



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Tema: Estudio de la estabilidad del aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) a diferentes condiciones de inhibición oxidativa.

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previa a la obtención de título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

El presente estudio forma parte del proyecto “Fortalecimiento de la Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA) para la investigación, tecnología e innovación en el área de alimentos con el fin de promover la generación y desarrollo de empresas agroindustriales en la zona 3 del país; y monitorear el contenido de metales pesados en los cultivos afectados por las cenizas provenientes de las erupciones volcánicas del Tungurahua (FITA- UOITA)”

AUTOR: Sandra Elizabeth Santos Agualongo

Tutor: Dra. Mayra Liliana Paredes Escobar

AMBATO-ECUADOR

Julio 2018

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dra. Mayra Liliana Paredes Escobar

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 31 de Enero del 2018.



Dra. Mayra Liliana Paredes Escobar

C.I. 050187395-4

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Sandra Elizabeth Santos Agualongo, manifiesto que los resultados obtenidos en el proyecto de investigación, previo la obtención del título de Ingeniera en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



Sandra Elizabeth Santos Agualongo

C.I. 180449791-3

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Mg. Cecilia Mercedes Carpio

C.I. 170462765-0



Mg. Danae Fernández Rivero

C.I. 175718120-9

Ambato, 09 de Mayo del 2018

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este proyecto de investigación o parte del documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Sandra Elizabeth Santos Agualongo

C.I. 180449791-3

AUTORA

DEDICATORIA

A Dios, por haberme regalado la vida, y la fortaleza para cumplir ésta meta tan anhelada por mí y mi familia, porque me ayudaste en esos momentos difíciles, para continuar y concluir con la meta plantada desde cuando era casi una niña.

A mi familia, de manera muy especial a mi Madre Magdalena que siempre estuvo apoyandome incondicionalmente, enseñandome que lo mejor que un madre puede dejar a sus hijos es el estudio, que si me esfuerzo hoy, mañana tendré mi recompensa, usted que es el ser más valioso en mi vida quien renunció a todo por sus hijos

A mi hermano Oscar por el apoyo que me brindaste siempre y por los consejos de continuar con mi sueño

A mi Hijo, Sebitas por tí que eres la razón de todos mis esfuerzo, quiero que veas en mí un ejemplo de superación y que con el pasar del tiempo me superes!! hijo mío Te amo.

A mi Esposo, Mauro porque me has enseñanado a esforzarme cada día más y más, gracias por el tiempo y la confianza que me diste para poder continuar y concluir con este trabajo, fue difícil pero lo logramos juntos.

A mis tí@s Fanny, Alfredo, Balo, Mery mil gracias por siempre estar pendientes a todo momento los quiero mucho.

A mis amig@s

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, por haberme formado y dado la oportunidad de llegar a ser Ingeniera en Alimentos.

Un agradecimiento sincero desde lo mas profundo de mi corazón a mi tutora Dra. Mayra Paredes por haber sido mi guía durante la ejecución de este estudio, gracias por su tiempo, dedicación y comprensión para la culminación de este trabajo.

Ingeniero Mario Álvarez gracias por asesorarme durante toda la investigación, por su comprensión, paciencia y tiempo. Ingeniera Mónica Silva por sus enseñanzas, y por su apoyo desinteresado Dios les pague.

A mis calificadoras Mg. Cecilia Mercedes Carpio, Mg. Danae Fernández Rivero gracias por su dedicación.

Dr. Iñaki Angós por sus enseñanzas y por su apoyo durante la fase experimental.

Agradezco a todos los docentes que me han compartido sus conocimientos, sus experiencias.

CONTENIDO

CAPÍTULO I	1
El problema	1
1.1 Tema de investigación	1
1.2 Justificación	1
1.3 Objetivos	2
CAPÍTULO II	3
Marco teórico	3
2.1 Antecedentes Investigativos	3
2.2 Hipótesis	10
2.3 Señalamiento de variables	10
CAPITULO III	11
Materiales y métodos	11
3.1 Materiales	11
3.1.1 Materia Prima.....	11
3.1.2 Antioxidantes.....	11
3.1.3 Equipos	11
3.1.4 Reactivos	12
3.1.5 Materiales	13
3.2 Métodos	13
CAPÍTULO IV	27
4.1 Análisis y discusión de resultados	27
4.1.1. Características fisicoquímicas del aceite de Sacha inchi.	27
Perfil de ácidos grasos del aceite de Sacha inchi.....	27
4.1.2. Estabilidad del aceite de Sacha inchi a diferentes temperaturas.....	30
4.1.3. Tiempo de vida útil del aceite de sachá inchi	38
4.1.4. Comparación de las características fisicoquímicas entre el aceite de sachá inchi sin tratamiento (control) y el aceite de sachá inchi proveniente del mejor tratamiento.	42
CAPÍTULO V	46
Conclusiones y recomendaciones	46
5.1 Conclusiones	46

5.2	Recomendaciones	48
	Bibliografía	49
	ANEXO 1	57
	MANTENIMIENTO DEL EQUIPO OXITEST	57
	ANEXO 2	60
	CURVAS DE EXTRAPOLACIÓN PARA DETERMINAR EL TIEMPO DE CONSERVACIÓN DEL ACEITE DE SACHA INCHI.	60
	ANEXO 3	65
	FOTOGRAFÍAS	65
	ANEXO 4	71
	PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DEL ACEITE DE SACHA INCHI OBTENIDO EN EL CROMATÓGRAFO	71

Índice de tablas

Tabla 1.	Diseño estadístico anidado o jerárquico para muestras con alfa-tocoferol.	21
Tabla 2.	Diseño estadístico anidado o jerárquico para muestras con BHT	22
Tabla 3.	Diseño estadístico anidado o jerárquico para muestras con alfa-tocoferol.	24
Tabla 4.	Diseño estadístico anidado o jerárquico para muestras con BHT	25
Tabla 5.	Diseño experimental 23 para Vida Útil.	26
Tabla 6.	Valores promedio y desviación estándar del perfil de ácidos grasos del aceite de sachá inchi.....	27
Tabla 7.	Características fisicoquímicas del aceite de sachá inchi (control).	28
Tabla 8.	Tiempo de conservación (días) del aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L) con adición de tres porcentajes de alfa-tocoferol, obtenido por extrapolación matemática a tres temperaturas de conservación.	31
Tabla 9.	Tiempo de conservación (Días) del aceite de sachá inchi a dos porcentajes de BHT y un control obtenido por extrapolación matemática a tres temperaturas de conservación.....	34
Tabla 10.	Tiempo de vida útil (Días) del aceite de sachá inchi a las tres temperaturas usuales de conservación.	38
Tabla 11.	Determinación de las características fisicoquímicas del aceite de sachá inchi control, aceite de sachá inchi con alfa – tocoferol y con BHT.	42

Índice de figuras

Figura 1. MECANISMO GENERAL DE OXIDACIÓN DE LOS LÍPIDOS	4
Figura 2. Tiempo de conservación del aceite sacha inchi con alfa- tocoferol, almacenado a 5, 15 y 25 °C.	33
Figura 3. Tiempo de conservación del aceite sacha inchi con BHT, a 5, 15 y 25 °C....	37
Figura 4. Tiempo de vida útil del aceite de sacha inchi de los distintos tratamientos a las tres temperaturas usuales de almacenamiento.	41

RESUMEN

El aceite de sachá inchi es rico en ácidos insaturados, su principal componente es el ácido graso alfa-linolénico conocido también como Omega 3, en un porcentaje del 48,3%, seguido por el ácido graso linoleico (Omega 6) con 35,7%. El ácido linolénico debido a sus insaturaciones tiene una gran reactividad química y es propenso a la saturación y transformación; esta condición hace que la estabilidad del aceite sea baja y promueva la pérdida del valor nutricional, por la formación de una serie de compuestos indeseables.

En ésta investigación se determinó la estabilidad del aceite aplicando cuatro diferentes condiciones de inhibición oxidativa.

Como parámetros de control de la estabilidad fueron estudiados el índice de blanqueabilidad, índice de acidez, índice de saponificación, densidad relativa, punto de fusión, pérdida por calentamiento y estabilidad oxidativa.

Mejores resultados de estabilidad fueron obtenidos con la aplicación del antioxidante artificial BHT que con el antioxidante natural tocoferol sin embargo, el tiempo de vida útil obtenido con el antioxidante natural fue de 983,1 días, lo cual promete un tiempo suficiente para su comercialización y uso.

Palabras claves: inhibición oxidativa, conservación de alimentos, aceites, sachá inchi, tiempo de vida útil.

ABSTRACT

Sacha inchi oil is rich in unsaturated acids. Its main component is the alpha-linolenic fatty acid also known as Omega 3, in a percentage of 48.3%, followed by omega 6 linoleic acid with 35,7%. Linolenic acid due to its insaturations has a great chemical reactivity and is prone to saturation and transformation. This condition makes the stability of the oil lower and is considered as a factor that can generate the loss of nutritional value, forming a series of undesirable compounds.

In this research the stability of the oil was determined applying four different conditions of oxidative inhibition.

As control parameters studied were: bleachability index, acidity index, saponification index, relative density, melting point, heating loss and oxidative stability.

Better stability results were obtained with the application of the artificial antioxidant BHT than with the natural antioxidant tocopherol however, the shelf life obtained with the natural antioxidant was 983 days, which promises sufficient time for its commercialization and use

Keywords: oxidative inhibition, food preservation, oils, sachá inchi, shelf life.

INTRODUCCIÓN

El sacha inchi es una planta oleaginosa autóctona de la Amazonía ecuatoriana. Este cultivo fue masificado por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGAP), a través de capacitaciones sobre su cultivo y producción, además de información sobre las características nutritivas y la rentabilidad que tienen estas semillas, pues la cosecha se la realiza a partir de los 8 meses de siembra de la semilla, durante 10 a 15 años.

La Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2688 (NTE, 2014) define como aceite virgen al aceite extraído del fruto de sacha por procedimientos mecánicos como la extrucción y prensado que no producen alteraciones al producto.

El aceite de sacha inchi es rico en ácidos grasos insaturados (93%) y pobre en ácidos grasos saturados (6.19%) (Inkanat, 2016), según Ruiz (2010) es el mejor del mundo entre los aceites vegetales utilizados para consumo humano. También es un excelente aceite doméstico, cosmético y medicinal, muy rico en ácidos grasos insaturados. Es una fuente muy importante de omega 3, 6 y 9, la presencia de estos ácidos grasos esenciales en el cuerpo humano es indispensable, pues ayudan a disminuir los niveles de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos; y aumenta la HDL en las personas, disminuyendo los riesgos cardiovasculares.

El principal componente del aceite de sacha inchi es el ácido graso alfa-linolénico conocido también como Omega 3, y se lo encuentra en un porcentaje del 48,61%, seguido por el ácido graso linoleico omega 6 con 36,80% (Huamán et al., 2012). Los aceites que contienen ácidos grasos linoleico y linolénico debido a sus insaturaciones, tienen una gran reactividad química, son propensos a la saturación, a transformaciones oxidativas y de isomerización (Badui, 2006; Rodríguez, 2005; Castro y Gonzales, 2002).

La auto-oxidación de los ácidos grasos insaturados es ocasionada por una serie de reacciones en cadena de radicales libres; consta de la fase de iniciación donde se forma el radical lipídico $R\bullet$, a partir del RH por la presencia de radicales, oxígeno, luz, calor, irradiaciones y por trazas de metales; el radical lipídico formado reacciona con el oxígeno y forma un radical peroxilo $ROO\bullet$, éste último ataca a otra molécula de lípido y sustrae otro átomo de hidrógeno dando lugar a un hidroperóxido lipídico ROOH, y un nuevo radical lipídico iniciando la secuencia de propagación (Rojano, 1997).

El ciclo de propagación es interrumpido por las reacciones de terminación, que provocan la formación de sustancias volátiles como ésteres, cetonas, aldehídos, hidrocarburos, alcoholes, ácidos orgánicos y productos de polimerización, en esta fase participan los antioxidantes primarios reaccionando con los radicales peroxilos $ROO\bullet$, para convertirlos en productos más estables, mientras que los antioxidantes secundarios participan reduciendo la velocidad de la etapa de iniciación de la reacción, es importante mencionar que los tocoferoles, BHT, TBHQ y BHA son antioxidantes primarios.

La baja estabilidad del aceite de sachá inchi puede generar la pérdida del valor nutricional, formando una serie de compuestos indeseables. Se evidencia entonces la necesidad del uso de antioxidantes naturales, capaces de prevenir o retardar la oxidación que deteriora el aceite poliinsaturado.

Por otra parte en el mercado actualmente existen algunos antioxidantes naturales utilizados como la vitamina C, vitamina E (alfa- tocoferoles), extracto de romero, flavonoides y carotenos, además, antioxidantes sintéticos como butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), y terbutilhidroquinona (TBHQ) (Badui, 2006; Losada, 2013; Robledo, 2011). Que son útiles para la conservación de aceites.

El alfa- tocoferol es un antioxidante lipofílico que se localiza en las membranas celulares, actúa como protector de las moléculas lipídicas; su acción consiste

en proteger de la peroxidación a los ácidos grasos poliinsaturados e inhibir la peroxidación de las lipoproteínas, además neutraliza el oxígeno, captura radicales libres hidroxilos y neutraliza peróxidos (Armenteros et al, 2012).

El butilhidroxitolueno (BHT), es soluble en aceite, se usa para preservar ácidos grasos y es considerado como el antioxidante ampliamente utilizado en productos alimenticios.

CAPÍTULO I

El problema

1.1 Tema de investigación

Estudiar la estabilidad del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis L.*) a diferentes condiciones de inhibición oxidativa.

1.2 Justificación

Sachá inchi es una semilla de bajo costo de producción, el precio de la cápsula es de 60 centavos y como semilla de \$1,60/kg. En Ecuador no se dispone de plantas extractoras de aceite de sachá Inchi, lo cual ha generado el movimiento de la semilla a otros países para su extracción y conservación, provocando así un elevado incremento en el costo final del producto ecuatoriano (Cobo, 2015).

Asimismo, la tecnología de conservación del aceite de sachá inchi no ha sido desarrollada por lo que su comercialización es baja, junto con la ganancia del productor ecuatoriano.

La presente investigación propone estudiar la estabilidad del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis L.*) aplicando diferentes condiciones de inhibición oxidativa. Mediante la aplicación de diferentes parámetros como temperatura, tipo y concentración de antioxidante, atmósferas inertes y luz, se pretende minimizar la oxidación del aceite y extender el tiempo de almacenamiento, solucionando el problema de conservación durante el transporte y comercialización del aceite mejorando así el ingreso económico de la comunidad productora de aceite de sachá inchi.

1.3 Objetivos

Objetivo General

- Estudiar la estabilidad del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis L.*) a diferentes condiciones de inhibición oxidativa.

Objetivos Específicos

- Caracterizar el aceite de sachá inchi por métodos físico- químicos a tiempo cero.
- Determinar la estabilidad del aceite de sachá inchi a diferentes temperaturas, utilizando varios tipos y concentraciones de alfa- tocoferol y BHT como antioxidantes.
- Determinar el tiempo de vida útil del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis L.*) con el mejor tratamiento de inhibición oxidativa y a dos diferentes atmósferas y presencia de luz.
- Comparar las características físico- químicas del mejor tratamiento de inhibición oxidativa.

CAPÍTULO II

Marco teórico

2.1 Antecedentes Investigativos

El aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis L.*) contiene altos porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados, más del 48% corresponde a ácidos grasos omega 3, y aproximadamente el 37% a ácidos grasos omega 6 y un 8% a ácidos grasos omega 9, además es rico en vitaminas liposolubles, por tal razón se le considera propenso al deterioro oxidativo, éste daño oxidativo de los omegas provoca la pérdida del valor nutricional y la desvalorización del aceite.

Proceso de oxidación de los lípidos

Los procesos de oxidación de las grasas y aceites son los procesos más importantes de la química de los alimentos por ende una de las áreas de mayor investigación, este proceso de oxidación ocurre principalmente por la presencia de ácidos grasos insaturados, a través de una serie de reacciones en cadena de radicales libres que tienen la fase de iniciación, propagación y terminación como se observa en la Figura 1.

