- GUTTERIDGE, J. M. and J. STOCKS. Caeruloplasmin: physiological and pathological perspectives. Crit Rev Clin Lab Sci 14(4): 257-329. 1981
- HALLIWELI, B. and J. M. C. GUTTERIDGE. Free radicals in biology and medicine. Oxford, Clarendon Press, Reino Unido. 1989
- HALLIWELI, B. and J. M. GUTTERIDGE. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys 280(1): 1-8.1990
- HALLIWELL, B. and J. M. GUTTERIDGE. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. Free Radic Biol Med 18(1): 125-6.1995
- HALLIWELI, B. Free radicals, proteins and DNA: oxidative damage versus redox regulation. Biochemical Society Transactions 24(4): 1023-1027.1996
- HAMILTON R.J y ROSSELL J.B. Analysis of Oils and Fats, Ed. Elsevier Applied Science Publishers.1986
- HASLAM, E. Chemistry of Vegetable Tannins, Academic Press, New York..1966
- HIGBY,WK. A simplified method for determination of the carotenoid distribution in natural and carotene fortified orange juice. J.,Food Sci, 27, 42-49.1962
- HORUBALA A. Antioxidant capacity and their changes in fruit and vegetables processing. Przem. Ferm. Owoc. Warz. pg 30–31.1999
- IENS, INSTITUTO DE ESTUDIOS SALUD NATURAL, Bases Biológicas, Químicas y Energéticas de los Alimentos. Octubre 2000. Disponible en: <http://www.oocities.org/ceniuschile/lipidos.html>
- ISLER O. Carotenoids. Stuttgart: Birkhäuser Verlag Basel; 1971. y SIMPSON KL. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. Proc Nutr Soc 1983
- JACOB R. Three eras of vitamin C discovery. Subcell Biochem 25: 1–16.1996
- JAYAPRAKASHA GK, SINGH RP & SACARIAH KK. Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro. Food Chem, 2001; 73: 285-290
- JIALAL I, Norkus EP, Cristol L, Grundy SM. b-carotene inhibits the oxidative modification of low density lipoproteins. Biochim Biophys Acta; 1086: 134-138. 1991
- JOHNSON, Dennis. The role of palms in future tropical production systems and strategic palm species for human nutrition. EN: V Seminario-Taller Internacional 'Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria' y Primer Seminario Internacional 'Palmas en Sistemas de Producción Agropecuaria para el Trópico'. Organizado por la Fundación CIPAV, agosto, Cali, 1997
- KIRCHEMBAUER. Grasas y aceites. Química y tecnología. Editorial continental S.A. México.p 309.1954
- KIRITSAKIS A. y MARKAKIS P. Olive oil: a review. Advance in food research. Vol 31, p453- 482.1978

