



INFORME TECNICO

“Química, farmacología y toxicología del aceite de
sacha inchi destinado al mercado de
alimentos funcionales”



Elaborado por :

Arilmi GORRITI GUTIERREZ & Fredy QUISPE JACOBO

*Yo soy la vid,
vosotros los pámpanos;
el que permanece en mí,
y yo en él, éste lleva mucho fruto;
porque separados de mí nada podéis hacer.*

Juan 15:5

ÍNDICE

<i>Presentación</i>	3
<i>Química, farmacología y toxicología del aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) destinado al mercado de alimentos funcionales.</i>	4
<i>Actividad hipolipemiente del aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis L) en ratas Holtzmann. Comparación con el aceite de linaza.</i>	12
<i>Evaluación de la actividad antihipertensiva del aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis L) in ratas Holtzmann.</i>	26
<i>Determinación de la DL50 y evaluación de la toxicidad oral a 60 días del aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) en ratas Holtzmann. Comparación con aceite de linaza</i>	35

PRESENTACIÓN

Los autores deseamos agradecer a GTZ por intermedio de CONCYTEC, la oportunidad de poner a vuestra disposición el informe del Proyecto in titulado “Química, farmacología y toxicología del aceite de sacha inchi destinado al mercado de alimentos funcionales” que hemos desarrollado en el marco del concurso de investigadores de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y la Empresa Agronegocios Peruagro S.R.L

Química, farmacología y toxicología del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) destinado al mercado de alimentos funcionales

Chemistry, Pharmacology and toxicology of the sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil to destine of the functional foods market

¹Arilmi Gorriti Gutierrez, ²Fredy Quispe Jacobo

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. arilmigorritig@gmail.com

²Unidad de I-D+I,. agronegocios.peruagro@gmail.com

Resumen

Se ha realizado la investigación morfológica y química de muestras de semillas y aceites de sachá inchi, recolectados en los departamentos de Amazonas, Huanuco, Junín Loreto, San Martín y Ucayali. Los resultados del análisis morfológico indican que las muestras M-10 y M-11 del departamento de Amazonas presentan los mayores valores en diámetro mayor, diámetro menor, espesor, peso de semilla, peso de cáscara y peso de almendra. Los resultados de la evaluación fisicoquímica de los aceites crudos señalan que la muestra M-10 de Amazonas presenta el mayor índice de acidez, valor de peróxido, índice de saponificación e índice de yodo con respecto a las muestras M-12 y M-23 de los departamentos de San Martín y Junín. El análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases muestra que los aceites crudos contienen ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido vaccénico, ácido linoléico, ácido α -linolénico y ácido eicosanoico, sobresaliendo en todos los aceites el ácido α -linolénico. Los resultados que se presentan son avances de la presente investigación.

Palabras clave: sachá inchi, semilla de sachá inchi, aceite de sachá inchi, análisis morfológico, ácidos grasos, ácido α -linolénico.

Abstract

The morphology and chemistry of seeds and oils of sachá inchi were evaluated in the investigation. The results of the morphological analysis indicate that the samples M-10 and M-11 of the Amazons department present the biggest values in major diameter, smaller diameter, thickness, seed weight, shell weight and almond weight. The results of the physicochemical evaluation of three raw oils indicate that the sample M-10 of Amazons presents a bigger acidity index, value of peroxide, saponification index and index of iodine with regard to the samples of M-12 and M-23 of San Martín and Junín department respectively. The analysis of fatty acid for GC indicates that the raw oils contain palmitic acid, stearic acid, oleic acid, vaccenic acid, linoleic acid, α -linolenic acid and eicosanoic acid, standing out in all the oils α -linolenic acid. The results are advances of the present investigation.

Key words: Sachá inchi, sachá inchi seed, sachá inchi oil, morphologic analysis, fatty acids, α -linolenic acid.

INTRODUCCIÓN

El sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) es una euphorbiaceae que se conoce también con los nombres de amauebe, amui-o (v. huitoto), sachá inchi, sachá inchi, maní del monte, sachá yachi, sachá yuchi, sachá yuchiqui, yuchi (v. cashibo), sampannakii, suwaa, correa (Brack, 1999). La morfología del sachá inchi corresponde a un arbusto trepador, voluble, semileñoso y perenne que alcanza alturas indeterminadas (Brack, 1999); sus frutos son cápsulas de 3 a 5 cm de diámetro de color verde que al madurar se tornan color marrón negrusco, formados usualmente por cuatro cápsulas dentro de las cuales se encuentran las semillas de color marrón oscuro ligeramente abultadas en el centro y aplastadas en los bordes dentro de las cuales se encuentran los cotiledones a manera de almendras, cubiertas de una película blanquecina (Arévalo, 1996). La especie se distribuye desde América Central hasta Bolivia y en nuestro país el sachá inchi se encuentra al estado silvestre y cultivado en Selva baja y alta. Se desarrolla en alturas que van desde los 100 msnm en la Selva baja hasta los 2000 msnm en la Selva alta, en zonas con precipitaciones anuales promedio