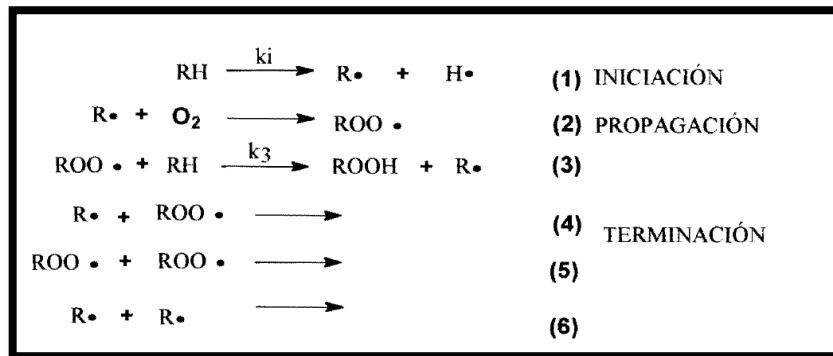


Figura 1. MECANISMO GENERAL DE OXIDACIÓN DE LOS LÍPIDOS

Ciclo de la oxidación de los aceites ricos en ácidos grasos insaturados

Fuente: Rojano. (1997)

En la fase de iniciación existen dos tipos de reacciones; en el primer grupo tenemos las reacciones de iniciación donde actúan las barreras energéticas que impiden la interacción de los ácidos grasos insaturados con el oxígeno, a este grupo pertenece la fotoxigenación, los metales y las hemoproteínas. Mientras que el segundo grupo está dado por catálisis enzimática (lipoxigenasas).

En la fase de propagación se encuentran los radicales lipídicos formados por uno de los dos grupos de iniciación que resultan ser especies muy reactivas que sufren rápidamente reacciones por abstracción del hidrógeno al reaccionar con una molécula de ácido graso (RH) o por una reacción con oxígeno en su estado basal.

La fase de terminación de la oxidación se da por la combinación de dos radicales.

Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos capaces de retardar, prevenir e inhibir los procesos de oxidación o aparición de otros compuestos prolongando el periodo

de inducción, los antioxidantes son más efectivos en extender el periodo de inducción cuando un aceite aún no han sufrido mucho deterioro. Los antioxidantes se clasifican de acuerdo a su modo de acción en primarios y secundarios.

Los antioxidantes primarios actúan como interruptores de la reacción de propagación que reaccionan con los radicales peroxilo ($\text{ROO}\bullet$), para convertirlos en productos más estables, estos tipos de antioxidantes son:

Butilhidroxitolueno (BHT), se usa para preservar aceites vegetales y grasas animales, actúa como un agente para suprimir la autooxidación, proceso por el cual los ácidos grasos insaturados son atacados por el oxígeno atmosférico, además tiene buen efecto en relación a la estabilidad de aceites vegetales terminados (Cortés et al., 2017).

Butilhidroxianisol (BHA), se usa para proteger las grasas sometidas a altas temperaturas, además previene la oxidación de aceites destinados para frituras y protege el color y aroma de los aceites esenciales (Enfoque, 2011).

Terbutildihidroquinona (TBHQ), es considerado como el mejor antioxidante para proteger aceites de fritura, puede ser usado en combinación con el BHT y BHA además no forma complejos con el hierro y el cobre (Enfoque, 2011).

Galato de propilo, es utilizado para estabilizar grasas y aceites vegetales su desventaja es que forma quelatos con el cobre y hierro dando coloraciones oscuras que no son agradables para el consumidor (Salas, 2008).

Los tocoferoles, actúan interrumpiendo reacciones de cadena con radicales libres, estabilizan la mayoría de los aceites y previenen la oxidación de ácidos grasos insaturados y sistemas lipídicos (Benítez, 2006).

Mientras que los antioxidantes secundarios reducen la velocidad de oxidación de los lípidos, algunos de ellos son: agentes secuestrantes, agentes quelantes que forman enlaces de tipo sigma σ con iones metálicos por algunos

componentes de los alimentos como el ácido cítrico, ácido etilendiamino tetracético (EDTA), ácido fosfórico y sus derivados, son compuestos que reducen el potencial redox del metal (Rojano, 1997).

Inactivadores de oxígeno singlete; como el (beta) β - caroteno que actúa como inactivador fotoquímico singlete formado por un sensibilizador en medio de la reacción (Rojano, 1997).

Algunos trabajos (Arana, 2008; Huamaní y Fores, 2009) de investigación muestran que la estabilidad del aceite de sachá inchi con la adición de antioxidantes se incrementa. Los antioxidantes más utilizados en la industria de los alimentos son los sintéticos, sin embargo, su consumo tiende a la eliminación pues existe preocupación respecto a su toxicidad y seguridad. El antioxidante butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT) muestran efectos adversos como el aumento del colesterol e inducción de cáncer, es por ello que se realizan investigaciones de adición de antioxidantes naturales seguros, inocuos y económicos. (Aditivos- alimentarios, 2016).

Zapata et al. (2015), indican el efecto positivo del uso de suspensiones de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW) a concentraciones de 1000, 1500 y 2000 mg L⁻¹ sobre la estabilidad del aceite de sachá inchi sometido a condiciones aceleradas de oxidación a temperatura de 60 °C por un lapso de 12 horas con flujo de aire de 1700 mL min⁻¹. Para determinar el deterioro de oxidación se midió la formación de compuestos polares y el valor de peróxido, como resultado del estudio se obtuvo que la concentración de mortiño de 200 mg L⁻¹ fue suficiente como antioxidante natural en el estudio de la estabilidad del aceite de sachá inchi.

En la Universidad Nacional del Santa, Chimbote, Perú (Villanueva, Rodríguez et al. 2017) se estudió el efecto que provoca la utilización de antioxidantes sintéticos y naturales sobre la estabilidad oxidativa del aceite de chía (*Salvia hispánica* L.) por la metodología del Rancimat. El aceite analizado fue extraído

por prensado en frío y almacenado en un frasco obscuro por 30 días con atmósfera de nitrógeno. El método utilizado plantea condiciones aceleradas de temperatura de 90, 100 y 110°C, el resultado obtenido del periodo de inducción es el índice de estabilidad oxidativa (OSI) y se expresa en horas. Esta investigación determinó que la mejor muestra fue aquella tratada con antioxidante BHT a 90 °C y un índice de estabilidad oxidativa de 8,0 h; a 100°C de 3,8 y a 110 °C de 1,9 h. Mientras que la muestra control presentó valores de OSI de 6,2 h ; 3,0 h y 1,5 h respectivamente a las temperaturas antes indicadas. En resumen los resultados reportados muestran que la adición de antioxidantes naturales y sintéticos incrementa la estabilidad oxidativa del aceite. Los resultados obtenidos según la metodología de Rancimat pueden compararse con aquellos obtenidos por la metodología OXITEST, en virtud que trabajan a temperaturas aceleradas de oxidación y reportan periodos de inducción como índice de estabilidad oxidativa en horas.

Paucar, Salvador et al. (2015) determinaron el tiempo de vida útil de algunos tipos de aceites entre ellos el aceite de sacha inchi, el aceite de oliva y el aceite crudo de pescado a condiciones aceleradas de oxidación utilizando temperaturas de 100 °C, 120 °C y 150 °C; con los valores obtenidos de periodo de inducción realizaron una extrapolación matemática a 25 °C indicando que el aceite de sacha inchi tiene 93 días de vida útil, el aceite de oliva 137 días de vida útil y el aceite crudo de pescado tiene 2 días de vida útil, al comparar estos resultados con los valores obtenidos en nuestro estudio, el aceite de sacha inchi tiene un tiempo de vida útil a 25 °C de $91,3 \pm 2,3$ días, lo que corrobora los resultados obtenidos en nuestro estudio a un nivel de significancia del 5 %.

Rodríguez, et al. (2015) estimaron el tiempo de vida útil del aceite de sacha inchi extraído por prensado en frío y mantenido en nitrógeno durante 45 días en frascos oscuros; por el metodo Rancimat a condiciones de temperatura elevada de 80, 90, 100 y 110 °C. Además, determinaron los indicadores fisicoquímicos como el índice de peróxido que presentó un valor de 0,8 meq

O₂/kg de aceite, densidad de 0,92 g/ml, acidez de 0,2 ± 0,1 %. Los resultados reportados para estabilidad oxidativa son de 20,5 h; 4,6 h; 1,6 h; 0,5 h, respectivamente a las temperaturas de ensayo, donde por extrapolación matemática reportan un tiempo de vida útil de 3,3, 1,8 y 0,8 horas a temperaturas usuales de almacenamiento de 20, 25 y 30 °C. Nakatani et al. (2001) mencionan que los valores de estabilidad oxidativa varían con la temperatura (citado en Rodríguez, et al. 2015, pag.3).

De igual manera Hurtado estudió la estabilidad del aceite de sachá inchi (extraído por dos métodos Soxhlet y prensado) por el método Rancimat con parámetros de temperatura de 120°C obteniendo un valor de estabilidad oxidativa para el aceite extraído por método Soxhlet de 2 horas y tiempo de vida útil de 1,1 meses, mientras que para el aceite obtenido con el método de extracción por prensado en frío reporta un valor de estabilidad oxidativa de 3 horas y tiempo de vida útil de 1,6 meses. Al comparar con los valores de tiempo de estabilidad de 5 horas y tiempo de vida útil de 2,7 meses del aceite de girasol que posee características similares al aceite de sachá inchi, éste tiene baja estabilidad mencionando que las condiciones de envasado y almacenado deben evitar la presencia de oxígeno y uso de recipientes de color ámbar que permitan conservar los ácidos grasos insaturados del aceite de sachá inchi (Hurtado, 2013).

Existen distintos estudios para mejorar la estabilidad del aceite de sachá inchi. A continuación se presenta un estudio realizado por Chasquibol et al. (2015) el cual evalúa la actividad antioxidante del extracto de papa sobre la estabilidad del aceite de sachá inchi por el método Rancimat, por su riqueza en ácidos grasos linolénico y linoleico, ácidos esenciales para el desarrollo fetal, crecimiento de los niños y para evitar enfermedades cardiovasculares, en el estudio se aplicó extracto de papa sobre las muestras de sachá inchi almacenadas a temperatura ambiente y a -5 °C durante 110 días, se comprobó la estabilidad por el Método Rancimat presentando valores de 14,1 y 15,2 horas

a temperatura ambiente y a -5 °C de 15,9 y 17,0 horas, los resultados confirman la capacidad antioxidante de los extractos de cáscara de papa leona como el mejor para incrementar la estabilidad de los aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados.

Además, existen pocos trabajos que evalúan el efecto de la temperatura y tiempo de tratamiento térmico de las almendras de sachá inchi, sobre el rendimiento y las características fisicoquímicas del aceite extraído por prensado en frío, el aceite obtenido de cada ensayo experimental fue sometido a análisis fisicoquímicos, encontrando que el rendimiento y el índice de peróxido son directamente proporcionales entre sí.

Otro estudio también realiza la caracterización química de las semillas del aceite de sachá inchi que han sido sembradas por accesiones en el departamento de Tarapoto y San Martín; como resultado de los análisis fisicoquímicos reportan valores de índice de acidez de 0,04-0,1 mg de KOH/g de aceite, las accesiones 2 y 6 fueron las de mayor concentración sin superar el 1% siendo el límite permitido para aceites vírgenes. En cuanto al índice de peróxidos los resultados variaron desde 0,4 a 4,7 meq. O₂/kg de aceite, éstos análisis se realizaron en el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana por el investigador Merino, Vásquez et al. (2008).

Enciso (2013) por su parte trabajó en la evaluación de ácidos grasos y propiedades fisicoquímicas en aceites crudos de sachá inchi de la selva central de Perú, procedentes de los departamentos Huánuco, Junín y Ucayali y realizó determinaciones del índice de yodo, índice de saponificación, índice de acidez y de peróxido por métodos AOAC, además evaluó los ácidos grasos por cromatografía de gases obteniendo los valores más altos de ácido alfa linolénico.

Sánchez (2012) realizó la caracterización y cuantificación de los ácidos grasos omega 3 y 6 presentes en el aceite de sachá inchi; el objetivo propuesto en este

estudio fue determinar el perfil lipídico, índices de calidad, estabilidad oxidativa y actividad antioxidante.

Soyago et al. (2007) investigaron acerca del efecto del poder como antioxidante de la vitamina E sobre los aceites vegetales y su papel frente a enfermedades como trastornos cardiovasculares y Alzheimer, determinando que la estabilidad con tocoferoles es mucho mayor en el aceite de soya que con los antioxidantes sintéticos. Martínez de la Cuesta (1995) indicó que dentro del grupo vitamina E se encuentra la especie alfa- tocoferol, que por su actividad antioxidante se ha estudiado la rancidez y estabilidad antioxidante en distintos aceites evaluando las concentraciones de tocoferoles junto con otros factores. Por otro lado Elmadfa y Wagner (1997) demostraron que los alfa y gama tocoferoles tienen mayor poder antioxidante que los tocotrienoles (citado en Soyago et al, 2007, pag.5).

2.2 Hipótesis

Hipótesis Nula

Ho: El uso de antioxidantes, tipos de envases y aplicación de atmósferas inertes no afecta la estabilidad del aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

Hipótesis Alternativa

Ha: El uso de antioxidantes, tipos de envases y aplicación de atmósferas inertes afecta la estabilidad del aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

2.3 Señalamiento de variables

Variables Independientes

- Temperatura de almacenamiento, tipo y concentración de antioxidante, tipo de envase, tipo de atmósfera inerte.

Variables Dependientes

- Estabilidad oxidativa del aceite de Sacha inchi

CAPITULO III

Materiales y métodos

Las pruebas experimentales se desarrollaron en el Laboratorio de Análisis Instrumental (Proyecto Canje de deuda Ecuador - España) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

3.1 Materiales

3.1.1 Materia Prima

Para la determinación de la estabilidad del aceite se utilizaron semillas de la Zona Talag, Provincia de Napo, variedad Sacha plukenetia volubilis Lineo. El aceite de sachá inchi se obtuvo por prensado en frío a una temperatura de 50 a 60°C, en expeller, marca FLORAPOWER, modelo OLSAATEN “1283 F”, en el laboratorio de Oleaginosas.

3.1.2 Antioxidantes

- Alfa - tocoferol de 100 IU, marca MASON-E-326 antioxidante natural.
- Butilhidroxitolueno (BHT), código E-321, antioxidante artificial Feed Grade (F.G).

3.1.3 Equipos

- VELP SCIENTIFICA OXITEST Oxidation Test Reactor
- Mufla (NABER THERM)
- Balanza analítica (METTLER – XPE)
- Cámara de extracción de gases y humos tóxicos (NOVATECH – CE120BA)
- Refrigerador (MABE)
- Espectrofotómetro (THERMO Fisher Scientific)
- Expeller (OLSAATEN “1283 F”)
- Estufa (THERMO SCIENTIFIC)

- Cromatografo de gases con detector de masas (Agilent Technologies 7693 Autosampler)
- Inyector de nitrógeno
- Cilindro de oxígeno
- Cilindro de nitrógeno

3.1.4 Reactivos

- Mezcla (1:1) de alcohol – éter dietílico
- Solución 0,1 N de hidróxido de sodio o de potasio (KOH)
- Solución 0,5 N de hidróxido de sodio o de potasio (KOH)
- Solución 0,5 N de ácido clorhídrico o sulfúrico (H₂SO₄)
- Solución saturada de yoduro de potasio (KI)
- Solución indicadora de fenolftaleína al 1% (C₂₀H₁₄O₄)
- Solución 1 N de Tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃)
- Ácido acético glacial (CH₃COOH)
- Solución del almidón
- Alcohol etílico (C₂H₆O)
- Cloroformo (CHCl₃)
- Glicerina (C₃H₈O₃)
- Oxígeno (O₂)
- Nitrógeno (N₂)
- Hexano (C₆H₁₄)
- Éter dietílico (C₂H₅)₂^o
- Solución de hidroxido de potasio 0,5 M en Metanol
- Solución de ácido clorhídrico- metanol (1:4 v/v)
- Hexano grado cromatógrafo.
- Agua destilada ultra pura
- Estándares de ácidos grasos

3.1.5 Materiales

- Tubos capilares
- Termómetro de mercurio
- Vaso de precipitación
- Pipeta de Mohr
- Matraz erlenmeyer
- Buretas de 25 cm³
- Pipetas volumétricas de 25 cm³
- Pipetas volumétricas
- Micropipetas y sus respectivas puntas
- Balones de aforo
- Cápsulas de porcelana
- Pinzas
- Agua tipo I
- Guantes de látex
- Mascarillas
- Botellas de vidrio color ámbar de 30 cm³
- Frascos de lata de 250 cm³
- Pinzas
- Pipeta Automática de 100- 100 µl
- Gradilla
- Cronometro
- Tubos bacteriológicos de xx cm³ con tapa
- Probeta de 10 y 25 cm³

3.2 Métodos

Los análisis físico químicos del aceite de sachá inchi fueron determinados mediante las siguientes metodologías.