- LEE J, KOO N, MIN DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3:21. 2004
- MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, RÉMÉSY C, JIMÉNEZ L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 79:727-747. 2004
- MANCO, C. E. Cultivo de Sache Inchi, INIEA – SUDIRGEB - EEA. “EL PORVENIR, San Martin Perú, 2006. Disponible en: <http://www.incainchi.es/pdf/1358.pdf>
- MATISSEK, R, SCHNEPEL, F Y STEINER, G. 1998 Análisis de los Alimentos. Fundamentos-Métodos - Aplicaciones. Edit. Acribia S.A.pg. 430, Zaragoza. España.
- MATTOS, L. y MORA J. Descripción morfológica general del pejibaye cultivado [Bactris (Guilielma) gasipaesKunthArecaceae], (1): 24-37, 1996
- MAYZO. Antioxidants En línea: <http://www.mayzo.com>. Consultado: 15 de mayo del 2011.
- Mehlenbacher, V.C. Análisis de grasas y aceites, Enclopedia de la Química Industrial, Tomo 6 (1ª Edn.) Urmo, Bilbao.1979
- MILLÁN, R y SANJUÁN. Higiene, Inspección y Control de alimentos . Unidad didáctica de Higiene, Inspección y Control Alimentario. Facultad de Veterinaria de la ULPGC. 2005
- MILLER H. A simplified method for the evaluation of antioxidant . *J Am Oil Chem Soc*; pag91-98, 1971
- Miller H. A simplified method for the evaluation of antioxidant . *J Am Oil Chem Soc* 1971; 45: 91-98
- MÍNGUEZ MOSQUERA M. I, PÉREZ A. Y HORNERO D. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples colorantes naturales. Grupo de química y bioquímica de pigmentos. Departamento de biotecnología de alimentos. Instituto de la grasa, csic. Sevilla España.1994
- MUÑOZ, Diego. Actividad física y organismos biológicos: Sistemas Antioxidantes, pag16 , 2007
- MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M. y BRUNI, R.. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobial foods. *Food Chemistry* 91: 621-632. 2005
- NAKAGAWA K, Fujimoto K, Miyazawa T. b-carotene as a high-potency antioxidant to prevent the formation of phospholipid hydroperoxides in red blood cells of mice. *Biochim Biophys Acta*; 1299: 110-116. 1996
- NIELSEN S. “ Food Analysis Laboratory Manual; Kluwer Academic/Plenum”, Publishers, Nueva York, 2003.
- PADILLA F.C., RINCON A.M. Y BOU-RACHED L., Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. Universidad central de Venezuela, Facultad de farmacia, Unidad de analisis de alimentos, Caracas Venezuela. 2008
- PADOCH, C. . Aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.) in the economy of Iquitos, Peru. *Advances in Economic Botany*, 6: 214–224. 1988
- PEDERSEN, Kyle , JENKINSON AMcE, GARDNER PT, MCPHAIL DB, DUTHIE GG. . Effects of blueberry and cranberry juice consumption on the plasma antioxidant capacity of healthy female volunteers. *Eur J Clin Nutr*. 54:405-408. 2000
- PHARMACOPEE EUROPEENNE, 2 edition, European Directorate For The Quality Of Medicines (EDQM) European Pharmacopoeia Commission. Pp. 2002

- POKORNY, J. YANISHLIEVA, N. GORDON, M. Antioxidants in Food: Practical Applications; CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2001.
- PRACTICO, D. y DELANTY, N., Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease. Am. J. [en línea], format html, disponible en Internet: . Med. 109:577-585. 2000
- PRATT, D. E. y WATTS, B. M. Antioxidant activity of vegetable extracts (2) flavone aglycones. J. Food Sci. 29: 27–33. 1964.
- PRATT, D.E. Water-Soluble Antioxidant Activity in Soybeans. J. Food Sci. 37: 322–323. 1972
- PRIOR RL, WU X, SCHAICH K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J Agric Food Chem. 53:4290-4302. 2005
- PROFOUND – Advisers in Development , Estudio Preliminar de Mercado Sacha Inchi, Perú, diciembre de 2008. En línea: <http://www.biocomercio peru.org/admin/recursos/productos/ESTUDIO-PRELIMINAR-DE-MERCADO-SACHA-INCHI.pdf>
- REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA . Ministerio de Sanidad y Consumo. 2ª edición, 2002.
- RESTREPO, León Jaime. Aceites vegetales , Colombia, 2006. En línea: <http://higuerillo.blogspot.com>
- ROJAS, R. Estado del Conocimiento sobre el Aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.). Iquitos – Perú. 62 p. (en prensa).2000
- ROUX, D.G.; FERREIRA, D. y BOTHA, J.J. Structural considerations in predicting the utilization of tannins. J Agric. Food Chem. 28: 216–222. 1980
- RUDDLE, Kenneth; JOHNSON, Dennis; TOWNSED, Patricia K. y REES, John D. Palm Sago. A tropical starch from marginal lands. Honolulu, The University Press of Hawaii, XVI + 208 págs.1978
- SAN, SOCIEDAD ARGENTINA DE NUTRICION. Grasas y aceites, charlas para la comunidad, a cargo de Dra. Marcela de la Plaza y Lic Begoña Zugasti. Argentina.2009. Disponible en: <http://www.sanutricion.org.ar/Grasas-y-Aceites.pdf>
- SÁNCHEZ-MORENO C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Sci Tech Int. 8:121- 137. 2002
- SANTOS NC, PRIETO M., MORNA GOMES A, BETBEDER D, CASTANHO M. Structural characterization (shape and dimensions) and stability of polysaccharide/lipid nanoparticles. Biopolymers, n.41, p.51120., 1997
- SCHLESIER K, HARWAT M, BÖHM V, BITSCH R. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. Free Rad Res. 36:177-187. 2002
- SCHLESIER K, HARWAT M, BÖHM V, BITSCH R. OP. Cit. Free Rad Res. 36:177-187. 2002
- SCHULTES,, Richard y Raffauf ,Robert . The healing forest: medicinal and toxic plants of the northwest Amazonia. Portland, OR: Dioscorides Press. Portland, Oregon. 1990
- SEÑORÁNS Javier. Extracción de aceites de semillas y de orujo de aceitunas. Universidad Autonoma de Madrid. 2006. En línea: http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alimento/Apuntes/TCAC-T4-Extraccion-aceites-semillas.pdf
- SHIGUANGO, Ricardo, Información general sobre el cultivo de chontaduro *bactris gasipaes* h.b.k de la region amazónica ecuatoriana particularmente zona Archidona – Loreto. Mayo 1996. En línea:

- http://www.sumaco.org/download_documentos/AGR073_Cultivo%20Chontaduro_RShiguango.pdf
- SIES H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 82 (2):291-5.1997
- SIES, H. Damage to plasmid DNA by singlet oxygen and its protection. *Mutation Research* 299(3/4): 183. 1993
- SUN J, CHU YF, WU X, LIU RH. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J Agric Food Chem.* 50:7449-7454. 2002
- TAGA, M.S., MILLER, E.E., y PRATT, D.E. Chía seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist's Society*; 61:928 928-931. 1984
- TESTUA ,L.A. y ASPAJO, J.C.. Estudio de la extracción de caroteno (pro-vitamina A) a partir del aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.). Tesis Ingeniero químico, UNAP, Iquitos. 1987
- TREVEJO, Ch. Etude Physico-Chimique et Raffinage D'une huile de sardine Peruvienne (*Sardinops sagax*) Tesis. Facultades Sciences Agronomiques de L'Etat Gembloux - Belgique. 1984
- VALENZUELA, A. y NIETO, S. Synthetic and Natural Antioxidants: Food Quality Protectors. *Grasas y Aceites.* 47:186–196. 1996
- VALLES, C. Investigador agrario. Profesor asociado de la Facultad de Agrónoma de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto (UNSM). Investigador de la especie *Plukenetia*. Entrevista personal. 1995
- VILLACHICA H. Cultivo de pijuayo (*BactrisgasipaesKunth*) para palmito en la Amazonía. Pag 153, 1996
- WANG, Y., D. RIND, C.R. TREPTE, G.S. KENT, G.K. YUE, AND K.M. SKEENS. An empirical model study of the tropospheric meridional circulation based on SAGE. 1998
- WANG, Y., D. RIND, C.R. TREPTE, G.S. KENT, G.K. YUE, and K.M. SKEENS, 1998: An empirical model study of the tropospheric meridional circulation based on SAGE II observations. *J. Geophys. Res.*, 103, 13801-13818, doi:10.1029/98JD00204.
- WEBSTER, G. L... Euphorbiaceae. Pp 455–468. En: P.M. Jørgensen & S. León-Yáñez (eds.) *Catalogue of the vascular plants of Ecuador*. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 75., 1999
- WIKIPEDIA. Antioxidantes. En línea: <http://es.wikipedia.org/wiki/Antioxidante>. Consulta: 25 de junio del 2011
- WOLF ,G. The discovery of the antioxidant function of vitamin E: the contribution of Henry A. Mattill. *J Nutr* 135 (3): 363-6.2005
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. Technical Report series 797. Geneva: World Health Organization. 1990
- YILMAZ, Y. y Toledo, R.T.. Health aspect of funcional grape seeds constituents. *Trends food SCI Technol*, 15 422:433.2004

ANEXOS

Anexo 1: Fotografías del Proceso de recolección, extracción, análisis y evaluación de los aceites.

Fotos del Proceso de recolección y troceado

Gráfico 26: Palma de Chonta



Fuente: Ana Ma. Martínez



Fuente: Ana Ma. Martínez

Gráfico 27: Recolección de los frutos bajados de la palma de Chonta



Fuente: Ana Ma. Martínez

Grafico 28: Morete secado en la estufa.