de 1084 mm y temperaturas que oscilan entre los 10 y 36,6°C sobre suelos ácidos con alta concentración de aluminio, texturas arcillosas y franco arenosas (Guerrero, 2003; Guillen *et al.*, 2003; Arévalo, 1996;). Evaluaciones realizadas en el sachá inchi indican contenidos de aceite superiores a otras semillas (soya, maíz, maní, girasol, algodón, palma y oliva) alrededor del 50%, el análisis de ácidos grasos revela la presencia de ácido linoléico comparable al maní (36%) y ácido α -linolénico superior a otras semillas como soya, maní, algodón y girasol con contenidos cercanos al 50% (Hamaker *et al.*, 1992), sin embargo con respecto al aceite de linaza presenta un menor contenido de ácido α -linolénico y ácido oleico y un mayor contenido de ácido linoléico (Guillen *et al.*, 2003; Cuppett, 2001). Los ácidos grasos contenidos en el sachá inchi son ácidos indispensables para el organismo y precursores de otros ácidos grasos esenciales de cadenas más grandes para los mamíferos, al respecto estudios realizados indican que disminuyen los elevados niveles de colesterol, previenen ataques del corazón, disminuyen la presión arterial elevada, previenen la artritis reumatoide, la esclerosis múltiple, psoriasis, eczemas y tipos de cáncer de diferentes orígenes (Barceló-Coblijn y Murphy, 2009; Ihara-Watanabe *et al.*, 1999). En razón de la importancia de estos ácidos grasos contenidos en el aceite de sachá inchi se realiza la presente investigación que tiene como objetivos la caracterización morfológica de las semillas, la determinación de los ácidos grasos y evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los aceites, la determinación de la actividad hipolipemiante e hipotensora del aceite y la determinación de la DL50 y toxicidad oral a 60 días del aceite de sachá inchi; en ese sentido el presente documento contiene avances de los dos primeros objetivos.

MATERIALES Y REACTIVOS

Semillas de sachá inchi de los campos de productores y acopiadores de las principales zonas de producción de los departamentos de Ucayali, San Martín, Huánuco, Junín y Loreto del Perú, fueron recolectadas entre los meses de enero y abril del año 2009, para la realización de la presente investigación; el origen, código y características de los lugares de recolección se indican en la tabla 1. Todos los reactivos y solventes utilizados fueron de grado analítico Sigma Aldrich Chemical Co. y Merck.

MÉTODOS

Evaluación morfológica de las semillas de sachá inchi

Semillas escogidas al azar en cantidades representativas de lotes de producción se procedieron a evaluar en semillas individuales: diámetro mayor, diámetro menor, espesor, peso de semilla, peso de cáscara y peso de almendra; y en 100 semillas se evaluaron: peso de 100 semillas, peso de cáscara de 100 semillas y peso de almendras de 100 semillas.

Obtención del aceite crudo

Entre 150 y 250g de almendras convenientemente seleccionadas se colocaron en el cilindro de acero inoxidable de la prensa hidráulica (marca nacional) y se procedieron a prensar hasta alcanzar la presión de 3000 PSI. Los aceites crudos obtenidos se decantaron y posteriormente se filtraron a través de papel filtro (Whatman No. 1) con la ayuda de una bomba de vacío (Copelametic, USA), y los volúmenes filtrados, se almacenaron a temperaturas bajas en frascos de vidrio color ámbar.

Tabla 1. Características de las zonas del material recolectado de sachá inchi

Género	Especie	Origen	Código	Características del lugar de recolección		
				Latitud S	Longitud O	m.s.n.m.
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Ucayali	M-1	08° 23' 11.80"	74° 32' 35.61"	156
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Ucayali	M-2	08° 43' 13.2"	74° 54' 24.3"	200
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-3	08° 14' 27.7"	76° 33' 09.7"	494
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-4	08° 14' 23.5"	76° 33' 23.1"	519
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Huánuco	M-5	09° 13' 58.88"	75° 59' 21.85"	626
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Huánuco	M-6	09° 13' 58.88"	75° 59' 21.85"	626
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-7	08° 14' 16.6"	76° 37' 36.5"	682
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Ucayali	M-8	08° 29' 06.7"	74° 49' 20.4"	203
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Ucayali	M-9	08° 30' 43.0"	74° 53' 27.6"	196
Plukenetia	<i>sp.</i>	Amazonas	M-10	06° 24' 33.5"	77° 34' 48.7"	1619
Plukenetia	<i>sp.</i>	Amazonas	M-11	06° 24' 27.7"	77° 34' 44.7"	1609
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-12	06° 22' 27.7"	76° 36' 12.6"	379
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-13	06° 26' 17.5"	76° 35' 03.5"	310
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-14	06° 29' 36.7"	76° 34' 51.6"	588
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-15	06° 29' 25.6"	76° 34' 55.7"	559
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-16	06° 24' 51.29"	76° 31' 36.78"	809
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-17	06° 24' 36.6"	76° 35' 37.4"	209
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-18	07° 03' 59.7"	76° 35' 23.0"	313
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-19	07° 16' 00.9"	76° 44' 13.4"	288
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-20	06° 34' 10.20"	76° 08' 13.97"	246
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	San Martín	M-21	06° 34' 13.95"	76° 08' 34.68"	221
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Junín	M-22	11° 00' 38.8"	74° 53' 07.2"	915
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Junín	M-23	10° 52' 47.6"	75° 04' 31.7"	875
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Junín	M-24	11° 00' 35.3"	74° 53' 47.3"	1049
Plukenetia	<i>P. volubilis</i>	Loreto	M-25	03° 42' 05.6"	73° 16' 50.3"	116

