

**CARACTERIZACIÓN Y TRAZABILIDAD  
DEL ACEITE DE SACHA INCHI  
(*Plukenetia volubilis* Linneo).**

**Tesis Doctoral**

**Diómedes Fernando Ramos Escudero**

Sevilla, 2014





**Programa de Ciencia y Tecnología  
Departamento de Química Analítica  
Grupo de investigación: Stoccheion-Metra**

**CARACTERIZACIÓN Y TRAZABILIDAD  
DEL ACEITE DE SACHA INCHI  
(*Plukenetia volubilis* Linneo).**

**Memoria que presenta  
Fernando Ramos Escudero  
para optar el grado de Doctor por la Universidad de Sevilla**

**Fdo. Fernando Ramos Escudero**



Autorizamos la presentación de la Tesis Doctoral titulada "**CARACTERIZACIÓN Y TRAZABILIDAD DEL ACEITE DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* Linneo)**", presentado por el Ingeniero en Industrias Alimentarias **D. Fernando Ramos Escudero**, para optar el grado de Doctor, la mencionada Tesis ha sido realizada en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Sevilla, bajo nuestra dirección.

Sevilla, 13 de diciembre de 2013

Vº Bº

Los Directores

---

**Dr. Agustín García Asuero**  
Catedrático de Universidad

---

**Dra. María Teresa Morales Millán**  
Profesora Titular de Universidad

A mi amada Mariamne,  
por su afecto, cariño y comprensión, y  
a mi querido Mikhail Rafael fruto de mi inmenso amor.

Muchas gracias amor por todo lo que habéis hecho por mí y recordarme siempre la fuerza de nuestro amor. Mi vida es más agradable desde el día en que mi corazón se lleno de tu amor. Que el amor que nos unió todo este tiempo, perdure siempre en nuestros corazones "Ponme como un sello sobre tu corazón, como una marca sobre tu brazo; Porque fuerte es como la muerte el amor...".

**"Si no investigamos nuestra biodiversidad, la vamos a perder"**

**SANTIAGO ERICK ANTÚNEZ DE MAYOLO RYNNING**

**Investigador peruano**

**1913-2012**

## AGRADECIMIENTO

Antes de iniciar estas líneas quiero agradecer a Dios por la vida y las fuerzas que me da día tras día "Por tanto, no desmayamos; antes aunque este nuestro hombre exterior se va desgastando, el interior no obstante se renueva de día en día" 2 Corintios 4:16.

A mi familia especialmente a mi mamá Adriana y a mi hermana Mónica, y a mis parientes de *Ego* Rafael y Delfi a mis cuñados Jhaneey y Jahaziel por su apoyo y sus oraciones en esta estancia tan lejana, del cual estoy inmensamente agradecido por todo lo que habéis hecho por mí.

A mis directores de Tesis, la Dra. María Teresa Morales Millán y al Dr. Agustín García Asuero, que me han dedicado su tiempo, su esfuerzo y sus conocimientos. Han sido para mí excelentes mentores al transmitirme en el quehacer de la presente Tesis Doctoral desde sus inicios. No solamente sus cualidades profesionales son valiosas sino también sus cualidades como persona, son dignas de imitar.

Al Dr. Ramón Aparicio (Padre), Dr. Diego Luis García, Dr. Joaquín Velasco, Dr. Arturo Morales, así también como a Inmaculada Romero del Departamento de Caracterización y Calidad de Lípidos por su ayuda y colaboración en el análisis de compuestos volátiles, y a José Luis Ríos del Servicio de Masas del Instituto de la Grasa (CSIC).

A la Dra. Lourdes González-Miret, Dr. Francisco José Rodríguez, Dr. Francisco José Heredia del Grupo de Color y Calidad de Alimentos del Departamento de Nutrición y Bromatología de la Universidad de Sevilla, por brindarme sus ayuda en el análisis de color.

A los profesores del Departamento de Química Analítica, especialmente a la Dra. Dolores Hernanz, Dra. María del Mar Orta, Dr. Ramón Aparicio (Hijo), Dra. Teresa Montaña, Dra. M<sup>a</sup> José Navas, Dra. Ana María Jiménez, Dra. María Ángeles Herrador, Dra. Guillermina Galán y al personal de administración Dña. Rosario Paneque (Charo),

Dña. Teresa Ruiz (Tere) y al Dr. Joaquín Jiménez por los momentos gratos con quienes he compartido conversaciones, experiencias y por las palabras de ánimo para concluir satisfactoriamente esté objetivo en mi vida.

A la Dra. Ritva Ann-Mari Repo, Dra. Fanny Emma Ludeña y también a Liz Gutiérrez del Departamento de Ingeniería de Alimentos y Productos Agropecuarios de la Universidad Nacional Agraria de la Molina y a Eerika Vuorinen del Departamento de Bioquímica y Química de Alimentos de la Universidad de Turku por aportarme sus conocimientos que han sido muy valiosas para mí y también por hacerme sentir como uno más de su equipo de investigación.

To all the staff of the Academic and Professional Programs for the Americans (LASPAU) and especially to Maria Fernanda Lopez-Jacoiste, Eva María Perez, Derek Tabares, Lindsey Nicholson and Paulina Savage for their help, support and monitoring in all necessary procedures before and during my stay in Spain and finally to Celia Cornejo of the Fund for Innovation, Science and Technology (FINCyT) in this last stretch.

Al Programa de Ciencia y Tecnología por la beca doctoral 124-2009-FINCyT-BDE (noviembre-2009 hasta mayo 2013).

A mis compañeros y amigos de milicia especialmente a los amados Silvio, Alex, Juan, Elita, Esther, Ruth, Daniel, Raquel, Jacqueline, Ferolina, etc. por mostrarme siempre su afecto y porque habéis tenido siempre memoria de mi en sus oraciones. A la casa de la familia Abanto-Ávila por recibirme siempre con los brazos abiertos cada vez que he estado con vosotros en Barcelona. *Ego*, Mariamne y Mikhail Rafael estamos muy agradecidos por todos y cada uno de vosotros..."los extrañaremos mucho y siempre estarán presentes en nuestros corazones".

## RESUMEN

El Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en el Perú, forma parte de las especies silvestres usufructuadas del patrimonio natural de la nación. El Sacha inchi es una oleaginosa silvestre cultivada en la regiones Amazónicas, esta planta ha sido cultivada por los pueblos indígenas durante siglos. Tradicionalmente, el aceite como la torta de Sacha inchi ha sido utilizado para uso alimentario por diversas etnias del Perú. El aceite de Sacha inchi está actualmente obteniendo reconocimiento internacional por sus propiedades saludables especialmente por su extraordinaria fuente de ácidos grasos poliinsaturados, además de ser utilizada en la industrias cosmética como alimentaria. El Perú actualmente es el principal productor de aceite de Sacha inchi, y sin embargo se conoce poco sobre la caracterización química y la trazabilidad del aceite de Sacha inchi virgen. Veintisiete muestras de aceite de Sacha inchi comercial (etiquetadas del IP-001 al IP-027) producidos a partir de semillas de Sacha inchi que son cultivados en siete regiones geográficas de la Amazonia Peruana (Loreto, Amazonas, San Martín, Huánuco, Ucayali, Junín y Madre de Dios) fueron analizados por sus parámetros de calidad (acidez libre, índice de peróxidos,  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  y  $\Delta K$ ), datos físico-químicos (estabilidad oxidativa (OSI), índice de color mediante el espacio de color uniforme CIELAB) y su composición química (carotenoides, tocoferoles, ácidos grasos, esteroides, alcoholes, fenoles y compuestos volátiles) para distinguirlos según la zona de producción. Los atributos sensorial (olor y flavor) de siete muestras de aceite de Sacha inchi (etiquetados de IP-021 al IP-027) fueron evaluados mediante un análisis sensorial descriptivo-cuantitativo. Los resultados fueron procesados mediante métodos multivariantes quimiométricos (HCA, análisis de clúster jerárquico; PCA, análisis de componentes principales y SLDA, análisis discriminante lineal por pasos), sin embargo el uso de las técnicas multivariantes para la clasificación de los aceites de Sacha inchi según el zona de producción y a pesar de las diferencias obtenidas empleando los parámetros de calidad, parámetros de color, tocoferoles, ácidos grasos y esteroides no se mostraron eficaces en la diferenciación de los aceites. Por otro lado, el perfil de alcoholes, fenoles y compuestos volátiles muestran diferentes perfiles cuando los aceites de Sacha inchi son obtenidos de semillas producidas en diferentes zonas de cultivo. Por lo tanto, se puede concluir que los estudios de clasificación teniendo en cuenta la información del contenido (alcoholes, fenoles y compuestos volátiles), se alcanzan tasas adecuadas de clasificación de



89,0, 96,30 y 91,67% respectivamente, con lo cual las variables con mayor poder discriminante fueron lanosterol 1, fitol, cicloartenol, tetracosanol, isoramnetina glucósido, 3,4-DHPEA-DEDA, ligustrósido aglicona, ácido oleuropeico, luteolina, E-3-hexen-1-ol, limoneno y tolueno. El análisis sensorial de los aceites de Sacha inchi Todas las muestras presentaron un perfil característico. Los aceite de Sacha inchi se caracterizaron principalmente por una percepción de olor a notas verdes, en cuanto al atributo flavor se observa que las mayores puntuaciones fueron para semilla y fruto seco/almendrado.

# ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Aceites de semillas.....</b>	<b>2</b>
1.1.1	Palma ( <i>Elaeis guineensis</i> Jacq.).....	2
1.1.2	Soja ( <i>Glycine max</i> L. Merr.).....	2
1.1.3	Colza ( <i>Brassica napus</i> L.).....	3
1.1.4	Girasol ( <i>Helianthus annuus</i> L.).....	3
<b>1.2</b>	<b>Biodiversidad de recursos fitogenéticos de Perú.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3</b>	<b>Antecedentes del Sacha inchi.....</b>	<b>6</b>
<b>1.4</b>	<b>Generalidades del Sacha inchi.....</b>	<b>8</b>
1.4.1	Clasificación taxonómica.....	8
1.4.2	El cultivo del Sacha inchi.....	8
1.4.2.1	Morfología.....	8
1.4.2.2	Clima y suelo.....	9
1.4.3	Ecotipos.....	12
<b>1.5</b>	<b>Producción, usos y procesos productivos de la semilla de Sacha inchi....</b>	<b>12</b>
<b>1.6</b>	<b>Tendencia y comercialización.....</b>	<b>18</b>
<b>1.7</b>	<b>Métodos de obtención de aceite de semillas oleaginosas.....</b>	<b>21</b>
1.7.1	Extracción por prensado.....	21
1.7.2	Extracción con disolventes.....	22
1.7.3	Pre-tratamiento enzimático.....	23
1.7.4	Extracción con dióxido de carbono supercrítico.....	24
<b>1.8</b>	<b>Obtención del aceite de Sacha inchi.....</b>	<b>25</b>
<b>1.9</b>	<b>Composición química del aceite de Sacha inchi.....</b>	<b>29</b>
<b>1.10</b>	<b>Marcadores de composición.....</b>	<b>32</b>
1.10.1	Ácidos grasos.....	33
1.10.2	Triglicéridos.....	33
1.10.3	Esteroles.....	35

1.10.4	Alcoholes.....	36
1.10.5	Tocoferoles.....	37
1.10.6	Hidrocarburos.....	38
1.10.7	Compuestos fenólicos.....	39
1.10.8	Compuestos volátiles.....	40
1.10.8.1	Aceites vegetales y biosíntesis del flavor.....	42
1.10.8.1	Lipoxigenasa.....	42
1.10.8.2	Hidroperóxido liasa.....	43
1.10.8.3	Alcohol deshidrogenasa.....	44
1.10.8.2	Mecanismos de oxidación de los lípidos.....	44
1.10.8.3	Diferencias de aromas en aceites vírgenes y refinados.....	47
<b>1.11</b>	<b>Color y apariencia de los aceites comestibles.....</b>	<b>48</b>
<b>1.12</b>	<b>Evaluación sensorial de aceites vegetales.....</b>	<b>50</b>
<b>1.13</b>	<b>Trazabilidad alimentaria.....</b>	<b>52</b>
1.13.1	Trazabilidad hacia atrás (backward traceability or tracing).....	53
1.13.2	Trazabilidad de procesos (internal traceability).....	53
1.13.3	Trazabilidad hacia delante (forward traceability or tracking).....	54
<b>1.14</b>	<b>Trazabilidad alimentaria y herramientas analíticas.....</b>	<b>55</b>
1.14.1	Caracterización y autenticidad.....	55
1.14.2	Quimiometría fusión cromatografía.....	56
1.14.3	Análisis de datos exploratorios.....	57
1.14.4	Métodos de reconocimiento de patrones no supervisados.....	57
1.14.5	Métodos de reconocimiento de patrones supervisados.....	57
<b>II.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>60</b>
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>62</b>
<b>3.1</b>	<b>Materia prima.....</b>	<b>63</b>
3.1	Aceites comerciales de Sacha inchi.....	63

3.2	Semillas de Sacha inchi.....	65
<b>3.2</b>	<b>Reactivos, disoluciones y materiales.....</b>	<b>65</b>
<b>3.3</b>	<b>Instrumentación.....</b>	<b>67</b>
<b>3.4</b>	<b>Parámetros de calidad.....</b>	<b>67</b>
3.4.1	Determinación de la acidez libre.....	67
3.4.2	Determinación del índice de peróxidos.....	68
3.4.3	Determinaciones espectrofotométricas UV.....	69
<b>3.5</b>	<b>Índice de estabilidad oxidativa del aceite (OSI).....</b>	<b>70</b>
<b>3.6</b>	<b>Medida del color.....</b>	<b>71</b>
<b>3.7</b>	<b>Análisis de carotenoides.....</b>	<b>72</b>
<b>3.8</b>	<b>Análisis de tocoferoles mediante HPLC-FD.....</b>	<b>72</b>
<b>3.9</b>	<b>Análisis de ácidos grasos mediante GC-FID.....</b>	<b>73</b>
<b>3.10</b>	<b>Análisis de esteroides y alcoholes mediante GC-FID y GC-ITMS.....</b>	<b>74</b>
<b>3.11</b>	<b>Análisis de fenoles mediante HPLC-DAD y HPLC-ESI-TOFMS.....</b>	<b>76</b>
3.11.1	Extracción de la fracción fenólica.....	76
3.11.2	Análisis cromatográfico de fenoles.....	77
<b>3.12</b>	<b>Análisis de compuestos volátiles mediante HS-SPME/GC-FID y HS-SPME/GC-MS.....</b>	<b>78</b>
3.12.1	Extracción de compuestos volátiles por HS-SPME.....	78
3.12.2	Análisis cromatográfico de compuestos volátiles.....	79
<b>3.13</b>	<b>Evaluación sensorial del aceite de Sacha inchi.....</b>	<b>81</b>
<b>3.14</b>	<b>Análisis estadístico para caracterizar el aceite de Sacha inchi.....</b>	<b>81</b>
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>86</b>
<b>4.1</b>	<b>Parámetros de calidad.....</b>	<b>87</b>
<b>4.2</b>	<b>Evaluación de la estabilidad oxidativa del aceite (OSI).....</b>	<b>92</b>
<b>4.3</b>	<b>Medida del color.....</b>	<b>94</b>
<b>4.4</b>	<b>Determinación de carotenoides.....</b>	<b>101</b>

<b>4.5</b>	<b>Determinación de tocoferoles.....</b>	<b>103</b>
<b>4.6</b>	<b>Determinación de ácidos grasos.....</b>	<b>109</b>
<b>4.7</b>	<b>Determinación de esteroides.....</b>	<b>118</b>
<b>4.8</b>	<b>Determinación de alcoholes.....</b>	<b>132</b>
<b>4.9</b>	<b>Determinación de compuestos fenólicos.....</b>	<b>143</b>
<b>4.10</b>	<b>Determinación de compuestos volátiles.....</b>	<b>153</b>
<b>4.11</b>	<b>Perfil sensorial descriptivo cuantitativo del aceite de Sacha inchi.....</b>	<b>185</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>190</b>
<b>VI.</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>194</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Huacos fitomórficos de la cultura Inca.....	7
Figura 2.	Semillas de seis agrupaciones del género <i>Plukenetia</i> de la Amazonía peruana: A= <i>Plukenetia brachybotrya</i> ; B= <i>Plukenetia lorentensis</i> ; C= <i>Plukenetia volubilis</i> (procedencia San Martín); D= <i>Plukenetia volubilis</i> (procedencia Cuzco); E= <i>Plukenetia huallaybambana</i> ; F= <i>Plukenetia polyadenia</i> .....	10
Figura 3.	Planta de Sacha inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> L.): (A) en floración, (B) fruta verde y (C) madura, (D) semillas y (E) almendras.....	11
Figura 4.	Principales zonas productivas del cultivo de Sacha inchi en el Perú: (A) 1=Loreto, 2=Ucayali, 3=Madre de Dios, 4=Cuzco, 5=Junín, 6= Pasco, 7=Huánuco, 8=San Martín y 9=Amazonas; (B) principales zonas de cultivo en el departamento de San Martín.....	13
Figura 5.	Diagrama del proceso utilizado por los indígenas amazónicos para la obtención de aceite y torta de Sacha inchi, con técnicas empíricas.....	16
Figura 6.	Potencial agroindustrial del Sacha inchi.....	17
Figura 7.	(A) Exportaciones de Sacha inchi en el año 2012, según sus principales presentaciones y (B) evolución de las exportaciones de Sacha inchi del año 2008-2012.....	19
Figura 8.	Diagrama de flujo de un sistema de extracción de dióxido de carbono supercrítico.....	24
Figura 9.	Proceso productivo del aceite de Sacha inchi.....	26
Figura 10.	Ejemplos de estructuras ubicuas de esteroides vegetales: (I) campesterol; (II) estigmasterol; (III) $\Delta^5$ -avenasterol; (IV) sitosterol.....	36
Figura 11.	Estructura de los tocoferoles.....	37
Figura 12.	Esquema de la vía de la lipoxigenasa: ISO, isomerasa; LAH, lipasa/acil hidrolasa; HPL, hidroperóxido liasa; ADH, alcohol deshidrogenasa.....	45
Figura 13.	Diferentes estrategias para la obtención de matrices de datos multivariantes para la aplicación quimiométrica en la cromatografía.....	56
Figura 14.	Localización y descripción de las regiones productoras de las muestras de Sacha inchi.....	64
Figura 15.	Rancimat Metrohm modelo 679.....	70
Figura 16.	Cromatograma para la identificación y cuantificación de los tocoferoles del aceite de Sacha inchi.....	73
Figura 17.	Fracción insaponificable del aceite de Sacha inchi mediante TLC.....	75
Figura 18.	Tratamiento de la muestra para el análisis de compuestos volátiles.....	78
Figura 19.	(A) Cromatógrafo de gases Varian 3900, (B) equilibrio de compuestos volátiles a 40°C, (C) cromatógrafo de gases 7820A con MS 5975 Agilent, y (D) automuestreador para SPME Combi PAL.....	80
Figura 20.	Ficha de cata para la valoración sensorial del aceite de Sacha inchi.....	82
Figura 21.	Parámetros de calidad obtenidos de aceites de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la amazonia peruana. (A) % acidez libre, (B) índice de peróxidos, (C y D) características espectrofotométricas de K <sub>232</sub> y K <sub>270</sub> .....	91

Figura 22.	Análisis de clúster jerárquico (HCA), que muestra la clasificación de los parámetros de calidad, de acuerdo a las variables.....	91
Figura 23.	(A) Factores de carga de las variables seleccionadas PC1 y PC2. (B) Separación de los aceites de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la Amazonia Peruana, junto con las componentes principales PC1 y PC2; Las letras correspondientes a la muestras son: A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali. Elipse de confianza para $\alpha=0,05$ y coeficiente 0,9.....	93
Figura 24.	Estabilidad oxidativa (OSI) mediante Rancimat de aceites de Sacha inchi de diferentes zonas de cultivo. AV, promedio de todos los aceites.....	94
Figura 25.	Figura 25. Diagrama de cromaticidad de las muestras de aceite de Sacha inchi: (A) registrado en el plano $a^*b^*$ , (B) valores de $L^*$ , (C) diagrama completo mostrado en la ventana pequeña y (D) ruleta de color.....	97
Figura 26.	Espectro de absorción de las muestras de aceite de Sacha inchi procedente de diferentes regiones (A, B, C, D, E, F, G) y aceites de semilla (H).....	99
Figura 27.	Factores de carga y representación de las muestras en el espacio generado por las dos primeras componentes principales (PCA) basado en los parámetros CIELAB de las diferentes muestras de aceite de Sacha inchi. Las letras correspondientes a la muestras son: A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali.....	100
Figura 28.	Contenido de carotenoides de aceites de Sacha inchi de diferentes zonas de cultivo y aceites de semilla (Sa). Letras (a-b) indican diferencia significativa a $p<0,05$ , según el test de Duncan.....	102
Figura 29.	Cromatograma de una muestra autentica de aceite de Sacha inchi: (A) cromatograma de iones totales y (B) cromatograma HPLC-FD: $\lambda_{Ex}=290$ nm; $\lambda_{Em}=330$ nm. Asignación de picos: $\alpha$ -tocoferol (1), $\beta$ -tocoferol (2), $\gamma$ -tocoferol (3) y $\delta$ -tocoferol (4).....	105
Figura 30.	(A) Contenido de tocoferoles totales de aceites de Sacha inchi de diferentes zonas de cultivo y aceites de semilla (Sa), (B) diagrama de dispersión de $\gamma$ -tocoferol (eje x) frente a $\delta$ -tocoferol (eje y) y (C) diagrama de dispersión de diferentes zonas de cultivo y aceites de semilla.....	107
Figura 31.	(A) Factores de carga y (B) representación de las muestras en el espacio generado por las dos primeras componentes principales (PC1-PC2) basado en la composición de tocoferoles de las diferentes muestras de aceite de Sacha inchi y (C) resultado de la aplicación de la ecuación de regresión en todo el conjunto de muestras.....	108
Figura 32.	Perfil cromatográfico GC-FID, de FAMES del aceite de Sacha inchi: (A) Compuestos mayoritarios y (B) minoritarios.....	110
Figura 33.	Diagrama ternario del contenido relativo del ácido palmítico, oleico, linolenico y linoleico de diferentes zonas de cultivo: (A) ácido oleico, linoleico y linolénico, (B) ácido oleico, linolénico y palmítico. Muestras de las regiones L=Loreto (IP-006* y IP-011), A=Amazonas (IP-007), SM=San Martín (IP-014* y IP-019), J=Junín (IP-001) y MD=Madre de Dios (IP-016 y IP-020*).....	116

Figura 34.	Matriz de de correlación de Pearson entre los niveles de ácidos grasos mayoritarios de las muestras de aceite de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo. Elipses de confianza para $\alpha=0,05$ y coeficiente 0,5. <sup>a, b, c</sup> corresponde a las significancias a $p<0,001$ , 0,01 y 0,05 respectivamente.....	117
Figura 35.	Análisis de PCA (PC1-PC2), de once ácidos grasos y seis parámetros. Factores de cargas (A) y diagrama de dispersión (B). Los números representan: 1=C14:0; 2=C16:0; 3=C16:1; 4=C17:0; 5=C17:1; 6=C18:0; 7=C18:1; 8=C18:2; 9=C20:0; 10=C18:3; 11=C22:0; 12=O/L; 13=L/L; 14=SFAs; 15=MUFAs; 16=PUFAs; 17=MUFAs/PUFAs.....	119
Figura 36.	Perfil GC-FID de los esteroides de una muestra de aceite de Sacha inchi. 1=colesterol; IS=5 $\alpha$ -cholestan-3 $\beta$ -ol; 2=brasicasterol; 3=24-metilen-colesterol; 4=campesterol; 5=campestanol; 6=estigmasterol; 7= $\Delta$ 7-campesterol; 8=clerosterol; 9= $\beta$ -sitosterol; 10=sitostanol; 11= $\Delta$ 5-avenasterol; 12= $\Delta$ 5,24-estigmastadienol; 13= $\Delta$ 7-estigmasterol; 14= $\Delta$ 7-avenasterol.....	121
Figura 37.	Espectro de masas de brasicasterol, campesterol y estigmasterol.....	122
Figura 38.	Espectro de masas de $\beta$ -sitosterol, $\Delta$ 5-avenasterol y $\Delta$ 7-avenasterol.....	123
Figura 39.	Perfil GC-FID de muestras de aceites comerciales de Sacha inchi (IP-002 y IP-015) y aceites de semilla (IP-100 y IP-105). IP-002 y IP-015, provienen de una siembra en placa de 300 $\mu$ L y IP-100 y IP-105, provienen de una siembra en placa de 400 $\mu$ L. Pico 2=brasicasterol.....	125
Figura 40.	Factores de carga obtenida del PCA de la composición de esteroides, en el grafico (A) PC1-PC2 y (B) PC1-PC3. 1=colesterol; 2=brasicasterol; 3=24-metilen-colesterol; 4=campesterol; 5=campestanol; 6=estigmasterol; 7= $\Delta$ 7-campesterol; 8=clerosterol; 9= $\beta$ -sitosterol; 10=sitostanol; 11= $\Delta$ 5-avenasterol; 12= $\Delta$ 5,24-estigmastadienol; 13= $\Delta$ 7-estigmasterol; 14= $\Delta$ 7-avenasterol; 15=Total esteroides; 16=sitosterol aparente; 17=CSR.....	129
Figura 41.	Separación de las muestras de aceites de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la Amazonia Peruana, junto con las tres componentes principales. A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali.....	131
Figura 42.	Figura 42. Cromatograma de cuatro muestras de aceite de Sacha inchi provenientes de las regiones de Ucayali, Amazonas y San Martín. Identificación de picos: 1=fitol; IS=1-eicosanol (C <sub>20</sub> -OH); 2=docosanol; 3=tetracosanol; 4=hexacosanol; 5=alcohol triterpénico ( $m/z=534$ ); 6=alcohol triterpénico ( $m/z=484$ ); 7=isómero de lanosterol 1 ( $m/z=498$ ); 8=isómero de lanosterol 2 ( $m/z=498$ ); 9=cicloartenol; 10=24-metilenocicloartanol; 11=No identificado.....	133
Figura 43.	Espectro de masas de alcoholes en aceite de Sacha inchi. Pico 5 y 6: alcohol triterpénico.....	135
Figura 44.	Espectro de masas de alcoholes en aceite de Sacha inchi. Pico 7 y 8: isómeros de lanosterol. Pico 11: compuesto no identificado.....	136



Figura 45.	Factores de carga obtenidos del PCA de la composición de alcoholes, en el grafico PC1-PC2 y PC2-PC3 (Para la identificación de los componentes del 1 al 11, ver la Tabla 30). (B) Separación de las muestras de aceite de Sacha inchi obtenido de semillas producidas en diferentes regiones, a lo largo de las componentes principales PC1-PC2 (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali). Elipse de confianza para $\alpha=0,05$ y coeficiente 0,80.....	140
Figura 46.	Diagrama de dispersión (SLDA) de las puntuaciones canónicas de las tres primeras funciones para las muestras de aceite de Sacha inchi de acuerdo a las regiones de cultivo (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali).....	142
Figura 47.	Cromatograma de iones totales (TIC), de los compuestos fenólicos detectados. El nombre de los componentes y los valores m/z están listados en la Tabla 34.....	144
Figura 48.	Proyección de las variables sobre las componentes (PC1-PC2) y (PC2-PC3). 1=hidroxitirosol; 2=tirosol; 3=bergenina; 4=3,4-DHPEA-DEDA; 5=pinoresinol; 6= isoramnetina glucósido; 7=ácido oleuropeico; 8=luteolina; 9=oleuropeína aglicona; 10=apigenina y 11=ligustrósido aglicona.....	149
Figura 49.	Figura 49. Separación de las muestras de aceite de Sacha inchi obtenido de semillas producidas en diferentes regiones, a lo largo de las componentes principales PC1-PC2 (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali). La posición de cada zona depende de las variables que se muestran en la Figura 48.....	150
Figura 50.	Diagrama de dispersión (SLDA) de las puntuaciones canónicas de dos funciones discriminantes, obtenida para las muestras de aceite de Sacha inchi de acuerdo a las regiones de cultivo (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali).....	151
Figura 51.	Cromatograma HS-SPME-GC/FID, de los compuestos volátiles identificados en muestras de aceite de Sacha inchi obtenidas de la regiones de Loreto, Amazonas y San Martín. La descripción de cada pico se muestra en la Tabla 37.....	155
Figura 52.	Cromatograma HS-SPME-GC/FID, de los compuestos volátiles identificados en muestras de aceite de Sacha inchi obtenidas de la regiones de Huánuco, Ucayali y Junín. La descripción de cada pico se muestra en la Tabla 37.....	156
Figura 53.	Cromatograma HS-SPME-GC/FID, de los compuestos volátiles identificados en muestras de aceite de Sacha inchi obtenida de la región de Madre de Dios y una muestra de aceite de semilla. La descripción de cada pico se muestra en la Tabla 37.....	157
Figura 54.	Cromatograma HS-SPME-GC/FID, y espectro de masas HS-SPME-GC/MS del pico identificado como polietilen glicol (pico 50) en una muestra de aceite de Sacha inchi comercial (línea verde) y de una muestra de aceite de semilla recién extraído (Sa) ausente de este compuesto (línea roja).....	161

Figura 55.	Cromatograma HS-SPME-GC/MS y espectro de masas del pico identificado como butil hidroxitolueno (2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol) (pico 59) de dos muestras de aceite de Sacha inchi (IP-001 y IP-025) y de una muestra de aceite de semilla (IP-106).....	162
Figura 56.	Figura 56. Análisis de componentes principales aplicado para todas las muestras: (A) Proyección de las variables sobre el plano PC1-PC2 y PC1-PC3 (el código de cada variable se muestra en la Tabla 41. (B) La distribución de las muestras sobre el plano PC1-PC2 y (C) expansión de la distribución. Las letras correspondientes a la muestras son: A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín; U=Ucayali y Sa=aceites de semilla.....	180
Figura 57.	Análisis de componentes principales aplicado a las clases totales de compuestos. Los códigos corresponden a las siguientes variables: TVs=total volátiles; TKs=total cetonas; TFs=total furanonas; C <sub>6</sub> Ads=C <sub>6</sub> aldehídos; TTs=total terpenoides; TAls=total alcoholes; C <sub>6</sub> Als=C <sub>6</sub> alcoholes; TAds=total aldehídos; C <sub>5</sub> Vs=C <sub>5</sub> volátiles; TCs=total ácidos carboxílicos.....	181
Figura 58.	Dispersión de las muestras sobre las variables canónicas de los aceites de Sacha inchi después de realizar SLDA. Las letras correspondientes a la muestras son: A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín; U=Ucayali y Sa=aceites de semilla.....	186
Figura 59.	Diagrama de araña de los descriptores sensoriales del aceite de Sacha inchi. Las escalas de cada intensidad van desde los valores más bajos en el punto central hasta los valores más altos en extremo exterior del radio. La intensidad de un descriptor está representada por un punto en el radio en la que la línea de enlace corresponde a un atributo sensorial.....	188

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Principales aceites vegetales: Distribución y producción mundial.....	3
Tabla 2.	Cultivos nativos que se constituyen patrimonio natural del Perú.....	5
Tabla 3.	Preparación de diversos platos y bebidas típicos de los pobladores urbanos marginales en base a Sacha inchi.....	14
Tabla 4.	Algunas formas de consumo de Sacha inchi.....	20
Tabla 5.	Información química y fisicoquímica establecidos para el aceite de Sacha inchi por la Norma Técnica Peruana.....	28
Tabla 6.	Composición de ácidos grasos de aceite de Sacha inchi y otros aceites vegetales comestibles.....	31
Tabla 7.	Concentración de $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ y $\delta$ -tocoferol del aceite de Sacha inchi y otras fuentes vegetales de aceites comestibles.....	31
Tabla 8.	Descripción general de algunos métodos empleados para determinar la autenticidad del aceite de Sacha inchi.....	34
Tabla 9.	Polifenoles identificados en aceite de Sacha inchi por HPLC-DAD.....	41
Tabla 10.	Productos de la ruta de la lipoxigenasa.....	44
Tabla 11.	Algunos aldehídos volátiles obtenidos a partir de la autoxidación de los ácidos grasos insaturados.....	46
Tabla 12.	Características sensoriales de algunos aldehídos.....	48
Tabla 13.	Resumen de pruebas sensoriales orientadas al producto y orientadas al consumidor.....	51
Tabla 14.	Caracterización y autenticación de aceites vegetales.....	58
Tabla 15.	Descripción de las muestras de aceite de Sacha inchi.....	63
Tabla 16.	Parámetros de calidad de las muestras aceite de Sacha inchi.....	89
Tabla 17.	Parámetros de color CIELAB del aceite de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la Amazonia Peruana.....	95
Tabla 18.	Parámetros de color CIELAB de aceites de semilla (Sa).....	96
Tabla 19.	Propiedades fisicoquímicas de algunos carotenoides importantes.....	101
Tabla 20.	Contenido de tocoferoles de aceite de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la Amazonia Peruana.....	104
Tabla 21.	Contenido de tocoferoles de muestras de aceite de semilla (Sa).....	105
Tabla 22.	Composición de ácidos grasos mayoritarios del aceite de Sacha inchi proveniente de diferentes regiones de cultivo (% , promedio $\pm$ SD).....	111
Tabla 23.	Composición de ácidos grasos minoritarios del aceite de Sacha inchi proveniente de diferentes regiones de cultivo (% , promedio $\pm$ SD).....	112
Tabla 24.	Composición de ácidos grasos mayoritarios del aceite de Sacha inchi según regiones de cultivo (% , promedio $\pm$ SD).....	113
Tabla 25.	Resumen de los parámetros significativos de todas las muestras de aceite de Sacha inchi proveniente de diferentes regiones de cultivo.....	114
Tabla 26.	Composición de ácidos grasos mayoritarios de muestras sospechosas, obtenida del perfil de ácidos grasos por GC-FID.....	115

Tabla 27.	Tiempo de retención relativo y fragmentación de iones principales de los esteroides del aceite de Sacha inchi.....	121
Tabla 28.	Valor medio de esteroides (% , seguido por valores mínimos y máximos) en las muestras de aceite de Sacha inchi comerciales, obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones.....	127
Tabla 29.	Matriz de factores de carga de los esteroides de las muestras de aceite de Sacha inchi de semillas producidas en diferentes regiones (Factores de carga <0,45 están puestas en cero para una mayor claridad).....	130
Tabla 30.	Pico, valor de <i>m/z</i> , y posibles compuestos identificados de los alcoholes del aceite de Sacha inchi.....	134
Tabla 31.	Valor medio de alcoholes (mg/100g, seguido por valores mínimos y máximos) en las muestras de aceite de Sacha inchi comerciales, obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones.....	138
Tabla 32.	Resumen del análisis discriminante lineal por pasos (SLDA).....	141
Tabla 33.	Matriz de clasificación del modelo original SLDA y la validación cruzada para el aceite de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo.....	143
Tabla 34.	Compuestos fenólicos detectados mediante HPLC/ESI-TOFMS en un extracto de aceite de Sacha inchi.....	146
Tabla 35.	Valor medio de los compuestos fenólicos (mg/kg, seguido por la desviación estándar) en las muestras de aceite de Sacha inchi comerciales, obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones.....	147
Tabla 36.	Parámetros de clasificación, matriz de clasificación del modelo original SLDA y la validación cruzada para el aceite de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo.....	152
Tabla 37.	Información general de los compuestos volátiles identificados mediante HS-SPME-GC/MS en el aceite de Sacha inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> Linneo).....	158
Tabla 38.	Valor medio de los compuestos volátiles (µg/kg) en las muestras de aceite de Sacha inchi comerciales, obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones y en aceites de semilla (Sa).....	163
Tabla 39.	Antioxidantes en alimentos, nombre, origen, funcionalidad, ADI.....	173
Tabla 40.	Adecuación del análisis factorial: Correlación de Pearson entre las variables.....	174
Tabla 41.	Variables adecuadas (Comunalidades).....	178
Tabla 42.	Parámetros de clasificación y porcentaje de clasificación correcta de las muestras correspondientes al modelo SLDA, desarrollado en la matriz de puntuación PCA.....	183
Tabla 43.	Identificación de los catorce compuestos volátiles correspondientes a las variables seleccionadas por el modelo SLDA y coeficientes estandarizados..	184
Tabla 44.	Atributos usados por el panel para describir el aceite de Sacha inchi.....	187

## **ABREVIATURAS**

IP	Aceite de Sacha inchi
Sa	Aceite de Sacha inchi recién extraído
FFA	Acidez libre
PV	Índice de peróxidos
OSI	Índice de estabilidad oxidativa
CIELAB	Espacio de color uniforme
FAMEs	Esteres metílicos de ácidos grasos
TMS	Trimetil silil éteres
HS-SPME	Espacio de cabeza-microextracción en fase sólida
HCA	Análisis de clúster jerárquico
PCA	Análisis de componentes principales
SLDA	Análisis discriminante lineal por pasos
CSR	Relación campesterol/estigmasterol
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
DAD	Detector de matriz de diodos
GC	Cromatografía de gases
FID	Detector de ionización de llama
ITMS	Espectrómetro de masas con trampa de iones
TOFMS	Espectrómetro de masas por tiempo de vuelo



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN



## 1.1 Aceites de semillas

El consumo de aceite de oliva supera en el mundo los tres millones de toneladas al año. Sin embargo, la tradición de países superpoblados como Malasia, Indonesia, China, India o Estados Unidos hace que se consuman otros más asequibles en sus mercados y de esta manera, los aceites de semillas lideran la producción y el consumo mundial, colocando en primer lugar al aceite de palma, seguido de cerca por el de soja, mientras que en el tercer y cuarto lugar se ubican colza y girasol (Murcia, 2010; USDA, 2013). La producción mundial de semillas oleaginosas esta liderada por Estados Unidos de América (USA), Brasil y Argentina que representan el 50% de la producción, mientras que el resto se produce en China, India y otros países (USDA, 2013). En la Tabla 1 se muestra la producción mundial de aceites vegetales.

### 1.1.1 Palma (*Elaeis guineensis* Jacq.)

El cultivo de Palma registra la mayor productividad por unidad de superficie, un menor coste de producción y una amplísima diversidad de usos, lo que le convierte en la fuente principal de aceites vegetales en el mundo (Murcia, 2010). De la pulpa de sus frutos se extrae aceite de palma, el que ostenta el liderazgo mundial con más de 53,33 millones de toneladas, destinado a alimentación y usos industriales, siendo Indonesia y Malasia los principales productores de aceite de palma, con una representación del 87,19% de la producción mundial (USDA, 2013).

### 1.1.2 Soja (*Glycine max*)

El sector de la soja en el mundo ha sufrido una gran transformación en los últimos 20 años como consecuencia, sobre todo, del auge y extensión del cultivo por casi toda la geografía estadounidense, esto ha contribuido al incremento de la productividad logrado con la modificación genética. Asimismo, otros países como Argentina o Brasil han impulsado su cultivo que ha contado, además, con el incremento de la demanda por parte de China (Murcia, 2010). La soja representa el 27,57% de la producción mundial de aceite de semillas. La mayor producción de aceite de soja se encuentra en China (24,86%), USA (18,78%), Argentina (17,13%) y Brasil (16,44%) (USDA, 2013).



### 1.1.3 Colza (*Brassica napus* L.)

El aceite de colza es uno de los aceites vegetales más utilizados por su magnífica adaptación en la cocina, especialmente para fritura, y sus propiedades nutricionales lo han hecho muy popular en diversos países del mundo (Murcia, 2010). El aceite de colza representa el 15,04% de la producción mundial de aceite de semillas, siendo los principales productores la Unión Europea (38,57%), China (22,14%), Canadá (12,43%) e India (9,66%) (USDA, 2013).

### 1.1.4 Girasol (*Helianthus annuus* L.)

El aceite de girasol es una de las grasas más populares en el mundo occidental. El aceite de girasol “alto oleico” es similar en su composición al aceite de oliva. Su menor coste frente a éste le ha situado como un perfecto sustituto en muchas mesas europeas y con gran proyección en algunos otros países del mundo (Murcia, 2010). Este aceite constituye el 8,50% de la producción mundial. En Ucrania se produce el 28,21%, mientras que la Unión Europea produce el 19,90%, Rusia el 19,30% y Argentina el 10,78%.

Tabla 1. Principales aceites vegetales: Distribución y producción mundial.

Aceite vegetal	Producción (Millones de toneladas métricas)		
	2011/12	2012/13	2013 nov./14
Aceite de coco	3,49	3,34	3,72
Aceite de algodón	5,25	5,27	5,19
Aceite de oliva	3,24	2,67	3,28
Aceite de palma (fruta)	51,87	55,68	58,31
Aceite de palma (semilla)	6,10	6,48	6,82
Aceite de cacahuete	5,31	5,55	5,59
Aceite de colza	24,22	24,83	25,27
Aceite de soja	42,56	42,83	44,63
Aceite de girasol	1534	13,81	15,60
Total	157,37	160,85	168,41

Fuente: USDA (2013).

## 1.2 Biodiversidad de recursos fitogenéticos de Perú

El Perú es uno de los 17 países megadiversos del mundo conocidos por su biodiversidad, flora y fauna y los ecosistemas continentales y marinos.

Se reconocen 11 eco-regiones, que comprenden el mar frío, el mar tropical, el desierto costero, el bosque seco ecuatorial, el bosque tropical del Pacífico, la serranía esteparia, la puna, el páramo, los bosques de lluvias de altura (selva alta), el bosque tropical amazónico (selva baja) y la sabana de palmeras. De las 117 zonas de vida reconocidas en el mundo 84 se encuentran en el Perú, de los 32 tipos de clima de la Tierra, en el Perú se encuentran 28. En el territorio nacional se encuentran ecosistemas reconocidos a nivel mundial por su altísima diversidad de especies como el mar frío de la Corriente Peruana; los bosques secos en la Costa Norte; la puna; la Selva Alta, y los bosques tropicales amazónicos, donde la diversidad de especies llega a su máxima expresión (INEI, 2012).

La agricultura en el Perú tiene una antigüedad de más de 10.000 años, por lo que su tradición semillera es tan rica como antigua. Las especiales condiciones de heterogeneidad geográfica y climática que abarca desde las llanuras desérticas (costa), los Andes centrales (sierra) y la zona baja de la Amazonia (selva); con una superficie total de 128,5 millones de hectáreas del territorio Peruano que se disgregan en un 12% correspondiente a la costa, un 28% a la sierra y un 60% a la selva han favorecido la gran diversidad de cultivos y la gran variabilidad presente dentro de éstos, además del asentamiento de una gran diversidad de culturas. Así, desde el 8.000 a.C. se tienen indicios de la existencia en el Perú de cultivos como la papa (*Solanum* sp.) el olluco (*Ullucus tuberosus*), la yuca (*Manihot esculenta*), el camote (*Ipomoea batatas*), la jícama (*Pachyrrhizus* sp.), el pallar (*Phaseolus lunatus*), el frejol (*Phaseolus vulgaris*), la oca (*Oxalis tuberosus*) y el ají (*Capsicum chinense*) (Tabla 2). La presencia del zapallo (*Cucurbita* sp.) se remonta al 7.000 a.C. y el algodón (*Gossypium barbadense*) al 4.200 a.C. Dichos cultivos han sido testigos del nacimiento de imperios y culturas como los Wari, Chavin, Tiwanaku e Inca, entre otros, y de una herencia cultural milenaria. Otros cultivos como el maíz (*Zea mays*), de origen mesoamericano, tienen una historia en el Perú desde el 4.000 a.C., cuando fue adaptado a los diversos pisos ecológicos, llegando a existir, en la actualidad, más de 55 razas nativas (Lapeña, 2010).

Tabla 2. Cultivos nativos que se constituyen patrimonio natural del Perú.

Nombre común	Nombre científico	Nombre común	Nombre científico	Nombre común	Nombre científico
Achiote	<i>Bixa Orellana</i>	Llacón	<i>Smallanthus sochifolius</i>	Papa huayro	<i>Solanum x chaucha</i>
Achira	<i>Canna indica</i>	Loche	<i>Cucurbita moschata</i>	Papa patiquiña	<i>Solanum stenotomum</i>
Aguaymanto	<i>Physalis peruviana</i>	Maca	<i>Lepidium meyenü</i>	Papa rucki	<i>Solanum curtilobum</i>
Ají amarillo	<i>Capsicum baccatum</i>	Maíz blanco	<i>Zea mays</i>	Papa tropical	<i>Solanum hygrothermicum</i>
Ají pimentón	<i>Capsicum annuum</i>	Maíz Morado	<i>Zea mays</i>	Quinoa	<i>Chenopodium quinoa</i>
Caigua	<i>Cyclanthera pedata</i>	Mashua	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	Rocoto	<i>Capsicum pubescens</i>
Camote	<i>Ipomoea batatas</i>	Mauca	<i>Mirabilis expanda</i>	Sacha inchi	<i>Plukenetia volubilis</i>
Camu-camu	<i>Myrciaria dubia</i>	Oca	<i>Oxalis tuberosa</i>	Sacha mango	<i>Grias peruviana</i>
Cañihua	<i>Chenopodium pallidicaule</i>	Olluco	<i>Ullucus tuberosus</i>	Sacha oca	<i>Maranta arundinacea</i>
Cascarilla	<i>Cinchona officinalis</i> <i>Cinchona pubescens</i> <i>Cinchona spp</i>	Paico	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Sachapapa	<i>Dioscorea trifida</i>
Faique	<i>Acacia huarango</i>	Papa común	<i>Solanum tuberosum</i>	Sáuco peruano	<i>Sambucus peruviana</i>
Frijol ñuña	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Papa amarga	<i>Solanum juzepczukü</i>	Tuna	<i>Opuntia ficus-indica</i>
Gatupa	<i>Passiflora pinnatistipula</i>	Papa amarilla	<i>Solanum goniocalyx</i>	Uña de gato	<i>Uncaria tomentosa</i> <i>Uncaria guianensis</i>
Huacatay	<i>Tagetes minuta</i>	Papa ayanhuiiri	<i>Solanum ajanhuiiri</i>	Yuca	<i>Manihot esculenta</i>
Kiwicha	<i>Amaranthus caudatus</i>	Papa fureja	<i>Solanum phureja</i>	Zinnia	<i>Zinnia peruviana</i>

Se estima que el Perú posee aproximadamente 17.000 especies de plantas, de las cuales una cantidad superior a 5.200 son endémicas (Brako y Zarucchi, 1993; van der Werff y Consiglio, 2004). En el Perú se encuentran dos importantes centros de origen y domesticación de cultivos como son los Andes y la Amazonia. Es, además, centro de variabilidad de otros cultivos que fueron introducidos, pero que han logrado adaptarse a la diversidad de climas y ecosistemas. El resultado es la existencia de aproximadamente 182 especies de plantas domesticadas nativas, que fueron introducidas hace siglos de las que 174 son de origen andino, amazónico y costeño y 7 de origen mesoamericano. El Congreso de la República del Perú a través del *Diario Oficial El Peruano ley* (N° 28477, 2005) declara a los cultivos, crianzas nativas y especies silvestres usufructuadas patrimonio natural del Perú (Tabla 2). Las especies más importantes cultivadas a nivel mundial cuyo origen es el Perú son la papa, el tomate, el camote, la yuca, el algodón, el achiote, el caucho y la papaya (Lapeña, 2010).

### 1.3 Antecedentes del Sacha inchi

El sachá inchi es una planta nativa de la Amazonía Peruana (Vasquez y Gentry, 1989) descrita por primera vez, como especie, en el año 1753 por el Naturalista Linneo; de ahí su nombre científico *Plukenetia volubilis* Linneo (McBride, 1951).

En el Perú se la conoce desde siglos atrás bajo diferentes nombres, entre ellos Sacha inchi, término quechua que significa Maní del monte o silvestre; Amui, término utilizado por las tribus aborígenes de la Amazonía; Sacha inchi, Sacha inche, Maní del monte, Maní del inca e Inca peanut (FAO, 1992; Sathe *et al.*, 2002; Guillén *et al.*, 2003; Silver-Rucoba, 2008).

Se pueden encontrar registros de su origen en Perú donde se muestra que esta planta formaba parte de la dieta alimenticia y de la medicina de las culturas pre-incas nor-orientales, mediante representaciones de su fruto en huacos Chimús y Mochicas (Figura 1). Actualmente se estudia la presencia de esta planta en la milenaria cultura Caral, al norte de Lima-Perú, con más de 3000 años de antigüedad.

El mapa ecológico del Sacha inchi está, constituido por pequeñas parcelas en los territorios de diversos grupos indígenas (mayoruna, campa nomatsiguenga, machiguenga, shaninca campa, amarakaeri, orejon chayahuita, campa del Gran Pajonal,

cashinahua, huitoto murui, shipibo, ocaina, urarina, bora, capanahua, cashibo, amuesha, candoshi, secoya, yagua, huambisa, arabela, achual, arahuaca, sharanahua, aguaruna, quechua de San Martín, piro, ticuna, quechua de Junín, culina, quechua del Napo, quechua del Tigre y quechua del Pastaza) que están bajo responsabilidad de la mujer indígena (IIAP, 2009).



Figura 1. Huacos fitomórficos de la cultura Inca. Fuente: IIAP (2009).

Los yahuas, cocomas, shipibos y chayahuitas consumen hojas tiernas de *Plukenetia volubilis* en forma de ensalada como parte de su dieta, las ancianas mayorunas, mhayahuitas, campas, huitotas shipibas, yahuas y boras mezclan el aceite de Sacha inchi con la harina de esta almendra y preparan una crema para revitalizar y rejuvenecer la piel, los indígenas secoyas, candoshis, amueshas, cashibos, dapanahuas y boras consumen las nueces tostadas de Sacha inchi para recuperar las fuerzas y curar los dolores musculares y reumáticos (Flores, 2010). La etnobotánica médica de diversas etnias de la Amazonia Peruana así como de las comunidades andinas está ampliamente descritas (Odonne *et al.*, 2009; Sanz-Biset *et al.*, 2009; Valadeau *et al.*, 2010; Odonne *et al.*, 2013; Monigatti *et al.*, 2013), las plantas mas usadas corresponden a las familias Amarantaceae, Apiaceae y Euphorbiaceae, entre otros.

## 1.4 Generalidades del Sacha inchi

### 1.4.1 Clasificación taxonómica

Según [McBride \(1951\)](#) la clasificación botánica del sachá inchi es la siguiente:

Reino	: Vegetal
División	: Spermatophyta
Sub división	: Angiospermae
Clase	: Dicotiledónea
Orden	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Género	: <i>Plukenetia</i>
Especie	: <i>volubilis</i>
Nombre científico	: <i>Plukenetia volubilis</i> Linneo

### 1.4.2 El cultivo del Sacha inchi

La familia Euphorbiaceae comprende plantas de importancia ornamental, medicinal, alimentaria e industrial, que se caracterizan principalmente por la presencia de una sustancia lechosa, tipo látex y frutos tricapsulares. Abarcan alrededor de 1280 géneros, con 800 especies aproximadamente, y están distribuidas por todo el mundo. El género *Plukenetia* ha sido descrito en Malasia, Nueva Guinea, Borneo, México, etc. El número de especies reportado en América tropical varía de 7 a 12. En América del Sur la presencia de *Plukenetia volubilis* Linneo, ha sido registrada en la Amazonia Peruana, Bolivia y las Indias Occidentales ([Arévalo, 1999](#)). Sin embargo también se produce en Brasil, Colombia, Ecuador, Venezuela, etc. ([Andía et al., 2010](#)).

En el Perú se encuentra en Madre de Dios, Huánuco, Junín (Chanchamayo y Satipo), Pasco (Oxapampa), Ucayali (Pucallpa, Contamana y Requena), San Martín (cuenca del Huallaga, Alto y Bajo Mayo, la sub-cuenca del Cumbaza y en áreas del sector Lamas-Shanusi), Amazonas (Rodríguez de Mendoza) y Loreto (Yurimaguas, Putumayo, Iquitos y Caballococha) ([CIED, 2008](#)).

#### 1.4.2.1 Morfología

El Sacha inchi es una planta hermafrodita, de crecimiento voluble, abundantes hojas y ramas, semileñosa y perenne; altura de la planta, 2,0 m; hojas alternas, acorazonadas;

flores pequeñas, blanquecinas, en racimo; fructificación capsular de 3 a 5 cm de diámetro, dehiscentes (5 a 7 cápsulas); fruto color verde, marrón negruzco al madurar; semillas marrón oscuro (Silver-Rucoba, 2008; Hanssen y Schmitz-Hübsch, 2011), base del tallo redondeado, diámetro aproximado de 5 a 6 cm, forma de la semilla aplanada, y tamaño de la semilla de 2,1 x 1,36 cm (Rodríguez *et al.*, 2010). Sin embargo existe una alta variabilidad genética, morfológica y fitoquímica que llega a confundir dentro del género *Plukenetia*. Hasta la fecha se han descrito en la Amazonia Peruana cinco especies en base a las características morfológicas: *Plukenetia volubilis* L., *Plukenetia brachybotrya* Müll. Arg., *Plukenetia lorentensis* Ule, y *Plukenetia polyadenia* Müll. Arg. (Missouri Botanical Garden database) y recientemente ha sido descrita, en la región del Amazonas, *Plukenetia huayllabambana* Bussmann, C. Téllez & A. Glenn (Bussmann *et al.*, 2009). Las características morfológicas de las semillas de los diferentes grupos de *Plukenetia* encontrados en la Amazonia Peruana se muestran en la Figura 2, poseen formas que van desde redondeadas hasta ligeramente lenticuladas; y se diferencian en la testa de las semillas, de aspecto liso en cuatro de los seis taxa [*Plukenetia lorentensis*, *Plukenetia brachybotrya*, *Plukenetia volubilis* (procedencia San Martín) y *Plukenetia polyadenia*], y rugosa en *Plukenetia huayllabambana* y *Plukenetia volubilis* (procedencia Cuzco). Asimismo cada uno de los diferentes grupos presenta una variación considerable con respecto al tamaño de las semillas.

A los 3 meses del trasplante aparecen las flores masculinas y luego las femeninas. En un período de 7 a 19 días, las flores masculinas y femeninas completan su diferenciación. El proceso de maduración es de 15 a 20 días. La cosecha se inicia a los siete meses después de la siembra o trasplante (Silver-Rucoba, 2008). La producción es continua, realizándose la cosecha cada 15 días (Figura 3).

#### 1.4.2.2 Clima y suelo

Es una planta, de rápido crecimiento, desde 100 msnm, en la Selva Baja a 2000 msnm en Selva Alta (Arévalo, 1999), requiere agua permanente y abundante luz para la fotosíntesis, en sombra intensa la floración disminuye. El sachá inchi crece y produce muy bien en climas entre cálidos y ligeramente templados, entre 12 °C y 36 °C y con una precipitación de 750 a 2800 milímetros por año (Perúbiodiverso, 2009). El

crecimiento y la fructificación vegetativa continúan durante todo el año. En verano el número de cápsulas se incrementa y disminuye en invierno.

De acuerdo a su distribución, el cultivo del sacha inchi tiene un amplio margen de adaptación a diferentes tipos de suelo. Es una planta agrónomicamente rústica de poca exigencia nutricional, crece en suelos ácidos y con alta concentración de aluminio. Prospera en "shapumbales" (*Pteridium aquilinum*) secos y húmedos y en "Cashucshales" (*Imperata brasiliensis*) (Valles, 1993). Para mayor desarrollo y producción, el sacha inchi necesita terrenos con buen drenaje, a nivel superficial y profundo. Los suelos francos y de buen drenaje le permiten mejor penetración de las raíces (Arévalo, 1999).

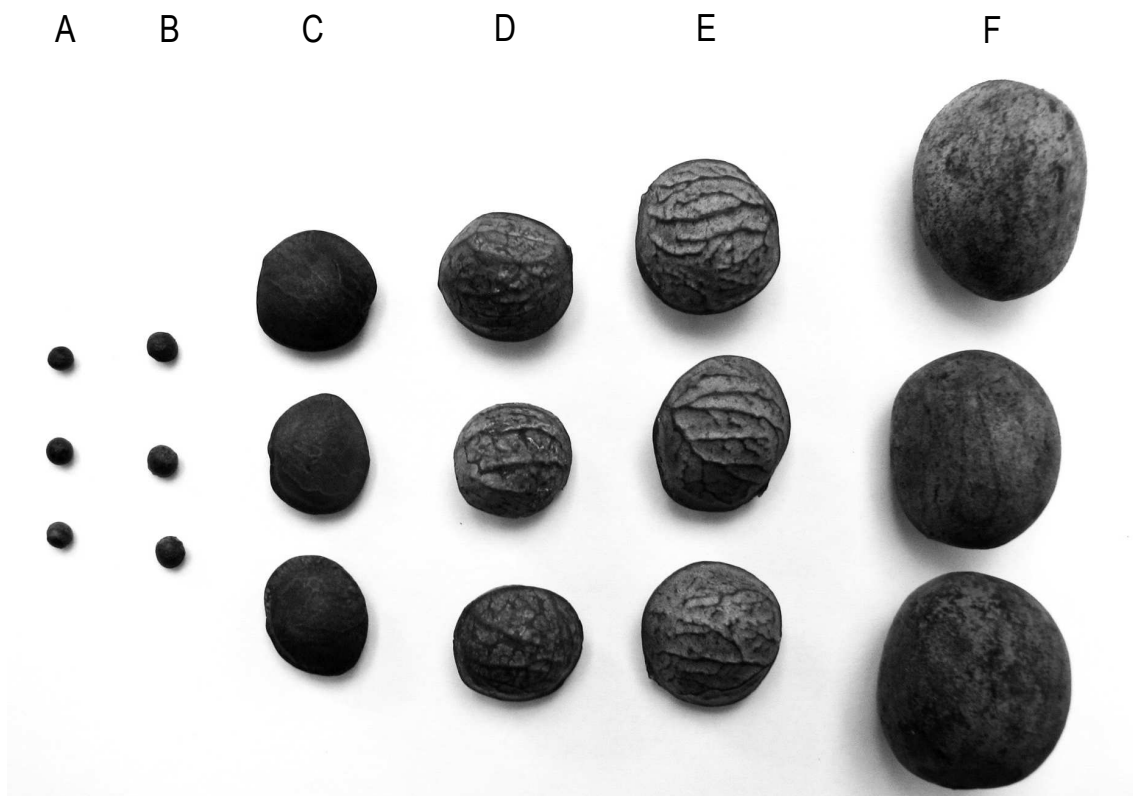


Figura 2. Semillas de seis agrupaciones del género *Plukenetia* de la Amazonía peruana: A=*Plukenetia brachybotrya*; B=*Plukenetia lorentensis*; C=*Plukenetia volubilis* (procedencia San Martín); D=*Plukenetia volubilis* (procedencia Cuzco); E=*Plukenetia huallaybambana*; F=*Plukenetia polyadenia*. Fuente: Rodríguez et al. (2010).



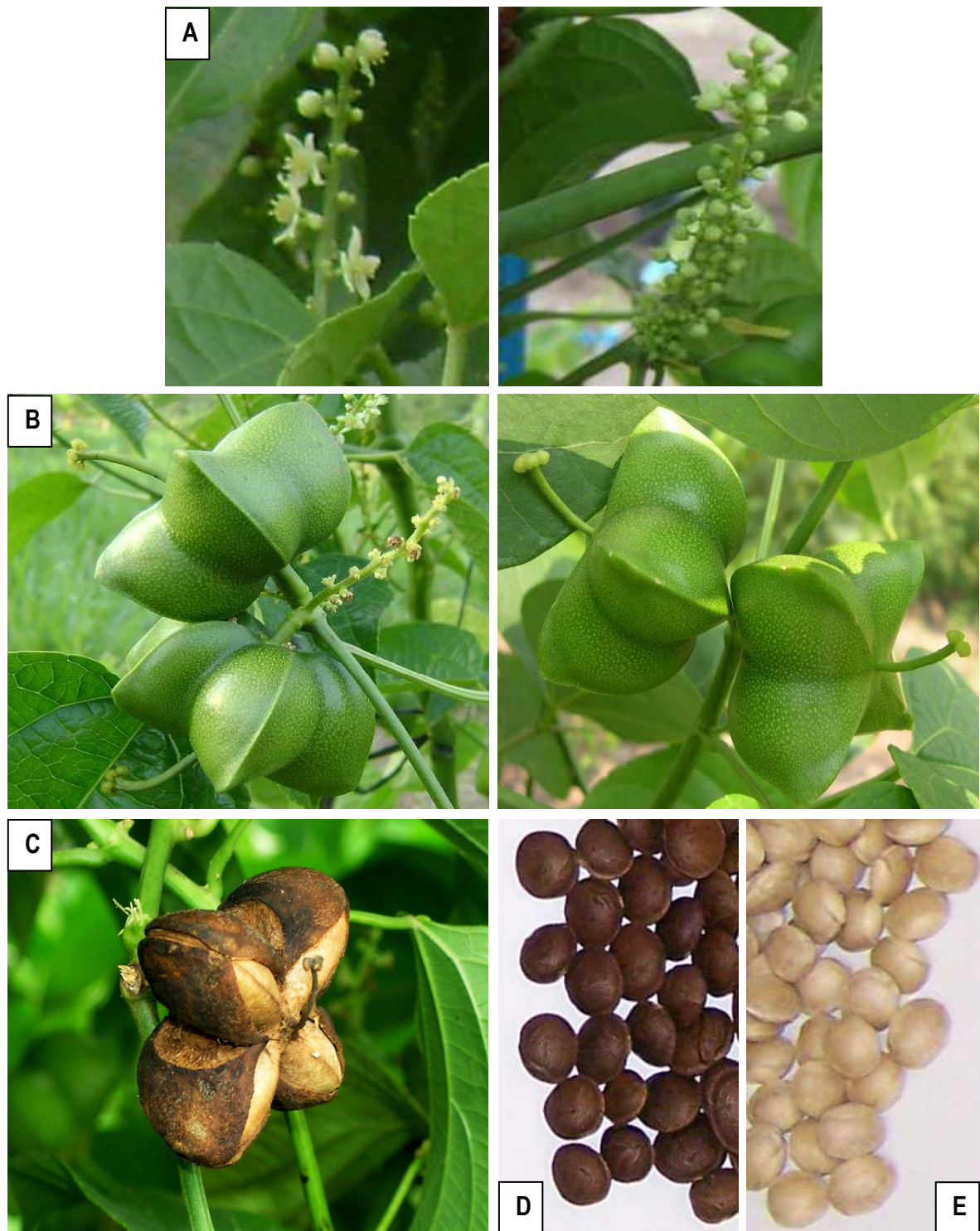


Figura 3. Planta de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.): (A) en floración, (B) fruta verde y (C) madura, (D) semillas y (E) almendras.

### 1.4.3 Ecotipos

El germoplasma básico de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) con que cuenta la Estación Experimental Agraria “El Porvenir” del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) en Tarapoto, está constituido por 72 accesiones recolectadas en diferentes zonas agroecológicas de San Martín y la Región Amazonas, incluyendo localidades del Trapecio Amazónico y tramos en la frontera con Brasil y Colombia. El Sacha inchi presenta una variabilidad muy amplia, observándose cultivos que difieren grandemente en área de follaje, tamaño, forma de sus hojas y semillas, así como también en su capacidad de producción por planta y contenidos de aceite (PDRS, 2010).

### 1.5 Producción, usos y procesos productivos de la semilla de Sacha inchi

Como ya se ha indicado, el cultivo de Sacha inchi en el Perú se encuentra principalmente en los departamentos de Loreto, Ucayali, Madre de Dios, Cuzco, Junín, Pasco, Huánuco, San Martín y Amazonas (Figura 4A), siendo el departamento de San Martín que está distribuido en varias provincias (Figura 4B) el de mayor producción.

El rendimiento promedio de semilla es de 1 TM/Ha, de acuerdo con el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), pero los rendimientos promedios reales, en plantaciones en el tercer año de producción, fluctúan entre 1,5 y 3 TM/Ha. Esta variación se da por diversas razones, principalmente: el mantenimiento y manejo del cultivo, la población de plantas por hectárea, la disponibilidad de agua y el control de los problemas fitosanitarios. Cuando la cosecha de Sacha inchi se realiza en forma tradicional se tiene un rendimiento promedio en monocultivo de 2 a 2,2 TM/Ha, y en la modalidad de cultivo asociado de 0,7 a 1,2 TM/Ha (IIAP, 2009).

Los pueblos indígenas de la Amazonia Peruana, empíricamente extraen aceite y torta de la semilla de Sacha inchi para uso alimentario (humano y animal) y para combustible (Figura 5).

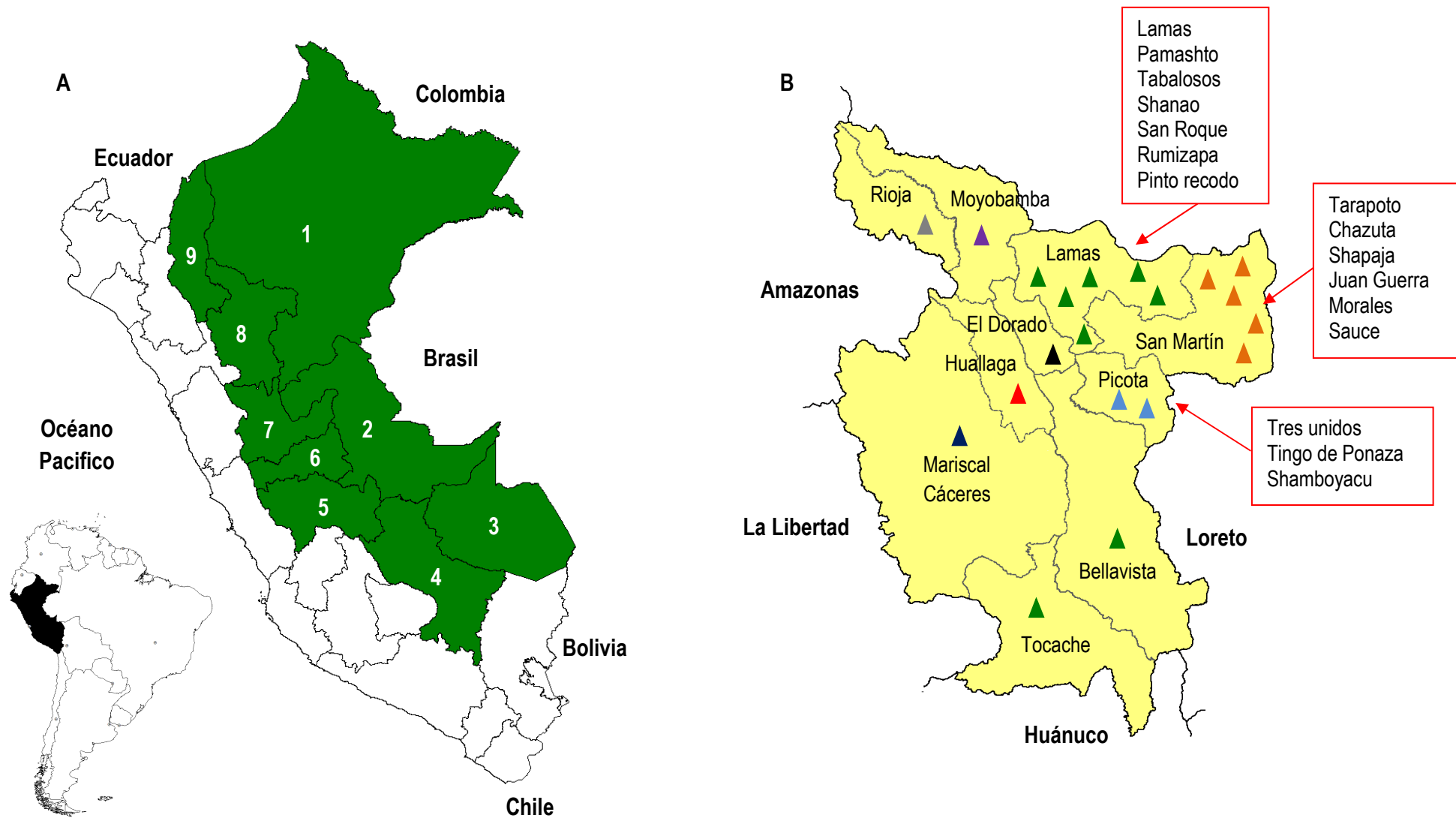


Figura 4. Principales zonas productivas del cultivo de Sacha inchi en el Perú: (A) 1=Loreto, 2=Ucayali, 3=Madre de Dios, 4=Cuzco, 5=Junín, 6= Pasco, 7=Huánuco, 8=San Martín y 9=Amazonas; (B) principales zonas de cultivo en el departamento de San Martín.

Algunos pobladores del departamento de San Martín, utilizan el extracto de la raíz como insecticida y la infusión a base de esta raíz lo usan también como desparasitador. Los pobladores mestizos de la Amazonia Peruana, principalmente rurales, emplean esta planta en su alimentación, elaborando una serie de platos típicos de la región como: inchicapi, lechona api, pururuca, cutacho, inchicucho, mazamorras, mantequilla, tamal, chicha, saladitos, turrón (Tabla 3), entre otros (Anaya, 2003).

Tabla 3. Preparación de diversos platos y bebidas típicos de los pobladores urbanos marginales en base a Sacha inchi.

Nombre	Ingredientes	Modo de preparación
<i>Inchicapi</i> <sup>1</sup>	Carne de gallina, almendras de Sacha inchi, harina de maíz, ajos, cebolla, sachaculantro (hoja aromática*), yuca, sal. <i>*Eryngium foetidum</i> L (Banout <i>et al.</i> , 2010).	Cocinar la gallina en una olla con agua. Licuar el Sacha inchi, la harina de maíz, ajo, cebolla y sachaculantro con un poco de caldo. Verter la mezcla anterior en la cocción de la gallina. Cuando la sopa esté casi lista, agregue la yuca en trozos pequeños y sazone con sal.
<i>Lechona api</i> <sup>4</sup>	Plátano verde rayado, almendras de Sacha inchi molidas, leche, canela.	El plátano verde rayado y las almendras de sachá inchi molidas, se ponen a hervir removiendo constantemente, poner la canela, y cocinar por espacio de 20 minutos, al retirar del fuego, agregar la leche.
<i>Pururuca</i> <sup>5</sup>	Almendras de Sacha inchi molidas, plátano maduro	Se mezcla las almendras de Sacha inchi molidas y el plátano maduro en agua y se hierve durante un tiempo.
<i>Cutacho</i> <sup>2</sup>	Almendras de Sacha inchi tostadas, plátano verde, cebolla picada, ajo molido, culantro*, sal. <i>*Coriandrum sativum</i> L (Iannacone <i>et al.</i> , 2005).	Se sancocha el plátano verde, luego es molido, se agrega las almendras de Sacha inchi tostadas, la cebolla, el ajo y el culantro. Se sigue moliendo hasta obtener una mezcla uniforme. Luego se hacen bolas con las manos y se sirve.
<i>Inchicucho</i> <sup>3</sup>	Almendras de Sacha inchi, harina de maíz, guisador molido*, ajos, cebolla, ajíes charapita**, culantro, comino, aceite, sal. <i>*Curcuma longa</i> L (Richmond y Pombo-Villar, 1997). <i>**Capsicum baccatum</i> (Singh <i>et al.</i> , 2009).	Licuar las almendras de Sacha inchi y harina de maíz con poca agua. En un sartén calentar aceite y poner el guisador molido cuando este oloroso, colocar culantro, ajos, ajíes (licuados), dejar freír unos segundos, luego añadir la mezcla de de Sacha inchi y harina de maíz dejarlo que se cocine batiéndolo constantemente, hasta que este consistente. Servir con papas en rodaja.

<i>Upe</i> <sup>5</sup>	Almendras de Sacha inchi molidas, harina de maíz tostado, azúcar.	Poner a hervir las almendras de sachá inchi junto con el maíz tostado durante 30 minutos, luego adicionar azúcar.
<i>Tamal</i> <sup>2</sup>	Choclos, carne de pollo, Almendras de Sacha inchi, aceituna negra, cebolla, huevos cocidos, ají mirasol, aceite, pimienta, sal y salsa criolla.	Rayar los choclos, los ajíes mirasol lavar y hervir, luego licuar con aceite hasta formar una pasta. En un sartén freír la cebolla, ajos, sal, pimienta, pasta de ají y la carne de pollo. Cocer el choclo rayado y luego incorporar la mezcla anterior. Seguir cociendo hasta la que la masa haya espesado. Colocar la masa en hojas de plátano, poner aceituna, almendras de Sacha inchi, pollo y huevo. Envolverlas bien y seguir cociendo por espacio de 1 hora y luego servir con la salsa criolla.
<i>Chicha</i> <sup>5</sup>	Almendras de Sacha inchi molidas, harina de maíz tostado, levadura, azúcar.	Poner a hervir las almendras de sachá inchi junto con el maíz tostado durante 30 minutos, luego adicionar azúcar enfriar y colocar la levadura. Dejar fermentar durante una semana.
<i>Saladitos</i> <sup>6</sup>	Almendras de Sacha inchi y sal	Tostar las almendras de sachá inchi y espolvorearlas con sal.
<i>Turrón</i> <sup>4</sup>	Almendras de Sacha inchi y chancaca*. Es el jugo de caña ( <i>Saccharum officinarum</i> )* llevado a altas temperaturas, que posteriormente es colocado en moldes y luego enfriado, este azúcar es solido y conocido como "chancaca".	Tostar las almendras de sachá inchi junto con la chancaca.

---

<sup>1</sup>Sopa, <sup>2</sup>Primero, <sup>3</sup>Segundo, <sup>4</sup>Postre, <sup>5</sup>Bebida y <sup>6</sup>Snack

El potencial agroindustrial del cultivo de Sacha inchi se basa en la relativa aceptación del mercado internacional del aceite virgen y en menor proporción, de la harina proteica, que se sustenta en las propiedades nutricionales que ostenta esta semilla oleaginosa. A finales del siglo pasado y principios de este siglo, se caracteriza el valor alimenticio y nutracéutico de esta oleaginosa por sus principios activos para la salud y por la composición de su aceite rico en ácidos grasos esenciales (IIAP, 2009). En la [Figura 6](#) se presenta el potencial agroindustrial de las semillas de Sacha inchi.

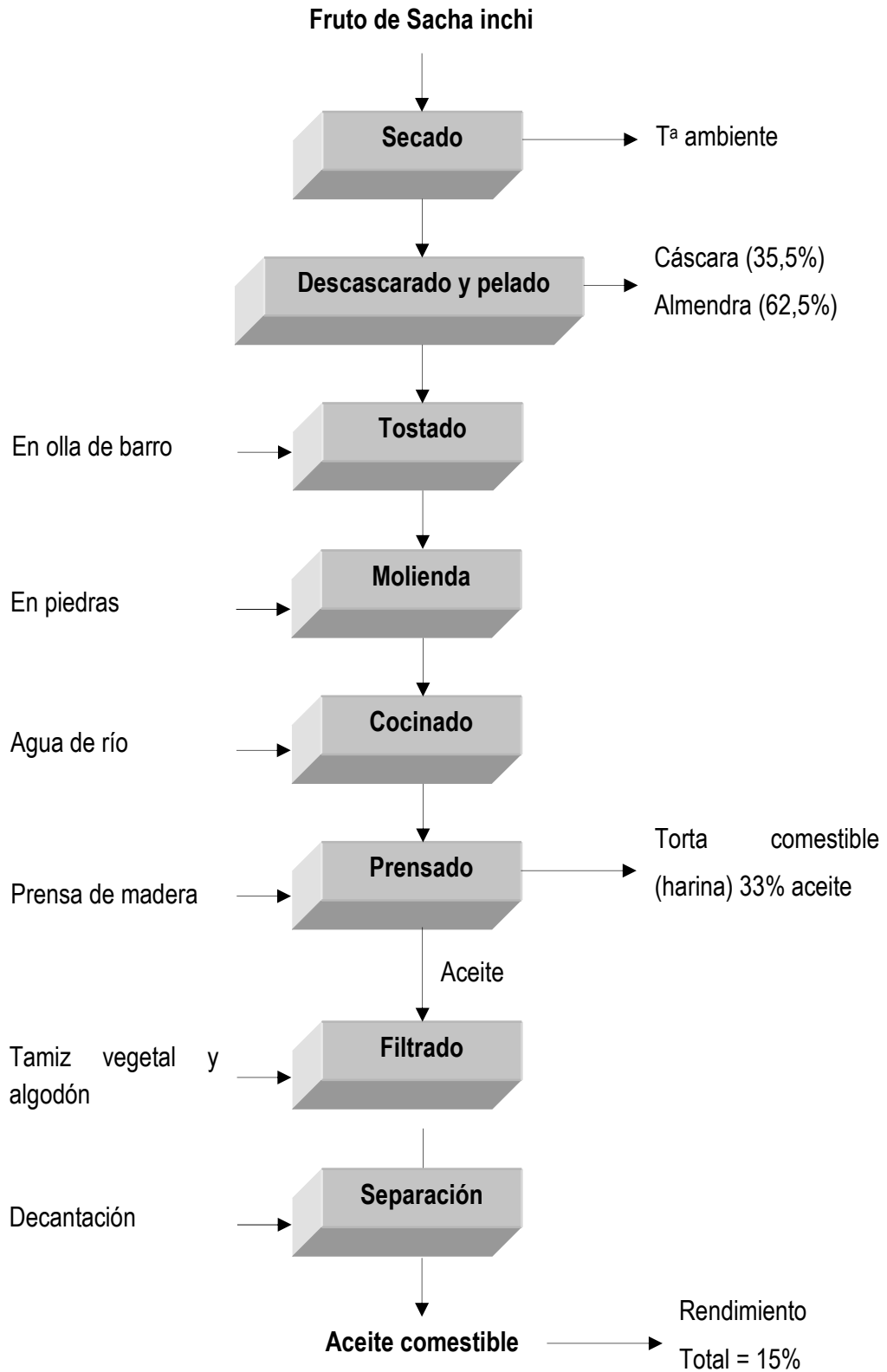


Figura 5. Diagrama del proceso utilizado por los indígenas amazónicos para la obtención de aceite y torta de Sacha inchi, con técnicas empíricas.

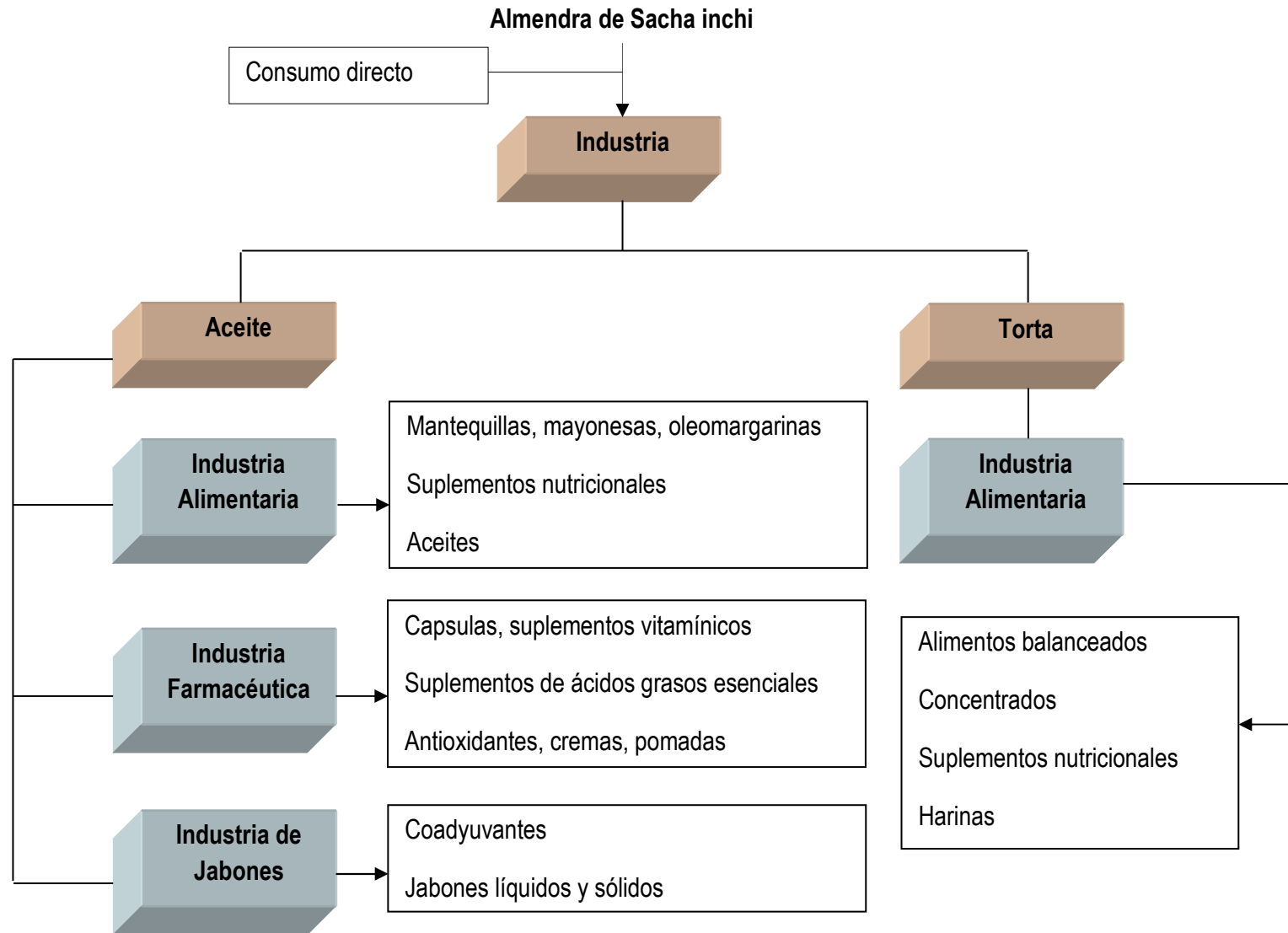


Figura 6. Potencial agroindustrial del Sacha inchi.