Fuente: Ana Ma. Martínez

Grafico 29: Troceado del Morete



Fuente: Ana Ma. Martínez

Fotos del Proceso de Extracción de aceites

Gráfico 30: Sistema de extracción (solxhet) de los aceites de Chonta y Morete



Fuente: Ana Ma. Martínez

Grafico 31 : Aceite Chonta y Morete extraídos



Fuente: Ana Ma. Martínez

Gráfico 32: Aceite de Ungurahua y Sacha Inchi (comprados)



Fuente: Ana Ma. Martínez

Fotos del Proceso de Extracción de Insaponificables (para los cuatro aceites)

Grafico 33: Equipo de Reflujo para la obtención de insaponificables



Fuente: Ana Ma. Martínez

Grafico 34: Separación de las fases acuosa y Etérea para el proceso de extracción de insaponificable



Fuente: Ana Ma. Martínez

Grafico 35: Recolección de la fase etérea final, previa a la evaporación



Fuente: Ana Ma. Martínez

Grafico 36: Evaporación en el rotavapor del eter



Fuente: Ana Ma. Martínez

Grafico 37: Fracciones insaponificables de chonta (derecha) morete(izquierda) en vasos de precipitación de 10 ml.



Fuente: Ana Ma. Martínez



Fotos del Proceso de Evaluación de la actividad antioxidante

Gráfico 38: Pruebas para el método del DPPH



Fuente: Ana Ma. Martínez

Gráfico 39: Pruebas para el Test del β -caroteno



Fuente: Ana Ma. Martínez

Anexo 2: Tablas de análisis realizadas a los aceites

Tablas para obtención de las constantes físicas

Tabla 36: Calculo de peso específico de los aceites

Aceite	Peso del picnómetro vacío (M)	Peso del picnómetro con agua (M2)	Peso del aceite 1	Resultado 1	Peso del aceite 2	Resultado 2	Peso del aceite 3	Resultado 3	Media de los resul.
Chonta	16,2151	41,3587	37,5035	0,846672712	37,5221	0,847412463	37,5339	0,847881767	0,8473
Morete	16,2314	41,3253	37,5626	0,850055193	37,5526	0,849656689	37,5683	0,85028234	0,8499
Ungurahua	16,2508	41,3792	39,0573	0,907598574	38,8425	0,899050477	38,9671	0,90400901	0,9036
Sacha Inchi	16,2181	41,3439	39,5823	0,9298888	39,5826	0,929900739	39,5731	0,929522642	0,9298

Tabla 37: Calculo del índice de refracción de los aceites

Aceite	R1	R2	R3	\bar{x}
Chonta	1,6255	1,622	1,6225	1,62333333
Morete	1,4505	1,4505	1,451	1,45066667
Ungurahua	1,4505	1,4882	1,4362	1,4583
Sacha Inchi	1,4835	1,4835	1,4835	1,4835

Tablas para obtención de las constantes químicas

Tabla 38: Calculo del índice de acidez de los aceites

Aceite	Peso	ml Na(OH) inicial	ml Na(OH) final	V Na(OH)ml consumidos	Grado de acidez	Índice de acidez
	P. Aceite				$\frac{V \times N \times 28,2}{P}$	$\frac{V \times N \times 40}{P}$
Chonta	5,1345	13,4	19,2	5,8	3,18550979	4,518453598
Morete	5,0543	10,5	12,9	2,4	1,33905783	1,899372811
Ungurahua	5,0633	14,2	15,4	1,2	0,66833883	0,947998341
Sacha Inchi	5,047	12,9	14,2	1,3	0,7263721	1,030315039

Tabla 39: Calculo del índice de saponificación de los aceites

Aceite	P aceite	ml HCl inicial	ml HCl final	ml consumidos	Índice de saponificación
	P de la muestra	VM	VB	V	$\frac{(V_B - V_M) \cdot N \cdot 56,1}{\text{peso} \cdot \text{de} \cdot \text{la} \cdot \text{muestra}}$
Chonta	2,5174	14,3	35,6	21,3	237,3341543
Morete	2,5665	27,7	40,8	13,1	143,1735827
Ungurahua	2,5001	0	15,2	15,2	170,5371785
Sacha Inchi	2,5032	0	14,3	14,3	160,2408917
Blanco		4,7	27,7	23	
HCL N=		0,5			