Latitud S: Latitud sur, Longitud O: Longitud oeste

Análisis de los aceites crudos

Los aceites crudos se evaluaron según los siguientes métodos: humedad método AOAC (1990, 984.20), índice de acidez método AOAC (1990, 940.28), índice de yodo método AOAC (1990, 920.159), índice de peróxido método AOAC (1990, 965.33), densidad en el densitómetro (Mettler Toledo Modelo Densito 30P, USA), índice de refracción en el refractómetro (Mettler Toledo modelo 30PX, USA). Los aceites fueron convertidos a sus correspondientes ésteres de metilo y evaluados por CG de acuerdo al método validado por el Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (LABS-ITP-FQ-002-98, 2003).

Análisis estadístico

Los datos de las evaluaciones morfológicas de las semillas, análisis de grasas, humedad de las semillas, y de las propiedades fisicoquímicas de los aceites crudos, se analizaron en el software estadístico SAS V7 (SAS Institute Inc.). Los cálculos de análisis de variancia (ANOVA) de las diferentes muestras codificadas se realizó utilizando el procedimiento del Modelo General Lineal (MGL) para un diseño completo al azar ,

pruebas múltiples de Duncan se emplearon para determinar la significación de las variables evaluadas a una $p \leq 0,05$. Los datos en (%) fueron convenientemente transformados a $\arccos \sqrt{\frac{\%}{100}}$ para el análisis de variancia y prueba de significancia de Duncan. La hipótesis planteada en la investigación muestra que bajo las condiciones de producción de sachá inchi en los departamentos de Junín, Huanuco, San Martín, Amazonas, Ucayali y Loreto, los cultivares expresan los mismos caracteres morfológicos de semillas, rendimientos de aceite crudo, rendimientos de grasas totales, propiedades fisicoquímicas de los aceites crudos y las mismas composiciones de los ácidos grasos de los aceites crudos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis morfológico de semillas

El análisis morfológico de semillas individuales indica que las muestras M-10 y M-11 presentan los mayores valores del diámetro menor de semilla iguales a 21,56 mm y 20,85 mm, los valores más bajos de este carácter se observaron en las muestras M-1 y M-8 con 14,89 mm y 15,28 mm respectivamente (figura 1). Para el carácter del diámetro mayor de semilla las muestras M-10 y M-11 presentaron los mayores valores (24,63 mm y 23,78 mm respectivamente), mientras que la muestra M-1 presentó el más bajo valor (18,31 mm) (figura 1).

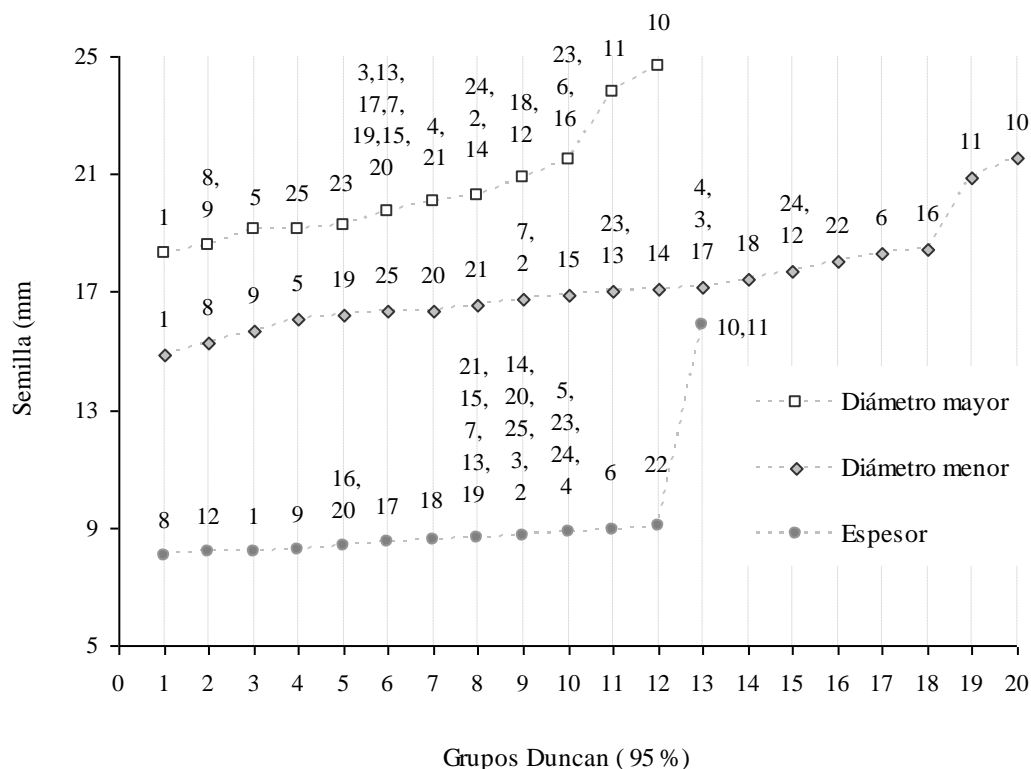


Figura 1. Diámetro mayor, diámetro menor y espesor de semilla de sachá inchi. La figura muestra los grupos Duncan formados con una probabilidad del 95% según cada carácter, para el diámetro mayor se formaron 12 grupos donde la muestra M-10 presenta estadísticamente el mayor valor, para el diámetro menor se formaron 20 grupos, y para el espesor se formaron 13 grupos según la probabilidad del 95%. La figura muestra los resultados promedio de 20 repeticiones donde sobresalieron de manera general las muestras del departamento de Amazonas.