## 1.6 Tendencia y comercialización

En la actualidad, el mercado mundial demanda nuevos alimentos, sabores y presentaciones. Las últimas tendencias se concentran en la búsqueda de alimentos saludables y nutritivos. Esto ha dado origen a nuevas oportunidades de negocio que tienen como objetivo posicionarse en mercados verdes a través de alimentos orgánicos y productos nutraceuticos (PROMPERU, 2010).

El Sacha inchi es un cultivo con un gran potencial, por lo que se buscan nuevas estrategias de comercialización y un mejor posicionamiento de cara a clientes potenciales. En la actualidad los productos de Sacha inchi se pueden conseguir en establecimientos naturistas (60%), supermercados (25%) e Internet (15%). La forma de consumo se reduce a productos tostados (similar al cacahuete), aceite, snacks, cápsulas, etc. (Tabla 4). Además hay un creciente interés en su consumo como torta proteica, dado que se puede utilizar en una amplia variedad de productos y presentaciones (Tito-Huamaní y Bautista-Flores, 2009).

El mercado internacional del Sacha inchi y sus derivados muestra un crecimiento importante, las exportaciones de Sacha inchi en el primer trimestre del año 2012 superaron el 46% al pasar de 782 millones US\$ en el mismo periodo del 2011 a 1.130 millones US\$. En los últimos años la demanda externa de Sacha inchi, principalmente aceite, se ha ido incrementando, así como para la industria cosmética y presentación en snacks. Entre enero y junio de 2012 los principales mercados de destino fueron Canadá (288 millones US\$; 45% de incremento), seguido de España (US\$ 155 millones; 270%), Japón (US\$ 150 millones; 39%), Francia (132 millones US\$; 94%) y Estados Unidos (118 millones US\$; 12%) (AAN, 2012). Las exportaciones de Sacha inchi, según sus principales presentaciones en el año 2012, se muestran en la Figura 7A. En la Figura 7B, se muestra la evolución de los derivados de Sacha inchi del año 2008 al 2012 (SIICEX, 2012).



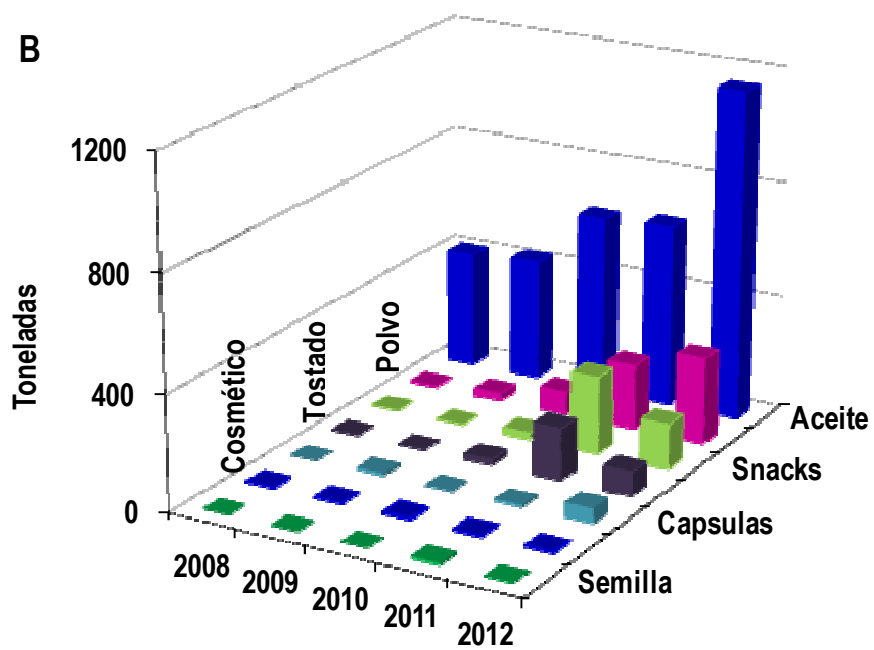
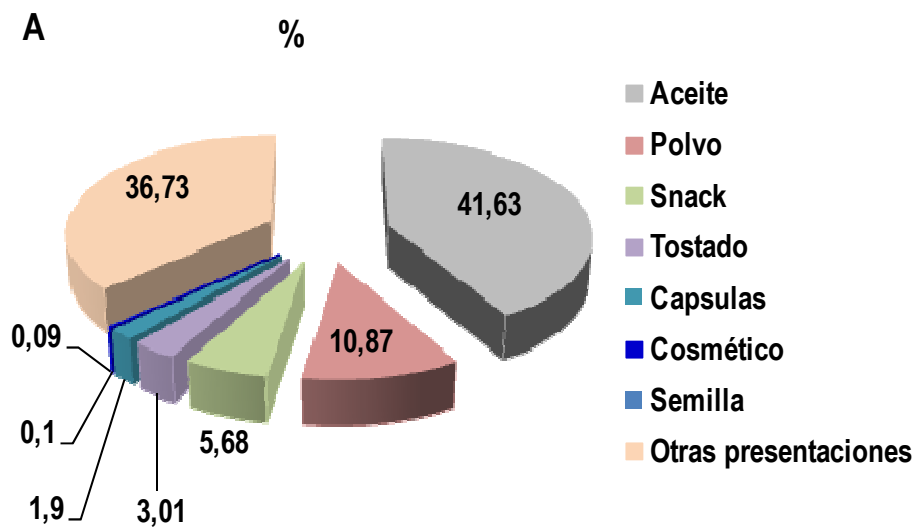


Figura 7. (A) Exportaciones de Sacha inchi en el año 2012, según sus principales presentaciones. (B) Evolución de las exportaciones de Sacha inchi del año 2008-2012.

Tabla 4. Algunas formas de consumo de Sacha inchi.

Nombre	Descripción	Presentación
Snack	Almendra de Sacha inchi, 25 a 50 g.	
Aceite	Aceite de Sacha inchi virgen extra, prensado en frío, 250 mL.	
Cápsulas	Aceite de Sacha inchi en capsulas, 60 cap x 1 g.	

## 1.7 Métodos de obtención de aceite de semillas oleaginosas

El procesamiento de semillas y frutos oleaginosos se vuelve cada vez más importante debido a las necesidades de aceite para nutrición humana y también para aplicaciones técnicas. Los aceites comestibles y las grasas vegetales son componentes de los productos alimenticios, que están constituidos principalmente por glicéridos de ácidos grasos obtenidos únicamente de fuentes vegetales. Pueden contener pequeñas cantidades de otros lípidos, tales como fosfátidos, de constituyentes insaponificables y ácidos grasos libres naturalmente presentes en la grasa o aceite ([Codex Alimentarius, 1999](#)).

En general, los tres métodos diferentes para la extracción de aceite son: presión, extracción con disolventes, una combinación de prensado y extracción con disolventes. La eficacia de estos métodos se puede mejorar con la ayuda de enzimas o dióxido de carbono supercrítico. El prensado es un método muy antiguo que, hoy en día, ha sido desplazado por el uso de disolventes que es más eficiente, especialmente para las semillas oleaginosas con contenidos de aceite inferiores, tales como la soja. Las semillas con contenidos más altos de aceite son pre-prensadas antes de la extracción con disolventes. Para la producción de aceites vírgenes de alta calidad, sólo el prensado mediante una prensa de tornillo y la purificación por sedimentación, filtración o centrifugación están permitidos ([Matthäus, 2012](#)).

### 1.7.1 Extracción por prensado

El prensado de semillas oleaginosas para la producción de aceite ha sido utilizado durante varios cientos de años, y sólo después de la Segunda Guerra Mundial este proceso fue reemplazado por la extracción con disolventes. Hoy en día, más del 98% de la producción de aceite en todo el mundo se lleva a cabo mediante extracción con disolventes, pero para aceites especiales, tales como el aceite de oliva virgen o el aceite de colza, aceites producidos en las zonas rurales, o para el pre-prensado antes de la extracción con disolventes esta antigua técnica todavía está en uso ([Matthäus, 2012](#)).

En el caso de los aceites vírgenes, la extracción por prensado en frío origina un aceite que sólo contiene impurezas sólidas, principalmente partículas del material de la semilla. La purificación es un paso importante para garantizar la calidad del aceite durante un tiempo más largo de almacenamiento. Las partículas de las semillas

contienen enzimas, y también microorganismos que pueden metabolizar el aceite para formar productos de degradación que afectan especialmente la calidad sensorial del aceite. Dependiendo de los ajustes de la prensa, la velocidad del eje del tornillo giratorio, el tamaño de la salida de la torta, la temperatura durante el prensado y la humedad de la semilla, el contenido de componentes sólidos en el aceite varía entre 1 y 13%. El objetivo de este tipo de purificación es la separación del sistema en dos fases que consisten en aceite (fase líquida) y partículas de semilla (fase sólida). En general, dos métodos diferentes, sedimentación y filtración, están en uso, en función del rendimiento de la planta. Existe un tercer método, la centrifugación del aceite crudo, que no está muy generalizado ([Matthäus, 2012](#)).

La torta proteica separada en la prensa después de la extracción del aceite, en el caso de Sacha inchi, puede ser utilizada en productos que comúnmente se preparan con la torta de soja: leche, queso, carne vegetal y harina texturizada, que pueden ser empleados en la elaboración de pan, sopas, pastas, fideos, galletas y alimentos para niños ([IIAP, 2009](#)).

#### 1.7.2 Extracción con disolventes

Este proceso está recomendado si es necesario reducir el contenido de aceite en la materia prima a menos de un 2%. Esto significa que el objetivo de la extracción con disolventes es eliminar el aceite de la semilla oleaginosa tanto como sea posible. La elección del tipo de disolvente se basa en la solubilidad del aceite en el disolvente seleccionado así como en el costo y la seguridad. Las fracciones de hidrocarburos parafínicos como pentano (punto de ebullición 31-36°C), hexano (punto de ebullición 63-68°C), heptano (punto de ebullición 90-98°C) y octano (punto de ebullición 101-128°C) pueden ser utilizadas como disolventes para la extracción de aceites.

En la mayoría de los casos, el hexano se usa como disolvente porque es barato, tiene buena solubilidad en aceite a temperatura relativamente baja, tiene una temperatura de ebullición apropiada, no es corrosivo al metal, no reacciona químicamente con el aceite, es estable bajo las condiciones del proceso, y no es miscible con agua, lo que facilita la separación del agua de las semillas, y sin deterioro del aceite crudo ([Matthäus, 2012](#)).

Sin embargo este disolvente tiene algunas desventajas con respecto a su peligro potencial ya que es altamente inflamable y explosivo.

Los disolventes utilizados para la extracción de aceites deberán cumplir, junto con las especificaciones para cada uno de ellos, una serie de condiciones generales, tales como que sean productos de características químicas definidas, en las que no exista la posibilidad de que contengan impurezas que puedan producir una acción nociva sobre el organismo o residuos que puedan quedar retenidos en el aceite.

### 1.7.3 Pre-tratamiento enzimático

Un método interesante para mejorar la recuperación del aceite de las semillas es el tratamiento de la materia prima con enzimas. El objetivo de este procedimiento es modificar la capa exterior de la semilla y las paredes celulares para aumentar el rendimiento de obtención del aceite. Por ello, es necesaria la ruptura de las paredes celulares mediante un tratamiento mecánico. Para el pre-tratamiento enzimático, se utilizan diferentes enzimas de tipo carbohidrasas:  $\beta$ -glucanasa, pectinasa, hemicelulasa, celulasa, o preparaciones mixtas de enzimas. Las enzimas degradan las paredes celulares de las semillas que están constituidas principalmente de hidratos de carbono. En este proceso, las diferentes enzimas muestran el siguiente orden relativo en la mejora de la eficiencia de extracción de aceite: mezcla de enzimas >  $\beta$ -glucanasa > pectinasa > hemicelulasa > celulasa (Sosulski y Sosulski, 1993).

El tratamiento enzimático de semillas oleaginosas depende fuertemente de la temperatura del proceso y las condiciones de pH para la hidrólisis. En general, los valores de estos parámetros deben estar en el rango óptimo de la actividad máxima de la enzima y, además, la calidad del producto no debe verse afectada. El tamaño de partícula de las semillas también tiene una fuerte influencia en la eficiencia del tratamiento enzimático. Por lo tanto, es necesario tener en cuenta que la eficacia del tratamiento depende del material que es tratado del proceso de extracción (Matthäus, 2012).

#### 1.7.4 Extracción con dióxido de carbono supercrítico

Una alternativa a los métodos de extracción utilizados normalmente es la extracción con dióxido de carbono en condiciones supercríticas (SC-CO<sub>2</sub>). En estas condiciones, de temperatura y presión por encima de 31,1°C y 73 atm respectivamente, el dióxido de carbono adopta más propiedades a mitad de camino entre las de un gas y un líquido, con una potencia extractiva comparable al hexano (Matthäus, 2012).

El prensado en frío sólo da como resultado una recuperación parcial del aceite. La extracción por métodos convencionales, tales como extracción con hexano, podría dar lugar a problemas de deterioro. Se puede generar el deterioro de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) a causa de las altas temperaturas usadas en el procesamiento, así como la rancidez oxidativa, y la producción de sabores y olores desagradables. Por lo tanto estos son factores críticos en el proceso de extracción (Létisse *et al.*, 2006; Follegatti-Romero *et al.*, 2009), por lo que métodos como SC-CO<sub>2</sub> podrían ser útiles.

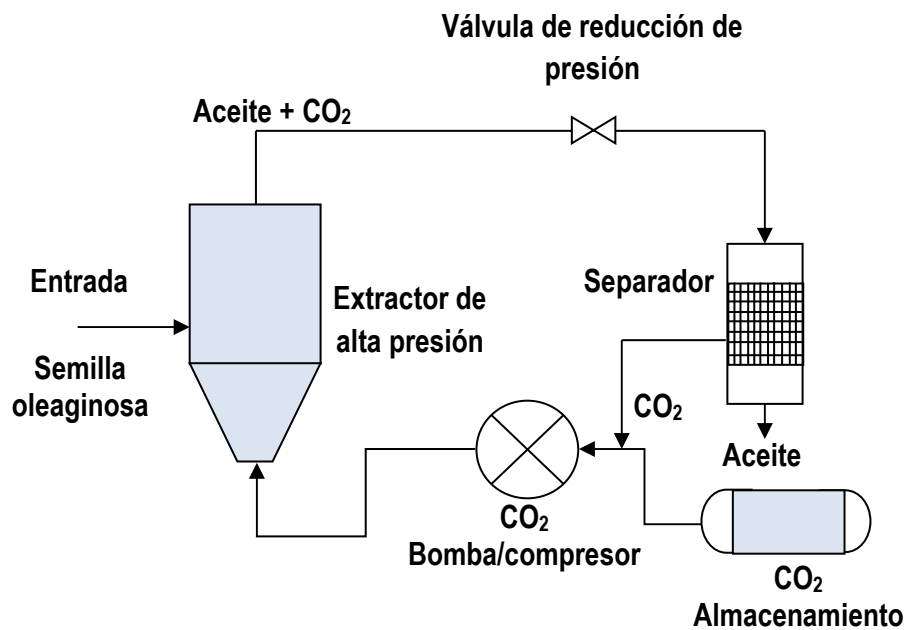


Figura 8. Diagrama de flujo de un sistema de extracción de dióxido de carbono supercrítico.

La extracción mediante SC-CO<sub>2</sub> se ha convertido en una técnica de separación importante en el campo de aplicaciones en alimentos y nutraceuticos. Con esta tecnología, es posible extraer compuestos sensibles al calor, fácilmente oxidables tales como PUFAs, y evitar el uso de cualquier disolvente tóxico como hexano, dejando residuos en el producto, ya que el CO<sub>2</sub> no es tóxico ni inflamable, tiene bajo costo y es fácilmente separado del extracto y de la matriz sólida. El SC-CO<sub>2</sub> se ha establecido como una buena alternativa en la extracción con disolventes de lípidos, tales como en la extracción de los PUFAs a partir de lípidos de peces (Corrêa *et al.*, 2008), la soja (Dobarganes-Nodar *et al.*, 2002), las semillas de amaranto (Westerman *et al.*, 2005), avellanas (Özkal *et al.*, 2005), las semillas de colza (Cvjetko *et al.*, 2012), las semillas de Sacha inchi (Follegatti-Romero *et al.*, 2009), así como en la extracción de fenoles de frutas y vegetales (García-Salas *et al.*, 2010) y la extracción de compuestos volátiles en aceite de oliva (Morales *et al.*, 1998). En la Figura 8, se muestra un sistema de extracción con dióxido de carbono en condiciones supercríticas.

### **1.8 Obtención del aceite de Sacha inchi**

Como se ha indicado anteriormente, en el Perú las semillas de Sacha inchi se conocen desde hace siglos. Esta semilla que pertenece a las oleaginosas es rica en aceite (35 a 60%) dependiendo del ecotipo (Krivankova *et al.*, 2007; IIAP, 2009). La tecnología utilizada en su extracción y la elaboración por prensado en frío, a partir de las almendras, hacen del aceite de Sacha inchi un aceite de alta calidad para la alimentación y la salud.

Las etapas del proceso agroindustrial para el proceso de producción del aceite de Sacha inchi se muestran en la Figura 9. La cosecha de Sacha inchi se realiza en forma tradicional con un rendimiento de 0,7 a 2,2 TM/Ha. En la etapa de post-cosecha las actividades relevantes son el secado, trilla y almacenamiento. El secado y la trilla se realizan simultáneamente. Después de la cosecha, las cápsulas son transportadas para su secado y trilla, el secado se realiza por acción directa del sol. Aproximadamente después de dos horas de sol, gran parte de las cápsulas dejan al descubierto las semillas, que son almacenadas en sacos de polietileno con capacidad de 50 a 70 kg, que se colocan en “parihuelas” de madera, en ambiente seco.

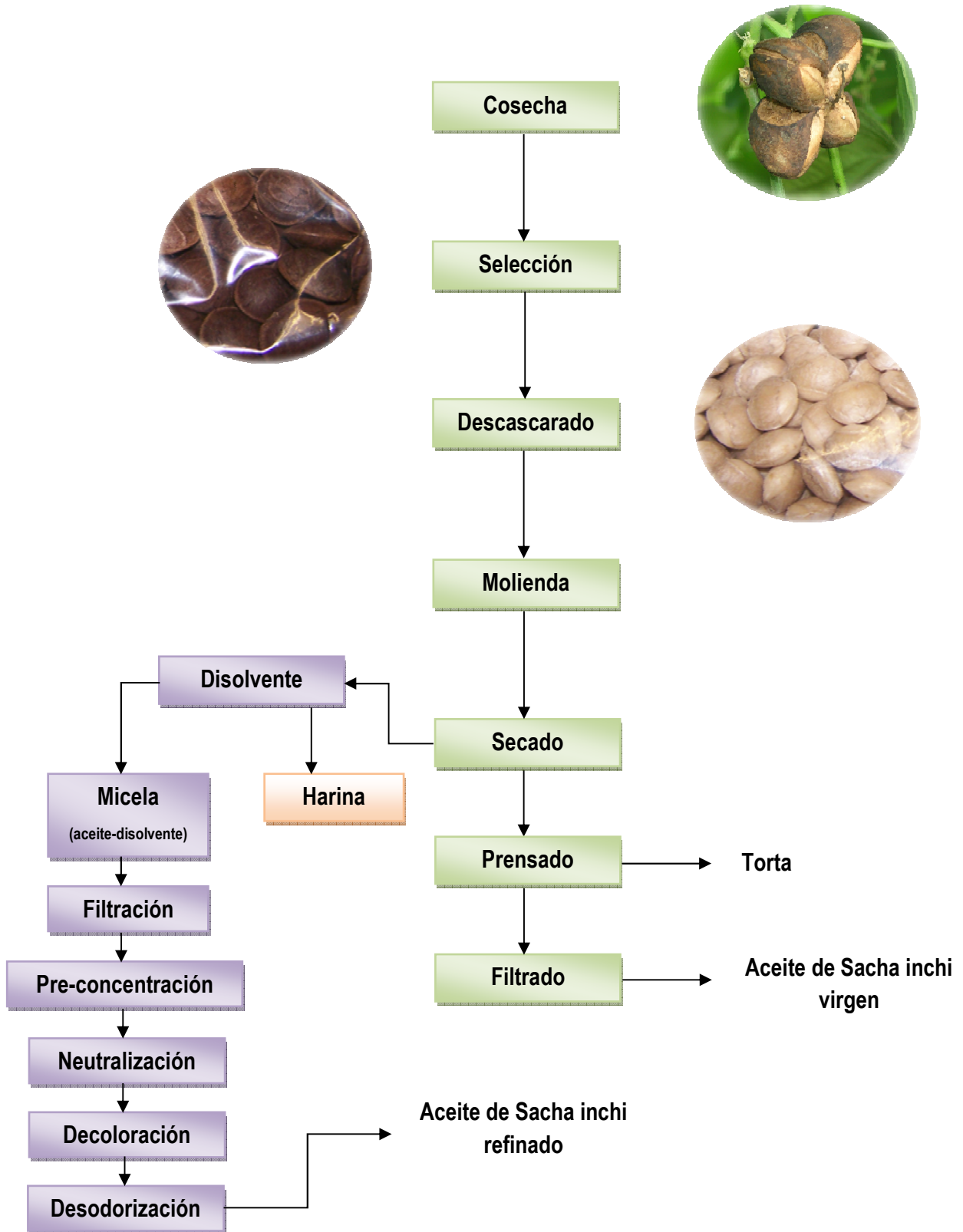


Figura 9. Proceso productivo del aceite de Sacha inchi.



La selección se realiza manualmente para separar las semillas de las materias extrañas; esta etapa puede realizarse en forma mecánica o con el empleo de cribas planas o tambores rotatorios. Antes del descascarillado, el acondicionamiento de las semillas mediante el secado es importante ya que permite disminuir la humedad y facilitar el descascarado. El descascarillado se realiza mediante una máquina que permite retirar la cáscara que envuelve la almendra. La molienda consiste en reducir el tamaño de las almendras para aumentar la superficie de contacto y facilitar la extracción del aceite, ya sea mediante prensado mecánico o con disolventes. El secado consiste en someter a la almendra molida a temperaturas que oscilan entre 60 y 100°C para conseguir la liberación del aceite.

El prensado se realiza para obtener el aceite crudo y la torta de Sacha inchi; para la obtención del aceite de Sacha inchi virgen se utiliza un proceso de extracción por prensado en frío, para obtener un aceite de color claro y de un agradable sabor a hierba, muy rico en nutrientes y fuente excelente de ácidos grasos esenciales.

Posteriormente se efectúa un proceso de filtración para eliminar cualquier impureza y lograr un producto de calidad. La harina y la torta son dos subproductos que se obtienen de la producción del aceite virgen. Tienen bajo contenido de aceite, 10% para el caso de la torta y 1% para la harina (IIAP, 2009). En la [Tabla 5](#) se recoge la información química de los límites establecidos por la [Norma Técnica Peruana \(2009\)](#), para el aceite de Sacha inchi.

El aceite de Sacha inchi finalmente es clasificado en diferentes categorías o designaciones según han sido establecidas por el Comité Técnico de Normalización de Sacha inchi (NTP, 2009). La Norma Técnica Peruana establece los requisitos de calidad e inocuidad que debe cumplir el aceite extraído de la semilla de Sacha inchi del género *Plukenetia* (a la fecha se comercializa aceite de Sacha Inchi proveniente de las especies *Plukenetia volubilis* L. y *Plukenetia huayllabambana*; siendo la primera la de mayor producción en el país), para su consumo directo y/o industrial.

Tabla 5. Información química y fisicoquímica establecidas para el aceite de Sacha inchi por la Norma Técnica Peruana.

Requisitos	Mínimo	Máximo
Densidad a 20°C	0,926	0,931
Índice de yodo (Solución Hanus)	183	199
Índice de saponificación	192	196
Índice de refracción a 20°C	1,478	1,481
Materia insaponificable (%)	---	,.36
Acidez libre (%), ácido oleico		
Aceite virgen extra	---	1,0
Aceite virgen	---	2,0
Índice de peróxido (mEq O <sub>2</sub> /kg)	---	10,0
Tocoferoles (mg/kg)	1900	---
Humedad y materias volátiles (%)	---	0,14
Impurezas insolubles (%)	---	0,02
Ácido oleico (%)	8,9	---
Ácido linoleico (%)	32,1	---
Ácido linolénico (%)	44,7	---

La comercialización se hace de acuerdo a las siguientes designaciones:

- Aceite de Sacha inchi.- Aceite extraído de las semillas de Sacha inchi del género *Plukenetia*. Caracterizado por su alto contenido de ácidos grasos insaturados (omega 3, 6 y 9).
- Aceite de Sacha inchi vírgenes.- Se entiende por aceites vírgenes de Sacha inchi a los productos obtenidos sin modificar su naturaleza. La extracción será por procedimientos mecánicos, por ejemplo, extrusión, prensado y otros. Podrán haber sido purificados por sedimentación, filtración y centrifugación. Se excluyen a los aceites obtenidos mediante disolvente, coadyuvante de acción química y bioquímica o por procedimiento de reesterificación y de cualquier mezcla con aceites de otra naturaleza.
- ✓ *Aceite de Sacha inchi virgen extra*.- Es el aceite virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico, es como máximo de 1 g/100g, extraído sin la aplicación de calor y cuyas demás características corresponden para esta categoría.

- ✓ *Aceite de Sacha inchi virgen.*- Es el aceite virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico, es como máximo de 2 g/100g y cuyas demás características corresponden para esta categoría.

### **1.9 Composición química del aceite de Sacha inchi**

El aceite de sachá inchi presenta actualmente una amplia aceptación por parte de los consumidores, tanto a nivel nacional como internacional, debido a que posee niveles altos de ácidos grasos insaturados (linoleico y linolénico) y es rico en vitaminas A y E (Krivankova *et al.*, 2007). Sin embargo, no existe mucha información sobre la caracterización química del aceite de sachá inchi, sobre todo en cuanto al contenido de compuestos minoritarios que tienen gran importancia de cara a la autenticación y trazabilidad del producto. Las investigaciones realizadas en esta especie están vinculadas al contenido de ácidos grasos poliinsaturados en las semillas (Bondioli *et al.*, 2006; Follegatti-Romero *et al.*, 2009) y en el aceite (Guillén *et al.*, 2003). Otras investigaciones realizadas proporcionan información sobre el contenido de aminoácidos, siendo la cisteína, tirosina, treonina y triptófano los de mayor abundancia (Hamaker *et al.*, 1992).

Los aceites comestibles son principalmente aceites vegetales y se encuentran en las semillas o frutos de diversas plantas. Los aceites vegetales tienen composiciones que varían de un aceite a otro y tienen un amplio rango de propiedades físicas y químicas (Kiritsakis y Christie, 2003).

Los constituyentes de los aceites comestibles se pueden agrupar en componentes mayoritarios y minoritarios. El grupo de compuestos mayoritarios se compone principalmente de triglicéridos o ésteres del glicerol con los ácidos grasos, el cual están formados por ácidos grasos de 16 a 24 átomos de carbono. Los compuestos minoritarios incluyen varios tipos de compuestos químicos. Compuestos con una estructura lipídica (fosfolípidos, ésteres de ácidos grasos con alcoholes grasos saturados de cadena lineal, conocidos como ceras), compuestos que tienen una característica común de ser obtenidos de la fracción insaponificable (hidrocarburos, escualeno, alcoholes alifáticos, 4,4-dimetilesteroles o alcoholes triterpénicos, 4-monometilesteroles, 4-desmetilesteroles

y dialcoholes triterpénicos) y componentes que no están relacionados con los lípidos desde el punto de vista estructura-química (fenoles, carotenoides y compuestos volátiles) (Morales *et al.*, 2003; León-Camacho *et al.*, 2013).

Las semillas de Sacha inchi contienen aproximadamente un 25% de proteínas (Gutiérrez *et al.*, 2011), siendo los aminoácidos esenciales más representativos isoleucina (50 mg/g), leucina (79 mg/g), lisina (72 mg/g), tirosina (58 mg/g), treonina (57 mg/g), valina (62 mg/g), metionina+cisteína (57 mg/g) y fenilalanina+tirosina (67 mg/g) (Sathe *et al.* 2002).

Hasta el momento, solo unos pocos artículos han descrito la composición del aceite de Sacha inchi. De acuerdo con estos trabajos, el aceite es rico en ácidos grasos insaturados, aproximadamente el 93% del total (Guillén *et al.*, 2003). En particular, se han encontrado altos niveles de ácidos grasos esenciales C18:3  $\omega$ 3 ( $\alpha$ -Ln, cis,cis,cis-9,12,15-ácido octadecatrienoico;  $\alpha$ -linolénico) y C18:2  $\omega$ 6 (L, cis,cis-9,12-ácido octadecadienoico;  $\alpha$ -linoleico). En la [Tabla 6](#) se muestra la composición de ácidos grasos del aceite Sacha inchi y de algunos aceites comestibles vegetales.

Fanali *et al.* (2011), identificaron la composición de triglicéridos del aceite de Sacha inchi mediante HPLC-APCI-MS. Los triglicéridos identificados contenían cinco ácidos grasos diferentes, (palmítico, linoleico, linolénico, oleico, y esteárico). Los componentes predominantes (>50%) fueron dilinoleoil-linoleoil-glicerol (LnLLn), dilinoleoil-linoleoil-glicerol (LLnL), y trilinolenina (LnLnLn). La mayoría de los triglicéridos del aceite de Sacha inchi (>80%) contienen al menos un residuo de ácido linolénico.

Está demostrado que el aceite de Sacha inchi es una fuente rica en tocoferoles (Follegatti-Romero *et al.*, 2009), y el  $\gamma$ -tocoferol representa más del 50% de todo el contenido de tocoferoles (Fanali *et al.*, 2011). Los tocoferoles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol) actúan como antioxidantes por su capacidad para secuestrar los radicales peroxilo de moléculas de lípidos insaturados, impidiendo la propagación de la peroxidación de lípidos, principalmente en los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) (Morales *et al.*,

2012). En la [Tabla 7](#), se muestra la composición de tocoferoles del aceite de Sacha inchi y de otros aceites comestibles.

Tabla 6. Composición de ácidos grasos del aceite de Sacha inchi y otros aceites comestibles.

Vegetales	Ácidos grasos (%)							
	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	
Sacha inchi			5	4	11	34	44	<a href="#">Maurer et al., 2012</a>
Canola			5	2	64	20	2	<a href="#">Maurer et al., 2012</a>
Oliva*			10	4	78	5	1	<a href="#">Ramos-Escudero, 2010</a>
Palma		5	36	2	50	8		<a href="#">Dyer et al., 2008</a>
Girasol			7	5	19	68		<a href="#">Dyer et al., 2008</a>
Soja			11	4	23	54	8	<a href="#">Dyer et al., 2008</a>
Linaza			6	2	19	24	47	<a href="#">Dyer et al., 2008</a>
Coco	48	18	9	3	6	2		<a href="#">Dyer et al., 2008</a>
Cacahuete			9	3	52	32		<a href="#">Dyer et al., 2008</a>
Colza			4	2	61	21	10	<a href="#">Li et al., 2011</a>
Maíz			13	2	31	52	1	<a href="#">Li et al., 2011</a>
Sésamo			10	6	39	45	1	<a href="#">Li et al., 2011</a>

\*Aceite de oliva virgen comercial (variedad Picual).

Tabla 7. Concentración de  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol del aceite de Sacha inchi y otros aceites comestibles.

Vegetales	Tocoferoles (mg/kg)				
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	
Sacha inchi	4		1260	870	<a href="#">Fanali et al., 2012</a>
			1140	1250	<a href="#">Follegatti-Romero et al., 2009</a>
Soja	78	16	622	284	<a href="#">Li et al., 2011</a>
Cacahuete	541	19	401	39	<a href="#">Li et al., 2011</a>
Maíz	232	22	695	52	<a href="#">Li et al., 2011</a>
Girasol	900	39	60		<a href="#">Li et al., 2011</a>
Sésamo			100		<a href="#">Li et al., 2011</a>
Colza	233	12	609	38	<a href="#">Li et al., 2011</a>
Palma	882		119		<a href="#">Li et al., 2011</a>
Oliva*	223	2	13		<a href="#">García et al., 2003</a>

\*Aceite de oliva virgen comercial (variedad Picual).

En cuanto a la fracción polifenólica del aceite de Sacha inchi solamente existe hasta la fecha un artículo (Fanali *et al.*, 2011) que indica la presencia de alcoholes fenólicos, isocoumarinas, flavonoides, compuestos secoiridoides, ácidos orgánicos y lignanos.

### **1.10 Marcadores de composición**

En los últimos años se ha prestado cada vez más atención a los aceites consumidos por los seres humanos. Los aceites vegetales más populares (Tabla 6) contienen importantes cantidades de ácidos grasos insaturados, sobre todo aquellos que son necesarios para el organismo humano. Sin embargo en algunos casos, debido a la alta cantidad de ácidos grasos insaturados, estos aceites son susceptibles a cambios en su composición, que pueden producirse durante la cosecha de la materia prima, la producción del aceite, o durante el transporte y almacenamiento (Gromadzka y Wardencki, 2011). Sobre la base de la expansión del mercado de aceites vegetales la verificación de la autenticidad y la trazabilidad de los aceites tienen que ser adecuados para la prevención adulteraciones y de un etiquetado incorrecto deliberado o accidental. Por este motivo la autenticidad se ha convertido en un tema importante tanto desde el punto de vista comercial como del aseguramiento de la salud pública (Cserhádi *et al.*, 2005; Aparicio *et al.*, 2013).

La fracción saponificable representa más del 98% del aceite y mayoritaria y está constituida por los componentes mayoritarios (Morales y León-Camacho, 2003; Lerma-García, 2012). La fracción insaponificable se entiende como el conjunto de constituyentes naturales o accidentales que no pueden reaccionar con NaOH o KOH para producir jabones sin dejar de ser solubles en disolventes orgánicos para grasas (hexano, éter) después de la saponificación (León-Camacho *et al.*, 2013), estos componentes constituyen alrededor del 2% de todos los aceites (Aparicio y Aparicio-Ruíz, 2000), esta fracción contiene muchas sustancias de una diferente naturaleza y estructura química, hasta el punto que se le considera la huella dactilar de los aceites comestibles. En la Tabla 8, se muestra la descripción general de los métodos que se han empleado para determinar la autenticidad del aceite de Sacha inchi.

### 1.10.1 Ácidos grasos

Los ácidos grasos son estructuras simples constituidas por cadenas largas de diferente número de átomos de carbono, con un grupo ácido carboxílico en un extremo. Además, las características de los aceites vegetales están influenciadas por la proporción de los ácidos grasos presentes y es uno de los principales indicadores de la calidad y frescura.

La composición de ácidos grasos se ha usado tradicionalmente en la industria alimentaria como un indicador de la pureza, a pesar de que la amplia variación en los aceites comestibles de diferentes orígenes geográficos es un factor limitante en la interpretación de los datos con respecto a la adulteración. Los ácidos grasos son los componentes mayoritarios de cualquier aceite comestible, para su determinación generalmente se convierten en ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Los ésteres metílicos se preparan por metilación en un medio metanólico que se puede llevar a cabo con álcali, ácido o catálisis alcalina y ácida ([Aparicio y Aparicio-Ruíz, 2000](#)), la determinación de la composición de ácidos grasos en los aceites vegetales se lleva a cabo por lo general mediante cromatografía de gases (GC) con detector de ionización de llama (FID) ([Cserhádi \*et al.\*, 2005](#)).

### 1.10.2 Triglicéridos

Los triglicéridos son los componentes mayoritarios de los aceites vegetales. Se forman a partir de una molécula de glicerol combinada con tres ácidos grasos. Generalmente, los ácidos grasos que se encuentran en la posición central de la molécula de glicerol son insaturados, aunque los ácidos saturados se pueden encontrar en esta posición cuando la concentración total de ácidos grasos saturados en el aceite es muy alta ([Lerma-García, 2012](#)).

La composición de triglicéridos también se ha establecido como una medida de la calidad y pureza de los aceites vegetales. Debido a la especificidad de la composición en diferentes tipos de grasas y aceites, se utiliza cada vez más en la industria alimentaria para confirmar la autenticidad, sin embargo este tipo de análisis es laborioso ([Aparicio y Aparicio-Ruíz, 2000](#)).

Tabla 8. Descripción general de algunos métodos empleados para determinar la autenticidad del aceite de Sacha inchi.

Asunto	Extracción del aceite	Analito	Técnica	Quimiometría	Origen geográfico
C	P	ácidos grasos ácido linolénico	GC-FID		Perú <sup>a</sup>
A	P	ácido linoleico ácido oleico	IR ATR	PLSR	Perú <sup>a</sup>
C	P	ácidos grasos	GC-FID		Perú <sup>b</sup>
C	SC-CO <sub>2</sub>	ácidos grasos	GC-FID		Perú <sup>c</sup>
C	S	ácidos grasos	GC-FID		Colombia <sup>d</sup>
C	S	ácidos grasos	GC-FID/MS		Colombia <sup>e</sup>
C	No indica	ácidos grasos	GC-FID	ANOVA	China <sup>i</sup>
C	No indica	ácidos grasos	GC-FID	ANOVA	Perú <sup>f</sup>
C	P	ácidos grasos	FTIR y <sup>1</sup> H NMR		Perú <sup>g</sup>
C	P	ácidos grasos	GC-FID		Perú <sup>h</sup>
C	S	ácidos grasos	GC-FID	ANOVA	Perú <sup>j</sup>
C	P	triglicéridos	HPLC/APCI-MS		Perú <sup>b</sup>
C	P	tocoferoles	HPLC-FD		Perú <sup>b</sup>
C	SC-CO <sub>2</sub>	tocoferoles	HPLC-FD		Perú <sup>c</sup>
C	P	tocoferoles	HPLC-FD		Perú <sup>h</sup>
C	P	esteroles	HPLC		Perú <sup>h</sup>
C	P	polifenoles	HPLC-DAD/ESI-MS		Perú <sup>b</sup>

A, autenticación; C, caracterización; P, prensado; S, solvente; SC-CO<sub>2</sub>, dióxido de carbono supercrítico; Regresión de mínimos cuadrados parciales (PLSR), cromatografía de gases-detector de ionización de llama (GC-FID); Espectroscopia infrarroja con reflectancia total atenuada (IR ATR); espectrofotometría de masas (MS); espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR); espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (<sup>1</sup>H NMR); cromatografía líquida de alta resolución-detector de matriz de diodos (HPLC-DAD); detector de fluorescencia (FD); ionización química a presión atmosférica (APCI); ionización por electrospray (ESI).

[Maurer et al., 2012<sup>a</sup>](#); [Fanali et al., 2011<sup>b</sup>](#); [Follegatti-Romero et al., 2009<sup>c</sup>](#); [Gutiérrez et al., 2011<sup>d</sup>](#); [Castaño et al., 2012<sup>e</sup>](#); [Merino-Zegarra et al., 2008<sup>f</sup>](#); [Guillén et al., 2003<sup>g</sup>](#); [Bondioli et al., 2006<sup>h</sup>](#), [Cai et al., 2012<sup>i</sup>](#), [Chirinos et al., 2013<sup>j</sup>](#).

El análisis puede ser llevado a cabo por HPLC o por cromatografía gas-líquido a alta temperatura (aproximadamente 350°C), aunque el HPLC está siendo ampliamente aceptado en el análisis de triglicéridos. Según el grado de separación y el tipo de detección usado, se pueden utilizar cualquiera de las siguientes cuatro fases móviles (i) acetonitrilo-acetona, (ii) acetonitrilo-isopropanol (iii) acetonitrilo-diclorometano, y (iv) acetonitrilo-etanol-hexano. Los detectores utilizados son el ultravioleta (UV) y el de



índice de refracción (RID), siendo el primero el más sensible (Aparicio y Aparicio-Ruíz, 2000). El HPLC equipado con un detector de índice de refracción (RID) es el más utilizado para el análisis de los triglicéridos en los aceites de oliva (Montealegre *et al.*, 2010).

### 1.10.3 Esteroles

Los esteroides son un grupo de sustancias naturales derivadas de isoprenoides policíclicos hidroxilados que tienen una estructura 1,2-ciclopentano-fenantreno (Figura 10) (Abidi, 2001).

Los esteroides, que constituyen la fracción principal de la materia insaponificable, se encuentran en casi todas las grasas, y juegan un papel importante en la estabilidad de los aceites vegetales, porque actúan como inhibidores de reacciones de polimerización (entre ellos radicales libres o con ácidos grasos polimerizados, que aumentan la viscosidad del aceite y la formación de espuma) que se producen a altas temperaturas (Montealegre *et al.*, 2010). Los esteroides son propios de cada tipo de aceite, por ejemplo el aceite de colza contiene niveles significativos de brasicasterol (100-1100 mg/kg), mientras que el aceite de oliva contiene altos niveles de  $\beta$ -sitosterol (683-2610 mg/kg) y  $\Delta$ 5-avenasterol (34-266 mg/kg), y los aceites de semillas de cártamo y de girasol contienen altos niveles de  $\Delta$ 7-estigmastenol (300-550 y 150-500 mg/kg, respectivamente) (Aparicio y Aparicio-Ruíz, 2000). Estas diferencias aparentes son importantes y adecuadas para la determinación del origen botánico de los aceites y, por lo tanto, para detectar la adulteración/contaminación entre los aceites vegetales.

Los métodos cromatográficos son actualmente los más ampliamente utilizados para el análisis cualitativo y cuantitativo de esta extensa serie de compuestos. La cromatografía de gases de la materia insaponificable sometida a una separación previa en cromatografía de capa fina (TLC) es la técnica prevalente, aunque otras metodologías se han sugerido como HPLC-MS para  $\Delta$ 5-avenasterol en aceite de oliva (Morales y León-Camacho, 2003; Nagy *et al.*, 2005).

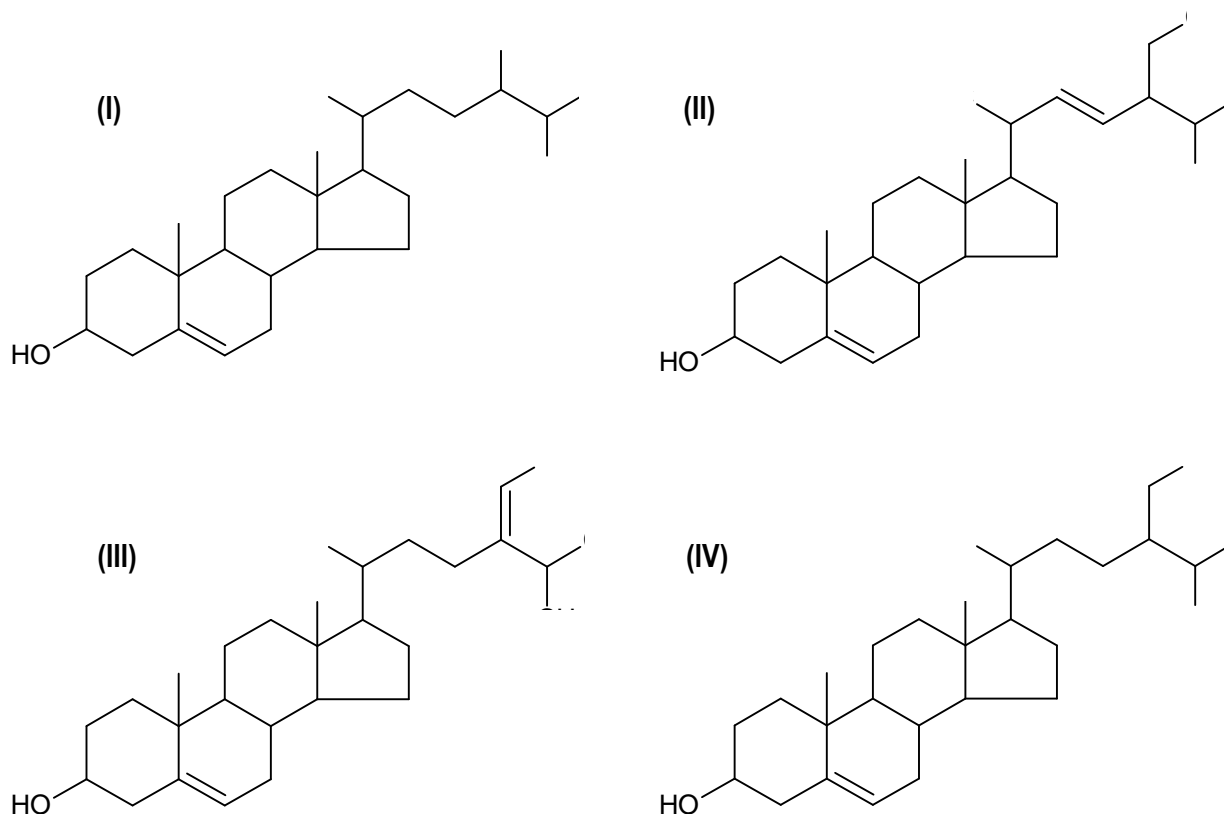


Figura 10. Ejemplos de estructuras ubicuas de esteroides vegetales: (I) campesterol; (II) estigmasterol; (III)  $\Delta^5$ -avenasterol; (IV) sitosterol.

#### 1.10.4 Alcoholes

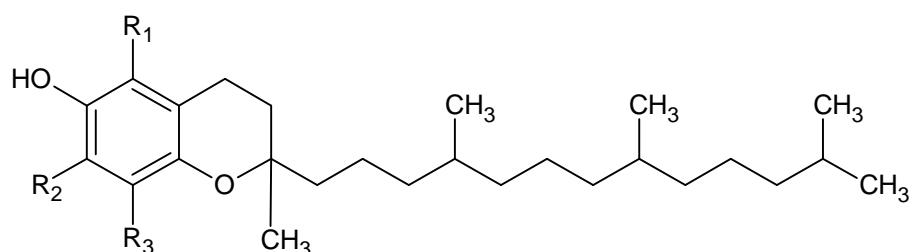
Los alcoholes grasos pueden ser alifáticos o triterpénicos. Los alifáticos pueden ser de cadena par de átomos de carbono, como el caso del aceite de oliva, y pueden ser también de cadena impar, presentes en algunos aceites de semilla. Este criterio puede usarse para el reconocimiento de mezclas de estos aceites (Morales y León-Camacho, 2003).

El análisis de la fracción total de alcoholes se lleva a cabo por saponificación del aceite con potasa, previa adición de un patrón interno, extrayendo la fracción insaponificable con éter etílico y purificando posteriormente el insaponificable. La fracción de alcohol se separa por cromatografía de capa fina de gel de sílice básica. Los alcoholes recuperados del gel de sílice se transforman en trimetilsililéteres y se analizan mediante

cromatografía de gases con columna capilar (Morales y León-Camacho, 2003; López-López *et al.*, 2009).

### 1.10.5 Tocoferoles

La vitamina E (tocoferol) es un componente natural de los aceites vegetales y aparece en ellos en cantidades que permiten su protección frente a los procesos de oxidación (Warner, 2005). Los tocoferoles son los principales antioxidantes lipófilos, que son secuestradores eficientes de los radicales alcoxilo (RO\*) y peroxilo (ROO\*) (Gliszczyńska-Świgło *et al.*, 2007).



Nombre	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
α-Tocoferol	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
β-Tocoferol	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
γ-Tocoferol	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
δ-Tocoferol	H	H	CH <sub>3</sub>

Figura 11. Estructura de los tocoferoles.

El α-, β-, γ-, δ-tocoferol y los tocotrienoles se diferencian en función de la cantidad y ubicación de sustituyentes metilo en el anillo cromano (Figura 11). Estos compuestos antioxidantes naturales, que dan estabilidad a los aceites, varían de un aceite vegetal comestible a otro. El aceite de girasol contiene menos de 50 mg/kg de γ-tocoferol y el aceite de soja contiene hasta 2400 mg/kg, mientras que el contenido total de tocoferoles (α-, β-, γ-, δ-tocoferol) varía en el aceite de oliva entre 50 y 150 mg/kg (Aparicio y Aparicio-Ruíz, 2000; Sayago *et al.*, 2007).

Los tocoferoles individuales pueden ser analizados por inyección directa de las muestras diluidas en un sistema de HPLC con detector de fluorescencia (FD). En el caso del aceite de oliva los contenidos individuales de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol y el contenido total de tocoferoles se pueden analizar por HPLC-DAD y HPLC-FD para estudiar su influencia en la diferenciación de la variedad de aceituna en los aceites de oliva (Montealegre *et al.*, 2010).

La concentración de  $\delta$ -tocoferol se utiliza para detectar la sospecha de contaminación del aceite de cacahuete (<22 mg/kg) con aceite de soja (932 mg/kg). La adición de aceites de palma y aceite de semilla de uva a cualquier aceite vegetal libre de tocotrienol (por ejemplo, aceite de oliva) se puede detectar en 1-2% (Aparicio y Aparicio-Ruíz, 2000).

#### 1.10.6 Hidrocarburos

El escualeno (2,6,10,15,19,23-hexametil, 2,6,10,14,18,20-tetracosahexaeno), es una forma natural de hidrocarburos de cadena larga (C30 triterpenoides) (Morales y León-Camacho, 2003; León-Camacho *et al.*, 2013). El escualeno es el componente mayoritario de la fracción de hidrocarburos terpénicos presente en el aceite de oliva, y se encuentran en niveles de 300-700 ppm. El escualeno se encuentra también en cantidades más pequeñas, <30 mg/100g, en otros aceites vegetales. Los dobles enlaces del escualeno sufren isomerización catalizada por ácidos durante el refinado de un aceite vegetal para producir un gran número de isómeros posicionales. Otros hidrocarburos constituidos por una serie de cadenas saturadas de C15-C33, átomos de carbono también están presentes en los aceites vegetales. Por ejemplo, el aceite de oliva contiene n-alcános con un número impar de átomos de carbono (C23-C29, 30-180 ppm) (Kamal-Eldin, 2005).

La presencia de otros compuestos, tales como alquenos y sesquiterpenos, tiene una mayor potencia de diferenciación en un análisis de hidrocarburos, especialmente en los aceites de una sola variedad de aceite de oliva virgen (Osorio-Bueno *et al.*, 2005). En los aceites vegetales, el aislamiento de la fracción de hidrocarburos se realiza generalmente por medio de hidrólisis alcalina de la muestra de aceite. El residuo

insaponificable se fracciona por medio de una columna de gel de sílice a baja presión utilizando hexano como eluyente. La primera fracción contiene hidrocarburos alifáticos saturados e insaturados, y los hidrocarburos sesquiterpenos cíclicos (Moreda *et al.*, 2001). La cromatografía de gases (GC) es sin duda el método más eficiente para la determinación cuantitativa de los hidrocarburos, ya que permite separaciones de los miembros individuales de las series homólogas de hidrocarburos y, además, proporciona datos cuantitativos muy precisos de los compuestos separados. Todas las variantes de GC se utilizan para el análisis de los hidrocarburos, las separaciones pueden realizarse isotérmicamente o en sistemas de gradiente de temperatura, en las fases estacionarias de baja polaridad y no polares, usando detección de ionización de llama (FID) (Osorio-Bueno *et al.*, 2005).

#### 1.10.7 Compuestos fenólicos

Bajos niveles de una amplia gama de compuestos fenólicos están presentes en todos los aceites vegetales (Kamal-Eldin, 2005), siendo muy importantes para la estabilidad de los ácidos grasos poliinsaturados frente a los procesos de oxidación (Espín *et al.*, 2000). En 1906 Francesco Canzoneri fue el primer investigador en demostrar la presencia de compuestos fenólicos en el aceite de oliva virgen, es por ello que los constituyentes fenólicos principalmente estudiados son quizás los del aceite de oliva (Gallina-Toschi *et al.*, 2005). En el caso de los aceites de oliva la cuantificación de los polifenoles se ha utilizado para la diferenciación del aceite según la variedad (Montealegre *et al.*, 2010). La aplicación de tratamientos quimiométricos, como en el caso de otros marcadores de composición, está muy extendida (Aparicio, 2003; Aparicio *et al.*, 2013). El aislamiento de la fracción fenólica de los aceites de oliva es el punto clave de las diferencias en los resultados cuantitativos descritos en la literatura. Tradicionalmente el aislamiento de los compuestos fenólicos ha sido realizado mediante extracción líquido-líquido de una disolución en hexano con varias porciones de metanol-agua, seguido por la evaporación del disolvente del extracto acuoso (Cert *et al.*, 2000; Morales y Tsimidou, 2003).

La necesidad de obtener el perfil e identificar los compuestos fenólicos individuales originó que los métodos tradicionales fueron reemplazados y se lograron avances significativos cuando los métodos analíticos separativos tales como GC y, en particular,

HPLC fueron utilizados para el análisis de estos compuestos. En el caso del aceite de oliva la composición del perfil fenólico también puede servir como una herramienta para diferenciar y clasificar los tipos de aceitunas (Gliszczyńska-Świgło *et al.*, 2007).

La cromatografía de gases con detectores de espectrometría de masas (MS), tras una extracción en fase sólida (SPE) de fase diol y posterior derivatización a la forma trimetilsilil (TMS) usando una mezcla de hexametildisilazano: dimetilclorosilano (HMDS: DMCS) en piridina (3:1:9) (Ríos *et al.*, 2005) y  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -NMR para elucidar la estructura de los compuestos fenolicos aislados (Deeb *et al.*, 2012) también se ha utilizado. En tanto que mediante HPLC se pueden encontrar trabajos de investigación con detectores UV (Tasioula-Margari y Okogeri, 2001; Mateos *et al.*, 2001), electroquímicos (Brenes *et al.*, 2000), biosensores (Capannesi *et al.*, 2000) y de espectrometría de masas (Dierkes *et al.*, 2012; de la Torre-Carbot *et al.*, 2005). Además, la electroforesis capilar (CE) ha sido aplicada recientemente para el análisis de compuestos fenólicos en el aceite de oliva y ha abierto grandes expectativas, sobre todo debido a la mayor resolución, reducción del tamaño de muestra, y el tiempo de análisis. Por otro lado, para la identificación de compuestos fenólicos el HPLC y CE se pueden utilizar con diferentes analizadores MS, es decir, triple cuadrupolo (TQ), trampa de iones (IT), tiempo de vuelo (TOF), etc. y el uso de varios métodos de ionización APCI, ESI, Desorción/ionización por láser asistida por matriz (MALDI), etc. (Carrasco-Pancorbo *et al.*, 2007). En la Tabla 9, se muestra algunos compuestos fenólicos identificados en el aceite de Sacha inchi (Fanali *et al.*, 2011).

#### 1.10.8 Compuestos volátiles

Los compuestos volátiles son de bajo peso molecular (<300 Da), con una alta presión de vapor que vaporiza a temperatura ambiente (Angerosa, 2002; Morales *et al.*, 2013), baja solubilidad en agua y se encuentran en muy bajas concentraciones.

Estos compuestos son en parte responsables del flavor de los alimentos. El flavor consiste en la combinación del sabor (es decir, dulce, agrio, salado, amargo y umami) y el olor que se percibe a través de los orificios nasales y por vía retronasal. La percepción

del olor depende de la detección de compuestos volátiles presentes en el material, en este caso, los alimentos. Esta percepción puede tener lugar por inhalación (vía ortonasal) o por vía de las fosas nasales a través del paso nasofaríngeo (vía retronasal). Aunque el mecanismo implicado en la percepción del olor es el mismo (es decir, la interacción entre un compuesto volátil y el epitelio olfativo), los tipos de moléculas que participan en este proceso son diferentes (Martini *et al.*, 2010).

Tabla 9. Compuestos fenolicos identificados en aceite de Sacha inchi por HPLC-DAD.

Pico	t <sub>R</sub> (min)	Fragmentos [M - H] <sup>-</sup>	λ <sub>max</sub> UV/vis (nm)	Compuesto
1	10,3	153	271	hidroxitirosol
2	19,4	137	270	tirosol
3	20,0	327(311)	278, 325	bergenina
4	26,9	401(369)	268, 350	alpinum-isoflavona
5	27,5	435	278, 350	floretina glucósido
6	28,3	333	270, 309	metil decarboximetil aglucona de la oleuropeína
7	29,5	357	272	pinosinol
8	31,6	315	369	isoramnetina-glucósido
9	31,8	183	270, 309	ácido oleuropeico
10	33,1	187	260	ácido azaleico
11	34,6	285	272, 346	luteolina
12	40,3	417	275	siringaresinol
13	41,9	373	272	hidroxi-pinosinol
14	44,6	269	268, 339	apigenina
15	45,2	377	270, 309	aglucona de la oleuropeína

Un perfil de flavor constante y reproducible es esperado por los consumidores en los alimentos que consumen. Un componente importante en la generación del flavor son los lípidos, que imparten características específicas de aroma y sensación en la boca a los alimentos. La elaboración de un producto alimenticio con buenas propiedades organolépticas y con características de flavor inalterables durante el transporte y almacenamiento puede ser un reto, especialmente en alimentos con un alto contenido de lípidos porque los lípidos tienden a oxidarse cuando se ponen en contacto con el aire y la luz (Martini *et al.*, 2010). Aunque una descripción completa de las características

organolépticas del aceite se obtiene sólo a través de análisis sensorial, la determinación cuali-cuantitativa de los compuestos volátiles puede proporcionar información muy útil sobre la calidad del producto (Mahjoub-Haddada *et al.*, 2007). En este contexto, varios enfoques han sido desarrollados con el fin de caracterizar o autenticar aceites (Aparicio y Aparicio-Ruíz, 2000; Morales y Tsimidou, 2003; Morales *et al.*, 2013).

En general, los métodos analíticos usados para la evaluación de los compuestos volátiles involucran todos los pasos de los procesos analíticos en general tales como muestreo, preparación de la muestra, separación, identificación, cuantificación y análisis de datos. La preparación de la muestra antes del análisis por GC de los compuestos volátiles usualmente implica dos pasos; aislamiento y preconcentración de la fracción volátil de las muestras, que pueden ser realizados por diferentes procedimientos agrupados en dos grupos (Morales *et al.*, 2013): aquellos que no impliquen concentración como la desorción térmica directa (DTD) (Gogus *et al.*, 2006; de Koning *et al.*, 2008), y espacio de cabeza estático (SHS) (Vichi *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2011; Pouliarekou *et al.*, 2011; Pizarro *et al.*, 2011); aquellos que impliquen concentración como la extracción-distilación simultáneas (SDE) (Kesen *et al.*, 2013; Kraujalytė *et al.*, 2013), el espacio de cabeza dinámico (DHS) (Aparicio y Morales, 1994; Morales *et al.*, 1994; Kanavouras *et al.*, 2005; Luna *et al.*, 2006), espacio e cabeza con micro extracción en fase sólida (HS-SPME) (Berlioz *et al.*, 2006; García-González *et al.*, 2010; Cajka *et al.*, 2010), extracción con fluido supercrítico (SFE) (Morales *et al.*, 1998; Marzouki *et al.*, 2008), y la extracción por sorción del espacio de cabeza (HSSD) (Cavalli *et al.*, 2003; Salvadeo *et al.*, 2007). La GC es una poderosa técnica separativa con alta capacidad para separar mezclas complejas de componentes similares. La separación, identificación y cuantificación de estos compuestos volátiles puede llevarse a cabo bajo diferentes condiciones cromatográficas siendo principalmente las más utilizadas la GC-FID y GC-MS (Kataoka *et al.*, 2000; Vas y Vékey, 2004; Escuderos, 2011; Yildiz-Tiryaki, 2012).

#### 1.10.8.1 Aceites vegetales y biosíntesis del flavor

##### 1.10.8.1.1 *Lipoxigenasa*

Los precursores utilizados por esta vía son los ácidos grasos poliinsaturados. Las reacciones enzimáticas son capaces de oxidar los ácidos grasos para producir



hidroperóxidos y otros compuestos oxigenados selectivamente (Gargouri *et al*, 2008). La formación inicial de hidroperóxidos puede ocurrir ya sea por autooxidación o por la acción de enzimas tales como lipoxigenasas (9-LOX y 13-LOX) o  $\alpha$ -dioxigenasa ( $\alpha$ -DOX). El metabolismo de los PUFAs a través de la etapa catalizada por LOX y las reacciones posteriores se denominan colectivamente la vía de LOX (Feussner y Wasternack, 2002). El primer paso en la ruta implica la liberación de ácidos grasos poliinsaturados de triacilgliceroles por una lipasa/acil hidrolasa. La lipoxigenasa transforma luego los ácidos grasos poliinsaturados (ácido linoleico y linolénico) que tienen una estructura de (Z)1,(Z)4-pentadienoico en 9- o 13-hidroperóxidos del ácido graso correspondiente (Gargouri *et al*, 2008).

#### 1.10.8.1.2 Hidroperóxido liasa

La enzima hidroperóxido liasa (HPL) está ampliamente distribuida en el reino vegetal. Esta enzima cataliza la escisión del hidroperóxido en los productos de reacción de LOX en el enlace entre el carbono que lleva la función hidroperóxido y el doble enlace adyacente para dar un aldehído y un oxoácido de acuerdo con el sustrato de partida. En las plantas, estas enzimas se pueden clasificar en dos grupos:

- La actividad de hidroperóxido liasa que cataliza la escisión del ácido graso 9-hidroperoxido para producir un C9-oxoácido y un C9-aldehído. Esta actividad se encuentra en las peras (Gargouri *et al*, 1998).
- La actividad que cataliza la escisión del ácido graso 13-hidroperoxido para producir un C12-oxoácido y el C6-aldehído (Hatanaka *et al.*, 1981), esta actividad se encuentra en tomates (Suurmeijer *et al.*, 2000), y aceitunas (Salas *et al.*, 2013).

Los aldehídos que se forman en este segundo caso, son hexanal y (Z)-3-hexenal, siendo este último isomerizado por una isomerasa o un factor de isomerización no proteico a (E)-2-hexenal o aldehído de la hoja. Este compuesto, denominado así porque junto con el 3-hexenol o alcohol de la hoja son los principales contribuyentes a “notas verdes” características de las diferentes especies de plantas en función de su entorno y la estación (Hatanaka, 1996). Los productos aldehídos de la escisión enzimática de hidroperóxidos tienen olores diferentes que dependen de sus estructuras (Tabla 10).

Tabla 10. Productos de la ruta de la lipoxigenasa.

Sustratos	Posición	Compuestos responsables de la “notas verdes”	
		Aldehídos	Alcoholes
Ácido linoleico	C13	hexanal (olor aceitoso, verde, frutado)	hexan-1-ol (verde aceitoso)
Ácido $\alpha$ -linolénico	C13	(Z)3-hexenal (hojas verdes, césped cortado)	(Z)3-hexen-1-ol (hierba verde y fresca)
		(E)2-hexenal (hoja verde, fruta)	(E)2-hexenol (verde intenso, fruta)
Ácido linoleico	C9	(Z)3-nonenal (pepino)	(Z)3-nonenol
		(E)2-nonenal (cítrico)	(E)2-nonenol (melón, cera)
Ácido $\alpha$ -linolénico	C9	(Z)3,(Z)6-nonadienal (melón, pepino, pimienta)	(Z)3,(Z)6-nonadienol (sandía)
		(Z)2,(Z)6-nonadienal (vegetal verde, pepino)	(Z)2,(Z)6-nonadienol (hierba verde, calabaza)

#### 1.10.8.1.3 Alcohol deshidrogenasa

La alcohol deshidrogenasa (ADH) es la última enzima implicada en la producción de alcoholes por la vía de la lipoxigenasa. La enzima cataliza, en presencia de un cofactor, la conversión de aldehídos a alcoholes o viceversa. La actividad de alcohol deshidrogenasa está presente en plantas, animales y microorganismos (Gargouri *et al.*, 2008). Los aldehídos volátiles formados por el sistema enzimático LOX/HPL pueden ser reducidos por la acción de la enzima ADH que cataliza la reacción reversible. El alcohol formado puede reaccionar con un acil-CoA en un paso catalizado por la enzima alcohol aciltransferasa (AAT), para formar los correspondientes ésteres. Esta reacción es típica de ciertos frutos como la fresa y el plátano (Pérez *et al.*, 1993; Olías *et al.*, 1995). En la Figura 12, se muestra la ruta de la lipoxigenasa (Gigot *et al.*, 2010).

#### 1.10.8.2 Mecanismos de oxidación de los lípidos

La oxidación de lípidos, o la autooxidación, se produce cuando un triglicérido o un ácido graso libre están en contacto con el aire y la luz. Por lo general, la luz es el iniciador de una auto-propagación, que forma reacciones radicales (Ho y Shahidi, 2005).

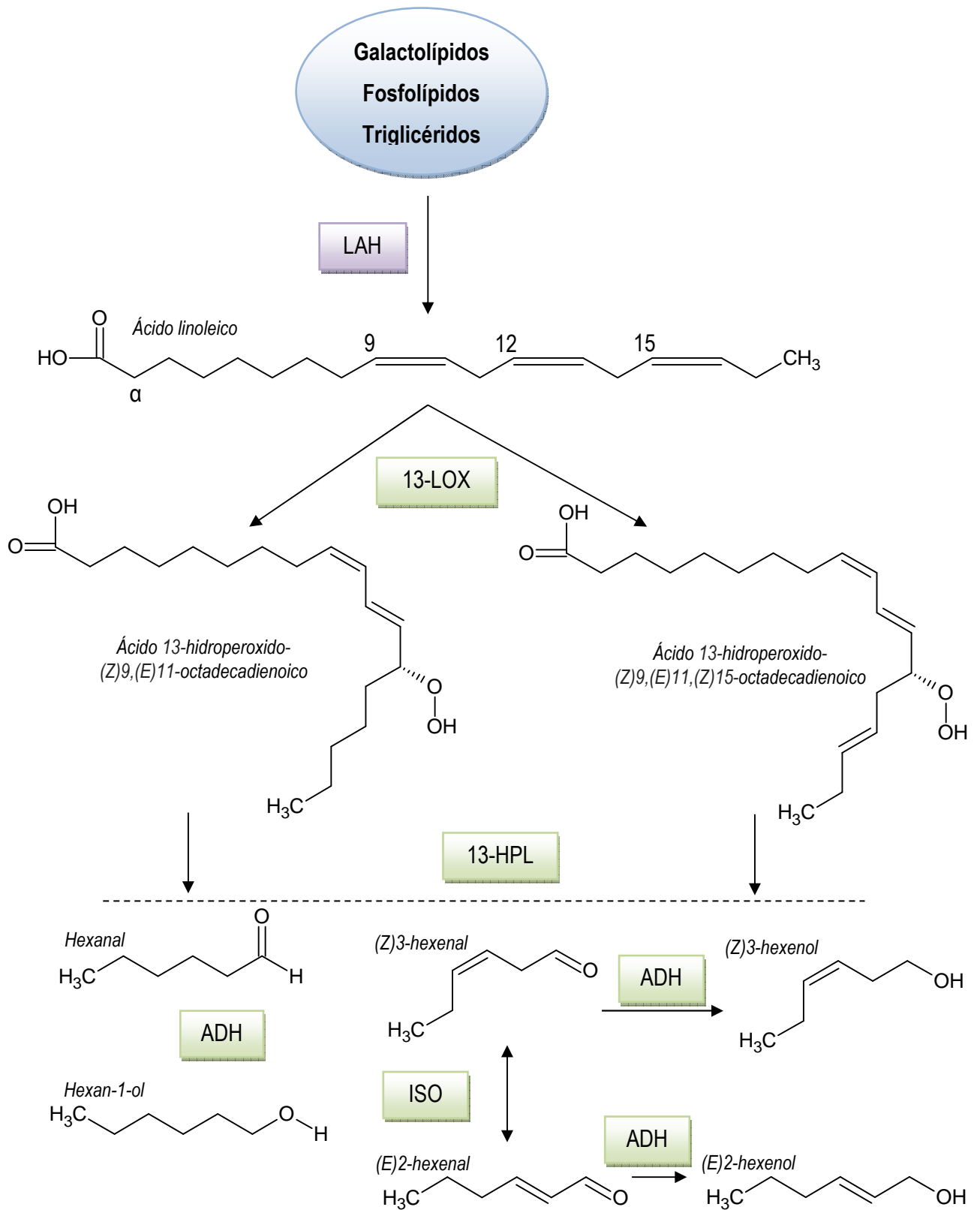


Figura 12. Esquema de la vía de la lipoxigenasa: ISO, isomerasa; LAH, lipasa/acil hidrolasa; HPL, hidroperóxido liasa; ADH, alcohol deshidrogenasa.

Tabla 11. Algunos aldehídos volátiles obtenidos a partir de la autoxidación de los ácidos grasos insaturados.

Ácidos grasos	Monohidroperóxidos	Aldehído formado
Oleato	8-OOH	2-undecenal decanal
	9-OOH	2-decenal nonanal
	10-OOH	nonanal
	11-OOH	octanal
Linoleato	9-OOH	2,4-decadienal 3-nonenal
	13-OOH	hexanal
Linolenato	9-OOH	2,4,7-decatrienal 3,6-nonadienal
	12-OOH	2,4-heptadienal 3-hexenal
	13-OOH	3-hexenal
	16-OOH	propanal
Araquidonato	5-OOH	2,4,7,10-hexadecatetraenal 3,6,9-pentadecatrienal
	8-OOH	2,4,7-tridecatrienal 3,6-dodecadienal
	9-OOH	3,6-dodecadienal
	11-OOH	2,4-decadienal 3-nonenal
	12-OOH	3-nonenal
	15-OOH	hexanal
Eicosapentaenoato	5-OOH	2,4,7,10,13-hexadecapentaenal 3,6,9,12-pentadecatetraenal
	8-OOH	2,4,7,10-tridecatetraenal 3,6,9-dodecatrienal
	9-OOH	3,6,9-dodecatrienal
	11-OOH	2,4,7-decatrienal 3,6-nonadienal
	12-OOH	3,6-nonadienal
	14-OOH	2,4-heptadienal
	15-OOH	3-hexenal
	18-OOH	propanal

La reacción de autoxidación se puede dividir en tres pasos: Durante la primera etapa (iniciación), un iniciador, por lo general los fotones de la luz, desencadena la generación de un radical libre restando un hidrógeno (H) de una grasa insaturada (RH). La energía de disociación para el H en el carbono adyacente a un doble enlace es bastante baja (Ohloff *et al.* 1987) y, por lo tanto, este H se libera con la generación de radicales libres (R•, H•). Una vez que un radical libre (R•) está formado, reacciona con el O<sub>2</sub> para generar el radical peroxilo (ROO•), que, a su vez, lentamente sustrae los H de otras moléculas de RH. Estas dos etapas se denominan propagación ya que la reacción de auto-propagación se produce hasta que no se dispone de O<sub>2</sub>. Los productos no radicales se forman durante la etapa de terminación, como consecuencia de la reacción entre los radicales libres (Ho y Shahidi, 2005). Los hidroperóxidos generados durante la etapa de propagación descomponen aún más para producir aldehídos (Tabla 11), cetonas, ácidos y alcoholes, que causan la aparición de off-flavors en grasas y aceites. Aunque estas reacciones parecen ocurrir de una manera escalonada, se producen simultáneamente y competitivamente. Algunos aldehídos, particularmente los aldehídos insaturados, son compuestos de flavor muy potentes. En la Tabla 12, se muestran las características de algunos aldehídos comunes que se encuentran en las grasas y aceites (Morales *et al.*, 1997).

#### 1.10.8.3 Diferencias de aromas en aceites vírgenes y refinados

Entre los aceites vegetales, el aceite de oliva virgen tiene una especial característica porque es extraída del frutos maduros de buena calidad y es consumido sin un proceso de refinado, por lo que retienen compuestos minoritarios que dan origen a un aroma delicado y único (Morales *et al.*, 2013). Existe un amplio consenso que las enzimas endógenas de las plantas, son responsables de aromas agradables (percepción del aroma positivo), principalmente a través de la cascada de la lipoxigenasa (LOX) (Morales y Aparicio, 1999).

Los procesos de desgomado, refinado con álcali, blanqueo y desodorización retiran el 99,8% de fosfolípidos, 90,7% de hierro, 100% de clorofila, 97,7% de ácidos grasos libres y 31,8% de tocoferoles en aceite de soja (Jung *et al.*, 1989). La desodorización es último paso importante en el proceso de refinación de los aceites comestibles. Este

procesos tienen la responsabilidad de retirar ácidos grasos libres y compuestos volátiles (Ruiz-Méndez *et al.*, 2013), que están presentes de forma natural o formados durante el procesamiento de grasas y aceites (Gavin, 1978). La formación de compuestos volátiles en aceites refinados se da por oxidación de las grasas durante el procesamiento y almacenamiento debido a los efectos de la humedad, temperatura y el oxígeno atmosférico (Min y Kim, 1985; Ruiz-Méndez *et al.*, 2013).

Tabla 12. Características sensoriales de algunos aldehídos.

Aldehído volátil	Características de olor
pentanal	Madera, amargo, aceitoso
hexanal	Graso, césped, aceitoso, fuerte
heptanal	Aceitoso, graso, madera, penetrante, nuez
octanal	Graso, áspero, cítrico
nonanal	Graso, cera, pintura, cítrico
decanal	Penetrante, dulce, pintura, cera
undecanal	Graso, seboso
2-hexenal	Dulce, aromático, almendra
2-heptenal	Oxidado, seboso, picante
2-octenal	Herbáceo, picante
2-nonenal	Penetrante, graso, cera, nuez, rancio
2-decenal	Pintura, pescado, graso
2-undecenal	Fresco, afrutado, piel de naranja
2,4-heptadienal	Graso, rancio, avellana
2,4-decadienal	Fuerte, graso, cítrico

### 1.11 Color y apariencia de los aceites comestibles

La mayoría de los aceites son líquidos de color amarillo a rojo o ámbar. El color se debe a la presencia de clorofilas y carotenoides (Shahidi, 2005). La medida del color es de gran importancia para los productos alimenticios debido a la relación existente entre tales atributos y la aceptabilidad de los alimentos por los consumidores (Calvo *et al.*, 2001).

El color está profundamente afectado por la fuente vegetal, así como por los procesos de extracción y refinado, que pueden en general, reducir las sustancias coloreadas

presentes originalmente. También la apariencia de un aceite puede ser un indicador de un problema que se haya producido durante el mezclado y almacenamiento (Piergiovanni y Limbo, 2009). Cada aceite tiene su color propio características, debido principalmente a la presencia de carotenoides y/o pigmentos clorofílicos o de gosipol.

La Sociedad Americana de Química de Aceites (AOCS) ha propuesto cuatro métodos oficiales para la determinación del color de las grasas y aceites. Estos métodos son de Lovibond (AOCS Cc 13e-92), Wesson (AOCS Cc 13b-45), espectrofotometría (AOCS Cc 13c-50) y el color de la clorofila (AOCS Cc 13d-55) (Official Methods of Analysis, 1999). Este último método no es aplicable para aceites hidrogenados y desodorizados porque 670 nm, representa el máximo de absorbancia para la clorofila y este compuesto está ausente en la mayoría de aceites procesados. El método de color Lovibond es el más utilizado para la medición del color en la industria de aceites comestibles, pero requiere un colorímetro Lovibond. Un colorímetro Lovibond está organizado en dos campos de visión adyacentes, a través del tubo ocular, de modo que se observan el campo de la muestra y el campo de comparación, tiene estándares permanentes, juegos de filtros de vidrio rojo, amarillo y azul. El método espectrofotométrico, es un procedimiento instrumental que elimina el juicio visual de un asesor, que es requerido tanto en los métodos Lovibond como Wesson. Este método depende del cálculo de la absorbancia a cuatro longitudes de onda definidas. Los resultados pueden ser transformados a valores de color Lovibond o Wesson mediante una ecuación (Kılıç *et al.*, 2007).

Actualmente, CIE  $L^*a^*b^*$ , XYZ, Hunter *Lab*, y RGB (Red, Green, Blue) son los modelos de color alternativos que podrían ser utilizados en la evaluación objetiva del color de los aceites vegetales.  $L^*a^*b^*$  es una norma internacional para las medidas de color, adoptada por la Commission Internationale d'Eclairage (CIE). Los valores de  $L^*a^*b^*$  han sido ampliamente utilizados en estudios de alimentos.  $L^*$  es el componente de claridad que varía de 0 a 100.  $a^*$  (de verde a rojo) y  $b^*$  (de azul a amarillo) son dos componentes cromáticos que van desde -120 hasta 120 (Escolar *et al.*, 2002).

### **1.12 Evaluación sensorial de aceites vegetales**

La evaluación sensorial es una disciplina científica que utiliza el ser humano para medir la aceptabilidad y las propiedades sensoriales de los alimentos y otros materiales. Las propiedades sensoriales importantes en los productos alimenticios incluyen atributos de aspecto, olor, sabor y textura. El uso de seres humanos como instrumentos de medición es necesario porque sólo los seres humanos pueden definir lo que es “aceptable” y en muchos casos, no existe un método instrumental o químico que puede medir adecuadamente o repetir la respuesta humana. Por esta razón, la evaluación sensorial es un componente vital en cualquier programa de evaluación de la calidad. En estos programas, la evaluación sensorial se puede utilizar para controlar la calidad del producto; determinar los efectos de procesamiento alternativo, ingredientes, o formulaciones; evaluar el envasado, y determinar la vida útil del producto (Malcolmson, 2005).

El conjunto de sensaciones olfativas y gustativas (amargo, dulce) de un alimento, complementadas por las sensaciones táctiles o quinesísticas (fluidez, picante), percibidas por los receptores táctiles y olfativos situados en la cavidad bucal durante la cata, reciben la denominación de flavor (Reineccius, 2005). En los aceites vegetales comestibles, los compuestos volátiles se han relacionado principalmente con las notas sensoriales olfativas percibidas tanto por vía nasal directa como por vía retronasal directa (se trata de aromas que una vez que el aceite está en la boca, recuerdan a una o varias frutas, flores, hierbas u otros vegetales, como por ejemplo: alcachofa, almendra, camomila, cítricos, eucaliptus, flores, frutas del bosque, hierba, hierbas aromáticas, hoja de higuera, hoja de olivo, manzana, nuez, pimienta verde, pimienta, piñón, tomate, tomatara, vainilla, etc.), por lo que son responsables del aroma global que se aprecia en estos productos.

La caracterización sensorial de un aceite virgen es de suma importancia para la uniformidad, reproducibilidad y confiabilidad de los resultados. Las pruebas de diferencia y pruebas descriptivas son las principales pruebas utilizadas para evaluar las grasas y la calidad del aceite. En las pruebas de diferencia, los panelistas sólo determinan si hay una diferencia entre las muestras. El grado de diferencia no está



determinado. En contraste, las pruebas descriptivas cuantitativas permiten a los panelistas evaluar las intensidades de varios atributos resultantes en una descripción completa o perfil de las muestras (Malcolmson, 2005). El método sensorial elegido para una prueba depende del tipo de información requerida. En la [Tabla 13](#), se muestran varios de los métodos de ensayo disponibles y es importante estar familiarizado con ellos con el fin de aplicar el método adecuado para lograr los resultados correctos.

Tabla 13. Resumen de pruebas sensoriales orientadas al producto y orientadas al consumidor.

Tipo de prueba	Procedimiento de prueba y objetivo	Método de prueba
Orientada al producto	Umbral-medida del nivel al cual una característica sensorial puede ser detectada	Método de límites Error promedio Frecuencia
	Diferencia-medida de la diferencia o similitud entre productos o atributos de productos	Comparación pareada Duo-trio Doble estándar Triangulo
	Escalonamiento-medida de intensidad de un atributo del producto	Ranking Categoría Estimación de magnitud
	Duración-mide el tiempo en el cual se detecta un atributo	Tiempo-intensidad
	Análisis descriptivo-medida de la intensidad de varios atributos asociados con el producto	Perfil del flavor Perfil de la textura Análisis descriptivo cuantitativo Desviación de referencia
Orientada al consumidor	Aceptación-medida de la aceptación de un producto	Comparación pareada
	Preferencia-medida que productos son preferidos	
	Hedónica-medida del grado de gusto/disgusto para un producto	Ranking Categoría

### 1.13 Trazabilidad alimentaria

La trazabilidad alimentaria implica el control de toda la cadena de producción y comercialización del alimento, lo que permite que los alimentos sean rastreados a través de cada paso de su producción y se garantice la calidad del producto final. La verificación de la trazabilidad de los alimentos es necesaria para la prevención de un etiquetado incorrecto o accidental, lo cual es muy importante en la seguridad de la salud pública. En consecuencia, la trazabilidad de los alimentos es requerida por los consumidores y las organizaciones gubernamentales, ya que es un componente importante de la seguridad alimentaria. Por lo tanto, el Reglamento de la [Comunidad Europea \(2002a\)](#), establece la base para asegurar un nivel elevado de protección de la salud humana y los intereses de los consumidores en relación a la alimentación.

Según el Reglamento de la [Comunidad Europea \(2002a\)](#), la trazabilidad es *“la posibilidad de encontrar y seguir el rastro, a través de todas las etapas de producción, transformación y distribución, de un alimento, un pienso, un animal destinado a la producción de alimentos o una sustancia destinados a ser incorporados en alimentos o piensos o con probabilidad de serlo”*.

Según el [Codex Alimentarius \(2004\)](#), *“Trazabilidad es la capacidad para seguir el movimiento de un alimento a través de etapa(s) especificada(s) de la producción, transformación y distribución”*.