3.2.1 Obtención de ésteres metílicos de los materiales grasos

Para la obtención de los ácidos grasos presentes en el aceite de Sacha Inchi en un tubo con tapa rosca de 20 cm³ se pesó 0,025 g de aceite, se adicionó 2 cm³ de la solución metanólica de KOH 0,5 M; se realizó la reacción en baño María a ebullición, durante 10 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Luego se añadió 1 cm³ de solución metanólica de HCL (1:4 v/v), seguidamente se colocó los tubos en baño María a 50 °C, durante 25 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente, después se añadió 3 cm³ de agua destilada y agitación. Para extraer los ésteres metílicos de los ácidos grasos, se colocó 10 cm³ de hexano grado cromatográfico y se agitó por 10 seg, posteriormente se extrajo 1 cm³ del extracto de hexano en un vial cromatográfico para su posterior separación en el cromatógrafo de gases (Agilent technologies 7890B GC System), con un detector de masas (Agilent technologies 5977^a MSD). Se utilizó una columna HP- 88 (60 metros/ 0,25 milímetros, 0,20 micras- 50 a 250/260 °C) para conseguir el fraccionamiento.

3.2.2 Determinación del índice de blanqueabilidad DOBI.

Para la determinación del índice DOBI se siguió la metodología de Loh, et. al. (2006) y Swoboda (1982), para lo cual se calentó 5 gramos de aceite hasta 50 °C, para eliminar la humedad y se filtró para eliminar las impurezas.

Se colocó 100 mg de aceite previamente calentado y enfriado en un balón de 10 cm³ y se aforó con n- hexano y se mezcló bien la solución, se tomaron 2 celdas de cuarzo, la primera se lavó y llenó con n- hexano (blanco) la segunda celda se lavó y llenó con la solución. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 446 y 269 nanómetros en un espectrofotómetro (THERMO Fisher Scientific)(Han et al, 2012). Para cada determinación se trabajó por triplicado con los resultados obtenidos se calculó DOBI con la siguiente ecuación:

$$DOBI = \frac{Abs446nm}{Abs269nm}$$

(Ecuación 1)

3.2.3 Determinación del índice de acidez

El índice de acidez del aceite de sachá inchi se determinó de acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0038 (NTE, 1973). Se preparó 300 cm³ de la mezcla (1:1) de alcohol- éter dietílico, se añadió 1 cm³ de fenolftaleína y manteniendo la agitación, se agregó la solución 0,1 N de hidróxido de potasio hasta que aparezca un color rosado que persista por 30 segundos, llegando así a la neutralización.

En un erlenmeyer se pesó 3 gramos de aceite y se agregó 20 cm³ de la solución alcohol- éter neutralizada y conservando la agitación titulamos los ácidos grasos con hidróxido de sodio 0,1 N hasta alcanzar una coloración rosada (Padilla, 2015). La acidez del aceite se determinó aplicando la siguiente ecuación:

$$A = \frac{M.V.N}{10.m}$$

(Ecuación 2)

Dónde:

A = acidez del aceite

M = masa molecular del ácido oleico (282)

V = volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación en cm³

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio (0,1)

M = masa de la muestra analizada en gramos

Determinación del índice de saponificación

Se utilizó la metodología de Lafont et al (2011), para lo cual se preparó una solución de ácido sulfúrico 0,5 N, solución etanólica de KOH 0,7 N, solución indicadora de fenolftaleína al 1 %.

En un erlenmeyer de 250 cm³ se pesó 2 gramos de aceite, se colocó 25 cm³ de la solución etanólica de hidróxido de potasio, seguidamente se conectó el erlenmeyer a un refrigerante y se calentó utilizando baño maría durante 60 minutos, luego en caliente se colocó 1 cm³ de la solución del fenolftaleína y finalmente se tituló en caliente el exceso de hidróxido de potasio con la solución 0,5 N de ácido sulfúrico hasta que desaparezca la coloración rosada (AOCS Cd 3-25, 2003). Para la determinación del ensayo blanco se procedió de la misma manera, menos la muestra de aceite. Con el volumen de la solución de ácido sulfúrico consumido aplicamos la siguiente ecuación para el cálculo correspondiente:

$$i = \frac{56,1(V_1 - V_2)N}{m}$$

(Ecuación 3)

Dónde:

i = índice de saponificación del aceite, en mg/g

V_2 = volumen de ácido sulfúrico empleado en la titulación de la muestras, en cm³

V_1 = Volumen de ácido sulfúrico empleado en la titulación del ensayo blanco, en cm³

N = normalidad del ácido sulfúrico (0,5 N)

m = masa del aceite analizado, en cm³

Determinación de la densidad relativa 25/25°C, (d_{25}).

Calibración del picnómetro

Se preparó una solución crómica disolviendo 12,5 g de dicromato de sodio en 50 cm³ de agua destilada, se agregó con mucho cuidado 500 cm³ de ácido sulfúrico concentrado sin dejar dicromato de sodio sin disolver, se sumergió el picnómetro Gay- Lussac de 50 cm³ por 24 horas en la solución preparada. Durante toda la determinación debe evitarse que el picnómetro tenga contacto directo con las manos del manipulador, después se lavó el picnómetro 5 veces en agua corriente y 2 veces con agua destilada, a continuación se lavó 5 veces con alcohol etílico y luego con éter etílico para después secarlo totalmente hasta eliminar vapores.

El picnómetro se llenó completamente con agua destilada previamente hervida y enfriada a temperatura ambiente (20 °C), se tapó evitando la presencia de burbujas de aire, a continuación se sumergió en baño de agua a 25 °C durante 30 minutos, luego se sacó el picnómetro, se secó con papel absorbente y se dejó enfriar a temperatura ambiente por 30 minutos, se pesó en una balanza analítica sensible a 0,1 mg, y finalmente se vació el picnómetro, se lavó con alcohol etílico luego con éter etílico y se dejó secar.

Para la determinación, se llenó el picnómetro con el aceite de sachá inchi, se tapó cuidadosamente evitando la formación de burbujas y se sumergió en el baño de agua a 25 °C durante 30 min, luego se sacó del baño de agua, se secó con papel absorbente, se dejó enfriar a temperatura ambiente por 30 minutos y se pesó. Para calcular la densidad relativa a 25/25 °C se utilizó la siguiente ecuación:

$$d_{25} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

(Ecuación 4)

Dónde:

d_{25} = densidad relativa a 25/25 °C

m = masa del picnómetro vacío en gramos

m_1 = masa del picnómetro con agua destilada en gramos

m_2 = masa del picnómetro con muestra de aceite en gramos

Determinación del punto de fusión

Se determinó en base al método de capilar cerrado mostrado por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 474 (NTE, 180). Se calentó y enfrió la muestra varias veces para eliminar la humedad, se llenó 5 tubos capilares de diámetro interior de 2 mm con longitud de 80 mm colocando verticalmente los tubos capilares sobre la muestra de aceite para que ascienda hasta la altura de 15 mm, se retiró los tubos del aceite, se limpió la grasa alrededor del tubo capilar y se procedió a sellar el extremo inferior del tubo con ayuda de un mechero, luego se colocó los capilares alrededor del termómetro de mercurio de -20°C sujetándolos con una liga de tal forma que el aceite contenido en los capilares quede a la altura del bulbo del termómetro.

En un vaso plástico se agregó 100 cm³ de glicerina (Punto de fusión 17,8 °C), sobre ésta se colocó el termómetro y los capilares sujetos entre sí evitando que se sumerjan más de 4 cm sobre las muestras bajo el nivel del glicerol. Posteriormente el vaso y muestras se llevaron a un congelador por 24 horas para la completa solidificación, una vez transcurrido este tiempo se sacó del congelador y se procedió a registrar la temperatura a la cual el aceite comienza a volverse líquido y transparente. El punto de fusión es el promedio de las lecturas termométricas registradas y se calculó con la siguiente ecuación:

$$PF = \frac{\text{Punto.fusión.inicial} + \text{Punto.fusión.final}}{2} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Determinación de la pérdida por calentamiento

Se determinó mediante el método de la plancha eléctrica de calentamiento que es aplicable a todos los aceites secantes según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0039 (NTE, 1973).

Se tomó 3 cápsulas de porcelana de aproximadamente 9 cm de diámetro y 3 cm de profundidad, se lavó, se colocaron en un estufa por 3 horas a 60C, luego se dejó en reposo en un desecador por 24 horas. Para cada determinación se manipuló la cápsula evitando el contacto con el manipulador.

Sobre la cápsula tarada, y conteniendo el termómetro se pesó 20 gramos de la muestra, luego se calentó la cápsula con su contenido en la plancha de calentamiento dejando que la temperatura se eleve hasta 105°C sin exceder, se agitó durante todo el calentamiento, se procedió al calentamiento a 105°C y luego al enfriamiento a 95 °C por 15 veces para asegurar la completa eliminación de la humedad. A continuación se enfrió la muestra hasta la temperatura ambiente en el desecador y finalmente se pesó.

El procedimiento de calentamiento y enfriamiento se realizó varias veces hasta que los resultados no difieran de los 0,002 gramos. La pérdida por calentamiento se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$P = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} * 100$$

(Ecuación 6)

Dónde:

p = pérdida por calentamiento, en porcentaje de masa

m = masa de la cápsula con el termómetro, en gramos

m_1 = masa de la cápsula con el termómetro y la muestra, antes del calentamiento en gramos

m_2 = masa de la capsula con el termómetro y la muestra, después del calentamiento en gramos

Determinación de la estabilidad oxidativa.

Para la determinación del mejor tratamiento de conservación del aceite de sacha inchi, se midió la estabilidad oxidativa utilizando el reactor Oxitest, para lo cual se siguió el siguiente procedimiento:

Preparación de la muestra

En un vaso de precipitación de 100 cm³ se colocó 50 cm³ de aceite sacha inchi con 0,005 gramos de alfa- tocoferol (al 0,01% de antioxidante natural), se mezcló la muestra con ayuda de una plancha de agitación y agitadores magnéticos durante 10 minutos evitando la incorporación de oxígeno.

Se procedió a abrir las 2 cámaras de oxidación del reactor Oxitest, donde se limpiaron tanto el soporte de muestras de titanio como los 2 espaciadores por cámara, primero con hexano y luego con alcohol etílico, para la completa eliminación de residuos del hexano. Se engrasó (grasa para altas temperaturas) el empaque que se encuentra alrededor de la cámara para evitar fugas. Luego se colocaron los dos espaciadores y sobre ellos el soporte de titanio que contiene $6 \pm 0,03$ g de muestra de aceite de sacha inchi con y sin antioxidante previamente pesado cada una sobre las dos cámaras de oxidación evitando el contacto directo con las manos, se cerraron las cámaras colocando las tapas que contiene las válvulas que controlan la presión en el equipo, una vez colocada la muestra en el equipo se conectó al equipo que contiene el software VELP OXITEST OXIsoft. A continuación se procedió a ingresar los datos; peso exacto de las muestras con 4 decimales, se seleccionó la temperatura de oxidación (80, 90 y 100°C), presión (6 bares) y el tiempo probable de duración del proceso de oxidación en (horas: minutos) como se muestra en el siguiente cuadro.

Cuadro 1. Ingreso de datos en el programa VELP OXITEST OXIsoft.

The screenshot shows the Velp Oxitest OxiSoft software interface. At the top, there are four control panels for 'Work OXITEST 1' through '4', each with a 'Rows' input and green/red status buttons. Below these is a main data table with columns for Sample Name, Weight [g], Test Type, S/N Oxitest, Reactor, IP Calculation Method, Induction Period [hh:mm], Curve 1, and Curve 2. The table contains 6 rows of data (119-124). To the right of the table is a summary panel for 'OXITEST 1' (ID: 0349487) showing 'Status: In progress', 'Temperature: 89,9', 'Pressure A [bar]: 6,01', 'Pressure B [bar]: 6,23', and 'Run to maintenance: 0'. Below this is a section for 'OXITEST 2' with the value 'NC'.

	Sample Name	Weight [g]	Test Type	S/N Oxitest	Reactor	IP Calculation Method	Induction Period [hh:mm]	Curve 1	Curve 2
✓ 119	sacha inchi T3, R1 a 100°C	6,081	Sample	0349487	A	LSM	2:41	Y = -0,116X +6,04	Y = -4,216X +17,11
✓ 120	sacha inchi T4, R1 a 100° C	6,080	Sample	0349487	B	LSM	3:23	Y = -0,135X +5,97	Y = -4,282X +20,03
✓ 121	sacha inchi T7, R1 a 100°C	6,022	Sample	0349487	A	LSM	2:38	Y = -0,084X +6,01	Y = -3,938X +16,22
✓ 122	sacha inchi T8, R1 a 100°C	6,029	Sample	0349487	B	LSM	3:26	Y = -0,131X +6,12	Y = -4,746X +22,04
✓ 123	sacha inchi T7, R1 a 90°C	6,027	Sample	0349487	A	LSM	6:47	Y = -0,045X +6,04	Y = -2,561X +23,13
✓ 124	sacha inchi T8,R1a 90°C	6,024	Sample	0349487	B	LSM	8:11	Y = -0,045X +6,13	Y = -2,988X +30,27

Una vez ingresados los datos se esperó que la temperatura llegue a 80 °C (temperatura deseada de análisis) (Rodríguez, 2015), la presión debe permanecer en negativa. Una vez que la temperatura llegó a los 80 °C se presurizó, se esperó por 10 minutos, luego salió un mensaje indicando que cierre las válvulas, se cerró las válvulas del equipo, se abrió la llave del tanque y la llave de paso del oxígeno y se reguló la presión a 6 bares.

Se esperó que la presión suba a 6 bares y finalmente se dejó que corra el tiempo requerido (22 horas aproximadamente) para el análisis de la muestra del aceite de sacha inchi. Los resultados se determinaron en base al método descrito por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN- ISO 6886 (NTE, 2014); la preparación de la muestra se basó en la norma INEN- ISO 661 (NTE, 2014).

Para la determinación en el equipo se aplicó los siguientes factores.

Tabla 1. Diseño estadístico anidado o jerárquico para muestras con alfa-tocoferol.

Tratamientos **Factor principal :** **Factor anidado:** **Parámetros OXITEST:**
Concentración de alfa- **Temperatura y presión constante de 6 bares**
tocoferol

1	0,01	80
2		90
3		100
4	0,03	80
5		90
6		100
7	0,05	80
8		90
9		100

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

Se obtuvo como respuesta experimental el periodo de inducción IP (Tiempo en el que el aceite inicia el periodo de oxidación). Se realizaron 3 réplicas.

Tabla 2. Diseño estadístico anidado o jerárquico para muestras con BHT

Tratamientos	Factor principal :	Factor anidado:	Parámetros OXITEST:
	Concentración de BHT	temperatura y presión constante de 6 bares	
1	0,01	80	
2		90	
3		100	
4	0,02	80	
5		90	
6		100	

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

Con los valores obtenidos del periodo de inducción (IP) expresado en horas se efectuó una extrapolación matemática utilizando la siguiente ecuación de la recta:

$$y = mx + c$$

(Ecuación 7)

Donde:

y = temperatura a la cual se somete el aceite a oxidación en el Reactor OXITEST, que puede ser 80, 90 y 100 °C.

m = pendiente de la recta.

X = periodo de inducción, llamado también índice de estabilidad en horas.(valor obtenido del Reactor OXITEST).

C = es la ordenada en el origen.

Aceite de sachá inchi con alfa- tocoferol.

$$y = -0,0911x + 10,22$$

(Ecuación 8)

Aceite de sachá inchi con BHT.

$$y = -0,092x + 10,465$$

(Ecuación 9)

Donde se obtuvo el tiempo de conservación (días) del aceite de sachá inchi con los dos tipos de antioxidante a temperaturas usuales de almacenamiento de 5, 15 y 25 °C.

Análisis estadísticos de resultados

Se realizó un análisis de varianza mediante el programa Statgraphics para determinar que tratamiento resultó ser el mejor, en cuanto al tiempo de conservación del aceite. A continuación se presenta una tabla de los factores utilizados para el análisis.

Tabla 3. Diseño estadístico anidado o jerárquico para muestras con alfa-tocoferol.

Tratamientos	Factor principal : porcentaje de alfa- tocoferol	Factor anidado: Temperatura extrapolada (°C) con los valores del tiempo de conservación
1	0 (control)	5
2		15
3		25
4	0,01	5
5		15
6		25
7	0,03	5
8		15
9		25
10	0,05	5
11		15
12		25

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

Se realizó un análisis de varianza y prueba de Tukey para determinar cuál es el mejor tratamiento de aceite con antioxidante alfa- tocoferol determinando el tiempo (días) en el que el aceite inicia el periodo de oxidación.