Con los resultados del diámetro menor y diámetro mayor de semilla se calculó el diámetro promedio donde las muestras M-10 y M-11 presentaron los mayores valores (23,09 mm y 22,31 mm respectivamente), mientras que las muestras M-1 y M-8 presentaron los valores más bajos (16,60 mm y 16,91 mm respectivamente); al respecto Arévalo (1996) indica valores entre 17,80 mm y 20,60 mm para el diámetro de las semillas de sachá inchi en las evaluaciones desarrolladas en la EEA El Porvenir en Tarapoto. Para el caso del espesor de semilla la prueba de contrastes múltiples de Duncan al 95% indican que los mayores valores se presentaron para las muestras M-11 y M-10 (16,04 mm y 15,70 mm respectivamente), mientras que los valores más bajos se observaron para la muestra M-8 con 8,05 mm, al respecto no se observaron antecedentes, figura 1.

Extracción del aceite crudo de sachá inchi

Los rendimientos de extracción de aceite crudo descrito en la tabla 2, indican que las muestras M-10 y M-11 de Amazonas y M-3 de San Martín sobrepasaron rendimientos del 37% cuando se sometieron hasta una presión de 3000 PSI. De manera contradictoria se observa que la muestra que presentó el mayor rendimiento de 100 almendras M-23 presentó el rendimiento más bajo de extracción de aceite crudo.

Tabla 2. Extracción de aceite crudo y rendimiento de extracción de aceite

Muestra	Almendra (g)	Humedad (%)	Aceite		Rendimiento (%)***
			(mL)	(g)	
M-1	221,867 ± 0,850	6,08 ± 0,03	75,667 ± 2,887	70,120 ± 2,675	31,60 ± 1,10 h,j,g,i
M-2	239,200 ± 16,629	6,15 ± 0,03	82,667 ± 2,082	76,640 ± 1,930	32,12 ± 1,82 f,h,j,g,i
M-3	223,350 ± 0,495	5,57 ± 0,03	92,500 ± 0,707	85,415 ± 0,653	38,24 ± 0,21 b
M-4	230,700 ± 5,180	5,94 ± 0,02	83,000 ± 2,000	76,941 ± 1,854	33,36 ± 1,19 f,h,e,g,i
M-5	121,150 ± 9,829	5,34 ± 0,06	48,500 ± 2,121	44,979 ± 1,967	37,18 ± 1,39 c,b,d
M-6	142,950 ± 11,384	5,45 ± 0,02	54,500 ± 0,707	50,336 ± 0,653	35,31 ± 2,35 f,c,e,b,d
M-7	234,950 ± 0,778	5,88 ± 0,02	90,500 ± 6,364	83,866 ± 5,897	35,69 ± 2,39 c,e,b,d
M-8	225,500 ± 0,141	5,72 ± 0,02	87,500 ± 6,364	81,095 ± 5,898	35,96 ± 2,59 c,e,b,d
M-9	225,217 ± 0,161	5,90 ± 0,01	82,667 ± 4,041	76,640 ± 3,747	34,03 ± 1,68 f,h,e,g,d
M-10	220,050 ± 0,042	5,48 ± 0,04	102,000 ± 0,00	94,544 ± 0,000	42,96 ± 0,00 a
M-11	220,107 ± 0,042	5,75 ± 0,01	89,667 ± 5,508	83,121 ± 5,106	37,76 ± 2,32 b
M-12	222,700 ± 0,954	6,37 ± 0,01	77,333 ± 3,055	71,696 ± 2,832	32,20 ± 1,34 f,h,j,g,i
M-13	223,100 ± 0,608	6,03 ± 0,01	74,667 ± 5,686	69,231 ± 5,272	31,03 ± 2,28 h,j,i
M-14	223,100 ± 0,608	5,89 ± 0,01	83,333 ± 3,512	77,250 ± 3,256	34,60 ± 1,58 f,c,e,g,d
M-15	222,000 ± 1,980	6,10 ± 0,03	83,500 ± 0,707	77,405 ± 0,655	34,87 ± 0,02 f,c,e,g,d
M-16	220,000 ± 0,000	7,08 ± 0,01	81,333 ± 0,577	75,404 ± 0,535	34,27 ± 0,24 f,h,e,g,d
M-17	219,000 ± 1,000	6,80 ± 0,07	70,333 ± 5,033	65,213 ± 4,667	29,78 ± 2,08 j
M-18	220,000 ± 0,000	5,93 ± 0,04	82,667 ± 2,309	76,624 ± 2,141	34,83 ± 0,97 f,c,e,g,d
M-19	220,000 ± 0,000	6,28 ± 0,03	71,500 ± 3,536	66,273 ± 3,277	30,12 ± 1,49 j,i
M-20	220,000 ± 0,000	5,97 ± 0,02	72,333 ± 6,028	67,060 ± 5,588	30,48 ± 2,54 j,i
M-21	220,000 ± 0,000	5,71 ± 0,04	76,000 ± 4,000	70,475 ± 3,709	32,03 ± 1,69 f,h,j,g,i
M-22	220,000 ± 0,000	6,55 ± 0,04	72,333 ± 0,577	67,060 ± 0,535	30,48 ± 0,24 j,i
M-23	220,000 ± 0,000	5,46 ± 0,03	71,000 ± 1,000	65,817 ± 0,927	29,92 ± 0,42 j
M-24	220,000 ± 0,000	5,98 ± 0,03	82,333 ± 0,577	76,323 ± 0,535	34,69 ± 0,24 f,c,e,g,d
M-25	200,000 ± 0,000	7,26 ± 0,04	67,000 ± 4,359	62,129 ± 4,042	31,06 ± 2,02 h,j,i