✓ **Primera titulación Índice de peróxidos:**

N (tiosulfato)= 0,1

Tabla 40: Calculo del índice de peróxidos de los aceites (N = 0.1)

Aceite	Peso	ml Tiosulfato inicial	ml Tiosulfato final	V (ml) tiosulfato consumidos	Formula
	P. Aceite				$I_p = \frac{N \times (V - B) \times 1000}{P}$
Morete	2,5069	1,1	2,75	1,65	49,86237983
Sacha Inchi	2,5149	0	1,1	1,1	27,83410871
Chonta	2,524	2,75	4,5	1,75	53,48652932
Blanco	0,4				

✓ **Segunda titulación Índice de peróxidos:**

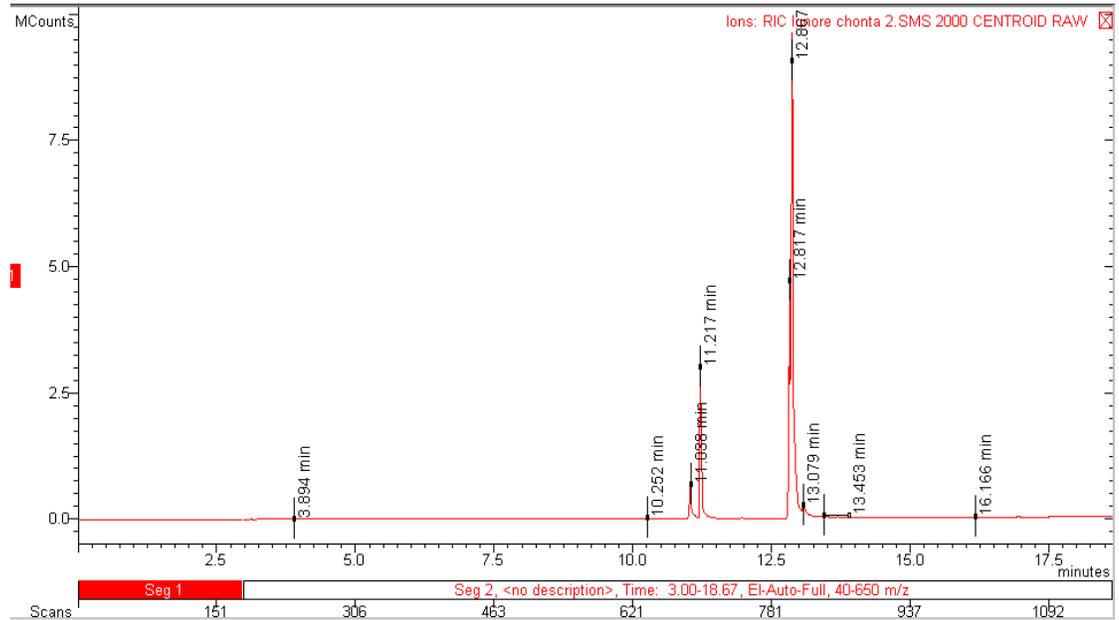
N (tiosulfato) = 0,01

Tabla 41: Calculo del índice de peróxidos de los aceites (N = 0.01)

Aceite	Peso	ml Tiosulfato inicial	ml Tiosulfato final	V (ml) tiosulfato consumidos	Formula
	P. Aceite				$I_p = \frac{N \times (V - B) \times 1000}{P}$
Morete	2,5069	7,2	12,5	5,3	19,54605289
Sacha Inchi	2,5149	12,5	15,8	3,3	11,53127361
Chonta	2,524	1	6,4	5,4	19,80982567
Ungurahua	2,5201	6,5	8,4	1,9	7,539383358
Blanco	0,4				