Tabla 4. Diseño estadístico anidado o jerárquico para muestras con BHT

Tratamientos	Factor principal : Concentración de BHT	Factor anidado: Temperatura extrapolada con los valores del tiempo de conservación
1	0(control	5
2		15
3		25
4	0,01	5
5		15
6		25
7	0,02	5
8		15
9		25

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

También, se aplicó la prueba de Tukey para determinar cuál es el mejor tratamiento de aceite con antioxidante BHT determinando el tiempo (días) en el que el aceite inicia el periodo de oxidación. Es importante mencionar que se trabajó con 3 réplicas.

Determinación del tiempo de vida útil

Para esta prueba se realizó la comparación de los mejores resultados de los tratamientos, es decir:

Aceite Sacha inchi con antioxidante BHT a concentraciones permitidas según establece la Norma NTE INEN 2 074:2012, para grasas y aceites vegetales.

Aceite Sacha inchi con antioxidante alfa-tocoferol.

Las dos muestras de aceite con los dos tipos de antioxidantes se colocaron a las mismas condiciones, en dos tipos de envases (botella de vidrio color ámbar de 30 cm³; envase de hojalata de 250 cm³) y con y sin atmósferas inertes (nitrógeno).

Los envases fueron almacenados por un tiempo de 30 días, luego se extrajeron muestras para los análisis de estabilidad oxidativa en el equipo oxitest con los parámetros indicados en la tabla 1, una vez obtenidos los valores IP se realizó la extrapolación matemática a 5, 15 y 25 °C

Para determinar el tiempo de vida útil se aplicó el diseño 2³ para comparar los dos tipos de tratamientos de conservación de aceites. Los factores utilizados para el análisis fueron:

Tabla 5. Diseño experimental 2³ para Vida Útil.

FACTORES	NIVELES
A: Tipo de tratamiento	a0: con alfa-tocoferol
	a1: Con BHT
B: Tipo de envase	b0: Vidrio
	b1: Lata
C: Atmósfera inerte	c0: Con nitrógeno
	c1: Sin nitrógeno

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

Se efectuó el análisis de varianza y la prueba de Tukey al 95 % para determinar cual tratamiento es el que tiene mayor tiempo de vida útil.

CAPÍTULO IV

4.1 Análisis y discusión de resultados

4.1.1. Características fisicoquímicas del aceite de Sacha inchi.

Perfil de ácidos grasos del aceite de Sacha inchi

El perfil de ácidos grasos del aceite de sachá inchi se muestran en la Tabla 6. Se observa que el aceite presenta ácidos grasos insaturados y poliinsaturados en la mayor parte de su composición, siendo los compuestos mayoritarios el ácido graso linolénico con el 48,3 %, seguido por el ácido graso linoleico con el 35,7 % y el ácido oleico con el 8,8 %.

Tabla 6. Valores promedio y desviación estándar del perfil de ácidos grasos del aceite de sachá inchi

Tipo de ácido graso	Ácidos grasos	Abrev.	Familia	Aceite de sachá inchi
Saturados	Palmítico	(C16:0)		4,12 ± 0,04
	Estearico	(C18:0)		3,13 ± 0,12
Insaturados	Oleico	(C18:1)	Ω- 9	8,77±0,16
Poliinsaturados	Linoleico	(C18:2)	Ω- 6	35,67 ± 0,04
	Linolénico	(C18:3)	Ω- 3	48,33 ± 0,28
Ácidos grasos saturados				7,24
Ácidos grasos monoinsaturados				8,77
Ácidos grasos poliinsaturados				84,00

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

En la Tabla 7 se indican las características fisicoquímicas del aceite de sachá inchi. El valor del índice de saponificación obtenido fue de 197,2 mg KOH/g de aceite, el mismo que es similar a los reportados obtenidos por Enciso (2013) quien reportó índices de saponificación en muestras de sachá inchi crudo de 187,5; 190, 8 y 192,6 mg de KOH/g de aceite.

Tabla 7. Características fisicoquímicas del aceite de sachá inchi (control).

CARACTERÍSTICA	R1	R2	R3	Promedio y desv. estándar
Índice de saponificación (mg KOH/g de aceite)	197,3	197,2	197,2	197,3 ± 0,08
Índice de acidez (g ác. oleico/100g de aceite)	1,3	1,3	1,2	1,3 ± 0,05
Densidad (25/25 °C)	0,93	0,93	0,93	0,93 ± 4,45E-05
Punto de fusión (°C)	-9,0	-9,0	-9,0	-9,0 ± 0,02
Pérdida por calentamiento %	0,2	0,2	0,2	0,2 ± 0,01
Deterioro del índice de blanqueabilidad (DOBI)	0,006	0,006	0,006	0,006 ± 0,00
Índice de peróxidos (meq. O ₂ /kg de aceite).	1,4	1,4	1,4	1,4 ± 0,012

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

El valor del índice de acidez obtenido fue de 1,3 g ác. oleico/100 g de aceite. Vela (1995) reportó valores de índice de acidez de 1,6 y 1,7 g ác. oleico/100 g de aceite en aceite de sachá inchi extraído por prensado en frío. El aceite estudiado presenta valores de ácido oleico similares a los reportados por Vela (1995), los mismos que se encuentran dentro de los límites establecidos como requisitos de calidad para aceites vírgenes según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2688 (NTE, 2014)

Así mismo, la densidad relativa obtenida fue de 0,93 (25/25 °C). Adrianzén et al. (2011) indican que el aceite de sachá inchi posee una densidad relativa de 0,93

(25/25 °C), por otro lado García (2001) menciona que la densidad está químicamente relacionada con las insaturaciones y es favorecida por el alto peso molecular debido a las largas cadenas de los ácidos grasos en el aceite de sachá inchi.

A continuación se determinó el punto de fusión ya que este depende de la presencia de ácidos grasos insaturados y de sus dobles enlaces, generalmente los aceites vegetales son líquidos a temperatura ambiente debido a sus insaturaciones es por ello que el punto de fusión obtenido fue de -9,00 °C, por su alto contenido de omega 3, 6 y 9; al no existir estudios acerca del punto de fusión no se puede comparar con datos referenciales. En cuanto al porcentaje de pérdida por calentamiento o humedad, el resultado obtenido fue de 0,24 %, para el aceite de sachá inchi control, que al encontrarse dentro de los límites establecidos como requisitos de calidad para el aceite de sachá inchi según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2688 (NTE, 2014), se puede decir que el aceite de Sachá Inchi posee muy poca cantidad de material volátil que se evapora.

En lo que se refiere a la determinación del deterioro del índice de blanqueabilidad se observa que fue alterado por el deterioro por oxidación afectando a la blanqueabilidad. Generalmente esta determinación se realiza para aceite crudo de palma que necesita ser refinado para su consumo, en este estudio se obtuvieron valores de 0,006; lo cual nos indica que este aceite no necesita refinación ya que en su composición no posee cantidad considerable de carotenos y antioxidantes naturales que son responsables del color del aceite. La determinación se la realizó midiendo las moléculas de caroteno que absorben la luz a 446 nm, mientras que sus productos oxidados absorben la luz a 270 nm. Doradea (2013) reportó el parámetro de calidad DOBI del aceite fijo de la pulpa de aguacate, con adición de pulpa de aguacate con tratamiento de ácido fosfórico para su secado donde también obtuvo un valor de 0,06 mientras que en la pulpa de aguacate con adición de pulpa de aguacate con tratamiento

de bisulfito de sodio el DOBI fue de 0,1, obteniéndose también un valor bajo, se tomó como referencia este tipo de aceite, por su bajo contenido de carotenos.

Finalmente, se obtuvo un índice de peróxido bajo en el aceite de sachá inchi y fue de 1,4 meq. O₂/kg de aceite, justificando el valor obtenido la presencia de antioxidantes naturales y que el análisis del aceite fue realizado inmediatamente después de su extracción y no ha tenido contacto con factores que favorecen la autoxidación; al respecto Enciso (2013) reporta valores de 1,2 meq. O₂/kg de aceite, en aceite crudo de sachá inchi obtenido con materia prima de la selva central de Perú.

4.1.2. Estabilidad del aceite de Sachá inchi a diferentes temperaturas.

La extrapolación matemática de los resultados del período de inducción (IP) proporcionado por el equipo Oxitest, permitieron hallar la estabilidad del aceite de sachá inchi a temperaturas usuales de almacenamiento de 5, 15 y 25 °C. En la tabla 8 se reportan los resultados de los tiempos de conservación de los 12 tratamientos. Los mismos que presentan diferencias estadísticamente significativas. El tiempo de conservación de las muestras de aceite sin la adición de antioxidante disminuye a medida que aumenta la temperatura de almacenamiento de 5 °C a 25 °C siendo estos los tiempos de conservación más bajos, mientras tanto los tiempos de conservación de los tratamientos con adición del antioxidante alfa- tocoferol aumentan a 0,05 %.

En la Figura 2 se puede observar el tiempo de conservación del aceite de sachá inchi con alfa-tocoferol a una temperatura de almacenamiento de 5 °C, donde se observa que conforme la medida de la concentración de alfa-tocoferol aumenta también se incrementa el tiempo de conservación, esto significa, que la relación entre estos dos parámetros es directamente proporcional.

Tabla 8. Tiempo de conservación (días) del aceite de sachu inchi (*Plukenetia volubilis* L) con adición de tres porcentajes de alfa-tocoferol, obtenido por extrapolación matemática a tres temperaturas de conservación.

Tratamientos	FACTOR: A	FACTOR: B	Tiempo de conservación (días)
	Porcentaje de alfa-tocoferol (%)	Temperatura. de conservación °C	Promedio y desv. estándar
T1	0 (control)	5	529,9 ± 19,4 ^c
T2		15	220,0 ± 6,8 ^e
T3		25	91,3 ± 2,3 ^f
T4	0,01	5	576,7 ± 46,6 ^b
T5		15	237,3 ± 16,8 ^{ed}
T6		25	97,7 ± 5,9 ^f
T7	0,03	5	683,9 ± 39,5 ^a
T8		15	276,3 ± 14,6 ^d
T9		25	111,6 ± 5,3 ^f
T10	0,05	5	688,9 ± 57,9 ^a
T11		15	278,3 ± 20,7 ^d
T12		25	112,4 ± 7,2 ^f

a, b, c, d, e, f: diferencias significativas (p<0,05)

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

Además, en el gráfico 2 se puede observar que a 0 % (control) de alfa-tocoferol se obtuvo el menor tiempo de estabilidad, siendo éste el tratamiento control. Adicionalmente, se presenta una relación inversamente proporcional entre el aumento de la temperatura y el tiempo de conservación. Se observa que a 25 °C el aceite tiene el menor tiempo de conservación.

Aquellas muestras de aceite que contienen porcentajes de alfa-tocoferol de 0,01%, el tiempo de conservación aumenta comparado con las muestras del tratamiento control (0% de antioxidante), se observa también que a medida que

la temperatura aumenta la efectividad del alfa- tocoferol disminuye, por lo tanto el tiempo de conservación también disminuye.

A 0,03 % y 0,05 % de alfa- tocoferol se observa que no hay diferencia significativa (Tabla 8), en los tiempos de conservación del aceite sachá inchi, siendo estos los dos mejores tratamientos en cuanto a la efectividad del antioxidante natural.

Para el siguiente paso del estudio de conservación con atmósferas modificadas, se escogió al tratamiento que contenía menor porcentaje de alfa tocoferol.

Existen trabajos que demuestran que la familia de los tocoferoles alfa (α) y beta (β) son antioxidantes naturales que tienen una mayor estabilidad durante el almacenamiento acelerado en los aceites de semillas tostadas de sachá inchi como afirmó Arana (2008). En otro estudio se menciona que en la mayoría de los aceites en su composición tienen proporciones muy bajas de antioxidantes como tocoferoles (Jurado y Muñoz, 2009), por tal razón se hace importante esta investigación donde se incorpora alfa- tocoferol que ayudó a inhibir y retardar el proceso oxidativo del aceite de sachá inchi ya que interfiere en la etapa de iniciación y propagación de la autooxidación.

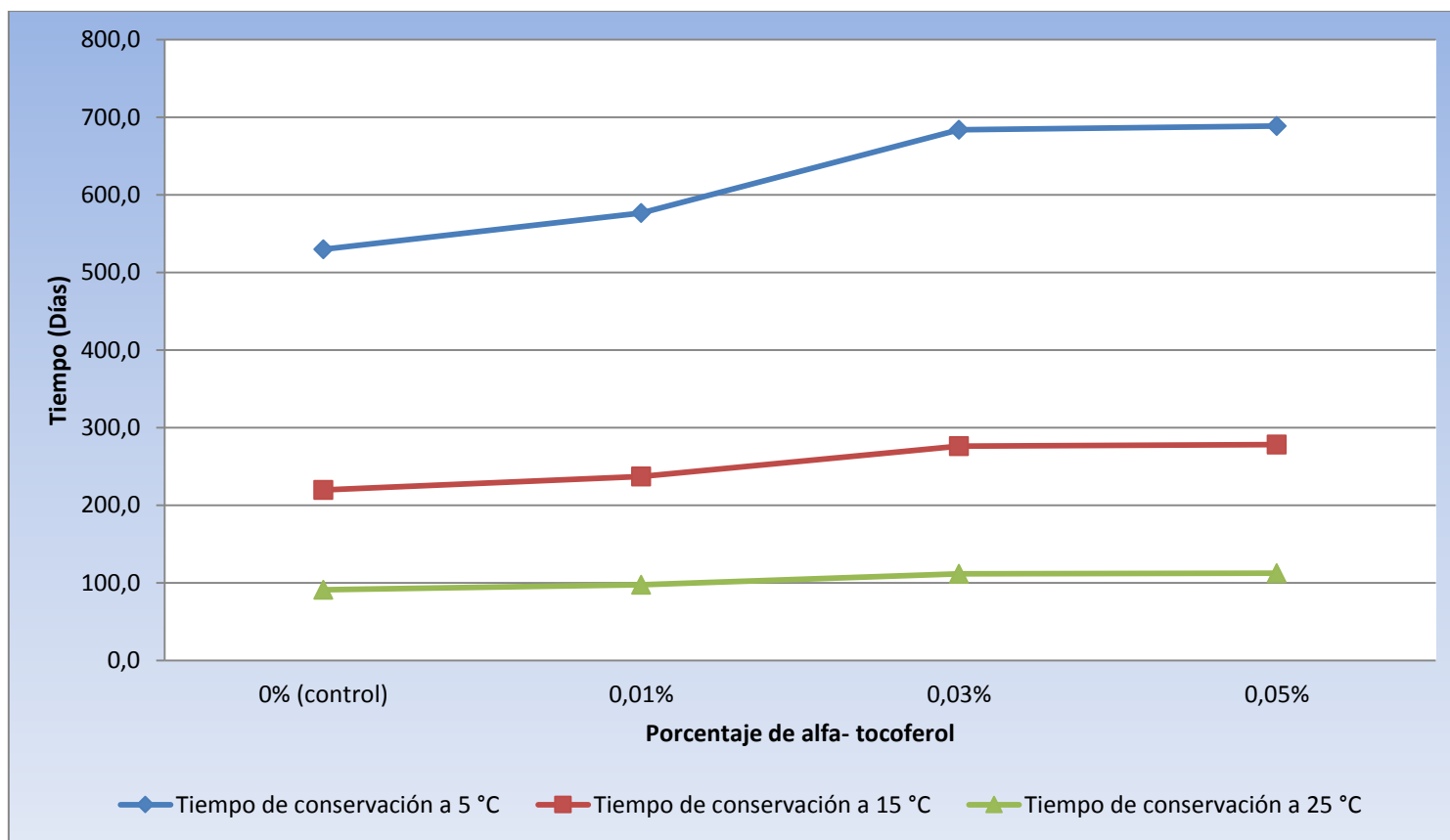


Figura 2. Tiempo de conservación del aceite sachá inchi con alfa- tocoferol, almacenado a 5, 15 y 25 °C.

En la tabla 9 se observa el tiempo de conservación en días del aceite de sachá inchi con antioxidante BHT, de la misma manera se procedió a determinar la estabilidad a la oxidación con dos diferentes porcentajes de antioxidante artificial BHT (0,01% y 0,02%) y un control, los mismos que fueron almacenados a temperatura ambiente para su posterior análisis del periodo de inducción

Tabla 9. Tiempo de conservación (Días) del aceite de sachá inchi a dos porcentajes de BHT y un control obtenido por extrapolación matemática a tres temperaturas de conservación.

FACTOR: A		FACTOR: B	Tiempo de conservación (días)
Tratamientos	Porcentaje de BHT (%)	Temp. de conservación (°C)	Promedio y des. Estándar
T1	0 (control)	5	686,0 ± 35,0 ^c
T2		15	276,8 ± 12,1 ^f
T3		25	111,7 ± 4,2 ^h
T4	0,01	5	814,5 ± 17,5 ^b
T5		15	324,9 ± 6,0 ^e
T6		25	129,6 ± 2,0 ^{hg}
T7	0,02%	5	952,3 ± 32,5 ^a
T8		15	377,6 ± 11,2 ^d
T9		25	149,7 ± 3,8 ^g

a, b, c, d, e, f: diferencias significativas ($p < 0,05$)

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

Con los resultados obtenidos se realizó la extrapolación matemática a temperaturas habituales de almacenamiento para determinar a qué temperatura se conserva mejor el aceite de sachá inchi, los valores se expresan como las medias de tres réplicas.