***: Representa diferencias altamente significativas con $p \leq 0,001$. Valores con diferentes letras dentro de la columna denotan diferencias significativas en la prueba de Duncan en $p \leq 0,05$. Valores promedio de 3 repeticiones \pm desviación estándar.

El análisis de variancia de los rendimientos de extracción de aceite crudo en la prensa hidráulica de las diferentes muestras, indica diferencias altamente significativas con una probabilidad del $p \leq 0,001$.

Análisis fisicoquímico de los aceites crudos de sachá inchi

Para establecer diferencias entre las muestras recolectadas de sachá inchi, en el documento se presentan los resultados de los análisis fisicoquímicos de las muestras M-10 de Amazonas, M-12 de San Martín y M-23 de Junín. En la Tabla 3, se indican los valores de grasas totales de las muestras, donde sobresale la muestra M-10 con 63%, los aceites crudos obtenidos indican que las muestras M-10 y M-11 presentan los mayores valores (Tabla 2). Los valores de índice de refracción en las tres muestras fueron similares e iguales a 1,480, valores que se encuentran dentro de lo reportado por Mejía (1997) y Ángeles (2002). Los datos de densidad estuvieron entre 0,9269 y 0,9271 similares a los reportados por Mejía (1997) que indica el valor de 0,9290. Los valores de acidez de las muestras expresadas como ácido oleico estuvieron entre 0,231 y 1,075, Mejía (1997) indica el valor de 1,227 superior al encontrado en la investigación y Ángeles (2002) para el aceite crudo indica el valor de 0,712 expresado como % de ácido linolénico. Los valores de índice de yodo estuvieron entre 192,300 y 197,831, que fueron ligeramente superiores a los reportados por Mejía (1997) y Ángeles (2002) para el aceite crudo (189 y 174,814 mg de I/100g respectivamente), al comparar los resultados encontrados con otros aceites, se observa que el índice de yodo se encuentra dentro de los rangos exhibidos para el aceite de linaza y superior a los aceites de algodón, oliva, palma, maní, colza, cártamo y sésamo (Cuppett, 2001).

Tabla 3. Características fisicoquímicas de los aceites crudos de sachá inchi

Características	Muestra		
	M-10	M-12	M-23
Grasa total (%)	62,56 ± 0,03	52,32 ± 1,54	52,64 ± 0,51
Aceite crudo (%)	42,96 ± 0,01	32,20 ± 1,34	29,92 ± 0,42
Índice de refracción a 25 °C	1,480 ± 0,000	1,480 ± 0,000	1,480 ± 0,000
Densidad a 25 °C (g/mL)	0,9269 ± 0,000	0,9271 ± 0,002	0,9270 ± 0,001
Ácidos grasos libres (% Ácido oleico)	1,075 ± 0,004	0,231 ± 0,003	0,305 ± 0,006
Índice de yodo (g de I/100 g)	192,300 ± 1,356	194,035 ± 0,381	197,831 ± 0,207
Índice de saponificación (mg KOH/g)	193,823 ± 0,497	184,607 ± 0,200	191,027 ± 0,870
Valor de peróxido (meq O ₂ /kg)	1,683 ± 0,141	0,890 ± 0,143	0,693 ± 0,139

Valores promedio de 2 repeticiones ± desviación estándar.

Análisis de ácidos grasos de los aceites crudos de sachá inchi

El análisis de ácidos grasos de los aceites crudos de sachá inchi indica la presencia de ácido palmítico donde la muestra M-10 sobresale con respecto a las muestras M-12 y M-23 siendo ligeramente igual al valor reportado por Ángeles (2002), ácido esteárico entre 2,44% y 2,97% donde sobresalió la muestra M-12 de San Martín, ácido oleico entre 7,44% para la M-23 y 9,57% para la M-10, ácido linoléico entre 29,49% y 36,19% parecido al reportado por Ángeles (2002), ácido alfa linolénico entre 47,06% y 52,11% similar al reportado por Ángeles (2002) para el aceite crudo, y ácido eicosaenoico entre 0,27% y 0,28%, Tabla 4. De los resultados se observa que en omega 3 la muestra M-10 sobresale ligeramente sobre la M-23 y ésta sobre la muestra M-12.