Algunos aspectos del sistema de trazabilidad: Son los siguientes

- Es un requisito para la gestión de una empresa alimentaria, que requiere procedimientos documentados orientados a la identificación de todo producto que se encuentre bajo la responsabilidad de cada operador.
- Recopila y coteja información que se elige y lo enlaza a sus ingredientes y materias primas, procesos tecnológicos y productos, así como cualquier otro aspecto que pueda tener influencia sobre los mismos.
- Debe proporcionar toda la información imprescindible y necesaria sobre un producto puesto en el mercado por una empresa y, en su caso, permitir a ésta la

adopción de medidas eficaces, contribuyendo a alimentar la transparencia necesaria para sus clientes y Administración.

- Es un instrumento que proporciona información dentro de la empresa con el fin de facilitar la gestión y el control de las distintas actividades. Aunque puede y debe ser usada ante la aparición de problemas, en ningún momento debe ser confundida con un mecanismo destinado de forma exclusiva a la retirada de productos del mercado.

Según la Guía para la aplicación del sistema de trazabilidad, editada por la [Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición \(2009\)](#), se deben tener en cuenta aspectos como las materias primas utilizadas; la manera en la que se ha manipulado, producido, transformado y presentado el producto; su procedencia y destino; y los controles a los que se ha sometido. En la guía se especifican, entre otros muchos aspectos, los distintos tipos de trazabilidad:

#### 1.13.1 Trazabilidad hacia atrás (backward traceability or tracing)

Hace referencia a la procedencia de los productos, qué se ha recibido, cuándo y qué se ha hecho con ellos. Otras definiciones:

- La capacidad de rastrear los productos alimenticios de arriba y abajo de la cadena de producción a través de todas las etapas de la producción ([Schwägele, 2005](#)).
- Capacidad para trazar bien a lo largo de la cadena de distribución sobre la base del número de lote o número de serie ([Tamayo et al., 2009](#)).
- Capacidad para trazar la historia de un producto a través de la cadena de suministro hacia o desde el lugar y el momento de la producción, incluyendo la identificación de los insumos utilizados y las operaciones de producción empleada ([Manos y Manikas, 2010](#)).
- Probabilidad de encontrar la fuente de un problema ([Resende-Filho y Hurley, 2012](#)).

#### 1.13.2 Trazabilidad de procesos (internal traceability)

Se refiere al momento en el que los productos se dividen, cambian o mezclan, qué es lo que se elabora, a partir de qué, cómo, cuándo y, por último, la identificación final del producto. Otras definiciones:

- Trazabilidad entre la unidad recibida (unidad de materia prima) y la unidad vendida (unidad de producto) a nivel de procesamiento de alimentos (FMRIC, 2008).
- A partir de cuando los productos son aceptados en el área de recepción en una planta de alimentos (Bunsey, 2012).
- Trazabilidad interna es la documentación de todos los cambios que se producen entre la recepción de elementos entrantes y el producto terminado. Esta documentación incluye el registro de datos en los procesos internos, como: recepción, inspección, separación, estandarización, mezclado, embalaje, almacenamiento, envío, etc. (Bunsey, 2012).

### 1.13.3 Trazabilidad hacia delante (forward traceability or tracking)

A quién se entrega, qué se ha entrega y cuándo. Otras definiciones:

- Registro y seguimiento de las partes, los procesos y los materiales utilizados en la producción (Rábade y Alfaro, 2006).
- Capacidad de seguir el movimiento de los alimentos a través de las etapas específicas de producción, transformación y distribución (Hobbs *et al.*, 2005; Levinson, 2009; Hall, 2010).
- Trazando el origen y el destino de los productos alimenticios y componentes (Kher *et al.*, 2010).
- Capacidad de seguir cualquier alimento, pienso, producción de alimentos de origen animal o sustancia que se utiliza para el consumo, a través de todas las etapas de producción, transformación y distribución (Thakur y Donnelly, 2010).

Los sistemas que se desarrollen, consecuencia de lo establecido en dicho artículo, deberán cumplir los mismos objetivos del Reglamento 178/2002, del que forman parte (1) lograr un nivel elevado de protección de la vida y la salud de las personas, (2) proteger los intereses de los consumidores, (3) evitar: las prácticas fraudulentas o engañosas, la adulteración de alimentos y cualquier otra práctica que pueda inducir engaño al consumidor.

La cadena alimentaria contemporánea (FSC) debería proporcionar adecuadamente la información que los consumidores y otros organismo competentes necesitan conocer

tales como la variedad de los atributos de los alimentos, el país de origen, la salud del animal, y las cuestiones relacionadas con la ingeniería genética. Para ello, un eficaz sistema de trazabilidad de los alimentos (FTS) es importante (Bosona y Gebresenbet, 2013). La información de la literatura proporciona estudios que abordan temas de trazabilidad de los alimentos en la perspectiva mundial en los que se incluyen casos de ganado y productos cárnicos, pescado y productos del mar, frutas y verduras y otros productos alimenticios. Bosona y Gebresenbet, 2013, indican que el sistema de trazabilidad de los alimentos esta focalizado con el 62% en Europa, 20% Norte América (USA y Canadá), 14% en Asia y Sud América, 4% en Oceanía (Australia y Nueva Zelanda) y en África no se ha realizado un estudio en trazabilidad de alimentos.

## **1.14 Trazabilidad alimentaria y herramientas analíticas**

### **1.14.1 Caracterización y autenticidad**

Para llevar a cabo una correcta trazabilidad alimentaria es necesario disponer de herramientas analíticas adecuadas para determinar una serie de marcadores de trazabilidad que permitirán caracterizar los alimentos y establecer las diferencias entre los mismos en función de las posibles variaciones existentes. Para ello es necesario el ensamblaje de diversos aspectos tales como caracterización-autenticación-calidad por lo que es necesario, la participación de diferentes métodos analíticos, información de diferentes compuestos y aplicación de procedimientos quimiométricos capaces de extraer la información adecuada y de combinarla de forma precisa para poder realizar el seguimiento de la trazabilidad integral del producto final (Cajka y Hajslova, 2012).

Una amplia variedad de métodos se han desarrollado para la evaluación de la autenticidad de los alimentos. Hoy en día, hay una tendencia a la utilización del perfil y la huella dactilar. La huella dactilar de una muestra se realiza para los análisis comparativos destinados a la detección de diferencias, mientras que el perfil de las muestras se centra en los componentes individuales de la muestra (incluidos los componentes durante el procesamiento de alimentos) a ser identificados para análisis posteriores (Wishart, 2008). En ambos casos, el esfuerzo analítico es recoger el máximo de información (características, marcadores) en la composición de la muestra en comparación con el enfoque anterior de un único o sólo unos pocos marcadores. El

perfil y la huella dactilar están basados sobre la medida de la composición de los alimentos de una manera no selectiva o selectiva. Los datos del perfil y huellas dactilares pueden ser cromatogramas, medidas espectroscópicas, espectrométricas (señales específicas o espectros completos) obtenidos por espectroscopia infrarroja, espectroscopia Raman, resonancia magnética nuclear (NMR), espectrometría de masas (MS), ultravioleta-visible (UV-VIS) o fluorescencia (Mannina y Di Tullio, 2009). Los datos del perfil y huellas dactilares pueden generar grandes cantidades de información (variables o características) para un gran número de muestras (objetos) en un tiempo relativamente corto. Por lo tanto, se requieren herramientas quimiométricas con el fin de extraer eficientemente el máximo de información útil de los datos experimentales.

#### 1.14.2 Quimiometría fusión cromatografía

Los métodos quimiométricos son herramientas de gran potencial para el tratamiento de los datos químicos multivariados tales como la obtenida a partir de la cromatografía (Figura 13). Entre las muchas características quimiométricas aplicadas, se pueden resaltar las siguientes (Bosque-Sendra *et al.*, 2012):

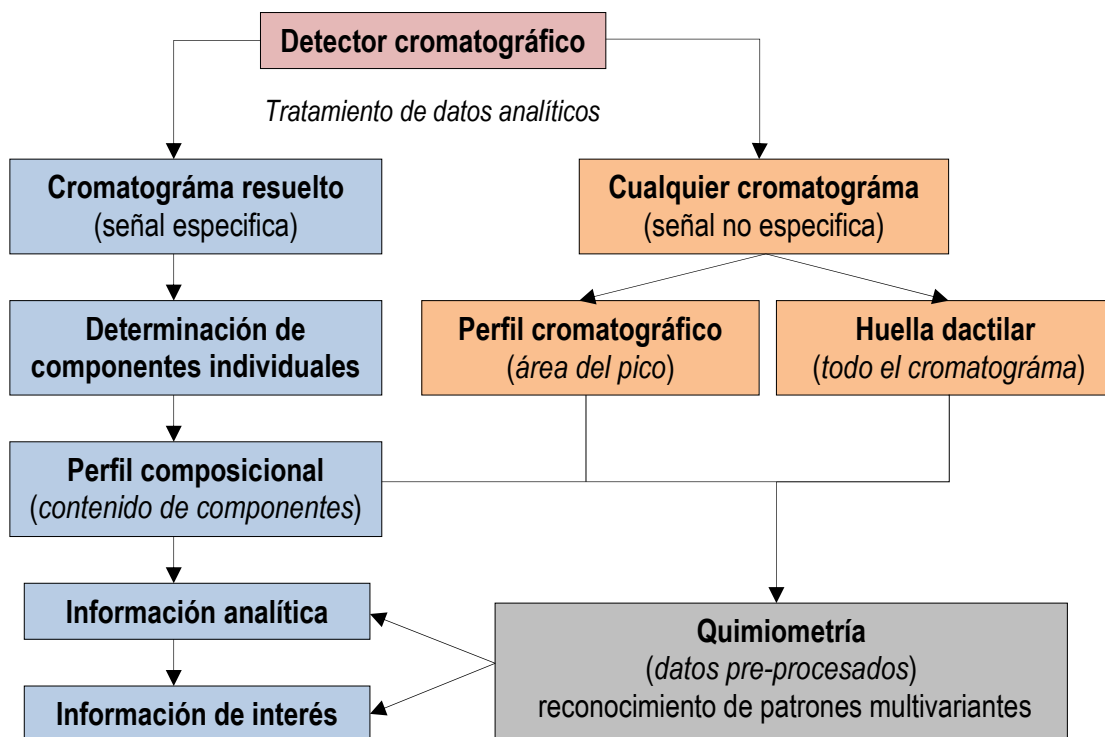


Figura 13. Diferentes estrategias para la obtención de matrices de datos multivariantes para la aplicación quimiométrica en la cromatografía.

- Estimación de modelos de comportamiento de los datos químicos y proveer tanto modelos explícitos (reconocimiento de patrones, funciones matemáticas, etc.) o modelos implícitos (reglas de comportamiento).
- Proporcionar criterios y parámetros para evaluar la calidad de los modelos obtenidos.
- Los modelos pueden ser validados, ya sea con muestras externas o por medio de validación cruzada.
- Si el tamaño de la muestra es adecuado, los modelos obtenidos son robustos y pueden proporcionar conclusiones objetivas y verificables.
- Establecimiento de las relaciones entre las variables químicas y los parámetros característicos de los métodos quimiométricos.

#### 1.14.3 Análisis de datos exploratorios

El análisis exploratorio de los datos y el reconocimiento de patrones son herramientas quimiométricas que están diseñados para identificar las similitudes o formas de comportamiento de las muestras analizadas o variables medidas en una matriz de datos. Dependiendo del tipo de información para ser analizados, pueden considerarse dos tipos de análisis: (1) análisis de datos exploratorios, (2) reconocimiento de patrones, que podrían ser separados en análisis supervisados y no supervisados (Cajka y Hajslova, 2012; Bosque-Sendra *et al.*, 2012). En los métodos de reconocimiento de patrones, el objetivo es el comportamiento entre las muestras y variables. Dependiendo del punto de partida, se pueden establecer dos tipos de métodos:

#### 1.14.4 Métodos de reconocimiento de patrones no supervisados

Ellos tratan de establecer la existencia de grupos de muestras en la matriz de datos, teniendo en cuenta las similitudes entre ellos, sin información previa de tal existencia. Uno de los más utilizados es el análisis de agrupamiento jerárquico (HCA) y el análisis de componentes principales (PCA) (Bosque-Sendra *et al.*, 2012).

#### 1.14.5 Métodos de reconocimiento de patrones supervisados

En estos métodos, las muestras pertenecientes a una clase o grupo en particular son conocidos y el objetivo es el establecimiento de modelos de clasificación implícitos o

Tabla 14. Caracterización y autenticación de aceites vegetales.

Matriz de datos	Equipo	Quimiometría	Muestra	Referencia
Perfil de TAG	RP-HPLC-ELSD	CDA	Aceite de nueces ( <i>Juglans regia</i> L.)	<a href="#">Amaral et al., 2004</a>
Espectros	FTIR	PLSR, DA	Aceite de frutos rojos ( <i>Pandanus conoideus</i> Lam)	<a href="#">Rohman et al., 2011</a>
Perfil de FA	HPLC-UV, GC-FID	PLSR	Aceites vegetales	<a href="#">Guarrasi et al., 2010</a>
Espectros	FTIR	SIMCA, PLSR	Aceite de Sacha inchi	<a href="#">Maurer et al., 2012</a>
Perfil de FA, Toc y CIELAB	GC-FID, HPLC-UV, PFX190	PCA	Aceites vegetales	<a href="#">Giacomelli et al., 2006</a>
Perfil de fenoles y volátiles	HPLC-DAD, HS-SPME-GC	PCA	Aceite de oliva virgen	<a href="#">García-González et al., 2010</a>
Microondas	TDR	PCA, PLSR	Aceites vegetales	<a href="#">Cataldo et al., 2012</a>
Perfil de FA y Toc	GC-FID, HPLC-UV-vis	PCA	Aceite de Sacha inchi	<a href="#">Pereira de Souza et al., 2013</a>
Fotometría	Imagen digital	SLDA, SPA-LDA	Aceites vegetales	<a href="#">Melo y Pontes, 2014</a>
Perfil de TAG	HTGC-MS	SIMCA, PLSR	Aceite de oliva y aceites vegetales	<a href="#">Ruiz-Samblás et al., 2012</a>
Perfil de volátiles	GC-ITMS, GCxGC-TOFMS	SLDA, ANN-MLP	Aceite de oliva	<a href="#">Cajka et al., 2010</a>
Perfil de esteroides y dioides triterpénicos	GC-FID	MANOVA, PCA, SLDA	Aceite de oliva	<a href="#">Lukić et al., 2013</a>
Espectros	<sup>31</sup> P y <sup>1</sup> H NMR	SLDA	Aceites comestibles	<a href="#">Vigli et al., 2003</a>
Perfil de FA, TAG y Toc	HPLC-ELSD, HPLC-DAD, GC-FID,	CDA	Aceite de avellana ( <i>Castanea sativa</i> Miller)	<a href="#">Barreira et al., 2012</a>

TAG=triglicéridos, FA=ácidos grasos, Toc=tocoferoles, CDA=análisis discriminante canónico, DA=análisis discriminante, SIMCA=modelado blando independiente de analogías de clases, PCA=análisis de componentes principales, SLDA=análisis discriminante lineal por pasos, SPA=algoritmo de las proyecciones sucesivas, ANN=redes neuronales artificiales, MLP=perceptrón multicapa, MANOVA=Análisis Multivariado de Varianza, RP=fase reversa, ELSD=detectador de dispersión de luz evaporativa, UV=ultra violeta, vis=visible, PFX190=Lovibond, CIELAB=parámetros de color, TDR=reflectometría de dominio del tiempo, HS=espacio de cabeza, SPME=microextracción en fase sólida, ITMS=Espectrómetro de masas de trampa de iones, GCxGC=cromatografía gaseosa bidimensional, TOFMS=espectrometría de masas por tiempo de vuelo, <sup>31</sup>P y <sup>1</sup>H NMR=espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (<sup>1</sup>H) y fósforo (<sup>31</sup>P). Otros acrónimos están descritos en la [Tabla 8](#).



explícitos. Por lo tanto, el uso de un conjunto de muestras, llamado un conjunto de entrenamiento, es establecido para el modelo de clasificación. Este modelo de clasificación se utiliza para predecir la pertenencia de una muestra que no fue incluido en el conjunto de entrenamiento. Para validar el modelo de clasificación, un conjunto de muestras que es independiente del conjunto de entrenamiento, llamado el conjunto de validación, es usado, las clases de las muestras son conocidas. La mejor o peor clasificación para cada una de las muestras desde el conjunto de validación, mide la calidad del modelo (capacidad de reconocimiento, previsibilidad, robustez). Los métodos de reconocimiento de patrones supervisadas más comúnmente utilizados son: el análisis discriminante (DA), la clasificación k-vecinos más cercanos (k-NN), modelado blando independiente de analogías de clases (SIMCA) y el análisis discriminante con mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) (Berrueta *et al.*, 2007). Principales características de los métodos de reconocimiento utilizados para caracterizar los aceites vegetales, se describen en la [Tabla 14](#).

## CAPÍTULO II

## OBJETIVOS



Actualmente no existe mucha información sobre la composición del aceite de Sacha inchi. Sin embargo se está produciendo un incremento en su comercialización tanto a nivel local como internacional. Muchos proyectos desarrollados en el Perú tienen como objetivo incrementar el volumen de negocios de empresas y asociaciones de productores que cumplen principios y criterios de biocomercio. Pero la mayor parte de los estudios realizados *in situ* están centrados en la evaluación del rendimiento de la semilla y aspectos relacionados con el cultivo. Desde el punto de vista de caracterización el mayor esfuerzo se ha centrado en la determinación del contenido de ácidos grasos especialmente ácido linoleico y linolénico que son los ácidos poliinsaturados mayoritarios.

El objetivo general de esta tesis es determinar los diferentes parámetros químicos y físico-químicos que permitan caracterizar el aceite de Sacha inchi y evaluar su potencial como marcadores de trazabilidad que permitan diferenciar los aceites obtenidos a partir de semillas de Sacha inchi. Para poder cristalizar el objetivo general, el trabajo se planteó en desarrollar los siguientes objetivos específicos:

- Determinación de los parámetros de calidad del aceite de Sacha inchi y evaluación de la estabilidad oxidativa e índice de color mediante el espacio de color uniforme CIELAB.
- Caracterización del aceite de Sacha inchi basada en el contenido de compuestos de la fracción saponificable (ácidos grasos) y compuestos de la fracción insaponificable (esteroles y alcoholes).
- Caracterización del aceite de Sacha inchi en relación a su contenido de compuestos antioxidantes y responsables del flavor.
- Evaluación sensorial del aceite de Sacha inchi.
- Evaluación de los componentes como posibles marcadores de trazabilidad geográfica.

## CAPÍTULO III

# MATERIALES Y MÉTODOS



### 3.1 Materia prima

#### 3.1.1 Aceites de Sacha inchi comerciales

El estudio fue llevada a cabo utilizando 27 muestras de aceites de Sacha inchi comerciales obtenido de semillas producidas en diferentes regiones de la Amazonia Peruana, según información de los productores (Figura 14). Las muestras fueron obtenidas en supermercados de Lima (San Miguel, Magdalena y Jesús María). La información general está resumida en la Tabla 15.

Tabla 15. Descripción de las muestras de aceite de Sacha inchi.

Muestras	Código	Cosecha	Presentación	Extracción	Volumen
1	IP-001	2011	Botella de vidrio oscuro	No indica	250 mL
2	IP-002	2010	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
3	IP-003	2010	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
4	IP-004	2010	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
5	IP-005	2010	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
6	IP-006	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
7	IP-007	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
8	IP-008	2010	Botella de vidrio oscuro	No indica	250 mL
9	IP-009	2010	Botella de vidrio oscuro	No indica	250 mL
10	IP-010	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
11	IP-011	2011	Botella de vidrio oscuro	No indica	250 mL
12	IP-012	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
13	IP-013	2011	Botella de vidrio ámbar	No indica	250 mL
14	IP-014	2010	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
15	IP-015	2010	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
16	IP-016	2011	Botella de vidrio oscuro	No indica	250 mL
17	IP-017	2011	Botella de vidrio oscuro	No indica	250 mL
18	IP-018	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
19	IP-019	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
20	IP-020	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
21	IP-021	2011	Botella de vidrio oscuro	No indica	250 mL
22	IP-022	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
23	IP-023	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
24	IP-024	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
25	IP-025	2011	Botella de vidrio oscuro	No indica	250 mL
26	IP-026	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL
27	IP-027	2011	Botella de vidrio oscuro	Prensado en frío	250 mL

Todas las muestras se filtraron y se almacenaron a 4°C en oscuridad, usando frascos de vidrio ámbar sin dejar espacio de cabeza, hasta el momento del análisis.

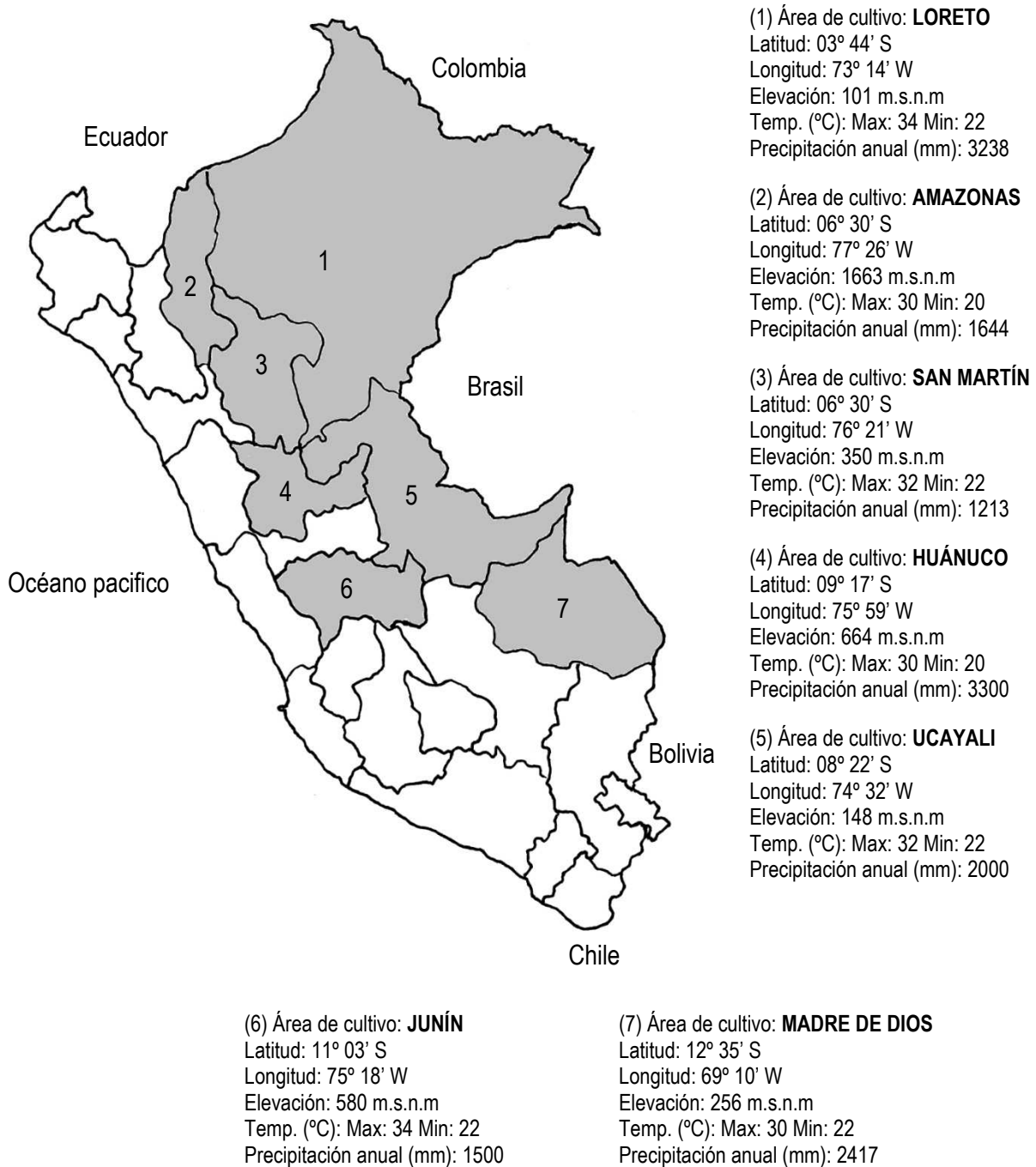


Figura 14. Localización y descripción de las regiones productoras de las muestras de Sacha inchi.

### 3.1.2 Semillas de Sacha inchi

Las muestras de semillas de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), fueron seleccionadas bajo un estricto criterio de calidad para asegurar su autenticidad. Las semillas fueron proporcionadas por el Banco Nacional de Germoplasma de la Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología, Lima-Perú (SUDIRGEB). Las muestras fueron utilizadas especialmente en la medida de color, perfil de tocoferoles, compuestos volátiles y una muestra fue utilizada como patrón de comparación en el análisis de esteroides y alcoholes.

## 3.2 Reactivos, disoluciones y materiales

### 3.2.1 Acidez

- Etanol 96% pa (Panreac).
- Éter dietílico pa (JT Baker).
- Fenolftaleína 1% en etanol (Panreac).
- Disolución acuosa de KOH 0,1 N (Merck).

### 3.2.2 Índice de peróxidos

- Cloroformo pa (JT Baker).
- Ácido acético pa (Merck).
- Yoduro de potasio pa (Panreac).
- Almidón pa (Sigma-Aldrich).

### 3.2.3 Espectrofotometría UV

- Ciclohexano HPLC (Sigma-Aldrich).
- Matraz aforado de 10 mL (Proton).

### 3.2.4 Ácidos grasos

- Metanol pa (Merck).
- Hexano, mezcla de alcanos (Merck).
- Matraz aforado de 10 y 50 mL (Proton).
- Viales de 1,5 mL (Agilent).
- Septum de silicona/PTFE (Agilent).
- Columna SP-2380 60m x 0,25 mm x 0,2 µm (Supelco).

### 3.2.5 Esteroles y alcoholes

- Sulfato de sodio anhidro (Sigma-Aldrich).
- Placa para TLC (ALUGRAM® SIL G/UV<sub>254</sub>, 0,20 mm, 20 x 20 cm) (Macherey-Nagel).
- Hexametildisilazano: dimetildiclorosilano (HMDS:DMCS) en piridina (3:1:9) (Supelco).
- Estándar interno: 5 $\alpha$ -Colestan-3 $\beta$ -ol y 1-eicosanol (Sigma-Aldrich).
- Matraz esférico, matraz forma de corazón, embudo de decantación (Labbox).
- Equipo de extracción Soxhlet (Labbox).
- Columna capilar HP-5 (30 m longitud, 0,32 mm diámetro interno), recubierta con una película de 0,25  $\mu$ m de espesor de 5% de fenil-metilpolisiloxano (Agilent).
- Insertos de polipropileno de 200  $\mu$ L (Supelco).

### 3.2.6 Tocoferoles

- Estándares de  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocoferol (Merck).
- Hexano HPLC (Merck).
- 2-Propanol HPLC (Merck).
- Columna de sílica gel (Superspher Si60, tamaño de partícula 4  $\mu$ m, 25 cm x 4 mm de diámetro interno) (Merck).

### 3.2.7 Fenoles

- Estándar de ácido siríngico, ácido p-hidroxifenilacético, ácido o-cumarico (Sigma-Aldrich).
- Acetonitrilo HPLC y MS (Merck).
- Metanol HPLC y MS (Merck).
- Agua LC-MS (Panreac).
- Metanol LC-MS (Panreac).
- Acetonitrilo LC-MS (Panreac).
- Ácido fórmico LC-MS (Scharlab).
- Ácido orto-fosfórico (Merck).
- Filtros acrodisc CR 13 mm con membrana PTFE de 0,45 $\mu$ m (Pall).
- Jeringas de PP+PE de 2 mL (Discardit II).
- Columna LiChroCART® 250-4 Superspher® 100 RP-18 (Merck).



- Pre-columna LiChroCART<sup>®</sup> 4-4 LiChrospher<sup>®</sup> 100 RP-18 (5 µm) (Merck).

#### 3.2.8 Compuestos volátiles

- Columna capilar (TRB-WAX 60 m x 0,25 mm de diámetro interno x 0,25 µm de espesor) (Supelco).
- Fibra SPME (fase estacionaria StableFlex 2 cm 50/30 µm de espesor) de divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (Supelco).
- Estándar de 4-metil-2-pentanol (Fluka).
- Viales de 20 mL (Teknokroma).
- Tapón de 20 mm de aluminio con clorobutilo (Teknokroma).
- Septum de politetrafluoroetileno (PTFE) (Teknokroma).

### 3.3 Instrumentación

- Espectrofotómetro UV-VIS diode array HP-8452 (Hewlett Packard, Palo Alto, USA).
- Rancimat modelo 679 (Metrohm AG, Herisau, Suiza).
- Concentrador de vacío plus (Eppendorf AG, Alemania).
- Cromatógrafo de gases con detector FID Varian 3900 (Varian Inc. Holanda).
- Cromatógrafo líquido con detector DAD LaChrom Elite (Hitachi Corporation, Japón).
- Cromatógrafo de gases 7820A con detector MS 5975E (Agilent Technologies).

### 3.4 Parámetros de calidad

#### 3.4.1 Determinación de la acidez libre

La determinación de los ácidos libres del aceite de Sacha inchi fue realizada siguiendo la metodología propuesta por el Reglamento de la [Comunidad Europea \(2011\)](#). Se pesan 20 g de muestra en un erlenmeyer de 250 mL y se añaden 50 mL de una disolución etanol/éter dietílico (1:1 v/v) con 0,15 mL de fenolftaleína al 1% en etanol y se valora con KOH 0,1 N hasta el viraje del indicador (la coloración rosa debe permanecer al menos durante 10 segundos). La expresión de la acidez libre (FFA) se expresa en porcentaje de ácido linolenico.

$$\text{Acidez libre (\%)} = V \times N \times 278 / 10 \times P$$

Donde:

V es el volumen en mL de la disolución valorada de hidróxido de potasio utilizada.

N es la concentración exacta, en moles por litro, de la dilución de hidróxido de potasio utilizada.

M es la masa molecular del ácido en que se expresa el resultado (en nuestro caso, ácido linolenico, M=278).

P es el peso del aceite de Sacha inchi en gramos.

#### 3.4.2 Determinación del índice de peróxidos

El índice de peróxidos mide el grado de oxidación primaria de un aceite, e indica el grado de conservación del mismo. El índice de peróxidos es la cantidad (expresada en mEq de oxígeno activo por kg de grasa) de peróxidos en la muestra que ocasiona la oxidación del yoduro potásico en las condiciones de trabajo descritas.

Se pesan con precisión 2 g de aceite y se añaden 10 mL de cloroformo (disolver rápidamente la muestra mediante agitación), luego adicionar 15 mL de ácido acético y 1 mL de la disolución saturada de yoduro de potasio. Se agita durante 30 segundos y se deja reposar durante 5 minutos en oscuridad. A continuación se añaden 75 mL de agua destilada. Se valora el yodo liberado con la disolución de tiosulfato sódico (0,002 N), utilizando disolución de engrudo de almidón como indicador ([Comunidad Europea, 2011](#)). La expresión del índice de peróxidos (PV), del aceite se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Índice de peróxidos (mEq O}_2\text{/kg)} = V \times N \times 100 / P$$

Donde:

V es el volumen de la disolución valorada de tiosulfato sódico empleados en el ensayo.

N es la normalidad exacta de la disolución de tiosulfato sódico empleado.

P es el peso en gramos de la muestra.

### 3.4.3 Determinaciones espectrofotométricas UV

Los ácidos grasos insaturados son sensibles a las oxidaciones autocatalíticas, induciendo la extensión de este proceso a otros ácidos grasos. En primer lugar aparecen hidroperóxidos, poco estables, que absorben cerca de una longitud de onda de 232 nm. A continuación son las dicetonas y las cetonas  $\alpha$ -insaturadas las que absorben cerca de los 270 nm. También pueden formarse hidroxilos y carbonilos, que incrementan la absorbancia de la radiación ultravioleta entre 260 y 280 nm, con un máximo alrededor de 270 nm.

Las determinaciones espectrofotométricas UV fueron desarrolladas siguiendo el método propuesto por el Reglamento de la [Comunidad Europea \(2011\)](#). Una alícuota de aceite de Sacha inchi fue diluida con ciclohexano (0,5%, p/v), los espectros UV fueron recogidos entre 200 y 300 nm. Los valores de  $K_{232}$  y  $K_{270}$  fueron calculados a partir de las absorbancias a 232 y 270 respectivamente. Los coeficientes de extinción de las longitudes de onda, se calcularon de la siguiente manera:

$$K_{\lambda} = L / C \times E$$

Donde:

$\lambda$  es la longitud de onda a 232 ó 270 nm.

L es la lectura de absorbancia a 232 ó 270 nm.

E es el espesor de la cubeta en cm (1 cm de paso óptico)

C es la concentración de la disolución en g/100 mL.

Los valores de  $\Delta K$  se calcularon de la siguiente ecuación:

$$\Delta K = K_m - (K_{m-4} + K_{m+4})/2$$

Donde:

$K_m$  es la extinción específica a la longitud de onda m, longitud de onda de máxima absorción alrededor de 270 nm.

### 3.5 Índice de estabilidad oxidativa del aceite (osi ip)

Todos los aceites y grasas tienen cierta resistencia a la oxidación que depende del grado de saturación de sus ácidos grasos, de los antioxidantes naturales o añadidos, de la presencia de pro-oxidantes, etc. La oxidación es lenta hasta que esta resistencia se supera, lo cual acelera el proceso de oxidación la que se produce muy rápido. El tiempo transcurrido antes de esta rápida aceleración de oxidación es la medida de la resistencia a la oxidación y se refiere comúnmente como el periodo de inducción (IP).

Un Rancimat Metrohm modelo 679 (Metrohm Instruments, Herisau, Suiza) (Figura 15), fue utilizado para las determinaciones de la estabilidad oxidativa del aceite. Antes de cada ejecución, los tubos de muestra se limpiaron rigurosamente y se sumergieron durante la noche en una disolución caliente de un detergente alcalino, posteriormente fueron lavados con agua destilada y acetona y después se secaron en estufa a 80°C. Este procedimiento se llevó a cabo con el fin de evitar cualquier contaminación que podría catalizar el proceso de autoxidación. Además, los electrodos, tubos de conexión y vasos de medida se limpiaron con alcohol y agua destilada.



Figura 15. Rancimat Metrohm modelo 679.

Una corriente de aire purificado (20 L/h), limpio y seco se hizo burbujear en la muestra de aceite de Sacha inchi (2,5 g) contenida en un recipiente de reacción. Este recipiente se coloca en un bloque de calentamiento eléctrico, que se fijó a una temperatura de 100°C para cada ejecución experimental. El aire efluente que contiene los ácidos orgánicos volátiles de la muestra de aceite se recogieron en un recipiente de medición con 60 mL de agua destilada. La conductividad del agua se registró continuamente y el OSI fue determinada automáticamente por el aparato. Seis muestras de aceite se analizaron en el equipo al mismo tiempo (AOAC, 1997).

### 3.6 Medida del color

El estudio del color se realizó por colorimetría triestímulo, a partir de medidas espectrofotométricas, dentro del espectro de la radiación electromagnética visible (380-820 nm,  $\Delta\lambda=2$ ). Todas las muestras fueron filtradas con papel de filtro apropiado durante 30 minutos y protegidas con papel de aluminio para evitar la oxidación de los aceites por efecto de la luz. Los espectros de los aceites fueron obtenidos empleando un espectrofotómetro UV-vis de matriz de diodos (Hewlett-Packard 8452-A). En todos los casos se utilizaron una cubeta de cuarzo de 0,5 cm de paso óptico y hexano como blanco.

Las unidades de absorbancia de las muestras se midieron teniendo en cuenta las características de las condiciones de referencia visuales elegidas: iluminante estándar D65 (fase de la luz diurna natural), observador estándar (ángulo de visión 10°) para obtener los valores triestímulo (X, Y, Z), que definen el color de la muestra y que son el punto de partida para calcular el resto de las variables cromáticas. Además, los parámetros de color más relacionadas con las características psicofísicas de color, que corresponden a las coordenadas angulares como la claridad ( $L^*$ ), croma [ $C^*_{ab}=\sqrt{(a^*)^2+(b^*)^2}$ ] y el tono [ $h_{ab}=\tan^{-1}(b^*/a^*)$ ], también se calcularon y se tuvieron en cuenta. Los cálculos necesarios para obtener todos los parámetros de color se realizaron por medio del software CromaLab (Heredia *et al.*, 2004).

### 3.7 Análisis de carotenoides

Los carotenoides y clorofilas son los pigmentos principales de los aceites vegetales. Los carotenoides están divididos en dos grupos; carotenos y xantofilas. El color de los aceites vegetales se debe a estos pigmentos, que son determinados normalmente mediante HPLC (Cert *et al.*, 2000). El contenido de pigmentos totales de los aceites comestibles puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud mediante mediciones espectrofotométricas, que son de gran utilidad para procesos de control de calidad debido a alguna de sus características como la rapidez, ser un proceso no destructivo, posibilidad de automatización, flexibilidad, etc. (Mínguez-Mosquera *et al.*, 1991).

El contenido de carotenoides fue determinado mediante medidas espectrofotométricas, se utilizó el método propuesto por Moyano *et al.* (2008a). Se registró un único espectro de absorción para la fracción de carotenoides. Se tomaron las absorbancias a 470 nm y considerando un valor de  $E_0=2000$ . Los niveles de los pigmentos carotenoides se obtuvieron de la siguiente manera:

$$\text{Carotenoides (mg/kg)} = (A_{470} \times 10^6) / (E_0 \times 100 \times L)$$

Donde:

$A_{470}$ , es la absorbancia del aceite de Sacha inchi no diluido y  $L$ , es la longitud de paso óptico de una cubeta cuarzo de 0,5 cm.

$E_0$ , es el coeficiente de extinción expresado en términos de luteína.

### 3.8 Análisis de tocoferoles mediante HPLC-FD

La cuantificación de tocoferoles se llevó a cabo siguiendo el método estándar IUPAC (1992). Las muestras de aceite de Sacha inchi (50 mg) fueron colocados en un vial y luego disueltas en 1 mL de hexano grado HPLC y analizadas directamente, utilizando un HPLC con detección de fluorescencia (Hewlett-Packard 1050, CA, USA). La separación de los componentes se realizó utilizando una columna Superspher Si60 de 25cm x 4mm x 4 $\mu$ m (Merck). La fase móvil empleada para la separación fue una mezcla de 2-propanol en hexano (0,5:99,5 v/v) a un flujo de 1 mL/min, con un volumen

de inyección de 20  $\mu$ L. El detector de fluorescencia (Shimadzu RF 535) operando con una longitud de onda de excitación de 290 nm y una longitud de onda de emisión de 330 nm. La identificación de los tocoferoles se realizó por medio de los tiempos de retención de los patrones correspondientes (Figura 16). Los resultados fueron expresados en mg/kg de aceite.

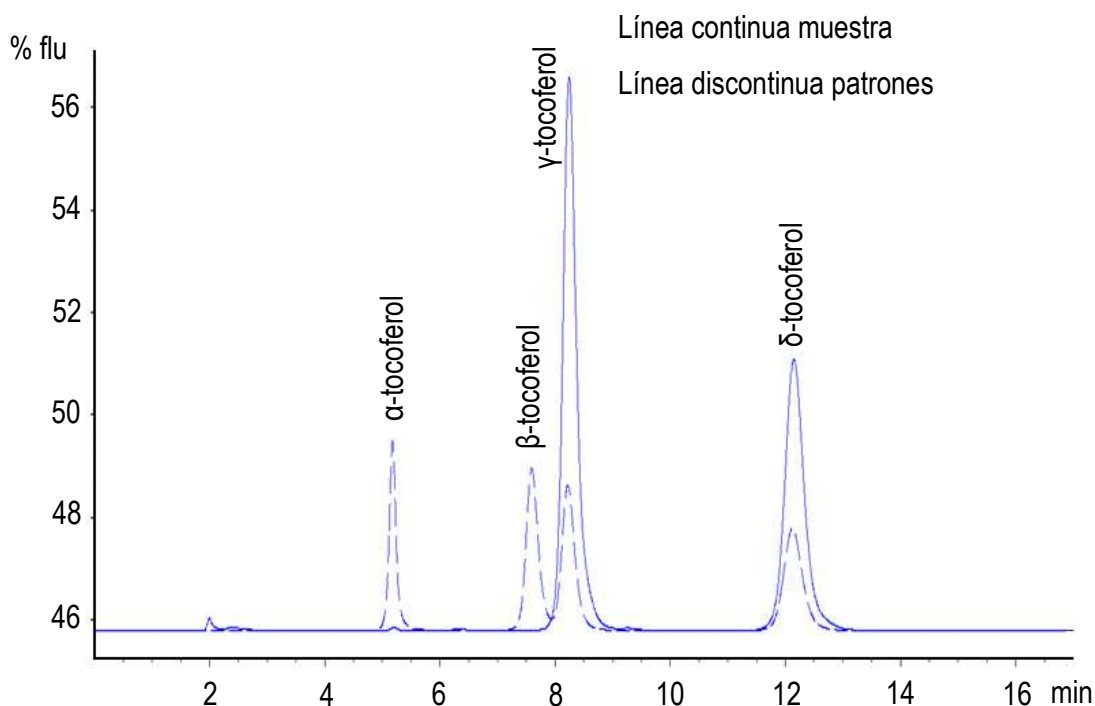


Figura 16. Cromatograma para la identificación y cuantificación de los tocoferoles del aceite de Sacha inchi.

### 3.9 Análisis de ácidos grasos mediante GC-FID

El análisis de ácidos grasos se llevó a cabo por cromatografía de gases. Los ácidos grasos fueron transmetilados a ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES), siguiendo el procedimiento descrito por el Reglamento de la Comunidad Europea (2011). La esterificación se llevó a cabo en un matraz de 10 mL donde se depositaron 0,3 g de muestra de aceite y se adicionaron 0,6 mL de una disolución de KOH/CH<sub>3</sub>OH 2N. Los ésteres metílicos fueron extraídos usando una porción de 5 mL de hexano. La mezcla fue vigorosamente agitada entre 10 y 15 segundos y se dejó reposar hasta que la parte superior quedó clara. Se recuperó 1 mL de la fase hexanólica en un vial de 1,5 mL, que

posteriormente fue analizada mediante cromatografía de gases. Los ésteres metílicos (0,1  $\mu\text{L}$ ) fueron inyectado en un cromatógrafo de gases (Varian 3900) equipado con un inyector split-splitless y un detector de ionización de llama (FID). La separación de los componentes se realizó utilizando una columna SP<sup>TM</sup>2380 de 60m x 0,25mm x 0,2 $\mu\text{m}$  (Supelco). La temperatura de inyector y detector se fijó en 250°C. La temperatura del horno se mantuvo a 170°C durante 10 minutos y luego fue programada de 170 a 200°C a 1,5°C/min manteniéndose en isoterma durante 8 minutos. Se utilizó hidrógeno como gas portador a una velocidad de flujo de 1,0 mL/min. Cada muestra fue analizada por duplicado.

### **3.10 Análisis de esteroides y alcoholes mediante GC-FID y GC-ITMS**

Los esteroides fueron determinados después de la saponificación en caliente de 5 g de muestra de aceite con una disolución de hidróxido de potasio en etanol. Después de la ebullición, se añadió agua y la fracción insaponificable se extrajo con tres porciones de éter dietílico y las fracciones de éter dietílico fueron lavadas con agua de 3 a 5 veces hasta que la solución de lavado fue neutra. La fase de éter dietílico fue posteriormente secada con sulfato de sodio anhidro, y el residuo evaporado y redisoluto en 2 mL de cloroformo. La banda correspondiente a la fracción esteróica fue separada del extracto por TLC (ALUGRAM<sup>®</sup> SIL G/UV<sub>254</sub>, 0,20 mm, 20 x 20 cm). La banda correspondiente a los esteroides se visualizó bajo luz UV, después de ser rociada con una disolución etanólica de 2,7-diclorofluoresceína al 0,2%, la banda fue raspada con una espátula, y luego los esteroides fueron extraídos con éter dietílico. El extracto se evaporó hasta sequedad y los esteroides fueron derivatizados a sus trimetil silil éteres (TMS) con 200  $\mu\text{L}$  de una mezcla de hexametildisilazano, dimetilclorosilano en piridina (3:1:9) (Supelco, Bellefonte, USA), que se dejó reaccionar durante 15 minutos y luego fue centrifugado. La separación de los TMS derivados se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (Varian 3900), equipado con una columna capilar Agilent J&W HP-5, 30m x 0,32mm x 0,25  $\mu\text{m}$ . La inyección se realizó con una relación de división de flujo (split ratio) 1:10 y a flujo constante de 1,0 mL/min (usando hidrogeno como gas portador). Las temperaturas del inyector y detector fueron 290 y 320°C, respectivamente. La temperatura de la columna fue de 263°C y se mantuvo en isoterma durante 30 minutos. Bajo las condiciones empleadas, el 5 $\alpha$ -colestano-3 $\beta$ -ol (I.S)



eluyó a 9,85 minutos y el  $\beta$ -sitosterol a 14,55 minutos. La identificación de los picos se llevó a cabo mediante el cálculo de los tiempos de retención relativos a  $\beta$ -sitosterol, el esteroles mayoritario en el aceite de Sacha inchi y la cuantificación utilizando  $5\alpha$ -colestano- $3\beta$ -ol como patrón interno siguiendo el procedimiento descrito por el Reglamento de la [Comunidad Europea \(2011\)](#), para el análisis de esteroides en el aceite de oliva. Toda la preparación de muestras y análisis instrumentales se realizaron por duplicado. En la [Figura 17](#), se muestra la fracción insaponificable del aceite de Sacha inchi purificada mediante cromatografía en capa fina (TLC).

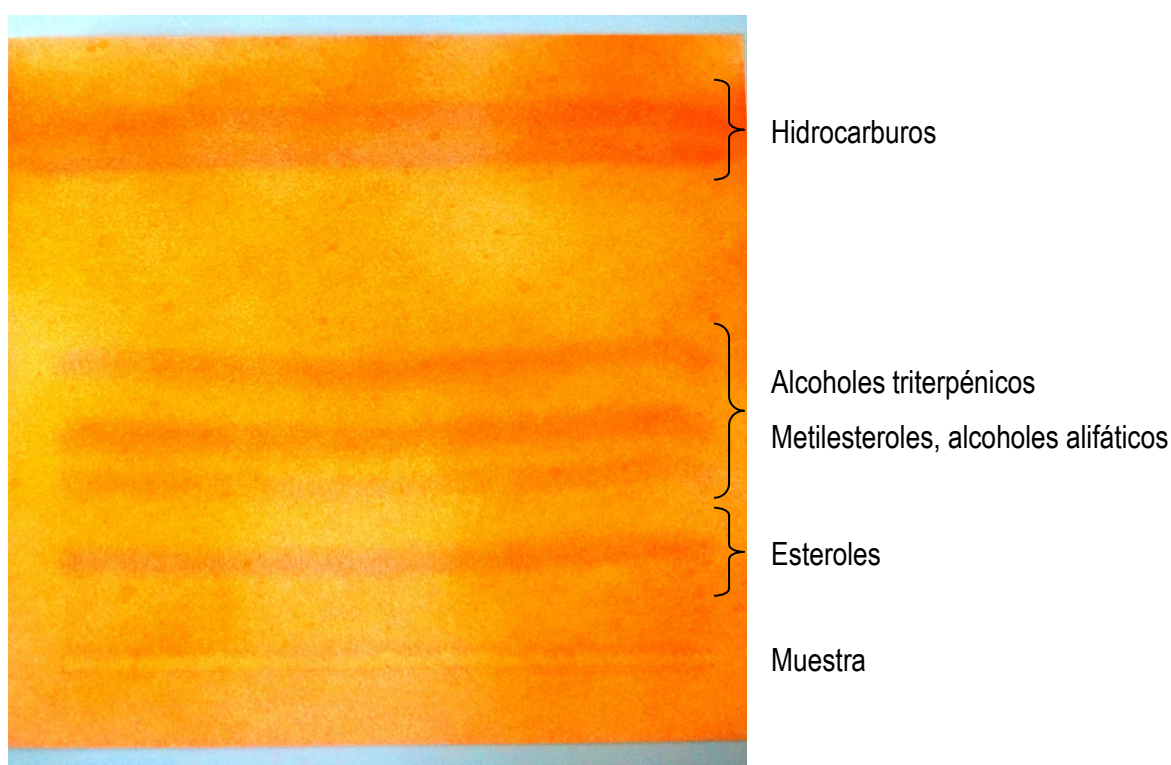


Figura 17. Fracción insaponificable del aceite de Sacha inchi separada mediante TLC.

Los alcoholes alifáticos se determinaron de acuerdo al método descrito por el Reglamento de la [Comunidad Europea \(2002b\)](#). A la materia grasa se le añadió 1-eicosanol como patrón interno, se trató como se ha mencionado en la determinación de esteroides y la sección fracción insaponificable. La fracción de alcoholes se separó de la materia insaponificable por TLC (ALUGRAM® SIL G/UV<sub>254</sub>, 0,20 mm, 20 x 20 cm).

Los alcoholes recuperados del gel de sílice se transformaron en TMS y se analizaron mediante cromatografía de gases con columna capilar. El equipo y las condiciones cromatográficas fueron los mismos que los mencionados anteriormente para los esteroides, a excepción de la temperatura del horno que fue como sigue: 200°C (isoterma 8 min); 5°C/min hasta 270°C y se mantuvo durante 15 min.

El análisis de GC-MS fue desarrollado con un cromatógrafo de gases (trace GC2000) acoplado a un espectrómetro de masas con trampa de iones (ITMS) GCQ/Polaris (ThermoFinnigan, Austin, TX, USA). Las muestras fueron inyectadas en modo split. Los alcoholes y esteroides como los TMS derivados se resolvieron mediante programación de la temperatura desde 180 a 270°C a 8°C/min, y posterior isoterma durante 46 min. La línea de transferencia del GC a MS y la fuente de iones fueron mantenidas a 375°C. La presión del gas portador (Helio) fue de 15 psi. Los espectros de masas fueron registrados con fragmentación por impacto electrónico (EI) a 70 eV. El espectro completo se obtuvo mediante el escaneo total de iones (rango de masas  $m/z$  50-1000 amu), en todo el perfil de elución. Los datos fueron analizados mediante el programa XCalibur 1.4 (Thermo Fisher Scientific Inc.).

### **3.11 Análisis de fenoles mediante HPLC-DAD y HPLC-ESI-TOFMS**

#### **3.11.1 Extracción de la fracción fenólica**

La fracción fenólica fue extraída del aceite de Sacha inchi por el método de extracción líquido-líquido de la siguiente manera: A 5 g de muestra de aceite se adicionaron 0,5 mL de patrón interno que contenía ácido hidroxifenil acético (0,12 mg/mL) y ácido o-cumárico (0,01 mg/mL) en metanol y luego se añadieron 3,5 mL de CH<sub>3</sub>OH:H<sub>2</sub>O (80:20 v/v). La mezcla fue agitada durante 10 minutos mediante vortex y luego fue centrifugada durante 10 minutos a 4500 rpm. El extracto hidro-alcohólico fue concentrado a vacío (Concentrator plus, Eppendorf AG, Alemania) y a temperatura ambiente; el residuo fue completado a 1 mL con CH<sub>3</sub>OH grado HPLC. Posteriormente el extracto fue lavado con 2 x 1 mL de hexano para eliminar restos de hidrocarburos, ceras, tocoferoles y triglicéridos, y luego con 1 mL de una mezcla de hexano:acetato de etilo (9:1 v/v) para eliminar restos de triglicéridos oxidados, esteroides y diacilgliceroides (Mateos *et al.*, 2001).

### 3.11.2 Análisis cromatográfico de fenoles

El extracto fue analizado mediante HPLC-DAD según las siguientes condiciones: Se utilizó un HPLC LaChrom Elite<sup>®</sup> System equipado con un inyector automático, horno de columna y un detector de matriz de diodos (DAD). La columna fue una LiChroCART<sup>®</sup> 250-4 Superspher<sup>®</sup> 100 RP-18 (Merck KGaA, Alemania), equipada con una pre-columna LiChrospher 100 RP-18 (5 µm) (Merck KGaA, Alemania), mantenida a 30°C. El software utilizado para gestionar la separación cromatográfica fue EZChrom Elite versión 3.1.7 (Scientific Software, Inc.). La fase móvil fue una mezcla de H<sub>2</sub>O MilliQ:H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (99,5:0,5 v/v) como eluyente A y CH<sub>3</sub>OH:CH<sub>3</sub>CN (50:50 v/v) como eluyente B. La elución fue iniciada con 95% (A) y 5%(B) y llevada a 70% (A) y 30% (B) en 25 min; 62% (A) y 38% (B) en 10 min; 62% (A) y 38% (B) en 5 min; 55% (A) y 45% (B) en 5 min; 47,5% (A) y 52,5% (B) en 5 min; y 100% (B) en 5 min; seguido por 5 minutos para la limpieza de la columna (García-González *et al.*, 2010). La fracción polar fue filtrada (Filtros acrodisc CR 13 mm con membrana PTFE de 0,45µm) y recogida en insertos de 200 µL. La velocidad de flujo fue de 1 mL/min, el volumen inyectado fue de 20 µL. Los cromatogramas fueron obtenidos a 280 y 335 nm. La cuantificación de los fenoles (excepto flavonas) fue realizada a 280 nm, usando ácido hidroxifenil acético como patrón interno.

El análisis de fenoles por HPLC-ESI-TOFMS se llevó a cabo sobre un UltiMate<sup>®</sup> 3000RS (Thermo Scientific Dionex Inc.). Las separaciones cromatográficas fueron desarrolladas en una columna LiChrospher 100 RP-18 (5 µm) (Merck KGaA, Alemania). Los componentes de la fase móvil fueron: Ácido fórmico (0,1% v/v) en agua (A), y ácido fórmico (0,1% v/v) en CH<sub>3</sub>OH:CH<sub>3</sub>CN (50:50 v/v) (B). El sistema de gradiente fue el mismo que se utilizó para la cuantificación de polifenoles por HPLC-DAD. Las condiciones iniciales fueron alcanzadas en 2 min, y el tiempo de equilibrio fue de 10 min. El volumen de inyección fue 30 µL y el flujo fue de 1 mL/min. Una fracción post-columna de 0,4 mL/min fue introducida directamente sobre la fuente de iones del espectrómetro de masas de ionización por electrospray. La espectrometría de masas fue desarrollada usando un micrOTOF-QII de espectrometría de masas por tiempo de vuelo de alta resolución (HR-TOFMS), con geometría Qq-TOF (Bruker Daltonics, GmbH, Bremen, Alemania), equipado con una fuente de ionización

electrospray (EI). El equipo fue operado en modo de ion negativo utilizando un rango de masas  $m/z$  50-1200 amu. El espectro de masas fue adquirido en modo de exploración completa del MS y los datos fueron usados para realizar una detección sistemática mediante un software TargetAnalysis™ 1.2 (Bruker Daltonics, GmbH, Bremen, Alemania).

### 3.12 Análisis de compuestos volátiles mediante HS-SPME/GC-FID y HS-SPME/GC-MS

#### 3.12.1 Aislamiento de compuestos volátiles mediante HS-SPME

La extracción de los compuestos volátiles se llevó a cabo mediante espacio de cabeza-microextracción en fase sólida (HS-SPME). Las condiciones de extracción de los volátiles del aceite del aceite de Sacha inchi se muestran en la [Figura 18](#).

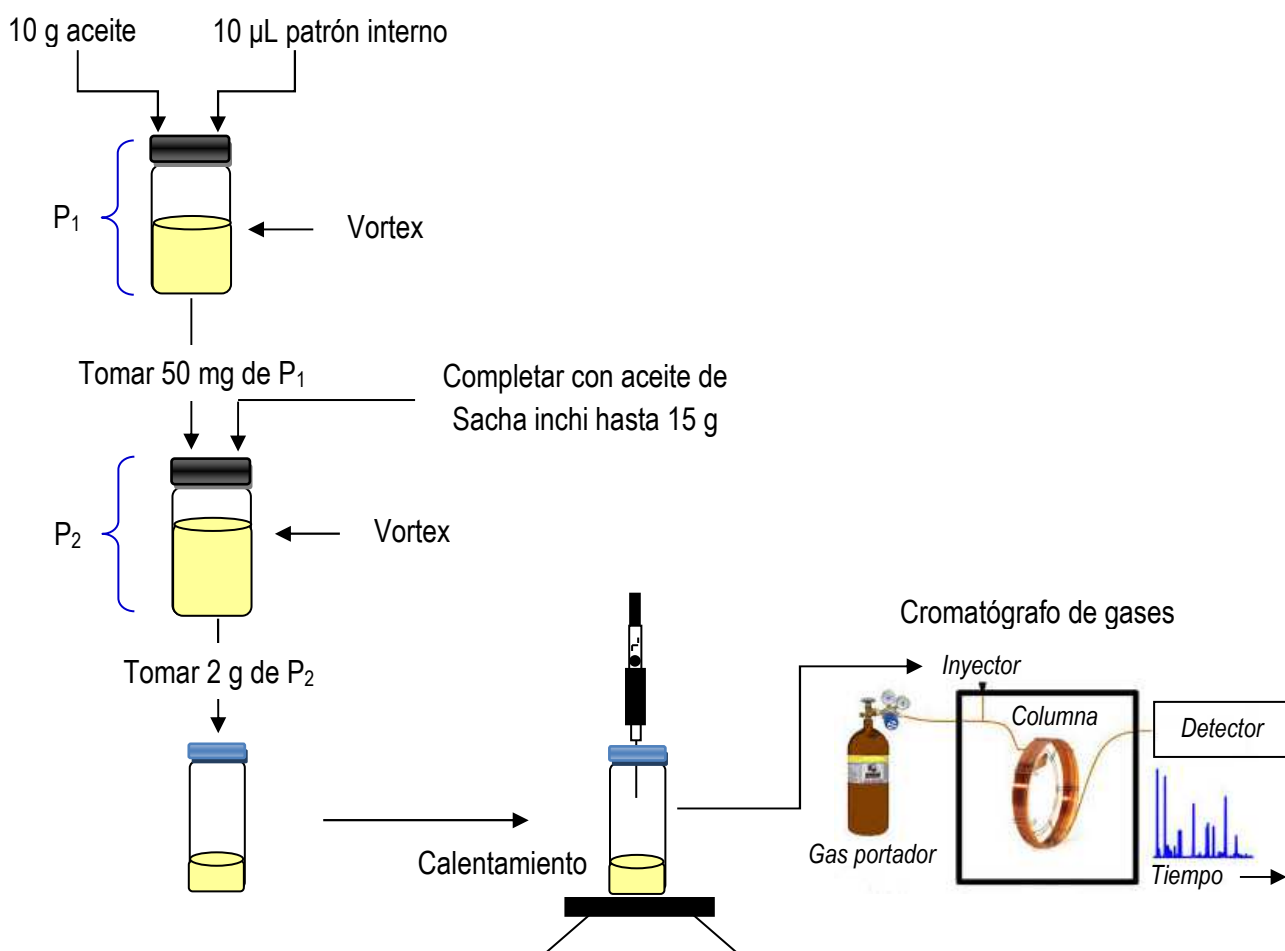


Figura 18. Tratamiento de la muestra para el análisis de compuestos volátiles.

La muestra de aceite de Sacha inchi (2 g) conteniendo 2,61 mg/kg de patrón interno (4-metil-2-pentanol) fue colocada en un vial de 20 mL, bien cerrado con septum de politetrafluoroetileno (PTFE), se dejó durante 10 min a 40°C para permitir el equilibrio de los compuestos volátiles en el espacio de cabeza. Después del tiempo de equilibrio, el septum que cubre cada vial se perforó con una aguja de micro-extracción en fase solida (SPME), y la fibra se expuso en el espacio de cabeza durante 40 min. Una vez que el muestreo se terminó, la fibra fue retirada dentro de la aguja y transferida al inyector del sistema GC-FID o GC-MS.

La temperatura y tiempo fueron automáticamente controlados en un Combi PAL (CTC Analytics AG, Zwingen, Suiza) (Figura 19D), por medio de su software Star Workstation versión 6 (Varian Inc.). La fibra de SPME fue adquirida de Supelco (Bellefonte, PA), y estaba dotada con la fase estacionaria StableFlex (2 cm 50/30 µm de espesor) de divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS). La fibra se acondicionó previamente siguiendo las instrucciones del proveedor.

### 3.12.2 Análisis cromatográfico de compuestos volátiles

El análisis mediante GC se llevó a cabo en un Varian 3900 (Varian Analytical Instruments) (Figura 19A), con detector de ionización de llama. La desorción de los compuestos volátiles absorbidos por la fibra SPME se llevó a cabo en el inyector del GC, que se calentó a 260°C durante 5 minutos en modo splitless y los volátiles fueron depositados en la columna capilar TRB-WAX, 60m x 0,25mm x 0,25µm (Teknokroma). El gas portador fue hidrógeno, a un flujo constante de 1,5 mL/min. La temperatura del horno fue mantenida a 40°C durante 4 minutos, y luego programada para aumentar a 3°C/min hasta una temperatura final de 200°C, que fue mantenida durante 10 minutos para eliminar el efecto memoria.

La identificación de los compuestos volátiles se llevó a cabo inicialmente mediante espectrometría de masas (MS) y posteriormente fueron chequeados con estándares. Aproximadamente 2 g de muestra se depositan en un vial de 20 mL y se calientan a 40°C durante 10 minutos bajo agitación en el dispositivo manual de muestreo de espacio de cabeza estático (Figura 19B).



Figura 19. (A) Cromatógrafo de gases Varian 3900, equipado con inyector Combi PAL (B) dispositivo para SMPE manual, (C) cromatógrafo de gases 7820A con MS 5975 Agilent, y (D) automuestreador para SPME Combi PAL.

Una vez alcanzado el equilibrio, se introduce la fibra en el vial durante 40 minutos. Luego se retira la fibra y se introduce en el inyector en modo splitless del GC-MS (Agilent Technologies) (Figura 19C), el espectro de masas fue desarrollado en modo de impacto de electrones (EI) a 70 eV. Las condiciones analíticas fueron como sigue: temperatura del detector y de la línea de transferencia fue 300°C y 280°C, respectivamente; la temperatura del horno fue programada en isoterma a 40°C durante 4

min, seguida de una rampa de temperaturas de 3°C/min hasta 200°C, que se mantuvo durante 10 min; el gas portador fue hidrógeno a 0,9 mL/min. La identificación de los compuestos volátiles se llevó a cabo mediante la comparación de los espectros de masa adquiridos con los de estándares auténticos, espectros de masas de la literatura y con la ayuda de la base datos Wiley 7, de espectros de masas (Luna *et al.*, 2006; Navas-Hernández, 2010; John Wiley & Sons Limited, NJ).

### **3.13 Evaluación sensorial del aceite de Sacha inchi**

La calidad de los aceites vegetales y la estabilidad son los principales factores que influyen en la aceptabilidad del consumidor y el valor de mercado (Naghshineh *et al.*, 2009). Las propiedades sensoriales están muy relacionadas con la calidad y la estabilidad del aceite favorece la duración de sus propiedades sensoriales.


Para la evaluación sensorial del aceite de Sacha inchi se utilizaron un total de 7 muestras. Se aplicó un método de análisis descriptivo-cuantitativo para la evaluación organoléptica (Lawless y Heymann, 2010; Malcolmson, 2005). Las muestras fueron evaluadas por un total de 12 panelistas entrenados (7 mujeres y 5 hombres). Todos los panelistas se seleccionaron sobre la base de su anterior experiencia en análisis sensorial de aceite de oliva virgen. Los panelistas pertenecían al Departamento de Química Analítica y al Grupo de Investigación de Color y Calidad de los Alimentos de la Universidad de Sevilla. Dos sesiones separadas se llevaron a cabo para la evaluación de las muestras de aceite de Sacha inchi, las muestras siempre fueron conservadas a 4°C y antes del análisis fueron mantenidas durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las muestras fueron codificadas con tres dígitos de forma randomizada. Aproximadamente 15 g de muestra se pesaron en un frasco de vidrio con tapón de rosca. A los panelistas se les pidió que la calificaran de acuerdo a su percepción los atributos de olor y flavor, y completaran la ficha que se muestra en la Figura 20.

### **3.14 Análisis estadístico para caracterizar el aceite de Sacha inchi**

Las técnicas de análisis matemático que actualmente se utilizan en la investigación han avanzado notablemente en los últimos años con la divulgación y aplicación de la informática. Las pruebas empíricas normalmente implican estadística inferencial. Esto

significa que una inferencia se elaborará sobre una población de una muestra representativa. El análisis estadístico se puede dividir en varios grupos: Análisis estadístico univariante, análisis estadístico bivariante y análisis estadístico multivariante.

*Ficha de cata abierta para la valoración organoléptica: Aceite de Sacha inchi*



**Nombre:**.....

**Fecha:**.....

A continuación se presentan una serie de muestras de aceites vírgenes de semilla de Sacha inchi las cuales deben asignar de acuerdo a su percepción los siguientes atributos:

**Atributo olor**

**Muestra**

<u>9021</u>	<u>8022</u>	<u>7023</u>	<u>6024</u>
<u>5025</u>	<u>4026</u>	<u>3027</u>	

**Atributo flavor**

**Muestra**

<u>9021</u>	<u>8022</u>	<u>7023</u>	<u>6024</u>
<u>5025</u>	<u>4026</u>	<u>3027</u>	

Figura 20. Ficha de cata para la valoración sensorial del aceite de Sacha inchi.



### 3.14.1 Análisis estadístico univariante

El objetivo del análisis exploratorio es obtener información más útil de los datos generados por la instrumentación analítica, además es el primer paso crítico en el análisis de datos. Esta etapa implica trabajar con algoritmos de la estadística descriptiva univariante (media, normalidad, sesgo, curtosis, varianza, coeficiente de variación, etc.), detectar datos aberrantes (outliers), evaluar los parámetros relacionados con la calidad de los procedimientos analíticos (incertidumbre) y depurar la matriz de datos. En general está constituida por un conjunto de técnicas cuyo objetivo es clasificar, presentar, describir, resumir y analizar los datos relativos a una o más características de los individuos de una población, a partir de la información sobre todos y cada uno de ellos. La gran mayoría de los procedimientos estadísticos están basados en la teoría Bayesiana (Einax *et al.*, 1997).

### 3.14.2 Análisis estadístico bivariante

Las técnicas estadísticas bivariantes permiten el análisis conjunto de dos características de los individuos de una población con el propósito de detectar posibles relaciones entre ellas. La naturaleza (nominal, ordinal o numérica) de las características objeto de estudio determinará las herramientas más adecuadas para su análisis. La correlación de Pearson ha sido tradicionalmente la más utilizada, aunque la matriz de correlaciones debería estudiarse como paso previo a la aplicación de la mayoría de los análisis multivariantes.

### 3.14.3 Análisis estadístico multivariante

Es el conjunto de métodos estadísticos cuya finalidad es analizar simultáneamente conjuntos de datos multivariantes en el sentido de que hay varias variables medidas para cada individuo. Su razón de ser radica en un mejor entendimiento del fenómeno objeto de estudio obteniendo información que los métodos estadísticos univariantes y bivariantes son incapaces de conseguir (Mongay-Fernández, 2005).

Los procesos multivariantes se pueden dividir en dos grandes grupos: el grupo descriptivo (no supervisado) y el grupo explicativo (supervisado). El primero se caracteriza por el hecho de que no existe ninguna hipótesis previa que clasifique o

defina las muestras. Los procedimientos comprendidos en este grupo analizan la información dada y exploran la matriz de datos en búsqueda de nuevos conocimientos. Los procedimientos explicativos (supervisados) tienen, por el contrario, el objetivo de comprobar hipótesis apriorísticas, o son simplemente modelos de dependencia que pueden englobarse dentro de la teoría general de la regresión (Bosque-Sendra *et al.*, 2012).

La aplicación de las herramientas multivariantes más frecuentemente utilizadas para la clasificación de muestras son: análisis de componentes principales (PCA), análisis de clústeres (CA), análisis discriminante lineal (LDA) (Figueiredo-González *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2011; Ceci y Carelli, 2007), y análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) (Schievano *et al.*, 2010; Alonso-Salces *et al.*, 2010). El PCA y CA son métodos multivariantes no supervisados, mientras LDA y PLS-DA son métodos supervisados (Bosque-Sendra *et al.*, 2012). Estas cuatro herramientas multivariantes son una combinación poderosa que permite llegar a resultados nuevos e interesantes.

El análisis multivariante aplicado en este estudio incluye análisis de clústeres (CA), análisis de componentes principales (PCA) y análisis discriminante lineal por pasos (SLDA), que fueron utilizados para estudiar el perfil de tocoferoles, ácidos grasos, esteroides, alcoholes grasos, fenoles y compuestos volátiles. Estos análisis estadísticos se realizaron usando Statistica 8.0 (StatSoft, Tulsa, OK).

El análisis de conglomerados o clústeres es una técnica descriptiva multivariable que pretende agrupar un conjunto de muestras por afinidades definidas en función de las variables estudiadas (variables observables), examinando la relación o similitudes entre ellas, de forma que los elementos de una misma agrupación se asemejen entre sí y discrepen de los restantes (Mongay-Fernández, 2005). En nuestro estudio un análisis de clúster jerárquico (HCA) fue aplicado para clasificar los aceites. Como regla de unión se eligió el método de Ward y la distancia 1-Pearson  $r$  se utilizó para generar un dendrograma.

El análisis de componentes principales (PCA) es una técnica de reducción de datos que sirve para encontrar grupos homogéneos a partir de un conjunto numeroso de variables. Esos grupos homogéneos se forman con las variables que correlacionan mucho entre sí y procurando, que unos grupos sean independientes de otros. Esta técnica de reducción de la dimensionalidad de los datos, tiene como objetivo buscar el número mínimo de dimensiones capaces de explicar el máximo de información contenida en los datos (Bosque-Sendra *et al.*, 2012). Para nuestro estudio se llevó a cabo un PCA utilizando una rotación Varimax para detectar la estructura de datos, para determinar las relaciones entre los diferentes componentes y para derivar las dimensiones comunes con el fin de clasificar las muestras y asignar los diferentes grupos. Para la selección del número de componentes principales (PC), se utilizó el criterio de Kaiser, con eigenvalue mayores a 1,00.

El análisis discriminante se puede considerar como un análisis de regresión donde la variable dependiente es categórica y tiene como categorías la etiqueta de cada uno de los grupos, y las variables independientes son continuas y determinan a que grupos pertenecen los sujetos. El análisis discriminante se usa no solo para determinar las variables que discriminan entre dos o más grupos de pertenencia, constituidos de manera natural, sino también para determinar las variables que contribuyen a la mejor predicción cuando se discrimina entre grupos (Einax *et al.*, 1997). El objetivo del procedimiento es construir un modelo en el cual las variables puedan predecir el grupo más adecuado en el que se debe incluir una muestra. El análisis por pasos hacia atrás (forward stepwise analysis) se usa para construir el modelo de discriminación paso a paso. En cada paso se evalúan las variables seleccionadas para determinar cual es la que más contribuye a la discriminación entre grupos. El análisis por pasos hacia delante (backward stepwise analysis) incluye inicialmente todas las variables en el modelo y en cada paso elimina la variable que menos contribuye a la predicción. El modelo retiene únicamente las variables más importantes, esto es, aquellas variables que contribuyen a la mejor discriminación entre grupos. La variable latente obtenida en LDA es una combinación lineal de las variables originales. Esta función se llama variante canónica, y sus valores son las raíces. Siendo  $k$  clases,  $k-1$  variantes canónicas se puede determinar si el número de variables es mayor que  $k$  (Berrueta *et al.*, 2007).

## CAPÍTULO IV

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN



#### 4.1 Parámetros de calidad

La calidad de las grasas y aceites es determinada por varios parámetros físicos y químicos que son dependientes del origen del aceite; condiciones geográficas, climáticas y las variables agronómicas en el caso de los aceites vegetales así como de las condiciones de procesamiento y almacenamiento. Así, los criterios de control de calidad pueden depender en parte del tipo de aceite bajo investigación, así como de otros factores que pueden variar dependiendo de la aplicación prevista y de las regulaciones que varían de país a país (Shahidi, 2005).

La evaluación de la calidad del aceites de Sacha inchi se llevó a cabo mediante la determinación de diversos parámetros, que son utilizados para efectuar la clasificación de los aceites en función de las distintas categorías existentes (NTP, 2009).

La acidez libre (FFA), mide el porcentaje de ácidos grasos libres, expresados como ácido oleico, presente en un aceite. Los procesos hidrolíticos conducen a la formación de ácidos grasos libres mediante el fraccionamiento de los acilglicérols que pueden afectar el sabor. Los ácidos grasos libres son importantes indicadores de calidad durante el procesamiento y almacenamiento de grasas y aceites. También se encuentran durante la fritura de las grasas y aceites, la cantidad de humedad de los alimentos fritos y la temperatura de fritura son importantes (Shahidi, 2005).

El índice de peróxidos (PV), es la medida más común de la oxidación de lípidos y es ampliamente utilizado para la determinación de la calidad de los aceites comestibles. Los hidroperóxidos no tienen sabor ni olor propio, pero son inestables y se descomponen rápidamente a otros productos como los aldehídos que tienen un sabor fuerte y desagradable olor. El índice de peróxidos mide los mili-equivalentes de oxígeno (hidroperóxidos) por kg de aceite (Shahidi, 2005).

Los dienos y trienos conjugados que se absorben a 232 y 270 nm, respectivamente, están directamente relacionados con los hidroperóxidos y se utilizan a menudo en adición o en lugar del índice de peróxidos (Shahidi, 2005). Durante la formación de

hidroperóxidos a partir de los ácidos grasos insaturados se producen dienos conjugados debido a la reordenación de los dobles enlaces. Un incremento en la absorción UV teóricamente refleja la formación de productos de oxidación primarios en grasas y aceites. Se han encontrado buenas correlaciones entre dienos conjugados y el índice de peróxidos (Shahidi y Zhong, 2005). Los productos resultantes de la oxidación secundaria de los aceites (aldehídos y cetonas) absorben también a longitudes de onda de 266, 270 y 274 nm. El coeficiente  $\Delta K$  tiene en cuenta la absorbancia a estas longitudes de onda, estando por tanto relacionado con la oxidación secundaria del aceite.

En este trabajo se ha llevado a cabo la determinación de los parámetros de calidad de todas las muestras (Tabla 16). Las muestras evaluadas fueron clasificadas según la NTP (2009), utilizando el índice de peróxidos (máximo 10 mEq O<sub>2</sub>/kg) y la acidez libre (virgen extra=1%; virgen=2%). Según estos indicadores el 60% de las muestras pudieron ser clasificadas como aceite de Sacha inchi virgen extra y el 40% fueron clasificadas como aceite de Sacha inchi virgen y ninguna de ellas quedó fuera de la norma.

En la Tabla 16, se muestran los valores obtenidos para el grado de acidez, no se apreciaron grandes diferencias entre los aceites de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones de la amazonia peruana. De acuerdo al promedio global, las muestras presentaron una media de 0,64% y según este parámetro estos aceites pueden clasificarse como “virgen extra”. Sin embargo, cuando las muestras fueron agrupadas de acuerdo a la zona de cultivo, solamente las correspondientes a la región de San Martín presentaron valores superiores con respecto a las muestras procedentes de otras regiones (Figura 21A).

En cuanto al índice de peróxidos (Figura 21B), no muestra una marcada diferencia entre las muestras, sin embargo según la NTP (2009), las muestras procedentes de la región de Junín, Amazonas y Madre de Dios superaron el valor de 10 mEq O<sub>2</sub>/kg para la designación de “virgen extra” respectivamente. Sin embargo cuando las muestras se consideraron de manera global la media no superó el valor de 9,43 mEq O<sub>2</sub>/kg.

Tabla 16. Parámetros de calidad de las muestras de aceite de Sacha inchi.

Código	FA (%)	PV (mEq O <sub>2</sub> /kg)	K <sub>232</sub>	K <sub>270</sub>	ΔK
IP-001*	0,45	15,83	2,15	0,22	-0,004
IP-002*	0,37	10,18	2,14	0,10	-0,001
IP-003*	0,92	15,03	2,35	0,19	-0,004
IP-004*	0,62	17,47	2,36	0,21	0,001
IP-005*	0,39	12,08	2,47	0,13	0,001
IP-006	0,21	1,87	2,11	0,22	-0,004
IP-007	0,59	1,92	2,49	0,21	-0,005
IP-008*	1,86	16,27	2,27	0,18	-0,003
IP-009*	0,59	15,46	2,30	0,18	-0,004
IP-010*	1,89	11,93	2,19	0,21	-0,005
IP-011	0,16	7,44	2,05	0,21	0,003
IP-012*	0,87	18,40	2,08	0,18	-0,002
IP-013*	0,92	15,13	2,29	0,18	-0,002
IP-014	0,39	6,05	1,92	0,18	-0,002
IP-015*	1,13	7,43	2,18	0,14	0,005
IP-016*	0,54	16,61	2,48	0,22	0,002
IP-017	0,28	7,44	1,95	0,10	-0,001
IP-018	0,23	9,55	1,95	0,07	0,001
IP-019	0,39	4,86	2,31	0,18	0,001
IP-020	0,95	5,71	2,03	0,11	0,001
IP-021	0,91	2,78	1,95	0,15	0,003
IP-022	0,45	5,52	1,73	0,05	-0,001
IP-023	0,35	6,71	2,05	0,09	-0,005
IP-024	0,38	3,87	1,55	0,11	0,002
IP-025	0,81	9,02	1,67	0,14	0,002
IP-026	0,36	5,49	1,58	0,07	0,003
IP-027	0,21	4,67	2,12	0,08	0,003
AV	0,64	9,43	2,10	0,15	
SD	0,45	5,21	0,26	0,05	

\* Aceites de Sacha inchi virgen, AV, promedio; SD, desviación estándar; PV, índice de peróxidos; FA, acidez libre

En el caso de los índices UV (K<sub>232</sub> y K<sub>270</sub>) (Figura 21C y 21D) la NTP (2009), no muestra los límites establecidos para estos parámetros de calidad, sin embargo utilizando como referencia el reglamento de la Comunidad Europea (2011), para el caso del aceite de oliva virgen extra y virgen estos valores son: categoría “virgen extra” K<sub>232</sub>

$\leq 2,50$  y  $K_{270} \leq 0,20$ , para la categoría “virgen”  $K_{232} \leq 2,60$  y  $K_{270} \leq 0,25$ . Según estos parámetros establecidos las muestras de aceite de Sacha inchi fueron clasificadas como “virgen extra” (Tabla 16).

Con el fin de evaluar las diferencias existentes entre los aceites de Sacha inchi procedentes de diferentes zonas de cultivo, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA) y un análisis de clúster jerárquico (HCA) para las variables. En la Figura 22, se muestra el agrupamiento de los parámetros de calidad, las variables PV,  $K_{232}$  y  $K_{270}$  mostraron mayor correlación como era de esperar ya que evalúan la oxidación. Usando un HCA para las muestras, se obtuvieron dos clúster. El clúster 1 agrupa las muestras con mayor contenido de %FA (0,82), PV (15,42),  $K_{232}$  (2,30),  $K_{270}$  (0,19) y  $\Delta K$  (-0,002). Estos resultados están de acuerdo con los datos obtenidos por Marmesat *et al.* (2009) para aceite de girasol y según Shahidi y Zhong (2005), indican que existen buenas correlaciones entre dienos conjugados y el índice de peróxidos.

La varianza explicada de los dos factores fue de 45,65 y 21,70% respectivamente. En la Figura 23A, se muestran los resultados de los factores de cargas de las variables seleccionadas. Las muestras fueron separadas a lo largo del primer componente PC1 por diferencias observadas en las variables  $\Delta K$  (-0,697),  $K_{232}$  (0,821),  $K_{270}$  (0,801) y PV (0,575) y el segundo PC2 separa las muestras sobre la base de la variable %FA (0,926). Con respecto a la separación de los aceites de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la amazonia peruana mostrados en el plano PC1-PC2 (Figura 23B), se observa que las muestras procedentes de la región Junín y algunas muestras de la región Madre de Dios muestran similitud. Las muestras agrupadas en  $G_1$  muestran valores más altos en todas las variables que constituyen los parámetros de calidad. Las muestras procedentes de la región Loreto y Huánuco que están agrupadas en  $G_2$ , muestran menores valores con respecto a los parámetros de calidad y se encuentran en posición opuesta a  $G_1$ . Por otro lado, algunas muestras de la región San Martín, Ucayali y Amazonas se encuentran fuera de la elipse  $G_3$  y están muy alejados de sus respectivas zonas de cultivo. La información obtenida por el PCA proporciona un patrón de clasificación similar a la obtenida por el análisis de HCA.