De igual manera se puede observar que el tratamiento 7 a una temperatura de 5 °C con 0,02% de BHT es el mejor tratamiento que conserva mayor tiempo el aceite de sachá inchi con 952,3 días, se observa también un descenso del tiempo de conservación mientras la temperatura de almacenamiento aumenta y se reduce la concentración de antioxidante artificial, por tal motivo se escogió el tratamiento 7 con BHT para el siguiente paso del estudio con aplicación de atmósferas modificadas.

Es importante mencionar que con antioxidante BHT el aceite de sachá inchi se conserva mayor tiempo que con el antioxidante natural alfa- tocoferol (Tabla 8), esto es porque el BHT tiene mayor efectividad en el control de la oxidación de las grasas, además son de fácil uso y económicos pero poseen efectos secundarios como el aumento del colesterol e inducción de cáncer hepático en humanos (Gaviria et al., 2009), debido a esto se vuelve importante la búsqueda de antioxidantes naturales que tengan los mismos efectos: conservar el aceite y retardar la rancidez, y que no tengan efectos secundarios, son un poco más costosos que los antioxidantes artificiales pero más seguros e inocuos para la salud.

Para mejor visualización de los tiempos de conservación del aceite a los diferentes porcentajes de BHT se puede ver en la figura 3 que mientras el porcentaje de BHT aumenta, el tiempo (horas) de conservación también aumenta, a 5°C.

A 0 % (control) de BHT el aceite tuvo menor tiempo de estabilidad siendo éste el tratamiento control sin ningún tipo de antioxidante. Además se pudo ver que a medida que la temperatura aumenta el tiempo de conservación del aceite

disminuye considerablemente también se puede observar que a 25 °C el aceite tiene el menor tiempo de conservación.

Así también con las muestras de aceite que contienen porcentajes de BHT de 0,01 %, el tiempo de conservación aumenta comparado con las muestras del tratamiento control además, se observa también que a medida que la temperatura aumenta el tiempo de conservación se va reduciendo considerablemente.

A 0,02 % de antioxidante BHT a 5 °C de temperatura se considera el mejor tratamiento a un nivel de confianza del 95% y mediante una comparación con la prueba de Tukey frente al resultado obtenido a 15°C el tiempo de conservación disminuye, lo mismo sucede a 25 °C, disminuye aún más el tiempo de conservación.

Varios trabajos demuestran que el antioxidante BHT es el más utilizado en la industria aceitera por su bajo costo y fácil uso. Giménez y Fenucci (2006), mencionaron que a partir de 1954 el BHT comenzó a ser utilizado en la industria aceitera, así mismo otros indicaron que este antioxidante sintético a concentraciones de 200 ppm es uno de los mejores para conservar aceite de semillas de calabaza microencapsulado secado por aspersión (López, (2009); mientras que Rodríguez determinó en aceite de hígado de merluza la efectividad de algunos antioxidantes entre ellos el BHT, el cual se ubicó en segundo lugar para optimizar la estabilidad, evaluada mediante determinación por el método Rancimat, el cual estableció que el periodo de inducción fue 6,5 veces mayor al de la muestra que no tiene ningún tipo de antioxidante. Rodríguez et al. (1993).

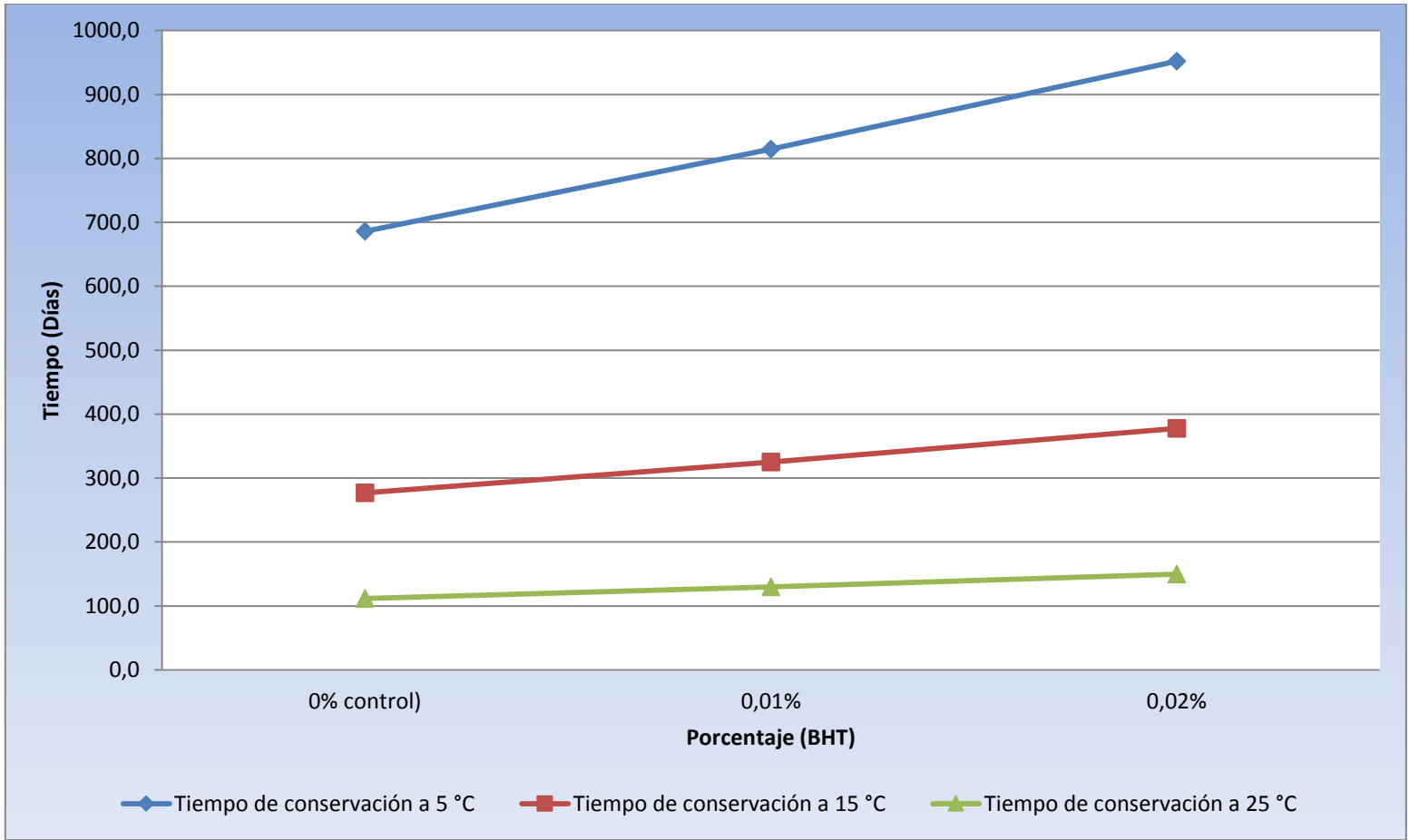


Figura 3. Tiempo de conservación del aceite sachá inchi con BHT, a 5, 15 y 25 °C.

4.1.3. Tiempo de vida útil del aceite de sachá inchi

Tabla 10. Tiempo de vida útil (Días) del aceite de sachá inchi a las tres temperaturas usuales de conservación.

<i>Tratamientos</i>	<i>Combinación</i>			<i>Tiempo de vida útil a 5°C (Días)</i>	<i>Tiempo de vida útil a 15°C (Días)</i>	<i>Tiempo de vida útil a 25°C (Días)</i>
	FACTOR:A Tipo de antioxidante	FACTOR:B Tipo de envase	FACTOR: C Tipo de atmósfera	Promedio y desv. estándar	Promedio y desv. estándar	Promedio y desv. estándar
T1	0,03% alfa- tocoferol	Vidrio	nitrógeno	950,7 ± 14,6 ^e	376,7 ± 5,6 ^e	149,3 ± 2,2 ^d
T2	0,02% BHT	Vidrio	nitrógeno	1137,8 ± 28,6 ^b	448,9 ± 9,7 ^b	177,1 ± 3,2 ^b
T3	0,03% alfa- tocoferol	Lata	nitrógeno	983,1 ± 17,9 ^{ed}	387,9 ± 6,9 ^{ed}	153,0 ± 2,7 ^d
T4	0,02% BHT	Lata	nitrógeno	1336,8 ± 21,6 ^a	518,7 ± 7,3 ^a	201,3 ± 2,4 ^a
T5	0,03% alfa- tocoferol	Vidrio	Sin nitrógeno	887,3 ± 10,3 ^f	353,5 ± 3,3 ^f	140,8 ± 1,0 ^e
T6	0,02% BHT	Vidrio	Sin nitrógeno	1015,8 ± 21,4 ^d	405,1 ± 7,3 ^d	161,5 ± 2,4 ^c
T7	0,03% alfa- tocoferol	Lata	Sin nitrógeno	888,0 ± 11,1 ^f	355,3 ± 4,2 ^f	142,2 ± 1,6 ^e
T8	0,02% BHT	Lata	Sin nitrógeno	1081,5 ± 20,5 ^c	429,8 ± 6,9 ^c	170,8 ± 2,3 ^b

a, b, c, d, e, f: diferencias significativas (p<0,05)

Elaborado por: Sandra Santos, 2018.

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

En la Tabla 10, se puede apreciar el tiempo de vida útil en días del aceite sachá inchi a las tres temperaturas usuales de conservación, el promedio del tiempo de vida útil a 5 °C tiene el valor más alto, 1336,8 días por lo que resulta ser el mejor tratamiento (T4: 0,02% BHT, envase hojalata y nitrógeno); seguido el tratamiento 2 (T2: 0,02% BHT, envase vidrio y nitrógeno) tiene 1137,8 días; el tratamiento 8 (T8: 0,02% BHT, envase de hojalata y sin nitrógeno) tiene 1081,5; el tratamiento 6 (T6: 0,02% BHT, envase de vidrio; sin nitrógeno) tiene 1015,8, esto en cuanto al antioxidante artificial BHT, de la misma manera se reportan los valores del tiempo de vida útil en días del aceite de sachá inchi a 5 °C con el conservante alfa- tocoferol obteniendo como resultado más alto el tratamiento 3 (T3: 0,03% alfa- tocoferol, envase de hojalata y nitrógeno) con 983,1 días, el tratamiento 1 (T1: 0,03% alfa- tocoferol, envase vidrio y nitrógeno) con 950,7 días; el tratamiento 7 (T7: 0,03% alfa- tocoferol, envase hojalata y sin nitrógeno) con 888,0 días y el tratamiento 5 (T5: 0,03% alfa- tocoferol, envase vidrio y sin nitrógeno) con 887,3 días, estos dos últimos tratamientos no presentan diferencias significativas.

Es importante mencionar que los tratamientos 3 y 4 se han elegido como los mejores en lo que concierne al tiempo de vida útil. Ya que el tratamiento 4 con el antioxidante artificial (BHT) produce mayor tiempo de vida útil (en días) sobre el aceite de sachá inchi extraído por prensado en frío, se hace importante mencionar la efectividad que provoca el alfa- tocoferol, antioxidante natural, sobre el aceite de sachá inchi porque el BHT es un antioxidante que posee efectos secundarios sobre la salud del consumidor, por ejemplo puede aumentar el colesterol y producir cáncer.

Rodríguez *et al.* (2015) realizaron un estudio que determina la estabilidad oxidativa del aceite de sachá inchi por 45 días con parámetros de uso de nitrógeno, envasando en frasco obscuro y manteniendo en refrigeración, para este estudio se utilizó el método Rancimat, de igual manera se estima el tiempo de vida útil mediante extrapolación matemática a temperatura 25 °C alcanzado

un valor de 1,79 años. Mientras que en nuestro a 25 °C se obtuvo 0,55 años, con la aplicación de antioxidante BHT(tratamiento 4), y con el antioxidante alfa-tocoferol se obtuvo 0,42 años (tratamiento 3), los valores son más bajos debido a que se mantuvo en presencia de nitrógeno solamente por 30 días. En Perú se realizó un estudio comparativo de las características del aceite de sacha inchi, aceite de oliva y aceite crudo de pescado, en el cual se determinó que el tiempo de vida útil por el método Rancimat para el aceite de sacha inchi fue de 0,25 años (93 días) a 25 °C, este tiempo de vida útil es bajo en comparación a los valores obtenidos en nuestro estudio, tratamiento 3 y tratamiento 4, probablemente porque el aceite no contiene ningún tipo de antioxidante ni atmósfera para inhibir el proceso oxidativo.

En la tabla 9 además se presentan valores de tiempo de vida útil a 15 °C donde se ve claramente que hay un descenso frente a los valores del tiempo de vida útil a 5 °C lo mismo sucede con la temperatura de 25 °C a la cual los valores de tiempo de vida útil son mucho más bajos.

Para observar de mejor manera se presenta a continuación la Figura 4 donde se evidencia el descenso del tiempo de vida útil a las tres temperaturas de almacenamiento.

También, se puede observar que el tratamiento 4 tiene el mayor tiempo de vida útil con aplicación de antioxidante artificial BHT, y que el tratamiento 3 tiene mayor tiempo de vida útil con aplicación de antioxidante natural alfa-tocoferol, considerados éstos dos tratamientos como los mejores en cuanto al tipo de antioxidante.

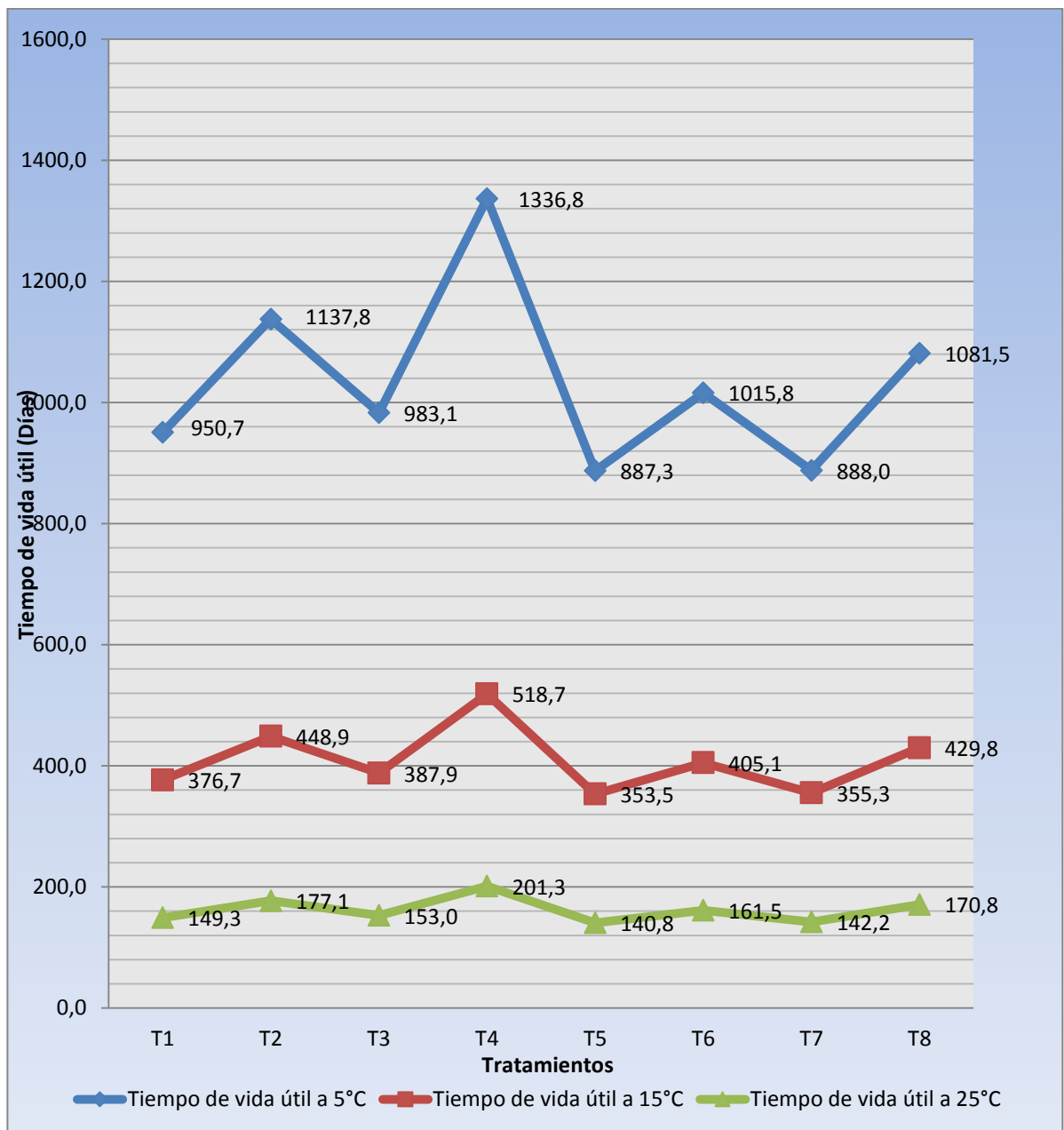


Figura 4. Tiempo de vida útil del aceite de sachu inchi de los distintos tratamientos a las tres temperaturas usuales de almacenamiento.