Tabla 4. Análisis de ácidos grasos de los aceites crudos de sachá inchi

Ácidos grasos (%)	Cn:m	Muestras		
		M-10	M-12	M-23
Butírico	04:0	nd	nd	nd
Caproico	06:0	nd	nd	nd
Caprílico	08:0	nd	nd	nd
Cáprico	10:0	nd	nd	nd
Undecanoico	11:0	nd	nd	nd
Láurico	12:0	nd	nd	nd
Tridecanoico	13:0	nd	nd	nd
Mirístico	14:0	nd	nd	nd
Miristoleico	14:1	nd	nd	nd
Pentadecaenoico	15:0	nd	nd	nd
Cis-10-Pentadecenoico	15:1	nd	nd	nd
Palmitico	16:0	5,27 ± 0,01	3,95 ± 0,01	3,41 ± 0,02
Palmitoleico	16:1	nd	nd	nd
Heptadecaenoico	17:0	nd	nd	nd
Cis-10-Heptadecenoico	17:1	nd	nd	nd
Esteárico	18:0	2,56 ± 0,03	2,97 ± 0,01	2,44 ± 0,01
Oleico	18:1, ω-9	9,57 ± 0,07	9,01 ± 0,00	7,44 ± 0,01
Vaccenico	18:1, ω-7	0,73 ± 0,01	0,58 ± 0,01	0,52 ± 0,00
Linoleico	18:2, ω-6	29,49 ± 0,12	36,19 ± 0,02	34,39 ± 0,02
γ-Linolénico	18:3, ω-6	nd	nd	nd
α-Linolénico	18:3, ω-3	52,11 ± 0,22	47,06 ± 0,02	51,48 ± 0,04
Estearidónico	18:4, ω-3	nd	nd	nd
Araquídico	20:0	nd	nd	nd
Eicosaenoico	20:1, ω-9	0,28 ± 0,01	0,27 ± 0,03	0,30 ± 0,00
Eicosadienoico	20:2	nd	nd	nd
Eicosatrienoico	20:3, ω-6	nd	nd	nd
Eneicosaenoico	21:0	nd	nd	nd
Eicosatrienoico	20:3, ω-3	nd	nd	nd
Araquidónico	20:4, ω-6	nd	nd	nd
Eicosapentaenoico	20:5, ω-3	nd	nd	nd
Behénico	22:0	nd	nd	nd
Cetoleico	22:1, ω-11	nd	nd	nd
Erucico	22:1ω-9	nd	nd	nd
Docosadienoico	22:2	nd	nd	nd
Tricosanoico	23:0	nd	nd	nd
Lignocérico	24:0	nd	nd	nd
Clupadónico	22:5, ω-3	nd	nd	nd
Docosahexaenoico	22:6, ω-3	nd	nd	nd
Nervónico	24:1, ω-9	nd	nd	nd

n: número de carbonos, m: número de dobles enlaces, ω: omega, nd: no detectable

CONCLUSIONES

- Existen diferencias significativas entre las diferentes muestras de semillas de sachá inchi que fueron recolectadas en los departamentos de Junín, Huanuco, San Martín, Amazonas, Ucayali y Loreto.
- Las muestras M-10 y M-11 de Amazonas sobresalieron en diámetro menor, diámetro mayor, espesor de semilla, así como en peso de semilla, peso de almendra y peso de cáscara tanto para semillas individuales como para 100 semillas.
- Los rendimientos de aceite crudo fueron superiores para las muestras M-10 y M-11 de Amazonas, y la M-3 de Tingo María de Huanuco.
- La muestra M-10 sobresale en ácido oleico, ω -9 y ácido linolénico, ω -3; mientras que la muestra M-12 de la localidad de Pinto recodo de San Martín sobresalió en ácido linoleico, ω -6.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ángeles, M. 2002. Determinación de la estabilidad del aceite crudo y semi refinado de la semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sometido a temperaturas variables de almacenamiento. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Lima.
- Arévalo, G., 1996. Colección, Caracterización y Mantenimiento de Germoplasma de Oleaginosas Nativas. EEA El Porvenir. Informes Anuales 1990-1995, Tarapoto.
- Barcelo-Coblijn, G. 2009. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Progress in Lipid Research*. 48: 355-374.
- Brack, A., 1999. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles de Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos "Bartolomé de las Casas". Cuzco.
- Cuppett, S. 2001. Oil Quality Indices. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Ronald E. Wrolstad, Terry E. Acree, Haejung An, Eric A. Decker, Michael H. Penner, David S. Reid, Steven J. Schwartz, Charles F. Shoemaker, Denise M. Smith and Peter Sporns, eds.) pp. D1.4.1- D1.4.3. John Wiley & Sons, Inc.
- Guerrero, C., 1993. Densidad de siembra de leguminosas de grano en asociación con "Maní del Inca" (*Plukenetia volubilis* L.) en etapa inicial de desarrollo en el Bajo Mayo. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín. Departamento de Agroindustria. Tarapoto.
- Guillén, M., Ruiz, A., Cabo, N., Chirinos, R., Pascual, G., 2003. Characterization of Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil by FTIR Spectroscopy and ^1H NMR. Comparison with Linseed Oil. *JAOCS*. 80:755-762.
- Hamaker, B., Valles, C., Gilman, R., Hardmeier, D., Clark, H., García, H., Gonzales, A., Kohlsted, I., Castro, M., 1992. Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis* L.) *Cereal Chem*. 69:461-463.
- Ihara-Watanabe, M., Umekawa, H., Takahashi, T., Furuichi, Y. Effects of dietary alpha- or gamma-linoleic acid on levels and fatty acid compositions of serum and hepatic lipids, and activity and mRNA abundance of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 122: 213-220.
- Mejía, M. 1997. Extracción y refinación del aceite de sachá inchi. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Lima.