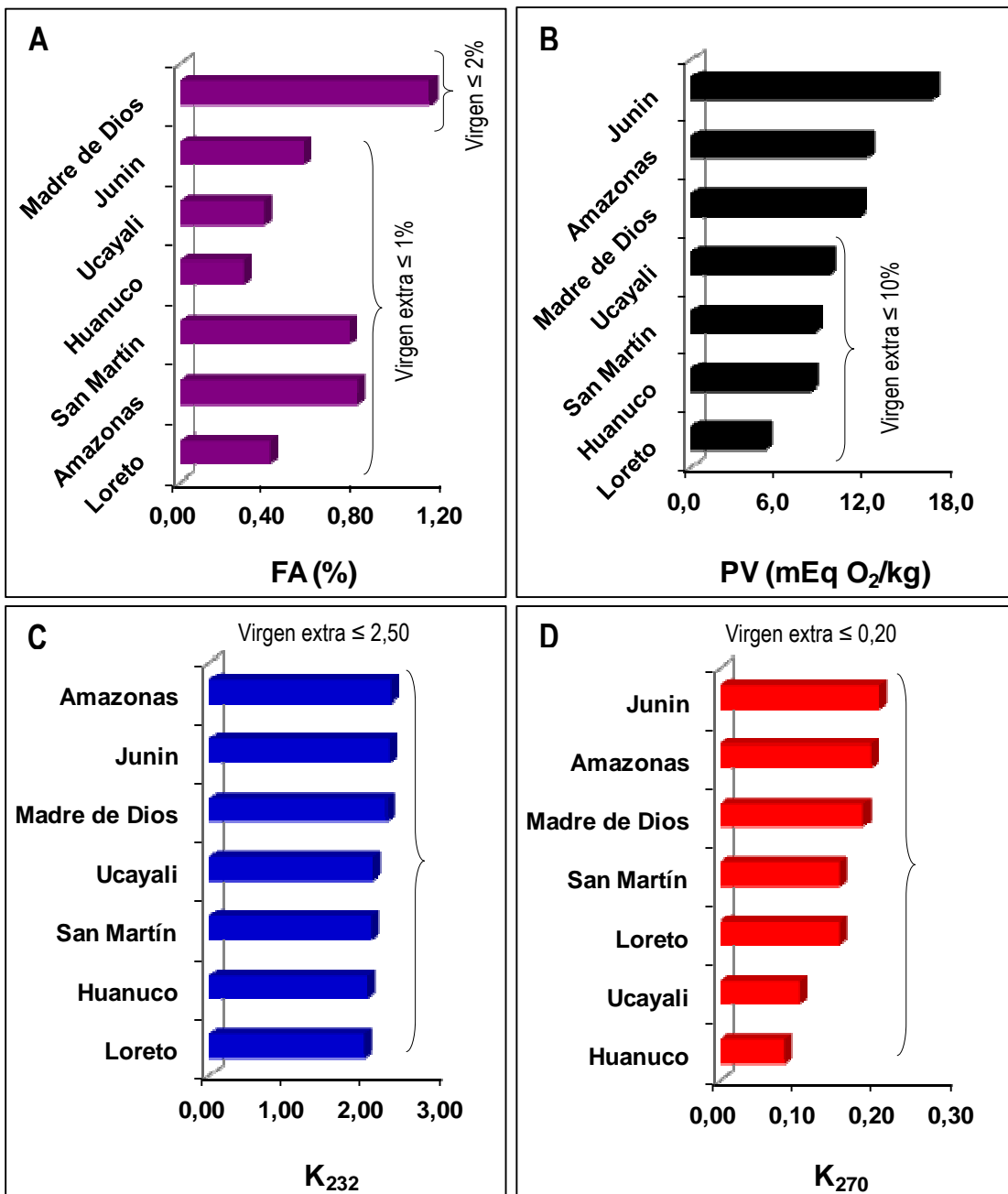


Figura 21. Valores medios de los parámetros de calidad obtenidos de aceites de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la amazonia peruana. (A) % acidez libre, (B) índice de peróxidos, (C y D) características espectrofotométricas K<sub>232</sub> y K<sub>270</sub>.

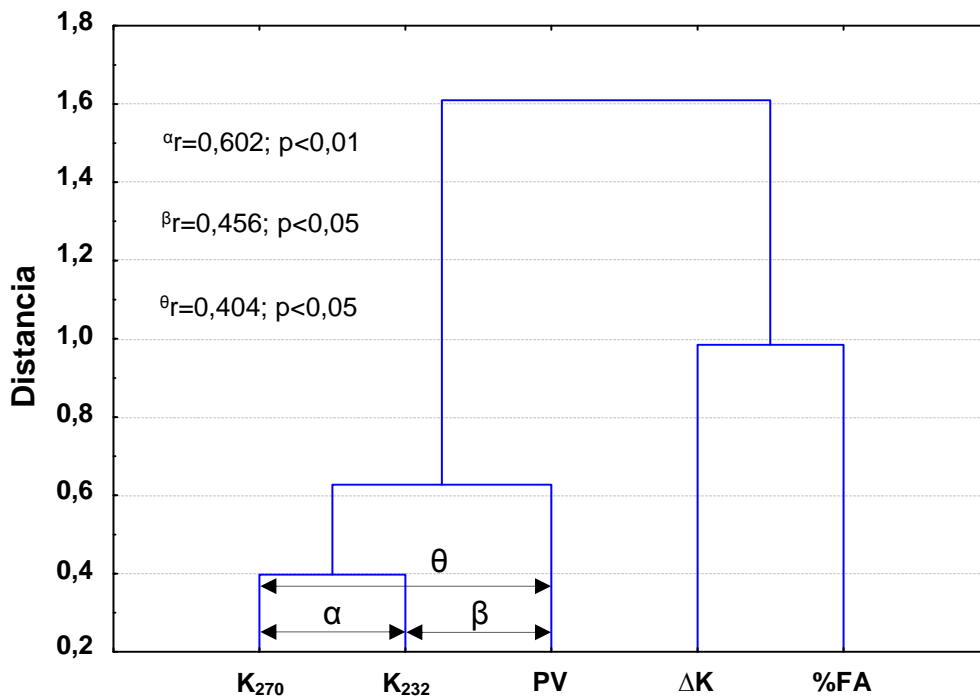


Figura 22. Análisis de clúster jerárquico (HCA), que muestra la clasificación de los parámetros de calidad, de acuerdo a las variables.

Como es lógico, y a pesar de las diferencias obtenidas empleando estos parámetros, los parámetros de calidad no se mostraron eficaces en la diferenciación de los aceites de Sacha inchi procedentes de diferentes zonas de cultivo, ya que sus valores dependen del estado de conservación de las muestras más que de la zona de procedencia, pero son útiles al mostrar la calidad de las muestras de partida.

#### 4.2 Evaluación de la estabilidad oxidativa del aceite (OSI)

El desarrollo de la rancidez oxidativa es reconocido como la causa predominante del deterioro de los aceites durante el almacenamiento. Los principales parámetros que determinan la estabilidad de los aceites frente a la oxidación son la composición de triglicéridos y la presencia de compuestos antioxidantes (Abramovič y Abran, 2005). Debido al alto contenido de ácidos grasos insaturados en el aceite de Sacha inchi (Fanali *et al.*, 2011; Follegatti-Romero *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2011; Maurer *et al.*, 2012), su estabilidad oxidativa es un factor importante.

En la **Figura 24**, se muestra la estabilidad oxidativa de los aceites de Sacha inchi agrupados por zonas de cultivo.

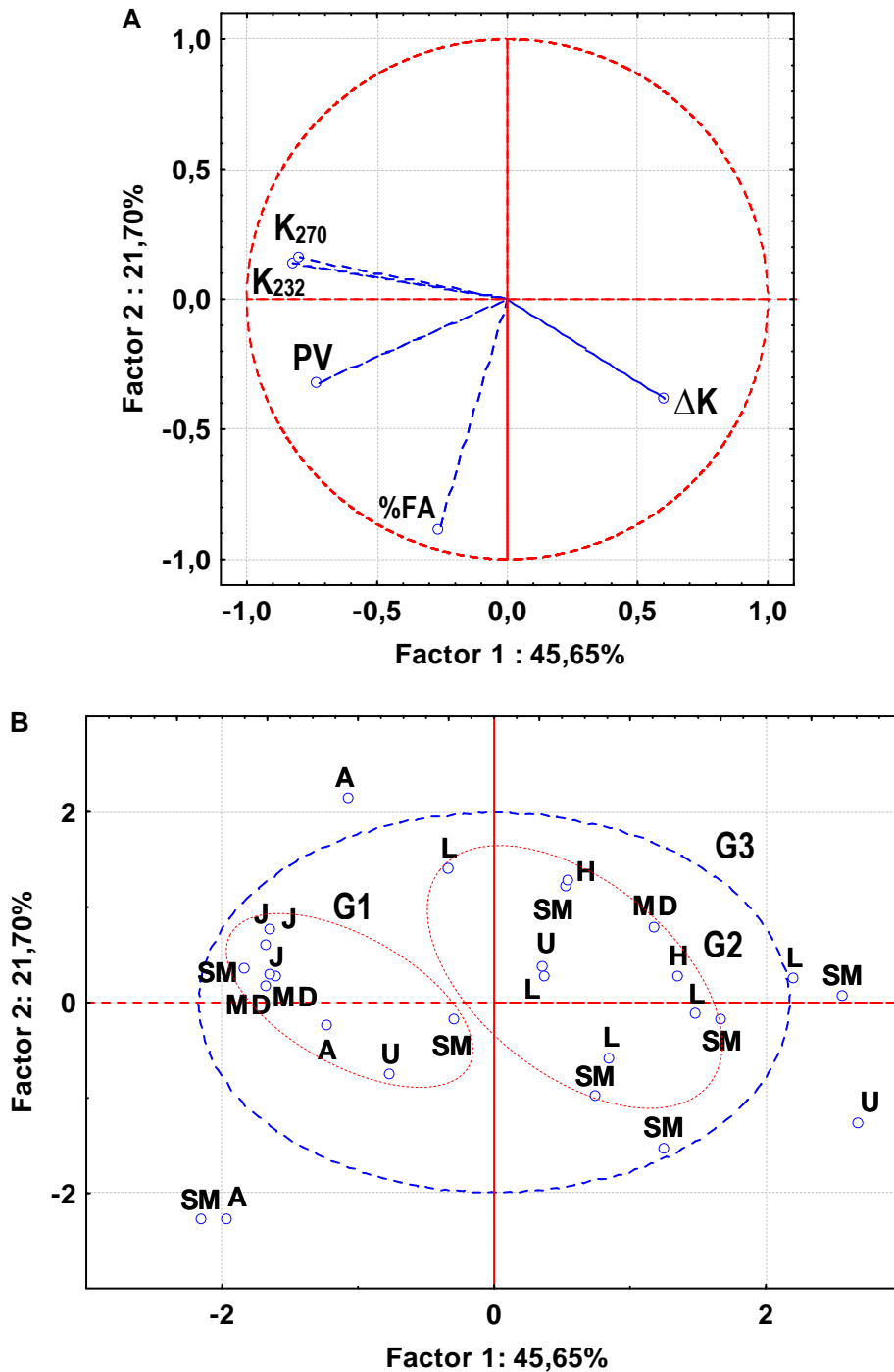


Figura 23. (A) Factores de carga de las variables (parámetros de calidad) seleccionadas PC1 y PC2. (B) Separación de los aceites de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la Amazonia Peruana, junto con las componentes principales PC1 y PC2; Las letras correspondientes a la muestras son: A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali. Elipse de confianza para  $\alpha=0,05$  y coeficiente 0,9.

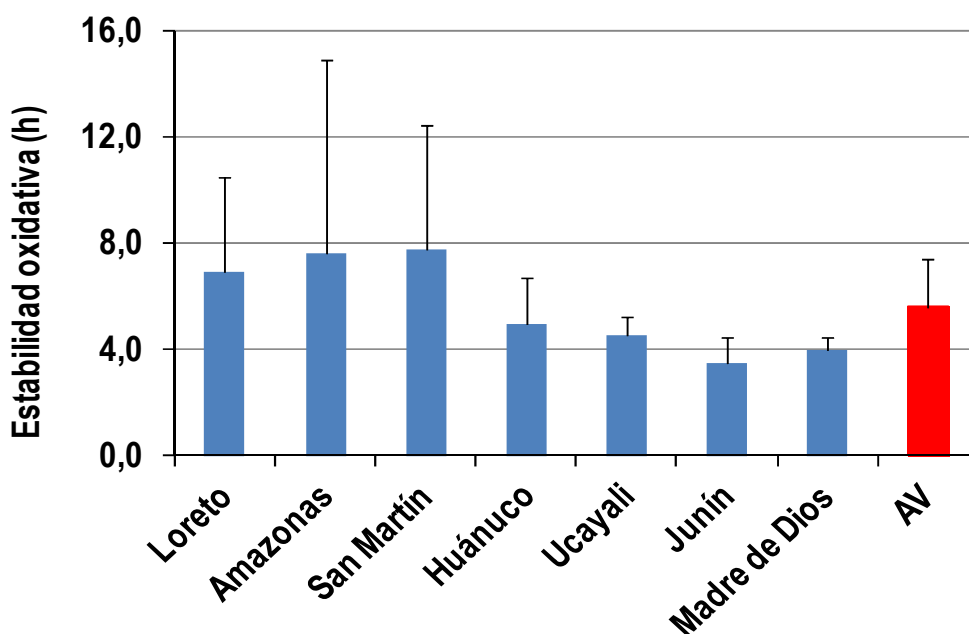


Figura 24. Estabilidad oxidativa (OSI) mediante Rancimat de aceites de Sacha inchi de diferentes zonas de cultivo. AV, promedio de todos los aceites.

La estabilidad oxidativa de los aceites se determinó a partir de los períodos de inducción bajo condiciones de oxidación forzada. Estos resultados muestran que los aceites de Sacha inchi presentan una media de 5,6 horas y los valores extremos fueron obtenidos para las muestras procedentes de la región Junín (3,5 h) y San Martín (7,7 h). Una baja estabilidad oxidativa está asociada con una alta concentración de ácido grasos (Cahoon, 2003; Lanna *et al.*, 2005). En otros aceites vegetales y bajo las mismas condiciones de estabilidad se encontraron valores diferentes tales como colza (9,2 h), girasol (12,90 h) y oliva variedad Picual (entre 22,6 a 180 h) (Yang *et al.*, 2013; Velasco *et al.*, 2004; Aparicio *et al.*, 1999). Además, la resistencia a la oxidación de los aceites depende en gran medida de la concentración de especies antioxidantes como polifenoles, carotenos, tocoferoles, etc. (Mateos *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2013; Aparicio *et al.*, 1999).

### 4.3 Medida del color

La calidad estética es un parámetro de importancia comercial, tanto el color como el aspecto deben ser monitoreados para controlar los costos del proceso, la calidad del producto acabado y sus características finales. Algunos aceites crudos pueden tener pigmentación inesperadamente alta causada por daño de la materia prima en el campo; almacenamiento inadecuado; o manipulación defectuosa durante la trituration, extracción, etc. La apariencia del producto puede indicar un problema, tales como la

oxidación, o filtración ineficaz (O'Brien, 2008). En la [Tabla 17](#) y [18](#), se muestran los parámetros de color CIELAB de los aceites de Sacha inchi procedentes de diferentes regiones y de los aceites de semillas (Sa).

Tabla 17. Parámetros de color CIELAB de las muestras de aceite de Sacha inchi de varias regiones de la Amazonia Peruana.

Código	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*_{ab}$	$h_{ab}$
IP-001	96,05	-0,73	10,17	10,20	94,12
IP-002	100,04	-1,05	11,34	11,39	95,30
IP-003	100,03	-1,25	9,22	9,31	97,71
IP-004	95,66	-0,62	8,10	8,13	94,50
IP-005	98,56	-1,00	11,74	11,88	94,84
IP-006	99,71	-2,01	8,14	8,39	103,92
IP-007	98,74	-1,59	7,02	7,20	102,87
IP-008	98,27	-2,00	13,06	13,22	98,72
IP-009	99,05	-0,99	8,48	8,53	96,67
IP-010	99,88	-1,19	8,81	8,89	97,69
IP-011	100,47	-1,31	7,68	7,79	99,71
IP-012	99,47	-1,41	8,70	8,81	99,20
IP-013	99,36	-1,44	11,61	11,70	97,09
IP-014	99,49	-1,25	9,07	9,16	97,86
IP-015	96,31	-3,62	36,70	36,88	95,64
IP-016	99,55	-1,02	7,52	7,59	97,72
IP-017	99,95	-1,19	9,30	9,38	97,31
IP-018	98,81	-1,09	11,96	12,01	95,21
IP-019	98,04	-1,02	8,21	8,28	97,20
IP-020	92,49	-2,26	88,91	88,94	91,46
IP-021	99,87	-0,91	7,44	7,50	96,97
IP-022	99,40	-1,75	9,40	9,56	100,54
IP-023	99,50	-1,31	11,67	11,75	96,41
IP-024	99,88	-1,71	7,80	7,98	102,40
IP-025	99,75	-1,48	7,33	7,48	101,39
IP-026	99,12	-1,56	13,61	13,70	96,56
IP-027	99,38	-1,17	10,87	10,93	96,16
AV	98,74	-1,41	13,48	13,58	97,60
SD	1,74	0,59	16,06	16,05	2,84

AV, promedio; SD, desviación estándar.

Los parámetros colorimétricos observados en la [Tabla 17](#), muestran que los valores correspondientes a los aceites de Sacha inchi provenientes de diferentes zonas de cultivo son mayores que los correspondientes a los aceites de semilla ([Tabla 18](#)).

Tabla 18. Parámetros de color CIELAB de aceites de semilla (Sa).

Código	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*_{ab}$	$h_{ab}$
IP-100	98,39	-1,13	9,83	9,89	96,58
IP-102	96,51	-0,57	1,54	10,55	93,14
IP-103	98,56	-1,17	8,78	8,85	97,59
IP-104	96,38	-0,73	8,05	8,08	95,15
IP-105	94,64	-0,51	7,89	7,91	93,84
IP-106	91,17	-1,00	8,23	8,29	96,98
IP-107	92,40	-0,60	8,61	8,64	94,08
IP-108	92,79	-0,47	6,49	6,51	94,16
AV	95,11	-0,77	8,55	8,59	95,19
SD	2,80	0,29	1,23	1,24	1,66

Por otro lado, los parámetros  $b^*$  y  $C^*_{ab}$ , con respecto a estos dos grupos, muestran mayor variabilidad, especialmente en las muestras provenientes de las zonas de cultivo, (ver, IP-015 y IP-020), mientras que los aceites de semilla (Sa) presentan mayor homogeneidad. Tomando en consideración la coordenada cromática  $a^*$ , se observa que los aceites de Sacha inchi de ambos grupos muestran valores negativos (entre IP-108, -0,47 y IP-015, -3,62). Valores negativos se han descrito en aceites crudos de girasol y aceite de oliva de las variedades Picual, Hojiblanca y Manzanilla ([Giacomelli et al., 2006](#); [Moyano et al., 2008b](#)).

En la [Figura 25A](#), [25B](#) y [25C](#), se muestra la distribución de las muestras de aceite de Sacha inchi de diferentes zonas de cultivo, así como en los aceites de semilla (Sa) en el diagrama de color  $a^*b^*$ . Se observa que todas las muestras están ubicadas en el segundo cuadrante, correspondiente a valores negativos de  $a^*$ , y presentan ligeras diferencias entre ellos. Los valores más altos corresponden a las muestras procedentes de las zonas de San Martín, Ucayali y Amazonas respectivamente. En tanto que los valores más bajos se encontraron en las muestras Sa y la región de Junín.

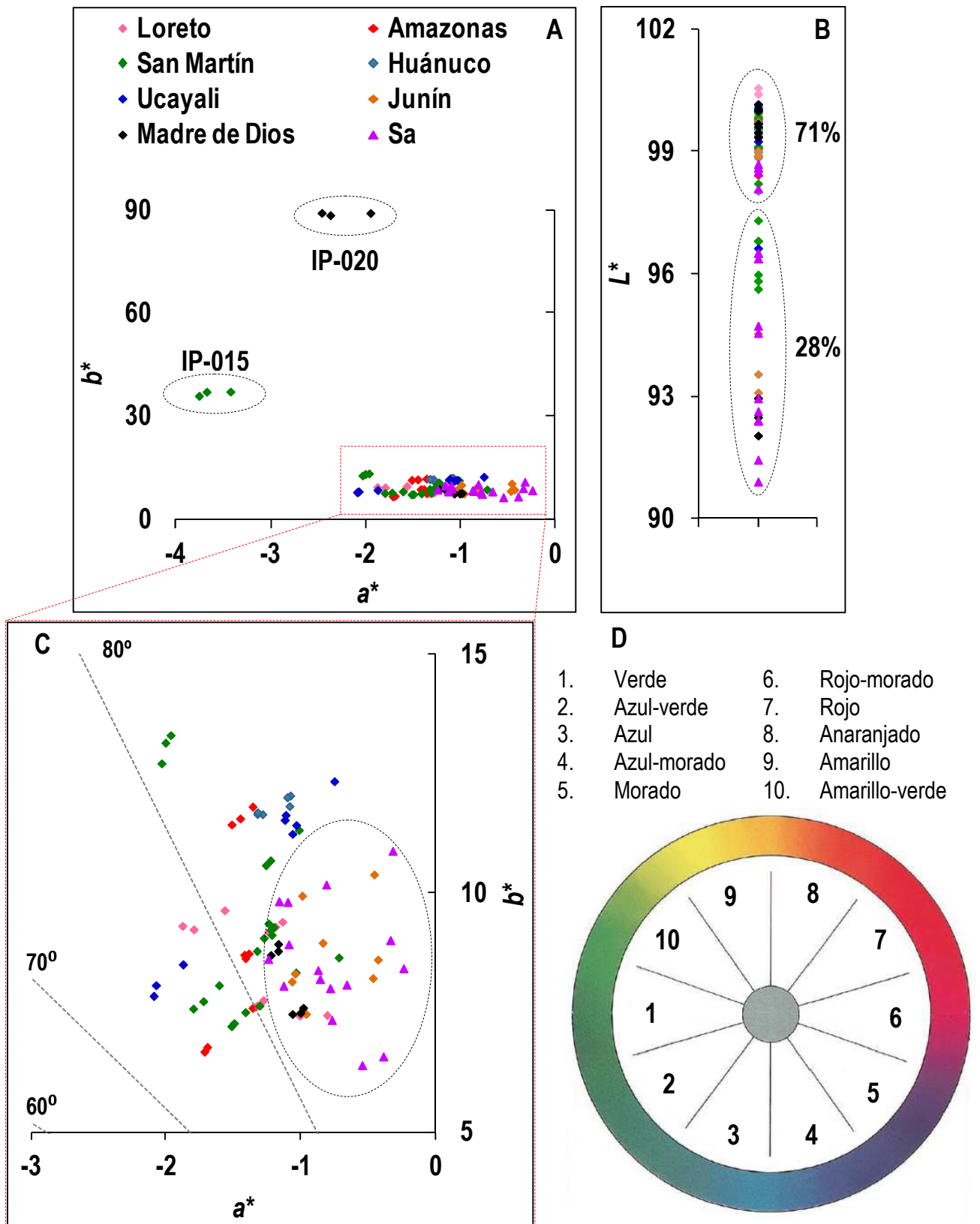


Figura 25. Diagrama de cromaticidad de las muestras de aceite de Sacha inchi: (A) registrado en el plano  $a^*b^*$ , (B) valores de  $L^*$ , (C) diagrama completo de la ventana pequeña y (D) ruleta de color.

Giacomelli *et al.* (2006), indica que el parámetro  $a^*$ , es positivo en aceite crudo de soja y maíz, mientras que valores negativos en aceite de oliva y en aceite refinado de girasol. Los valores más positivos de  $a^*$  están relacionados con el color rojo y oscuro observado en los aceites de soja. En cuanto a los valores de  $b^*$ , las muestras correspondientes a la región de Huánuco presentaron valores más altos siendo la región Junín la que presentó valores más bajos. Los valores positivos de  $b^*$ , indican una coloración amarilla en los aceites la cual está relacionada con el contenido de carotenoides. Los valores de  $L^*$ , nos permiten diferenciar los aceites con menor o mayor claridad, el 71% de las muestras se encuentra entre 98 y 101 unidades, mientras que el 28% de las muestras entre 91 y 97 unidades. En cuanto al tono ( $h_{ab}$ ), las muestras de diferentes zonas de cultivo presentaron un tono más alto, mientras que los aceites de semilla (Sa) presentaron un tono más bajo. De forma general los aceites de Sacha inchi tanto en las muestras de diferente zonas de cultivo así en como los aceites de semilla (Sa) a excepción de IP-015 y IP-020, presentaron valores altos de claridad, bajo croma, y tono alrededor de  $95^\circ$ , lo que indica colores amarillo claro y apagado (Figura 25D).

Los espectros de absorción UV-vis del aceite de Sacha inchi de diferentes regiones y los aceites de semilla (Sa) se muestran en la Figura 26. Los espectros de los aceites de Sacha inchi, presentan una banda de absorción entre la región de 400 y 500 nm que corresponde a la absorción de los carotenoides (Rodríguez-Amaya, 2001). Por otro lado, el perfil del espectro de los aceites procedentes de las diferentes zonas de cultivo y los aceites de semilla (Sa) es variable. El espectro de las muestras correspondientes a la región Loreto y Amazonas tienen un perfil similar a los aceites de semilla (Sa), mientras que las muestras de la región Huánuco y Ucayali muestran un perfil ligeramente similar, un tanto parecido ocurre con las muestras procedentes de las zonas de San Martín y Junín, en tanto que las muestras de la región Madre de Dios presentan un perfil muy distinto al resto de las muestras.

Se aplicó PCA para proporcionar una visión general de la capacidad para distinguir entre los aceites de Sacha inchi con basandose en los datos de los parámetros CIELAB (Figura 27).



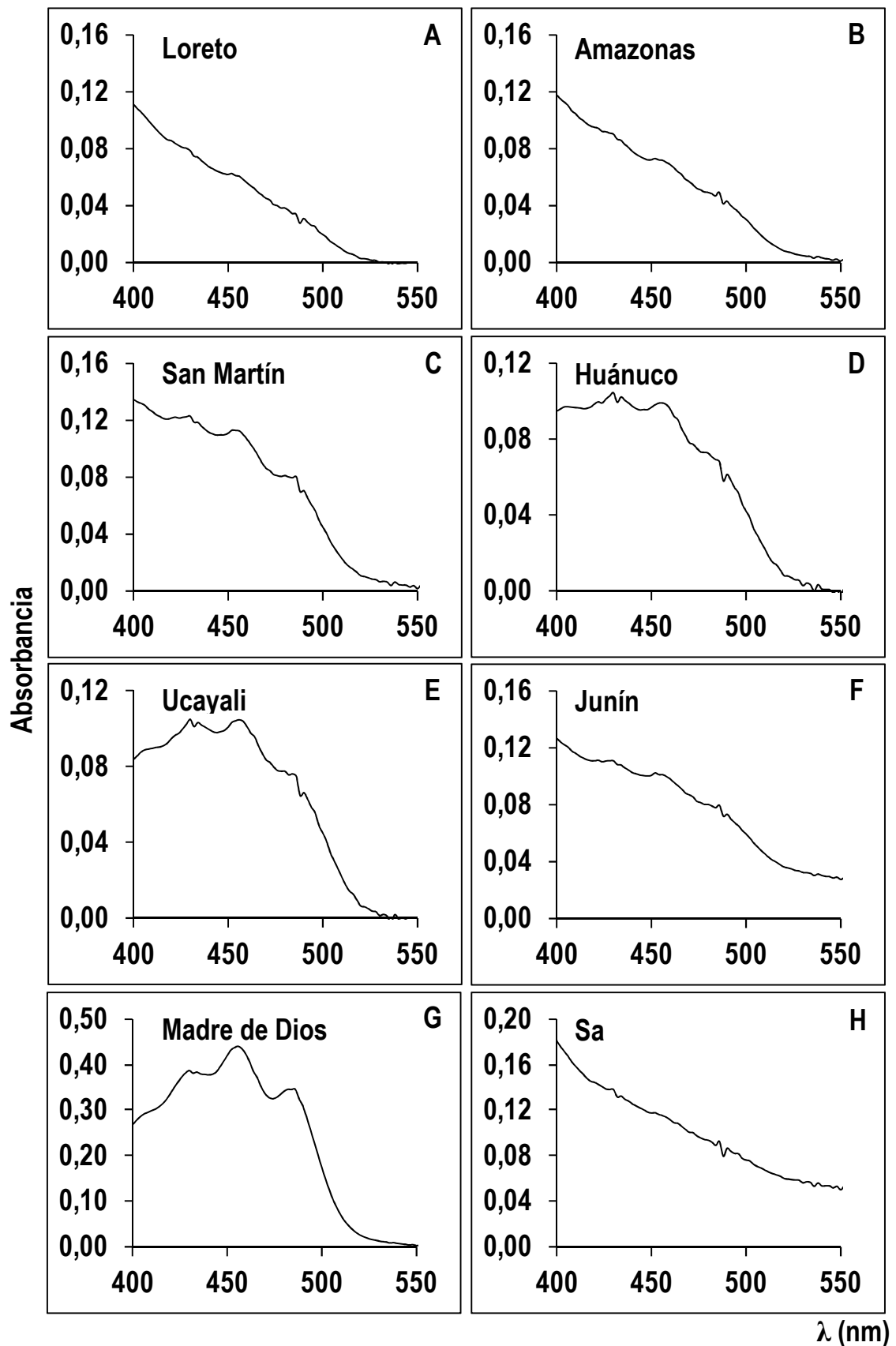


Figura 26. Espectro de absorción de las muestras de aceite de Sacha inchi procedente de diferentes regiones (A, B, C, D, E, F, G) y aceites de semilla (H).

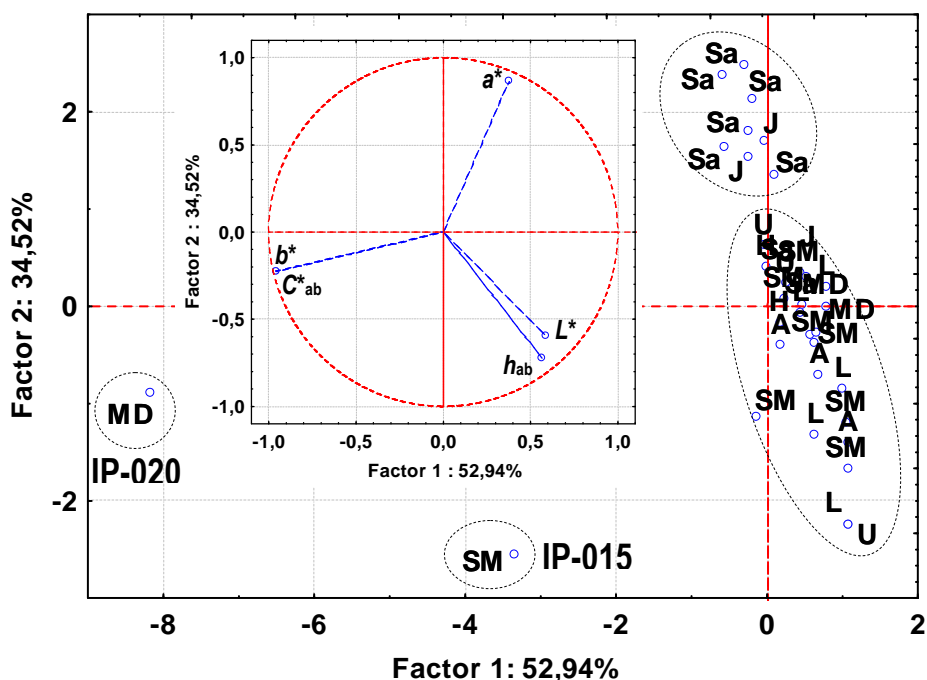


Figura 27. Factores de carga y representación de las muestras en el espacio generado por las dos primeras componentes principales (PCA) basado en los parámetros CIELAB de las diferentes muestras de aceite de Sacha inchi. Las letras correspondientes a la muestras son: A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali.

Los resultados mostrados en la [Figura 27](#), indican que los dos PC tienen valores mayores de uno, y que explican el 87,46% de la varianza total. Los factores de carga y la representación de las muestras en el espacio de los dos PC (PC1 y PC2) obtenidos en el PCA de los datos basados en los parámetros de color CIELAB de todos los aceites utilizados en este trabajo muestran dos grupos diferentes que pueden ser distinguidos uno de otro, especialmente los aceites de semilla (Sa) del resto de las muestras según zona de cultivo. Por otro lado, dos muestras una de la región San Martín y otra de la región Madre de Dios se encuentran muy separados del resto de las muestras. En caso, las cargas para PC1 son altas y negativas para el parámetro cromático  $b^*$  y para  $C^*_{ab}$ . Igualmente, el PC2 muestra una influencia positiva para el parámetro cromático  $a^*$ , el tono  $h_{ab}$  muestra una influencia negativa y la claridad  $L^*$  presenta un valor moderado y negativo. Por otro lado, los parámetros CIELAB muestran una alta correlación entre  $b^*$  y  $C^*_{ab}$  (0,999), y moderada entre  $L^*$  y  $h_{ab}$  (0,594) y  $C^*_{ab}$  y  $a^*$  (0,501). Estos resultados obtenidos mediante colorimetría triestímulo y utilizando los parámetros CIELAB no

permiten una buena discriminación entre los aceites de Sacha inchi, especialmente entre las muestras procedentes de diferentes zonas de cultivo, pero si muestran una diferencia con los aceites recién extraídos correspondientes a las muestras Sa.

#### 4.4 Determinación de carotenoides

Los carotenoides se encuentran exclusivamente en aceites vírgenes, constituyen la fracción amarilla e influyen en el color del aceite (Shahidi, 2005). Los carotenoides juegan un papel importante en la salud humana, al actuar como antioxidantes biológicos, protegiendo las células y tejidos de los efectos dañinos de los radicales libres (Rao y Rao, 2007).

La mayoría de los carotenoides presentan absorción en la región visible del espectro, entre 400 y 500 nm (Tabla 19).

Tabla 19. Propiedades fisicoquímicas de algunos carotenoides importantes.

Carotenoide	Color	Estructura	Disolvente	Coeficiente de absorción	
				Max (nm)	A <sup>1%</sup> <sub>1cm</sub>
ζ-Caroteno	Amarillo	Acíclico	Hexano	400	2555
Licopeno	Rojo	Acíclico	Éter de petróleo	470	3450
γ-Caroteno	Rojo-naranja	Monocíclico	Éter de petróleo	462	3100
β-Caroteno	Naranja	Bicíclico	Éter de petróleo	450	2592
α-Caroteno	Amarillo	Bicíclico	Éter de petróleo	444	2800
β-Criptoxantina	Naranja	Bicíclico	Éter de petróleo	449	2386
α-Criptoxantina	Naranja	Bicíclico	Hexano	445	2636
Zeaxantina	Amarillo-naranja	Bicíclico	Éter de petróleo	449	2348
Luteína	Amarillo	Bicíclico	Etanol	445	2550
Astaxantina	Rojo	Bicíclico	Hexano	470	2100
Violaxantina	Rojo	Bicíclico	Etanol	440	2550

En la Figura 28, se muestra el contenido de carotenoides de las muestras de aceite de Sacha inchi procedentes de las diferentes zonas de cultivo, así como el de los aceites de semilla (Sa).

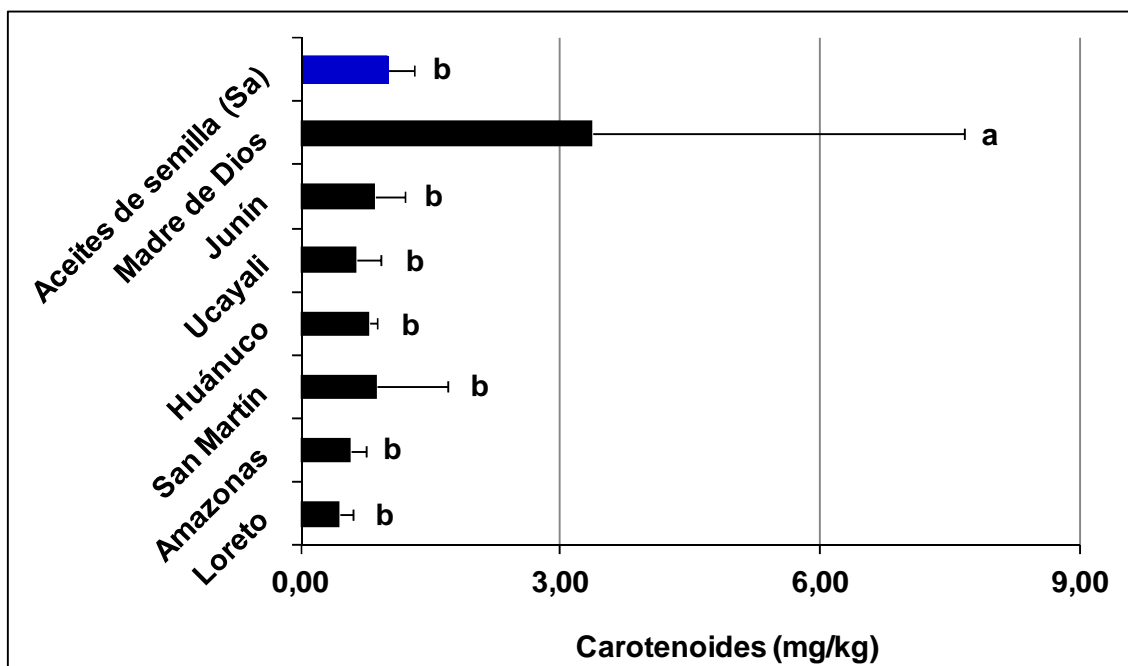


Figura 28. Contenido de carotenoides de aceites de Sacha inchi de diferentes zonas de cultivo y aceites de semilla (Sa). Letras (a-b) indican diferencia significativa a  $p < 0,05$ , según el test de Duncan.

El contenido de carotenoides de los aceites vegetales es un importante parámetro de calidad debido a su correlación con el color, el cual es un atributo básico para evaluar la calidad de los aceites. Los pigmentos carotenoides están también implicados en los mecanismos de auto-oxidación y foto-oxidación (Mínguez-Mosquera *et al.*, 1990). El contenido de carotenoides de todas las muestras procedentes de las diferentes zonas de cultivo estuvo entre 0,45-3,36 mg/kg. Las muestras procedentes de las regiones de Loreto, Amazonas y Ucayali presentaron valores bajos y solo una muestra de la región Madre de Dios presentó el valor más alto (9,09 mg/kg) y las muestras correspondientes a las regiones Huánuco, Junín y San Martín (0,78, 0,85 y 0,87 mg/kg respectivamente) se ubicaron en la zona media del conjunto de muestras. Por otro lado, el contenido de carotenoides de los aceites de semilla (Sa) estuvieron entre 0,60-1,50 mg/kg, con una media de 1,00 mg/kg. Hamaker *et al.* (1992), reportaron que el contenido de carotenoides en el aceite de Sacha inchi de semillas procedentes de la región San Martín de 8,0 mg/kg. En otros aceites vírgenes como oliva variedad Picual se encuentran en el intervalo de 4-27 mg/kg (Aparicio *et al.*, 1999), y en otros aceites vírgenes de semillas

como girasol, sésamo y cártamo entre 2,71, 3,72 y 4,32 mg/kg respectivamente (Navas-Hernández, 2010).

#### 4.5 Determinación de tocoferoles

Se ha mencionado que los tocoferoles se encuentran entre los antioxidantes naturales más importantes que se sintetizan en la mayoría de las plantas superiores; y son importantes inhibidores de la lipoxidación en alimentos y sistemas biológicos (Medina-Juárez *et al.*, 2000); en el caso de los aceites vegetales desempeñan un papel importante en la estabilidad oxidativa, dado que son moléculas capaces de bloquear las reacciones de oxidación causadas por los radicales libres inhibiendo o retardando su capacidad oxidante (Uluata y Özdemir, 2012). Estos antioxidantes naturales son encontrados en las semillas oleaginosas en cuatro formas diferentes:  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol y  $\delta$ -tocoferol (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996).

En la Figura 29, se muestra el perfil de un cromatograma típico de tocoferoles de una muestra de aceite de semilla (Sa). Sólo dos isómeros de tocoferoles ( $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol) fueron identificados y cuantificados en todas las muestras Sa.

El contenido de tocoferoles de los aceites de Sacha inchi analizados se muestra en la Tabla 20. El contenido total de tocoferoles de las muestras procedentes de diferentes regiones se encontró entre 700-3300 mg/kg, con una media de 2220 mg/kg. Las muestras de las regiones de Loreto, Amazonas, San Martín y Madre de Dios presentaron contenidos más bajos (1770-2250 mg/kg), mientras que las muestras procedentes de las regiones de Huánuco, Junín y Ucayali fueron las más altas (2330-2560 mg/kg). Con respecto a los aceites de semilla (Sa) presentaron valores entre 1400-1900 mg/kg, con una media de 1687 mg/kg. De estos resultados se observa que los valores obtenidos de las muestras de diferentes regiones son más altos que el de los aceites de semilla (Figura 30A). Fanali *et al.* (2011), encontraron valores de tocoferoles totales de 2130 mg/kg, mientras que Follegatti-Romero *et al.* (2009), mostró valores de 2390 mg/kg para aceite de Sacha inchi de semillas procedentes de Tingo María (Huánuco), este último valor concuerda con los encontrados para los aceites analizados.

Tabla 20. Contenido de tocoferoles de aceite de Sacha inchi procedentes de varias regiones de la Amazonia Peruana.

Código	$\alpha$ -Toc	$\gamma$ -Toc	$\delta$ -Toc	Total (mg/kg)
IP-001	34,74	900,64	654,36	1589,75
IP-002	5,03	1596,08	1273,04	2874,14
IP-003	3,10	1151,06	1173,70	2327,85
IP-004	4,98	1710,95	1387,29	3103,22
IP-005	5,46	1523,11	1160,12	2688,69
IP-006	134,96	964,48	404,27	1503,70
IP-007	66,50	771,00	358,00	1195,50
IP-008	5,33	1388,25	1055,12	2448,71
IP-009	2,14	1198,79	1228,46	2429,38
IP-010	2,97	1537,16	1152,87	2693,01
IP-011	57,63	1195,45	695,17	1948,26
IP-012	0,59	974,29	1074,91	2049,79
IP-013	3,95	1150,26	911,12	2065,32
IP-014	30,52	1567,88	969,35	2567,75
IP-015	5,10	1358,22	930,00	2293,32
IP-016	19,21	1383,18	979,80	2382,19
IP-017	5,07	1644,72	1176,32	2826,11
IP-018	7,33	1629,00	1141,96	2778,29
IP-019	82,72	1247,91	681,33	2011,95
IP-020	7,87	786,22	258,89	1052,99
IP-021	5,12	1707,14	1247,62	2959,88
IP-022	193,82	1177,09	598,00	1968,91
IP-023	27,89	1392,18	901,73	2321,80
IP-024	138,53	118,97	453,41	711,00
IP-025	138,59	1152,92	675,20	1966,70
IP-026	7,02	806,17	1154,55	1967,74
IP-027	5,93	1878,52	1347,56	3232,00
AV	37,11	1255,99	927,56	2220,66
SD	53,81	382,40	322,25	

AV, promedio; SD, desviación estándar.

Por otro lado, cuando se analizan los resultados en función de los tocoferoles individuales, encontramos que las muestras correspondientes a las diferentes regiones de cultivo tuvieron  $\alpha$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol, cuyos contenidos para este grupo de muestras fue de 37,11, 1255,99 y 927,56 mg/kg respectivamente, mientras que en los aceites de

semilla (Sa) solo se detectaron  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol en el siguiente contenido 1020,30 y 667,30 mg/kg respectivamente (Tabla 21), siendo  $\gamma$ -tocoferol el compuesto mayoritario y  $\delta$ -tocoferol el segundo compuesto en relación a concentración.

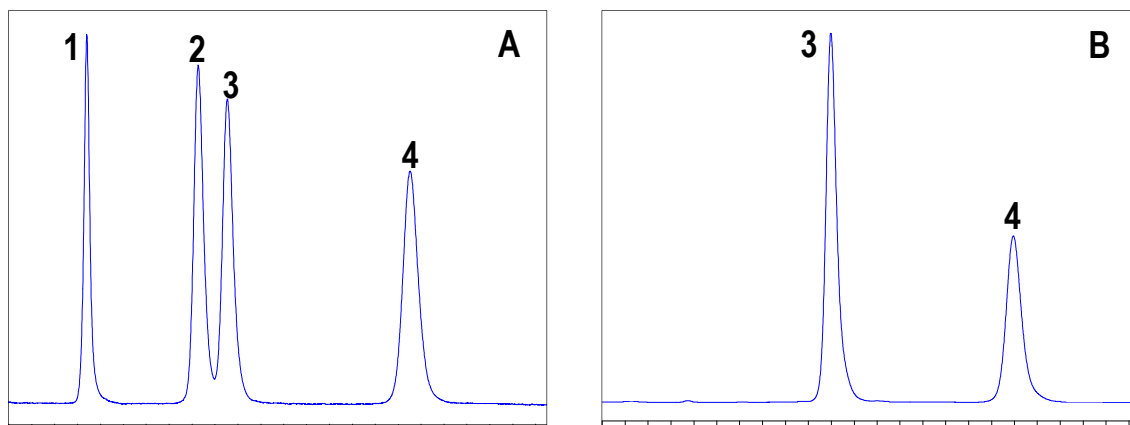


Figura 29. Cromatograma de una muestra autentica de aceite de Sacha inchi: (A) cromatograma de iones totales y (B) cromatograma HPLC-FD:  $\lambda_{Ex}=290$  nm;  $\lambda_{Em}=330$  nm. Asignación de picos:  $\alpha$ -tocoferol (1),  $\beta$ -tocoferol (2),  $\gamma$ -tocoferol (3) y  $\delta$ -tocoferol (4).

Tabla 21. Contenido de tocoferoles de muestras de aceites de semilla (Sa).

Código	$\gamma$ -Toc	$\delta$ -Toc	Total (mg/kg)
IP-100	1043,65	680,66	1724,31
IP-102	1021,02	721,51	1742,43
IP-103	1007,61	661,75	1669,37
IP-104	972,09	662,54	1634,64
IP-105	1138,79	719,76	1858,55
IP-106	863,86	581,60	1445,46
IP-107	1003,34	584,82	1588,16
IP-108	1112,17	674,80	1787,06
IP-109	1020,14	718,14	1738,29
AV	1020,30	667,30	1687,60
SD	79,27	53,28	

Según Fanali *et al.* (2011), estos valores encontrados para  $\alpha$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol fueron 4,0, 1257 y 869 mg/kg respectivamente, mientras que los valores encontrados por Follegatti-

Romero *et al.* (2009), para  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol fueron 1140 y 1250 mg/kg respectivamente, sin embargo no se detectó la presencia de  $\alpha$ -tocoferol. Por otro lado, Hamaker *et al.* (1992), reportó valores para  $\alpha$ -tocoferol entre 38-63 mg/kg. Es importante recalcar que el aceite de Sacha inchi contiene una buena fuente de tocoferoles en comparación con otros aceites como el de lino, colza y girasol que contienen valores de 367, 434 y 535 mg/kg en aceites obtenidos por prensado en frío (Gliszczynska-Świgło *et al.*, 2007), en tanto que en el aceite de oliva se encuentra entre 114-433 mg/kg, para aceite de la variedad Picual (Aparicio *et al.*, 1999).

Con el fin de estudiar la viabilidad de discriminación de las muestras de aceite de Sacha inchi en base a sus perfiles de tocoferoles, se construyó un diagrama de dispersión que representa la relación entre  $\gamma$ -tocoferol (eje x) y  $\delta$ -tocoferol (eje y) (Figura 30B).

Es posible observar una clara separación de tres grupos, el grupo G<sub>3</sub>, muestra una diferencia muy marcada en el sentido que presentan mayor contenido de  $\delta$ -tocoferol que  $\gamma$ -tocoferol, esta variación no es apreciada en el grupo G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>. Por otro lado, la separación de los dos primeros grupos principales, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>, es causada principalmente por la mayor cantidad  $\gamma$ -tocoferol, es importante remarcar que en el primer grupo se encuentran los aceites de semillas (Sa) junto con el 33% de las muestras de las diferentes regiones de cultivo, mientras que el segundo grupo contiene las muestras con mayor contenido de  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol y este grupo representa el 48% del total de las muestras de las diferentes regiones.

En la Figura 30C, se observa la distribución de las muestras de las diferentes regiones de cultivo en el grupo G<sub>3</sub>, por lo menos una muestra de la región San Martín, Junín, Amazonas y Ucayali forman parte de este grupo, además una muestra de la región San Martín (IP-024), contiene solamente el 10 y 49% del promedio para  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol respectivamente. El grupo G<sub>1</sub>, contiene las muestras que corresponden a 5 regiones menos las muestras de las regiones Ucayali y Huánuco, mientras que el grupo G<sub>2</sub>, agrupa a 6 regiones menos las muestras que corresponden a la región Amazonas.



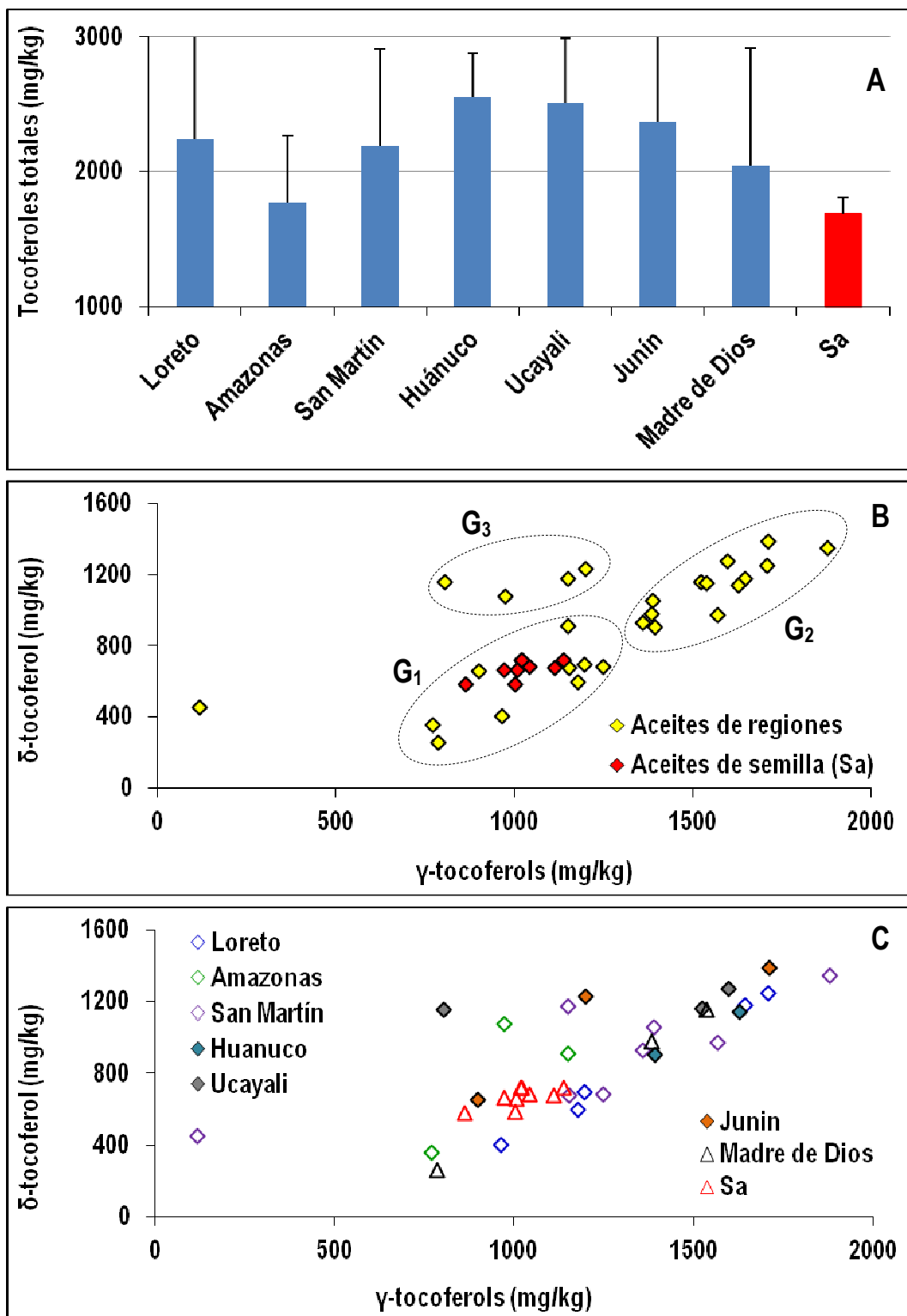


Figura 30. (A) Contenido de tocoferoles totales de aceites de Sacha inchi de diferentes zonas de cultivo y aceites de semilla (Sa), (B) diagrama de dispersión de  $\gamma$ -tocoferol (eje x) frente a  $\delta$ -tocoferol (eje y) y (C) diagrama de dispersión de diferentes zonas de cultivo y aceites de semilla.



comportamiento de las muestras en función de estas dos variables es directo y agrupa al 87% del total de las muestras, mientras que el 13% son opuestas a esta relación.

#### 4.6 Determinación de ácidos grasos

Los ácidos grasos son componentes mayoritarios de los aceites vegetales que forman parte de la fracción saponificable del aceite (Shahidi, 2005). El perfil de ácidos grasos de los aceites vegetales es una medida de las proporciones de los ácidos grasos individuales en el aceite y por lo tanto es una parte importante de la calidad del aceite. La proporción de los diferentes ácidos grasos en los aceites vegetales influye en la estabilidad del aceite, así como la determinación del nivel nutricional del aceite. Algunos ácidos grasos son considerados mejores que otros. En el caso del aceite de oliva, el ácido oleico (C18:1  $\omega$ -9 y C18:1  $\omega$ -7) es el más importante desde el punto de vista nutricional (Wiesman y Chapagain, 2009). En tanto que en el aceite de Sacha inchi predominan principalmente ácido linolénico (C18:3  $\omega$ -3) y ácido linoleico (C18:2  $\omega$ -6) (Guillén *et al.*, 2003).

La Figura 32, muestra el cromatograma de ácidos grasos correspondientes a tres muestras de aceite de Sacha inchi procedentes de diferentes regiones de la amazonia peruana. En la Tabla 22 y 23, se muestra la composición de ácidos grasos de todas las muestras analizadas. Como puede observarse los compuestos mayoritarios son ácidos grasos insaturados como el oleico (C18:1 $\omega$ 9+ $\omega$ 7) y predominan principalmente ácido linolénico (C18:3 $\omega$ -3) y ácido linoleico (C18:2 $\omega$ -6), además los ácidos grasos saturados presentes mayoritarios encontrados son el palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0). Cuando todo el conjunto de las muestras fueron consideradas se observó que el ácido palmítico varía entre 3-11%, mientras que el ácido esteárico lo hizo entre 2-4%. Con respecto al ácido palmítico estos resultados muestran concentraciones muy amplias, según investigaciones previas este compuesto varía entre 3-5% y el ácido esteárico concuerda con los valores encontrados. Con respecto a los ácidos grasos insaturados, la concentración de ácido oleico varió entre 9-23%, mientras que el ácido linoleico fluctuó entre 21-53%, y el ácido linolénico osciló entre 10-55%, sin embargo estos valores muestran una amplia variación. Según resultados reportados por otros autores (Hamaker *et al.*, 1992; Bondioli *et al.*, 2006; Follegatti-Romero *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2011;

Fanali *et al.*, 2011; Maurer *et al.*, 2012), el ácido oleico varió entre 8-10%, en tanto que el ácido linoleico fluctuó entre 33-36% y el ácido linolénico entre 44-50%.

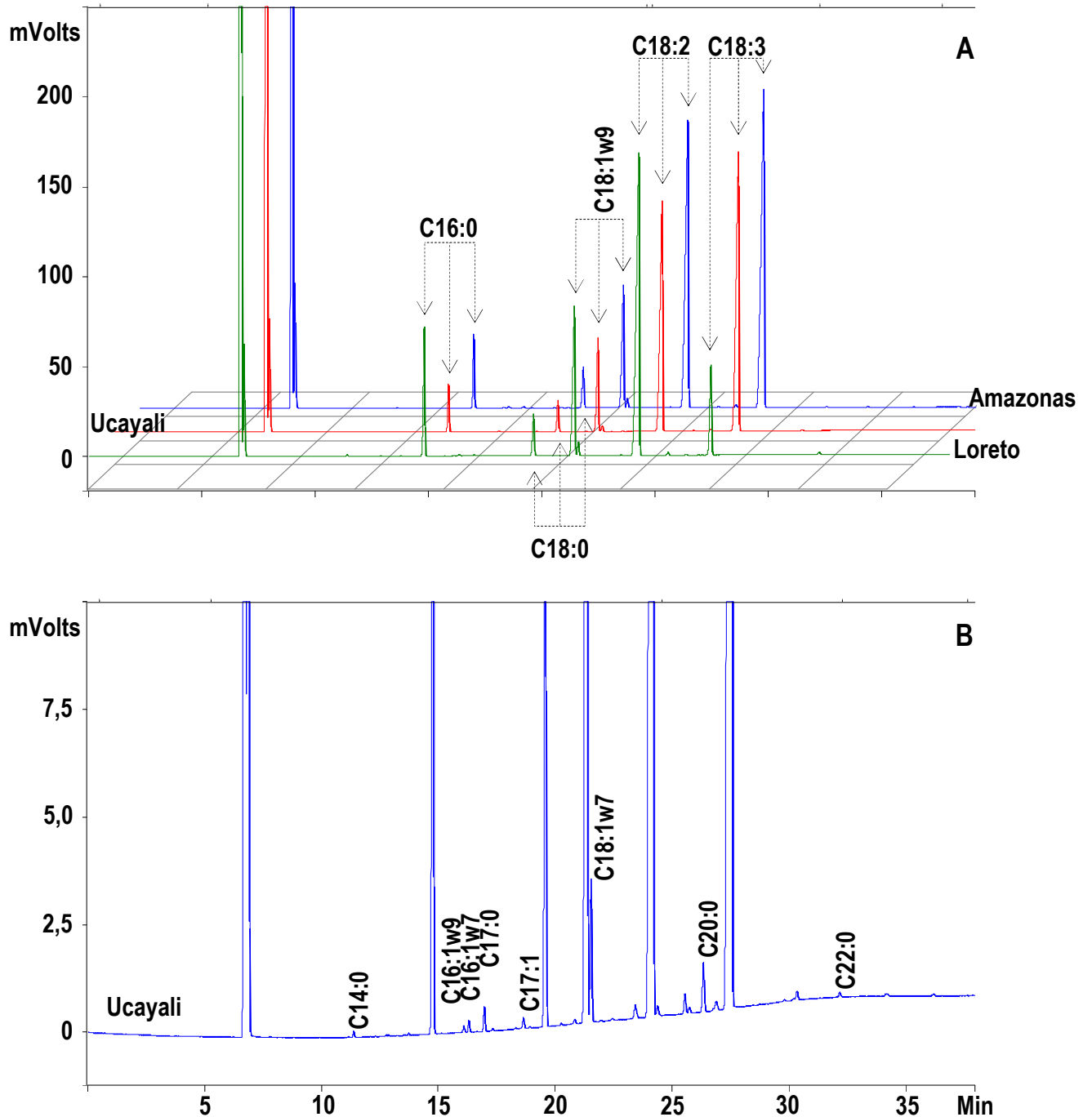


Figura 32. Perfil cromatográfico GC-FID, de FAMES del aceite de Sacha inchi: (A) Compuestos mayoritarios y (B) minoritarios.

Tabla 22. Composición de ácidos grasos mayoritarios del aceite de Sacha inchi proveniente de diferentes regiones de cultivo (% , promedio±SD).

Código	Palmítico (C16:0)	Estearico (C18:0)	Oleico (C18:1 $\omega$ 9+ $\omega$ 7)	Linoleico (C18:2)	Linolénico (C18:3)
IP-001	8,10(0,06)	2,88(0,00)	23,98(0,01)	31,66(0,02)	32,31(0,03)
IP-002	4,04(0,02)	3,00(0,00)	9,86(0,00)	34,22(0,00)	48,56(0,02)
IP-003	4,06(0,01)	2,91(0,00)	9,61(0,02)	34,14(0,02)	48,95(0,02)
IP-004	4,09(0,00)	3,12(0,00)	10,14(0,01)	37,58(0,00)	44,72(0,02)
IP-005	3,97(0,04)	3,04(0,01)	10,87(0,01)	35,17(0,00)	46,63(0,03)
IP-006	11,02(,15)	4,09(0,03)	20,25(0,05)	53,59(0,04)	10,06(0,02)
IP-007	10,15(,03)	4,26(0,01)	20,29(0,01)	52,16(0,00)	12,30(0,00)
IP-008	4,14(0,04)	3,33(0,01)	10,28(0,00)	38,68(0,01)	43,20(0,02)
IP-009	4,42(0,02)	3,19(0,00)	10,12(0,00)	35,81(0,00)	46,11(0,01)
IP-010	4,07(0,01)	3,05(0,01)	10,01(0,00)	35,92(0,00)	46,61(0,00)
IP-011	8,10(0,05)	3,80(0,01)	16,69(0,01)	47,05(0,02)	23,63(0,02)
IP-012	4,13(0,04)	3,05(0,00)	10,29(0,00)	34,72(0,01)	47,54(0,03)
IP-013	4,62(0,03)	3,17(0,01)	11,06(0,01)	37,68(0,02)	42,52(0,02)
IP-014	5,87(0,04)	3,43(0,01)	13,13(0,02)	41,17(0,01)	35,86(0,02)
IP-015	4,45(0,01)	3,32(0,01)	11,57(0,01)	31,32(0,01)	48,99(0,02)
IP-016	5,72(0,01)	3,54(0,01)	12,90(0,01)	40,64(0,01)	36,70(0,01)
IP-017	3,95(0,00)	2,99(0,00)	9,70(0,00)	36,50(0,02)	46,53(0,02)
IP-018	4,08(0,02)	3,08(0,01)	9,72(0,01)	36,64(0,02)	46,14(0,02)
IP-019	9,01(0,07)	3,94(0,01)	18,27(0,02)	48,61(0,02)	19,34(0,02)
IP-020	4,74(0,14)	3,06(0,02)	15,44(0,05)	21,26(0,02)	55,10(0,03)
IP-021	4,58(0,04)	2,63(0,01)	12,30(0,37)	35,28(0,10)	43,41(0,08)
IP-022	5,01(0,22)	3,06(0,11)	12,58(0,51)	34,67(1,21)	43,03(0,18)
IP-023	4,72(0,39)	2,70(0,00)	11,36(0,27)	35,27(0,27)	44,79(0,12)
IP-024	3,70(0,13)	2,87(0,05)	12,89(0,02)	33,96(0,61)	45,05(0,33)
IP-025	4,53(0,10)	3,26(0,04)	12,57(0,35)	35,74(0,72)	41,89(0,51)
IP-026	4,42(0,20)	3,15(0,03)	11,51(0,26)	32,06(0,03)	48,37(0,01)
IP-027	3,74(0,11)	2,92(0,02)	11,55(0,48)	36,51(1,24)	44,44(0,63)
AV	5,31	3,22	12,95	37,33	40,47
SD	2,05	0,40	3,79	6,67	11,38

AV, promedio; SD, desviación estándar.

Con respecto a los ácidos grasos que se encuentran en menor concentración (Tabla 23), su contenido concuerda con las primeras investigaciones llevadas a cabo en este aceite.

Por otro lado, la concentración de ácidos grasos mayoritarios según las diferentes regiones de cultivo (Tabla 24), no muestran diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Tabla 23. Composición de ácidos grasos minoritarios del aceite de Sacha inchi proveniente de diferentes regiones de cultivo (% , promedio $\pm$ SD).

Código	Mirístico (C14:0)	Palmitoleico (C16:1 $\omega$ 9+ $\omega$ 7)	Margárico (C17:0)	Margaroleico (C17:1)	Araquídico (C20:3)	Behémico (C20:3)
IP-001	0,02(0,00)	0,63(0,00)	0,08(0,00)	0,05(0,00)	0,23(0,01)	0,07(0,00)
IP-002	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,09(0,00)	0,04(0,00)	0,08(0,00)	0,02(0,00)
IP-003	0,02(0,00)	0,08(0,00)	0,09(0,00)	0,04(0,00)	0,08(0,00)	0,02(0,00)
IP-004	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,10(0,00)	0,05(0,00)	0,09(0,00)	0,02(0,00)
IP-005	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,09(0,00)	0,04(0,00)	0,09(0,00)	0,02(0,00)
IP-006	0,10(0,00)	0,14(0,00)	0,10(0,00)	0,05(0,00)	0,31(0,01)	0,29(0,01)
IP-007	0,07(0,00)	0,09(0,00)	0,10(0,00)	0,05(0,00)	0,31(0,00)	0,22(0,01)
IP-008	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,10(0,00)	0,05(0,00)	0,10(0,00)	0,03(0,00)
IP-009	0,02(0,00)	0,08(0,00)	0,10(0,00)	0,05(0,00)	0,09(0,00)	0,02(0,00)
IP-010	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,10(0,00)	0,04(0,00)	0,09(0,00)	0,02(0,00)
IP-011	0,06(0,00)	0,09(0,00)	0,10(0,00)	0,05(0,00)	0,24(0,00)	0,21(0,00)
IP-012	0,02(0,00)	0,08(0,00)	0,09(0,00)	0,04(0,00)	0,03(0,00)	0,02(0,00)
IP-013	0,02(0,00)	0,11(0,00)	0,11(0,00)	0,06(0,00)	0,02(0,00)	0,03(0,00)
IP-014	0,03(0,00)	0,08(0,00)	0,10(0,00)	0,05(0,00)	0,16(0,00)	0,11(0,00)
IP-015	0,02(0,00)	0,08(0,00)	0,09(0,00)	0,04(0,00)	0,10(0,00)	0,03(0,00)
IP-016	0,03(0,00)	0,08(0,00)	0,10(0,00)	0,04(0,00)	0,15(0,00)	0,09(0,00)
IP-017	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,10(0,00)	0,04(0,00)	0,08(0,00)	0,02(0,00)
IP-018	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,10(0,00)	0,05(0,00)	0,09(0,00)	0,02(0,00)
IP-019	0,06(0,00)	0,08(0,00)	0,10(0,00)	0,04(0,00)	0,27(0,00)	0,28(0,00)
IP-020	0,03(0,00)	0,07(0,00)	0,07(0,00)	0,04(0,00)	0,11(0,02)	0,08(0,01)
IP-021	0,03(0,00)	0,07(0,00)	0,08(0,00)	0,04(0,00)	0,20(0,01)	0,02(0,00)
IP-022	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,09(0,00)	0,03(0,00)	0,15(0,00)	0,03(0,00)
IP-023	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,05(0,00)	0,04(0,00)	0,21(0,02)	0,03(0,00)
IP-024	0,03(0,00)	0,07(0,00)	0,09(0,00)	0,05(0,00)	0,12(0,01)	0,02(0,00)
IP-025	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,09(0,00)	0,05(0,00)	0,21(0,01)	0,02(0,00)
IP-026	0,03(0,00)	0,08(0,00)	0,08(0,01)	0,04(0,00)	0,24(0,02)	0,03(0,00)
IP-027	0,02(0,00)	0,07(0,00)	0,08(0,00)	0,04(0,00)	0,13(0,01)	0,02(0,00)
AV	0,03	0,70	0,09	0,04	0,15	0,07
SD	0,00	0,11	0,00	0,00	0,01	0,00

AV, promedio; SD, desviación estándar.

Por otro lado, las muestras de las regiones Loreto, Amazonas, San Martín y Madre de Dios muestran una variabilidad alta para el ácido linoleico y linolénico.

Tabla 24. Composición de ácidos grasos mayoritarios del aceite de Sacha inchi según regiones de cultivo (% , promedio±SD).

Regiones	Palmítico (C16:0) <sup>ns</sup>	Estearico (C18:0) <sup>ns</sup>	Oleico (C18:1 $\omega$ 9+ $\omega$ 7) <sup>ns</sup>	Linoleico (C18:2) <sup>ns</sup>	Linolénico (C18:3) <sup>ns</sup>
Loreto	6,53(2,27)	3,31(0,61)	14,30(4,16)	41,42(8,47)	33,33(15,85)
Amazonas	6,30(3,34)	3,49(0,66)	14,08(5,42)	41,52(9,33)	34,12(19,06)
San Martín	4,94(1,78)	3,25(0,36)	12,48(2,64)	37,52(5,40)	40,96(9,68)
Huánuco	4,40(0,45)	2,89(0,27)	10,54(1,16)	35,95(0,97)	45,46(0,95)
Ucayali	4,14(0,24)	3,06(0,08)	10,75(0,83)	33,82(1,59)	47,85(1,06)
Junín	5,54(2,23)	3,06(0,16)	14,75(8,00)	35,02(3,04)	41,05(7,60)
Madre de Dios	4,84(0,83)	3,22(0,28)	12,78(2,72)	32,60(10,10)	46,14(9,21)

<sup>ns</sup> Indica que no hay diferencia significativa a  $p < 0,05$

En la [Tabla 25](#), se muestra los niveles relativos de seis parámetros significativos (relación ácido linoleico/linolénico, relación ácido oleico/linoleico, total ácidos grasos saturados (SFAs), total ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), total ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs), MUFAs/PUFAs).

En estos resultados se observa que las muestras que pueden considerarse sospechosas se encuentran incrementadas en los contenidos de ácido oleico, linoleico y reducido en los niveles de ácido linolénico. Es importante señalar que la relación L/L, SFAs y MUFAs, en las muestras IP-006, IP-007, IP-011, IP-014, IP-016 y IP-019, se encuentran elevadas y disminuido el total de ácidos grasos poliinsaturados. Por lo tanto, la relación MUFAs/PUFAs en estas muestras también fue elevada, así como en las muestras IP-001 y IP-020. La relación ácido oleico/linoleico se utiliza con frecuencia como un parámetro de estabilidad, y los aceites con una relación más alta también son los que tienen una estabilidad oxidativa superior ([Velasco y Dobarganes, 2002](#)). En caso del aceite de oliva esta relación es mayor que en el de maíz, cacahuete, girasol y colza, debido al mayor contenido de ácido oleico que le confiere una mayor estabilidad ([Yang et al., 2013](#)).

Tabla 25. Resumen de los parámetros significativos de todas las muestras de aceite de Sacha inchi proveniente de diferentes regiones de cultivo.

Código	O/L	L/L	SFAs	MUFAs	PUFAs	MUFAs/PUFAs
IP-001	0,757	0,980	11,378	24,654	63,969	0,385
IP-002	0,288	0,705	7,249	9,970	82,781	0,120
IP-003	0,281	0,698	7,186	9,721	83,093	0,117
IP-004	0,270	0,840	7,439	10,254	82,307	0,125
IP-005	0,309	0,754	7,227	10,977	81,796	0,134
IP-006	0,378	5,325	15,907	20,442	63,652	0,321
IP-007	0,389	4,241	15,109	20,426	64,465	0,317
IP-008	0,266	0,895	7,716	10,406	81,881	0,127
IP-009	0,283	0,776	7,835	10,247	81,918	0,125
IP-010	0,279	0,770	7,349	10,122	82,529	0,123
IP-011	0,355	1,992	12,504	16,819	70,677	0,238
IP-012	0,296	0,730	7,335	10,403	82,263	0,126
IP-013	0,309	0,886	7,971	11,824	80,205	0,147
IP-014	0,319	1,148	9,708	13,254	77,037	0,172
IP-015	0,369	0,639	8,010	11,683	80,307	0,145
IP-016	0,317	1,107	9,637	13,021	77,342	0,168
IP-017	0,266	0,784	7,158	9,811	83,031	0,118
IP-018	0,265	0,794	7,384	9,844	82,771	0,119
IP-019	0,376	2,514	13,655	18,395	67,950	0,271
IP-020	0,726	0,386	8,092	15,548	76,360	0,204
IP-021	0,349	0,813	7,532	12,409	78,684	0,158
IP-022	0,363	0,806	8,348	12,681	77,701	0,163
IP-023	0,322	0,787	7,732	11,479	80,060	0,143
IP-024	0,380	0,754	6,832	13,011	79,009	0,165
IP-025	0,352	0,853	8,118	12,686	77,631	0,163
IP-026	0,359	0,663	7,943	11,626	80,432	0,145
IP-027	0,316	0,822	6,906	11,662	80,945	0,144
AV	0,353	1,202	8,861	13,088	77,807	0,174
SD	0,119	1,123	2,553	3,858	6,118	0,071

O/L, relación ácido oleico/linoleico; L/L, relación ácido linoleico/linolénico; SFAs, total ácido grasos saturados; MUFAs, total ácidos grasos monoinsaturados; PUFAs, total ácidos grasos poliinsaturados y relación MUFAs/PUFAs. AV, promedio; SD, desviación estándar.

Considerando los compuestos que presentan una alta variabilidad (palmítico, oleico, linoleico y linolénico) (Figura 33), de las muestras analizadas y según la información



obtenida del perfil de ácidos grasos mediante GC-FID y la revisión de la literatura se podría considerar como muestras sospechosas (Tabla 26).

Tabla 26. Composición de ácidos grasos mayoritarios de muestras sospechosas, obtenida del perfil de ácidos grasos mediante GC-FID.

Muestra	Palmítico (C16:0)	Estearico (C18:0)	Oleico (C18:1 $\omega$ 9+ $\omega$ 7)	Linoleico (C18:2)	Linolénico (C18:3)
No sospechosas ( $\chi$ )	4,27(0,35)	3,04(0,18)	11,18(1,46)	34,66(3,61)	46,13(3,03)
Sospechosas ( $\chi$ )	8,28(2,00)	3,71(0,46)	17,94(4,03)	44,98(7,68)	24,31(10,98)
IP-001	8,10	2,88	23,98	31,66	32,31
IP-006	11,02	4,09	20,25	53,59	10,06
IP-007	10,15	4,26	20,29	52,16	12,30
IP-011	8,10	3,80	16,69	47,05	23,63
IP-014	5,87	3,43	13,13	41,17	35,86
IP-016	5,72	3,54	12,90	40,64	36,70
IP-019	9,01	3,94	18,27	48,61	19,34
IP-020	4,74	3,06	15,44	21,26	55,10

De los resultados mostrados en la (Tabla 26), se observa que el aceite de Sacha inchi presenta altos niveles de ácido linoleico y linolénico, en el caso de las muestras no sospechosas la concentración de ácidos poliinsaturados (PUFAs), es aproximadamente del 80% (35% de ácido linoleico y 46% de ácido linolénico), estos valores están bien documentados (Hamaker *et al.*, 1992; Bondioli *et al.*, 2006; Follegatti-Romero *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2011; Fanali *et al.*, 2011; Maurer *et al.*, 2012). Sin embargo en las muestras que se podrían considerar como sospechosas, estos valores están en la siguiente relación 69% de PUFAs de los cuales (45% ácido linoleico y 24% de ácido linolénico). Los resultados mostrados en la Tabla 26, muestran un perfil similar a los encontrados por Maurer *et al.*, (2012), para muestras comerciales de aceite de Sacha inchi. Sin embargo, detectó tres muestras sospechosas basandose en la información de un sistema infrarrojo, estas tres muestras presentaron valores para el ácido palmítico entre 4-13%, el ácido oleico entre 11-20%, el ácido linoleico entre 37-54%, mientras que el ácido linolénico fluctuó entre 7-42%.

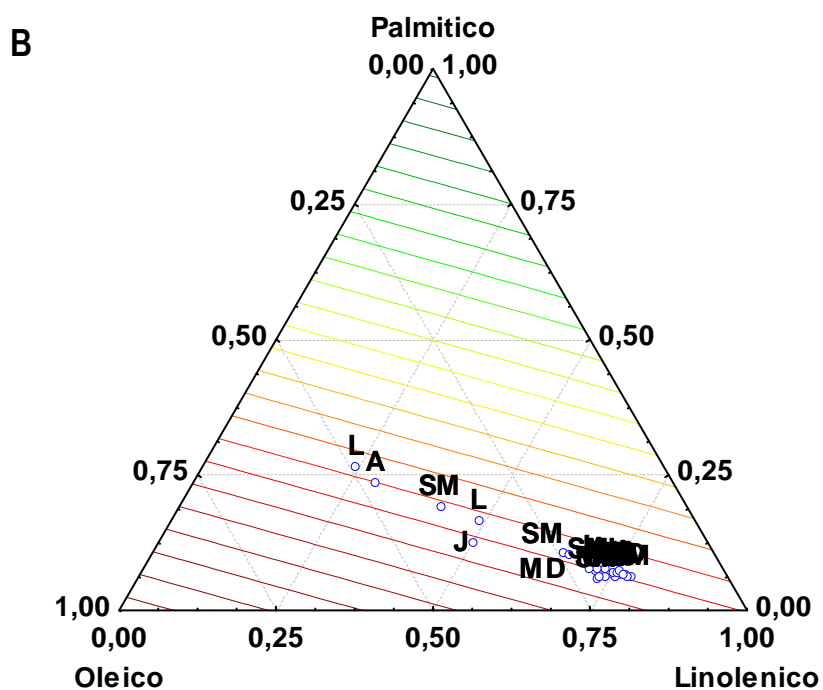
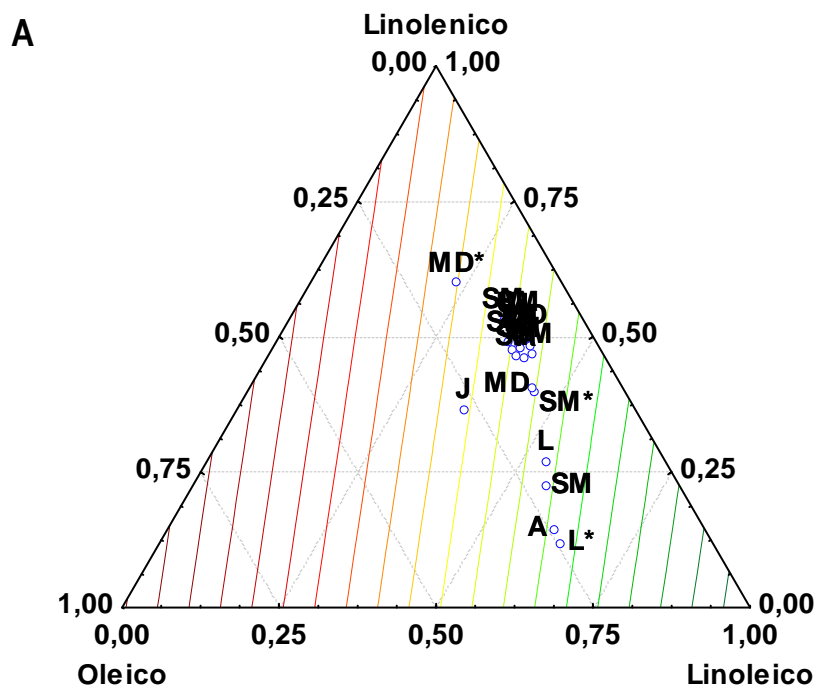


Figura 33. Diagrama ternario del contenido relativo del ácido palmítico, oleico, linolénico y linoleico de diferentes zonas de cultivo: (A) ácido oleico, linoleico y linolénico, (B) ácido oleico, linolénico y palmítico. Muestras de las regiones L=Loreto (IP-006\* y IP-011), A=Amazonas (IP-007), SM=San Martín (IP-014\* y IP-019), J=Junín (IP-001) y MD=Madre de Dios (IP-016 y IP-020\*).

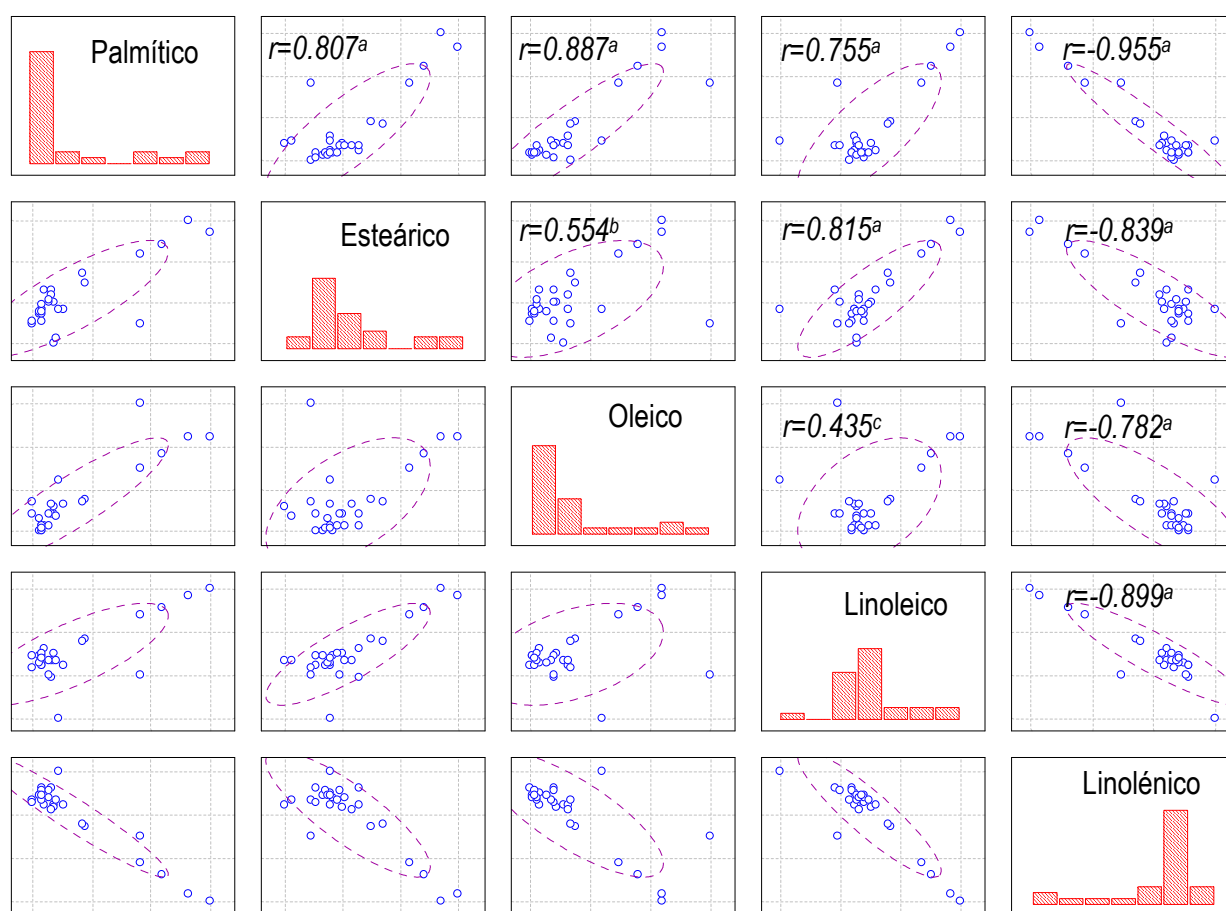


Figura 34. Matriz de de correlación de Pearson entre los niveles de ácidos grasos mayoritarios de las muestras de aceite de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo. Elipses de confianza para  $\alpha=0,05$  y coeficiente 0,5. a, b, c corresponde a las significancias a  $p<0,001$ , 0,01 y 0,05 respectivamente.