4.1.4. Comparación de las características fisicoquímicas entre el aceite de sachá inchi sin tratamiento (control) y el aceite de sachá inchi proveniente del mejor tratamiento.

En la tabla 11 se observa y se compara las características fisicoquímicas del aceite de sachá inchi control, aceite sachá inchi con antioxidante natural alfa-tocoferol y aceite Sachá inchi con antioxidante artificial BHT.

Tabla 11. Determinación de las características fisicoquímicas del aceite de sachá inchi control, aceite de sachá inchi con alfa – tocoferol y con BHT.

CARACTERÍSTICA	Aceite de sachá inchi control	Aceite de sachá inchi con alfa- tocoferol	Aceite de sachá inchi con BHT
Índice de saponificación (mg KOH/g de aceite)	197,3 ± 0,08 ^a	198,0 ± 0,19 ^a	197,8 ± 0,7 ^a
Índice de acidez (g ác. oleico/100g de aceite)	1,3 ± 0,05 ^a	1,2 ± 0,05 ^a	1,1 ± 0,08 ^a
Densidad (25/25°C)	0,9 ± 4,45E-05 ^b	0,9 ± 1,73E-06 ^a	0,9 ± 4,34E-07 ^a
Punto de fusión (°C)	-9,0 ± 0,03 ^a	-8,9 ± 0,10 ^a	-8,8 ± 0,11 ^a
Pérdida por calentamiento %	0,2 ± 0,01 ^a	0,2 ± 0,01 ^a	0,2 ± 0,00 ^a
Deterioro del índice de blanqueabilidad (DOBI)	0,006 ± 0,00 ^b	0,005 ± 0,00 ^c	0,012 ± 0,00 ^a
Índice de peróxidos (meq. O ₂ /kg de aceite)	1,4 ± 0,01 ^a	1,4 ± 0,00 ^a	1,4 ± 0,02 ^a

a, b, c, d, e, f: diferencias significativas (p<0,05)

Elaborado por: Sandra Santos, 2018

Fuente: Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE – ICIA) – Laboratorio de Análisis Instrumental.

En la Tabla 11 se observa que entre los valores de índice de saponificación (mg KOH/g de aceite) de aceite sachá inchi: control, con alfa- tocoferol y con BHT, no hay diferencia significativa; estos resultados están dentro de los reportados por Castaño et al. (2012), para el índice de saponificación en muestras de aceite de sachá inchi que han sido extraídos por diferentes

métodos: soxhlet a muestras de semillas con cáscara dando un valor de 185,2 mg KOH/g de aceite; y por el método de reactor con semillas sin cáscara 207,7 mg KOH/g de aceite; al comparar los valores de los tratamientos del aceite de sachá inchi y los reportados bibliográficamente, se encuentran dentro del límite establecido por Castaño et al. (2012). Según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2688 (NTE, 2014), del límite de requisitos de identificación del aceite sachá inchi en lo referente al índice de saponificación es 192 mg KOH/g de aceite como mínimo y 196 mg KOH/g de aceite como máximo, cabe mencionar que los valores del índice de saponificación de este estudio son muy cercanos al límite máximo.

Índice de acidez es el parámetro principal que determina la calidad del aceite, el índice de acidez se reportó en base al ácido oleico, en la tabla 10 se puede ver que no existe diferencia significativa entre el índice acidez para el aceite de sachá inchi control y para el aceite de sachá inchi con los antioxidantes alfa-tocoferol y BHT, de igual manera Paucar (2015) reporta valores del índice de acidez del aceite sachá inchi de 1,0% los valores no superan el 1%, porcentaje máximo establecido para aceites extra vírgenes, esto indica que el aceite posee un bajo contenido de ácidos grasos libres.

En cuanto a la densidad, el aceite de sachá inchi control tiene una densidad relativa (25°C/25 °C) de 0,93; el aceite sachá inchi con alfa-tocoferol 0,93 y el aceite de sachá inchi con BHT 0,9299 así mismo la densidad obtenida coincide con la densidad establecida por la Norma técnica ecuatoriana INEN 2688 (NTE, 2014), la cual indica un límite mínimo y máximo de aceptabilidad de 0,926 hasta 0,931, los valores obtenidos en nuestro estudio se encuentran dentro del límite de aceptabilidad, además entre los valores de aceite de sachá inchi con antioxidantes no presentan diferencia significativa, pero con el aceite de inchi control si existe diferencia significativa. Cabe recalcar que la densidad es un parámetro importante ya que a medida que el aceite es menos denso, el aceite es mejor pues posee una composición rica en ácidos linolénico y linoleico, por

esta razón el aceite de sachá inchi control tiene un punto de fusión muy bajo - 9,0; el aceite de sachá inchi con alfa- tocoferol -8,90 y el aceite de sachá inchi con BHT -8,8 estos valores no presentan diferencias significativas. Al no existir trabajos de investigación acerca de los valores de punto de fusión no se puede comparar los datos obtenidos pero se los justifica porque la teoría menciona que el punto de fusión es muy bajo por la presencia de omegas 3, 6 y 9.

La pérdida por calentamiento también es un parámetro importante, ya que a mayor porcentaje de humedad se produce con mayor facilidad las reacciones de hidrólisis y formación de radicales libres. La humedad o pérdida por calentamiento obtenida fue de 0,2 % para el aceite de sachá inchi control y para aceite de sachá inchi con alfa-tocoferol y con BHT, los datos no muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) y se encuentran dentro del límite permitido según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2688 (NTE, 2014). Según investigaciones realizadas por Vela, (1995) el aceite crudo de sachá inchi tiene una humedad de 0,04%, situándose dentro del límite permitido para aceites comestibles, del 1% según la norma ITINTEC (1968).

Hay que mencionar además que se determinó el índice de deterioro de blanqueabilidad que es la medida de la relación de carotenos respecto al resto de carotenos oxidados, en el aceite de sachá inchi control se obtuvo 0,006; en el aceite de sachá inchi con alfa- tocoferol 0,005 y en el aceite de sachá inchi con BHT 0,012, al comparar estos valores si existen diferencias significativas entre las muestras. Un estudio realizado por Doradea (2013) presenta un valor del índice DOBI de 0,06 en aceite crudo de pulpa de aguacate, se hace referencia a este tipo de aceite porque presenta características similares al aceite de sachá inchi, en teoría generalmente en un aceite la alta presencia de carotenos es índice de frescura mientras que una alta presencia de carbonilos es señal de un aceite deteriorado por oxidación, generalmente este tipo de análisis se lo realiza para aceite de palma ya que está relacionado con la refinabilidad.

Y finalmente se determinó el índice de Peróxidos; en el aceite de sachá inchi control se obtuvo 1,4 meq. O₂/kg de aceite; en el aceite de sachá inchi con alfa-tocoferol 1,4 meq. O₂/kg de aceite; en el aceite de sachá inchi con BHT 1,4 meq. O₂/kg de aceite, sin mostrar diferencia significativa; encontrándose dentro del límite permitido, hasta los 15 miliequivalentes de oxígeno activo/kg de aceite, según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2688 (NTE, 2014). Un estudio realizado por Rodríguez (2015) indicó que el índice de peróxido del aceite de sachá inchi obtenido por prensado en frío fue de 0,8 miliequivalentes de oxígeno activo/kg de aceite, lo que corrobora los valores obtenidos en el estudio.

CAPÍTULO V

Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

- Se determinó que el aceite de sachá inchi es rico en ácidos grasos insaturados y poliinsaturados, el principal componente es el ácido graso linolénico (omega 3) con 48,3%, ácido linoleico (omega 6) con 35,7 % y el ácido oleico con 8,8%, por esta razón el consumo del aceite de sachá inchi puede proporcionar importantes beneficios para la salud ya que aporta el 92,77 % total de ácidos grasos insaturados, además se caracterizó al aceite de Sachá inchi mediante métodos fisicoquímicos como el índice de saponificación, índice de acidez, densidad relativa, punto de fusión, pérdida por calentamiento, deterioro del índice de blanqueabilidad e índice de peróxido, encontrándose todos los parámetros de calidad dentro de las normas de aceptabilidad.
- Cuando se utiliza un conservante natural en el aceite de sachá inchi, el alfa- tocoferol con 0,03% y a una temperatura de 5°C se obtiene un tiempo de estabilidad de 684,0 días, y al utilizar como conservante artificial el BHT al 0,02 % y a una temperatura de almacenamiento de 5 °C se tiene un tiempo de estabilidad de 953,0 días.
- En la segunda parte del experimento, se determinó que el mejor recipiente para ser almacenado el aceite de sachá inchi fue en envases de hojalata que contenía nitrógeno en el espacio de cabeza, que los aceites envasados en recipientes de vidrio con o sin nitrógeno como atmósfera modificada. Cuando el aceite contenía 0,03% de alfa- tocoferol envasado en hojalata y almacenado a 5 °C su tiempo de vida útil fue 983,0 días; sin embargo, cuando el aceite contiene 0,02% de BHT, envasado en hojalata y almacenado a 5°C, su tiempo de vida útil fue de

1336,8 días, en cambio el aceite de sachá inchi almacenado en frasco de vidrio y sin atmósfera modificada fue de 529, 0 días a la temperatura de 5 °C. Adicionalmente se determinó la Energía de activación necesaria para iniciar la autoxidación y fue de 101,94 kJ/mol para el tratamiento 3 y de 103,69 kJ/mol para el tratamiento 4.

- Se comparó las características fisicoquímicas del aceite de sachá inchi a tiempo cero (control), con el mejor tratamiento de aceite de sachá inchi con alfa- tocoferol determinado en el tiempo de vida útil y con el mejor tratamiento de aceite de sachá inchi con BHT determinado en el tiempo de vida útil, encontrándose que en la mayoría de las características fisicoquímicas no existe diferencia significativa al 95% de confianza, excepto en la densidad que existe un aumento de la densidad en el aceite de sachá inchi cuando se utiliza los dos tipos de antioxidantes, y en el índice de blanqueabilidad si hay diferencia significativa aumentando el índice de blanqueabilidad en el aceite que contiene antioxidante BHT, este índice se refiere a la facilidad de remover pigmentos y metales, como se obtuvo un índice de blanqueabilidad muy bajo en los tres aceites descritos anteriormente no requiere refinación, generalmente el índice de blanqueabilidad se realiza a aceites que necesitan ser refinados.

5.2 Recomendaciones

- Almacenar el aceite de sachá inchi envasado en recipiente de hojalata mayor tiempo en presencia de nitrógeno para determinar con mayor precisión el efecto que produce la aplicación de estos dos parámetros de estudio.
- Utilizar el equipo oxitest para determinación del tiempo de vida útil de otros alimentos sensibles a la autoxidación.
- Comparar el tiempo de vida útil del aceite de sachá inchi obtenido en este estudio con otro aceite que tenga las mismas características nutricionales.

Bibliografía

ARTÍCULOS TÉCNICOS

Adrianzén, N., Rojas, C., & Linares, G. (2011). Efecto de la temperatura y tiempo de tratamiento térmico de las almendras trituradas de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis L.*) sobre el rendimiento y las características físico-químicas del aceite obtenido por prensado mecánico en frío. *Agroindustrial Science*, 1(2), 46-55.

Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estéves, M., & Ventanas, J. (2012) Empleo de an antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocame*, 207, 63-73.

Castro- Gonzales, M. I. (2002). Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27(3), 128-139.

Cai, Z. Q., Jiao, D. Y., Tang, S. X., Dao, X. S., Lei, Y. B., & Cai, C. T. (2012). Leaf photosynthesis, growth, and seed chemicals of Sacha Inchi plants cultivated along an altitude gradient. *Crop science*, 52(4), 1859-1867.

Cavazza, A., Corti, S., Mancinelli, C., Bignardi, C., & Corradini, C. (2015). Effect of the addition of chili pepper powder on vegetable oils oxidative stability. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(11-12), 1593-1599.

Castaño, L., Valencia, M., Murillo E., Mendez, J., Joli, J. (2012). COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* Linneo) Y SU RELACIÓN CON LA BIOACTIVIDAD DEL VEGETAL. *SCIELO CHILE* Vol. 39(1), 45-51

Del Castillo Torres, D., Ruíz Solsol, H., Cachique Huansi, D., Vallejos Torres, G., Hidalgo Ganoza, L. M., & García Sánchez, M. A. (2011). Manual técnico propagación vegetativa del Sacha inchi. Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana.

Enciso Soria, J. E. (2013). Evaluación de ácidos grasos y propiedades fisicoquímicas de los aceites crudos de *Plukenetia volubilis*. (Sacha inchi) de la selva central del Perú y determinación de su actividad antiinflamatoria.

Gaviria Montoya, C., Ochoa Ospina, C., Sánchez Mesa, N., Medina Cano, C., Lobo Arias, M., Galeano García, P., & Rojano, B. (2009). Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(6).

Gorriti, A., Arroyo, J., Quispe, F., Cisneros, B., Condorhuamán, M., Almora, Y., & Chumpitaz, V. (2010). Toxicidad oral a 60 días del aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza (*Linum usitatissimum* L.) y determinación de la dosis letal 50 en roedores. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27(3), 352-360.

Hamaker, B. R., Valles, C., Gilman, R., Hardmeier, R. M., Clark, D., VALDIVIA, R., ... & LESCANO, M. (1992). Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis*). *Cereal Chem*, 69(4), 461-463.

Han, N. M., May, C. Y., & Ngan, M. A. (2012). Dry heating of palm fruits: effect on selected parameters. *American Journal of Engineering and Applied Sciences*, 5(2), 128-131.

Huamán Saavedra, J. J., Silva, F., Eltsin, B., Pairazamán, E., Isabel, P., & Castillo Minaya, K. Y. (2012). Efectos de la ingesta de *Plukenetia volubilis* Linneo o "Sacha inchi" en el perfil lipídico de adultos jóvenes. *Acta Médica Peruana*, 29(3), 155-160.

Huamaní, P. L. T., & Flores, E. B. (2009). Estrategias de comercialización del Sacha inchi. *Gestión en el tercer Milenio*, 12(23), 39-41.

Hurtado Ordoñez, Z.A. (2013). Análisis composicional de la tortay aceites de semillas de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) cultivada en Colombia (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia- Sede Palmira)

Lafont, J. J., & Portacio, A. A. (2011). Extracción y caracterización fisicoquímica del aceite de la semilla (almendra) del marañón (*Anacardium occidentale* L). *Información tecnológica*, 22(1), 51-58.

Losada Barreiro, S. (2013). Estabilidad oxidativa y distribución de antioxidantes en emulsiones formadas por aceites vegetales de uso culinario (Doctoral dissertation, Química Física (C11)).

Manzaneda Delgado, F. (2016). El Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) y los aceites funcionales Omega. *APTHAPI*, 2, 96

Méndez, L y Parilli, M. (2009, 26 de Marzo). Aceite de Sacha Inchi Extra Virgen Oil Extra Virgin Sacha Inchi. *VEVICA.COM*. Recuperado de: <http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/Aceite%20%20Sacha%20Inchi-1.pdf>

Merino-Zegarra, C., Vásquez-Ocmin, P., Martha, M. A. C. O., Del Castillo-Torres, D., Vázquez, G., Cachique, D., & Sotero-Solis, V.V.E. (2008). Caracterización química de nueve accesiones de *Plukenetia volubilis*. De los departamentos de Loreto y San Martín. *Folia amazónica*, 17 (1-2), 39-45.

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

Paucar, L. Salvador, R. Guillén, J. Capa, J y Moreno, C. (2015). Estudio comparativo de las características físico-químicas del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), aceite de oliva (*Olea europaea*) y aceite crudo de pescado. *Scientia Agropecuari*, 6(4), 270-290.