**Actividad hipolipemiente del aceite de sachá inchi
(*Plukenetia volubilis* L) en ratas Holtzmann. Comparación con el aceite de linaza**

**Hypolipidaemic activity of sachá inchi
(*Plukenetia volubilis* L) oil in Holtzmann rats. Comparison with linseed oil**

Arilmi Gorriti^{1a}, Jorge Arroyo^{1b,c}, Fredy Quispe², Braulio Cisneros^{1b},
Martín Condorhuamán^{1b}, Víctor Chumpitaz^{1b}

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad hipolipemiente del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en ratas Holtzmann. **Material y métodos:** Aceites crudos de sachá inchi y linaza se emplearon en la investigación, que utilizó 72 ratas machos divididos en nueve grupos de ocho ratas cada uno, de los cuales tres grupos fueron sin colesterol: solución salina fisiológica 4 mL/kg (SSF), aceite de sachá inchi 0,5 mL (SI05) y aceite de linaza 0,5 mL (L05); y seis grupos a los que se les suministró colesterol siendo estos: grupo colesterol 120 mg/kg (C), C + aceite de sachá inchi 0,1 mL (CSI01), C + aceite de sachá inchi 0,5 mL (CSI05), C + aceite de sachá inchi 1 mL (CSI1), C + aceite de linaza 0,5 mL (CL05) y C + Atorvastatina 15 mg/kg (CAT), administrados por vía oral durante dos meses. La evaluación de la actividad hipolipemiente se realizó después de extraer muestras de sangre a los 30 y 60 días de iniciado el experimento donde se evaluaron los niveles de colesterol total, HDL, triglicéridos, urea, glucosa, TGP y fosfatasa alcalina, según el método enzimático. **Resultados:** Los grupos con 0,5 mL de aceite de sachá inchi (SI05 y CSI05) hacia los 60 días presentaron los mayores porcentajes de reducción del colesterol y triglicéridos, acompañado de los mayores incrementos no significativos de HDL; en ese tiempo los valores de glucosa y urea no presentaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos siendo el tratamiento CSI05 el que presentó los menores valores de glucosa y mayores valores en urea, así como los valores significativamente más bajos en fosfatasa alcalina en comparación con los grupos de C y CL05 que presentaron los valores más altos; en relación a la TGP los tratamientos CSI1 y CL05 presentaron los valores significativamente más bajos. **Conclusión:** El estudio comparativo confirma que el aceite de sachá inchi posee mayor actividad hipolipemiente que el aceite de linaza en ratas Holtzmann.

Palabras clave: aceite sachá inchi, aceite linaza, hipolipemiente, ratas Holtzmann

ABSTRACT

Objective: To determine the hypolipidaemic activity of the sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oils in Holtzmann rats. **Material and methods:** Raw oils of sachá inchi and linseed were used in the investigation that used 72 rats males divided in nine groups of eight rats each one, of which three groups were without cholesterol: solution saline physiologic 4 mL/kg (SSF), oil of sachá inchi 0,5 mL (SI05) and oil of linseed 0,5 mL (L05); and six groups to those that were given cholesterol being these: group cholesterol 120 mg/kg (C), C + oil of sachá inchi 0,1 mL (CSI01), C + oil of sachá inchi 0,5 mL (CSI05), C + oil of sachá inchi 1 mL (CSI1), C + oil of linseed 0,5 mL (CL05) and C + Atorvastatina 15 mg/kg (CAT), administered for via oral during two months. The evaluation of the hypolipidaemic activity was carried out after extracting samples of blood to the 30 and 60 days of initiate the experiment where the levels of total cholesterol, HDL, triglycerides, urea, glucose, TGP and alkaline fosfatasa were evaluated **Results:** Toward the 60 days the groups with 0,5 mL of sachá inchi oil (SI05 and CSI05) presented the biggest percentages in reduction of the cholesterol and triglycerides, accompanied by the biggest non significant increments in HDL; in that time the values of glucose and urea didn't present significant differences among the different treatments being the treatment CSI05 the one that presented the smallest values of glucose and bigger values in urea, as well as the significantly lower values in alkaline fosfatasa in comparison with the groups of C and CL05 that presented the highest values; in relation to the TGP the treatments CSI1 and CL05 presented the significantly lower values. **Conclusion:** The comparative study reveals that the oil of sachá inchi is more hypolipidaemic than the oil of linseed in Holtzmann rats.