Los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables de ácidos grasos se muestran en la Figura 34. Las correlaciones entre el ácido linolénico y el ácido linoleico ( $r=-0,899$ ;  $p<0,001$ ), oleico ( $r=-0,782$ ;  $p<0,001$ ), esteárico ( $r=-0,839$ ;  $p<0,001$ ) y palmítico ( $r=-0,955$ ;  $p<0,001$ ) fueron altas y negativas; es decir, un aumento de un ácido graso conduce a una disminución correspondiente en la otra, mientras que las correlaciones entre los ácidos palmítico, esteárico, oleico y linoleico presentan una correlación positiva, siendo la correlación entre el ácido oleico y linoleico la más baja. Tahmasebi-Enferadi *et al.* (2004), reportó una correlación negativa entre el ácido linolénico y ácido linoleico en concentraciones bajas de ácido oleico, esta disminución

de ácido linoleico se llevó a cabo por acción del ácido linoleico desaturasa que produjo un incremento del ácido linolénico. [Shin et al. \(2010\)](#), reportó correlaciones positivas entre linoleico, esteárico y palmítico en muestras de cacahuete.

El objetivo de la proyección de los factores es visualizar la posición de las variables con respecto uno de otro en el espacio bidimensional y sus correspondientes correlaciones. El PCA generado proporciona una visión general del conjunto completo de ácidos grasos, incluyendo los parámetros (O/L, L/L, SFAs, MUFAs, PUFAs y MUFAs/PUFAs). El gráfico de dispersión de los factores de carga de los dos primeros componentes principales (PC1 64,60% y PC2 18,75%) fue 83,35%, que era lo suficientemente alto como para representar a todas las variables. Las variables separan a lo largo de la primera componente PC1, mediante correlación positiva [C14:0, C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C20:0, C22:0, L/L, SFAs, MUFAs, MUFAs/PUFAs] y mediante correlación negativa [C18:3 y PUFAs]; y correlación negativa [C16:1y la relación Oleico/Linoleico] y positiva [C17:0] en PC2. Adicionalmente, mediante correlación positiva el ácido margaroleico en PC3 ([Figura 35A](#)).

El diagrama de dispersión de ácidos grasos a partir de aceites Sacha inchi (n=27) generados por comparaciones de las primeras PCs, se representan en la [Figura 35B](#). El gráfico de dispersión PC1-PC2, revela que las distintas muestras procedentes de diferentes regiones de cultivo se encuentran agrupadas en un solo clúster, con excepción de que al menos una muestra no forma parte de este grupo, especialmente de la región Madre de Dios, San Martín, Loreto, Amazonas y Junín, además se observa que las muestras no se discriminan según la zona de cultivo, especialmente por su alto contenido en ácido palmítico, oleico y bajas concentraciones de ácido linolénico. Además se observa que las muestras agrupadas presentan un alto contenido en PUFAs.

#### **4.7 Determinación de esteroides**

El contenido de esteroides de las semillas y frutos oleaginosos es muy variable y determina en parte el contenido en sus correspondientes aceites ([Verleyen et al., 2002](#)), además se ha comprobado en los aceites que el perfil de esteroides varía atendiendo a distintos factores como los agronómicos, variedad y otros factores geográficos.

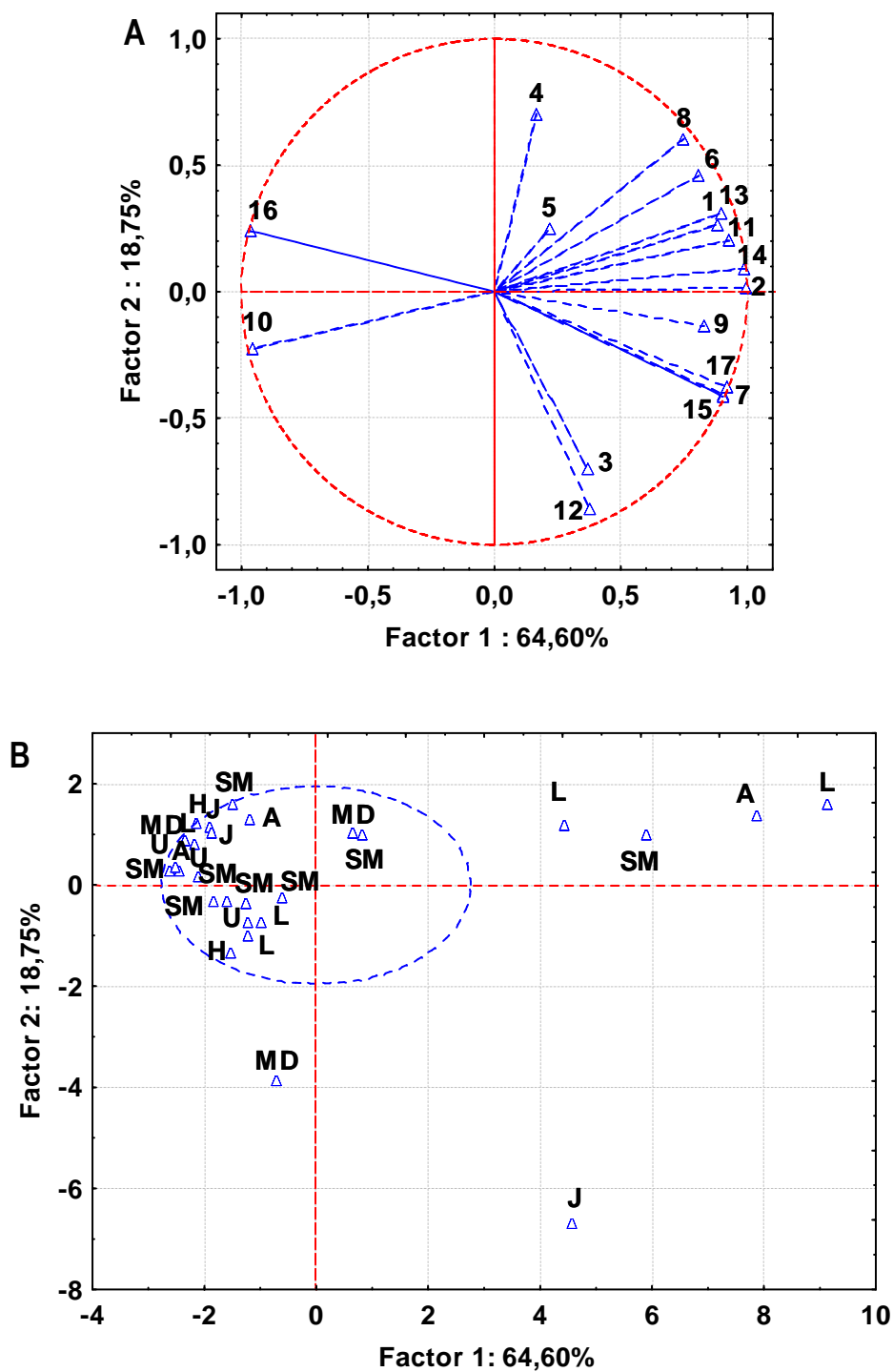


Figura 35. Análisis de PCA (PC1-PC2), de once ácidos grasos y seis parámetros. Factores de cargas (A) y diagrama de dispersión (B). Los números representan: 1=C14:0; 2=C16:0; 3=C16:1; 4=C17:0; 5=C17:1; 6=C18:0; 7=C18:1; 8=C18:2; 9=C20:0; 10=C18:3; 11=C22:0; 12=O/L; 13=L/L; 14=SFAs; 15=MUFAs; 16=PUFAs; 17=MUFAs/PUFAs.

Por otro lado, los procesos industriales de refinación en aceites vegetales producen pérdidas de esteroides que oscilan entre 10 y 70% (Verleyen *et al.*, 2002). Además, el consumo de aceites vegetales ricos en esteroides está asociado con una reducción en los niveles séricos de colesterol y de riesgo cardiovascular. Esto podría ser de gran importancia en las sociedades desarrolladas en las que la enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte (Ortega, 2006).

Por otro lado, la determinación de los distintos tipos de esteroides se ha convertido en una herramienta extremadamente útil en la detección de aceites vírgenes adulterados con aceites refinados, dado que durante la refinación disminuyen los esteroides libres y aumenta el contenido de esteroides esterificados (Cunha *et al.*, 2006). Este hecho ha generado una especial atención ya que la determinación de ambas fracciones puede proporcionar información precisa sobre el origen real de los aceites vírgenes. En el caso del aceite de oliva una mezcla con pequeñas cantidades de aceite de avellana, la determinación de esteroides puede ser muy útil (Cercaci *et al.*, 2003), que si solamente se determinara la composición de ácidos grasos de los dos aceites dificultaría la detección del fraude dado la similitud entre ambas.

El análisis cromatográfico de la fracción insaponificable del aceite de Sacha inchi mostró 14 picos de esteroides. En la Figura 36 se muestra un perfil GC-FID y los compuestos están detallados en la Tabla 27. Dos compuestos han sido identificados que aún no han sido reportados en el aceite de Sacha inchi, estos incluyen brasicasterol y  $\Delta 7$ -campesterol. Sin embargo el  $\Delta 5,23$ -estigmastadienol no fue detectado en este estudio (Bondioli *et al.*, 2006). La identificación de los picos de brasicasterol, 24-metilen-colesterol, campesterol, campestanol, estigmasterol,  $\Delta 7$ -campesterol, clerosterol,  $\beta$ -sitosterol, sitostanol,  $\Delta 5$ -avenasterol,  $\Delta 5,24$ -estigmastadienol,  $\Delta 7$ -estigmastanol y  $\Delta 7$ -avenastrol fue confirmado por comparación de sus tiempos de retención relativos y examinando sus patrones de fragmentación. Una muestra de aceite de semilla (Sa) fue utilizada como patrón de comparación y una muestra de aceite de colza fue utilizada para la determinación de brasicasterol y fue comparada con los resultados obtenidos por GC-FID y GC-MS. Estos resultados son consistentes con los

datos disponibles en la literatura (Beveridge *et al.*, 2002; Cunha *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007).

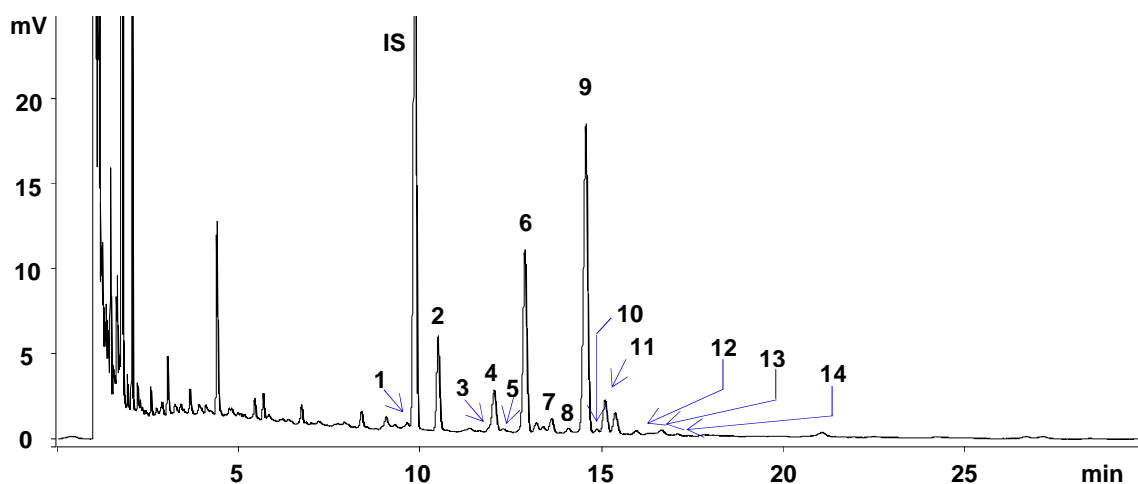


Figura 36. Perfil GC-FID de los esteroides de una muestra de aceite de Sacha inchi. 1=colesterol; IS=5 $\alpha$ -cholestan-3 $\beta$ -ol; 2=brasicasterol; 3=24-metilen-colesterol; 4=campesterol; 5=campestanol; 6=estigmasterol; 7= $\Delta$ 7-campesterol; 8=clerosterol; 9= $\beta$ -sitosterol; 10=sitostanol; 11= $\Delta$ 5-avenasterol; 12= $\Delta$ 5,24-estigmastadienol; 13= $\Delta$ 7-estigmasterol; 14= $\Delta$ 7-avenasterol.

Tabla 27. Tiempo de retención relativo y fragmentación de iones principales de los esteroides del aceite de Sacha inchi.

Componente	RR <sub>r</sub> <sup>a</sup>	Fragmentación de iones principales <i>m/z</i>	
		[M] <sup>+</sup>	Otros picos
Colesterol	0,74	458	368, 329
Brasicasterol	0,80	470	455, 380, 365, 341
24-Metilen-colesterol	0,86	400	385, 382, 367
Campesterol	0,87	472	457, 382, 343
Campestanol	0,88	474	459, 384, 369
Estigmasterol	0,91	484	469, 394, 379, 355
$\Delta$ 7-Campesterol	0,93	472	457, 382, 367, 345
Clerosterol	0,96	489	469, 379, 355
$\beta$ -Sitosterol	1	486	471, 396, 357
Sitostanol	1,01	488	473, 398, 383, 359
$\Delta$ 5-Avenasterol	1,02	484	469, 394, 386, 371, 343, 296
$\Delta$ 5,24-Estigmastadienol	1,07	484	394, 386
$\Delta$ 7-Estigmastanol	1,09	486	471, 381, 345, 255
$\Delta$ 7-Avenasterol	1,12	484	469, 394, 386, 343, 296, 281, 253

<sup>a</sup> Tiempo de retención relativo con respecto al  $\beta$ -sitosterol (40,22 min) con una columna ZB-5MS de 30 m. El estándar interno (5 $\alpha$ -cholestan-3 $\beta$ -ol) eluyó con un tiempo de retención relativo de 0,76.

En la [Figura 37](#) y [38](#), se muestra el espectro de masas de algunos esteroides identificados.

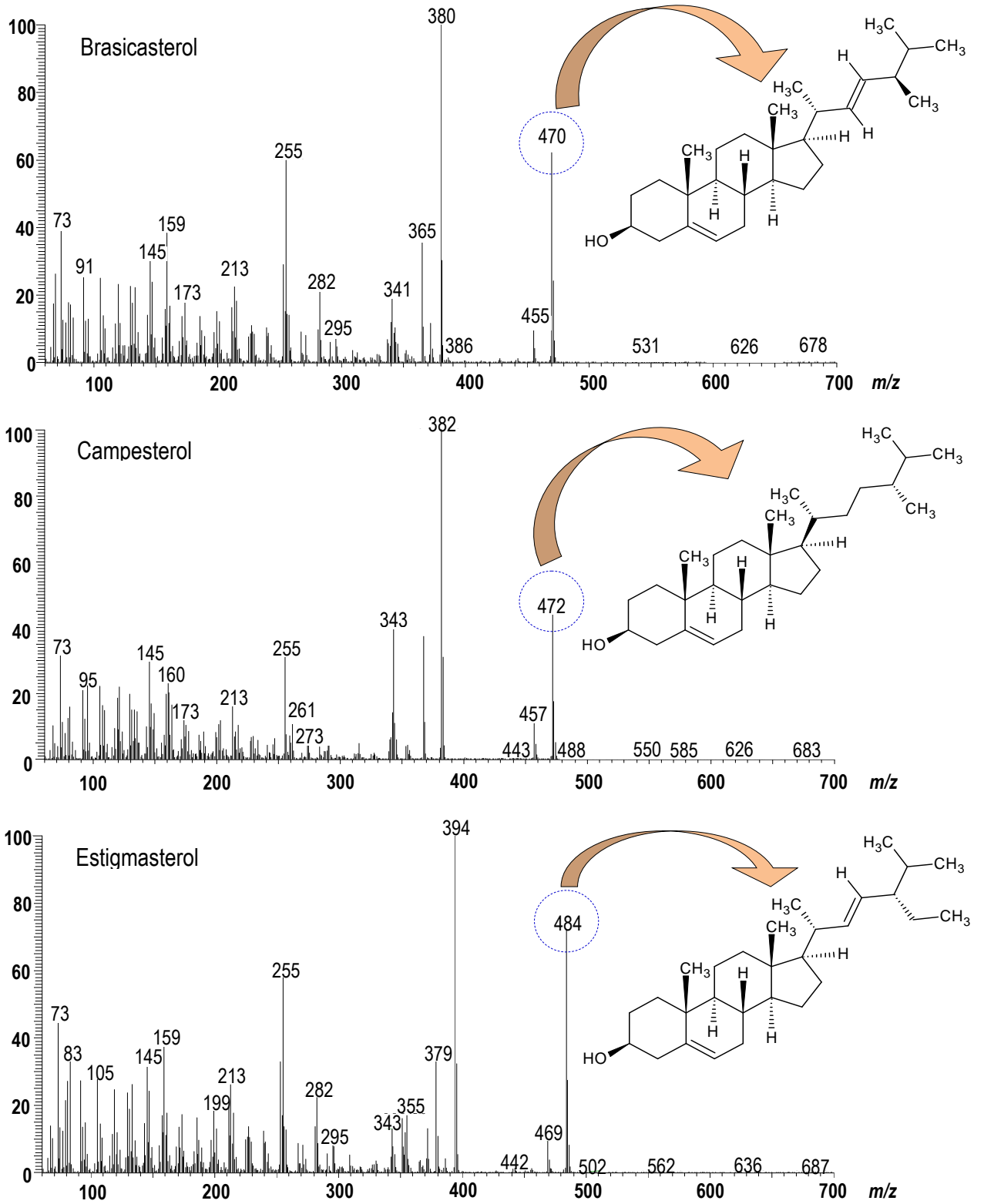


Figura 37. Espectro de masas de brasicasterol, campesterol y estigmasterol.



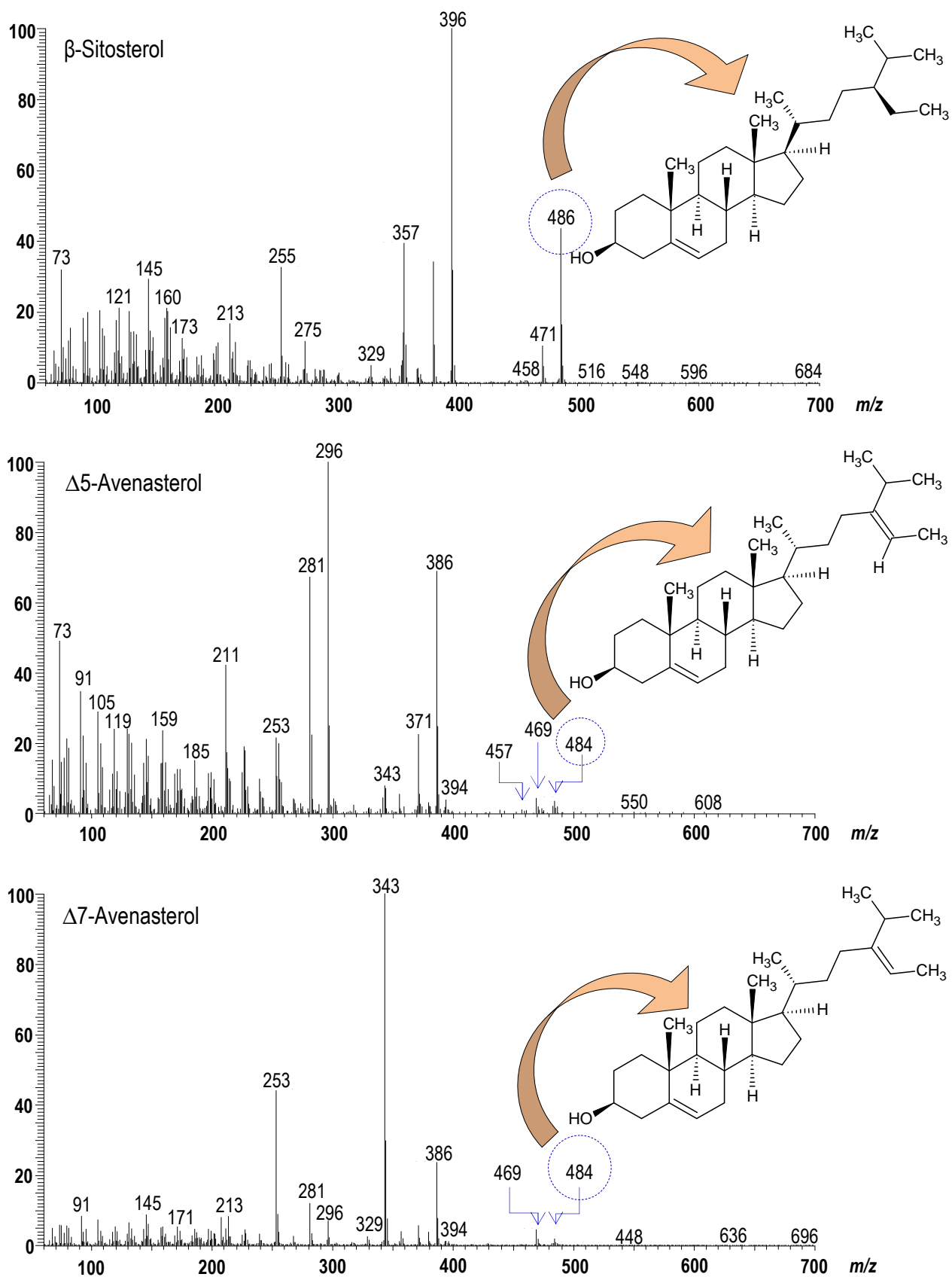


Figura 38. Espectro de masas de  $\beta$ -sitosterol,  $\Delta^5$ -avenasterol y  $\Delta^7$ -avenasterol.

Los principales componentes en todas las muestras de aceite de Sacha inchi fueron  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol, campesterol y  $\Delta^5$ -avenasterol. En plantas superiores, el  $\beta$ -sitosterol es generalmente el esteroles mayoritario; este compuesto contribuye más del 50% al contenido de esteroides totales (Saousse, 2012).

En la [Tabla 28](#), se muestra la composición de esteroides de las muestras de aceite de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo. El contenido total de esteroides se encuentra entre 1623 a 2899 mg/kg. El análisis de variancia no mostró diferencias significativas entre las muestras a un nivel de confianza de 95%. Una alta concentración de esteroides fue encontrada en muestras de las regiones de Madre de Dios y Loreto.

El brasicasterol no fue detectado en muestras de aceites de semilla (Sa); sin embargo en algunas muestra de aceites comerciales sí fue detectada la presencia de este compuesto ([Figura 39](#)). Considerando el conjunto de muestras, la proporción de brasicasterol estuvo entre 0,63-8,58% del total de esteroides. El contenido de campesterol muestra importantes diferencias entre las muestras producidas en diferentes regiones que se encuentran alrededor de 6,94-14,28% para las muestras de las regiones de Huánuco y Madre de Dios, respectivamente. La concentración de  $\beta$ -sitosterol se encuentra entre 49,84 a 60,07%, siendo el valor medio entre las diferentes regiones de 55,02%. Además, el nivel de  $\Delta^5$ -avenasterol fue 4,99% para el conjunto de muestras, también este compuesto ha sido asociado con actividad antioxidante (Sundram *et al.*, 2003).

En aceite de oliva virgen var. Cornicabra, la concentración de  $\Delta^5$ -avenasterol oscila entre 4,18-14,60% (Riviera del Álamo *et al.*, 2004), y en aceite de palma alrededor de 2,8% (Sundram *et al.*, 2003). En aceites vegetales como el de cacahuete los valores se encuentran entre 5,0-18,8%, en coco 20,0-40,7%, semilla de algodón 1,8-7,3%, semilla de uva 1,0-3,5%, maíz 1,5-8,2%, semilla de sésamo 6,2-7,8%, soja 1,5-3,7% y en aceite de girasol alrededor de 6,9% (Codex Alimentarius, 1999). Por otro lado, los porcentajes de colesterol, 24-metilen-colesterol, campestanol,  $\Delta^7$ -campesterol, clerosterol, sitostanol,  $\Delta^5,24$ -estigmasterol,  $\Delta^7$ -estigmasterol y  $\Delta^7$ -avenasterol se encuentran por debajo de 1,5%. Es conocido que las prácticas de procesamiento tienen un impacto significativo en las concentraciones de alcoholes triterpénicos y esteroides (Guillaume *et*

*al.*, 2012), ya que procesos como la deodorización y calentamiento a altas temperaturas originan la destrucción de los esteroides y se convierten en hidrocarburos como el estigmastadieno (Cert *et al.*, 1994; Dobarganes *et al.*, 1999).

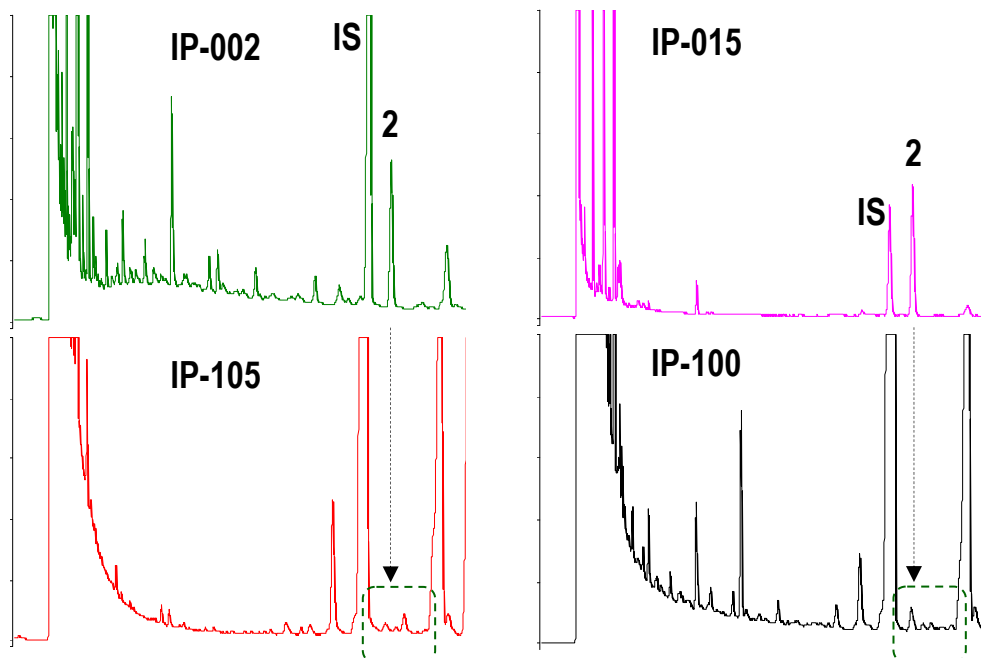


Figura 39. Perfil GC-FID de muestras de aceites comerciales de Sacha inchi (IP-002 y IP-015) y aceites de semilla (IP-100 y IP-105). IP-002 y IP-015, provienen de una siembra en placa de 300  $\mu\text{L}$  y IP-100 y IP-105, provienen de una siembra en placa de 400  $\mu\text{L}$ . Pico 2=brasicasterol.

La relación campesterol/estigmasterol (CSR), se muestra como un índice de pureza del aceite (Ranalli *et al.*, 1997). Esta relación proporciona información adicional acerca de las condiciones de procesamiento, si se utiliza en combinación con otros parámetros químicos de calidad del aceite, esto puede proporcionar una buena forma de comparar la calidad general de los distintos aceites producidos (Guillaume *et al.*, 2010). El CSR varió entre 0,28-0,72 para los aceites analizados. El stigmasterol se encuentra generalmente en los alimentos en concentraciones más bajas que el  $\beta$ -sitosterol y campesterol (Laakso, 2005), en caso del aceite de oliva, la concentración de stigmasterol debe ser menor que la de campesterol (Rivera del Álamo *et al.*, 2004). Sin embargo, en el caso de las muestras de aceite de Sacha inchi analizadas la concentración de stigmasterol fue mayor que la de campesterol. El cálculo del “ $\beta$ -sitosterol aparente”, se refiere a la suma de las concentraciones de  $\beta$ -sitosterol,  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^5,23$ -

estigmastadienol,  $\Delta 5,24$ -estigmastadienol, clerosterol y sitostanol. Este parámetro se utiliza como un medio para garantizar la autenticidad de los aceites y grasas comestibles, particularmente para identificar la adulteración con aceites vegetales, que tienden a contener niveles considerablemente más altos de desmetilesteroles que el aceite original (Bell y Gillatt, 1994). Las muestras analizadas presentan valores de  $\beta$ -sitosterol aparente entre 57,31-68,37% con una media de 62,14%. Simultáneamente se observaron menores valores de  $\beta$ -sitosterol aparente y altos niveles de campesterol en muestras procedentes de las regiones de San Martín, Loreto y Madre de Dios.

Para determinar la similitud o diferencias de las muestras de aceite de Sacha inchi obtenidos de las semillas producidas en diferentes regiones según su contenido de esteroides. Se aplicó un PCA se aplicó para la obtención de un pequeño número de combinaciones de las diecisiete variables que explican la variabilidad de los datos. En este caso, cinco componentes principales fueron extraídas teniendo “eigenvalues” mayores que 1 (Kaiser’s rule), que representa 82,57% de la variabilidad en los datos originales. Con respecto al PCA, el % acumulado de la varianza total explicada por los dos primeros factores fue de 49,16%.

En la [Figura 40A](#) y [40B](#), se muestra el PCA de los factores de carga de los tres primeros componentes principales. El contenido de colesterol, 24-metilen-colesterol y esteroides totales fue proyectado sobre el tercer PC, el contenido de campestanol y clerosterol sobre el cuarto PC y en el quinto PC la concentración de estigmasterol y  $\Delta 7$ -avenasterol. Las muestras fueron separadas a lo largo de la primera y segunda componente principal. PC1 se explica por las diferencias observadas en la concentración de campesterol, estigmasterol, sitostanol,  $\Delta 5$ -avenasterol,  $\Delta 5,24$ -estigmastadienol,  $\Delta 7$ -estigmasterol,  $\Delta 7$ -avenasterol y CSR, mientras que PC2 separa las muestras sobre la base del contenido de brasicasterol,  $\Delta 7$ -campesterol,  $\beta$ -sitosterol y sitosterol aparente. Las comunalidades basadas sobre las correlaciones de cada variable original con los PCs se muestran en la [Tabla 29](#).

Tabla 28. Valor medio de esteroides (%), seguido por valores mínimos y máximos) en las muestras de aceite de Sacha inchi comerciales, obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones.

Componentes	Loreto (n=5)	Amazonas (n=3)	San Martín (n=8)	Huánuco (n=2)	Ucayali (n=3)	Junín (n=3)	Madre de Dios (n=3)	Componentes Media±SD
Colesterol	0,41 <sup>abc</sup> (0,32-0,59)	0,32 <sup>c</sup> (0,25-0,44)	0,34 <sup>bc</sup> (0,21-0,56)	0,51 <sup>ab</sup> (0,47-0,54)	0,58 <sup>a</sup> (0,39-0,71)	0,35 <sup>bc</sup> (0,27-0,45)	0,23 <sup>c</sup> (0,18-0,28)	0,39 ± 0,14
Brasicasterol	3,68 <sup>a</sup> (1,01-11,40)	2,91 <sup>a</sup> (0,00-7,83)	8,58 <sup>a</sup> (0,15-47,37)	0,63 <sup>a</sup> (0,52-0,75)	4,32 <sup>a</sup> (0,10-9,83)	5,40 <sup>a</sup> (1,75-11,79)	1,23 <sup>a</sup> (0,47-1,65)	3,82 ± 9,18
24-Metilen-colesterol	0,11 <sup>a</sup> (0,00-0,42)	0,10 <sup>a</sup> (0,00-0,15)	0,20 <sup>a</sup> (0,00-0,66)	Nd	0,11 <sup>a</sup> (0,00-0,23)	0,24 <sup>a</sup> (0,00-0,45)	0,26 <sup>a</sup> (0,00-0,78)	0,14 ± 0,22
Campesterol	12,63 <sup>ab</sup> (7,73-18,32)	9,45 <sup>ab</sup> (7,94-11,20)	10,26 <sup>ab</sup> (6,00-16,69)	6,94 <sup>b</sup> (6,20-7,69)	7,19 <sup>b</sup> (6,90-7,64)	6,95 <sup>b</sup> (6,73-7,08)	14,28 <sup>a</sup> (7,73-23,11)	9,67 ± 4,21
Campestanol	0,27 <sup>a</sup> (0,00-0,41)	0,10 <sup>a</sup> (0,00-0,28)	0,12 <sup>a</sup> (0,00-0,27)	0,22 <sup>a</sup> (0,14-0,30)	0,10 <sup>a</sup> (0,00-0,19)	0,10 <sup>a</sup> (0,00-0,16)	0,12 <sup>a</sup> (0,00-0,24)	0,14±0,14
Estigmasterol	20,83 <sup>a</sup> (16,94-26,53)	14,76 <sup>a</sup> (3,17-25,33)	18,56 <sup>a</sup> (8,38-26,56)	22,28 <sup>a</sup> (15,54-29,03)	25,42 <sup>a</sup> (24,84-25,76)	21,27 <sup>a</sup> (14,23-27,02)	19,91 <sup>a</sup> (7,40-26,65)	20,43±6,94
Δ7-Campesterol	1,63 <sup>a</sup> (0,81-2,42)	0,63 <sup>a</sup> (0,00-1,06)	1,81 <sup>a</sup> (0,00-9,47)	0,87 <sup>a</sup> (0,43-1,31)	1,25 <sup>a</sup> (0,73-2,10)	2,24 <sup>a</sup> (0,62-4,47)	1,01 <sup>a</sup> (0,62-1,74)	1,35±1,85
Clerosterol	0,66 <sup>a</sup> (0,56-0,81)	0,44 <sup>a</sup> (0,00-0,70)	0,69 <sup>a</sup> (0,00-0,99)	0,58 <sup>a</sup> (0,54-0,62)	0,68 <sup>a</sup> (0,56-0,79)	0,71 <sup>a</sup> (0,48-0,96)	0,67 <sup>a</sup> (0,53-0,83)	0,63±0,23
β-Sitosterol	51,04 <sup>a</sup> (42,47-58,68)	63,78 <sup>a</sup> (57,53-68,14)	52,19 <sup>a</sup> (21,94-64,65)	60,07 <sup>a</sup> (53,16-66,99)	49,84 <sup>a</sup> (46,78-52,66)	55,22 <sup>a</sup> (45,16-67,27)	53,01 <sup>a</sup> (51,72-54,31)	55,02±9,74
Sitostanol	0,72 <sup>a</sup> (0,46-1,18)	0,65 <sup>ab</sup> (0,39-1,01)	0,49 <sup>ab</sup> (0,33-0,94)	0,43 <sup>ab</sup> (0,35-0,51)	0,42 <sup>ab</sup> (0,30-0,60)	0,39 <sup>ab</sup> (0,33-0,46)	0,28 <sup>ab</sup> (0,19-0,36)	0,48±0,24

Componentes	Loreto (n=5)	Amazonas (n=3)	San Martín (n=8)	Huánuco (n=2)	Ucayali (n=3)	Junín (n=3)	Madre de Dios (n=3)	Componentes Media±SD
Δ5-Avenasterol	3,11 <sup>a</sup> (1,04-6,45)	2,63 <sup>a</sup> (0,00-6,66)	4,11 <sup>a</sup> (0,00-8,20)	6,87 <sup>a</sup> (6,85-6,88)	5,27 <sup>a</sup> (3,03-7,45)	5,93 <sup>a</sup> (4,32-7,62)	7,00 <sup>a</sup> (5,81-7,94)	4,99±2,75
Δ5,24-Estigmastadienol	2,02 <sup>a</sup> (0,00-7,18)	0,87 <sup>a</sup> (0,20-1,45)	1,04 <sup>a</sup> (0,26-2,13)	0,17 <sup>a</sup> (0,00-0,33)	1,10 <sup>a</sup> (0,54-2,15)	0,79 <sup>a</sup> (0,30-1,44)	1,12 <sup>a</sup> (0,45-2,46)	1,02±1,39
Δ7-Estigmasterol	0,96 <sup>a</sup> (0,00-3,00)	1,39 <sup>a</sup> (0,00-3,29)	1,07 <sup>a</sup> (0,22-2,95)	0,17 <sup>a</sup> (0,02-0,32)	1,01 <sup>a</sup> (0,24-2,16)	0,24 <sup>a</sup> (0,10-0,40)	0,53 <sup>a</sup> (0,40-1,04)	0,77±0,96
Δ7-Avenasterol	1,92 <sup>a</sup> (0,17-8,60)	2,00 <sup>a</sup> (0,00-5,88)	0,54 <sup>a</sup> (0,11-1,69)	0,25 <sup>a</sup> (0,23-0,27)	2,72 <sup>a</sup> (0,18-7,78)	0,22 <sup>a</sup> (0,00-0,45)	0,35 <sup>a</sup> (0,06-0,85)	1,14±2,33
Total esteroides (mg/kg)*	2393,88 <sup>ab</sup>	2295,30 <sup>ab</sup>	2198,99 <sup>ab</sup>	1884,34 <sup>b</sup>	1623,80 <sup>b</sup>	2140,61 <sup>ab</sup>	2899,58 <sup>a</sup>	2205,21±402
Sitosterol aparente (%)	57,56	68,37	58,53	68,12	57,31	63,04	62,08	62,91±9,69
CSR	0,606	0,640	0,553	0,312	0,283	0,327	0,717	0,49±0,79

Sitosterol aparente (sum: closterol, β-sitosterol, sitostanol, Δ5-avenasterol and Δ5,24-estigmastadienol), Relación campesterol/estigmasterol CSR. \*Media seguida por letras muestran diferencia significativa (p<0,05).

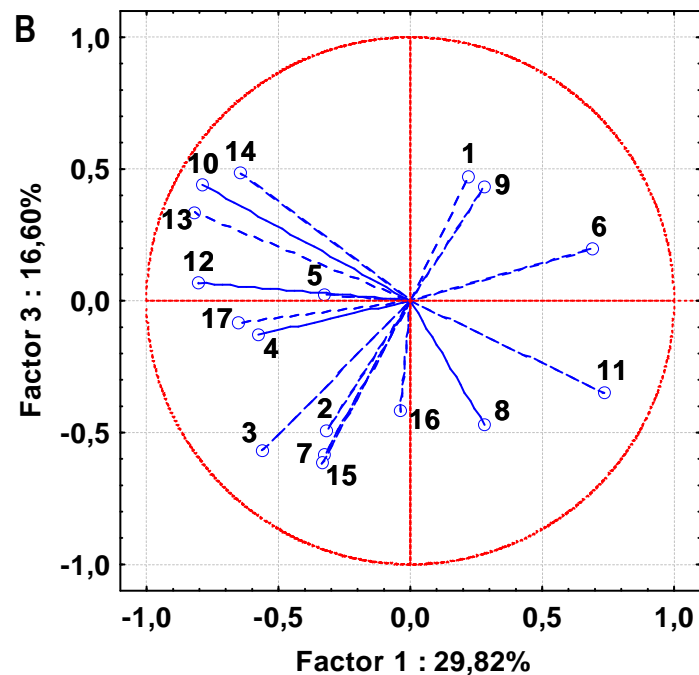
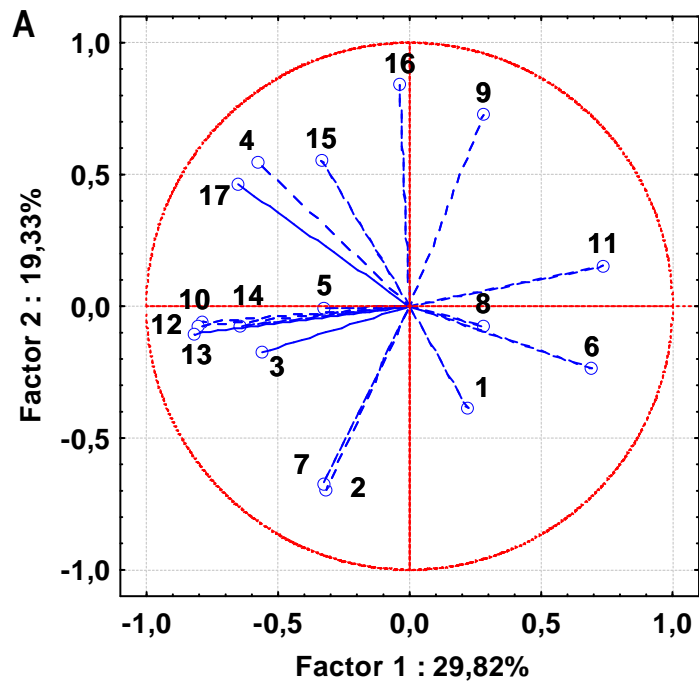


Figura 40. Factores de carga obtenida del PCA de la composición de esteroides, en el grafico (A) PC1-PC2 y (B) PC1-PC3. 1=colesterol; 2=brasicasterol; 3=24-metilen-colesterol; 4=campesterol; 5=campestanol; 6=estigmasterol; 7= $\Delta$ 7-campesterol; 8=clerosterol; 9= $\beta$ -sitosterol; 10=sitostanol; 11= $\Delta$ 5-avenasterol; 12= $\Delta$ 5,24-estigmastadienol; 13= $\Delta$ 7-estigmasterol; 14= $\Delta$ 7-avenasterol; 15=Total esteroides; 16=sitosterol aparente; 17=CSR.

Tabla 29. Matriz de factores de carga de los esteroides de las muestras de aceite de Sacha inchi de semillas producidas en diferentes regiones (factores de carga <0,45 están puesto en cero para una mayor claridad).

Componentes	Factor					Comunalidades
	1	2	3	4	5	
Colesterol	0	0	0,474	0	0	0,689
Brassicasterol	0	-0,696	0	0	0	0,970
24-Metilen-colesterol	0	0	-0,566	0	0	0,700
Campesterol	-0,573	0	0	0	0	0,749
Campestanol	0	0	0	0,767	0	0,803
Estigmasterol	0,693	0	0	0	-0,454	0,827
$\Delta$ 7-Campesterol	0	-0,676	0	0	0	0,926
Clerosterol	0	0	0	0,675	0	0,763
$\beta$ -Sitosterol	0	0,726	0	0	0	0,878
Sitostanol	-0,786	0	0	0	0	0,814
$\Delta$ 5-Avenasterol	0,735	0	0	0	0	0,790
$\Delta$ 5,24-Estigmastadienol	-0,803	0	0	0	0	0,892
$\Delta$ 7-Estigmasterol	-0,816	0	0	0	0	0,801
$\Delta$ 7-Avenasterol	-0,643	0	0	0	-0,481	0,886
Total esteroides	0	0	-0,617	0	0	0,862
Sitosterol aparente	0	0,840	0	0	0	0,895
CSR	-0,650	0	0	0	0	0,783
Eigenvalues	5,070	3,286	2,822	1,647	1,211	

En la [Figura 41](#), se muestra la separación de las muestras de aceite de Sacha inchi procedentes de diferentes regiones, el PCA generado con los datos de la concentración de esteroides muestra que los aceites que se encuentran dentro del grupo G<sub>I</sub> presentan concentraciones altas de estigmasterol, clerosterol,  $\beta$ -sitosterol y  $\Delta$ 5-avenasterol, en este grupo aparecen alrededor del 81% de las muestras, además el conjunto de las muestras fueron muy similares con respecto a sus esteroides mayoritarios. El grupo G<sub>II</sub> puede caracterizarse por la presencia de estanoles (campestanol, sitostanol y  $\Delta$ 5,24-estigmastadienol, mientras que por parte de los esteroides se encuentran campesterol,  $\Delta$ 7-estigmasterol y  $\Delta$ 7-avenasterol, este grupo está representado por el 15% de las muestras y agrupa una muestra de las regiones de Amazonas, Loreto, San Martín y Madre de Dios. Finalmente el grupo G<sub>III</sub> está formado por una muestra de la región de San Martín,





#### 4.8 Determinación de alcoholes

Los alcoholes pueden ser lineales o triterpénicos, como en el caso de los esteroides, se pueden cuantificar los alcoholes libres y esterificados. Los lineales pueden ser de cadena par de átomos de carbono, caso de los aceites de oliva (Morales y León-Camacho, 2003), y pueden ser de cadena impar, presentes en algunos aceites de semilla. Los alcoholes alifáticos son también importantes precursores de ceras, ya que las ceras son ésteres de alcoholes grasos con ácidos grasos. Las ceras presentes en aceite de girasol, de soja, y de cacahuete incluyen ésteres de ácidos grasos saturados de cadena larga y un alcohol monoinsaturado, que es el alcohol eicosanoico. La determinación de alcoholes podría ser de interés desde el punto de vista de la pureza en los aceites vegetales. La naturaleza y distribución cuantitativa de estos componentes son característicos de la fuente original, siendo por lo tanto útil para la identificación del origen biológico de la matriz lipídica de la que se extrajeron (Lerma-García y Simó-Alfonso, 2013).

Por otro lado, dos dialcoholes triterpénicos, eritrodol y uvaol también son encontrados en varios aceites vegetales. El contenido relativo de estos dos compuestos se utiliza como indicador fiable para distinguir el aceite de oliva de aceite de orujo de oliva así como aceite de semilla de uva (Aparicio *et al.*, 2013). Por lo tanto, la determinación de alcoholes podría proporcionar un enfoque más informativo para comprobar la autenticidad de los aceites vegetales o incluso para conocer la variedad botánica o genética del aceite.

El análisis cromatográfico de la fracción insaponificable del aceite de Sacha inchi mostró 11 picos de alcoholes. En la Figura 42, se muestran cuatro perfiles GC-FID de las muestras correspondientes a las regiones de Ucayali, Amazonas y San Martín. Los alcoholes están detallados en la Tabla 30. Los compuestos encontrados fueron alcoholes alifáticos (docosanol, tetracosanol y hexacosanol), diterpeno (fitol) y 4,4-metil-esteroides (24-metilenocicloartanol, cicloartenol, isómeros de lanosterol y alcoholes triterpénicos). La identificación de los alcoholes se basa en la comparación de los tiempos de retención y en el espectro de masas.

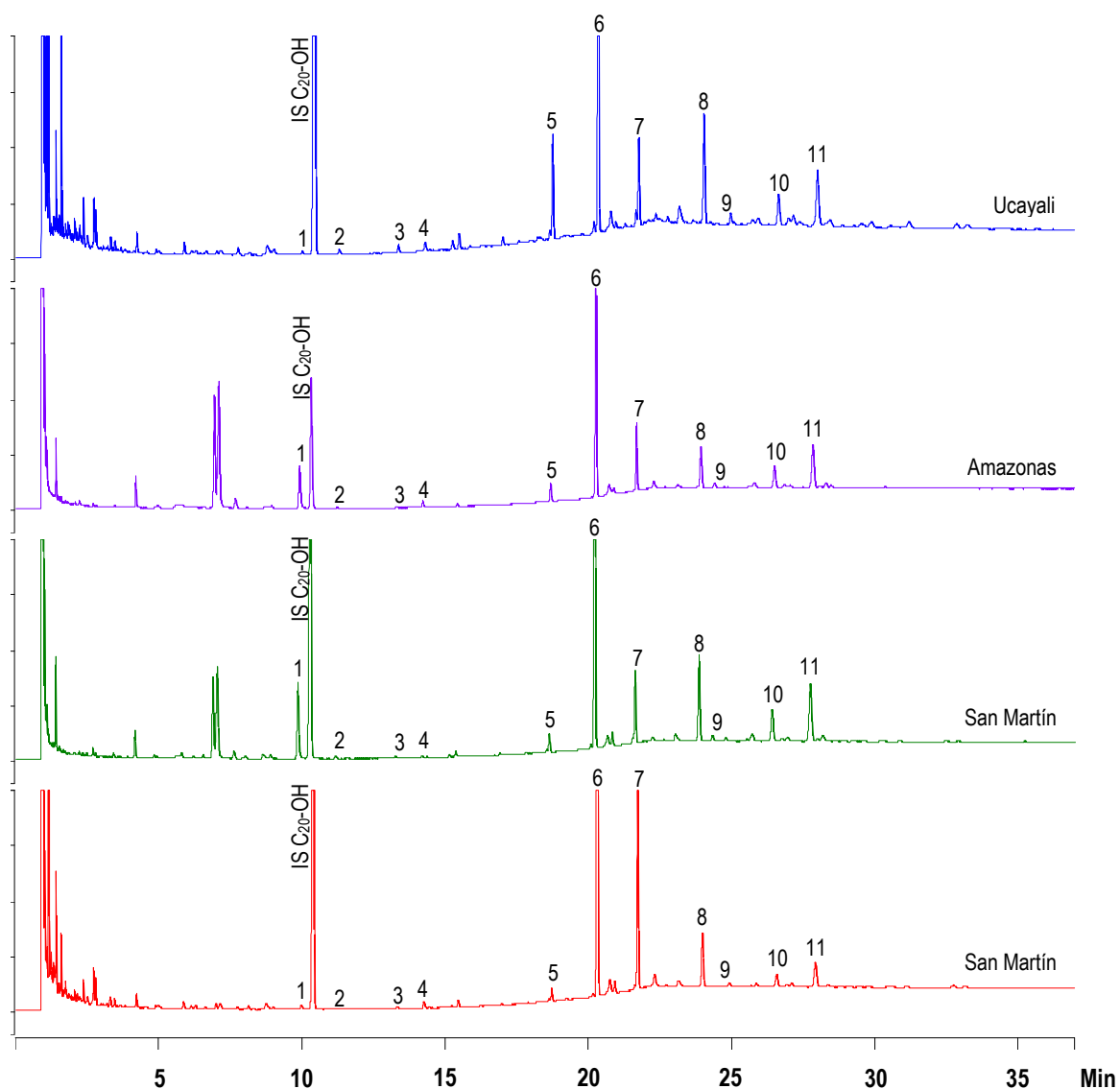


Figura 42. Cromatograma de cuatro muestras de aceite de Sacha inchi provenientes de las regiones de Ucayali, Amazonas y San Martín. Identificación de picos: 1=fitol; IS=1-eicosanol (C<sub>20</sub>-OH); 2=docosanol; 3=tetracosanol; 4=hexacosanol; 5=alcohol triterpénico ( $m/z=534$ ); 6=alcohol triterpénico ( $m/z=484$ ); 7=isómero de lanosterol 1 ( $m/z=498$ ); 8=isómero de lanosterol 2 ( $m/z=498$ ); 9=cicloartenol; 10=24-metilenocicloartanol; 11=No identificado.

Los alcoholes identificados coinciden también con los encontrados en la literatura que tienen espectros de masas característicos con iones fragmentados  $[M^+-15]$ , debido a la pérdida de un grupo metilo (Lerma-García *et al.*, 2009; Cherif *et al.*, 2010; Orozco-Solano *et al.*, 2010), así como con sus respectivos patrones de fragmentación. El pico 5,

corresponde a un alcohol triterpénico de masa  $m/z$  534, con iones abundantes en  $m/z$  149, 282, 353 y 467. El pico 6, presenta una masa  $m/z$  484, que corresponde a un alcohol triterpénico y el ion principal fue  $m/z$  379 [ $M^+$ -105]. El pico 11 no fue identificado este compuesto presenta una masa  $m/z$  484 y el ion principal fue  $m/z$  357.

Tabla 30. Pico, valor de  $m/z$ , y alcoholes identificados en el aceite de Sacha inchi.

Pico	[M] <sup>+</sup> $m/z$	Otros picos	Alcohol <sup>b</sup>
1	296	213, 157, 143, 123, 95, 81, 75, 73 <sup>c</sup>	Fitol
2	398	383 <sup>ac</sup> , 355, 309, 281, 207, 111, 97	Docosanol
3	426	411 <sup>ac</sup> , 337, 281, 207, 125, 111, 97	Tetracosanol
4	454	439 <sup>ac</sup> , 423, 365, 355, 281, 207, 139, 125, 111, 97	Hexacosanol
5	534	519 <sup>a</sup> , 467, 422, 366, 353, 308, 282, 255, 219, 187, 178, 161, 149 <sup>c</sup> , 135, 103, 77	Alcohol triterpénico
6	484	469 <sup>a</sup> , 413, 399, 379 <sup>c</sup> , 331, 323, 317, 297, 241, 227, 215, 159, 109, 95	Alcohol triterpénico
7	498	483 <sup>a</sup> , 455, 408, 393 <sup>c</sup> , 365, 323, 317, 309, 269, 241, 227, 173, 159, 145, 95	Isómero de lanosterol 1
8	498	483 <sup>a</sup> , 469, 408, 393 <sup>c</sup> , 365, 323, 317, 309, 269, 241, 227, 173, 159, 145, 95	Isómero de lanosterol 2
9	498	483 <sup>a</sup> , 455, 408, 393, 365 <sup>c</sup> , 339, 323, 295, 241, 229, 201, 173, 107	Cicloartenol
10	512	497 <sup>a</sup> , 469 <sup>tr</sup> , 422, 407, 379 <sup>c</sup> , 353, 323, 297, 255, 215, 201, 173, 147, 107	24-Metilenocicloartanol
11	484	408, 400, 357 <sup>c</sup> , 343, 295, 267, 227, 173, 145, 91	No identificado

<sup>a</sup> En la mayoría de los casos el espectro de masas exhibió un pico principal debido a la pérdida de CH<sub>3</sub> [M-15], <sup>b</sup> compuesto tentativamente identificado, <sup>c</sup> pico base (intensidad relativa=100%), <sup>tr</sup> trazas.

En la [Figura 43](#) y [44](#), se muestra el espectro de masas de los picos 5-8 y 11, que corresponden a alcoholes triterpénicos (5 y 6), isómeros de lanosterol (7 y 8) y un compuesto no identificado (11). Los picos 7 y 8, son isómeros de lanosterol con masa  $m/z$  498 y con fragmentos para el isómero 1  $m/z$  483(63) [M-15] y 393(100) [M-105]; y el isómero 2  $m/z$  483(35) [M-15] y 393(100) [M-105].

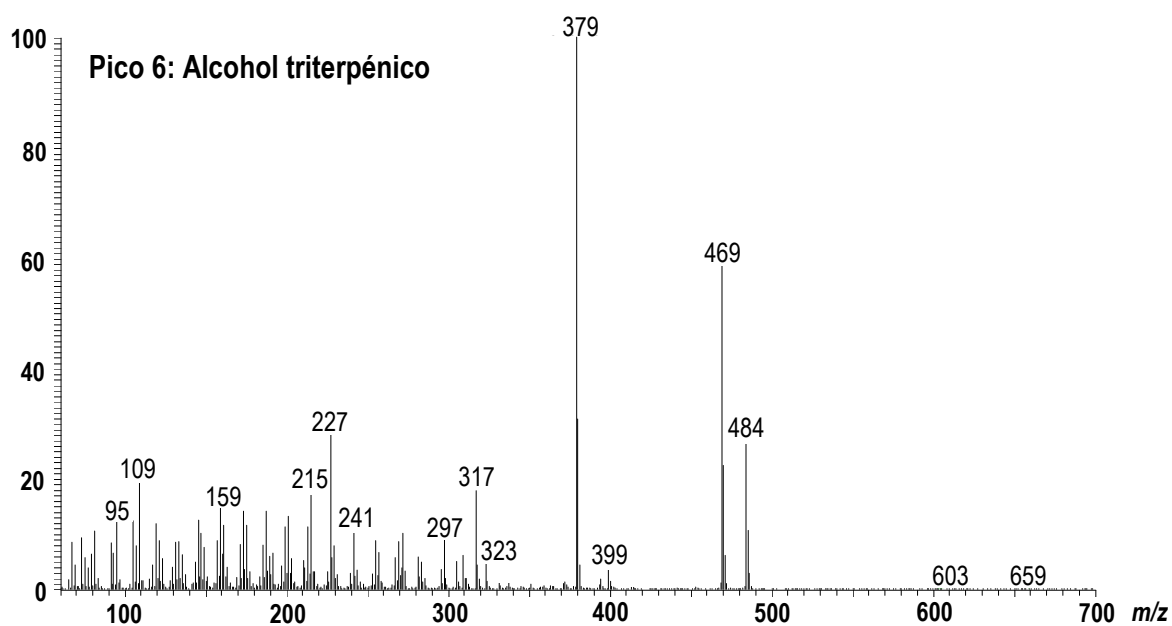
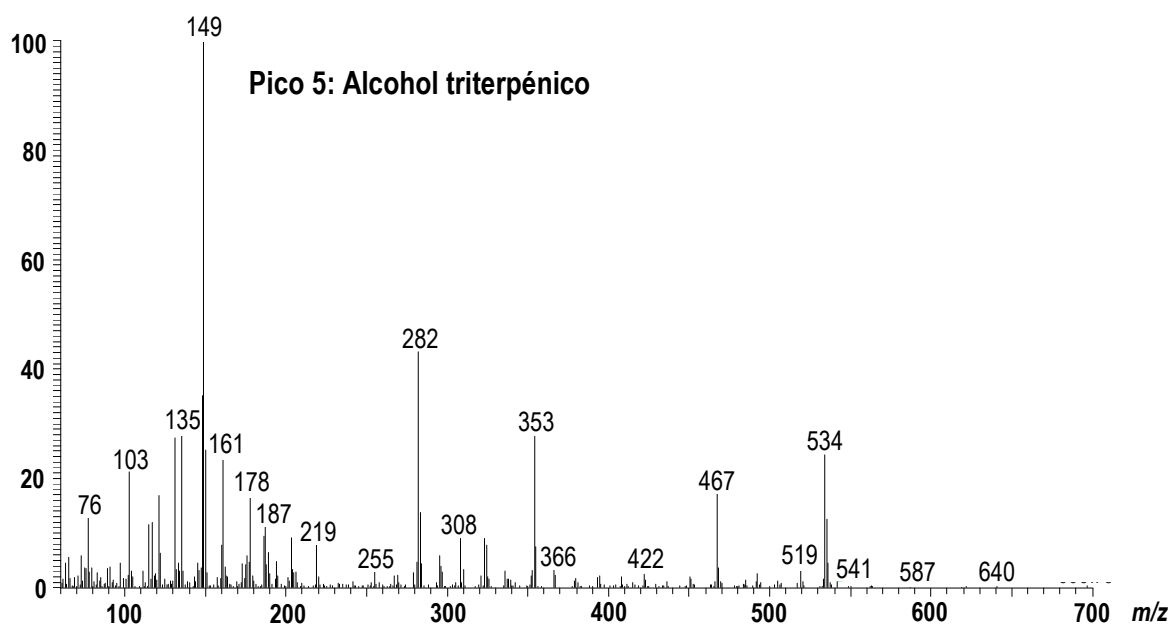


Figura 43. Espectro de masas de alcoholes en aceite de Sacha inchi. Pico 5 y 6: alcohol triterpénico.

Estos compuestos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, sin embargo hay poca información disponible de esta gama de compuestos en los aceites vegetales (León-Camacho *et al.*, 2004). En el caso del aceite de Sacha inchi es probablemente la primera vez que se identifican y cuantifican los alcoholes por GC-FID y GC-MS.

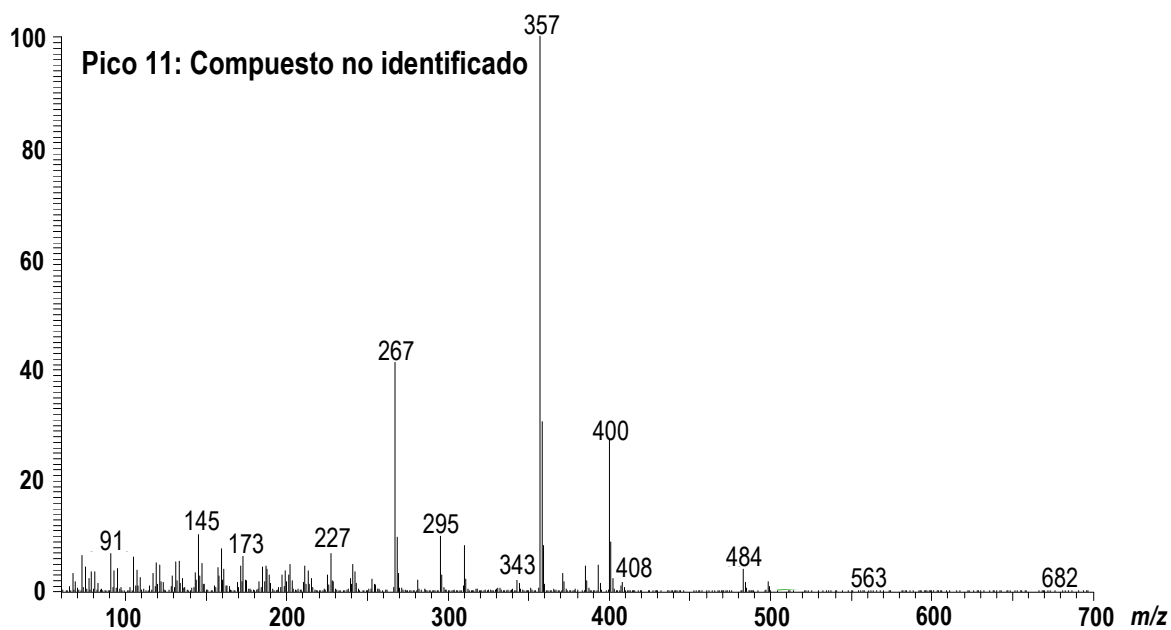
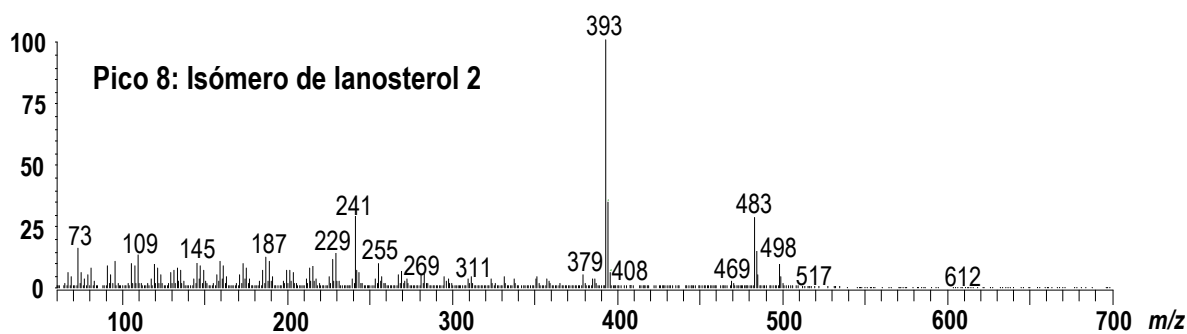
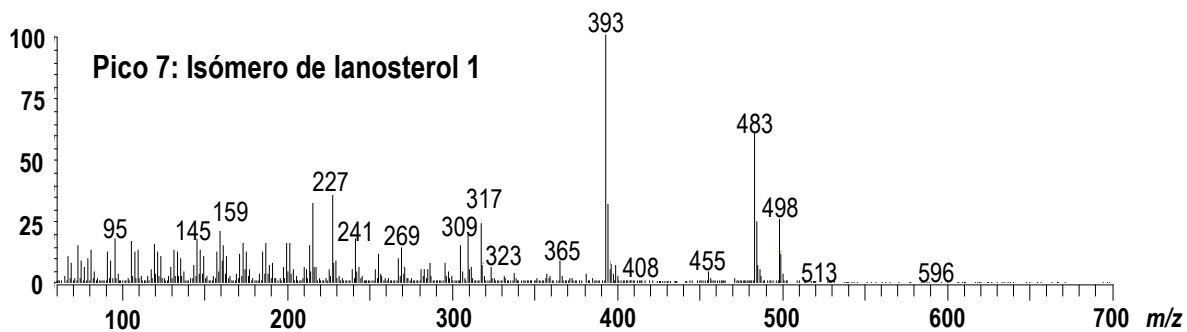


Figura 44. Espectro de masas de alcoholes en aceite de Sacha inchi. Pico 7 y 8: isómeros de lanosterol. Pico 11: compuesto no identificado.

El contenido de alcoholes en las muestras comerciales de aceite de Sacha inchi obtenido a partir de semillas producidas en diferentes regiones se muestra en la [Tabla 31](#). El contenido total de alcoholes ha sido encontrado entre 169,99-613,47 mg/100g, con una

media para todas las regiones de 404,83 mg/100g. Los aceites procedentes de la región Amazonas y Junín presentaron altos contenidos, mientras que las muestras de la región Huánuco y Ucayali tuvieron bajos valores. No se observaron diferencias significativas entre las diversas regiones del cultivo con respecto al contenido total de alcoholes. El contenido total de alcoholes triterpénicos se encontró entre 149,85 y 535,44 mg/100g, que correspondió a las muestras procedentes de la región Ucayali y Junín respectivamente, al igual que en el caso anterior no hubo diferencias significativas con respecto a los alcoholes triterpénicos.

El contenido de alcoholes alifáticos y la concentración de fitol (alcohol diterpeno), variaron ampliamente, de acuerdo a la región de producción. Las muestras de aceite de la región Amazonas mostraron altos valores de alcoholes alifáticos y fitol con 10,38-59,22 mg/100g, respectivamente, mientras que se encontraron bajos contenidos de alcoholes alifáticos en los aceites procedentes de la región Huánuco con 1,65 mg/100g, así como baja concentración de fitol en muestras de la región Ucayali con 0,52 mg/100g. Por otro lado, se encontraron diferencias significativas en las muestras de diferentes regiones con respecto al contenido de alcoholes alifáticos y al contenido de fitol, a un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . El hexacosanol ( $C_{26}$ ) fue el alcohol alifático que presentó mayor concentración con un valor medio de 2,72 mg/100g, seguido del docosanol con 1,13 mg/100g. En otros estudios se ha mostrado que el principal alcohol alifático en aceite de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) es el docosanol (León-Camacho *et al.*, 2001) y en aceite de oliva el hexacosanol (Sakouhi *et al.*, 2010).

El alcohol triterpénico  $m/z$  484, fue el compuesto predominante, con una media de 165,81 mg/100g, seguido por el isómero de lanosterol 1, con un promedio de 78,97 mg/100g. Cicloartenol y 24-metilenocicloartanol fueron también detectados con un promedio de 45,70 y 18,20 mg/100g, respectivamente. Al igual que en la fracción de esteroides las prácticas de procesamiento alteran cualitativamente y cuantitativamente la fracción de alcoholes triterpénicos de los aceites vírgenes. Como consecuencia de las temperaturas a las que el aceite se somete durante los procesos de refinación y en contacto con tierra de diatomeas, una alteración de algunos de los componentes de esta fracción se produce, especialmente de cicloartenol y 24-metilenocicloartanol (estos

compuestos presentes en aceite de Sacha inchi), resultando la formación de especies químicas diferentes de lo que ocurre de manera natural en los aceites vírgenes (Lanzón *et al.*, 1999).

Se llevó a cabo un análisis de componentes principales para la clasificación de la muestras de aceite de Sacha inchi comerciales obtenidas a partir de semillas producidas en diferentes regiones de acuerdo a su contenido de alcoholes. En el análisis preliminar de los datos se utilizaron 27 muestras de aceite y 11 variables para investigar alguna posibilidad de agrupamiento de las muestras sobre la base de las regiones de cultivo. Cuatro componentes principales (PCs) fueron extraídas con “eigenvalues” mayores que 1 (Kaiser’s rule), que explicaron el 86,61%, de la varianza total del conjunto de datos. La primera componente principal (PC1), representó el 41,72% de la varianza, mientras que la segunda (PC2) contribuyó con el 22,83%, ambas representaron el 64,55% de la varianza (Figura 45). Las muestras fueron separadas en dirección de la primera componente mediante diferencias encontradas en el contenido de docosanol, hexacosanol, triterpeno  $m/z$  534, cicloartenol, 24-metilenocicloartanol y el compuesto no identificado  $m/z$  484. El segundo PC separó las muestras sobre la base del triterpeno  $m/z$  484, y los isómeros de lanosterol 1 y 2. El contenido de fitol fue proyectado sobre el tercer componente (PC3), mientras que el contenido de tetracosanol fue representado sobre el cuarto componente (PC4). Las variables que se agrupan en PC1 están basadas sobre correlaciones negativas, mientras que las que se agrupan en PC2, PC3 y PC4, por correlaciones positivas.

Los factores de carga de cada variables en estos cuatro PCs pueden identificar los principales constituyente de cada muestra (Figura 45A). Las muestras de aceite de Sacha inchi procedentes de diferentes regiones fueron agrupadas en un solo clúster (Figura 45B), por lo que no pueden diferenciarse según las zonas de cultivo. Los aceites más dispersos corresponden a las regiones Madre de Dios (IP-020), Amazonas (IP-012) y San Martín (IP-008). Las muestras procedentes de la región Madre de Dios presentan altas concentraciones de cicloartenol y alcohol triterpénico  $m/z$  534. Las muestras de las regiones de Amazonas y Junín presentan valores altos de fitol y hexacosanol.



Tabla 31. Valor medio de alcoholes (mg/100g, seguido por valores mínimos y máximos) en las muestras de aceite de Sacha inchi comerciales, obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones.

Componentes	Loreto (n=5)	Amazonas (n=3)	San Martín (n=8)	Huánuco (n=2)	Ucayali (n=3)	Junín (n=3)	Madre de Dios (n=3)	Componentes Media±SD
Fitol	17,70 <sup>b</sup> (0,77-44,51)	59,22 <sup>a</sup> (48,90-69,53)	17,35 <sup>b</sup> (0,25-88,54)	3,40 <sup>b</sup> (2,17-4,62)	0,52 <sup>b</sup> (0,43-0,61)	19,92 <sup>b</sup> (1,23-38,62)	1,05 <sup>b</sup> (0,37-1,72)	17,02±20,42
Docosanol C <sub>22</sub>	1,54 <sup>a</sup> (0,30-4,73)	1,69 <sup>a</sup> (1,50-1,87)	0,96 <sup>a</sup> (0,10-2,64)	0,46 <sup>a</sup> (0,32-0,59)	0,52 <sup>a</sup> (0,21-0,82)	1,24 <sup>a</sup> (1,03-1,44)	1,51 <sup>a</sup> (0,19-2,82)	1,13±0,50
Tetracosanol C <sub>24</sub>	0,49 <sup>a</sup> (0,39-0,69)	0,93 <sup>a</sup> (0,91-0,95)	1,13 <sup>a</sup> (0,11-2,88)	0,20 <sup>a</sup> (0,16-0,24)	0,69 <sup>a</sup> (0,19-1,18)	1,59 <sup>a</sup> (1,29-1,90)	0,86 <sup>a</sup> (0,30-1,42)	0,84±0,45
Hexacosanol C <sub>26</sub>	1,61 <sup>bc</sup> (0,99-2,99)	7,77 <sup>a</sup> (5,24-10,29)	1,58 <sup>bc</sup> (0,31-4,54)	1,00 <sup>c</sup> (0,77-1,22)	1,09 <sup>bc</sup> (0,30-1,88)	3,40 <sup>b</sup> (2,53-4,27)	2,62 <sup>bc</sup> (1,26-3,99)	2,72±2,38
Alcohol triterpénico <i>m/z</i> 534	13,33 <sup>a</sup> (4,21-23,09)	18,34 <sup>a</sup> (13,91-22,77)	17,76 <sup>a</sup> (3,58-60,67)	10,49 <sup>a</sup> (5,08-15,90)	9,95 <sup>a</sup> (5,75-14,15)	34,50 <sup>a</sup> (11,25-57,75)	45,29 <sup>a</sup> (5,52-85,96)	21,38±13,42
Alcohol triterpénico <i>m/z</i> 484	158,69 <sup>a</sup> (23,60-296,85)	283,18 <sup>a</sup> (238,29-328,07)	128,66 <sup>a</sup> (3,57-481,22)	124,23 <sup>a</sup> (98,42-150,03)	88,84 <sup>a</sup> (50,24-127,45)	310,07 <sup>a</sup> (235,38-384,76)	67,03 <sup>a</sup> (3,37-139,69)	165,81±94,36
Isómero de lanosterol 1	143,02 <sup>a</sup> (1,48-295,10)	62,67 <sup>a</sup> (46,97-78,36)	85,72 <sup>a</sup> (0,10-395,22)	49,74 <sup>a</sup> (0,34-99,13)	9,16 <sup>a</sup> (4,76-13,56)	124,45 <sup>a</sup> (16,35-232,56)	78,07 <sup>a</sup> (4,81-151,33)	78,97±45,11
Isómero de lanosterol 2	9,14 <sup>a</sup> (0,67-16,41)	8,24 <sup>a</sup> (5,88-10,61)	7,99 <sup>a</sup> (0,32-23,04)	2,37 <sup>a</sup> (0,23-4,50)	2,46 <sup>a</sup> (0,20-4,72)	9,35 <sup>a</sup> (1,57-17,14)	6,73 <sup>a</sup> (6,20-7,26)	6,61±2,99
Cicloartenol	27,19 <sup>a</sup> (10,53-45,39)	56,33 <sup>a</sup> (47,04-65,62)	37,86 <sup>a</sup> (17,35-102,75)	34,24 <sup>a</sup> (18,38-50,11)	28,96 <sup>a</sup> (24,36-33,55)	34,41 <sup>a</sup> (23,17-45,64)	100,95 <sup>a</sup> (8,26-193,65)	45,70±26,17
24-Metilenocicloartanol	10,23 <sup>b</sup> (2,51-22,96)	36,94 <sup>a</sup> (28,66-45,21)	13,06 <sup>b</sup> (5,28-32,66)	11,24 <sup>b</sup> (7,99-14,50)	10,48 <sup>b</sup> (9,86-11,09)	22,65 <sup>ab</sup> (10,24-35,06)	22,89 <sup>ab</sup> (3,52-42,26)	18,20±9,94
No identificado <i>m/z</i> 484	23,56 <sup>b</sup> (7,96-52,63)	78,17 <sup>ab</sup> (60,36-78,17)	30,33 <sup>b</sup> (11,98-62,67)	24,06 <sup>b</sup> (13,10-35,01)	17,33 <sup>b</sup> (15,81-18,86)	41,68 <sup>b</sup> (17,45-65,90)	109,91 <sup>a</sup> (7,35-212,48)	46,43±34,62
Total alcoholes (mg/100g) <sup>1</sup>	406,39 <sup>a</sup>	613,47 <sup>a</sup>	342,40 <sup>a</sup>	261,41 <sup>a</sup>	169,99 <sup>a</sup>	603,26 <sup>a</sup>	436,91 <sup>a</sup>	404,83±165,10
Suma total alcoholes alifáticos <sup>2</sup>	3,65 <sup>b</sup>	10,38 <sup>a</sup>	3,67 <sup>b</sup>	1,65 <sup>c</sup>	2,30 <sup>b</sup>	6,23 <sup>b</sup>	4,99 <sup>b</sup>	4,70±2,94
Suma alcohol diterpeno <sup>3</sup>	17,70 <sup>b</sup>	59,22 <sup>a</sup>	17,35 <sup>b</sup>	3,40 <sup>b</sup>	0,52 <sup>b</sup>	19,92 <sup>b</sup>	1,05 <sup>b</sup>	17,02±20,42
Suma alcohol triterpeno <sup>4</sup>	361,49 <sup>a</sup>	465,70 <sup>a</sup>	291,05 <sup>a</sup>	232,30 <sup>a</sup>	149,85 <sup>a</sup>	535,44 <sup>a</sup>	320,96 <sup>a</sup>	336,68±132,22

Media con diferentes letras muestran diferencias significativas a  $p < 0,05$ .

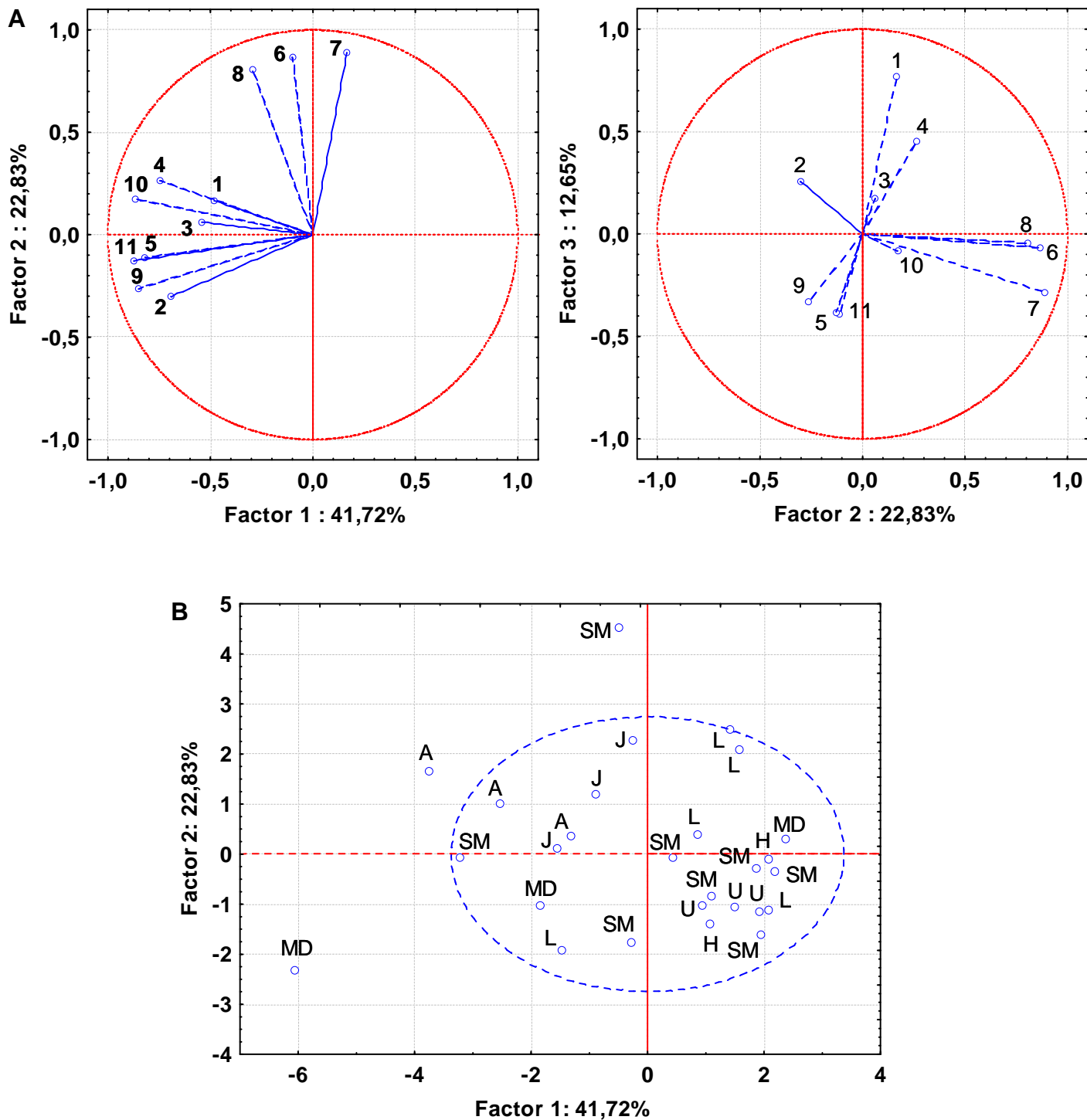


Figura 45. (A) Factores de carga obtenidos del PCA de la composición de alcoholes, en el gráfico PC1-PC2 y PC2-PC3 (Para la identificación de los componentes del 1 al 11, ver la [Tabla 30](#)). (B) Separación de las muestras de aceite de Sacha inchi obtenido de semillas producidas en diferentes regiones, a lo largo de las componentes principales PC1-PC2 (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali). Elipse de confianza para  $\alpha=0,05$  y coeficiente 0,80.

Las muestras correspondientes a las regiones San Martín, Ucayali y Huánuco podrían ser caracterizadas por tetracosanol y 24-metilenocicloartanol. Por otro lado, las muestras de región Loreto muestran mayor dispersión dado que algunas muestras presentan mayor concentración de docosanol y otras pueden caracterizarse por el alcohol triterpénico  $m/z$  484 y por el isómero de lanosterol 1.