Pironea, S., Adobatia, A., Limbo, S. y Cortib, S. (2013). Application of the Oxitest® method to evaluate the Oxidation stability of edible oils at different working temperatures under accelerated conditions. *Scientifica srl- Via Stazione 16 – 20865 Usmate , Italy ; inse@velp.it.*

Pérez- Camino, M. D. C., Moreda- Martino, W., Yácono- Llanos, J.C., & Chasquibol- Silva, N. (2015). Evaluación de la efectividad antioxidante de extractos de papas andinas sobre la estabilidad del aceite de sacha inchi (*Plukenetia Huayllabambana*

Robledo, S., Bocalón, J., Giacomelli, L., Ceballos, C. & Mattea, M. (2011). Estudios de la influencia de antioxidantes en aceites vegetales durante la oxidación térmica forzada. *Pp2. Recuperado de: [*R_CONGRESO_ARGENTINO_MERCOSUR_BPM_POES_HACC P2003estanaBVS/TRABAJOS% 20CIENTIFICOS/3Estudio% 20anti oxidante% 20de% 20aceites% 20Ceballos, 20.*](http://bvs.panalimentos.org/local/file/INCLUSIONES2008/3PRIME</i></p></div><div data-bbox=)*

Rodríguez, A., Barrera-Arellano, D. & Grompone, M. A. (1993). Estabilidad oxidativa del aceite de hígado de merluza. *Grasas y aceites*, 44(4-5), 270-273.

Rodríguez-Cruz, M., Tovar, A. R., del Prado, M., & Torres, N. (2005). Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de investigación clínica*, 57(3), 457-472.

Rodríguez, G. (1997, 11 de Enero). Funciones de la vitamina E en la nutrición humana. *Rev Cubana Aliment Nutr.* Recuperado de: http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11_1_97/ali07197.htm

Rodríguez, G ; Villanueva, E. Glorio ,P y Baquerizo ,M. (2015). Estabilidad oxidativa y estimación de la vida útil del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis L.*). *Scielo Perú*, 6(3), 155-161.

Rodríguez, A., Barrera-Arellano, D., & Grampone, M. A. (1993). Estabilidad oxidativa del aceite de hígado de merluza. *Grasas y aceites*

Rojano, B. (1997). Oxidación de lípidos y antioxidante. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/8413/1/6884161.1997.pdf>

Romero Hidalgo, L. (2014). Influencia de la variación de la temperatura sobre el rendimiento y la calidad en la extracción del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) (Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química).

Scientifica, V. (2006). Oxitest Reactor Operating Manual. VELP Scientific Inc., Usmate Velate, Italy, 12-15.

Ruiz-Solsol, H., & Mesén, F. (2010). Efecto del ácido indolbutírico y tipo de estaquilla en el enraizamiento de Sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Agronomía Costarricense*, 34(2), 269-285. Artículo técnico

Swoboda, P.A.T., 1982. Bleachability and the DOBI (determination of bleachability index in palm oil). *PORIM Bull.*, 5: 28-38.

Tan, Y. A., Ainic, K., Siew, W. L., Mohtar, Y. & Chong, C. L. (2000). Estudio del PORIM sobre el aceite de palma crudo 97-98: características de calidad e identidad. *Revista Palmas*, 21(4), 39-56.

Urueta, J. C. (2007). Implementación del DOBI como parámetro de calidad en extractoras de aceite de palma. *Revista Palmas*, 28(especial), 143-148.

Velasco, J., Dobarganes, C., Holgado, F., Márquez-Ruiz, G. 2009. A follow-up oxidation study in dried microencapsulated oils under the accelerated conditions of the Rancimat test. *Food Research International* 42(1) 56–62.

Perú Biodiverso-PBD, P. (2009). Manual de producción de sachá inchi para el biocomercio y la agroforestería sostenible.

Vela Saavedra, L. (1995). Ensayos para la extracción y caracterización de aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en el departamento de San Martín.

PÁGINAS WEB

Aditivos Alimentarios (2016). E321- Butilhidroxitolueno, BHT. Disponible en: <http://www.aditivos-alimentarios.com/2016/01/E321.html>

Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. México, México. Mexicana. Disponible en: <https://deymerg.files.wordpress.com/2013/07/quimica-de-los-alimentos1.pdf>

Cobo G.M (10 de abril 2015). 85 agricultores cultivan el llamado “aceites de los incas” en Napo EL TELÉGRAFO: Disponible en: <http://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/8/85-agricultores-cultivan-el-llamado-aceite-de-los-incas-en-napo>

Galbiati, J. (2007), Diseño de experimentos factoriales aplicados a procesos industriales. Disponible en: http://www.jorgegalbiati.cl/enero_07/VariaCompleto.pdf

Inkanat (2016). Sacha inchi en aceite de los incas. Disponible en: <http://www.inkanat.com/es/arti.asp?ref=sacha-inchi-aceite>

INEN 35-08, 1973. GRASAS Y ACEITES COMESTIBLE, DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0035.1973.pdf>.

INEN 39 -08, 1973. GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES, DETERMINACIÓN DE LA PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO [En línea] [Último acceso: 20 Enero 2017]. Disponible en: <https://archive.org/details/ec.nte.0039.1973>

INEN 474 -09, 1980. GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES, DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE FUSION [En línea] [Último acceso: 16 Enero 2017]. Disponible en: <http://studylib.es/doc/8308614/nte-inen-0474--grasas-y-aceites-comestibles>

INEN 6 -09, 2013. ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL EMPACADO Y ENVASADO [En línea] [Último acceso: 20 Mayo 2017].

Disponible en: http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/2015/ACO/27022015/nte_inen_6.pdf

NTE INEN- ISO 6886-01, 2014. ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA (ENSAYO DE OXIDACIÓN ACELERADA) (ISO 6886:2006, IDT) [En línea] [Último acceso: 20 de junio 2017]. Disponible en: http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/EXTRACTO_2014/AOC/nte_inen_iso_6886extracto.pdf

NTE INEN- ISO 661,2014. ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL, PREPARACION DE LA MUESTRA PARA DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA (ENSAYO DE OXIDACIÓN ACELERADA) [En línea] [Último acceso: 20 de junio 2017]. Disponible en: http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/EXTRACTO_2014/AOC/nte_inen_iso_661extracto.pdf

NMX-F-012-SCFI-2010. ALIMENTOS- ACEITES Y GRASAS VEGETALES O ANIMALES- DETERMINACION DEL INDICE DE ESTABILIDAD OSI- MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-F-012-SCFI-2005). [En línea] [Último acceso: 20 Mayo 2017]. Disponible en: <http://aniame.com/mx/wp-content/uploads/Normatividad/CTNNIAGS/NMX-F-012-SCFI-2010.pdf>

TESIS

Padilla, T., & Maricela, D. (2015). Estudio comparativo del grado de estabilidad del aceite de unguahua (*Oenocarpus bataua*) con otros aceites en la fritura (Bachelor's thesis) Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.

Pastuña, A. (2016). Microencapsulación de aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis L.*) mediante secado por aspersión. Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.

Sánchez Sánchez, G. L. (2012). Caracterización y cuantificación de los ácidos grasos omega 3 y omega 6 presentes en el aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L) (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín).

ANEXO 1
MANTENIMIENTO DEL EQUIPO OXITEST

Mantenimiento de rutina

1. Verificar que los O-ring siempre estén cubiertos de grasa silicona.
2. Observar que los filtros estén limpios, limpiarlos con acetona.
3. Observar que los espaciadores y las placas para la muestra no contengan trozos de muestras, si contienen hay que limpiarlos.
4. El cambio de los filtros se realiza cada 20 corridas.
5. El cambio de los O-ring se realiza cada 50 corridas

FUNCIONAMIENTO DEL EQUIPO OXITEST.

1. Prender el equipo (OXITEST) y el computador porque trabajan a la par, abrir el programa OXITEST.
2. Colocar en el plato de $6 \pm 0,03\text{gr}$ de muestra, introducir la muestra en el equipo , cerrar bien y dejar las válvulas abiertas en este sentido —
3. Ingreso en System- work condition- selecciono la temperatura de estudio.
Condition análisis ingreso el tiempo máximo que duraría el análisis.
4. Ingresar los datos en el programa (es necesario crear una carpeta dentro del programa)

	Nombre de la muestra	Peso (g)	test	S/N OXITEST	Reactor
1	Sample	0349487	A
2	Smple	0349487	B

El resto de datos me da el programa.

5. Seleccionar toda la fila 1. Click derecho select START

6. Presionar work OXITEST.1. esperar que la temperatura llegue a 80°C (que fue la Temperatura que ingrese en el System), la presión va a estar en negativa (porque aún no se ha abierto el tanque de oxígeno, es decir aún no se adicionado la presión.
7. Una vez llegado a los 80°C presionó presurizar el botón verde.
Esperamos 10 min, luego de este momento me sale un mensaje que me dice que cierre las válvulas, entonces voy al equipo y cierro las válvulas, voy al tanque abro la llave de paso y la del oxígeno, luego regulo la presión a un poco más de 6 bares, doy click en continue del mensaje.
8. Espero a que la presión suba a 6 bares o un poco más, entonces en la parte inferior del programa comienza a poner recording, dejamos que corra el tiempo requerido para el análisis de la muestra .
9. Luego de haber transcurrido las 22 horas, cerrar la válvula del tanque de oxígeno
10. Abrir la válvula del equipo
11. Esperar que se enfríe.
12. Limpiar el equipo.

ANEXO 2

**CURVAS DE EXTRAPOLACIÓN PARA DETERMINAR EL
TIEMPO DE CONSERVACIÓN DEL ACEITE DE SACHA INCHI.**

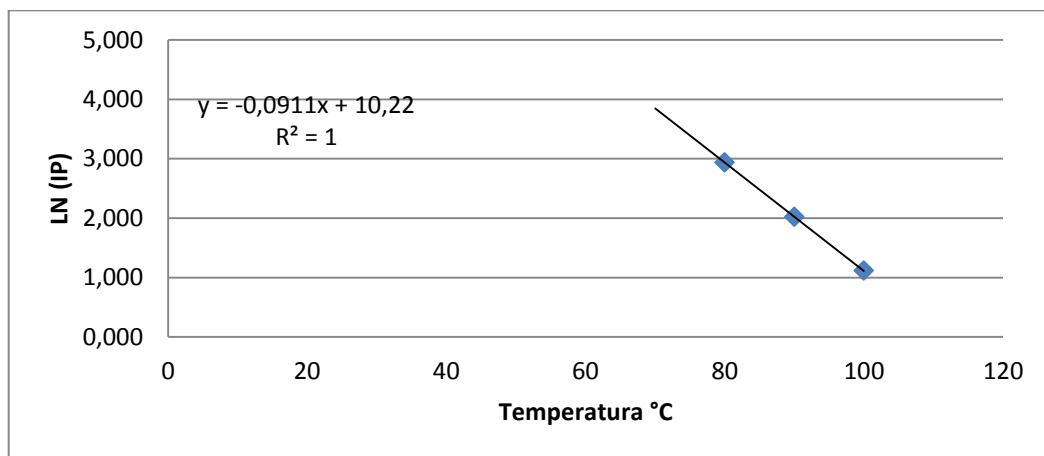
Curvas utilizadas para extrapolar los días de conservación del aceite de sachá inchi del mejor tratamiento con alfa-tocoferol.

Tabla 12. Temperatura (°C) del reactor OXITEST y periodo de inducción (IP).

Factor A	Temperaturas	IP (h:m)	IP(h)	Ln (IP)
0,03% (alfatocoferol)	80	18:51	18,85	2,937
	90	7:32	7,53	2,019
	100	3:03	3,05	1,115

Elaborado por: Santos Sandra, 2017

Gráfico 1. Curva para extrapolar los días de conservación del aceite de sachá inchi con 0,03% alfa- Tocoferol, Temperatura (°C) vs. Ln (IP) R1



Elaborado por: Santos Sandra, 2017

Cálculo del tiempo de conservación del aceite de sachá inchi con alfa- tocoferol.

Ecuación: $y = -0,0911x + 10,22$

$y = 5^{\circ}\text{C}$

$x = (-0,0911 \cdot 5) + 10,22$

$x = 9,7645$

$\text{EXP } 9,7645 = 17404,7776$

$17404,7776 / 24 \text{ horas}$

$725,1991 \text{ Días.}$

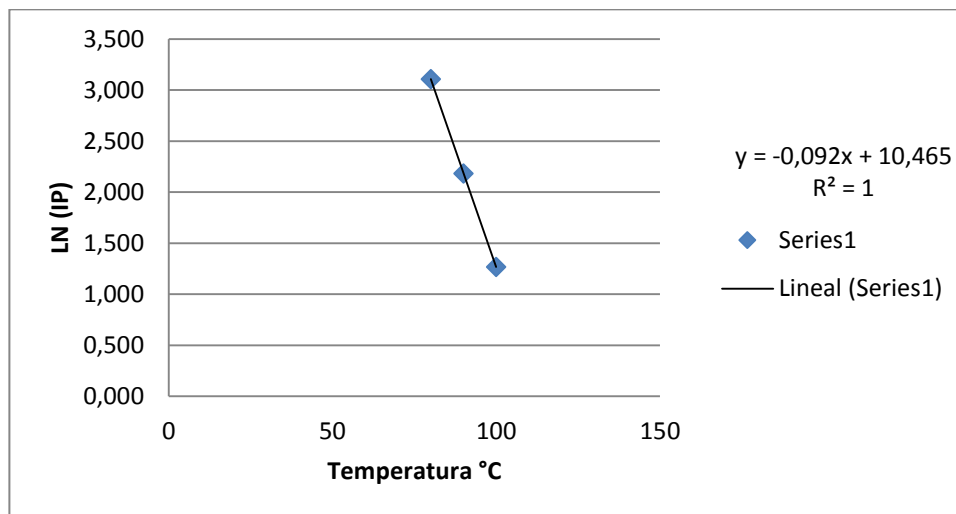
Curvas utilizadas para extrapolar los días de conservación del aceite de sachá inchi del mejor tratamiento con BHT.

Tabla 13. Temperatura (°C) del reactor OXITEST y periodo de inducción (IP).

Factor A	Temperatura del reactor OXITEST	IP (h:mn)	IP(h)	IN (IP)
0,05%	80	22:21	22,35	3,107
	90	8:52	8,87	2,182
	100	3:33	3,55	1,267

Elaborado por: Santos Sandra, 2017

Grafico 2. Curva para extrapolar los días de conservación del aceite de sachá inchi con 0,02% BHT, Temperatura (°C) vs. Ln (IP) R1



Elaborado por: Santos Sandra, 2017

Cálculo del tiempo de conservación del aceite de sachá inchi con BHT.

Ecuación: $y = -0,092x + 10,465$

$y = 5^{\circ}\text{C}$

$x = (-0,092 \cdot 5) + 10,465$

$x = 10,005$

$\text{EXP } 10,005 = 22136,8739$

$22136,8739 / 24 \text{ horas}$

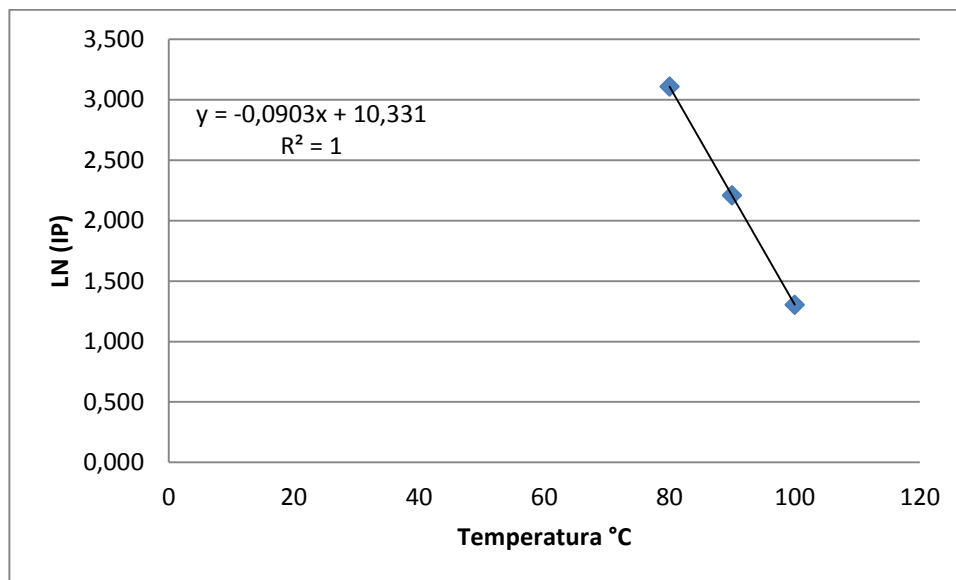
$922,3697 \text{ Días.}$

Curvas utilizadas para extrapolar los días de conservación del aceite de sachá inchi del mejor tratamiento en vida útil con alfa-tocoferol.

Tabla 14. Temperatura (°C) del reactor OXITEST y periodo de inducción (IP).