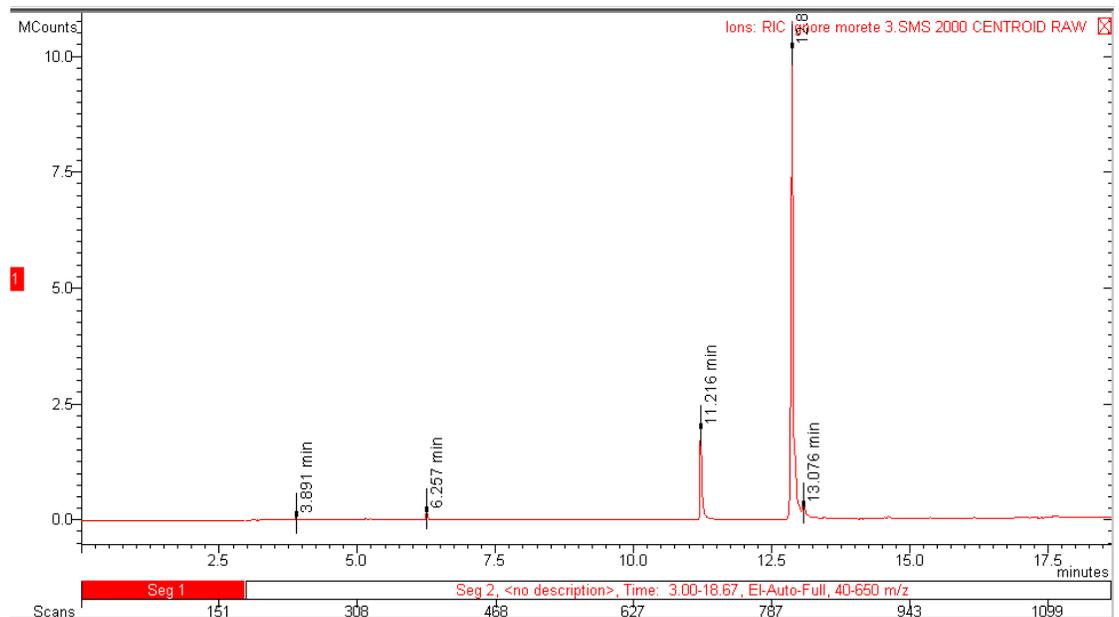
Anexo 3: Cromatogramas de los aceites

Gráfico 40: Cromatograma del Aceite de Chonta



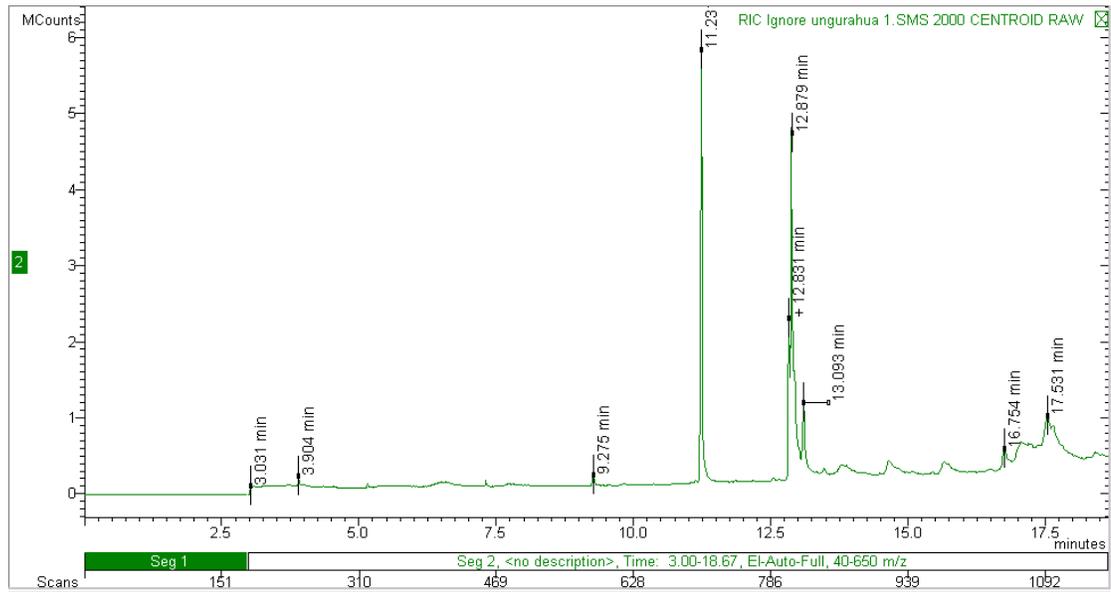
Fuente: La autora con base en datos obtenidos del equipo