Con el fin de determinar qué alcoholes discriminan entre las muestras de aceite de Sacha inchi producidas en diferentes regiones (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali), se utilizó un análisis discriminante lineal por pasos (SLDA), usando 11 variables seleccionadas (Tabla 32).

Tabla 32. Resumen del análisis discriminante lineal por pasos (SLDA).

Aceite de Sacha inchi	Wilks $\lambda$	Parcial $\lambda$	F-remove	p-valor	Tolerancia
24-Metilenocicloartanol	0,001717	0,114452	12,89552	0,000338	0,006917
Alcohol triterpénico $m/z$ 534	0,001590	0,123590	11,81877	0,000487	0,020450
Docosanol C <sub>22</sub>	0,001468	0,133874	10,78290	0,000713	0,046052
Hexacosanol C <sub>26</sub>	0,000905	0,217294	6,00343	0,006832	0,142245
Alcohol triterpénico $m/z$ 484	0,000819	0,239998	5,27793	0,010721	0,021114
No identificado $m/z$ 484	0,000633	0,310751	3,69669	0,033533	0,01027
Isómero de lanosterol 2	0,000509	0,333126	3,33644	0,045148	0,016182
Cicloartenol	0,000463	0,424589	2,25870	0,122031	0,014954
Tetracosanol C <sub>24</sub>	0,000462	0,425557	2,24977	0,123128	0,341444
Fitol	0,000427	0,460153	1,95532	0,166504	0,174417
Isómero de lanosterol 1	0,000328	0,598923	1,11610	0,417562	0,022309

El diagrama de dispersión de las puntuaciones canónicas de las tres primeras funciones discriminantes muestra una buena separación entre los siete grupos que corresponden a las siete zonas de cultivo (Figura 46). La diferenciación entre los grupos es significativa ya que el valor de Wilks  $\lambda$  es muy bajo (0,00020) y muestra que el modelo es altamente discriminatorio, mientras que el  $p$ -valor es bajo ( $<0,001$ ), que indica que la clasificación se produce con un alto grado de fiabilidad.

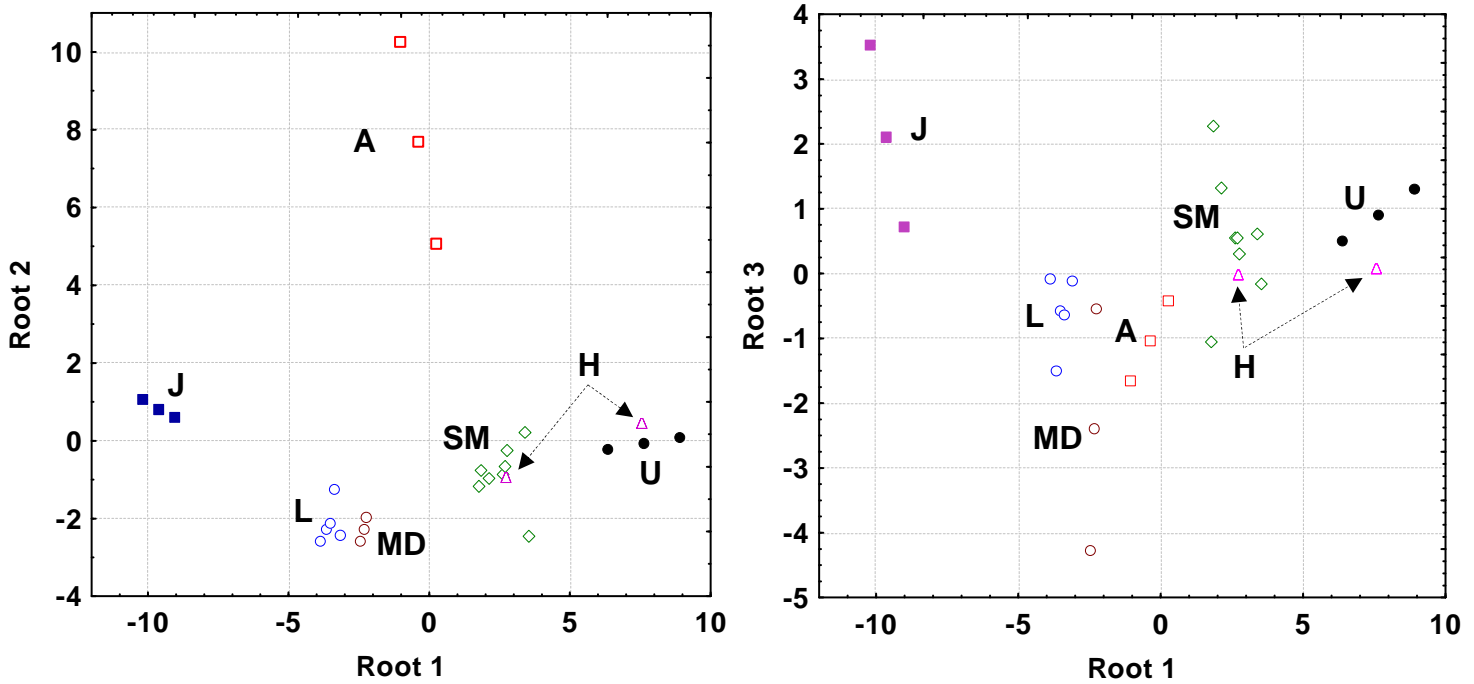


Figura 46. Diagrama de dispersión (SLDA) de las puntuaciones canónicas de las tres primeras funciones para las muestras de aceite de Sacha inchi de acuerdo a las regiones de cultivo (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali).

Las muestras correspondientes a las regiones de Amazonas, Junín, Loreto, Madre de Dios, San Martín y Ucayali, se agrupan en función de la región de cultivo, mientras que las muestras que corresponden a la región Huánuco no se clasificaron correctamente. Este agrupamiento de los aceites por regiones de cultivo parece indicar que las semillas de Sacha inchi procedentes de estas zonas podrían tener características genéticas propias que las harían diferentes según la región, tal como se observa en la [Figura 42](#). En la [Tabla 33](#), se resumen los resultados de la matriz de clasificación del modelo SLDA de las muestras de aceite de Sacha inchi y el procedimiento de validación cruzada, mostrando los porcentajes medios de la clasificación. El modelo propuesto clasificó correctamente el 89% de las muestras en sus regiones de cultivo, esto sugiere que el modelo puede ser utilizado para el control del aceite de Sacha inchi. El procedimiento de validación cruzada, desarrollado para las muestras ha mostrado una predicción de 100% para las regiones de Amazonas, Junín, Loreto, San Martín y Ucayali, y para la región Madre de Dios fue de 67%.

Tabla 33. Matriz de clasificación del modelo original SLDA y la validación cruzada para el aceite de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo.

Categoría original	Modelo original (conteo)							Validación cruzada (%)						
	L	A	SM	H	U	J	MD	L	A	SM	H	U	J	MD
L	5	0	0	0	0	0	1	100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	33
A	0	3	0	0	0	0	0	0,0	100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
SM	0	0	8	1	0	0	0	0,0	0,0	100	50	0,0	0,0	0,0
H	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
U	0	0	0	1	3	0	0	0,0	0,0	0,0	50	100	0,0	0,0
J	0	0	0	0	0	3	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	0,0
MD	0	0	0	0	0	0	2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	67
Total	5	3	8	2	3	3	3	100	100	100	100	100	100	100

A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali.

#### 4.9 Determinación de compuestos fenólicos

Se ha realizado la determinación del contenido de compuestos fenólicos de las muestras utilizando el procedimiento que evalúa los compuestos fenólicos hidrofílicos del aceite de Sacha inchi. La separación cromatográfica de los diferentes compuestos desarrollada mediante HPLC-ESI-TOFMS, se muestra en la [Figura 47](#). Los espectros de masas junto con los datos se muestran en la [Tabla 32](#), estos compuestos también han sido descritos en la literatura ([Fanali et al., 2011](#)). Diecisiete compuestos fenólicos fueron detectados; entre ellos se encuentran derivados secoiridoides como la oleuropeína aglicona (tres isómeros), ligustrósido aglicona (cinco isómeros), decarboximetil aglicona de la oleuropeína forma dialdehídica (3,4-DHPEA-DEDA) y otro compuesto estructuralmente relacionado a la oleuropeína como el ácido oleuropeico; fenil-alcoholes (hidroxitirosol y tirosol); isocoumarina (bergenina); lignano (pinoresinol) y flavonoides (isoramnetina glucósido, luteolina y apigenina). Sin embargo hay otros compuestos que no han sido caracterizados en trabajos previos ([Fanali et al., 2011](#)), entre ellos, el componente 4 ( $m/z$  319,1187;  $C_{19}H_{22}O_8$ ), que es un compuesto fenólico detectado en aceite de oliva virgen ([Brenes et al., 1999](#); [Carrasco-Pancorbo et al., 2007](#)), y los isómeros del ligustrósido aglicona (13-17) con tiempos de retención entre ( $t_R$  45,12-45,46 min;  $m/z$  361,1293;  $C_{19}H_{22}O_7$ ), la posible identificación se llevó a cabo mediante el cálculo de las posibles fórmulas moleculares de la masa exacta y la interpretación de los datos de

espectrometría de masas en tiempo de vuelo (TOFMS). Por otro lado, los compuestos (9-11 isómeros), tienen una  $m/z$  377,1242; y una fórmula molecular  $C_{19}H_{22}O_8$ . Los patrones de fragmentación de este compuesto muestran una alta similitud para la fragmentación de la oleuropeína aglicona, estos tres isómeros tienen tiempos de retención de 38,40, 38,57 y 43,15 minutos respectivamente. En este trabajo no han sido detectados los siguientes compuestos  $m/z$  401, 435, 333, 187, 417 y 373, que habían sido descritos previamente por [Fanali et al. \(2011\)](#).

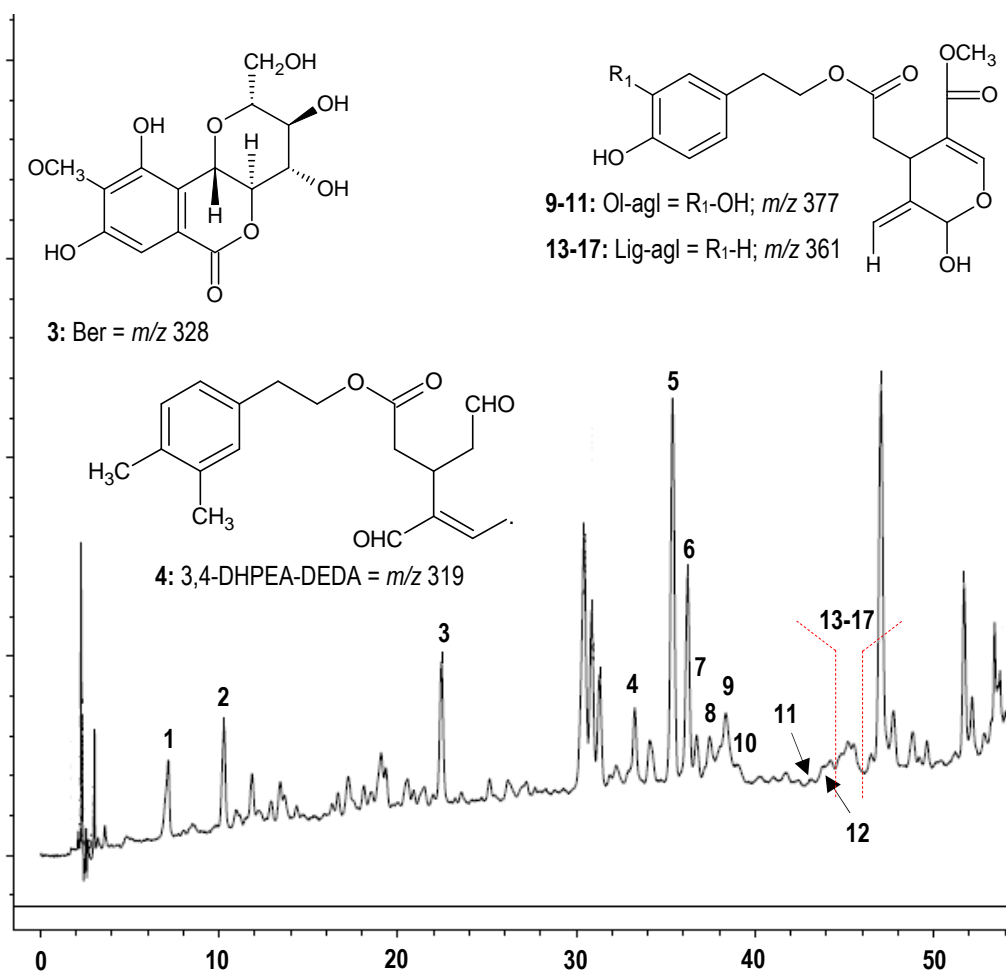


Figura 47. Cromatograma de iones totales (TIC), de los compuestos fenólicos detectados. El nombre de los componentes y los valores  $m/z$  están listados en la [Tabla 34](#).

Los resultados observados en la [Tabla 35](#), mostraron diferencias significativas para los compuestos fenólicos hidroxitirosol, bergenina, 3,4-DHPEA-DEDA, luteína y apigenina entre los aceites de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo. La media de los

fenoles totales determinada por HPLC-DAD, para el conjunto de muestras analizadas fue de 19,50 mg/kg, siendo el valor más alto para la región Amazonas de 27,69 mg/kg. [Fanali et al. \(2011\)](#), reportaron que el contenido de fenoles totales determinado mediante Folin-Ciocalteu fue de 62 mg/kg de aceite expresado en ácido gálico. En el caso del aceite de colza la concentración de fenoles totales estuvo entre 47-175 mg/kg, en aceite de maíz en 57 mg/kg, en aceite de girasol entre 14-36 mg/kg expresado en ácido cafeico ([Szydłowska-Czerniak et al., 2008](#)), y en aceite de palma entre 41-124 mg/kg expresado en ácido gálico ([Szydłowska-Czerniak et al., 2011](#)). El aceite de oliva variedad Hojiblanca contiene entre 23-419 mg/kg y la variedad Picual entre 20-457 mg/kg expresado en ácido cafeico ([Aparicio et al., 1999](#)). De acuerdo a los resultados obtenidos, la concentración de compuestos fenólicos es relativamente baja en el aceite de Sacha inchi en comparación con otros aceites, sin embargo se puede mencionar que los compuestos fenólicos actúan como antioxidantes primarios para inhibir la oxidación en los aceites vírgenes ([Morales y Przybylski, 2013](#)), y contribuyen también a las propiedades organolépticas de los aceites vírgenes y siendo responsables de los atributos sensoriales como amargo, picante y astringente ([Tsimidou, 2013](#)).

Entre los compuestos fenólicos, los secoiridoides alcanzaron el 47%, del contenido de fenoles totales, mientras que los flavonoides, lignanos y fenil-alcoholes ocuparon el 44%. Los secoiridoides más importantes detectados fueron: la forma dialdehídica decarboximetil aglicona de la oleuropeína (3,4-DHPEA-DEDA), los derivados decarboximetilados de la aglicona de la oleuropeína (Ol-agl) y la aglicona ligustrósido (Lig-agl). Una alta concentración del primer componente (3,4-DHPEA-DEDA) fue observada en aceites de Sacha inchi procedente de la región Amazonas (11,97 mg/kg), mientras que bajos valores fueron detectados en aceite de Sacha inchi de la región Loreto (1,46 mg/kg). Para el segundo componente (Ol-agl), el aceite de Sacha inchi de la región Ucayali presentó el valor más bajo (1,75 mg/kg), y el valor más alto fue detectado en las muestras procedentes de la región Amazonas. Por otro lado, la concentración de ligustrósido aglicona (Lig-agl), se encuentra entre 1,27 mg/kg en aceites procedentes de la región Madre de Dios a 2,55 mg/kg en aceite de la región Ucayali. Los lignanos están presentes en una cantidad considerable, particularmente el pinoresinol que fue detectado en todas las muestras analizadas en concentraciones entre

2,46 mg/kg en aceites procedentes de la región Ucayali y 5,57 mg/kg en muestras correspondientes a la región Madre de Dios. Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en cuanto al contenido en las muestras procedentes de las diferentes regiones de cultivo. Se detectó la presencia de una isocumarina (bergenina), su concentración en las muestras analizadas osciló entre 0,95-2,94 mg/kg de aceite, la región de Junín presentó los valores más altos. Como ocurre con 3,4-DHPEA-DEDA, una considerable variación en las concentraciones de pinosinol entre los aceites de Sacha inchi de diferentes regiones se produce en este caso, las razones probablemente están relacionadas con las diferencias entre las zonas de producción.

Tabla 34. Compuestos fenólicos detectados mediante HPLC/ESI-TOFMS en un extracto de aceite de Sacha inchi.

Pico	$t_R$ (min)	Posible componente	$m/z$ experimental	Formula	Error (ppm)	Referencia
1	6,98	HYTY	153,0557	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	1,40	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
2	10,30	TY	137,0604	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	0,80	Lozano-Sánchez <i>et al.</i> (2012)
3	22,47	Ber	325,1868	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>9</sub>	3,40	Fanali <i>et al.</i> (2011)
4	32,96	3,4-DHPEA-DEDA	319,1187	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>9</sub>	0,30	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
5	35,39	Pin	357,1344	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	0,40	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
6	36,24	Iso-glu	315,2541	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> O <sub>6</sub>	-0,60	Fanali <i>et al.</i> (2011)
7	36,90	OA	183,1001	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub>	4,10	García-Villalba <i>et al.</i> (2009)
8	37,60	Lut	285,0405	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>6</sub>	-0,90	García-Villalba <i>et al.</i> (2009)
9	38,40i	Ol-agl 1	377,1242	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	-0,60	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
10	38,57i	Ol-agl 2	377,1242	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	-0,70	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
11	43,15i	Ol-agl 3	377,1242	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	0,60	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
12	43,94	Api	269,0455	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	-1,10	García-Villalba <i>et al.</i> (2009)
13	45,12i	Lig-agl 1	361,1293	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	1,80	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
14	45,21i	Lig-agl 2	361,1293	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	0,20	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
15	45,25i	Lig-agl 3	361,1293	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	0,70	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
16	45,24i	Lig-agl 4	361,1293	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	-1,70	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)
17	45,46i	Lig-agl 5	361,1293	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	-0,40	Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> (2007)

Identificación tentativa basada en la masa exacta y los espectros de masas. **HYTY**, hidroxitirosol; **TY**, tirosol; **Ber**, bergenia; **3,4-DHPEA-DEDA**, forma dialdehídica decarboximetil aglicona de la oleuropeína; **Pin**, pinosinol; **Iso-glu**, isoramnetina glucósido; **OA**, ácido oleuropeico; **Lut**, luteolina; **Ol-agl**, aglicona de la oleuropeína; **Api**, apigenina; **Lig-agl**, aglicona ligustrósido. Picos (9-11), isómeros de oleuropeína aglicona; picos (13-17), isómeros de ligustrósido aglicona.



Tabla 35. Valor medio  $\pm$  desviación estandar (mg/kg) de los compuestos fenólicos en las muestras de aceite de Sacha inchi comerciales, obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones.

Componentes	Loreto (n=5)	Amazonas (n=3)	San Martín (n=8)	Huánuco (n=2)	Ucayali (n=3)	Junín (n=3)	Madre de Dios (n=3)	Componentes Media $\pm$ SD
HYTY	1,22 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	1,07 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	1,63 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	1,10 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	1,06 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	0,86 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	1,24 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	1,17 $\pm$ 0,24
TY	1,03 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,19 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,39 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	1,23 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	1,67 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	1,50 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>	1,40 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	1,34 $\pm$ 0,21
Ber	0,95 $\pm$ 0,06 <sup>d</sup>	1,54 $\pm$ 0,58 <sup>cd</sup>	2,28 $\pm$ 0,43 <sup>ab</sup>	1,77 $\pm$ 0,26 <sup>bc</sup>	2,46 $\pm$ 0,25 <sup>ab</sup>	2,94 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	1,34 $\pm$ 0,03 <sup>cd</sup>	1,90 $\pm$ 0,70
3,4-DHPEA-DEDA	1,46 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>	11,97 $\pm$ 9,89 <sup>a</sup>	2,80 $\pm$ 2,43 <sup>b</sup>	1,69 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	1,94 $\pm$ 0,68 <sup>b</sup>	2,36 $\pm$ 0,88 <sup>b</sup>	1,56 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	3,40 $\pm$ 3,81
Pin	2,53 $\pm$ 1,29 <sup>a</sup>	3,63 $\pm$ 1,69 <sup>a</sup>	3,80 $\pm$ 1,98 <sup>a</sup>	3,30 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	2,46 $\pm$ 1,21 <sup>a</sup>	3,71 $\pm$ 2,29 <sup>a</sup>	5,57 $\pm$ 1,52 <sup>a</sup>	3,57 $\pm$ 1,04
Iso-glu	1,49 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	1,61 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	2,23 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup>	1,50 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	1,59 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	1,84 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	2,32 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>	1,80 $\pm$ 0,35
OA	1,58 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>	2,10 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>	1,86 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>	1,82 $\pm$ 0,51 <sup>a</sup>	1,62 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	1,94 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>	1,52 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>	1,78 $\pm$ 0,21
Lut	0,40 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	0,21 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	0,61 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,26 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	0,21 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	0,18 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	0,36 $\pm$ 0,02 <sup>abc</sup>	0,32 $\pm$ 0,15
Ol-agl	1,86 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	2,58 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	1,97 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	1,85 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	1,75 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	2,71 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup>	1,91 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	2,09 $\pm$ 0,39
Api	0,39 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	0,18 $\pm$ 0,01 <sup>cd</sup>	0,50 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,32 $\pm$ 0,06 <sup>bc</sup>	0,22 $\pm$ 0,03 <sup>cd</sup>	0,22 $\pm$ 0,04 <sup>cd</sup>	0,28 $\pm$ 0,02 <sup>cd</sup>	0,30 $\pm$ 0,11
Lig-agl	1,58 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	1,61 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	2,14 $\pm$ 1,04 <sup>a</sup>	2,29 $\pm$ 1,32 <sup>a</sup>	2,55 $\pm$ 0,88 <sup>a</sup>	1,38 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	1,27 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	1,83 $\pm$ 0,49
<b>Total fenoles</b>	<b>14,48<sup>b</sup></b>	<b>27,69<sup>a</sup></b>	<b>21,21<sup>ab</sup></b>	<b>17,13<sup>b</sup></b>	<b>17,53<sup>b</sup></b>	<b>19,64<sup>ab</sup></b>	<b>18,78<sup>b</sup></b>	<b>19,50</b>

Media $\pm$ SD, diferentes letras dentro de la misma fila muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). HYTY, hidroxitirosol; TY, tirosol; Ber, bergenia; 3,4-DHPEA-DEDA, forma dialdehíca decarboximetil aglicona de la oleuropeína; Pin, pinoresinol; Iso-glu, isoramnetina glucósido; OA, ácido oleuropeico; Lut, luteolina; Ol-agl, aglicona oleuropeína; Api, apigenina; Lig-agl, aglicona ligustrósido.

Los principales fenoles simples que se encuentran en el aceite de Sacha inchi fueron hidroxitirosol y tirosol. En la mayoría de los casos la concentración de tirosol fue ligeramente más alta que la de hidroxitirosol. La concentración más alta de tirosol fue encontrada en muestras de la región Ucayali (1,67 mg/kg). Los aceites de la región de San Martín presentaron mayor concentración de hidroxitirosol (1,63 mg/kg). Se observaron diferencias entre las regiones de cultivo con respecto a hidroxitirosol, mientras que el contenido de tirosol no mostró diferencias significativas. La presencia de estos dos fenoles puede ser producida por la hidrólisis parcial de sus derivados (Montedoro *et al.*, 1992).

Los flavonoides tales como la luteolina, apigenina e isoramnetina glucósido fueron detectados por primera vez por Fanali *et al.* (2011). La luteolina puede proceder de la rutina o la luteolina-7-glucósido y la apigenina de la apigenina-glucósido. Se observaron niveles bajos de luteolina y apigenina en todos los aceites de Sacha inchi analizados, con concentraciones que variaron desde 0,21-0,61 mg/kg y 0,18-0,50 mg/kg, respectivamente. A pesar de sus bajas concentraciones, luteolina y apigenina mostraron diferencias significativas entre los aceites de la región San Martín y los procedentes de las otras seis regiones productoras. El contenido de la isoramnetina glucósido varió entre 1,49-2,32 mg/kg de aceite. Por lo tanto, el ANOVA generado con los datos de este compuesto no mostró diferencias significativas entre las regiones de cultivo.

El análisis quimiométrico se llevó a cabo en primer lugar utilizando un análisis de componentes principales, para obtener un reducido número de componentes que pudieran explicar la variabilidad de los componentes seleccionados. Cuando se utilizó el conjunto de datos, cinco componentes principales fueron elegidas (81,53% de la varianza total) debido a que los eigenvalues fueron superiores a 1, y por lo tanto, se explica un mayor porcentaje de la varianza de cada variable original. Todas las variables han presentado una comunalidad mayor de 0,632, lo que indica que están bien representados por los cinco componentes. Una rotación Varimax se llevó a cabo para minimizar el número de variables que influyen en cada componente y luego, para la interpretación de los resultados. El primer PC explica el mayor porcentaje de la varianza (26,85%), se asocia principalmente con hidroxitirosol, luteolina y apigenina. El segundo

PC explica un 19,26% de la varianza total y está relacionada con tirosol, bergenina e isoramnetina glucósido. El tercer componente principal explica el 14,25% de la varianza total y fue relacionado con pinoresinol y ligustrósido aglicona. Los componentes seleccionados restantes, con el 21,18% de la varianza total explicada, están relacionados con oleuropeína aglicona (cuarto componente principal) y 3,4-DHPEA-DEDA y ácido oleuropeico (quinto componente principal). La [Figura 48](#), muestra la proyección de las variables en el plano definido por los tres primeros componentes principales (PC1-PC2 y PC2-PC3). Además podemos observar que al menos tres cuadrantes contienen una variable.

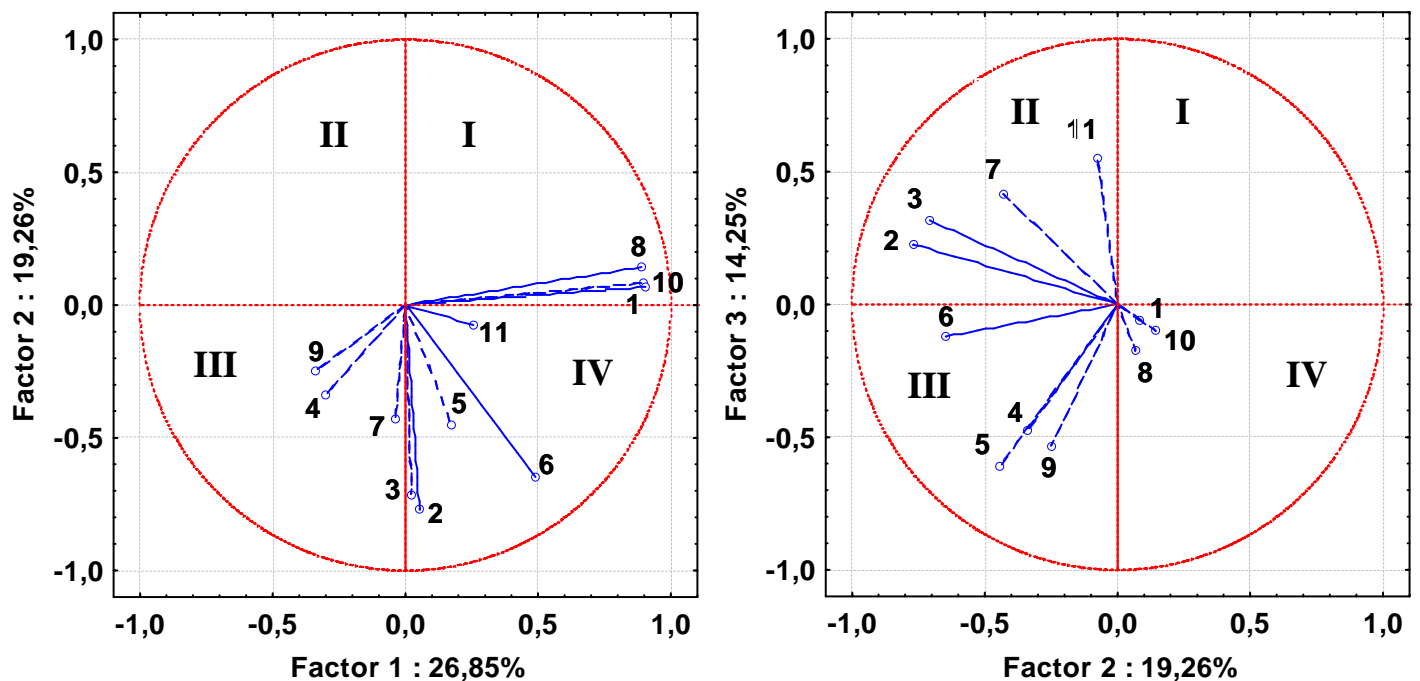


Figura 48. Proyección de las variables sobre las componentes (PC1-PC2) y (PC2-PC3). 1=hidroxitirosol; 2=tirosol; 3=bergenina; 4=3,4-DHPEA-DEDA; 5=pinoresinol; 6= isoramnetina glucósido; 7=ácido oleuropeico; 8=luteolina; 9=oleuropeína aglicona; 10=apigenina y 11=ligustrósido aglicona.

En la [Figura 49](#), se muestra la separación de las muestras de aceite de semilla de Sacha inchi obtenidas de diferentes regiones, las cuales están definidas por los componentes principales PC1-PC2. El grupo I, esta formado principalmente por muestras procedentes

de la región San Martín, dos muestras se encuentran alejadas de la elipse, el grupo II, está caracterizado por muestras de las regiones de Loreto, Madre de Dios, Huánuco y Ucayali, una muestra de esta última región se encuentra formando parte del grupo III. Finalmente el grupo III, agrupa las muestras de las regiones de Junín y Amazonas, una muestra de esta región no forma parte del grupo. Las variables que fueron más decisivas para discriminar entre muestras de diferentes regiones de cultivo fueron luteolina, apigenina, hidroxitirosol, tirosol, bergenina e isoramnetina glucósido.

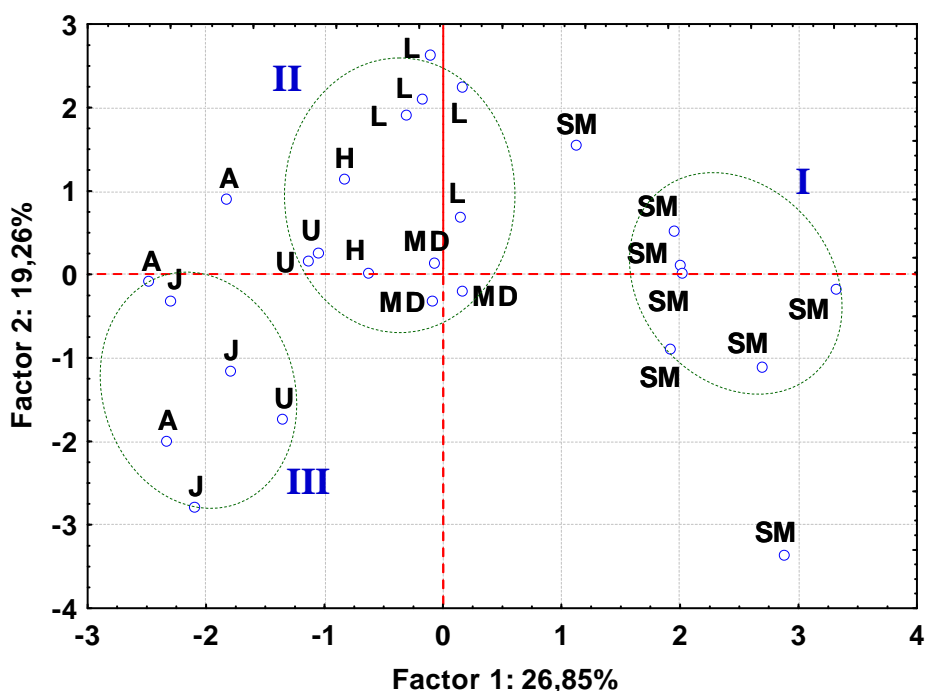


Figura 49. Separación de las muestras de aceite de Sacha inchi obtenido de semillas producidas en diferentes regiones, a lo largo de las componentes principales PC1-PC2 (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali). La posición de cada zona depende de las variables que se muestran en la Figura 48.

El grupo I, puede caracterizarse por una alta concentración de luteolina, apigenina y hidroxitirosol, mientras que el grupo II, puede distinguirse por la presencia de tirosol, bergenina y ligustrósido aglicona especialmente en las regiones de Huánuco y Ucayali. Finalmente el grupo III, se caracteriza por una alta concentración de oleuropeína aglicona, 3,4-DHPEA-DEDA y ácido oleuropeico, sin embargo presentaron baja concentración de luteolina y apigenina.

Un análisis discriminante (SLDA) fue aplicado con el fin de encontrar las combinaciones lineales de las variables que mejor separan los grupos de casos. Utilizando la nueva matriz de datos integrada por las variables originales estandarizadas, el diagrama de dispersión generado por la aplicación de un SLDA de acuerdo a las regiones de cultivo (Amazonas, Loreto, Madre de Dios, Huánuco, San Martín, Ucayali y Junín), se muestra en la [Figura 50](#). La [Tabla 36](#), muestra los parámetros de clasificación, eigenvalues, correlación canónica, lambda de Wilks,  $X^2$  cuadrado y matriz de clasificación del modelo original SLDA.

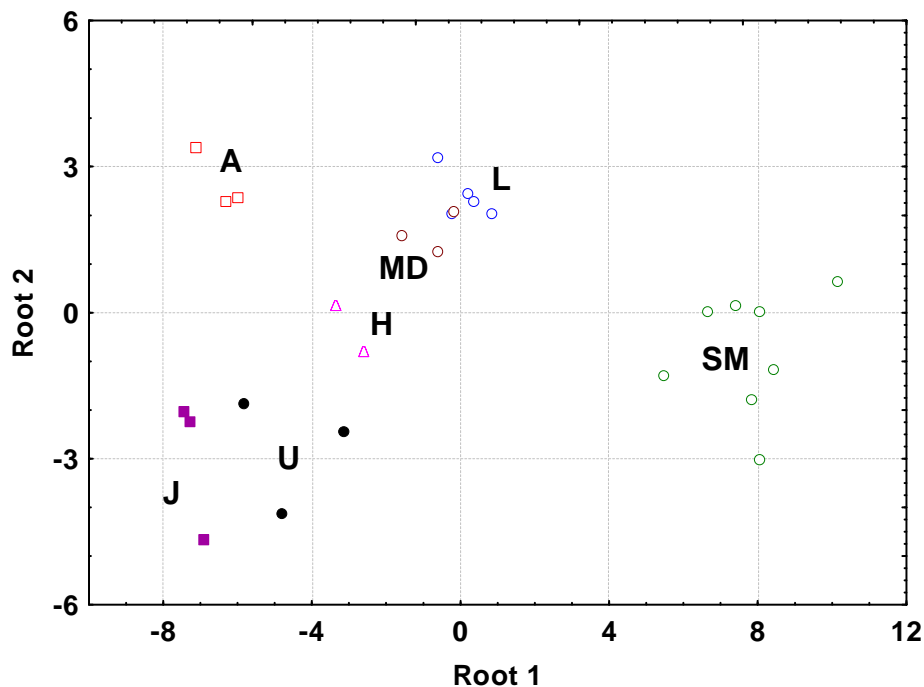


Figura 50. Diagrama de dispersión (SLDA) de las puntuaciones canónicas de dos funciones discriminantes, obtenida para las muestras de aceite de Sacha inchi de acuerdo a las regiones de cultivo (A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali).

La lambda de Wilks, es una medida de lo bien que cada función separa objetos (muestras de aceite) en grupos, y que corresponde a la proporción de la varianza total en las puntuaciones discriminantes que no se explica por las diferencias entre los grupos, estos valores fueron pequeños que indican la gran capacidad discriminatoria de las

funciones. Estos resultados de la clasificación revelaron una correcta agregación para los dos primeros factores discriminantes definidos. Los resultados predichos proporcionaron un porcentaje de valores predichos de miembros de acuerdo con las regiones de cultivo de 80 y 100%, con una clasificación total de 96,30%, lo que significa que todos los objetos se clasificaron correctamente. Los aceites procedentes de las regiones de Amazonas, San Martín, Huánuco, Ucayali y Junín se agruparon juntos.

Tabla 36. Parámetros de clasificación, matriz de clasificación del modelo original SLDA y la validación cruzada para el aceite de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo.

Función	Eigenvalue	Varianza, %	Acumulativo, %	Correlación canónica
1	42,21 <sup>a</sup>	80,60	80,60	0,988
2	5,59 <sup>a</sup>	10,86	91,46	0,922
	Wilks $\lambda$	X <sup>2</sup> cuadrado	df	Significancia
1	0,0002	149,46	54	0,000
2	0,0107	81,67	40	0,000

Matriz de clasificación	Categoría original	Miembros del grupo							Total	
		L	A	SM	H	U	J	MD		
Modelo original	Conteo	L	4	0	0	0	0	0	0	4
		A	0	3	0	0	0	0	0	3
		SM	0	0	8	0	0	0	0	8
		H	0	0	0	2	0	0	0	2
		U	0	0	0	0	3	0	0	3
		J	0	0	0	0	0	3	0	3
		MD	1	0	0	0	0	0	3	4
Validación cruzada	%	L	80	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20	100
		A	0,0	100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100
		SM	0,0	0,0	100	0,0	0,0	0,0	0,0	100
		H	0,0	0,0	0,0	100	0,0	0,0	0,0	100
		U	0,0	0,0	0,0	0,0	100	0,0	0,0	100
		J	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	0,0	100
		MD	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100
Capacidad de clasificación total									96,30	

<sup>a</sup> Primeras dos funciones discriminantes fueron usadas en el análisis. A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín y U=Ucayali.

El análisis discriminante por pasos para las clasificaciones basadas en las regiones de cultivo reveló que cuatro compuestos, isoramnetina glucósido, 3,4-DHPEA-DEDA, ligustrósido aglicona, ácido oleuropeico, luteolina ejercieron una importante influencia en la diferenciación de las regiones de cultivo, mientras que el resto de los fenoles como la apigenina, los compuestos secoiridoides como la oleuropeína aglicona, fueron menos importantes en este sentido. Ligustrósido aglicona, 3,4-DHPEA-DEDA y luteolina son fenoles que discriminan muestras de aceite de oliva (Kalua *et al.*, 2006; Ouni *et al.*, 2011; Taamalli *et al.*, 2012), y podría ser también considerado como un indicador representativo de diferenciación confiable en aceite de Sacha inchi de diferentes regiones de cultivo.

#### **4.10 Determinación de compuestos volátiles**

La distribución geográfica del Sacha inchi incluyen las zonas que se encuentra desde Bolivia a México, pero es más común en las regiones amazónicas de Perú, Ecuador y Colombia. Actualmente, Perú es el país con mayor producción de esta planta. En la actualidad Perú es principal productor de aceite de Sacha inchi, siendo los principales países importadores Suiza y España, Francia, Alemania, Italia, Bélgica dentro de la Comunidad Europea. Las exportaciones de Sacha inchi de Perú aumentaron en 50% en 2011. El consumo de Sacha inchi por la industria cosmética en Europa aumentaron en 12% en 2010 con un valor de € 1,7 billones. Se estima que alcance los 3 billones de euros en el 2015 (ProFound-Advisers in Development, 2012), lo que contribuye significativamente a su ingreso de divisas y el desarrollo agro-rural.

El Sacha inchi es considerado un nuevo alimento (Novel Food) por lo que la única opción en el mercado europeo es actualmente para su aplicación en la industria cosmética. El Sacha inchi no está permitido todavía como un producto alimenticio en la Unión Europea, ni en Suiza (ProFound-Advisers in Development, 2012). Sin embargo se consume en el Perú y en el resto de los países de América en forma de aceite de Sacha inchi y aceite de Sacha inchi en cápsulas, es por ello que la calidad sensorial de este aceite juega un papel muy importante en la aceptabilidad. El color y el flavor son las principales sensaciones que contribuyen a su aceptabilidad por los consumidores (Morales y Tsimidou, 2003; Morales *et al.*, 2013).

Se ha realizado un estudio de la composición de compuestos volátiles del aceite de Sacha inchi mediante HS-SPME/GC-FID. Se han analizado tanto las muestras comerciales como las muestras de aceite de semilla (Sa), probablemente esta es la primera vez que se caracterizan los compuestos volátiles del aceite de Sacha inchi. En la [Figura 51](#), [51](#) y [53](#) se muestra la localización cromatográfica de cada uno de los compuestos del aceite de Sacha inchi y en la [Tabla 37](#) están detallados los compuestos volátiles aparecen los compuestos identificados y están ordenados según su tiempo de retención relativo al patrón interno. En la última columna se muestran las características sensoriales para cada compuesto.

Como se muestra en la [Tabla 37](#) la identificación de los compuestos volátiles del aceite de Sacha inchi condujo a la identificación de 60 compuestos entre los que se encuentran alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos, furanonas, hidrocarburos y terpenos. Estos compuestos volátiles presentan diferentes características sensoriales por lo que muestran una gran variedad de olores de olores, tales como dulce, frutado, madera, césped, a pino, a nuez, almendras. La información sensorial de los compuestos fue obtenida a partir de la literatura ([Tabla 37](#)). Se ha detectado la presencia de compuestos volátiles a determinadas concentraciones que son considerados marcadores de defectos sensoriales en aceite de oliva virgen, tales como acetato de etilo, pentanal, 3-metil-1-butanol, heptanal, 6-metil-5-hepten-2-ona, 1-hexanol, nonanal, ácido acético, ácido propanoico, ácido butanoico, ácido pentanoico, etc. ([Morales et al., 2005](#)). Por otro lado, también se ha detectado la presencia de otros componentes de 5 y 6 átomos carbono (C5 y C6), que en el caso del aceite de oliva virgen, contribuyen positivamente a las propiedades sensoriales ([Angerosa et al., 2000](#); [Kalua et al., 2007](#); [Tura et al., 2008](#)), tales como 1-penten-3-ol, E-2-pentenal, 3-pentanona, hexanal, E-2-hexenal, 1-hexanol, Z-2-hexen-1-ol, E-3-hexen-1-ol. En el caso de los componentes C6, se producen a través de la ruta de la LOX, mientras que los componentes C5 se pueden generar a través de una rama adicional de la ruta de la LOX, que implica la producción de un radical 13-alcoxilo mediado por una actividad LOX ([Salch et al., 1995](#); [Gardner et al., 1996](#)).



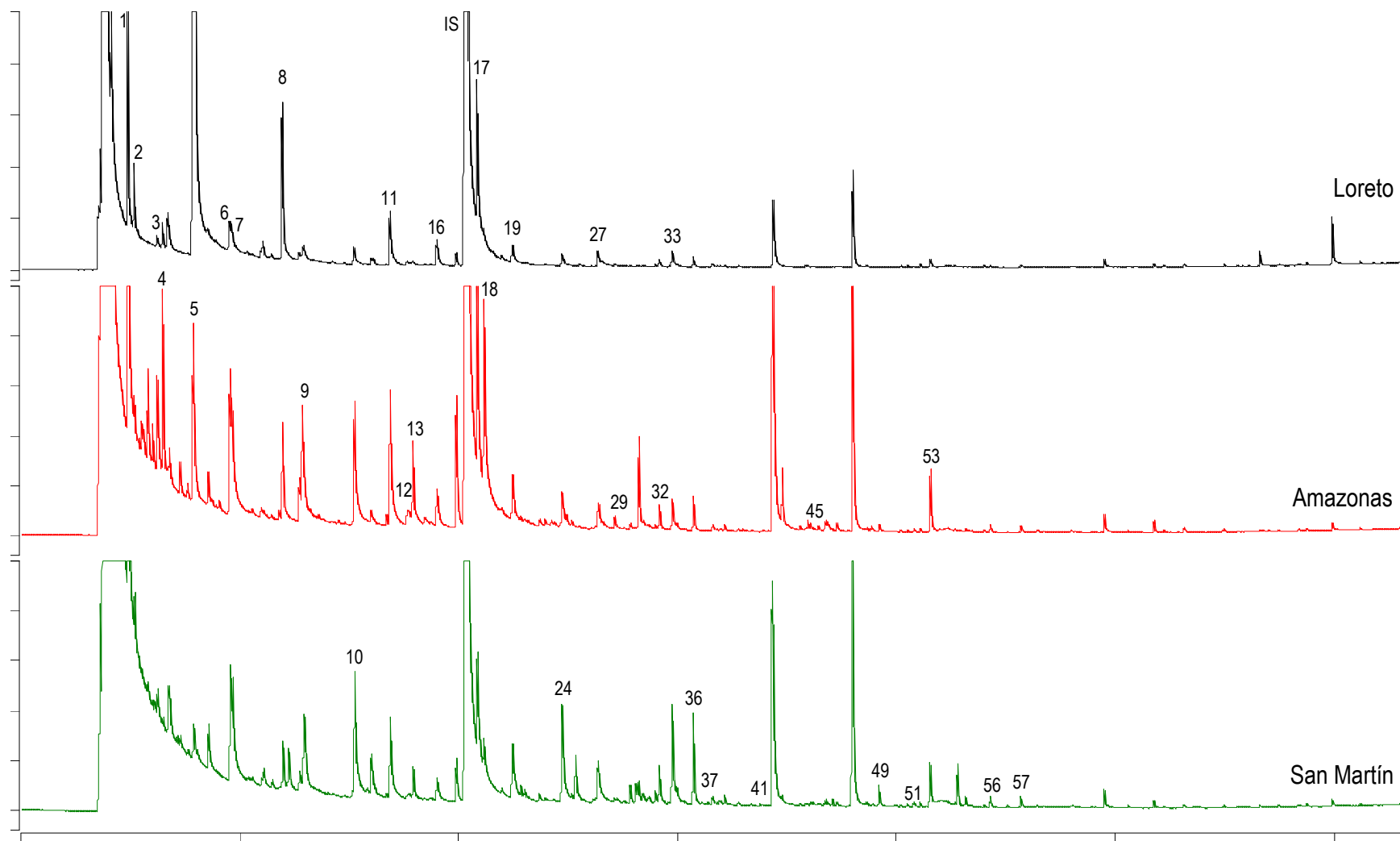


Figura 51. Cromatograma HS-SPME-GC/FID, de los compuestos volátiles identificados en muestras de aceite de Sacha inchi obtenidas de la regiones de Loreto, Amazonas y San Martín. La descripción de cada pico se muestra en la [Tabla 37](#).

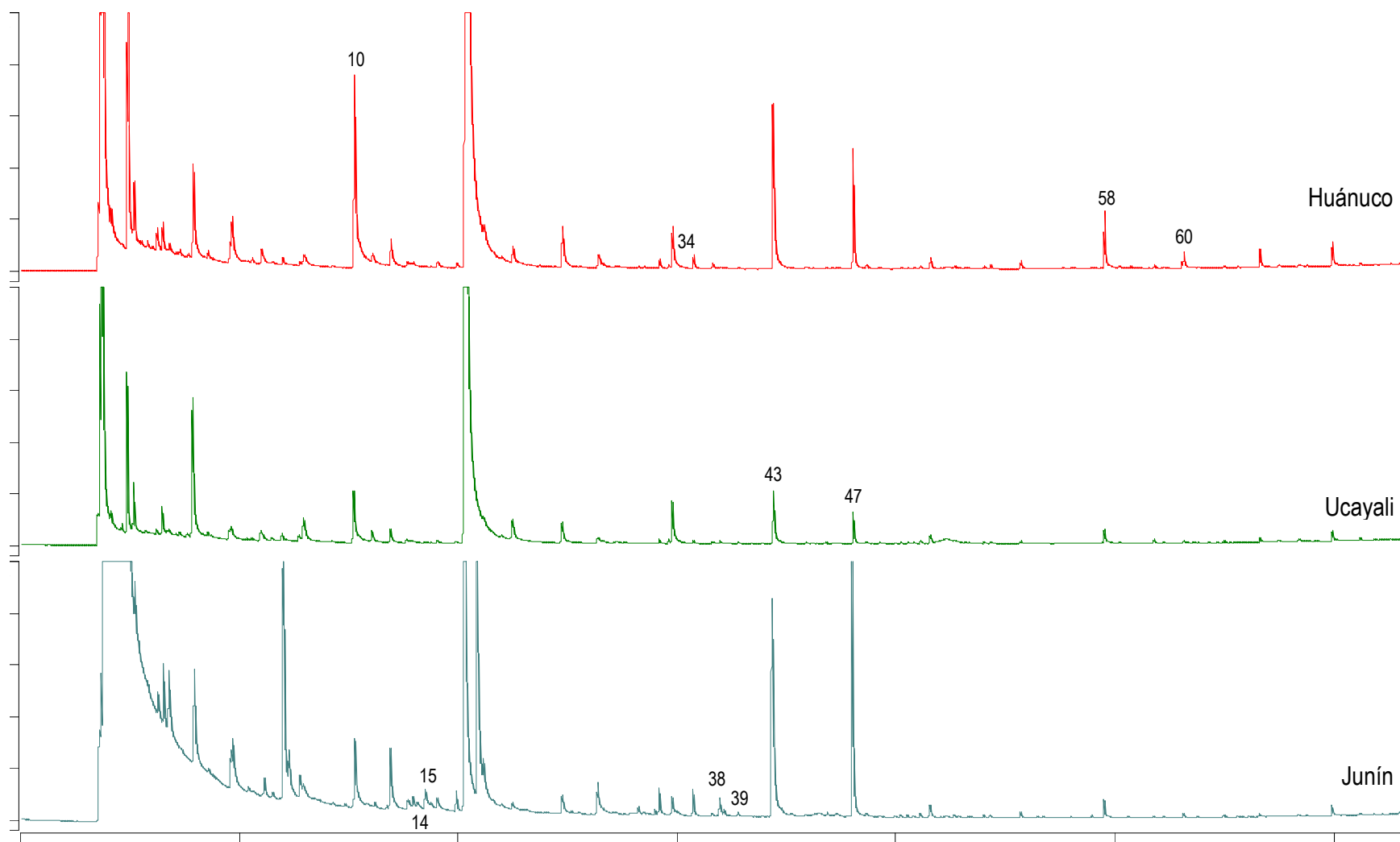


Figura 52. Cromatograma HS-SPME-GC/FID, de los compuestos volátiles identificados en muestras de aceite de Sacha inchi obtenidas de la regiones de Huánuco, Ucayali y Junín. La descripción de cada pico se muestra en la [Tabla 37](#).

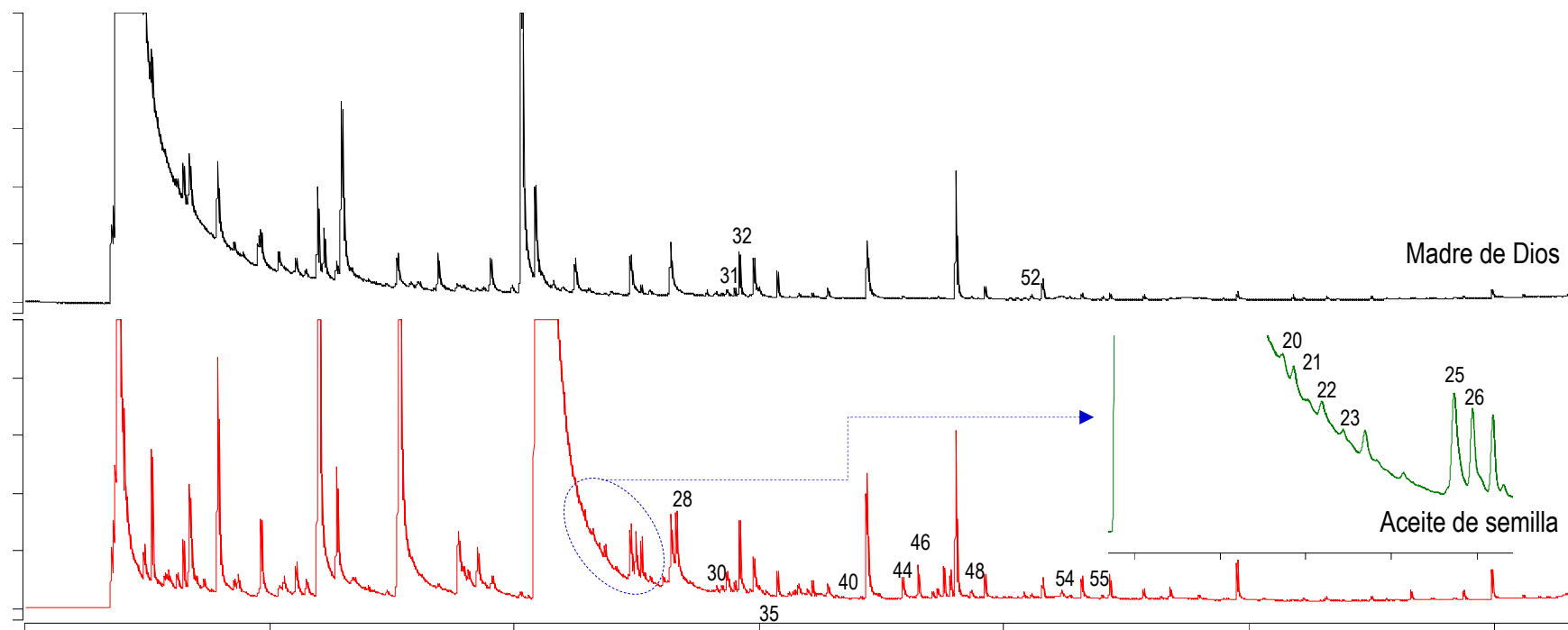


Figura 53. Cromatograma HS-SPME-GC/FID, de los compuestos volátiles identificados en muestras de aceite de Sacha inchi obtenida de la región de Madre de Dios y una muestra de aceite de semilla. La descripción de cada pico se muestra en la [Tabla 37](#).

Tabla 37. Información general de los compuestos volátiles identificados mediante HS-SPME-GC/MS en el aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo).

Nº	TRB-Wax RR <sub>i</sub> <sup>a</sup>	Compuesto	Identificación	Principales iones <i>m/z</i>	Característica sensorial	Referencia
1	0,209	metil-acetaldehído	MS	58 <sup>b</sup> , 39	Picante	Reiners y Grosch, 1998
2	0,233	2-propanona	MS	58, 43 <sup>b</sup> , 27	Acetona	Sympoura <i>et al.</i> , 2009
3	0,290	acetato de etilo	MS, Co-GC	88, 70, 61, 43 <sup>b</sup>	Dulce, agradable, aromático	Morales <i>et al.</i> , 1997; 2005
4	0,305	2-butanona	Co-GC	72, 57, 43 <sup>b</sup>	Fragante, frutado, agradable	Morales <i>et al.</i> , 1997; 2005
5	0,346	etanol	MS, Co-GC	46, 45 <sup>b</sup> , 31	Alcohol	Morales <i>et al.</i> , 2005
6	0,425	3-pentanona	MS, Co-GC	86, 57 <sup>b</sup>	Dulce, frutado	Morales <i>et al.</i> , 1997; Luna <i>et al.</i> , 2006
7	0,429	pentanal	MS, Co-GC	86, 71, 58, 44 <sup>b</sup>	Madera, amargo, aceitoso	Morales <i>et al.</i> , 1997; 2005
8	0,515	α-pineno	MS	136, 121, 105, 93 <sup>b</sup> , 77, 39	Suave a pino, resinoso	Jiang y Kubota, 2004
9	0,589	tolueno	Co-GC	92, 91 <sup>b</sup> , 65, 51	Picante, aromático	Haddada <i>et al.</i> , 2007
10	0,716	hexanal	MS, Co-GC	100, 82, 72, 56, 44 <sup>b</sup>	Manzana verde, césped	Morales <i>et al.</i> , 2005; Luna <i>et al.</i> , 2006
11	0,759	sabineno	MS	136, 93, 57 <sup>b</sup> , 41	Hierba verde, madera	Minh Tu <i>et al.</i> , 2002; Roberts <i>et al.</i> , 2004
12	0,813	3-pentanol	MS	88, 59 <sup>b</sup> , 41, 31	Frutado, fuerte, picante	Aparicio y Luna, 2002
13	0,844	etilbenceno	MS	106, 91 <sup>b</sup> , 78, 51	Fuerte	Luna <i>et al.</i> , 2006
14	0,862	E-2-pentenal	Co-GC	84, 69, 55 <sup>b</sup> , 39	Manzana verde, tomate	Morales <i>et al.</i> , 2005; Luna <i>et al.</i> , 2006
15	0,932	1-butanol	MS, Co-GC	74, 56 <sup>b</sup> , 41, 31	Alcohol, frutado	Zhao <i>et al.</i> , 2011
16	0,977	1-penten-3-ol	Co-GC	86, 67, 57 <sup>b</sup> , 29	Mantequilla, verde suave	Tena <i>et al.</i> , 2007
IS	1,000	4-metil-2-pentanol				
17	1,024	2-heptanona	MS, Co-GC	114, 71, 58, 43 <sup>b</sup>	Dulce, frutado, canela	Morales <i>et al.</i> , 2005; Luna <i>et al.</i> , 2006
18	1,036	heptanal	MS, Co-GC	114, 96, 70, 55, 43 <sup>b</sup>	Aceitoso, grasa, madera	Morales <i>et al.</i> , 2005
19	1,058	limoneno	Co-GC	136, 93, 79, 68 <sup>b</sup> , 39	A limón	Minh Tu <i>et al.</i> , 2002
20	1,118	3-metil-1-butanol	MS, Co-GC	88, 70, 55 <sup>b</sup> , 41	Madera, whisky, dulce	Morales <i>et al.</i> , 2005
21	1,130	E-2-hexenal	MS, Co-GC	98, 83, 69, 55, 41 <sup>b</sup>	Almendras amargas, verde	Morales <i>et al.</i> , 2005

Tabla 37. (Continuación)

Nº	TRB-Wax RR <sub>t</sub> <sup>a</sup>	Compuesto	Identificación	Principales iones <i>m/z</i>	Característica sensorial	Referencia
22	1,173	2-pentilfurano	MS	138, 117, 94, 81 <sup>b</sup> , 53	Frejol verde, frutado	<a href="#">Lo et al., 2008</a>
23	1,200	metil ciclooctano	MS	126, 97, 69, 55 <sup>b</sup> , 41		
24	1,233	3-octanona	MS, Co-GC	128, 99, 71, 57, 43 <sup>b</sup>	Hongos, mantecoso	<a href="#">Cho et al., 2007</a>
25	1,241	estireno	MS	104 <sup>b</sup> , 78, 51	Balsámico, gasolina, plástico fundido	<a href="#">Acree y Arn, 2004; Collin et al., 2008</a>
26	1,256	etanona	MS	124, 109, 81 <sup>b</sup> , 43	A nuez	<a href="#">Misnawi y Ariza, 2011</a>
27	1,318	2-octanona	Co-GC	128, 71, 58, 43 <sup>b</sup>	Frutado, verde, sobre maduro	<a href="#">García-González et al., 2009; Morales et al., 2005; Luna et al., 2006</a>
28	1,330	octanal	MS, Co-GC	128, 84, 57, 43 <sup>b</sup>	Graso, limón, verde, fresco	<a href="#">Morales et al., 2005; Reiners y Grosch, 1998; García-González et al., 2009</a>
29	1,419	E-2-heptenal	MS, Co-GC	112, 83, 70, 55, 41 <sup>b</sup>	Verde, graso, almendra	<a href="#">García-González et al., 2009</a>
30	1,445	Z-6-octen-2-ona	MS	126, 68, 55, 43 <sup>b</sup>		<a href="#">Lo et al., 2008</a>
31	1,462	6-metil-5-hepten-2-ona	MS, Co-GC	126, 108, 69, 55, 43 <sup>b</sup>	Picante, césped, hongo	<a href="#">Morales et al., 2005; Luna et al., 2006</a>
32	1,514	1-hexanol	MS, Co-GC	102, 84, 69, 56 <sup>b</sup> , 43	Frutado, aromático, áspero	<a href="#">Luna et al., 2006</a>
33	1,540	E-3-hexen-1-ol	MS, Co-GC	100, 82, 67, 55, 41 <sup>b</sup>	Verde	<a href="#">Aparicio y Morales, 1998</a>
34	1,565	1-hepten-3-ol	MS	114, 72, 57 <sup>b</sup> , 41	Terroso	<a href="#">Iraqi et al., 2005</a>
35	1,587	2-nonanona	MS	142, 71, 58 <sup>b</sup> , 43	Frutado, floral	<a href="#">Luna et al., 2006; Tena et al., 2007</a>
36	1,599	nonanal	MS, Co-GC	142, 98, 70, 57 <sup>b</sup> , 41	Graso, ceroso, picante	<a href="#">Morales et al., 2005</a>
37	1,631	3-octen-2-ona	MS	126, 111, 55 <sup>b</sup> , 43	Hongo, nuez	<a href="#">Lo et al., 2008</a>
38	1,644	Z-2-hexen-1-ol	Co-GC	100, 82, 67, 41 <sup>b</sup>	Césped, fresco, frutado	<a href="#">Morales et al., 2005; Luna et al., 2006</a>
39	1,674	2-nonanol	MS	144, 98, 69, 55, 45 <sup>b</sup>	Musgo, fresco	<a href="#">Sérot et al., 2002</a>
40	1,684	E-2-octenal	Co-GC	126, 83, 70, 55, 41 <sup>b</sup>	Herbáceo, habas, césped	<a href="#">Morales et al., 2005; Luna et al., 2006</a>
41	1,759	1-heptanol	MS	116, 70, 55 <sup>b</sup> , 41	Fresco, verde-graso, avinado	<a href="#">Narain et al., 2010</a>
42	1,773	2,4-heptadienal	Co-MS	110, 81 <sup>b</sup> , 53, 39	Graso, rancio	<a href="#">Morales et al., 2005</a>

Tabla 37. (Continuación)

Nº	TRB-Wax RR <sub>t</sub> <sup>a</sup>	Compuesto	Identificación	Principales iones <i>m/z</i>	Característica sensorial	Referencia
43	1,790	ácido acético	MS	60, 43 <sup>b</sup>	Agrio, avinagrado	<a href="#">Morales <i>et al.</i>, 2005</a>
44	1,837	2-etilhexanol	MS	130, 83, 57 <sup>b</sup> , 41	Floral, verde	<a href="#">Zhao <i>et al.</i>, 2011</a> ; <a href="#">Acree y Arn, 2004</a>
45	1,896	3,5-octadien-2-ona	MS	124, 95 <sup>b</sup> , 81, 55, 43	Frutado, graso	<a href="#">Morales <i>et al.</i>, 1997</a>
46	1,905	benzaldehído	MS	106, 77 <sup>b</sup> , 51	Almendras amargas	<a href="#">García-González <i>et al.</i>, 2009</a>
47	1,979	ácido propanoico	MS, Co-GC	74 <sup>b</sup> , 57, 45	Acido, picante	<a href="#">Morales <i>et al.</i>, 2005</a>
48	1,986	pentil ciclopropano	MS	112, 83, 70, 56 <sup>b</sup> , 42		
49	2,074	aristoleno	MS	204, 147, 105 <sup>b</sup> , 91, 41	Flores, dulce	<a href="#">Karamian <i>et al.</i>, 2013</a> ; <a href="#">Liu <i>et al.</i>, 2013</a>
50	2,081	propileno glicol (E1520)	MS	76, 61, 45 <sup>b</sup>	Aditivo alimentario	
51	2,098	5-metildihidro-2-(3H)-furanona	MS	100, 85, 56 <sup>b</sup> , 41	Caramelo, tostado,	<a href="#">Moreno-Calderon <i>et al.</i>, 2010</a>
52	2,138	dihidro-2-(3H)-furanona	MS	86, 56, 42 <sup>b</sup>	Caramelo, dulce	<a href="#">Acree y Arn, 2004</a>
53	2,165	ácido butanoico	MS, Co-GC	88, 73, 60 <sup>b</sup> , 42	Rancio, queso	<a href="#">Morales <i>et al.</i>, 2005</a>
54	2,175	1-fenil etanona	MS	120, 105 <sup>b</sup> , 77, 51	Flores, dulce	<a href="#">Owusu <i>et al.</i>, 2008</a>
55	2,283	5-etildihidro-2-(3H)-furanona	MS	114, 85 <sup>b</sup> , 57, 42	A nuez, tostado	<a href="#">Zahar <i>et al.</i>, 2011</a>
56	2,290	2,6-dimetil benzaldehído	MS	134, 105 <sup>b</sup> , 91, 77, 41	Dulce, almendras amargas	<a href="#">Burdock, 2009</a>
57	2,382	ácido pentanoico	MS, Co-GC	102, 73, 60 <sup>b</sup> , 41	Desagradable, picante	<a href="#">Morales <i>et al.</i>, 2005</a>
58	2,582	ácido hexanoico	MS	116, 73, 60 <sup>b</sup> , 41	Picante, rancio	<a href="#">Morales <i>et al.</i>, 2005</a>
59	2,678	butil hidroxitolueno (E321)	MS	220, 205 <sup>b</sup> , 145, 105, 57	Aditivo alimentario	
60	2,750	ácido heptanoico	MS		Rancio, graso	<a href="#">Morales <i>et al.</i>, 2005</a>

<sup>a</sup> Tiempo de retención relativo al estándar interno (4-metil-2-pentanol) R<sub>t</sub>=19,284 min, usando una columna TRB-WAX 60 m. MS: identificación basada en el espectrómetro de masas, Co-GC/MS: identificación basada en estándares auténticos. <sup>b</sup> Pico base (intensidad relativa=100%).

Por otro lado se observa la presencia de dos compuestos (aditivos alimentarios) corresponden al pico 50, identificado como polietilen glicol (propane-1,2-diol)  $m/z$  76, y al pico 59 que corresponde al butil hidroxitolueno (2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol)  $m/z$  220. Según la [NTP \(2009\)](#) el aceite de Sacha inchi virgen se refiere al aceite extraído por procedimientos mecánicos (extrusión, prensado, etc), que puede ser purificado por sedimentación, filtración y centrifugación. En ningún caso se contempla la presencia y/o la utilización de un aditivo alimentario, el uso de polietilen glicol en la industria alimentaria es como disolvente de colorantes y aromas, como emulsificante, humectante, conservante y como agente anticongelante ([EFSA, 2011](#)). En la [Figura 54](#) y [55](#) se muestran los cromatogramas correspondiente a los picos 50 y 59, así como sus respectivos espectros de masas.

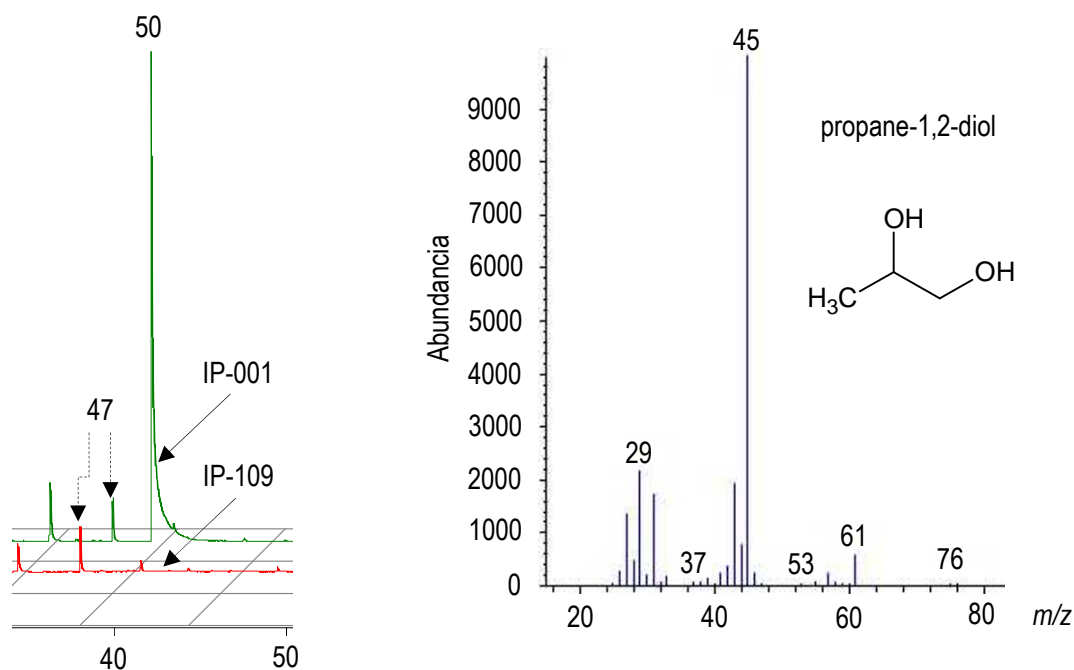


Figura 54. Cromatograma HS-SPME-GC/FID, y espectro de masas HS-SPME-GC/MS del pico identificado como polietilen glicol (pico 50) en una muestra de aceite de Sacha inchi comercial (línea verde) y de una muestra de aceite de semilla recién extraído (Sa) ausente de este compuesto (línea roja).

En la [Tabla 38](#) se muestra el contenido de compuestos volátiles por regiones de cultivo de cada una de las muestras analizadas, el contenido total de volátiles incluyendo alcoholes, aldehídos, cetonas, terpenoides, furanonas y ácidos carboxílicos osciló entre

700-5700  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aceite, tanto en aceites comerciales como en aceites recién extraídos. La media de los aceites obtenidos de semilla (Sa) fue 5637  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aceite, siendo las muestras de las regiones de San Martín y Amazonas, más cercanos a la media de 2952  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para aceites comerciales y las muestras procedentes de las regiones de Huánuco y Junín, con una rango de concentración entre 712 y 4711  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aceite respectivamente.

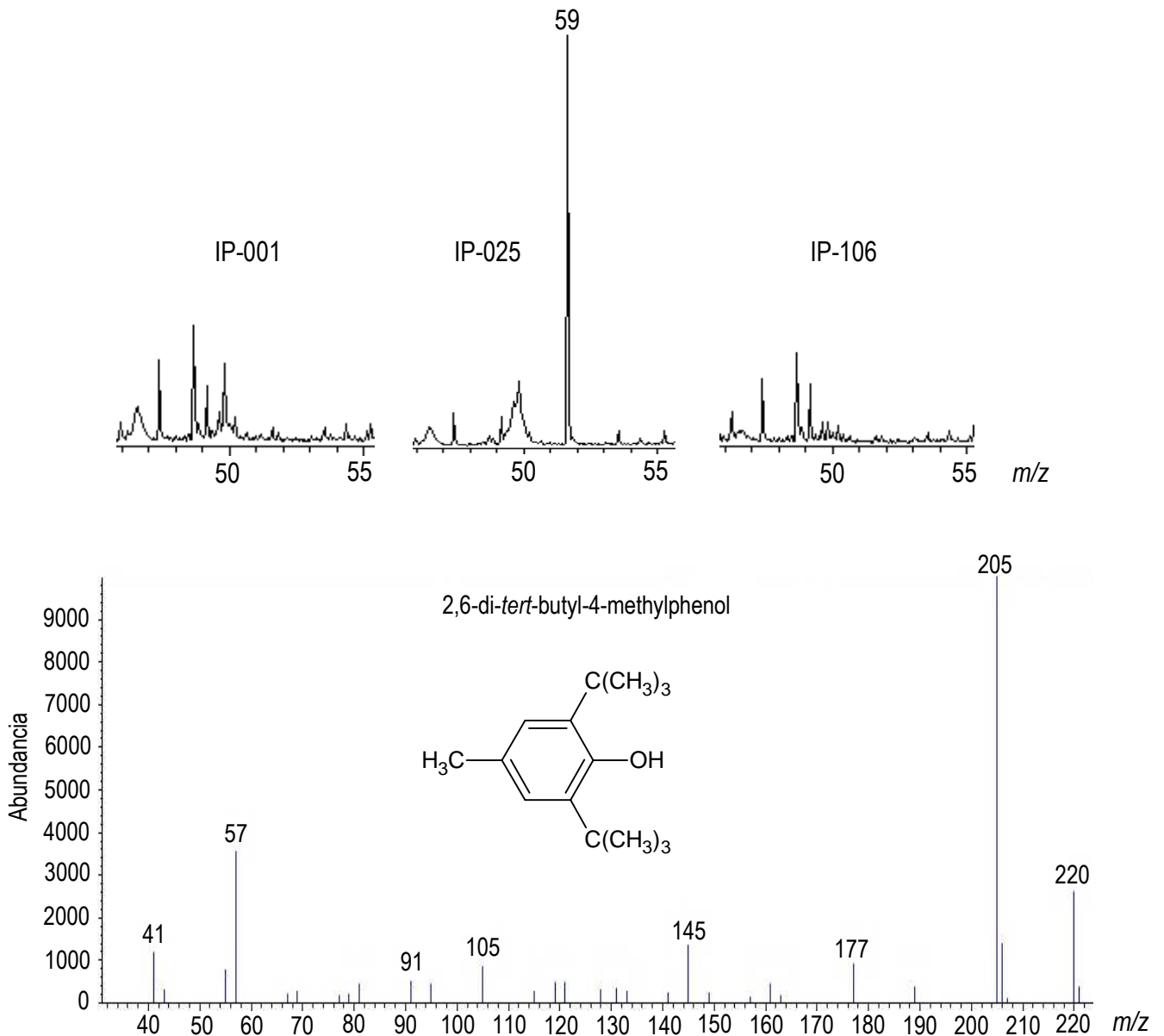


Figura 55. Cromatograma HS-SPME-GC/MS y espectro de masas del pico identificado como butil hidroxitolueno (2,6-bis(1,1-dimetil-etil)-4-metilfenol) (pico 59) de dos muestras de aceite de Sacha inchi (IP-001 y IP-025) y de una muestra de aceite de semilla (IP-106).



Tabla 38. Valor medio de los compuestos volátiles ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) en las muestras de aceite de Sacha inchi comerciales, obtenidos de semillas producidas en diferentes regiones y en aceites de semilla (Sa).