Factor A	Temperatura del reactor OXITEST	IP (h:mn)	IP(h)	IN (IP)
a0b1c0	80	22:24	22,4	3,109
(alfa-tocoferol, lata, con nitrógeno)	90	9:07	9,12	2,210
	100	3:41	3,68	1,304

Grafico 3. Curva para extrapolar los días de conservación del aceite de sachá inchi con 0,03% alfa- tocoferol, lata y con nitrógeno, Temperatura (°C) vs. Ln (IP) R1



Cálculo del tiempo de vida útil del mejor tratamiento de aceite de sachá inchi a diferentes condiciones de inhibición oxidativa con alfa- tocoferol.

Ecuación: $y = -0,0903x + 10,331$

$y = 5^\circ\text{C}$

$x = (-0,0903 \cdot 5) + 10,331$

$x = 9,8795$

$\text{EXP } 9,8795 = 19525,9572$

$19525,9572 / 24 \text{ horas} = 813,5816 \text{ Días.}$

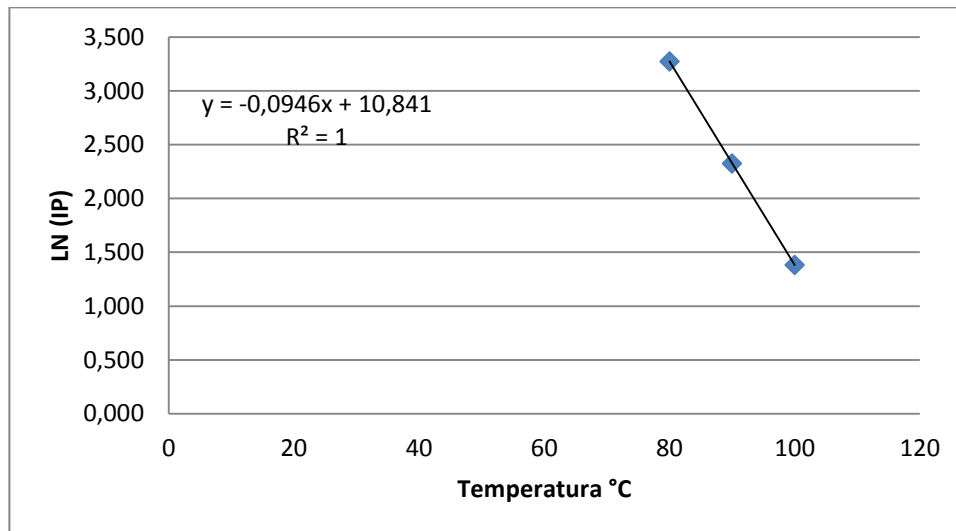
Curvas utilizadas para extrapolar los días de conservación del aceite de sachá inchi del mejor tratamiento en vida útil con BHT.

Tabla 15. Temperatura (°C) del reactor OXITEST y periodo de inducción (IP).

Factor A	Temperatura del reactor OXITEST	IP (h:mn)	IP(h)	IN (IP)
a1b1c0	80	26:25	26,417	3,274
(BHT, lata, con nitrógeno)	90	10:14	10,23	2,326
	100	3:59	3,98	1,382

Elaborado por: Santos Sandra, 2017

Grafico 4. Curva para extrapolar los días de conservación del aceite de sachá inchi con 0,02%BHT, lata y con nitrógeno, Temperatura (°C) vs. Ln (IP) R² = 1



Cálculo del tiempo de vida útil del mejor tratamiento de aceite de sachá inchi a diferentes condiciones de inhibición oxidativa con BHT.

Ecuación: $y = -0,0946x + 10,841$

$y = 5^\circ\text{C}$

$x = (-0,0946 \cdot 5) + 10,841$

$x = 10,3680$

$\text{EXP } 10,3680 = 31824,7638$

$31824,7638 / 24 \text{ horas}$

$1326,0318 \text{ Días.}$

**ANEXO 3
FOTOGRAFÍAS**

FOTOGRAFÍAS

Secuencia de pasos para la determinación de la estabilidad del aceite de sachá inchi con dos tipos de antioxidantes en el equipo oxitest.



Adición del antioxidante



Muestras de aceite



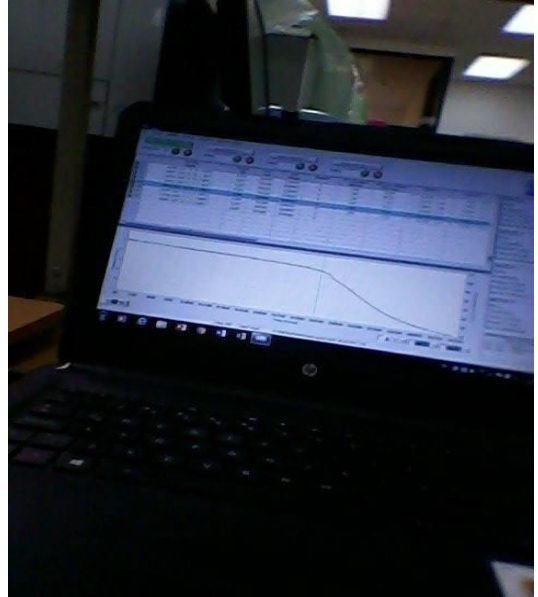
Pesado de la muestras



Colocación en el reactor A y B



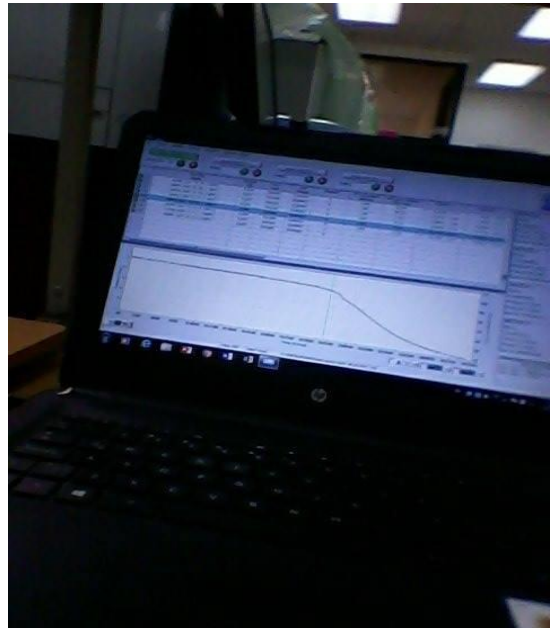
Cierre de las dos cámaras



Ingreso de datos en el programa VELP



Abrir la válvula del tanque y la válvula de paso del oxígeno



Recolección de resultados de IP

Secuencia de pasos para la determinación de la estabilidad del aceite de sachu inchi a diferentes condiciones de inhibición oxidativa en el equipo oxitest.



Envasado del aceite en dos tipos de envases



Inyección de nitrógeno en los botes de aceite



Medición de la cantidad de nitrógeno presente



Almacenamiento de las muestras a 5°C



Extracción de la muestras para determinar IP



Pesado de la muestra



Pesado de la muestra



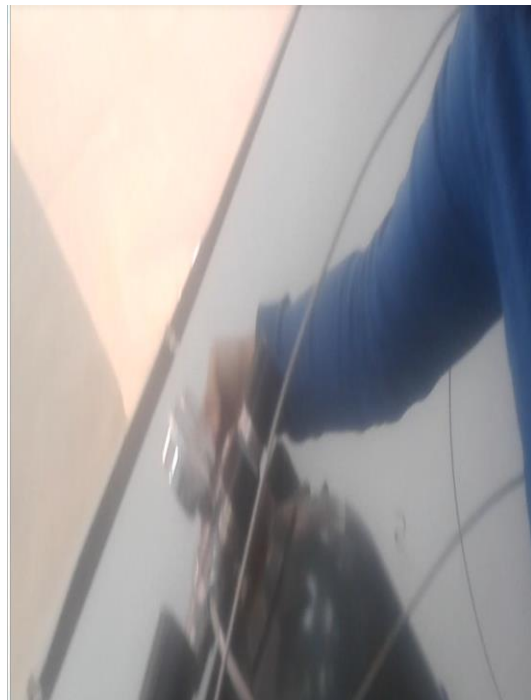
Colocación en el reactor



Cerrar la cámara

	Sample Name	Weight [g]	Test Type	S/N Oxitest	Reactor
✓ 119	sacha inchi T3, R1 a 100°C	6,081	Sample	0349487	A
✓ 120	sacha inchi T4, R1 a 100°C	6,080	Sample	0349487	B
✓ 121	sacha inchi T7, R1 a 100°C	6,022	Sample	0349487	A
✓ 122	sacha inchi T8, R1 a 100°C	6,029	Sample	0349487	B
✓ 123	sacha inchi T7, R1 a 90°C	6,027	Sample	0349487	A
✓ 124	sacha inchi T8, R1 a 90°C	6,024	Sample	0349487	B
✓ 125	sacha inchi T7, R1 a 80°C	6,027	Sample	0349487	A
✗ 126	sacha inchi T8, R1 a 80°C	6,024	Sample	0349487	B
✓ 127	sacha inchi T5, R2 a 100°C	6,027	Sample	0349487	A
✓ 128	sacha inchi T6, R2 a 100°C	6,029	Sample	0349487	B
✓ 129	sacha inchi T5, R1 a 80°C	6,023	Sample	0349487	A
✓ 130	sacha inchi T6, R1 a 80°C	6,024	Sample	0349487	B

Introducir los datos al programa VELP



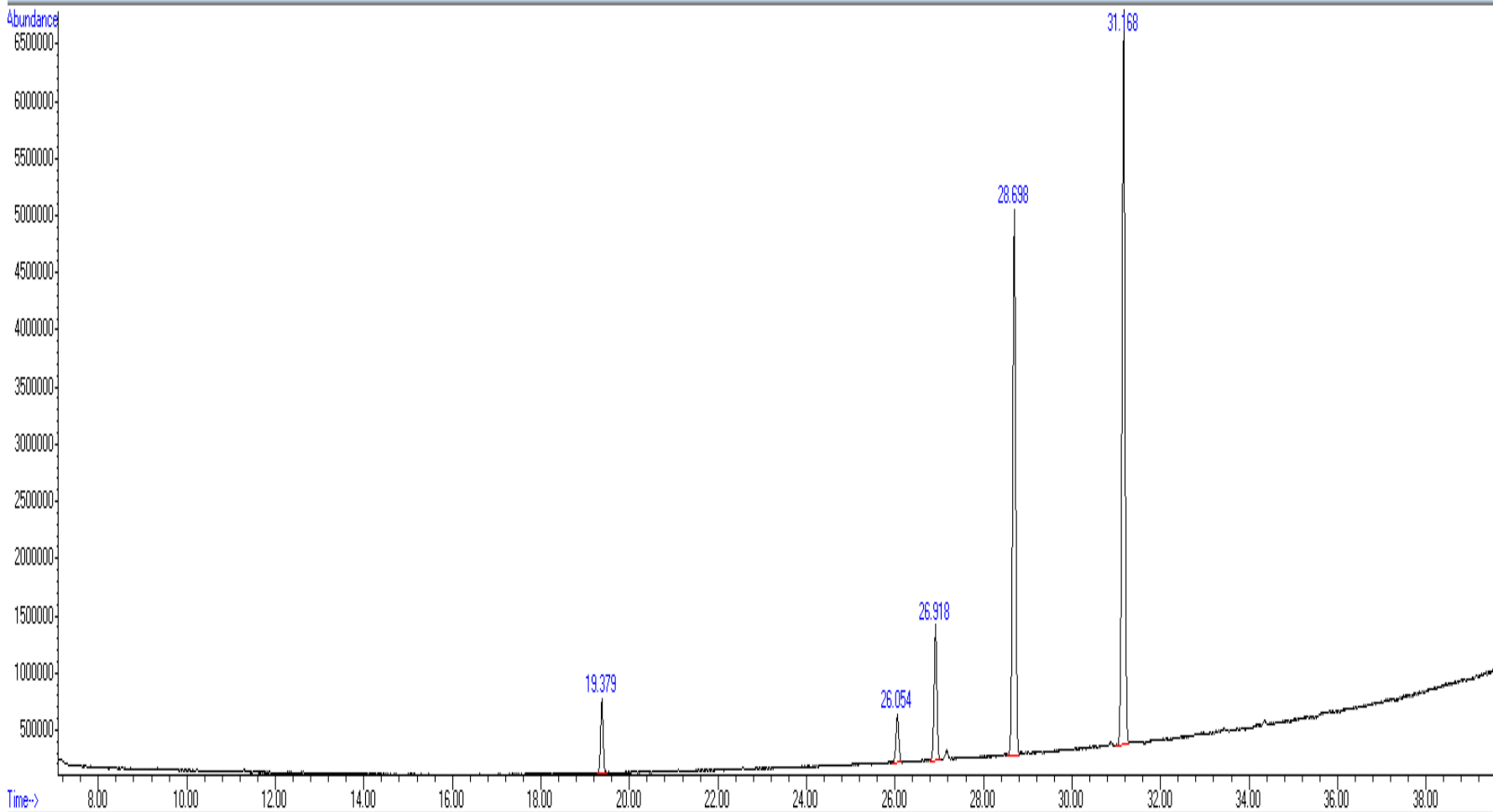
Abrir la valvula del oxígeno



Induction Period [hh:mm]	Curve 1	Curve 2	OXITEST 1	0349487
6:12	Y = -0,036X + 6,01	Y = -2,248X + 19,76	Status	In progress
7:53	Y = -0,031X + 6,01	Y = -1,972X + 21,32	Temperature	89,9
6:43	Y = -0,028X + 5,98	Y = -2,282X + 21,15	Pressure A [bar]	6,01
4:23	Y = -0,061X + 6,03	Y = -1,746X + 13,43	Pressure B [bar]	6,22
7:38	Y = -0,019X + 6,04	Y = -2,450X + 24,63	Run to maintenance	0
7:14	Y = -0,041X + 6,03	Y = -2,469X + 23,62	OXITEST 2	NC
2:53	Y = -0,123X + 6,15	Y = -4,269X + 18,11	Status	NA
2:49	Y = -0,078X + 6,03	Y = -4,281X + 17,88	Temperature	NA
2:53	Y = -0,078X + 6,05	Y = -4,329X + 18,36	Pressure A [bar]	NA
3:04	Y = -0,124X + 5,91	Y = -4,083X + 18,10	Pressure B [bar]	NA
7:25	Y = -0,031X + 5,99	Y = -2,499X + 24,31	Run to maintenance	NA
6:58	Y = -0,044X + 6,12	Y = -2,654X + 24,34	OXITEST 3	NA

Esperar que transcurra el tiempo de análisis y obtener el resultado

ANEXO 4
PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DEL ACEITE DE SACHA INCHI OBTENIDO
EN EL CROMATÓGRAFO



Data Path : D:\MassHunter\GCMS\1\data\CANJE DEUDA\
Data File : Sacha Inchi2.D
Acq On : 27 Sep 2016 13:49
Sample :
Misc :

ALS Vial : 17 **Sample Multiplier: 1**

Search Libraries: D:\mAShUNTER\Library\NIST14.L **Minimum Quality: 0**

Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: ChemStation Intergrator – autoint1. ec

PK#	RT	Area %	Library / ID	REF #	CAS #	Qual
1	19.379	4.09	D:\Masshunter\Library\NIST14.L			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	130820	000112-39-0	99
			Hexadecanoic acid, methyl ester	130813	000112-39-0	99
2	26.054	3.04	D:\Masshunter\Library\NIST14.L			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	130822	000112-39-0	98
			Methyl stearate	157879	000112-61-8	99
3	26.918	8.65	D:\Masshunter\Library\NIST14.L			
			Methyl stearate	157883	000112-61-8	98
			Methyl stearate	157885	000112-61-8	98
4	28.698	35.69	D:\Masshunter\Library\NIST14.L			
			11-Octadecenoic acid, methyl ester, (z)-	155761	001937-63-9	99
			7-Octadecenoic acid, methyl ester	155720	0573396-98-2	99
5	31.168	48.53	D:\Masshunter\Library\NIST14.L			
			9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	155758	001937-62-8	99
			9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	153891	000112-63-0	99
6	28.698	35.69	D:\Masshunter\Library\NIST14.L			
			9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	153889	000112-63-0	99
			8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester	153872	056599-58-7	99
7	31.168	48.53	D:\Masshunter\Library\NIST14.L			
			9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	152040	000301-00-8	99
			9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	152041	000301-00-8	99
8	31.168	48.53	D:\Masshunter\Library\NIST14.L			
			7,10,13Hexadecatrienoic acid, methyl ester	124917	056554-30-4	94

MARIO HP-88...ASAS BUENO.M Tue Apr 24 12:04:00 2018