Gráfico 41: Cromatograma del Aceite de Morete



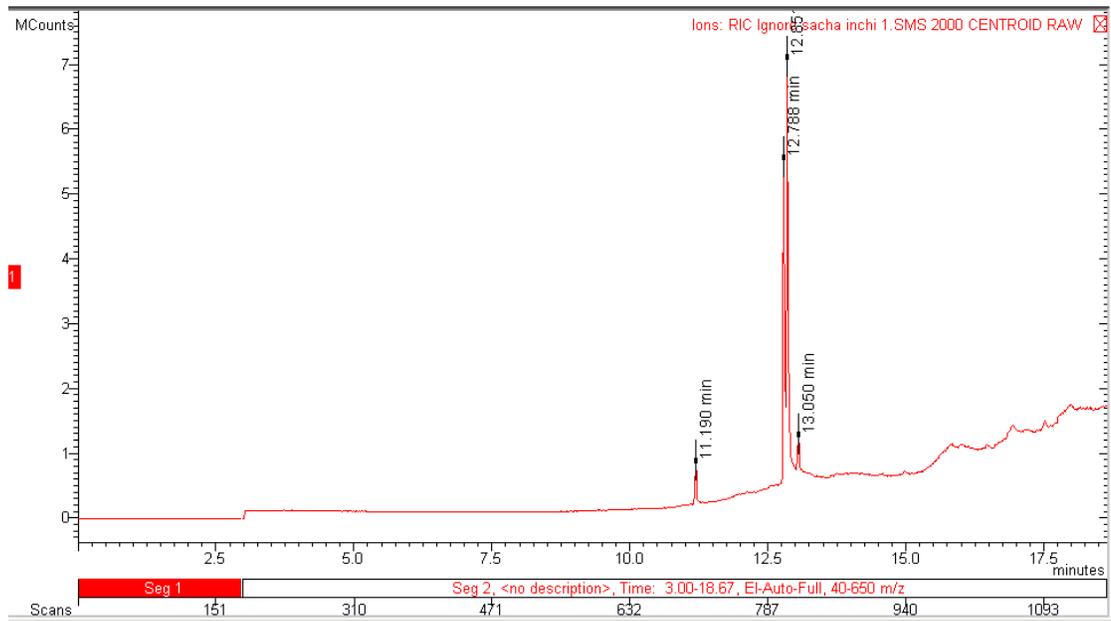
Fuente: La autora con base en datos obtenidos del equipo

Gráfico 42: Cromatograma del Aceite de Ungurahua



Fuente: La autora con base en datos obtenidos del equipo

Gráfico 43: Cromatograma del Aceite de Sacha Inchi



Fuente: La autora con base en datos obtenidos del equipo

Anexo 4: Tabla resumen de los % de fracción insaponificables extraídos de cada aceite

Aceite	P. del aceite	P. del vaso tarado	P. del vaso tarado+ insaponificable sin eter	P. de la fraccion insaponificabl	Fraccion Insaponificable
	(gramos)	(gramos)	(gramos)	(gramos)	(%)
Ungurahua 1	50,1247	20,1522	20,2756	0,1234	0,246186012
Ungurahua 2	50,0574	20,1494	20,2901	0,1407	0,281077323
Ungurahua 3	50,246	20,4125	20,4615	0,049	0,097520201
Ungurahua 4	51,0768	20,0429	20,1159	0,073	0,142922031
Ungurahua 5	52,1134	10,0753	10,1399	0,0646	0,12396044
Ungurahua 6	50,0918	7,8395	7,8863	0,0468	0,093428465
Ungurahua 7	51,071	7,9219	7,9909	0,069	0,135106029
Chonta 1	100,0244	19,6341	23,2911	3,657	3,65610791
Chonta 2	50,0149	20,2812	22,5003	2,2191	4,43687781
Morete	50,0461	19,8478	22,1329	2,2851	4,565990157
Sacha Inchi 1	50,4	10,0749	10,142	0,0671	0,133134921
Sacha Inchi 2	50,8	10,8147	10,92	0,1053	0,207283465