N°	Componentes	Loreto (5)	Amazonas (3)	San Martín (8)	Huánuco (2)	Ucayali (3)	Junín (3)	Madre de Dios (3)	Aceites semilla (9)
1	metil-acetaldehído	165,52 <sup>a</sup>	294,83 <sup>a</sup>	767,35 <sup>a</sup>	192,27 <sup>a</sup>	402,05 <sup>a</sup>	673,61 <sup>a</sup>	380,78 <sup>a</sup>	302,89 <sup>a</sup>
2	2-propanona	41,80 <sup>a</sup>	13,16 <sup>a</sup>	31,27 <sup>a</sup>	25,44 <sup>a</sup>	42,29 <sup>a</sup>	151,03 <sup>a</sup>	42,40 <sup>a</sup>	153,00 <sup>a</sup>
3	acetato de etilo	8,61 <sup>a</sup>	36,66 <sup>a</sup>	111,78 <sup>a</sup>	8,45 <sup>a</sup>	19,26 <sup>a</sup>	56,81 <sup>a</sup>	13,62 <sup>a</sup>	14,83 <sup>a</sup>
4	2-butanona	21,27 <sup>a</sup>	54,32 <sup>a</sup>	72,00 <sup>a</sup>	10,22 <sup>a</sup>	18,41 <sup>a</sup>	57,51 <sup>a</sup>	41,33 <sup>a</sup>	21,06 <sup>a</sup>
5	etanol	817,18 <sup>a</sup>	1604,51 <sup>a</sup>	169,84 <sup>a</sup>	89,01 <sup>b</sup>	247,78 <sup>a</sup>	287,12 <sup>a</sup>	2184,99 <sup>a</sup>	65,87 <sup>b</sup>
6	3-pentanona	13,60 <sup>a</sup>	70,16 <sup>a</sup>	40,61 <sup>a</sup>	3,35 <sup>a</sup>	31,23 <sup>a</sup>	64,21 <sup>a</sup>	32,88 <sup>a</sup>	16,43 <sup>a</sup>
7	pentanal	43,23 <sup>a</sup>	117,07 <sup>a</sup>	96,50 <sup>a</sup>	9,57 <sup>a</sup>	65,83 <sup>a</sup>	120,17 <sup>a</sup>	70,58 <sup>a</sup>	34,05 <sup>a</sup>
8	$\alpha$ -pineno	107,50 <sup>a</sup>	58,61 <sup>a</sup>	48,92 <sup>a</sup>	23,70 <sup>a</sup>	96,84 <sup>a</sup>	451,65 <sup>a</sup>	184,83 <sup>a</sup>	259,98 <sup>a</sup>
9	tolueno	5,04 <sup>b</sup>	71,03 <sup>b</sup>	36,80 <sup>b</sup>	5,21 <sup>b</sup>	17,28 <sup>b</sup>	20,95 <sup>b</sup>	258,28 <sup>a</sup>	2,81 <sup>b</sup>
10	hexanal	34,63 <sup>a</sup>	103,59 <sup>a</sup>	116,20 <sup>a</sup>	82,57 <sup>a</sup>	86,84 <sup>a</sup>	160,38 <sup>a</sup>	86,52 <sup>a</sup>	183,37 <sup>a</sup>
11	sabineno	39,58 <sup>a</sup>	103,18 <sup>a</sup>	82,81 <sup>a</sup>	20,50 <sup>a</sup>	123,65 <sup>a</sup>	141,76 <sup>a</sup>	95,60 <sup>a</sup>	73,57 <sup>a</sup>
12	3-pentanol	2,69 <sup>a</sup>	8,92 <sup>a</sup>	18,19 <sup>a</sup>	1,65 <sup>a</sup>	11,47 <sup>a</sup>	22,15 <sup>a</sup>	12,89 <sup>a</sup>	15,36 <sup>a</sup>
13	etilbenceno	2,94 <sup>a</sup>	25,32 <sup>a</sup>	43,95 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	12,94 <sup>a</sup>	33,22 <sup>a</sup>	2,94 <sup>a</sup>	11,19 <sup>a</sup>
14	E-2-pentenal	0,55 <sup>b</sup>	Nd	0,85 <sup>b</sup>	Nd	2,13 <sup>b</sup>	29,85 <sup>a</sup>	1,41 <sup>b</sup>	6,84 <sup>b</sup>
15	1-butanol	8,69 <sup>b</sup>	18,30 <sup>b</sup>	3,94 <sup>b</sup>	Nd	4,46 <sup>b</sup>	77,91 <sup>a</sup>	12,12 <sup>b</sup>	11,41 <sup>b</sup>
16	1-penten-3-ol	40,70 <sup>a</sup>	35,70 <sup>a</sup>	16,41 <sup>b</sup>	3,57 <sup>b</sup>	24,36 <sup>a</sup>	38,36 <sup>a</sup>	68,99 <sup>a</sup>	8,40 <sup>b</sup>
17	2-heptanona	188,51 <sup>a</sup>	126,78 <sup>a</sup>	52,54 <sup>a</sup>	9,31 <sup>a</sup>	68,03 <sup>a</sup>	646,26 <sup>a</sup>	307,89 <sup>a</sup>	3791,30 <sup>a</sup>
18	heptanal	53,65 <sup>a</sup>	122,80 <sup>a</sup>	114,69 <sup>a</sup>	4,88 <sup>a</sup>	17,16 <sup>a</sup>	234,57 <sup>a</sup>	106,98 <sup>a</sup>	8,48 <sup>a</sup>
19	limoneno	11,27 <sup>b</sup>	31,55 <sup>b</sup>	38,13 <sup>b</sup>	11,91 <sup>b</sup>	37,88 <sup>b</sup>	38,77 <sup>b</sup>	133,78 <sup>a</sup>	45,55 <sup>b</sup>
21	E-2-hexenal	1,65 <sup>a</sup>	0,64 <sup>a</sup>	4,00 <sup>a</sup>	Nd	Nd	5,88 <sup>a</sup>	5,80 <sup>a</sup>	6,74 <sup>a</sup>

Tabla 38. (Continuación)

Nº	Componentes	Loreto	Amazonas	San Martín	Huánuco	Ucayali	Junín	Madre de Dios	Aceites semilla
22	2-pentilfurano	0,66 <sup>a</sup>	Nd	3,51 <sup>a</sup>	Nd	Nd	5,16 <sup>a</sup>	5,98 <sup>a</sup>	0,97 <sup>a</sup>
23	metil ciclooctano	Nd	Nd	0,86 <sup>a</sup>	Nd	Nd	Nd	Nd	0,39 <sup>a</sup>
24	3-octanona	15,97 <sup>a</sup>	35,62 <sup>a</sup>	41,25 <sup>a</sup>	20,58 <sup>a</sup>	43,52 <sup>a</sup>	45,50 <sup>a</sup>	77,53 <sup>a</sup>	30,26 <sup>a</sup>
25	estireno	1,26 <sup>a</sup>	3,41 <sup>a</sup>	8,78 <sup>a</sup>	Nd	8,10 <sup>a</sup>	7,93 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	4,67 <sup>a</sup>
26	etanona	Nd	1,01 <sup>b</sup>	7,87 <sup>a</sup>	Nd	14,36 <sup>a</sup>	9,63 <sup>a</sup>	9,87 <sup>a</sup>	17,53 <sup>a</sup>
27	2-octanona	9,95 <sup>b</sup>	17,75 <sup>b</sup>	26,13 <sup>b</sup>	7,82 <sup>bc</sup>	28,25 <sup>b</sup>	38,09 <sup>b</sup>	84,92 <sup>a</sup>	64,56 <sup>ab</sup>
28	octanal	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	3,80 <sup>a</sup>	4,32 <sup>a</sup>
29	E-2-heptenal	2,18 <sup>bc</sup>	16,32 <sup>a</sup>	15,21 <sup>ab</sup>	Nd	0,89 <sup>c</sup>	8,19 <sup>abc</sup>	0,63 <sup>c</sup>	2,52 <sup>bc</sup>
30	Z-6-octen-2-ona	Nd	Nd	1,55 <sup>b</sup>	Nd	1,17 <sup>b</sup>	2,46 <sup>b</sup>	3,79 <sup>ab</sup>	8,44 <sup>a</sup>
31	6-metil-5-hepten-2-ona	2,66 <sup>a</sup>	3,70 <sup>a</sup>	4,71 <sup>a</sup>	Nd	10,16 <sup>a</sup>	9,90 <sup>a</sup>	7,46 <sup>a</sup>	3,98 <sup>a</sup>
32	1-hexanol	4,78 <sup>bc</sup>	13,65 <sup>abc</sup>	21,78 <sup>abc</sup>	4,80 <sup>bc</sup>	27,83 <sup>abc</sup>	34,09 <sup>abc</sup>	53,63 <sup>a</sup>	45,09 <sup>abc</sup>
33	E-3-hexen-1-ol	11,90 <sup>b</sup>	20,48 <sup>b</sup>	39,33 <sup>ab</sup>	16,72 <sup>b</sup>	39,87 <sup>ab</sup>	37,34 <sup>ab</sup>	82,63 <sup>a</sup>	39,70 <sup>ab</sup>
34	1-hepten-3-ol	Nd	4,87 <sup>a</sup>	8,49 <sup>a</sup>	Nd	14,87 <sup>a</sup>	9,67 <sup>a</sup>	18,09 <sup>a</sup>	11,09 <sup>a</sup>
35	2-nonanona	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	1,60
36	nonanal	11,58 <sup>a</sup>	17,63 <sup>a</sup>	30,81 <sup>a</sup>	6,81 <sup>a</sup>	34,16 <sup>a</sup>	43,58 <sup>a</sup>	40,33 <sup>a</sup>	18,65 <sup>a</sup>
37	3-octen-2-ona	1,25 <sup>a</sup>	3,09 <sup>a</sup>	3,96 <sup>a</sup>	1,94 <sup>a</sup>	5,44 <sup>a</sup>	6,65 <sup>a</sup>	5,70 <sup>a</sup>	5,23 <sup>a</sup>
38	Z-2-hexen-1-ol	Nd	1,61 <sup>a</sup>	3,83 <sup>a</sup>	Nd	1,56 <sup>a</sup>	9,46 <sup>a</sup>	6,36 <sup>a</sup>	5,57 <sup>a</sup>
39	2-nonanol	0,80 <sup>b</sup>	Nd	2,87 <sup>b</sup>	Nd	1,59 <sup>b</sup>	5,89 <sup>b</sup>	17,85 <sup>a</sup>	20,52 <sup>a</sup>
43	ácido acético	312,81 <sup>a</sup>	430,43 <sup>a</sup>	333,64 <sup>a</sup>	85,79 <sup>a</sup>	565,72 <sup>a</sup>	539,65 <sup>a</sup>	176,43 <sup>a</sup>	128,28 <sup>a</sup>
44	2-etilhexanol	2,06 <sup>b</sup>	1,31 <sup>b</sup>	1,05 <sup>b</sup>	Nd	7,41 <sup>b</sup>	175,00 <sup>a</sup>	1,16 <sup>b</sup>	4,60 <sup>b</sup>
45	3,5-octadien-2-ona	0,92 <sup>b</sup>	1,71 <sup>b</sup>	2,01 <sup>b</sup>	Nd	14,01 <sup>a</sup>	6,06 <sup>b</sup>	Nd	2,32 <sup>b</sup>
46	benzaldehído	1,57 <sup>b</sup>	1,83 <sup>b</sup>	4,65 <sup>b</sup>	Nd	22,28 <sup>a</sup>	10,45 <sup>ab</sup>	Nd	2,40 <sup>b</sup>
47	ácido propanoico	55,04 <sup>a</sup>	164,34 <sup>a</sup>	263,69 <sup>a</sup>	51,77 <sup>a</sup>	202,84 <sup>a</sup>	435,87 <sup>a</sup>	198,19 <sup>a</sup>	138,86 <sup>a</sup>
48	pentil ciclopropano	0,62 <sup>a</sup>	1,92 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	1,05 <sup>a</sup>	4,09 <sup>a</sup>	2,21 <sup>a</sup>	0,63 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>

Tabla 38. (Continuación)

Nº	Componentes	Loreto	Amazonas	San Martín	Huánuco	Ucayali	Junín	Madre de Dios	Aceites semilla
49	aristoleno	Nd	2,88 <sup>a</sup>	6,47 <sup>a</sup>	Nd	1,56 <sup>a</sup>	1,33 <sup>a</sup>	11,64 <sup>a</sup>	10,66 <sup>a</sup>
50	propilen glicol (E1520)	Nd	2532,91 <sup>a</sup>	1387,23 <sup>a</sup>	Nd	Nd	738,39 <sup>a</sup>	Nd	Nd
51	5-metildihidro-2-(3H)-furanona	28,01 <sup>a</sup>	Nd	1,70 <sup>a</sup>	Nd	1,12 <sup>a</sup>	2,03 <sup>a</sup>	0,98 <sup>a</sup>	3,96 <sup>a</sup>
52	dihidro-2-(3H)-furanona	25,97 <sup>a</sup>	2,90 <sup>a</sup>	3,28 <sup>a</sup>	1,26 <sup>a</sup>	7,09 <sup>a</sup>	5,91 <sup>a</sup>	5,96 <sup>a</sup>	2,76 <sup>a</sup>
53	ácido butanoico	10,05 <sup>b</sup>	25,56 <sup>ab</sup>	21,74 <sup>ab</sup>	6,80 <sup>b</sup>	33,18 <sup>ab</sup>	29,93 <sup>ab</sup>	43,79 <sup>a</sup>	31,98 <sup>ab</sup>
54	1-fenil etanona	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	4,40 <sup>a</sup>	Nd	0,81 <sup>a</sup>
55	5-etildihidro-2-(3H)-furanona	1,15 <sup>a</sup>	1,72 <sup>a</sup>	2,60 <sup>a</sup>	Nd	5,59 <sup>a</sup>	4,21 <sup>a</sup>	3,06 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>
56	2,6-dimetil benzaldehído	0,22 <sup>a</sup>	3,72 <sup>a</sup>	2,92 <sup>a</sup>	1,26 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>	3,74 <sup>a</sup>	8,18 <sup>a</sup>	16,71 <sup>a</sup>
57	ácido pentanoico	2,84 <sup>ab</sup>	5,31 <sup>ab</sup>	4,49 <sup>ab</sup>	1,92 <sup>b</sup>	5,52 <sup>ab</sup>	9,29 <sup>a</sup>	5,52 <sup>ab</sup>	3,41 <sup>ab</sup>
58	ácido hexanoico	10,20 <sup>a</sup>	18,68 <sup>a</sup>	14,06 <sup>a</sup>	13,22 <sup>a</sup>	17,87 <sup>a</sup>	22,76 <sup>a</sup>	12,01 <sup>a</sup>	16,42 <sup>a</sup>
59	butil hidroxitolueno (E321)	55,56 <sup>a</sup>	7,62 <sup>b</sup>	7,82 <sup>b</sup>	1,21 <sup>b</sup>	4,18 <sup>b</sup>	0,98 <sup>b</sup>	5,38 <sup>b</sup>	Nd
60	ácido heptanoico	2,71 <sup>a</sup>	4,13 <sup>ab</sup>	4,65 <sup>ab</sup>	4,03 <sup>ab</sup>	4,94 <sup>ab</sup>	9,41 <sup>a</sup>	4,87 <sup>b</sup>	3,19 <sup>b</sup>
	C <sub>5</sub> volátiles <sup>1</sup>	97,88 <sup>a</sup>	222,93 <sup>a</sup>	154,47 <sup>a</sup>	16,49 <sup>a</sup>	123,55 <sup>a</sup>	252,58 <sup>a</sup>	173,86 <sup>a</sup>	65,71 <sup>a</sup>
	C <sub>6</sub> alcoholes <sup>2</sup>	16,68 <sup>b</sup>	35,74 <sup>b</sup>	64,94 <sup>ab</sup>	21,52 <sup>b</sup>	69,26 <sup>ab</sup>	80,89 <sup>ab</sup>	142,62 <sup>a</sup>	90,36 <sup>ab</sup>
	C <sub>6</sub> aldehídos <sup>3</sup>	36,27 <sup>a</sup>	104,23 <sup>a</sup>	120,29 <sup>a</sup>	82,57 <sup>a</sup>	86,84 <sup>a</sup>	166,25 <sup>a</sup>	92,32 <sup>a</sup>	190,11 <sup>a</sup>
	Total alcoholes	70,81 <sup>b</sup>	104,84 <sup>b</sup>	113,03 <sup>ab</sup>	26,74 <sup>b</sup>	131,82 <sup>ab</sup>	403,98 <sup>a</sup>	255,86 <sup>ab</sup>	141,23 <sup>ab</sup>
	Total aldehídos	314,58 <sup>a</sup>	678,44 <sup>a</sup>	1153,28 <sup>a</sup>	297,36 <sup>a</sup>	632,98 <sup>a</sup>	1290,42 <sup>a</sup>	705,41 <sup>a</sup>	586,97 <sup>a</sup>
	Total cetonas	295,92 <sup>a</sup>	327,29 <sup>a</sup>	283,89 <sup>a</sup>	78,67 <sup>a</sup>	276,87 <sup>a</sup>	1037,30 <sup>a</sup>	613,78 <sup>a</sup>	4115,69 <sup>a</sup>
	Total terpenos	158,36 <sup>ab</sup>	196,22 <sup>ab</sup>	176,34 <sup>ab</sup>	56,11 <sup>b</sup>	259,93 <sup>ab</sup>	633,50 <sup>a</sup>	425,85 <sup>ab</sup>	396,90 <sup>ab</sup>
	Total furanonas	55,13 <sup>a</sup>	4,61 <sup>a</sup>	7,57 <sup>a</sup>	1,26 <sup>a</sup>	13,80 <sup>a</sup>	12,14 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	8,59 <sup>a</sup>
	Total ácidos carboxílicos	393,64 <sup>a</sup>	648,45 <sup>a</sup>	642,27 <sup>a</sup>	163,52 <sup>a</sup>	830,07 <sup>a</sup>	1046,91 <sup>a</sup>	440,81 <sup>a</sup>	322,15 <sup>a</sup>
	Total volátiles	2105,62 <sup>a</sup>	3564,36 <sup>a</sup>	2546,22 <sup>a</sup>	712,68 <sup>a</sup>	2393,23 <sup>a</sup>	4711,36 <sup>a</sup>	4636,29 <sup>a</sup>	5637,53 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> C<sub>5</sub> (1-penten-3-ol, pentanal, E-2-pentenal y 3-pentanona), <sup>2</sup> C<sub>6</sub> (E-3-hexen-1-ol, 1-hexanol, Z-2-hexen-1-ol), <sup>3</sup> C<sub>6</sub>, (hexanal, E-2-hexenal). Valores promedio seguidos por letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas a p<0,05.

De los resultados mostrados en la [Tabla 38](#) se observa que existen importantes diferencias cuantitativas entre todas las muestras de diferentes regiones, llegando incluso a quintuplicarse el contenido de volátiles en las muestras de las regiones de Junín y Huánuco. Estas diferencias en la composición de volátiles es debida a la formación en la planta a través de muchas vías metabólicas durante el desarrollo del fruto y al almacenamiento post-cosecha, otros factores relacionados en la especie, variedad, ecotipos, producción ([Jiang y Song, 2010](#)) y clima ([Cai et al., 2012](#)), además se debe tener en cuenta la influencia de la oxidación de lípidos, debido a que ha sido reconocido el principal problema que afectan a los aceites comestibles ya que es causa de importantes cambios en sus propiedades químicas, sensoriales y nutricionales ([Velasco y Dobarganes, 2002](#)). En el caso del aceite de Sacha inchi este puede ser un factor importante debido a las altas concentraciones de PUFAs (especialmente el ácido  $\alpha$ -linolénico) que se acumula en las semillas de Sacha inchi ([Wang et al., 2012](#)), en el caso del aceite de oliva virgen, también están asociadas a las condiciones de procesado y almacenamiento ([Aparicio y Morales 1998; Aparicio et al., 1996; Luna et al., 2006 ; Morales and Aparicio, 1999; Morales et al., 1997](#)), por lo que en el aceite de Sacha inchi es lógico pensar que al ser un aceite virgen ocurra algo similar.

Los aceites de Sacha inchi procedentes de las regiones de Amazonas, Junín y Madre de Dios presentaron un alto contenido de C<sub>5</sub>, mientras que las muestras de la región Huánuco mostraron concentraciones bajas. En el caso de los aceites obtenidos de semillas (Sa), la concentración de C<sub>5</sub>, varió entre 16-147  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Los compuestos volátiles C<sub>5</sub>, mayoritarios fueron pentanal, 3-pentanona y 1-penten-3-ol (los primeros dos compuestos provienen del ácido linoleico y el último del ácido linolénico), estos compuestos se encontraron en mayores concentraciones en las muestras de las regiones de cultivo con un valor medio de 74,68, 36,58 y 32,58  $\mu\text{g}/\text{kg}$  respectivamente, mientras que en los aceites de semilla (Sa) se encontraron en las siguientes concentraciones: 34,05, 16,43 y 8,40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  respectivamente. La concentración total de C<sub>6</sub>, fue mayor para las regiones de Junín y Madre de Dios entre 80,89 y 142,62  $\mu\text{g}/\text{kg}$  respectivamente, mientras los Sa oscilaron entre 104-1080  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . El alcohol C<sub>6</sub>, más representativo fue E-3-hexen-1-ol (ruta LOX del ácido linolénico, LnA), presentó un valor medio tanto para las muestras de aceite de diferentes regiones como para Sa de 35,47 y 39,70  $\mu\text{g}/\text{kg}$

respectivamente. Es probable que la variación de la concentración de los compuestos C<sub>5</sub> que son muy apreciados por sus atributos sensoriales positivos se modifique, esta modificación podría deberse, a una pérdida de la actividad de las enzimas LOX en el aceite (Salas *et al.*, 2005; Salas *et al.*, 2006). El aldehído C<sub>6</sub>, mayoritario fue hexanal (ruta LOX del ácido linoleico, LA) que estuvo presente en las muestras de diferentes regiones entre 34-160 µg/kg. Los valores más altos fueron para las regiones de Junín y San Martín y el menor valor se detectó en las muestras de la región de Loreto, en tanto que las muestras Sa presentaron una media de 183,37 µg/kg. El otro aldehído C<sub>6</sub>, correspondió al E-2-hexenal (ruta LOX del ácido linolénico, LnA), se encontró a bajas concentraciones con una media en las muestras de las regiones de cultivo y en las muestras Sa entre 2,57 y 6,74 µg/kg respectivamente, en las regiones de Huánuco y Ucayali no se detectó la presencia de este compuesto. Las diferencias de concentración entre las muestras de diferentes regiones de cultivo y los aceites de semilla (Sa), se deben principalmente a la mayor actividad enzimática en las muestras donde las concentraciones C<sub>6</sub> fueron mayores (Ridolfi *et al.*, 2002), una actividad similar se observa en el aceite de oliva de la variedad Manzanilla de Sevilla que presentó un alto contenido de C<sub>6</sub>, por lo tanto una alta actividad enzimática. Lo contrario ocurre en aceite de la variedad Picual (Reboredo-Rodríguez *et al.*, 2013). En el caso del aceite de Sacha inchi la concentración de hexanal es mayor que la E-2-hexenal, mientras que en aceite de oliva virgen ocurre lo contrario (Tena *et al.*, 2007; Inarejos-García *et al.*, 2010; Youssef *et al.*, 2011; Reboredo-Rodríguez *et al.*, 2013). La característica sensorial de E-2-hexenal en el aceite de oliva está asociada a almendras amargas (Morales *et al.*, 2005), mientras que hexanal, el aldehído C<sub>6</sub>, mayoritario en el aceite de Sacha inchi está asociado con descripción sensorial a verde (Morales *et al.*, 2005), cuando está presente a en bajas concentraciones y rancio cuando aparece en altas concentraciones.

En términos de serie, la concentración total de alcoholes fue mayoritaria en los aceites procedentes de las regiones de cultivo frente a los aceites Sa, siendo las muestras de las regiones de Amazonas y Madre de Dios las más abundantes en alcoholes totales, este incremento fue debido a la presencia de un mayor contenido de etanol (entre 1604 y 2184 µg/kg). Por otro lado, si se descarta el contenido de etanol se obtiene un valor medio del contenido total de alcoholes de 156,04 µg/kg, para todos los aceites. La

presencia de un alto contenido de etanol en el aceite se debe principalmente a la fermentación de azúcares (Bambalov *et al.*, 1989), como consecuencia de la contaminación microbiana de las almendras. Esta contaminación incluye microorganismos lipolíticos y proteolíticos, los mohos de la especie *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Fusarium*, etc. fueron encontrados en avellanas, almendras, nueces, pistachos y anacardos (Gelderblom *et al.*, 2014).

La concentración total de cetonas fue más alta en la región de Junín con un valor medio de 1037,30 µg/kg. Las cetonas más representativas fueron 2-heptanona, 2-propanona, 3-octanona, 2-butanona, y 2-octanona. La concentración de 2-heptanona en el conjunto de muestras comerciales fue de 200 µg/kg, mientras que las otras cetonas presentaron valores similares (49, 40, 39 y 30 µg/kg). Por otro lado, los aceites de semillas de sachá inchi (Sa), presentaron mayores valores para 2-propanona (153 µg/kg) y 2-octanona (64 µg/kg), mientras que la 2-heptanona fue muy elevada con un valor medio de 3791 µg/kg. Las menores concentraciones se encontraron en IP-105 y IP-107, mientras que IP-106 fue el que presentó mayor abundancia. Las cetonas alifáticas se forman por autooxidación de lípidos y contribuyen al flavor de los aceites (Guth y Grosch, 1990). Durante la termoxidación de los aceites de fritura, como aceite de oliva, girasol, manteca de cerdo se origina la formación de 2-heptanona, 2-butanona y 2-propanona (Ramírez *et al.*, 2004). Otras cetonas minoritarias detectadas en aceite de Sachá inchi fueron 6-metil-5-hepten-2-ona y 3,5-octadien-2-ona, estos compuestos también fueron detectados en aceite de oliva (Morales *et al.*, 1997), 2-heptanona también se ha detectado en “Chickasaw” Blackberries (*Rubus* L) (Wang *et al.*, 2005), y durante el almacenamiento post-cosecha de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener (Narain *et al.*, 2010). La 2-octanona fue detectado en aceite de oliva con defecto sensorial avinado-avinagrado (Luna *et al.*, 2006). El compuesto 2-nonanona no fue detectado en ninguna muestra de los aceites de las regiones de cultivo, sin embargo se detectó en cuatro muestras de los aceites de semilla (Sa) y su contenido osciló entre 1-5 µg/kg. En el caso de la 1-fenil etanona solo fue detectada en una muestra de la región Junín (IP-004), mientras que en las muestras de semilla (Sa), solo se detectó en dos muestras (IP-104 y IP-106). Los aldehídos totales se encontraron en mayores concentraciones en muestras de las regiones de Junín (1290 µg/kg) y San Martín (1153

$\mu\text{g}/\text{kg}$ ), mientras que en las muestras Sa se obtuvo una media de  $586 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Los aldehídos mayoritarios fueron metil-acetaldehído y heptanal, la concentración de estos compuestos en las muestras de aceite de diferentes regiones estuvo entre  $165\text{-}767 \mu\text{g}/\text{kg}$ , mientras que las muestras Sa oscilaron entre  $23\text{-}627 \mu\text{g}/\text{kg}$ . La presencia de octanal es muy característica, dado que solamente una muestra de la región Madre de Dios (IP-010), y una muestra Sa (IP-106) tuvieron este compuesto. La presencia de metil-acetaldehído en las muestras proviene de la oxidación de los ácidos grasos omega 3 (Frankel, 1993), mientras que el heptanal es originado por la descomposición del 13-hidroperóxido del ácido linoleico (Ho y Shahidi, 2005). Estos compuestos estuvieron presentes en aceites de canola, oliva y oliva virgen extra sometidos a altas temperaturas de  $180$  y  $240^\circ\text{C}$  (Fullana *et al.*, 2004), además el heptanal también fue detectado en aceite de oliva rancio (Luna *et al.*, 2006).

Cuatro hidrocarburos terpénicos fueron detectados en aceite de Sacha inchi,  $\alpha$ -pineno, sabineno, limoneno y aristoleno (en orden creciente de  $\text{RR}_i$ ) se detectaron con frecuencia en todas las muestras analizadas. Las muestras correspondientes a la región de Junín, presentaron mayor concentración, mientras que las muestras de la región de Huánuco fueron las más bajas. Las muestras de aceite de semilla (Sa), presentaron un valor mediano de hidrocarburos terpénicos de  $396 \mu\text{g}/\text{kg}$ , y la media en las muestras de diferentes regiones fue de  $425 \mu\text{g}/\text{kg}$ . El compuesto terpénico mayoritario fue el  $\alpha$ -pineno, que se encontró en un rango de  $23\text{-}451 \mu\text{g}/\text{kg}$  en las muestras de diferentes regiones, y en los aceites de semilla (Sa) con una media de  $259,98 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Otro compuesto monoterpénico es el sabineno que se encontró entre  $20\text{-}141 \mu\text{g}/\text{kg}$ , para las regiones de cultivo, mientras que en los aceites de semilla osciló entre  $4\text{-}156 \mu\text{g}/\text{kg}$ . La concentración de limoneno en las muestras de diferentes zonas de cultivo fue  $11\text{-}133 \mu\text{g}/\text{kg}$  y para las muestras Sa, esta concentración varió entre  $2\text{-}127 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Las muestras procedentes de aceites de semillas (Sa), presentaron un mayor rango de concentración que las muestras de las regiones de cultivo. Los compuestos como  $\alpha$ -pineno y limoneno, también han sido detectados en aceites de oliva procedentes de Italia, Grecia, España y Túnez (Zunin *et al.*, 2005), mientras que el sabineno fue detectado en aceite de oliva de las variedades Arbequina (Siurana, España) y Bianchera (Trieste, Italia) (Vichi *et al.*, 2006). La concentración de aristoleno en las muestras de distintas regiones varió entre

0-11 µg/kg, mientras que los aceites de semilla (Sa) presentaron una variación de 0-39 µg/kg. La mayor concentración de este compuesto fue registrada en las muestras de la región de Madre de Dios y no se detectó su presencia en muestras de las regiones de Loreto y Huánuco. En el caso de los aceites de semilla (Sa) la mayor concentración se obtuvo en la muestra IP-108. Este compuesto se ha encontrado en aceite esencial de *Salvia multicaulis* (Lamiaceae) y en *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. (Karamian *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2013). La variedad estructural de estos terpenos se debe a la presencia de la enzima terpeno sintasa (TPSs). La concentración de los terpenos se debe a la expresión de la TPSs que puede estar asociada con la maduración del fruto (Sharon-Asa *et al.*, 2003) y con la defensa contra los herbívoros donde los terpenos son liberados en respuesta al daño foliar (Pichersky y Gershenzon, 2002). Los terpenos se pensó que no están influenciados por factores tecnológicos, sin embargo la variación de la concentración es afectada por el genotipo (variedad) y por factores ambientales (zona de cultivo) (Vichi *et al.*, 2006).

La mayor concentración de furanonas totales en las muestras corresponde a la región de Loreto, con un valor medio de 55 µg/kg, mientras que la menor concentración fue para las muestras de las regiones de Huánuco y Amazonas. La concentración de furanonas para los aceites de semilla (Sa) fue de 9 µg/kg. La furanona más importante fue la dihidro-2-(3H)-furanona, el rango de concentración varió entre 1-25 µg/kg, mientras que en los aceites de semilla (Sa) osciló entre 1-4 µg/kg. La concentración de 5-metildihidro-2-(3H)-furanona se encontró alrededor de 0-28 µg/kg, siendo las muestras de la región de Loreto las de mayor concentración, mientras que en las muestras de las regiones de Amazonas y Huánuco no se detectó este compuesto. En el caso de los aceites de semilla (Sa), la concentración estuvo entre 2-6 µg/kg. Por otro lado, la furanona de menor concentración fue la 5-etildihidro-2-(3H)-furanona, que varió entre 0-6 µg/kg. En las muestras de la región Huánuco no se detectó este compuesto. Los aceites de semilla (Sa) estuvieron alrededor de 1-3 µg/kg. Las furanonas poseen una única ruta de biosíntesis se producen directamente a partir de los hidratos de carbono sin la degradación previa del esqueleto de carbono (Aharoni y Lewinsohn, 2010), y son producidas enzimáticamente (Cheetham y Quail, 1991) o mediante la acción de microorganismos (Dahlen *et al.*, 2001), a partir de azúcares de origen natural. Las



furanonas, con un agradable aroma dulce, contribuyen al sabor de muchas frutas y verduras como la fresa y tomate. Además, han sido detectadas en muchos alimentos procesados con calor, por ejemplo, en caldo de carne, almendras tostadas, café tostado, corteza de pan de trigo, o palomitas de maíz (Sanz y Pérez, 2010).

La concentración total de ácidos carboxílicos fue mayor en las muestras de la región Junín, y presentó un bajo contenido en la región Huánuco. Por otro lado, el valor medio de los ácidos carboxílicos de los aceites de semilla (Sa) fue de 322 µg/kg. La concentraciones de ácido acético y propanoico fueron las más altas en todas las muestras de las regiones de cultivo, así como en las muestras Sa, y los compuestos de menor concentración fueron butanoico, hexanoico, pentanoico y heptanoico con un valor medio de 24, 16, 5 y 5 µg/kg, respectivamente, mientras que los aceites de semilla (Sa), obtuvieron valores similares. La presencia de compuestos tales como ácidos propanoico, butanoico, pentanoico, hexanoico y heptanoico es característico de aceites con defectos sensoriales como en el caso del aceite de oliva virgen lampante con los defectos moho, atrojado y rancio, mientras que el ácido acético es característico de aceites con defectos avinado-avinagrado (Luna *et al.*, 2006). La aparición de ácidos alifáticos volátiles también es debida a la presencia ciertos compuestos que están presente en el aceite; el incremento de ácido hexanoico, es debido a la descomposición secundaria de hexanal (Bendini *et al.*, 2010).

Otros compuestos detectados a bajas concentraciones fueron los hidrocarburos, dentro de este grupo se encontraron el tolueno, etilbenceno, metil ciclooctano, estireno y pentil ciclopropano. Los hidrocarburos representativos fueron tolueno y etilbenceno, el resto se encontró en menor concentración. La presencia de tolueno también fue detectada en aceite de oliva (Carrillo-Carrión *et al.*, 2007), aceite de sésamo y aceite de semilla de *Camellia* (*Camellia oleifera* Abel, Theaceae) (Haiyan *et al.*, 2007), también se han detectado en uva (*Vitis vinifera* L.) (Bhat *et al.*, 2010), mango de las variedades Tommy Atkins y Keitt (*Mangifera indica*) (Chauhan *et al.*, 2010), fresas cultivadas (*Fragaria x ananassa* Duch.) (Pérez y Sanz, 2010), manzanas deshidratadas y frescas (Venir, 2010), y pimientos verdes (Fernández-García y Pérez-Gálvez, 2010). Los procesos degradativos de olefinas cíclicas o la fragmentación homolítica genera *m*-xileno, tolueno y 2,6-

dimetilnaftaleno como productos principales (Fernández-García y Pérez-Gálvez, 2010), mientras que etilbenceno se ha detectado también en aceite de oliva (Carrillo-Carrión *et al.*, 2007), y fresas cultivadas (*Fragaria x ananassa* Duch.) (Pérez y Sanz, 2010), y estireno fue encontrado en aceite de oliva (Carrillo-Carrión *et al.*, 2007), y aceites vírgenes tanto de colza como de semillas de uva (Navas-Hernández, 2010). Otro compuesto encontrado en concentraciones bajas fue el 2-pentilfurano que estuvo presente en concentraciones que oscilaron entre 1-6 µg/kg, mientras que en los aceites de semilla (Sa), se encontró alrededor de 1 µg/kg. Las muestras de las regiones de Junín y Madre de Dios fueron las de mayor contenido. En tanto que una sola muestra Sa (IP-109) presentó este compuesto que se genera por autooxidación del linoleato, el radical dieno conjugado a partir de la escisión de 9-hidroxi puede reaccionar con el oxígeno para producir hidroperóxido de vinilo, este último compuesto mediante ciclación produce 2-pentilfurano (Ho y Shahidi, 2005).

El propilen glicol fue detectado en algunas muestras de diferentes regiones como en Amazonas (IP-007), San Martín (IP-014, IP-019, IP-024 y IP-025) y Junín (IP-001), pero no se observó en aceites de semilla (Sa), este compuesto varió en estas muestras de 1950 a 7600 µg/kg. La presencia de este compuesto en grasas y aceites es considerada como contaminante según EFSA (2011), sin embargo el propilen glicol está actualmente autorizado como aditivo alimentario (E1520), por lo que este compuesto es toxicológicamente aceptable para el uso previsto sobre la base del Joint Expert Committee for Food Additives (JECFA), en una cantidad de 0-25 mg/kg de peso corporal por día, y es establecido (sustancia con ingesta diaria admisible, IDA) por el JECFA así como por el Scientific Committee on Food (SCF). Según la información provista por el JECFA, los estudios de toxicidad aguda en propilen glicol se han llevado a cabo en ratas, ratones y conejos, proporcionando valores de DL<sub>50</sub> superior a 19000 mg/kg de peso corporal en todas estas especies (JECFA, 2001). El butil hidroxitolueno (BTH) fue detectado en la mayoría de los aceites de Sacha inchi de diferentes regiones en concentraciones que varían entre 0,98-55,46 µg/kg; este compuesto no fue detectado en los aceites de semilla (Sa), siendo los aceites de la región de Loreto los que presentaron mayor concentración. Este compuesto también ha sido detectado en cereales como producto de la migración de BHT hacia el alimento. El producto

alimenticio no contenía BHT durante la fabricación. Sin embargo, el BHT se utilizó para recubrir el interior de la bolsa de plástico que contenía el cereal, la concentración detectada fue de 11,3 mg/kg, mientras que en productos farmacéuticos bajo este mismo sistema se han detectado alrededor de 3,5 mg/kg (Manura, 1999). Por otro lado, BHT es considerado como un antioxidante sintético y es muy utilizado en grasas y aceites, margarinas, pasteles, y gomas para evitar la autoxidación y el posterior desarrollo de la rancidez y aparición de "off-flavor" (Branen y Haggerty, 2002). De acuerdo con la FDA se definen como “las sustancias utilizadas como conservantes, con el objetivo de reducir el deterioro, el enranciamiento o decoloración de los alimentos, que derivan de las oxidaciones”. Además la presencia de los antioxidantes en los productos alimenticios puede ser intencionada (adición directa en el producto) o debido a la migración a partir de material de envasado del producto (Varzakas *et al.*, 2010). En la Tabla 39, se muestran las características de algunos antioxidantes así como sus aplicaciones.

Tabla 39. Antioxidantes en alimentos, nombre, origen, funcionalidad, ADI.

E	Nombre	Origen	Funcionalidad	ADI <sup>a</sup>
E310	Galato de propilo	Sustancia sintética	Antioxidante	0-0,5
E311	Galato de octilo	Similar a E310	Antioxidante	0-0,5
E312	Galato de dodecilo	Similar a E310	Antioxidante	0-0,5
E320	Butil hidroxianisol (BHA)	Sintético derivado de <i>p</i> -metoxinenol e isobutano	Antioxidante	0-5
E321	Butil hidroxitolueno (BHT)	Sintético derivado de cresol e isobutileno	Antioxidante	0-0,5
E325	Lactato sódico	Sal de ácido láctico	Humectante. Mantiene pH	---
E326	Lactato de potasio	Similar a E325	Humectante. Mantiene pH	0-0,5

<sup>a</sup> ADI, ingesta diaria admisible mg/kg de peso corporal.

La comparación de los aceite de Sacha inchi, se llevo a cabo a partir de 36 muestras, de los cuales 27 eran muestras correspondientes a aceites de diferentes regiones y 9 muestras de aceites de semillas (Sa). La adecuación del análisis factorial (FA) se llevó se cabo mediante las correlaciones entre las variables estudiadas. La presencia de correlaciones importantes se observa en la Tabla 40.

Tabla 40. Adecuación del análisis factorial: Correlación de Pearson entre las variables.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	21	22	23	24	25	26	27	28	29
1	1	0,00	0,97	0,97	-0,08	0,82	0,88	0,10	0,24	0,44	0,84	0,73	0,96	0,07	0,20	0,34	-0,08	0,89	0,50	0,61	0,79	0,81	0,56	0,73	0,24	0,44	-0,07	0,11
2	0,00	1	0,03	0,00	-0,15	0,00	-0,02	0,03	-0,02	0,00	0,06	-0,03	0,04	0,12	0,28	-0,07	0,01	0,07	0,00	0,12	0,00	0,00	-0,05	-0,06	0,15	0,29	0,00	-0,10
3	0,97	0,03	1	0,96	-0,04	0,78	0,86	0,05	0,17	0,45	0,74	0,71	0,98	0,00	0,15	0,26	-0,03	0,88	0,38	0,51	0,75	0,88	0,46	0,74	0,16	0,31	-0,04	0,19
4	0,97	0,00	0,96	1	-0,01	0,82	0,90	0,18	0,29	0,49	0,79	0,77	0,95	0,09	0,22	0,42	-0,01	0,93	0,43	0,58	0,82	0,84	0,56	0,75	0,16	0,42	0,01	0,18
5	-0,08	-0,15	-0,04	-0,01	1	-0,12	-0,05	0,01	-0,04	-0,09	-0,06	-0,04	-0,06	-0,04	-0,02	0,12	-0,04	0,07	-0,08	-0,13	0,03	-0,04	-0,10	-0,02	-0,19	-0,07	-0,04	0,26
6	0,82	0,00	0,78	0,82	-0,12	1	0,91	0,13	0,43	0,38	0,88	0,61	0,81	0,10	0,31	0,56	-0,11	0,85	0,45	0,54	0,74	0,60	0,70	0,61	0,29	0,44	-0,06	0,03
7	0,88	-0,02	0,86	0,90	-0,05	0,91	1	0,28	0,43	0,51	0,83	0,73	0,88	0,18	0,36	0,59	0,04	0,90	0,44	0,58	0,85	0,75	0,71	0,73	0,32	0,45	0,08	0,15
8	0,10	0,03	0,05	0,18	0,01	0,13	0,28	1	0,08	0,68	0,20	0,62	0,13	0,82	0,63	0,33	0,69	0,25	0,05	0,24	0,47	0,30	0,29	0,54	0,28	0,34	0,63	-0,14
9	0,24	-0,02	0,17	0,29	-0,04	0,43	0,43	0,08	1	0,09	0,35	0,23	0,15	-0,08	0,09	0,81	-0,04	0,31	0,50	0,38	0,54	0,13	0,77	0,08	0,25	0,65	0,23	-0,08
10	0,44	0,00	0,45	0,49	-0,09	0,38	0,51	0,68	0,09	1	0,35	0,88	0,53	0,63	0,45	0,19	0,83	0,42	0,17	0,40	0,60	0,77	0,42	0,86	0,42	0,31	0,80	-0,05
11	0,84	0,06	0,74	0,79	-0,06	0,88	0,83	0,20	0,35	0,35	1	0,63	0,77	0,17	0,32	0,52	-0,14	0,81	0,52	0,57	0,69	0,54	0,66	0,62	0,33	0,57	-0,11	-0,09
12	0,73	-0,03	0,71	0,77	-0,04	0,61	0,73	0,62	0,23	0,88	0,63	1	0,77	0,52	0,41	0,38	0,56	0,71	0,29	0,49	0,80	0,88	0,54	0,96	0,30	0,44	0,56	0,03
13	0,96	0,04	0,98	0,95	-0,06	0,81	0,88	0,13	0,15	0,53	0,77	0,77	1	0,11	0,25	0,27	0,05	0,90	0,38	0,54	0,76	0,88	0,49	0,80	0,23	0,31	0,02	0,16
14	0,07	0,12	0,00	0,09	-0,04	0,10	0,18	0,82	-0,08	0,63	0,17	0,52	0,11	1	0,82	0,15	0,61	0,24	-0,05	0,21	0,35	0,20	0,16	0,47	0,24	0,16	0,54	-0,10
15	0,20	0,28	0,15	0,22	-0,02	0,31	0,36	0,63	0,09	0,45	0,32	0,41	0,25	0,82	1	0,32	0,33	0,46	0,04	0,25	0,45	0,18	0,26	0,35	0,17	0,19	0,30	-0,08
16	0,34	-0,07	0,26	0,42	0,12	0,56	0,59	0,33	0,81	0,19	0,52	0,38	0,27	0,15	0,32	1	0,01	0,51	0,40	0,41	0,62	0,20	0,74	0,27	0,19	0,55	0,20	-0,11
17	-0,08	0,01	-0,03	-0,01	-0,04	-0,11	0,04	0,69	-0,04	0,83	-0,14	0,56	0,05	0,61	0,33	0,01	1	-0,06	-0,14	0,05	0,20	0,43	0,08	0,55	0,31	0,08	0,96	-0,10
18	0,89	0,07	0,88	0,93	0,07	0,85	0,90	0,25	0,31	0,42	0,81	0,71	0,90	0,24	0,46	0,51	-0,06	1	0,40	0,56	0,83	0,70	0,55	0,69	0,14	0,39	-0,04	0,11
19	0,50	0,00	0,38	0,43	-0,08	0,45	0,44	0,05	0,50	0,17	0,52	0,29	0,38	-0,05	0,04	0,40	-0,14	0,40	1	0,69	0,51	0,26	0,65	0,21	0,42	0,70	-0,02	-0,20
21	0,61	0,12	0,51	0,58	-0,13	0,54	0,58	0,24	0,38	0,40	0,57	0,49	0,54	0,21	0,25	0,41	0,05	0,56	0,69	1	0,65	0,46	0,70	0,40	0,61	0,73	0,12	-0,09
22	0,79	0,00	0,75	0,82	0,03	0,74	0,85	0,47	0,54	0,60	0,69	0,80	0,76	0,35	0,45	0,62	0,20	0,83	0,51	0,65	1	0,73	0,79	0,73	0,38	0,62	0,28	0,03
23	0,81	0,00	0,88	0,84	-0,04	0,60	0,75	0,30	0,13	0,77	0,54	0,88	0,88	0,20	0,18	0,20	0,43	0,70	0,26	0,46	0,73	1	0,42	0,90	0,26	0,28	0,41	0,15
24	0,56	-0,05	0,46	0,56	-0,10	0,70	0,71	0,29	0,77	0,42	0,66	0,54	0,49	0,16	0,26	0,74	0,08	0,55	0,65	0,70	0,79	0,42	1	0,46	0,58	0,72	0,25	-0,13
25	0,73	-0,06	0,74	0,75	-0,02	0,61	0,73	0,54	0,08	0,86	0,62	0,96	0,80	0,47	0,35	0,27	0,55	0,69	0,21	0,40	0,73	0,90	0,46	1	0,33	0,29	0,50	0,05
26	0,24	0,15	0,16	0,16	-0,19	0,29	0,32	0,28	0,25	0,42	0,33	0,30	0,23	0,24	0,17	0,19	0,31	0,14	0,42	0,61	0,38	0,26	0,58	0,33	1	0,57	0,35	-0,21
27	0,44	0,29	0,31	0,42	-0,07	0,44	0,45	0,34	0,65	0,31	0,57	0,44	0,31	0,16	0,19	0,55	0,08	0,39	0,70	0,73	0,62	0,28	0,72	0,29	0,57	1	0,23	-0,24
28	-0,07	0,00	-0,04	0,01	-0,04	-0,06	0,08	0,63	0,23	0,80	-0,11	0,56	0,02	0,54	0,30	0,20	0,96	-0,04	-0,02	0,12	0,28	0,41	0,25	0,50	0,35	0,23	1	-0,12
29	0,11	-0,10	0,19	0,18	0,26	0,03	0,15	-0,14	-0,08	-0,05	-0,09	0,03	0,16	-0,10	-0,08	-0,11	-0,10	0,11	-0,20	-0,09	0,03	0,15	-0,13	0,05	-0,21	-0,24	-0,12	1
30	0,16	0,50	0,12	0,17	-0,22	0,16	0,16	0,29	0,29	0,36	0,24	0,32	0,11	0,15	0,08	0,15	0,29	0,08	0,32	0,51	0,30	0,24	0,34	0,21	0,55	0,74	0,36	-0,17

Tabla 40. (Continuación)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	21	22	23	24	25	26	27	28	29
31	0,61	0,16	0,54	0,59	-0,01	0,65	0,72	0,39	0,44	0,46	0,71	0,65	0,60	0,35	0,47	0,63	0,13	0,64	0,43	0,54	0,72	0,50	0,73	0,62	0,38	0,54	0,21	-0,02
32	0,54	0,15	0,40	0,51	-0,16	0,54	0,57	0,44	0,63	0,45	0,67	0,59	0,42	0,30	0,28	0,58	0,17	0,47	0,68	0,76	0,69	0,40	0,80	0,46	0,61	0,94	0,30	-0,25
33	0,52	0,06	0,41	0,50	-0,15	0,54	0,56	0,22	0,69	0,35	0,55	0,44	0,41	0,09	0,14	0,56	0,03	0,45	0,79	0,69	0,71	0,36	0,86	0,35	0,65	0,80	0,19	-0,16
34	0,64	0,08	0,49	0,57	-0,14	0,66	0,65	0,25	0,57	0,31	0,80	0,53	0,51	0,13	0,16	0,57	-0,05	0,53	0,73	0,69	0,68	0,38	0,83	0,46	0,57	0,84	0,06	-0,21
35	-0,10	0,45	-0,07	-0,05	-0,11	-0,18	-0,09	0,41	-0,10	0,56	-0,11	0,34	-0,01	0,36	0,14	-0,12	0,69	-0,14	-0,01	0,23	0,04	0,27	0,06	0,31	0,37	0,24	0,66	-0,15
36	0,69	-0,03	0,57	0,64	-0,09	0,80	0,79	0,34	0,53	0,39	0,86	0,61	0,60	0,25	0,30	0,66	-0,02	0,66	0,54	0,57	0,78	0,45	0,84	0,58	0,46	0,63	0,07	-0,09
37	0,73	0,04	0,65	0,72	-0,01	0,70	0,76	0,60	0,32	0,75	0,76	0,86	0,73	0,48	0,45	0,47	0,37	0,71	0,50	0,66	0,83	0,71	0,74	0,83	0,54	0,63	0,37	-0,12
38	0,70	0,07	0,57	0,69	-0,10	0,64	0,71	0,60	0,33	0,63	0,71	0,74	0,63	0,56	0,54	0,45	0,24	0,70	0,62	0,80	0,83	0,57	0,71	0,66	0,58	0,73	0,26	-0,10
39	0,12	0,31	-0,01	0,09	-0,06	0,05	0,06	0,22	0,37	0,17	0,22	0,17	-0,01	0,13	0,04	0,22	0,12	0,03	0,56	0,67	0,24	0,04	0,39	0,01	0,53	0,85	0,22	-0,25
43	0,74	-0,04	0,69	0,74	-0,02	0,78	0,83	0,26	0,15	0,35	0,78	0,58	0,72	0,21	0,39	0,48	-0,08	0,76	0,22	0,35	0,61	0,54	0,49	0,64	0,24	0,24	-0,09	0,12
44	0,18	-0,01	0,04	0,21	-0,02	0,23	0,26	0,65	-0,03	0,24	0,34	0,32	0,10	0,70	0,65	0,26	0,05	0,36	0,10	0,24	0,38	-0,02	0,22	0,25	0,07	0,25	-0,01	-0,05
45	0,31	-0,04	0,25	0,29	-0,07	0,34	0,39	0,53	-0,02	0,58	0,45	0,62	0,34	0,51	0,39	0,24	0,44	0,30	0,06	0,13	0,36	0,39	0,34	0,66	0,22	0,16	0,39	-0,12
47	0,91	0,05	0,83	0,89	-0,07	0,86	0,90	0,35	0,31	0,50	0,89	0,75	0,86	0,32	0,44	0,47	-0,02	0,91	0,49	0,65	0,87	0,68	0,70	0,74	0,39	0,55	-0,01	0,04
48	0,46	-0,09	0,43	0,48	-0,06	0,44	0,53	0,62	-0,03	0,73	0,48	0,76	0,52	0,50	0,37	0,23	0,47	0,45	0,16	0,29	0,51	0,57	0,41	0,79	0,33	0,21	0,40	-0,03
49	0,44	0,27	0,43	0,45	-0,16	0,52	0,51	0,19	0,57	0,39	0,46	0,48	0,42	0,01	0,07	0,42	0,15	0,40	0,35	0,50	0,58	0,46	0,60	0,39	0,39	0,64	0,28	-0,09
50	-0,17	-0,18	-0,10	-0,10	0,37	-0,20	-0,11	-0,15	-0,10	-0,16	-0,31	-0,15	-0,14	-0,11	-0,16	-0,17	-0,08	-0,17	-0,28	-0,26	-0,17	-0,09	-0,23	-0,15	-0,28	-0,30	-0,08	0,89
51	-0,01	0,03	0,01	0,05	0,03	0,01	0,17	0,07	-0,05	-0,03	0,05	-0,04	-0,02	-0,04	-0,03	0,28	-0,01	0,03	-0,09	0,04	-0,03	0,01	-0,04	-0,02	-0,06	-0,08	-0,02	0,01
52	0,05	0,01	0,05	0,11	0,05	0,09	0,25	0,10	0,05	-0,02	0,14	0,02	0,03	-0,02	0,02	0,40	-0,03	0,11	-0,05	0,06	0,05	0,03	0,05	0,02	-0,07	-0,03	-0,02	0,02
53	0,51	0,40	0,41	0,50	-0,09	0,61	0,57	0,26	0,52	0,26	0,69	0,44	0,44	0,11	0,20	0,52	-0,06	0,52	0,58	0,56	0,58	0,30	0,70	0,37	0,45	0,76	0,04	-0,15
54	0,14	-0,03	0,01	0,18	-0,04	0,16	0,23	0,79	-0,05	0,48	0,26	0,45	0,10	0,82	0,69	0,22	0,35	0,30	0,10	0,33	0,40	0,10	0,25	0,37	0,20	0,28	0,28	-0,09
55	0,67	0,01	0,58	0,66	0,05	0,64	0,70	0,42	0,38	0,41	0,75	0,69	0,61	0,30	0,33	0,57	0,05	0,66	0,37	0,48	0,71	0,51	0,65	0,66	0,31	0,55	0,11	0,11
56	0,09	0,34	0,09	0,09	-0,17	0,18	0,12	0,21	0,18	0,25	0,19	0,19	0,09	0,07	0,07	0,05	0,17	0,07	0,11	0,26	0,18	0,15	0,18	0,13	0,33	0,43	0,20	-0,19
57	0,75	0,01	0,65	0,76	0,06	0,80	0,87	0,46	0,42	0,51	0,83	0,71	0,69	0,42	0,52	0,65	0,06	0,79	0,45	0,64	0,83	0,56	0,78	0,66	0,40	0,57	0,11	0,10
58	0,58	0,01	0,51	0,61	0,08	0,51	0,60	0,37	0,10	0,54	0,57	0,62	0,52	0,38	0,31	0,28	0,16	0,52	0,25	0,51	0,54	0,51	0,47	0,58	0,25	0,39	0,15	0,28
60	0,63	0,01	0,56	0,62	-0,11	0,67	0,65	0,17	0,41	0,31	0,63	0,51	0,53	0,25	0,24	0,45	-0,06	0,60	0,30	0,39	0,59	0,45	0,55	0,47	0,15	0,39	0,03	0,19

Tabla 40. (Continuación)

	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	43	44	45	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	60
1	0,16	0,61	0,54	0,52	0,64	-0,10	0,69	0,73	0,70	0,12	0,74	0,18	0,31	0,91	0,46	0,44	-0,17	-0,01	0,05	0,51	0,14	0,67	0,09	0,75	0,58	0,63
2	0,50	0,16	0,15	0,06	0,08	0,45	-0,03	0,04	0,07	0,31	-0,04	-0,01	-0,04	0,05	-0,09	0,27	-0,18	0,03	0,01	0,40	-0,03	0,01	0,34	0,01	0,01	0,01
3	0,12	0,54	0,40	0,41	0,49	-0,07	0,57	0,65	0,57	-0,01	0,69	0,04	0,25	0,83	0,43	0,43	-0,10	0,01	0,05	0,41	0,01	0,58	0,09	0,65	0,51	0,56
4	0,17	0,59	0,51	0,50	0,57	-0,05	0,64	0,72	0,69	0,09	0,74	0,21	0,29	0,89	0,48	0,45	-0,10	0,05	0,11	0,50	0,18	0,66	0,09	0,76	0,61	0,62
5	-0,22	-0,01	-0,16	-0,15	-0,14	-0,11	-0,09	-0,01	-0,10	-0,06	-0,02	-0,02	-0,07	-0,07	-0,06	-0,16	0,37	0,03	0,05	-0,09	-0,04	0,05	-0,17	0,06	0,08	-0,11
6	0,16	0,65	0,54	0,54	0,66	-0,18	0,80	0,70	0,64	0,05	0,78	0,23	0,34	0,86	0,44	0,52	-0,20	0,01	0,09	0,61	0,16	0,64	0,18	0,80	0,51	0,67
7	0,16	0,72	0,57	0,56	0,65	-0,09	0,79	0,76	0,71	0,06	0,83	0,26	0,39	0,90	0,53	0,51	-0,11	0,17	0,25	0,57	0,23	0,70	0,12	0,87	0,60	0,65
8	0,29	0,39	0,44	0,22	0,25	0,41	0,34	0,60	0,60	0,22	0,26	0,65	0,53	0,35	0,62	0,19	-0,15	0,07	0,10	0,26	0,79	0,42	0,21	0,46	0,37	0,17
9	0,29	0,44	0,63	0,69	0,57	-0,10	0,53	0,32	0,33	0,37	0,15	-0,03	-0,02	0,31	-0,03	0,57	-0,10	-0,05	0,05	0,52	-0,05	0,38	0,18	0,42	0,10	0,41
10	0,36	0,46	0,45	0,35	0,31	0,56	0,39	0,75	0,63	0,17	0,35	0,24	0,58	0,50	0,73	0,39	-0,16	-0,03	-0,02	0,26	0,48	0,41	0,25	0,51	0,54	0,31
11	0,24	0,71	0,67	0,55	0,80	-0,11	0,86	0,76	0,71	0,22	0,78	0,34	0,45	0,89	0,48	0,46	-0,31	0,05	0,14	0,69	0,26	0,75	0,19	0,83	0,57	0,63
12	0,32	0,65	0,59	0,44	0,53	0,34	0,61	0,86	0,74	0,17	0,58	0,32	0,62	0,75	0,76	0,48	-0,15	-0,04	0,02	0,44	0,45	0,69	0,19	0,71	0,62	0,51
13	0,11	0,60	0,42	0,41	0,51	-0,01	0,60	0,73	0,63	-0,01	0,72	0,10	0,34	0,86	0,52	0,42	-0,14	-0,02	0,03	0,44	0,10	0,61	0,09	0,69	0,52	0,53
14	0,15	0,35	0,30	0,09	0,13	0,36	0,25	0,48	0,56	0,13	0,21	0,70	0,51	0,32	0,50	0,01	-0,11	-0,04	-0,02	0,11	0,82	0,30	0,07	0,42	0,38	0,25
15	0,08	0,47	0,28	0,14	0,16	0,14	0,30	0,45	0,54	0,04	0,39	0,65	0,39	0,44	0,37	0,07	-0,16	-0,03	0,02	0,20	0,69	0,33	0,07	0,52	0,31	0,24
16	0,15	0,63	0,58	0,56	0,57	-0,12	0,66	0,47	0,45	0,22	0,48	0,26	0,24	0,47	0,23	0,42	-0,17	0,28	0,40	0,52	0,22	0,57	0,05	0,65	0,28	0,45
17	0,29	0,13	0,17	0,03	-0,05	0,69	-0,02	0,37	0,24	0,12	-0,08	0,05	0,44	-0,02	0,47	0,15	-0,08	-0,01	-0,03	-0,06	0,35	0,05	0,17	0,06	0,16	-0,06
18	0,08	0,64	0,47	0,45	0,53	-0,14	0,66	0,71	0,70	0,03	0,76	0,36	0,30	0,91	0,45	0,40	-0,17	0,03	0,11	0,52	0,30	0,66	0,07	0,79	0,52	0,60
19	0,32	0,43	0,68	0,79	0,73	-0,01	0,54	0,50	0,62	0,56	0,22	0,10	0,06	0,49	0,16	0,35	-0,28	-0,09	-0,05	0,58	0,10	0,37	0,11	0,45	0,25	0,30
21	0,51	0,54	0,76	0,69	0,69	0,23	0,57	0,66	0,80	0,67	0,35	0,24	0,13	0,65	0,29	0,50	-0,26	0,04	0,06	0,56	0,33	0,48	0,26	0,64	0,51	0,39
22	0,30	0,72	0,69	0,71	0,68	0,04	0,78	0,83	0,83	0,24	0,61	0,38	0,36	0,87	0,51	0,58	-0,17	-0,03	0,05	0,58	0,40	0,71	0,18	0,83	0,54	0,59
23	0,24	0,50	0,40	0,36	0,38	0,27	0,45	0,71	0,57	0,04	0,54	-0,02	0,39	0,68	0,57	0,46	-0,09	0,01	0,03	0,30	0,10	0,51	0,15	0,56	0,51	0,45
24	0,34	0,73	0,80	0,86	0,83	0,06	0,84	0,74	0,71	0,39	0,49	0,22	0,34	0,70	0,41	0,60	-0,23	-0,04	0,05	0,70	0,25	0,65	0,18	0,78	0,47	0,55
25	0,21	0,62	0,46	0,35	0,46	0,31	0,58	0,83	0,66	0,01	0,64	0,25	0,66	0,74	0,79	0,39	-0,15	-0,02	0,02	0,37	0,37	0,66	0,13	0,66	0,58	0,47
26	0,55	0,38	0,61	0,65	0,57	0,37	0,46	0,54	0,58	0,53	0,24	0,07	0,22	0,39	0,33	0,39	-0,28	-0,06	-0,07	0,45	0,20	0,31	0,33	0,40	0,25	0,15
27	0,74	0,54	0,94	0,80	0,84	0,24	0,63	0,63	0,73	0,85	0,24	0,25	0,16	0,55	0,21	0,64	-0,30	-0,08	-0,03	0,76	0,28	0,55	0,43	0,57	0,39	0,39
28	0,36	0,21	0,30	0,19	0,06	0,66	0,07	0,37	0,26	0,22	-0,09	-0,01	0,39	-0,01	0,40	0,28	-0,08	-0,02	-0,02	0,04	0,28	0,11	0,20	0,11	0,15	0,03
29	-0,17	-0,02	-0,25	-0,16	-0,21	-0,15	-0,09	-0,12	-0,10	-0,25	0,12	-0,05	-0,12	0,04	-0,03	-0,09	0,89	0,01	0,02	-0,15	-0,09	0,11	-0,19	0,10	0,28	0,19
30	1	0,26	0,64	0,49	0,47	0,55	0,29	0,38	0,45	0,76	0,02	0,09	0,08	0,24	0,15	0,60	-0,22	-0,06	-0,07	0,50	0,19	0,27	0,64	0,23	0,26	0,19

Tabla 40. (Continuación)

	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	43	44	45	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	60
31	0,26	1	0,68	0,49	0,76	0,05	0,78	0,81	0,63	0,19	0,71	0,31	0,73	0,73	0,68	0,49	-0,14	0,00	0,12	0,68	0,31	0,88	0,14	0,83	0,58	0,53
32	0,64	0,68	1	0,79	0,92	0,24	0,74	0,76	0,81	0,75	0,38	0,32	0,36	0,66	0,41	0,66	-0,32	-0,09	-0,02	0,79	0,37	0,67	0,43	0,69	0,51	0,49
33	0,49	0,49	0,79	1	0,78	0,10	0,71	0,62	0,73	0,55	0,34	0,20	0,08	0,62	0,25	0,56	-0,27	-0,07	-0,01	0,68	0,21	0,50	0,25	0,61	0,37	0,47
34	0,47	0,76	0,92	0,78	1	0,05	0,85	0,76	0,75	0,56	0,55	0,28	0,46	0,74	0,45	0,58	-0,31	-0,09	0,00	0,84	0,25	0,77	0,28	0,75	0,52	0,55
35	0,55	0,05	0,24	0,10	0,05	1	-0,13	0,21	0,20	0,39	-0,17	-0,03	0,23	-0,07	0,27	0,20	-0,12	-0,02	-0,07	0,20	0,25	-0,03	0,28	-0,01	0,20	-0,09
36	0,29	0,78	0,74	0,71	0,85	-0,13	1	0,79	0,73	0,24	0,69	0,39	0,48	0,84	0,50	0,54	-0,24	0,11	0,20	0,70	0,33	0,77	0,19	0,85	0,51	0,63
37	0,38	0,81	0,76	0,62	0,76	0,21	0,79	1	0,86	0,33	0,64	0,40	0,65	0,85	0,78	0,51	-0,27	-0,10	-0,03	0,65	0,47	0,79	0,24	0,84	0,66	0,52
38	0,45	0,63	0,81	0,73	0,75	0,20	0,73	0,86	1	0,51	0,57	0,61	0,38	0,86	0,56	0,46	-0,26	-0,05	0,00	0,62	0,66	0,65	0,27	0,82	0,62	0,51
39	0,76	0,19	0,75	0,55	0,56	0,39	0,24	0,33	0,51	1	-0,14	0,13	-0,06	0,18	-0,05	0,38	-0,24	-0,08	-0,08	0,47	0,21	0,20	0,37	0,22	0,23	0,12
43	0,02	0,71	0,38	0,34	0,55	-0,17	0,69	0,64	0,57	-0,14	1	0,41	0,56	0,82	0,64	0,24	-0,08	0,14	0,23	0,48	0,32	0,77	0,02	0,83	0,64	0,59
44	0,09	0,31	0,32	0,20	0,28	-0,03	0,39	0,40	0,61	0,13	0,41	1	0,36	0,49	0,42	-0,02	-0,07	0,01	0,05	0,26	0,94	0,43	0,06	0,55	0,43	0,27
45	0,08	0,73	0,36	0,08	0,46	0,23	0,48	0,65	0,38	-0,06	0,56	0,36	1	0,44	0,84	0,15	-0,16	-0,05	0,04	0,37	0,44	0,70	0,02	0,54	0,51	0,32
47	0,24	0,73	0,66	0,62	0,74	-0,07	0,84	0,85	0,86	0,18	0,82	0,49	0,44	1	0,60	0,49	-0,21	-0,04	0,03	0,66	0,44	0,78	0,19	0,90	0,64	0,64
48	0,15	0,68	0,41	0,25	0,45	0,27	0,50	0,78	0,56	-0,05	0,64	0,42	0,84	0,60	1	0,30	-0,09	-0,07	-0,02	0,43	0,52	0,72	0,20	0,64	0,64	0,32
49	0,60	0,49	0,66	0,56	0,58	0,20	0,54	0,51	0,46	0,38	0,24	-0,02	0,15	0,49	0,30	1	-0,21	-0,04	-0,01	0,70	0,02	0,45	0,81	0,43	0,29	0,35
50	-0,22	-0,14	-0,32	-0,27	-0,31	-0,12	-0,24	-0,27	-0,26	-0,24	-0,08	-0,07	-0,16	-0,21	-0,09	-0,21	1	-0,09	-0,09	-0,27	-0,09	-0,01	-0,23	-0,05	0,18	0,04
51	-0,06	0,00	-0,09	-0,07	-0,09	-0,02	0,11	-0,10	-0,05	-0,08	0,14	0,01	-0,05	-0,04	-0,07	-0,04	-0,09	1	0,99	-0,09	0,00	-0,11	-0,04	0,06	0,02	-0,05
52	-0,07	0,12	-0,02	-0,01	0,00	-0,07	0,20	-0,03	0,00	-0,08	0,23	0,05	0,04	0,03	-0,02	-0,01	-0,09	0,99	1	-0,02	0,02	0,01	-0,07	0,16	0,07	0,04
53	0,50	0,68	0,79	0,68	0,84	0,20	0,70	0,65	0,62	0,47	0,48	0,26	0,37	0,66	0,43	0,70	-0,27	-0,09	-0,02	1	0,22	0,68	0,49	0,66	0,49	0,51
54	0,19	0,31	0,37	0,21	0,25	0,25	0,33	0,47	0,66	0,21	0,32	0,94	0,44	0,44	0,52	0,02	-0,09	0,00	0,02	0,22	1	0,39	0,10	0,52	0,48	0,21
55	0,27	0,88	0,67	0,50	0,77	-0,03	0,77	0,79	0,65	0,20	0,77	0,43	0,70	0,78	0,72	0,45	-0,01	-0,11	0,01	0,68	0,39	1	0,15	0,85	0,69	0,64
56	0,64	0,14	0,43	0,25	0,28	0,28	0,19	0,24	0,27	0,37	0,02	0,06	0,02	0,19	0,20	0,81	-0,23	-0,04	-0,07	0,49	0,10	0,15	1	0,11	0,15	0,07
57	0,23	0,83	0,69	0,61	0,75	-0,01	0,85	0,84	0,82	0,22	0,83	0,55	0,54	0,90	0,64	0,43	-0,05	0,06	0,16	0,66	0,52	0,85	0,11	1	0,79	0,72
58	0,26	0,58	0,51	0,37	0,52	0,20	0,51	0,66	0,62	0,23	0,64	0,43	0,51	0,64	0,64	0,29	0,18	0,02	0,07	0,49	0,48	0,69	0,15	0,79	1	0,71
60	0,19	0,53	0,49	0,47	0,55	-0,09	0,63	0,52	0,51	0,12	0,59	0,27	0,32	0,64	0,32	0,35	0,04	-0,05	0,04	0,51	0,21	0,64	0,07	0,72	0,71	1

Valores  $\geq 0,34$ , indican importancia estadística a un nivel de confianza de 95%. El rango de estos coeficientes de correlación va de -1 a +1 y miden la fuerza de relación lineal entre las variables. Los códigos de las variables (compuestos volátiles) están descritos en la [Tabla 37](#).

Las variables 2-propanona, etanol, 2-heptanona, E-2-heptenal, 2-nonanona, 2-nonanol, 5-metildihidro-2-(3H)-furanona, dihidro-2-(3H)-furanona y 2,6-dimetil benzaldehído, mostraron valores de correlación inferiores entre variables, siendo la variable etanol la que no presentó ninguna correlación significativa ( $p < 0,05$ ) con otra variable. El análisis de componentes principales requiere que la medida de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) de adecuación de muestreo (MSA) sea superior a 0,50 para cada variable individual, así como para el conjunto de variables. Cuando los valores de KMO son menores a 0,50 es desaconsejable el análisis factorial (Aparicio, 2003). En este caso las variables que tuvieron un valor MSA inferior a  $< 0,70$  fueron eliminadas del análisis (Tabla 41).

Tabla 41. Variables adecuadas (Comunalidades).

Nº	Variable	Extracción > 0,70	Nº	Variable	Extracción > 0,70
1	metil acetaldehído	0,952	23	metil ciclooctano	0,832
2	2-propanona	0,842	25	estireno	0,731
3	acetato de etilo	0,981	27	2-octanona	0,839
4	2-butanona	0,960	28	octanal	0,963
6	3-pentanona	0,824	29	E-2-heptenal	0,762
7	pentanal	0,892	32	1-hexanol	0,763
9	tolueno	0,858	33	E-3-hexen-1-ol	0,756
10	hexanal	0,829	34	1-hepten-3-ol	0,701
11	sabineno	0,752	39	2-nonanol	0,881
13	etilbenceno	0,976	43	ácido acético	0,725
14	E-2-pentenal	0,812	44	2-etilhexanol	0,906
15	1-butanol	0,858	45	3,5-octadien-2-ona	0,855
16	1-pentel-3-ol	0,761	46	benzaldehído	0,833
17	2-heptanona	0,975	47	ácido propiónico	0,848
18	heptanal	0,913	51	5-metildihidro-2-(3H)-furanona	0,952
19	limoneno	0,796	52	dihidro-2-(3H)-furanona	0,955
21	E-2-hexenal	0,731	54	1-feniletanona	0,893
22	2-pentilfurano	0,748	56	2,6-dimethyl benzaldehído	0,757

Siguiendo este procedimiento 36 compuestos volátiles fueron seleccionados para el análisis de componentes principales (PCA) y utilizando las muestras de aceites de Sacha inchi de diferentes regiones y los aceites de semilla (Sa). Los primeros tres componentes principales fueron suficientes para explicar el 66,45% de la varianza total.



El primer componente principal (PC1) el 42,05% de la varianza total, la segunda componente principal (PC2) el 12,48% de la varianza total y el tercer componente principal (PC3), el 11,92% de la varianza total. Las muestras fueron separadas a lo largo de la primera componente por diferencias encontradas en los volátiles 1, 3, 4, 6, 7, 9-11, 13, 16, 18, 19, 21-23, 25, 27, 32-34, 43, 46 y 47, todos estos compuestos presentan factores de carga negativos. El segundo PC, separa las muestras sobre la base de los volátiles 14, 17 y 28, mientras que el tercer PC (11,92% de la varianza total), por diferencias encontradas en el contenido de 2-nonanol (Figura 56A), los volátiles responsables del PC2 y PC3 presentaron factores de carga positivos. Por otro lado, la mayoría de las muestras se situaron en el centro (Figura 56B), a excepción de cuatro muestras procedentes de tres regiones distintas (San Martín, Madre de Dios y Junín) y una muestra correspondiente a aceites de semilla. Además, se observa que los compuestos volátiles como (2) 2-propanona, (29) E-2-heptenal, (39) 2-nonanol, (51) 5-metildihidro-2-(3H)-furanona, (52) dihidro-2-(3H)-furanona y (56) 2,6-dimetil benzaldehído, se encuentran en el centro de la Figura 56A (PC1-PC2), por lo que es posible asociarlos con bajas concentraciones porque presentaron una menor magnitud con respecto al resto de compuestos volátiles, especialmente 29, 39, 51, 52 y 56. Los diferentes grupos formados indican una gran variación en los perfiles en los compuestos volátiles del aceite de Sacha inchi de las diferentes regiones de cultivo, en este sentido las muestras de las regiones de San Martín, Huánuco y Loreto son los que mejor se agrupan, los aceites de semilla (Sa), también presentan un buen agrupamiento y se caracterizan por presentar un mayor contenido de 2-propanona, hexanal y 2-heptanona (especialmente en IP-105), E-2-hexenal, 2-nonanol, y 2,6-dimetil benzaldehído. La variabilidad en el contenido de compuestos volátiles posiblemente se debe a la época de cosecha, tiempo y condiciones de almacenamiento de las semillas, diferentes condiciones climáticas (Cajka *et al.*, 2010), variabilidad de los ecotipos (Bussmann *et al.*, 2009; Rodríguez *et al.*, 2010) y condiciones de almacenamiento del aceite (Bendini *et al.*, 2010). Por otro lado, existe la posibilidad de que la adición de algunos aditivos como propileno glicol o butil hidroxitolueno sea responsable de la aparición de algunos compuestos volátiles como en el caso de BHT. Es conocida su actividad en vinos por incrementar la concentración de volátiles especialmente en alcoholes, terpenoides y norisoprenoides (Gómez-Plaza *et al.*, 2012).

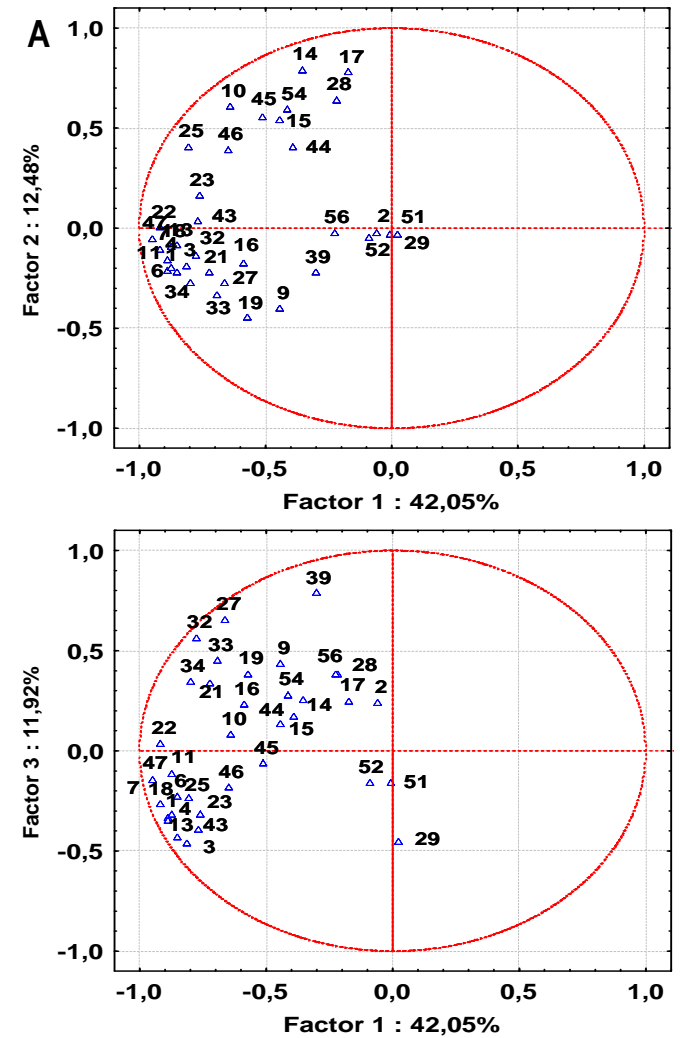
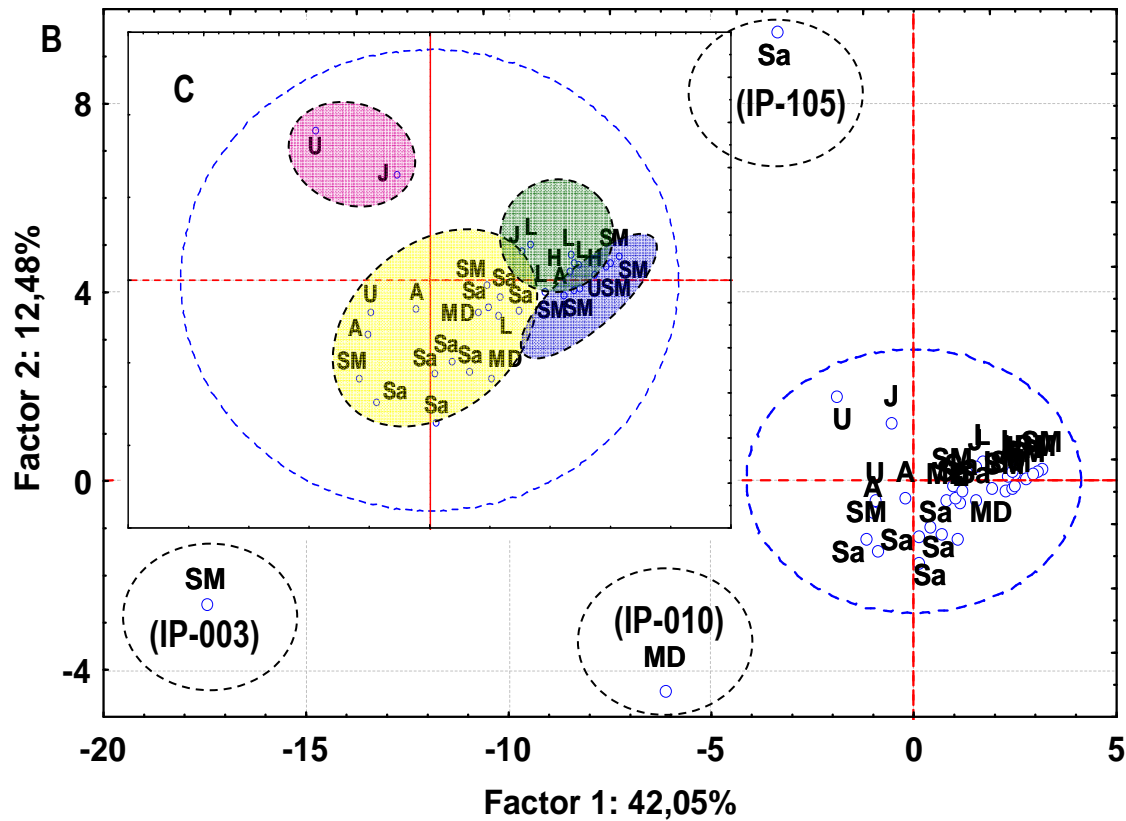


Figura 56. Análisis de componentes principales de todas las muestras: (A) Proyección de las variables sobre el plano PC1-PC2 y PC1-PC3 (el código de cada variable se muestra en la [Tabla 41](#)). (B) La distribución de las muestras sobre el plano PC1-PC2 y (C) expansión de la distribución. Las letras correspondientes a la muestras son: A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín; U=Ucayali y Sa=aceites de semilla.



Otro grupo importante ubicado sobre el Factor 1 esta formado por TAls, C<sub>6</sub>Als, TAds, C<sub>5</sub>Vs y TCs y presentan altos factores (>0,70) y con buenas correlaciones (entre  $r=0,62-0,77$ ); también se observa la presencia de otro puente entre TTs y TAls con una correlación  $r=0,86$ .

Se aplicó análisis discriminante lineal por pasos (SLDA) para examinar las diferencias entre los aceites de Sacha inchi de acuerdo a las regiones de cultivo (Loreto, Ucayali, San Martín, Huánuco, Ucayali, Junín, Madre de Dios) y los aceites de semilla (sa), en función de los 36 compuestos volátiles (variables de predicción). El SLDA ha sido ampliamente utilizado para determinar el origen y la autenticidad de los alimentos (Luna *et al.*, 2006; Tena *et al.*, 2007; Cajka *et al.*, 2010), y permitir la identificación de las variables más útiles para predecir la pertenencia a los grupos.

La aplicación del SLDA implica una reducción substancial de la dimensionalidad de los datos, para ello se aplicaron valores de  $F$ -to-enter=1,7;  $F$ -to-remove=1,3, y se filtraron los compuestos volátiles irrelevantes, la aplicación del procedimiento paso a paso permitió la retención de 14 variables. Los resultados obtenidos después de la realización del SLDA en el conjunto de datos reducido mostraron la discriminación inequívoca entre los aceites de Sacha inchi. La capacidad de discriminación del modelo SLDA desarrollado fue evaluada mediante validación cruzada (Tabla 42).

Se alcanzó diferenciación satisfactoria según la categoría (L, A, SM, H, U, J, MD, Sa) de los aceites de Sacha inchi con una capacidad de reconocimiento del 100% para las muestras de Amazonas, Huánuco, Junín, Madre de Dios y aceites de semilla (Sa), mientras que las regiones de Ucayali, Loreto y San Martín presentaron valores de 66,67, 80,0 y 87,50% respectivamente y la capacidad de predicción fue del 91,67%. En la Tabla 43, están resumidos los marcadores volátiles seleccionados por SLDA, la diferenciación entre los grupos es significativa ya que el valor de  $\lambda$  de Wilks fue muy bajo (0,00002 aproximadamente),  $F_{(98,103)}=5,070$  y muestra que el modelo es altamente discriminatorio, mientras que el  $p$ -valor es bajo (<0,0000), que indica que la clasificación se produce con un alto grado de fiabilidad.

Tabla 42. Parámetros de clasificación y porcentaje de clasificación correcta de las muestras correspondientes al modelo SLDA, desarrollado en la matriz de puntuación PCA.

Función	Eigenvalue	Varianza, %	Acumulativo, %	Correlación canónica
1	61,72 <sup>a</sup>	73,83	73,83	0,992
2	13,35 <sup>a</sup>	15,96	89,79	0,965
3	4,42 <sup>a</sup>	5,29	95,08	0,903
	Wilks $\lambda$	X <sup>2</sup> cuadrado	df	Significancia
1	0,0000	266,48	98	0,000
2	0,0001	167,16	78	0,000
3	0,0135	103,24	60	0,000

	Categoría	Predicción (%)								Total
		L	A	SM	H	U	J	MD	Sa	
Clasificación	L	80	0	0	20	0	0	0	0	100
	A	0	100	0	0	0	0	0	0	100
	SM	0	0	87,50	12,50	0	0	0	0	100
	H	0	0	0	100	0	0	0	0	100
	U	0	0	0	33,33	66,67	0	0	0	100
	J	0	0	0	0	0	100	0	0	100
	MD	0	0	0	0	0	0	100	0	100
	Sa	0	0	0	0	0	0	0	100	100
Clasificación total									91,67	

<sup>a</sup> Se usaron las primeras tres funciones discriminantes en el análisis.

El procedimiento estadístico construyó una ecuación canónica, usando los alcoholes (39, 16 y 33), cetonas (6, 17, 45 y 54), aldehídos (56, 14, 29 y 28), furano (22), hidrocarburo (9) y finalmente un terpeno (19). Cuatro compuestos tienen su origen en la ruta LOX (14, 6, 16 y 33), los cuales confieren atributos sensoriales a césped, frutado, picante y verde (Morales *et al.*, 1998; Aparicio y Morales, 1998; Morales *et al.*, 2005). A otros compuestos como 39, 17, 45, 29 y 28, se les atribuyen atributos relacionados con defectos sensoriales y presentan atributos sensoriales a moho, dulce y graso (Sérot *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2005; García-González *et al.*, 2009). Por otro lado, la presencia de tolueno (9), se produce debido a procesos degradativos de olefinas cíclicas. La presencia de otros volátiles como 56, 54 y 22, se genera en los primeros casos por oxidación de carotenoides y etilbenceno, en el caso de 2-pentilfurano por autoxidación de linoleato (Ho y Shahidi, 2005). Es importante recalcar que hay compuestos volátiles

que se usan para discriminar las muestras, y no son los más abundantes en el aceite de Sacha inchi. Por ejemplo, algunos compuestos que se han detectado más abundantes en las muestras como 2-propanona,  $\alpha$ -pineno, hexanal; no han sido seleccionados por el modelo SLDA, porque no son compuestos con alto poder discriminante. La lambda de Wilks varía de 0 a 1; valores más pequeños de lambda revelan una mayor capacidad de discriminación (Jeleń *et al.*, 2010; Kadi *et al.*, 2013).

Tabla 43. Identificación de los catorce compuestos volátiles correspondientes a las variables seleccionadas por el modelo SLDA y coeficientes estandarizados.

Orden	Identificación	Wilks $\lambda$	F	Root 1	Root 2	Root 3
39	2-nonanol	0,33127	34,172	-0,506	-0,085	0,034
56	2,6-demetil benzaldehido	0,03572	12,529	-0,250	-0,025	-0,033
14	E-2-pentenal (LnA)	0,00091	11,828	0,091	-0,387	-0,169
6	3-pentanona (LA)	0,00218	9,563	0,052	-0,058	0,027
17	2-heptanona	0,00050	5,854	-0,002	-0,001	0,001
22	2-pentilfurano	0,00453	5,368	-0,080	0,534	-0,367
45	3,5-octadien-2-ona	0,02073	4,962	-0,065	0,093	0,211
29	E-2-heptenal	0,01235	4,822	0,046	-0,131	0,052
28	octanal	0,00017	4,624	1,813	0,712	-0,527
16	1-penten-3-ol (LnA)	0,15241	3,892	-0,002	0,055	-0,058
54	1-feniletanona	0,00012	3,332	0,842	0,315	0,378
19	limoneno	0,00003	2,914	-0,021	0,002	-0,033
9	tolueno	0,00006	2,148	-1,114	-2,469	1,731
33	E-3-hexen-1-ol (LnA)	0,00002	2,021	0,017	0,003	0,051

Dado que cada variable canónica representa una dirección (función discriminante), con una separación máxima entre las categorías, los gráficos obtenidos mediante la proyección de las muestras de las variables canónicas son muy apreciados como potentes herramientas de visualización. Por lo tanto, la fiabilidad de los resultados de la clasificación obtenidos a partir de la estrategia propuesta se confirma gráficamente por los grupos obtenidos cuando se proyectaron las muestras de aceite de Sacha inchi en el espacio definido por las tres primeras variables canónicas.

En la [Figura 58](#), se observa el resultado del análisis discriminante. También se puede argumentar que los aceites de Sacha inchi obtenidos de las semillas recién extraídas (Sa) se encuentran separados en gran parte de los que se producen en las diferentes regiones de cultivo, los aceites de la región Madre de Dios son los que más próximos a los aceites de semilla. Los aceites de las regiones de Junín, Amazonas y Madre de Dios son los que más dispersos y es probable que se deba a que no son zonas limítrofes dentro del mapa político peruano ([Figura 14](#)). Mientras que las muestras de las regiones de San Martín, Loreto, Huánuco y Ucayali se encuentran muy próximas entre sí, especialmente las muestras de las regiones de Ucayali y Huánuco que están agrupadas en un mismo grupo, desde el punto de vista de la localización forman parte de una misma zona geográfica ([Figura 14](#)). Los compuestos volátiles seleccionados por el modelo SLDA, concuerdan con los volátiles que discriminan tanto en aceite de oliva como en aceituna, especialmente octanal, 2-pentilfurano, y 1-penten-3-ol ([Kalua \*et al.\*, 2005](#); [Kalua \*et al.\*, 2006](#)).

#### **4.11 Perfil sensorial descriptivo cuantitativo del aceite de Sacha inchi**

La finalidad del análisis sensorial es obtener una información confiable para establecer el perfil sensorial del aceite de Sacha inchi, para ello fue necesario caracterizar en función de sus parámetros sensoriales. Las muestras fueron evaluadas por un total de 12 panelistas entrenados (7 mujeres y 5 hombres). Todos los panelistas se seleccionaron sobre la base de su anterior experiencia en análisis sensorial de aceite de oliva virgen. Los panelistas pertenecían al Departamento de Química Analítica y al Grupo de Investigación de Color y Calidad de los Alimentos de la Universidad de Sevilla. La evaluación sensorial de los aceites se realizó a través de un perfil sensorial descriptivo, empleando un recuento de frecuencias de respuestas ([Lawless, 2013](#)).

A los panelistas se les solicitó asignar de acuerdo a su percepción, los atributos de olor (sensaciones olfativas), y flavor (sensaciones olfativas, sensaciones gustativas y factores de sensación oral). El panel decidirá que descriptores son los más adecuados para el aceite de Sacha inchi. En la [Tabla 44](#), se muestran estos descriptores y las definiciones que caracterizan las muestras.

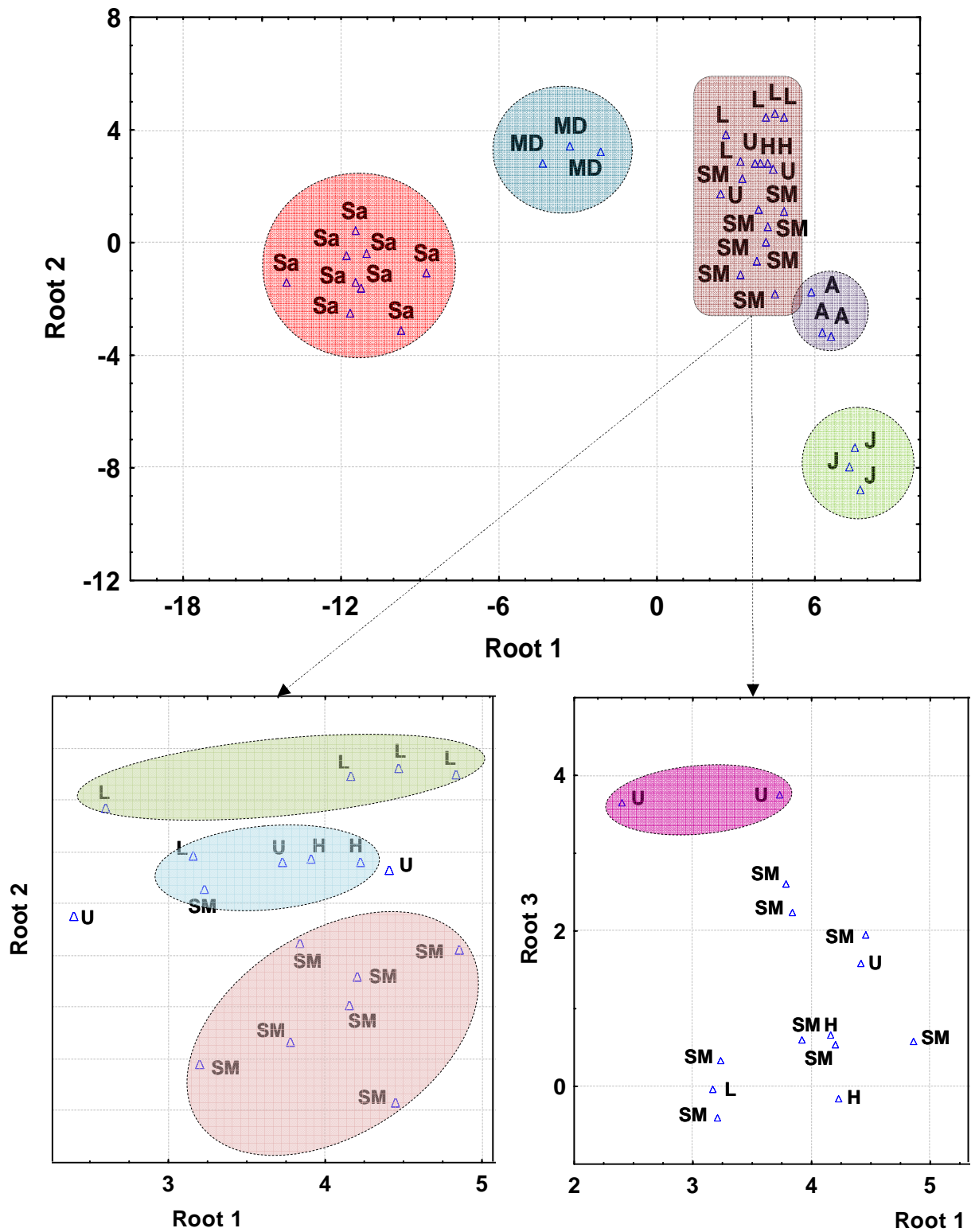


Figura 58. Dispersión de las muestras sobre las variables canónicas de los aceites de Sacha inchi después de realizar SLDA. Las letras correspondientes a la muestras son: A=Amazonas; H=Huánuco; J=Junín; L=Loreto; MD=Madre de Dios; SM=San Martín; U=Ucayali y Sa=aceites de semilla.



Tabla 44. Atributos usados por el panel para describir el aceite de Sacha inchi.

Atributo	Descriptor	Definición
Olor	Notas verdes	Césped, vegetal, herbáceo, pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.), palodú ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.)
	Frutado	Manzana, plátano
	Floral	Flores
	Semillas	Pipas de girasol, maíz
	Frutos secos	Nuez, avellanas, almendras
	Madera	Madera, resina vegetal
	Dulce	Dulce
	Rancio	Aceite oxidado
Sabor	Notas vegetales	Césped, pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.)
	Semillas	Pipas de girasol, maíz
	Frutos secos	Nuez, avellanas, almendras
	Dulce	Dulce
	Basto	Aceitoso, pastoso
	Astringente	Astringente
	Amargo	Amargo

Es importante tener en cuenta que los términos sensoriales se basan en una comprensión de los principios técnicos y fisiológicos. Los miembros del panel están capacitados para comprender los términos y utilizarlos de forma consistente (Szczesniak, 2002).

En la Figura 59, se muestra el perfil sensorial descriptivo cuantitativo de las muestras de aceites de Sacha inchi, en el diagrama se observa que la percepción de olor a notas verdes presenta una mayor intensidad, la mayoría de las muestras recordaban a los panelistas este descriptor, el segundo descriptor asociado a este aceite fue semilla, sin embargo el primer descriptor mostró mayor intensidad que el segundo.

Las notas vegetales en los aceites vírgenes suelen estar asociados a algunos compuestos volátiles como hexanal, 3-pentanona y 1-penten-3-ol (Morales *et al.*, 2005; Reboredo-Rodríguez *et al.*, 2013), y sabineno (Minh Tu *et al.*, 2002; Roberts *et al.*, 2004), en el caso del aceite de Sacha inchi estos compuestos se encuentran presentes, siendo el mayoritario hexanal. Otros aceites vírgenes como el caso de colza y girasol también

percibieron notas vegetales (Navas-Hernández, 2010). En el caso del aceite de oliva se consideran como atributos positivos a los descriptores como césped, herbáceo, amargo y picante que son característicos de aceites saludables, frutados ambos en etapa madura e inmadura (Comunidad Europea, 2008).

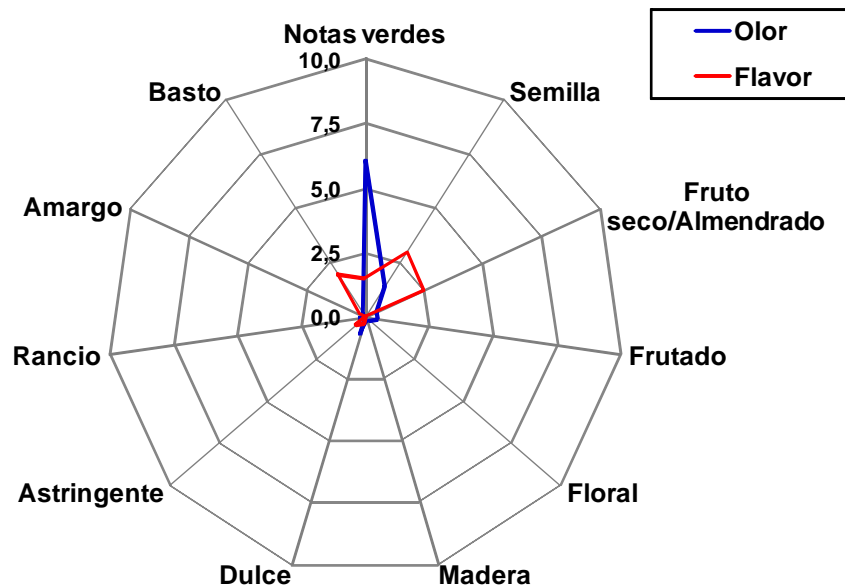


Figura 59. Diagrama de araña de los descriptores sensoriales del aceite de Sacha inchi. Las escalas de cada intensidad van desde los valores más bajos en el punto central hasta los valores más altos en extremo exterior del radio. La intensidad de un descriptor está representada por un punto en el radio en la que la línea de enlace corresponde a un atributo sensorial.

Por otro lado, en cuanto a los atributos de flavor se observa que las mayores puntuaciones fueron para semilla y fruto seco/almendrado, seguido de basto por la sensación pastosa en la boca y otros descriptores en menores puntuaciones fueron nota vegetal, astringente, amarga y dulce. La apreciación del sabor requiere de diversa interacción de varios sistemas sensoriales, el gusto y el olfato son los principales sentidos que participan en la percepción de sabores distintos por lo que las características del sabor están asociadas con las sensaciones olfativas, gustativas y la sensación oral (Hutchins, 1997). Probablemente en el caso del aceite de Sacha inchi los

descriptores de semilla y fruto seco/almendrado provengan más bien de compuestos volátiles (entre ellos E-2-hexenal, benzaldehído y 2,6-dimetil benzaldehído) que presentan características sensoriales a almendras (Morales *et al.*, 2005; García-González *et al.*, 2009; Burdock, 2009). Los descriptores de astringencia y amargor generalmente provienen de taninos y fenoles (Delcour *et al.*, 1984, Bravo, 1998) respectivamente, en el caso del aceite de Sacha inchi estos compuestos fueron detectados por Muñoz *et al.* (2013) y Fanali *et al.* (2011), el amargor y la astringencia se encuentran en una variedad de alimentos, como almendras, frutas, chocolate, te, vino, etc. (Lesschaeve y Noble, 2005).

## CAPÍTULO V

## CONCLUSIONES



1. La determinación de los parámetros de calidad mostró que los aceites de Sacha inchi presentan un buen nivel de calidad. Según los parámetros establecidos por la Norma Técnica Peruana NTP 151.400, el 60% de los aceites pudo ser clasificado como aceite virgen extra y el 40% como virgen. La evaluación de la estabilidad oxidativa (OSI) mediante Rancimat mostró un valor medio de 5,6 h para el conjunto de muestras. Los parámetros de color CIELAB para los aceites de las diferentes regiones y los aceites de semilla (Sa) mostraron valores de  $L^*$  elevados (91-100 unidades CIELAB), mientras que los valores de  $a^*$  fueron negativos y los parámetros  $b^*$  y  $C^*_{ab}$ , presentaron una mayor variabilidad entre las muestras comerciales, mientras que los aceites de semilla (Sa), presentaron menor variabilidad. En cuanto al tono  $h_{ab}$ , varió entre 91-104 unidades CIELAB. El PCA generado con estas variables ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$  y  $h_{ab}$ ), clasificó las muestras en dos grupos, un grupo formado por los aceites de semilla (Sa) y el otro formado por las muestras de las diferentes regiones que no pudieron discriminarse entre ellas.

2. Se encontró un bajo contenido de carotenoides en todas las muestras de aceite de Sacha inchi. En las muestras comerciales el contenido osciló entre 0,40-9,30 mg/kg. Los aceites de semilla (Sa) variaron entre 0,60-1,50 mg/kg. La concentración de tocoferoles en el aceite de Sacha inchi es elevada con respecto a otros aceites vírgenes, el contenido total de tocoferoles en los aceites de diferentes regiones fue de 2220 mg/kg, mientras que en los aceites de semilla (Sa) el contenido fue de 1687 mg/kg. En cuanto a los tocoferoles individuales se detectaron  $\alpha$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocoferol en los aceites comerciales de diferentes regiones, mientras que en Sa, solo fueron detectados  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocoferol. La concentración de  $\alpha$ -tocoferol varió entre 0-194 mg/kg, la de  $\gamma$ -tocoferol entre 771-1878 mg/mg y la de  $\delta$ -tocoferol entre 581-1387 mg/kg. El PCA desarrollado clasificó las muestras en dos grupos, el primer grupo formado en su mayoría por aceites de semilla (Sa) y el segundo por los aceites comerciales que no fueron discriminados.

3. El contenido de ácidos grasos en el aceite de Sacha inchi de diferentes regiones mostró que los ácidos linoleico y linolénico eran los mayoritarios, sus concentraciones variaron entre 21-53% y 10-55%, respectivamente, siguiendo en cantidad el ácido oleico (9-23%), y los saturados palmítico (3-11%) y esteárico (2-4%). Los ácidos grasos

moriritarios presentaron buenas correlaciones, siendo la correlación oleico vs linoleico la más baja ( $r=0,435$ ). El PCA generado por los once ácidos grasos detectados y los parámetros O/L, L/L, SFAs, MUFAs, PUFAs y MUFAs/PUFAs reveló que las muestras comerciales constituían un solo grupo y no se discriminó según la región.

4. El perfil de esteroides del aceite de Sacha inchi fue colesterol, brasicasterol, 24-metilen-colesterol, campestanol,  $\Delta 7$ -campesterol, clerosterol, sitostanol,  $\Delta 5,24$ -stigmastadienol,  $\Delta 7$ -estigmasterol,  $\Delta 7$ -avenasterol,  $\beta$ -sitosterol (55%), estigmasterol (20%), campesterol (10%) y  $\Delta 5$ -avenasterol (5%), siendo los últimos los mayoritarios. La concentración de esteroides totales varió entre 1623-2899 mg/kg y el sitosterol aparente entre 57-68%, mientras que la relación de campesterol/estigmasterol fue menor de 1 (0,30-0,72). El análisis multivariante desarrollado para discriminar los aceites de diferentes regiones no fue capaz de diferenciar las muestras. El perfil de alcoholes en el aceite de Sacha inchi correspondió a alcoholes alifáticos (docosanol, tetracosanol y hexacosanol), un alcohol diterpénico (fitol), 4,4-metil-esteroides (24-metilcicloartanol, cicloartenol, derivados de lanosterol y alcoholes triterpénicos) y un compuesto no identificado de  $m/z$  484. La concentración total de alcoholes varió entre 260-614 mg/100g, los alcoholes alifáticos entre 1,60-10,38 mg/100g, mientras que los alcoholes triterpénicos oscilaron entre 149-535 mg/100g. El SLDA aplicado mostró una capacidad de predicción general de 88,89%, siendo las regiones de Loreto, Amazonas, San Martín, Ucayali y Junín las que presentaron un porcentaje de clasificación del 100%, las muestras de la región Huánuco no se clasificaron correctamente, la discriminación se realizó con once variables, siendo los compuestos lanosterol 1, fitol, cicloartenol y tetracosanol los de mayor poder discriminante.

5. Los compuestos fenólicos identificados en el aceite de Sacha inchi fueron: hidroxitirosol, tirosol, bergenina, isoramnetina glucósido, ácido oleuropeico, luteolina, apigenina, isómeros de ligustrósido aglicona, pinosinol, 3,4-DHPEA-DEDA (decarboximetil aglicona de la oleuropeína forma dialdehídica) e isómeros de oleuropeína aglicona. La concentración de fenoles totales varió entre 14-28 mg/kg, siendo los aceites de la región Amazonas los de mayor contenido en compuestos fenólicos y los de la región de Loreto los de menor contenido. El SLDA desarrollado permitió una

clasificación del 96,30% y se logró mediante una selección de nueve variables, siendo las de mayor poder discriminante la isoramnetina glucósido, 3,4-DHPEA-DEDA, aglicona ligustrósido, ácido oleuropeico y luteolina.

6. La técnica HS-SPME-GC/MS permitió la identificación de 60 compuestos volátiles. Dos de estos compuestos no son componentes de la matriz lipídica sino aditivos alimentarios como son el propileno glicol (E1520) y el butil hidroxitolueno (E321). Los compuestos volátiles detectados estuvieron agrupados en volátiles C<sub>5</sub>, alcoholes C<sub>6</sub>, aldehídos C<sub>6</sub>, alcoholes, aldehídos, cetonas, terpenos, furanonas, ácidos carboxílicos e hidrocarburos, la concentración total de volátiles varió entre 600-5571 µg/kg, siendo la región de Junín la que presentó mayor concentración de volátiles. El análisis multivariante (SLDA) desarrollado logró una capacidad de predicción del 91,67% sobre la base de catorce variables, siendo las de mayor poder discriminatorio E-3-hexen-1-ol, limoneno y tolueno.

7. La evaluación sensorial mostró que los aceites poseían atributos de olor a notas vegetales (césped, herbáceo, pepino), mientras que en los atributo de sabor destacaron semilla y fruto seco/almendrado (pipas a girasol, avellana, almendras). Los atributos notas verdes y semilla fueron los que mostraron mayor intensidad.

## CAPÍTULO VI

## REFERENCIAS





- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN). Guía para la aplicación del sistema de trazabilidad en la empresa agroalimentaria. Madrid: Artes Gráficas Palermo, S.L. 80 p (2009).
- Aharoni A, Lewinsohn E. Genetic engineering of fruit flavors. In Hui YH. (Eds.), Handbook of fruit and vegetable flavors. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 101–114 (2010).
- Alonso-Salces RM, Moreno-Rojas JM, Holland MV, Reniero F, Guillou C, Héberger K. Virgin olive oil authentication by multivariate analyses of  $^1\text{H}$  NMR fingerprints and  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^2\text{H}$  data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 5586–5596 (2010).
- Amaral JS, Cunha SC, Alves MR, Pereira JA, Seabra RM, Oliveira BPP. Triacylglycerol composition of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars: characterization by HPLC-ELSD and chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7964–7969 (2004).
- Anaya J. Proyecto Omega. Plan de comercialización de aceite y harina proteica de Inca inchi. Agroindustrias Amazónicas. Tarapoto, Perú (2003).
- Angerosa F, Mostallino R, Basti C, Vito R. Virgin olive oil odour notes: Their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chemistry* 68: 283–287 (2000).
- Angerosa F. Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: 639–660 (2002).
- Aparicio R, Aparicio-Ruíz R. Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A* 881: 93–104 (2000).
- Aparicio R, Calvente JJ, Morales MT. Sensory authentication of European extra-virgin olive oil varieties by mathematical procedures. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 72: 435–447 (1996).
- Aparicio R, Conte LS, Fiebig HJ. Olive oil authentication. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), Handbook of olive oil: Analysis and properties. New York: Springer Science+Business. pp. 589–653 (2013).
- Aparicio R, Luna G. Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: 614–627 (2002).
- Aparicio R, Morales MT. Characterization of olive ripeness by green aroma compounds of virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1116–1122 (1998).
- Aparicio R, Morales MT. Optimization of a dynamic headspace technique for quantifying virgin olive oil volatiles. Relationships between sensory attributes and volatile peaks. *Food Quality and Preference* 5: 109–114 (1994).
- Aparicio R, Roda L, Albi MA, Gutiérrez F. Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4150–4155 (1999).
- Aparicio R. Caracterización del aceite de olive: Procedimientos matemáticos aplicables en análisis químico. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), Manual del aceite de oliva. Madrid: A. Madrid Vicente y Mundi-Prensa. pp. 281–344 (2003).
- Arévalo GG. El cultivo del sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la amazonia. Instituto de Nacional de Investigación Agraria. Tarapoto, Perú (1999).

- Bambalov G, Israilides C, Tanchev S. Alcohol fermentation in olive oil extraction effluents. *Biological Wastes* 27: 71–75 (1989).
- Banout J, Havlik J, Kulik M, Kloucek P, Lojka B, Valterova I. Effect of solar drying on the composition of essential oil of sachaculantro (*Eryngium foetidum* L.) grown in the Peruvian Amazon. *Journal of Food Process Engineering* 33: 83–103 (2010).
- Barreira JCM, Casal S, Ferreira ICFR, Peres AM, Pereira JA, Oliveira MBPP. Chemical characterization of chestnut cultivars from three consecutive years: Chemometrics and contribution for authentication. *Food and Chemical Toxicology* 50: 2311–2317 (2012).
- Bell JR, Gillatt PN. Standards to ensure the authenticity of edible oil and fats. *FAO Food, Nutrition and Agriculture* 72: 29–35 (1994).
- Bendini A, Cerretani L, Salvador MD, Fregapane G, Lercker G. Stability of the sensory quality of virgin olive oil during storage: an overview. *Italian Food & Beverage Technology* LX: 5–18 (2010).
- Berlioz B, Cordella C, Cavalli JF, Lizzani-Cuvelier L, Loiseau AM, Fernandez X. Comparison of the amounts of volatile compounds in French protected designation of origin virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 10092–10101(2006).
- Berrueta LA, Alonso-Salces RM, Héberger K. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography A* 1158: 196–214 (2007).
- Beveridge THJ, Li TSC, Drover JCG. Phytosterol content in American ginseng seed oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 744–750 (2002).
- Bhat NR, Desai BB, Suleiman MK. Flavor in grapes: Its characterization and commercial applications. In Hui YH. (Eds.), *Handbook of fruit and vegetable flavors*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 279–302 (2010).
- Bondioli P, Della-Bella L, Rettke P. Alpha linolenic acid rich oils. Composition of *Plukenetia volubilis* (Sacha inchi) oil from Perú. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* 83: 120–123 (2006).
- Bosque-Sendra JM, Cuadros-Rodríguez L, Ruiz-Samblás C, de la Mata AP. Combining chromatography and chemometrics for the characterization and authentication of fats and oils from triacylglycerol compositional data-A review. *Analytica Chimica Acta* 724: 1–11 (2012).
- Brako L, Zarucchi JL. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Botany. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis, Missouri (1993).
- Branen AL, Haggerty RJ. Introduction to food additives. In Branen AL, Davidson PM, Salminen S, Thorngate JH. (Eds.), *Food additives*. New York: Marcel Dekker, Inc. pp. 1–10 (2002).
- Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56: 317–333 (1998).
- Brenes M, García A, García P, Garrido A. Rapid and complete extraction of phenols from olive oil and determination by means of a coulometric electrode array system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5178–5183 (2000).
- Brenes M, García A, García P, Rios JJ, Garrido A. Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3535–3540 (1999).
- Bunsey B. Internal traceability: The keystone for successful product tracing under FSMA. *FoodSafetyTech: Technology Solutions for the Global Food safety and Quality Industry*, Oct. 31, 2012. [Retrieved from

- <http://www.medicaldevicesummit.com/FoodSafetyTech/News/Internal-Traceability-The-Keystone-for-Successful-1005.aspx>] Web. 5 Oct. 2013.
- Burdock GA. Fenaroli's handbook of flavor ingredients. Boca Raton, FL: Taylor and Francis Group, LLC. pp. 371– 539 (2009).
- Bussmann RW, Téllez C, Glenn G. *Plukenetia huayllabambana* sp. nov. (Euphorbiaceae) from the upper Amazon of Peru. *Nordic Journal of Botany* 27: 313–315 (2009).
- Cahoon EB. Genetic enhancement of soybean oil for industrial uses: Prospects and challenges. *Journal of Agrobiotechnology Management and Economics* 6: 11–13 (2003).
- Cai ZQ, Jiao DY, Tang SX, Dao XS, Lei YB, Cai CT. Leaf photosynthesis, growth, and seed chemicals of Sacha inchi plants cultivated along an altitude gradient. *Crop Science* 52: 1–9 (2012).
- Cajka T, Hajslova J. Volatile compounds in food authenticity and traceability testing. In Jeleń H. (Eds.), *Food flavors: chemical, sensory and technological properties*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC. pp. 355–411(2012).
- Cajka T, Riddellova K, Klimankova E, Cerna M, Pudil F, Hajslova J. Traceability of olive oil based on volatiles pattern and multivariate analysis. *Food Chemistry* 121: 282–289 (2010).
- Calvo C, Salvador A, Fizman SM. Influence of colour intensity on the perception of colour and sweetness in various fruit-flavoured yoghurts. *European Food Research and Technology* 213: 99–103 (2001).
- Capannesi C, Palchetti I, Mascini M, Parenti A. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry* 71: 553–562 (2000).
- Carrasco-Pancorbo A, Neusüß C, Pelzing M, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. CE- and HPLC-TOF-MS for the characterization of phenolic compounds in olive oil. *Electrophoresis* 28: 806–821 (2007).
- Carrillo-Carrión C, Lucena R, Cárdenas S, Valcárcel M. Liquid-liquid extraction/headspace/gas chromatographic/mass spectrometric determination of benzene, toluene, ethylbenzene, (*o*-, *m*- and *p*-) xylene and styrene in olive oil using surfactant-coated carbon nanotubes as extractant. *Journal of Chromatography A* 1171: 1–7 (2007).
- Castaño TDL, Valencia GMP, Murillo PE, Mendez AJJ, Joli JE. Fatty acid composition of Inca peanut (*Plukenetia volúbilis* Linneo) and its relationship with vegetal bioactivity. *Revista Chilena de Nutrición* 39: 45–52 (2012).
- Cataldo A, Piuze E, Cannazza G, De Benedetto E. Classification and adulteration control of vegetable oils based on microwave reflectometry analysis. *Journal of Food Engineering* 112: 338–345 (2012).
- Cavalli JF, Fernandez X, Lizzani-Cuvelier L, Loiseau AM. Comparison of static headspace, headspace solid phase microextraction, headspace sorptive extraction, and direct thermal desorption techniques on chemical composition of French olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7709–7716 (2003).
- Ceci LN, Carelli AA. Characterization of monovarietal Argentinian olive oils from new productive zones. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 84: 1125–1136 (2007).

- Centro de Investigación, Educación y Desarrollo (CIED). Adaptación y validación participativa de paquete tecnológico para la producción competitiva del sachu inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la cuenca del Perené. La Merced, Perú (2008).
- Cercaci L, Rodriguez-Estrada MT, Lercker G. Solid-phase extraction-thin-layer chromatography-gas chromatography method for the detection of hazelnut oil in olive oils by determination of esterified sterols. *Journal of Chromatography A* 985: 211–220 (2003).
- Cert A, Lanzón AA, Carelli AA, Albi T, Amelotti G. Formation of stigmasta-3,5-diene in vegetable oils. *Food Chemistry* 49: 287–293 (1994).
- Cert A, Moreda W, Pérez-Camino MC. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *Journal of Chromatography A* 881: 131–148 (2000).
- Chauhan OP, Raju PS, Bawa AS. Mango flavor. In Hui YH. (Eds.), *Handbook of fruit and vegetable flavors*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 319–343 (2010).
- Cheetham PSJ, Quail MA. Process for preparing L-rhamnose. U.S. Patent 5,077,206 (1991).
- Cherif AO, Messaouda MB, Kaabi B, Boukhchina S, Pepe C, Kallel H. Comparison of the concentrations of long-chain alcohols (policosanol) in three Tunisian peanut varieties (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 12143–12148 (2010).
- Chirinos R, Zuloeta G, Pedreschi R, Mignolet E, Larondelle Y, Campos D. Sachu inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Chemistry* 141: 1732–1739 (2013).
- Cho IH, Lee SM, Kim SY, Choi HK, Kim KO, Kim YS. Differentiation of aroma characteristics of pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) of different grades using gas chromatography-olfactometry and sensory analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 2323–2328 (2007).
- Codex Alimentarius. Codex standards for named vegetable oils. Vol. 8. Rome: pp. 12–22 (1999).
- Codex Alimentarius. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Ginebra: ALINORM 04/27/24 (2004).
- Collin S, Nizet S, Muls S, Iraqi R, Bouseta A. Characterization of odor-active compounds in extracts obtained by simultaneous extraction/distillation from Moroccan black olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 3273–3278 (2008).
- Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo (PROMPERU). Productos naturales. Programa Nacional de Promoción de Biocomercio y Unidad de Audiovisuales y Publicaciones, Lima, Perú (2010).
- Corrêa APA, Peixoto CA, Gonçalves LAG, Cabral FA. Fractionation of fish oil with supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering* 88: 381–387 (2008).
- Cserhádi T, Forgács E, Deyl Z, Miksik I. Chromatography in authenticity and traceability tests of vegetable oils and dairy products: a review. *Biomedical Chromatography* 19: 183–190 (2005).
- Cunha SS, Fernandes JO, Oliveira MBPP. Quantification of free and esterified sterols in Portuguese olive oils by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1128: 220–227 (2006).

- Cvjetko M, Jokić S, Lepojević Ž, Vidović S, Marić B, Radojčić-Redovniković I. Optimization of the supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil from rapeseed using response surface methodology. *Food Technology and Biotechnology* 50: 208–215 (2012).
- Dahlen T, Hauck T, Wein M, Schwab W. 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone as a secondary metabolite from D-fructose-1,6-diphosphate metabolism by *Zygosaccharomyces rouxii*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 91: 352–358 (2001).
- de Koning S, Kaal E, Janssen HJ, van Platerink C, Brinkman UA. Characterization of olive oil volatiles by multi-step direct thermal desorption-comprehensive gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry using a programmed temperature vaporizing injector. *Journal of Chromatography A* 1186: 228–235 (2008).
- de la Torre-Carbot K, Jauregui O, Gimeno E, Castellote AI, Lamuela-Raventós RM, López-Sabater MC. Characterization and quantification of phenolic compounds in olive oils by solid-phase extraction, HPLC-DAD, and HPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4331–4340 (2005).
- Deeb AA, Fayyad MK, Alawi MA. Separation of polyphenols from Jordanian olive oil mill wastewater. *Chromatography Research International* 2012: 1–8 (2012).
- Delcour JA, Vandenberghe MM, Corten PF, Dondeyne P. Flavor thresholds of polyphenolics in water. *American Journal of Enology and Viticulture* 35: 134–136 (1984).
- Dierkes G, Krieger S, Dück R, Bongartz A, Schmitz OJ, Hayen H. High-performance liquid chromatography-mass spectrometry profiling of phenolic compounds for evaluation of olive oil bitterness and pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:7597–7606 (2012).
- Dobarganes MC, Cert A, Dieffenbacher A. The determination of stigmastadienes in vegetable oils. *Pure and Applied Chemistry* 71: 349–359 (1999).
- Dobarganes-Nodar M, Molero-Gómez A, Martínez de la Ossa E. Characterization and process development of supercritical fluid extraction of soybean oil. *Food Science and Technology International* 8: 337–341 (2002).
- Dyer JM, Stymne S, Green AG, Carlsson AS. High value oils in plants. *Plant Journal* 54: 640–655 (2008).
- Einax JW, Zwanziger HW, Geiß S. Chemometrics in environmental analysis. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH. 384 p (1997).
- Escolar D, Haro MR, Ayuso J. An efficient method for a numerical description of virgin olive oil color with only two absorbance measurements. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 79: 769–774 (2002).
- Escuderos ME. Olive oil aroma evaluation by gas chromatographic method: A critical review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 41:70–80 (2011).
- Espín JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 648–656 (2000).
- European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on the evaluation of the substances currently on the list in the Annex to Commission Directive 96/3/EC as acceptable previous cargoes for edible fats and oils-Part I of III. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal* 9: 2482 (2011).

- Fanali C, Dugo L, Cacciola F, Beccaria M, Grasso S, Dachà M, Dugo P, Mondello L. Chemical characterization of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 13043–13049 (2011).
- Fernández-García E, Pérez-Gálvez A. Flavoring compounds in red pepper fruits (*Capsicum* genus) and processed products. In Hui YH. (Eds.), Handbook of fruit and vegetable flavors. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 909–935 (2010).
- Feussner I, Wasternack C. The lipoxygenase pathway. *Annual Review of Plant Physiology* 53: 275–297 (2002).
- Figueiredo-González M, Martínez-Carballo E, Cancho-Grande B, Santiago JL, Martínez MC, Simal-Gándara J. Pattern recognition of three *Vitis vinifera* L. red grapes varieties based on anthocyanin and flavonol profiles, with correlations between their biosynthesis pathways. *Food Chemistry* 130: 9–19 (2012).
- Flores D. Uso histórico: Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Base de datos proyecto Perubiodiverso (2010).
- Follegatti-Romero LA, Piantino CR, Grimaldi R, Cabral FA. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. *Journal of Supercritical Fluids* 49: 323–329 (2009).
- Food and Agriculture Organization (FAO). Minor oil crops. FAO Agricultural Services Bulletin 94, Rome, Italia (1992).
- Food Marketing Research and Information Center (FMRIC). Handbook for introduction of food traceability systems (Guidelines for food traceability). Tokyo, Japan, pp. 1–67 (2008).
- Frankel EN. Formation of headspace volatiles by thermal decomposition of oxidized fish oils vs. oxidized vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 70: 767–772 (1993).
- Fullana A, Carbonell-Barrachina AA, Sidhu S. Comparison of volatile aldehydes present in the cooking fumes of extra virgin olive, olive, and canola oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 5207–5214 (2004).
- Gallina-Toschi T, Cerretani L, Bendini A, Bonoli-Carbognin M, Lercker G. Oxidative stability and phenolic content of virgin olive oil: An analytical approach by traditional and high resolution techniques. *Journal of Separation Science* 28: 859–870 (2005).
- García A, Brenes M, García P, Romero C, Garrido A. Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology* 216: 520–525 (2003).
- García-González DL, Tena N, Aparicio R. Contributing to interpret sensory attributes qualifying Iberian hams from the volatile profile. *Grasas y Aceites* 60: 277–283 (2009).
- García-González DL, Tena N, Aparicio R. Quality characterization of the new virgin olive oil var. Sikitita by phenols and volatile compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 8357–8364 (2010).
- García-Salas P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules* 15: 8813–8826 (2010).
- García-Villalba R, Carrasco-Pancorbo A, Vázquez-Martín A, Oliveras-Ferraros C, Menéndez JA, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. A 2-D-HPLC-CE platform coupled to ESITOF-MS to characterize the phenolic fraction in olive oil. *Electrophoresis* 30: 2688–2701 (2009).

- Gardner HW, Grove MJ, Salch YP. Enzymatic pathway to ethyl vinyl ketone and 2-pentenal in soybean preparations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 882–886 (1996).
- Gargouri M, Akacha NB, Kotti F, Rejeb IN. Voie de la lipoxygénase: valorisation d'huiles végétales et biosynthèse de flaveurs. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 12: 185–202 (2008).
- Gargouri M, Drouet P, Legoy MD. Hydroperoxide-lyase in mint leaves volatile C6-aldehyde production from hydroperoxy-fatty acids. *Journal of Biotechnology* 111: 59–65 (2004).
- Gavin AM. Edible oil deodorization. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 66: 783–791 (1978).
- Gelderblom WCA, Shephard GS, Rheeder JP, Sathe SK, Ghiasi A, Motarjemi Y. Edible nuts, oilseeds and legumes. In Motarjemi Y, Lelieveld H. (Eds.), *Food safety management: A practical guide for the food industry*. Waltham: Elsevier Inc. pp. 301–324 (2014).
- Giacomelli LM, Mattea M, Ceballos CD. Analysis and characterization of edible oils by chemometric methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 83: 303–308 (2006).
- Gigot C, Ongena M, Fauconnier ML, Wathelet JP, Du-Jardin P, Thonart P. The lipoxigenase metabolic pathway in plants: potential for industrial production of natural green leaf volatiles. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 14: 451–460 (2010).
- Gliszczyńska-Świgło A, Sikorska E, Khmelinskii I, Sikorski M. Tocopherol content in edible plant oils. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57: 157–161 (2007).
- Gogus F, Ozel MZ, Lewis AC. Analysis of the volatile components of cheddar cheese by direct thermal desorption-GCxGC-TOF/MS. *Journal of Separation Science* 9: 1217–1222 (2006).
- Gómez-Plaza E, Mestre-Ortuño L, Ruiz-García Y, Fernández- Fernández JI, López-Roca JM. Effect of benzothiadiazole and methyl jasmonate on the volatile compound composition of *Vitis vinifera* L. Monastrell grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 63: 394–410 (2012).
- Gromadzka J, Wardencki W. Trends in edible vegetable oils analysis. Part A. Determination of different components of edible oils-a review. *Polish Journal Food Nutrition Sciences* 61: 33–43 (2011).
- Guarrasi V, Mangione MR, Sanfratello V, Martorana V, Bulone D. Quantification of underivatized fatty acids from vegetable oils by HPLC with UV detection. *Journal of Chromatographic Science* 48: 663–668 (2010).
- Guillaume C, Ravetti L, Johnson J. Sterols in Australian olive oils: The effects of technological and biological factors. Canberra: Rural Industries Research and Development Corporation. 38 p. (2010).
- Guillaume C, Ravetti L, Ray DL, Johnson J. Technological factors affecting sterols in Australian olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89: 29–39 (2012).
- Guillén MD, Ruiz A, Cabo N, Chirinos R, Pascual G. Characterization of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and <sup>1</sup>H NMR. Comparison with linseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 80: 755–762 (2003).

- Guth H, Grosch W. Comparison of stored soya-bean and rapeseed oils by aroma extract dilution analysis. *LWT-Food Science and Technology* 23: 59–65 (1990).
- Gutiérrez LF, Rosada LM, Jiménez A. Chemical composition of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y Aceites* 62: 76–83 (2011).
- Haddada FM, Manai H, Daoud D, Fernandez X, Lizzani-Cuvelier L, Zarrouk M. Profiles of volatile compounds from some monovarietal Tunisian virgin olive oils. Comparison with French PDO. *Food Chemistry* 103: 467–476 (2007).
- Haiyan Z, Bedgood DR, Bishop AG, Prenzler PD, Robards K. Endogenous biophenol, fatty acid and volatile profiles of selected oils. *Food Chemistry* 100: 1544–1551 (2007).
- Hall D. Food with a visible face: traceability and the public promotion of private governance in the food system. *Geoforum* 41: 826–835 (2010).
- Hamaker BR, Valles C, Gilman R, Hardmeier RM, Clark D, Garcia HH, Gonzales AE, Kohlsted I, Castro M, Valdivia R, Rodriguez T, Lescano M. Amino acid and fatty acid profiles of the Inca peanut (*Plukenetia volubilis*). *Cereal Chemistry* 69: 461–463.
- Hanssen HH, Schmitz-Hübsch M. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) nut oil and its therapeutic and nutritional uses. In Preedy VR, Watson RR, Patel VB (Eds.), *Nuts and seeds in health and disease prevention*. London: Elsevier Inc. pp. 991–994 (2011).
- Hatanaka A, Kajiwarra T, Sekiya J. Biosynthetic pathway for C6-aldehyde formation from linolenic acid in green leaves. *Chemistry and Physics of Lipids* 44: 341–361 (1987).
- Hatanaka A. The fresh green odor emitted by plants. *Food Reviews International* 12: 303–350 (1996).
- Heredia FJ, Álvarez C, González-Miret ML, Ramírez A. CromaLab, análisis de color. Registro General de la Propiedad Intelectual SE-1052-04 (2004)
- Ho CT, Shahidi F. Flavor components of fats and oils. In Shahidi F. (Eds.), *Bailey's industrial oil and fat products, Six Volume Set*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 387–411 (2005).
- Hobbs JE, Bailey DV, Dickinson DL, Haghiri M. Traceability in the Canadian red meat sector: do consumers care?. *Canadian Journal of Agricultural Economics* 53: 47–65 (2005).
- Hutchins MO. Chemical senses: Olfaction and gustation. In Byrne JH. (Eds.), *Neuroscience: Sensory system* (1997). [Retrieved from <http://nba.uth.tmc.edu/neuroscience/>] Web. 6 Nov. 2013.
- Inarejos-García MA, Santacatterina M, Salvador MD, Fregapane G, Gómez-Alonso S. PDO virgin olive oil quality-Minor components and organoleptic evaluation. *Food Research International* 43: 2138–2146 (2010).
- Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Estudio de viabilidad económica del cultivo de *Plukenetia volubilis* Linneo, Sacha inchi, en el Departamento de San Martín. Iquitos, Perú (2009).
- Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). Biodiversidad: Anuario de Estadísticas Ambientales. Lima, Perú (2012).



- International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. 1<sup>st</sup> Suppl. to 7<sup>th</sup> Edn. International Union of Pure and Applied Chemistry, Pergamon Press, Oxford (UK) (1992).
- Iraqi R, Vermeulen C, Benzekri A, Bouseta A, Collin S. Screening for key odorants in Moroccan green olives by gas chromatography-olfactometry/aroma extract dilution analysis. *of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1179–1184 (2005).
- Jeleń HH, Ziólkowska A, Kaczmarek A. Identification of the botanical origin of raw spirits produced from rye, potato, and corn based on volatile compounds analysis using a SPME-MS method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:12585–12591 (2010).
- Jiang L, Kubota K. Differences in the volatile components and their odor characteristics of green and ripe fruits and dried pericarp of Japanese pepper (*Xanthoxylum piperitum* DC.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4197–4203 (2004).
- Jiang Y, Song J. Fruits and fruit and flavor: Classification and biological characterization. In Hui YH. (Eds.), Handbook of fruit and vegetable flavors. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 3–23 (2010).
- Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series N<sup>o</sup> 48. Safety evaluation of certain food additives and contaminants: Aliphatic acyclic diols, triols, and related substances. World Health Organization, Geneva, Switzerland (2001).
- Jung YM, Yoon SH, Min DB. Effects of processing stepson the contents of minor compounds and oxidation of Soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 66: 118–120 (1989).
- Kadi KL, Selouani SA, Boudraa B, Boudraa M. Discriminative prosodic features to assess the dysarthria severity levels. In Ao SI, Gelman L, Hukins DWL, Hunter A, Korsunsky AM (Eds.), Proceedings of the World Congress on Engineering, London, U.K., 3–5 July, pp. 2201–2205 (2013).
- Kalua CM, Allen MS, Bedgood DR Jr, Bishop AG, Prenzler PD, Robards K. Olive oil volatile compounds, flavor development and quality: A critical review. *Food Chemistry* 100: 273–286 (2007).
- Kalua CM, Allen MS, Bedgood DR Jr, Bishop AG, Prenzler PD. Discrimination of olive oils and fruits into cultivars and maturity stages based on phenolic and volatile compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 8054–8062 (2005).
- Kalua CM, Bedgood DR Jr, Bishop AG, Prenzler PD. Discrimination of storage conditions and freshness in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 7144–7151 (2006).
- Kamal-Eldin A, Appelqvist L. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 31: 671–701 (1996).
- Kamal-Eldin A. Minor components of fats and oils. In Shahidi F. (Eds.), Bailey's industrial oil and fat products, Six Volume Set. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 319– 359 (2005).
- Kanavouras A, Kiritsakis A, Hernandez RJ. Comparative study on volatile analysis of extra virgin olive oil by dynamic headspace and solid phase micro-extraction. *Food Chemistry* 90: 69–79 (2005).
- Karamian R, Asadbegy M, Pakzad R. Essential oil compositions and in vitro antioxidant and antibacterial activities of the methanol extracts of two *Salvia* species

- (Lamiaceae) from Iran. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 5: 1171–1182 (2013).
- Kataoka H, Lord HL, Pawliszyn J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A* 880: 35–62 (2000).
- Kesen S, Kelebek H, Selli S. Characterization of the volatile, phenolic and antioxidant properties of monovarietal olive oil obtained from cv. Halhali. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 90: 1685–1696 (2013).
- Kher SV, Frewer LJ, De Jonge J, Wertholt M, Davies OH, Luijckx NBL, Cnossen HJ. Experts' perspectives on the implementation of traceability in Europe. *British Food Journal* 112: 261–274 (2010).
- Kılıç K, Onal-Ulusoy B, Boyacı IH. A novel method for color determination of edible oils in  $L^*a^*b^*$  format. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 157–164 (2007).
- Kiritsakis A, Christie WW. Análisis de aceites comestibles. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), *Manual del aceite de oliva*. Madrid: A. Madrid Vicente y Mundi-Prensa. pp. 135–162 (2003).
- Kraujalytė V, Leitner E, Venskutonis PR. Characterization of Aronia melanocarpa volatiles by headspace-solid-phase microextraction (HS-SPME), simultaneous distillation/extraction (SDE), and gas chromatography-olfactometry (GC-O) methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 4728–4736 (2013).
- Krivankova B, Polesny Z, Lojka B, Lojkova J, Banout J, Preininger D. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*, Euphorbiaceae): A promising oilseed crop from Peruvian amazon. [[www.tropentag.de/2007/abstracts/links/Krivankova\\_NnQmCSMU.pdf](http://www.tropentag.de/2007/abstracts/links/Krivankova_NnQmCSMU.pdf)] (2007).
- Laakso P. Analysis of sterols from various food matrices. *European Journal of Lipid Science and Technology* 107: 402–410 (2005).
- Lanna AC, José IC, Oliveira MGA, Baros EG, Moreira MA. Effect of temperature of polyunsaturated fatty acid accumulation in soybean seeds. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17:213–222 (2005).
- Lanzón A, Albi T, Guinda A. Formation of a  $\Delta^7$  triterpene alcohol in refined olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 76: 1421–1423 (1999).
- Lapeña I, López I, Sigueñas M, Ramirez M. Incentivos y desincentivos para la participación del Perú en el sistema multilateral del tratado internacional sobre recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Bioversity International, Roma, Italia (2010).
- Lawless H, Heymann H. *Sensory evaluation of food: Principles and practices*, 2<sup>nd</sup> Edition. New York: Springer Science+Business Media, LLC. 596 p (2010).
- Lawless HT. *Quantitative sensory analysis: Psychophysics, models and intelligent desing*. Oxford: Wiley Blackwell. pp. 224–234 (2013).
- Leon-Camacho M, Alcaide IV, Vicario IM. Acorn (*Quercus* spp.) fruit lipids: saponifiable and unsaponifiable fractions: a detailed study. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 81: 447–453 (2004).
- León-Camacho M, García-González DL, Aparicio RA. Detailed and comprehensive study of amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) oil fatty profile. *European Food Research and Technology* 213: 349–355 (2001).
- León-Camacho M, Morales MT, Aparicio R. Chromatographic methodologies: Compounds for olive oil traceability issues. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.),

- Handbook of olive oil: Analysis and properties. New York: Springer Science+Business. pp. 163–217 (2013).
- Lerma-García MJ, Ramis-Ramos G, Herrero-Martínez JM, Gimeno-Adelantado JV, Simó-Alfonso EF. Characterization of the alcoholic fraction of vegetable oils by derivatization with diphenic anhydride followed by high-performance liquid chromatography with spectrophotometric and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1216: 230–236 (2009).
- Lerma-García MJ, Simó-Alfonso EF. HPLC analysis of alcohols in foods and beverages. In Nollet LML, Toldra F. (Eds.), *Food analysis by HPLC*. Boca Raton: Taylor & Francis Groups, LLC. pp. 253–270 (2013).
- Lerma-García MJ. Characterization and authentication of olive and other vegetable oils. In Lerma-García MJ (Eds.), *Introduction: Edible oils*. Berlin: Springer-Verlag. pp. 1–43 (2012).
- Lesschaeve I, Noble AC. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *American Journal of Clinical Nutrition* 81: 330S–335S (2005).
- Létisse M, Rozières M, Hiol A, Sergent M, Comeau L. Enrichment of EPA and DHA from sardine by supercritical fluid extraction without organic modifier: I. Optimization of extraction conditions. *Journal of Supercritical Fluids* 38: 27–36 (2006).
- Levinson DR. Traceability in the food supply chain. Research report [OEI-02-06-00210]. Department of Health and Human Services of USA, pp. 1–29 (2009).
- Li C, Yao Y, Zhao G, Cheng W, Liu H, Liu C, Shi Z, Chen Y, Wang S. Comparison and analysis of fatty acids, sterols, and tocopherols in eight vegetable oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 12493–12498 (2011).
- Li TSC, Beveridge THJ, Drover JCG. Phytosterol content of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil: Extraction and identification. *Food Chemistry* 101: 1633–1639 (2007).
- Liu C, Zhang J, Zhou Z, Hua Z, Wan H, Xie Y, Wang Z, Deng L. Analysis of volatile compounds and identification of characteristic aroma components of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. Using GC-MS and GC-O. *Food and Nutrition Sciences* 4: 305–314 (2013).
- Liu X, Jin Q, Liu Y, Huang J, Wang X, Mao W, Wang S. Changes in volatile compounds of peanut oil during the roasting process for production of aromatic roasted peanut oil. *Journal of Food Science* 76: 404–412 (2011).
- Lo YC, Koziel JA, Cai L, Ho SJ, Jenks WS, Xin H. Simultaneous chemical and sensory characterization of volatile organic compounds and semi-volatile organic compounds emitted from swine manure using solid phase microextraction and multidimensional gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry. *Journal of Environmental Quality* 37: 521–534 (2008).
- López-López A, Rodríguez-Gómez F, Ruíz-Méndez MV, Cortés-Delgado A, Garrido-Fernández A. Sterols, fatty alcohol and triterpenic alcohol changes during ripe table olive processing. *Food Chemistry* 117: 127–134 (2009).
- Lozano-Sánchez J, Cerretani L, Bendini A, Gallina-Toschi T, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. New filtration systems for extra-virgin olive oil: effect on antioxidant compounds, oxidative stability, and physicochemical and sensory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 3754–3762 (2012).

- Lukić M, Lukić I, Krapac M, Sladonja B, Piližota V. Sterols and triterpene diols in olive oil as indicators of variety and degree of ripening. *Food Chemistry* 136: 251–258 (2013).
- Luna G, Morales MT, Aparicio R. Characterization of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions. *Food Chemistry* 98: 243–252 (2006).
- MacBride JF. Flora of Peru: Euphorbiaceae. Field Museum of Natural History, Botanical Series 13: 3–200 (1951).
- Mahjoub-Haddada F, Manai H, Daoud D, Fernandez X, Lizzani-Cuvelier L, Zarrouk M. Profiles of volatile compounds from some monovarietal Tunisian virgin olive oils. Comparison with French PDO. *Food Chemistry* 103: 467–476 (2007).
- Malcolmson LJ. Flavor and sensory aspects. In Shahidi F. (Eds.), *Bailey's industrial oil and fat products, Six Volume Set*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 413–429 (2005).
- Mannina L, Di Tullio V. Food analysis by fingerprinting techniques. Available online at [[http://www.trace.eu.org/img/BOOKLET\\_Trace\\_150dpi+final.pdf](http://www.trace.eu.org/img/BOOKLET_Trace_150dpi+final.pdf)] (Accessed on 02.25.2013). Centro Stampa De Vittoria, Italy (2009).
- Manos B, Manikas I. Traceability in the Greek fresh produce sector: drivers and constraints. *British Food Journal* 112: 640–652 (2010).
- Manura J. Detection and identification of volatile and semi-volatile organics in synthetic polymers used in food and pharmaceutical packaging. *Application Note* 21a (1999).
- Marmesat S, Morales A, Velasco J, Ruiz-Méndez MV, Dobarganes MC. Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation. *Grasas y Aceites* 60: 155–160 (2009).
- Martini S. Flavor of canola oil. In Hui YH, Chen F, Nollet LML, Guiné RPF, Marti-Belloso O, Míguez-Mosquera MI. *et al.*, (Eds.), *Handbook of fruit and vegetable flavors*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 1033–1049 (2010).
- Marzouki H, Piras A, Marongiu B, Rosa A, Dessì MA. Extraction and Separation of volatile and fixed oils from berries of *Laurus nobilis* L. by supercritical CO<sub>2</sub>. *Molecules* 13: 1702–1711 (2008).
- Mateos R, Domínguez MM, Espartero JL, Cert A. Antioxidant effect of phenolic compounds,  $\alpha$ -tocopherol, and other minor components in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7170–7175 (2003).
- Mateos R, Espartero JL, Trujillo M, Ríos JJ, León-Camacho M, Alcudia F, Cert A. Determination of phenols, flavones, and lignans in virgin olive oils by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2185–2192 (2001).
- Matthäus B. Oil technology. In Gupta SK (Eds.), *Technological innovation in major world oil crops: Perspectives*, Vol. 2. New York: Springer Science+Business Media, LLC. pp. 23–92 (2012).
- Maurer NE, Hatta-Sakoda B, Pascual-Chagman G, Rodriguez-Saona LE. Characterization and authentication of a novel vegetable source of omega-3 fatty acids, Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *Food Chemistry* 134: 1173–1180 (2012).
- Medina-Juárez LA, Gámez-Meza N, Ortega-García J, Noriega-Rodríguez JA, Angulo-Guerrero O. *Trans* fatty acid composition and tocopherol content in vegetable oils

- produced in Mexico. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77: 721–724 (2000).
- Melo KDT, Pontes MJC. Classification of edible vegetable oil using digital image and pattern recognition techniques. *Microchemical Journal* 113: 10–16 (2014).
- Merino-Zegarra C, Sotero-Solís VE, del Castillo-Torres D, Vásquez-Ramírez G, Cachique-Huansi D, Vásquez-Ocmín PG. Caracterización química de nueve ecotipos de *Plukenetia volubilis* L. de los departamentos de Loreto y San Martín. *Folia Amazónica* 17: 39–45 (2008).
- Míguez-Mosquera MI, Gandul B, Garrid J. Pigments presents in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 67: 192–196 (1990).
- Min DB, Kim JG. Gas chromatographic evaluation of flavor quality of oils. In Min DB, Smouse TH. (Eds.), *Flavor chemistry of fat and oils*. USA: American Oil Chemists' Society. pp. 241–738 (1985).
- Mínguez-Mosquera MI, Rejano-Navarro L, Gandul-Rojas B, Sánchez-Gómez AH, Garrido-Fernández J. Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 68: 332–336 (1991).
- Minh Tu N, Onishi Y, Choi HS, Kondo Y, Bassore SM, Ukeda H, Sawamura M. Characteristic odor components of *Citrus sphaerocarpa* Tanaka (Kabosu) cold-pressed peel oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2908–2913 (2002).
- Misnawi J, Ariza BTS. Use of gas chromatography-olfactometry in combination with solid phase micro extraction for cocoa liquor aroma analysis. *International Food Research Journal* 18: 801–807 (2011).
- Missouri Botanical Garden database. Catalogo [en línea]: de la biblioteca. [Retrieved from <http://www.tropicos.org/Name/>] Web. 20 Feb. 2013.
- Mongay-Fernández C. Quimiometría. Valencia: Universitat de València. 423 p (2005).
- Monigatti M, Bussmann RW, Weckerle CS. Medicinal plant use in two Andean communities located at different altitudes in the Bolívar Province, Peru. *Journal of Ethnopharmacology* 145: 450–464 (2013).
- Montealegre C, Marina-Alegre ML, García-Ruiz C. Traceability markers to the botanical origin in olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 28–38 (2010).
- Montedoro GF, Servilli M, Baldioli M, Miniati, E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semi-quantitative separation and evaluation by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 1571–1576 (1992).
- Montero-Calderón M, Rojas-Graü MA, Martín-Belloso O. Pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merrill) flavor. In Hui YH, Chen F, Nolle LML, Guiné RPF, Martí-Belloso O, Míguez-Mosquera MI. *et al.*, (Eds.), *Handbook of fruit and vegetable flavors*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 391–414 (2010).
- Morales MT, Aparicio R, Rios JJ. Dynamic headspace gas chromatographic method for determining volatiles in virgin olive oil. *Journal of Chromatography A* 668: 455–462 (1994).
- Morales MT, Aparicio R. Effect of extraction conditions on sensory quality of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 76: 295–300 (1999).
- Morales MT, Aparicio-Ruiz R, Aparicio R. Chromatographic methodologies: Compounds for olive oil odor issues. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), *Handbook*

- of olive oil: Analysis and properties. New York: Springer Science+Business. pp. 261–309 (2013).
- Morales MT, Berry AJ, McIntyre PS, Aparicio R. Tentative analysis of virgin olive oil aroma by supercritical fluid extraction-high-resolution gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 819: 267–275 (1998).
- Morales MT, León-Camacho M. Cromatografía de gases y líquidos: metodología aplicada al aceite de oliva. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), Manual del aceite de oliva. Madrid: A. Madrid Vicente y Mundi-Prensa. pp. 163–207 (2003).
- Morales MT, Luna G, Aparicio R. Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry* 91: 293–301 (2005).
- Morales MT, Przybylski R. Olive oil oxidation. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), Handbook of olive oil: Analysis and properties. New York: Springer Science+Business. pp. 479–522 (2013).
- Morales MT, Rios JJ, Aparicio R. Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: flavors and off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 2666–2673 (1997).
- Morales MT, Tsimidou M. El papel de los compuestos volátiles y los polifenoles en la calidad sensorial del aceite de oliva. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), Manual del aceite de oliva. Madrid: A. Madrid Vicente y Mundi-Prensa. pp. 381–430 (2003).
- Morales P, Carvalho AM, Sánchez-Mata MC, Cámara M, Molina M, Ferreira ICFR. Tocopherol composition and antioxidant activity of Spanish wild vegetables. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59: 851–863 (2012).
- Moreda W, Pérez-Camino MC, Cert A. Gas and liquid chromatography of hydrocarbons in edible vegetable oils. *Journal of Chromatography A* 936: 159–171 (2001).
- Moyano MJ, Meléndez-Martínez AJ, Alba J, Heredia FJ. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (I): CIEXYZ non-uniform colour space. *Food Research International* 41: 505–512 (2008a).
- Moyano MJ, Meléndez-Martínez AJ, Alba J, Heredia FJ. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (II): CIELUV and CIELAB uniform colour spaces. *Food Research International* 41: 513–521 (2008b).
- Muñoz JAM, Alvarado-Ortíz C, Ramos-Escudero F, Castañeda CB, Barnett ME, Cárdenas LL et al., Study of polyphenols, tannins and chemical methods to determine antioxidant activity in seeds of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L). *Horizonte Medico* 13: 11–18 (2013).
- Murcia JL. Aceites de semillas: palma, colza, soja y girasol lideran la producción y el consumo mundial. *Distribución y Consumo* 111: 65–70 (2010).
- Naghshineh M, Ariffin AA, Ghazali HM, Mirhosseini H, Kuntom A, Mohammad AS. Monitoring the change patterns of physicochemical properties of oil blend as function of storage time. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 7: 120–125 (2009).
- Nagy K, Bongiorno D, Avellone G, Agozzino P, Ceraulo L, Vékey K. High performance liquid chromatography-mass spectrometry based chemometric characterization of olive oils. *Journal of Chromatography A* 1078: 90–97 (2005).
- Narain N, Nigam N, Galvão MS. Passion fruit. In Hui YH. (Eds.), Handbook of fruit and vegetable flavors. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 345–389 (2010).

- Navas-Hernández PB. Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales. [Tesis Doctoral]. Universidad de castilla-La Mancha, Ciudad Real, España (2010).
- Norma Técnica Peruana. Aceite de Sacha inchi: Requisitos. NTP 151.400. Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias. Lima, Perú (2009).
- O'Brien RD. Fats and oil analysis. In O'Brien RD (Eds.), *Fats and oils: Formulating and processing for applications*, Third Edition. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC. pp. 197–260 (2008).
- Odonne G, Bourdy G, Castillo D, Estevez Y, Lancha-Tangoa A, Alban-Castillo J, Deharo E, Rojas R, Stien D, Sauvain M. Ta'ta', Huayani: Perception of leishmaniasis and evaluation of medicinal plants used by the Chayahuita in Peru. Part II. *Journal of Ethnopharmacology* 126: 149–158 (2009).
- Odonne G, Valadeau C, Alban-Castillo J, Stien D, Sauvain M, Bourdy G. Medical ethnobotany of the Chayahuita of the Parapapura basin (Peruvian Amazon). *Journal of Ethnopharmacology* 146: 127–153 (2013).
- Official Methods of Analysis (AOCS). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Section C: Commercial Fats and Oils. 5<sup>th</sup> Edn. Ed. D. Firestone, AOCS Press, Champaign, IL, USA (1999).
- Official Methods of Analysis (AOCS). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Determination of the oxidation stability of oils and fats the Rancimat method. 5<sup>th</sup> Edn. Ed. D. Firestone, AOCS Press, Champaign, IL, USA (1997).
- Ohloff SY, Miyashits K, Miyazawa T, Fujimoto K, Kaneda T. Autoxidation of ethyl eicosapentanoate and docosahexanoate. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 64:876–879 (1987).
- Olías JM, Sanz C, Ríos JJ, Pérez AG. Substrate specificity of alcohol acyltransferase from strawberry and banana fruits. In Rouseff RL, Leahy MM. (Eds.), *Fruit flavors: Biogenesis, characterization, and authentication*. Washington, DC: ACS American Chemical Society. pp. 134–141 (1995).
- Orozco-Solano M, Ruiz-Jiménez J, Luque de Castro MD. Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217: 1227–1235 (2010).
- Ortega RM. Importance of functional foods in the Mediterranean diet. *Public Health Nutrition* 9: 1136–1140 (2006).
- Osorio-Bueno E, Sánchez-Casas J, Montañó-García A, Gallardo-González L. Discriminating power of the hydrocarbon content from virgin olive oil of Extremadura cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 82: 1–6 (2005).
- Uni Y, Taamalli A, Gómez-Caravaca AM, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, Zarrouk M. Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils according to their geographical origin by a rapid and resolute LC-ESI-TOF-MS method. *Food Chemistry* 127: 1263–1267 (2011).
- Owusu M, Petersen MA, Heimdal H. Assessment of aroma of chocolate produced from two Ghanaian cocoa fermentation types. In 12<sup>th</sup> International Weurman Flavour Research Symposium, July 01–04, 2008, Interlaken, Switzerland.

- Özkal SG, Salgin U, Yener ME. Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil. *J Journal of Food Engineering* 69: 217–223 (2005).
- Pereira de Souza AH, Gohara AK, Rodrigues AC, Evelázio de Souza N, Visentainer JV, Matsushita M. Sacha inchi as potential source of essential fatty acids and tocopherols: multivariate study of nut and shell. *Acta Scientiarum* 35: 757-763 (2013).
- Perez AG, Sanz C, Olias JM. Partial purification and some properties of alcohol acyltransferase from strawberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 1462–1466 (1993).
- Pérez AG, Sanz C. Strawberry flavor. In Hui YH. (Eds.), *Handbook of fruit and vegetable flavors*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 432–449 (2010).
- Perúbiodiverso (PBD). *Manual de producción de Sacha inchi para el biocomercio y la agroforestería sostenible*. Lima, Perú (2009).
- Pichersky E, Gershenzon J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defence. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 237–243 (2002).
- Piergiovanni L, Limbo S. Packaging and the shelf life of vegetable oils. In Robertson GL. (Eds.), *Food packaging and shelf life: A practical guide*. Boca Raton: Taylor & Francis Group. pp. 317–338 (2009).
- Pizarro C, Rodríguez-Tecedor S, Pérez-del-Notario N, González-Sáiz JM. Recognition of volatile compounds as markers in geographical discrimination of Spanish extra virgin olive oils by chemometric analysis of non-specific chromatography volatile profiles. *Journal of Chromatography A* 1218:518–523 (2011).
- Pouliarekou E, Badeka A, Tasioula-Margari M, Kontakos S, Longobardi F, Kontominas MG. Characterization and classification of Western Greek olive oils according to cultivar and geographical origin based on volatile compounds. *Journal of Chromatography A* 1218:7534–7542 (2011).
- ProFound-Advisers in Development. *Market brief for Sacha inchi: An introduction to the European market for Peruvian exporters*. Swiss Import Promotion Programme. pp. 1–18 (2012).
- Programa Desarrollo Rural Sostenible (PDRS). *Análisis de la cadena de valor del Sacha inchi de la región San Martín*. Tarapoto, Perú (2010).
- Rábade LA, Alfaro JA. Buyer-supplier relationship's influence on traceability implementation in the vegetable industry. *Journal of Purchasing and Supply Management* 12: 39–50 (2006).
- Ramírez MR, Estévez M, Morcuende D, Cava R. Effect of the type of frying culinary fat on volatile compounds isolated in fried pork loin chops by using SPME-GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7637–7643 (2004).
- Ramos-Escudero F. *Caracterización de componentes bioactivos de aceites de oliva virgen monovarietales: Relación entre componentes fenólicos-capacidad antioxidante*. [Proyecto Fin de Máster]. Universidad de Sevilla, Sevilla, España (2010).
- Ranalli A, De Mattia G, Ferrante ML. Comparative evaluation of the olive oil given by a new processing system. *International Journal of Food Science and Technology* 32: 289–297 (1997).
- Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 55: 207–216 (2007).



- Reboredo-Rodríguez P, González-Barreiro C, Cancho-Grande B, Simal-Gándara J. Concentrations of aroma compounds and odor activity values of odorant series in different olive cultivars and their oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 5252–5259 (2013).
- Regulation European Communities (EC). Of the European parliament and of the council N° 178/2002. *Official Journal of the European Union* (2002a).
- Regulation European Communities (EC). Regulation N° 61/201, amending Regulation N° 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Union* (2011).
- Regulation European Communities (EC). Regulation No 640/2008, amending Regulation N° 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Union* (2008).
- Regulation European Communities (EC). Regulation No 796/2002, amending Regulation N° 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-pomace oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Union* (2002b).
- Reineccius G. Flavor chemistry: An overview of flavor perception. In Reineccius G. (Eds.), *Flavor chemistry and technology*, 2<sup>nd</sup> Edition. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC. pp. 3–18(2006).
- Reiners J, Grosch W. Odorants of virgin olive oils with different flavor profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2754–2763 (1998).
- Resende-Filho MA, Hurley TM. Information asymmetry and traceability incentives for food safety. *International Journal of Production Economics* 139: 596–603 (2012).
- Richmond R, Pombo-Villar E. Gas chromatography-mass spectrometry coupled with pseudo-Sadtler retention indices, for the identification of components in the essential oil of *Curcuma longa* L. *Journal of Chromatography A* 760: 307–308 (1997).
- Ridolfi M, Terenziani S, Patumi M, Fontanazza G. Characterization of the lipoxygenases in some olive cultivars and determination of their role in volatile compounds formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 835–839 (2002).
- Ríos JJ, Gil MJ, Gutiérrez-Rosales F. Solid-phase extraction gas chromatography-ion trap-mass spectrometry qualitative method for evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil and structural confirmation of oleuropein and ligstroside aglycons and their oxidation products. *Journal of Chromatography A* 1093:167–76 (2005).
- Rivera del Álamo RM, Fregapane G, Aranda F, Gómez-Alonso S, Salvador M D. Sterol and alcohol composition of Cornicabra virgin olive oil: the campesterol content exceeds the upper limit of 4% established by EU regulations. *Food Chemistry* 84: 533–537 (2004).
- Roberts JS, Gentry TS, Bates AW. Utilization of dried apple pomace as a press aid to improve the quality of strawberry, raspberry, and blueberry juices. *Journal of Food Science* 69: 181–190 (2004).
- Rodríguez A, Corazon-Guivin M, Cachique D, Mejía K, Del Castillo D, Renno JF, García-Dávila C. Diferenciación morfológica y por ISSR (Inter simple sequence repeats) de especies del género *Plukenetia* (Euphorbiaceae) de la Amazonía

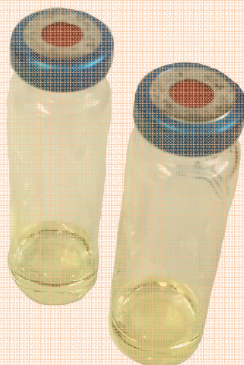
- peruana: propuesta de una nueva especie. *Revista Peruana de Biología* 17: 325–330 (2010).
- Rodríguez-Amaya DB. Some physicochemical properties of carotenoids. In Rodríguez-Amaya DB (Eds.), *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington, D.C.: ILSI Press. pp. 14–22 (2001).
- Rohman A, Che Man YB, Riyanto S. Authentication analysis of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam) oil using FTIR spectroscopy in combination with chemometrics. *Phytochemical Analysis* 22: 462–467 (2011).
- Ruiz-Méndez MV, Aguirre-González MR, Marmesat S. Olive oil refining process. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), *Handbook of olive oil: Analysis and properties*. New York: Springer Science+Business. pp. 715–738 (2013).
- Ruiz-Samblás C, Marini F, Cuadros-Rodríguez L, González-Casado A. Quantification of blending of olive oils and edible vegetable oils by triacylglycerol fingerprint gas chromatography and chemometric tools. *Journal of Chromatography B* 910: 71–77 (2012).
- Sakouhi F, Boukhchina S, Absalon C, Fouquet E, Kallel H. Policosanol characterization and accumulation during ripening of Tunisian *Olea europaea* L. fruits. *European Journal of Lipid Science and Technology* 112: 373–379 (2010).
- Salas JJ, García-González DL, Aparicio R. Volatile compounds biosynthesis by green leaves from an Arabidopsis thaliana hydroperoxide lyase knockout mutant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8199–8205 (2006).
- Salas JJ, Harwood JL, Martínez-Force E. Lipid metabolism in olive: Biosynthesis of triacylglycerols and aroma components. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), *Handbook of olive oil: Analysis and properties*. New York: Springer Science+Business. pp. 97–127 (2013).
- Salas JJ, Sánchez-Peña C, García-González DL, Aparicio R. Impact of the suppression of lipoxygenase and hydroperoxyde lyase on the quality of the green odor in green leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 1648–1655 (2005).
- Salch YP, Grove MJ, Takamura H, Gardner HW. Characterization of a C-5,13-cleaving enzyme of 13(S)-hydroperoxide of linolenic acid by soybean seed. *Plant Physiology* 108: 1211–1218 (1995).
- Salvadeo P, Boggia R, Evangelisti F, Zunin P. Analysis of the volatile fraction of “Pesto Genovese” by headspace sorptive extraction (HSSE). *Food Chemistry* 105: 1228–1235 (2007).
- Sanz C, Pérez AG. Plant metabolic pathways and flavor biosynthesis. In Hui YH. (Eds.), *Handbook of fruit and vegetable flavors*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 129–155 (2010).
- Sanz-Biset J, Campos-de-la-Cruz J, Epiquién-Rivera MA, Cañigüeral S. A first survey on the medicinal plants of the Chazuta valley (Peruvian Amazon). *Journal of Ethnopharmacology* 122: 333–362 (2009).
- Saussem H. Sterols. In Nollet LML, Toldra F (Eds.), *Handbook of analysis of active compounds in functional foods*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC. pp. 87–797 (2012).
- Sathe SK, Hamaker BR, Sze-Tao KWC, Venkatachalam M. Isolation, purification, and biochemical characterization of a novel water soluble protein from Inca peanut (*Plukenetia volubilis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 4906–4908 (2002).

- Sayago A, Marín MI, Aparicio R, Morales MT. Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites* 58: 74–86 (2007).
- Schievano E, Peggion E, Mammi S. <sup>1</sup>H Nuclear magnetic resonance spectra of chloroform extracts of honey for chemometric determination of its botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 57–65 (2010).
- Schwägele F. Traceability from a European perspective. *Meat Science* 71: 164–173 (2005).
- Sérot T, Regost C, Arzel J. Identification of odour-active compounds in muscle of brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary lipid sources. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82: 636–643 (2002).
- Shahidi F, Zhong Y. Lipid oxidation: measurement methods. In Shahidi F. (Eds.), *Bailey's industrial oil and fat products, Six Volume Set*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 357–385 (2005).
- Shahidi F. Quality assurance of fats and oils. In Shahidi F. (Eds.), *Bailey's industrial oil and fat products, Six Volume Set*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 565–575 (2005).
- Sharon-Asa L, Shalit M, Frydman A, Bar E, Holland E, Or E, Lavi U, Lewinsohn E, Eyal Y. Citrus fruit flavor and aroma biosynthesis: isolation, functional characterization, and developmental regulation of *Cstps1*, a key gene in the production of the sesquiterpene aroma compound valencene. *Plant Journal* 36: 664–674 (2003).
- Shin EC, Craft BD, Pegg RB, Phillips RD, Eitenmiller RR. Chemometric approach to fatty acid profiles in Runner-type peanut cultivars by principal component analysis (PCA). *Food Chemistry* 119: 1262–1270 (2010).
- Silver-Rucoba PA. Producción de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) con la aplicación del abono orgánico (CHABLOR) en el fundo victoria de la Empresa Agroindustrias Amazónicas – La Banda de Shilcayo. [Informe de Prácticas Pre – Profesionales]. Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, Perú (2008).
- Singh S, Jarret R, Russo V, Majetich G, Shimkus J, Bushway R, Perkins B. Determination of capsinoids by HPLC-DAD in *Capsicum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 3452–3457 (2009).
- Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior. Exportaciones del producto Sacha inchi según sus principales presentaciones en US\$ 2008-2013. [[http://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp?\\_page\\_=160.00000](http://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp?_page_=160.00000)] (2012).
- Sosulski K, Sosulski FW. Enzyme-aided vs. two-stage processing of canola: Technology, product quality and cost evaluation. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 70: 825–829 (1993).
- Sundram K, Sambanthamurthi R, Tan YA. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 12: 355–362 (2003).
- Suurmeijer CN, Pérez-Gilabert M, van Unen DJ, van der Hijden HT, Veldink GA, Vliegthart JF. Purification, stabilization and characterization of tomato fatty acid hydroperoxides lyase. *Phytochemistry* 53: 177–185 (2000).
- Sympoura F, Cornu A, Tournayre P, Massouras T, Berdagué JL, Martin B. Odor compounds in cheese made from the milk of cows supplemented with extruded linseed and  $\alpha$ -tocopherol. *Journal of Dairy Science* 92: 3040–3048 (2009).
- Szczesniak AS. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference* 13: 215–225 (2002).

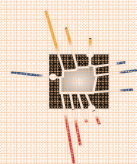
- Szydłowska-Czeraniak A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, Szlyk E. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* 76: 899–905 (2008).
- Szydłowska-Czeraniak A, Trokowski K, Karlovits G, Szlyk E. Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils. *Food Chemistry* 129: 1187–1192 (2011).
- Taamalli A, Arráez-Román D, Zarrouk M, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Classification of “Chemlali” accessions according to the geographical area using chemometric methods of phenolic profiles analyzed by HPLC-ESI-TOF-MS. *Food Chemistry* 132: 561–566 (2012).
- Tahmasebi-Enferadi S, Rabiei Z, Turi M, Baldini M, Vannozzi GP. Half-seed analysis for comparing linolenic acid synthesis between high and low oleic acid sunflower inbred lines. *Helia* 27: 63–72 (2004).
- Tamayo S, Monterio T, Sauer N. Deliveries optimization by exploiting production traceability information. *Engineering Applications of Artificial Intelligence* 22: 557–568 (2009).
- Tasioula-Margari M, Okogeri O. Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. *Food Chemistry* 74: 377–383 (2001).
- Tena N, Lazzez A, Aparicio-Ruiz R, García-González DL. Volatile compounds characterizing Tunisian Chemlali and Chétoui virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 7852–7858 (2007).
- Thakur M, Donnelly KAM. Modeling traceability information in soybean value chains. *Journal of Food Engineering* 99, 98–105 (2010).
- Tito-Huamaní PL, Bautista-Flores E. Estrategias de comercialización del Sacha inchi. *Gestión en el Tercer Milenio* 12: 37–49 (2009).
- Tsimidou M. Analytical methodologies: Phenolic compounds related to olive oil taste issues. In Aparicio R, Harwood J. (Eds.), *Handbook of olive oil: Analysis and properties*. New York: Springer Science+Business. pp. 311–334 (2013).
- Tura D, Failla O, Bassi D, Pedò S, Serraiocco A. Cultivar influence on virgin olive (*Olea europea* L.) oil flavor based on aromatic compounds and sensorial profile. *Science Horticulturae* 118: 139–148 (2008).
- Uluata S, Özdemir N. Antioxidant activities and oxidative stabilities of some unconventional oilseeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89: 551–559 (2012).
- United States Department of Agricultural (USDA). Oilseeds: World markets and trade. Circular Series, November (2013).
- Valadeau C, Alban-Castillo J, Sauvain M, Francis-LoresA, Bourdy G. The rainbow hurts my skin: Medicinal concepts and plants uses among the Yanesha (Amuesha), an Amazonian Peruvian ethnic group. *Journal of Ethnopharmacology* 127: 175–192 (2010).
- Valles CR. Sacha inchi bautizado como “Maní del Inca”. En Oportunidades comerciales. Tarapoto, Perú (1993).
- van der Werff H, Consiglio T. Distribution and conservation significance of endemic species of flowering plants in Peru. *Biodiversity and Conservation* 13: 1699–1713 (2004).

- Varzakas TH, Arvanitoyannis IS, Labropoulos AE. Food additives and contaminants. In Yildiz F. (Eds.), *Advances in food biochemistry*. Boca Raton, FL: Taylor and Francis Group, LLC. pp. 410–4560 (2010).
- Vas G, Vékey K. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry* 39: 233–254 (2004).
- Vasquez R, Gentry AH. Use and misuse of forest-harvested fruits in the Iquitos area. *Conservation Biology* 3: 350–361 (1989).
- Velasco J, Andersen ML, Skibsted LH. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry* 85: 623–632 (2004).
- Velasco J, Dobarganes C. Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: 661–676 (2002).
- Venir E. Flavors of dried apples. In Hui YH. (Eds.), *Handbook of fruit and vegetable flavors*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 515–529 (2010).
- Verleyen T, Sosinska U, Ioannidou S, Verhe R, Dewettinck K, Huyghebaert A, De Greyt W. Influence of the vegetable oil refining process on free and esterified sterols. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 79: 947–953 (2002).
- Vichi S, Castellote AI, Pizzale L, Conte LS, Buxaderas S, López-Tamames E. Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. *Journal of Chromatography A* 983: 19–33 (2003).
- Vichi S, Guadayol JM, Caixach J, López-Tamames E, Buxaderas S. Monoterpene and sesquiterpene hydrocarbons of virgin olive oil by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1125: 117–1123 (2006).
- Vigli G, Philippidis A, Spyros A, Dais P. Classification of edible oils by employing  $^{31}\text{P}$  and  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy in combination with multivariate statistical analysis. a proposal for the detection of seed oil adulteration in virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 5715–5722 (2003).
- Wang X, Xu R, Wang R, Liu A. Transcriptome analysis of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds at two developmental stages. *Genomics* 13:716 (2012).
- Wang Y, Finn C, Qian MC. Impact of growing environment on chickasaw Blackberry (*Rubus* L.) aroma evaluated by gas chromatography olfactometry dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 3563–3571 (2005).
- Warner K. Effects on the flavor and oxidative stability of stripped soybean and sunflower oils with added pure tocopherols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 9906–9910 (2005).
- Westerman D, Santos R, Bosley J, Rogers J, Al-Duri B. Extraction of Amaranth seed oil by supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids* 37: 38–52 (2005).
- Wiesman Z, Chapagain BP. Determination of fatty acid profiles and TAGs in vegetable oils by MALDI-TOF/MS fingerprinting. In Armstrong D (Eds.), *Lipidomics: Methods and protocols*. Vol. 1. New York: Humana Press. pp. 315–336 (2009).
- Wishart DS. Metabolomics: applications to food science and nutrition research. *Trends in Food Science and Technology* 19: 482–493 (2008).

- Yang M, Zheng C, Zhou Q, Huang F, Liu C, Wang H. Minor components and oxidative stability of cold-pressed oil from rapeseed cultivars in China. *Journal of Food Composition and Analysis* 29: 1–9 (2013).
- Yang Y, Duarte Ferro M, Cavaco I, Liang Y. Detection and identification of extra virgin olive oil adulteration by GC-MS combined with chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 3693–3702 (2013).
- Yildiz-Tiryaki G. Potential applications of HS-SPME/GC in oxidized vegetable oils. *Journal of Food Science and Engineering* 2: 263–270 (2012).
- Youssef O, Guido F, Manel F, Youssef NB, Luigi CP, Mohamed H, Daoud D, Mokhtar Z. Volatile compounds and compositional quality of virgin olive oil from Oueslati variety: Influence of geographical origin. *Food Chemistry* 124: 1770–1776 (2011).
- Zahar M, Reineccius G, Schirle-Keller JP. Argan oil aroma : effect of kernels roasting and oil extraction process, In *Actes du Premier Congrès International de l'Arganier*, December 15–17, 2011, Agadir, Morocco.
- Zhang X, Cambrai A, Miesch M, Roussi S, Raul F, Aoude-Werner D, Marchioni E. Separation of  $\Delta^5$ - and  $\Delta^7$ -phytosterols by adsorption chromatography and semipreparative reversed phase high-performance liquid chromatography for quantitative analysis of phytosterols in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 1196–1202 (2006).
- Zhao YP, Wang L, Li JM, Pei GR, Liu QS. Comparison of volatile compounds in two brandies using HS-SPME coupled with GC-O, GC-MS and sensory evaluation. *South African Journal for Enology and Viticulture* 32: 9–20 (2011).
- Zunin P, Boggia R, Salvadeo P, Evangelisti F. Geographical traceability of West Liguria extra virgin olive oils by the analysis of volatile terpenoid hydrocarbons. *Journal of Chromatography A* 1089: 243–249 (2005).



Piruw Republika



FINCyT



LASPAU