Key words: Sachá inchi oil, linseed oil, hypolipidaemic activity, Holtzmann rats

INTRODUCCIÓN

La primera causa de muerte en el mundo es actualmente la enfermedad coronaria, que ocupa también el quinto lugar como causa de morbilidad, según estadísticas, hacia el 2050 se espera que se haya duplicado su frecuencia, de esta manera ésta no sólo seguirá siendo la primera causa de mortalidad sino que será también la primera causa de morbilidad. Ruiz A¹.

^{1a} Laboratorio de Farmacognosia y Medicina tradicional, Facultad de Farmacia y Bioquímica. arilmigorritig@gmail.com

^{1b} Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina

^{1c} Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina

² Unidad de I-D+I, Empresa Agronegocios peruagro S.R.L. agronegocios.peruagro@gmail.com

En nuestro país la situación no es diferente y las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de muerte de la población adulta, siendo uno de los factores de riesgo más frecuente la dislipidemia, que se debe principalmente a factores hereditarios así como a una alimentación desequilibrada, por lo que es importante considerar dentro de su prevención y tratamiento terapias que incluyan alimentos funcionales que disminuyan o normalicen el perfil lipídico. Carrero ². En ese sentido en el Perú se encuentran oleaginosas nativas que pueden ser empleadas para la prevención y tratamiento de dislipidemias, como sacha inchi (*Plukenetia volúbilis* L.) que presenta altos contenidos de aceite, al respecto investigaciones realizadas en ácido grasos revelan ácido α -linolénico (AAL) superior a los aceites de soya, maíz, maní, girasol, algodón, palma y oliva Cuppett ³ y contenidos de ácido linoléico comparables al aceite de maní Pascual *et al.* ⁴ Sin embargo investigaciones realizadas por Guillen *et al.* ⁵ con aceite de linaza revelan contenidos de AAL y ácido oleico superiores al sacha inchi y contenidos de ácido linoléico inferiores al sacha inchi. Tanto el sacha inchi como la linaza presentan cantidades considerables de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), esenciales para el organismo humano El-Rahim ⁶ Barceló-Coblign ⁷. Al respecto numerosos efectos cardioprotectores, antiarrítmicos, antiinflamatorios, hipotensivos, neuroprotectores, hipotrigliceridémicos e hipocolesterolémicos entre otros, han demostrado como componente mayoritario AAL del aceite de sacha inchi y de linaza, así como su rol esencial como precursor de ácidos grasos de cadena mas larga EPA y DHA en el hombre Barceló-Coblign ⁷ Ihara-Watanabe ⁸. Conocidas las propiedades que presentan los aceites ricos en AAL, se realiza la presente investigación con el objetivo de evaluar al actividad hipolipemiante del aceite de sacha inchi, oleaginosa nativa de la biodiversidad peruana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El aceite crudo de sacha inchi utilizado en la investigación se obtuvo a partir de semillas recolectadas en el Departamento de San Martín, Perú, ubicado en latitud sur 06°22'27,7" y longitud oeste 76°36'12,6" sobre los 379 msnm, entre los meses de febrero y marzo del 2009. El aceite crudo de linaza se obtuvo a partir de semillas adquiridas en el mercado Central La Parada de Lima, Perú. Todos los reactivos y solventes utilizados fueron de grado analítico Sigma Aldrich Chemical Co. y Merck.

Métodos

Obtención de los aceites crudos de sacha inchi y linaza

Alrededor de 200g de almendras o semillas convenientemente seleccionadas se colocaron en un cilindro de acero inoxidable de la prensa hidráulica (Marca Nacional) y se procedieron a prensar hasta alcanzar la presión de 3000 psi. Los aceites crudos obtenidos se decantaron y posteriormente se filtraron a través de papel filtro (Whatman N°1) con la ayuda de una bomba de vacío (Copelametic, USA), los volúmenes filtrados se almacenaron a la temperatura de 5 °C en frascos de color ámbar.

Análisis de los aceites crudos

Los aceites crudos se evaluaron según los métodos: Índice de acidez método AOAC (1990, 940.28), índice de yodo método AOAC (1990, 920.159), índice de peróxido método AOAC (1990, 965.33), densidad en el

densitómetro (Mettler Toledo Densito 30P, USA) e índice de refracción en el refractómetro (Mettler Toledo Modelo 30PX, USA). Los ácidos grasos del aceite de sacha inchi fueron convertidos a su correspondientes ésteres de metilo y evaluados por CG de acuerdo al método validado por el Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (LABS-ITP-FQ-002-98, 2003).⁹

Evaluación de la actividad hipolipemiente del aceite crudo de sacha inchi

Se utilizaron 72 ratas albinas machos de la cepa Holtzmann con pesos promedio de 180 ± 20 gramos procedentes del Instituto Nacional de Salud (Lima, Perú), los que se mantuvieron en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con acondicionamiento previo de 48 horas, con agua y alimento *ad libitum*, ciclo luz-día de 12 horas y temperatura entre 22 y 26 °C. La inducción de hipercolesterolemia se realizó según el método de Ruiz-Roso *et al.*¹⁰ modificado por Arroyo *et al.*¹¹ sobre la forma de administración del colesterol (120 mg/kg). El modelo experimental contempló nueve grupos de ocho ratas cada grupo, siendo estos: Control normal que recibió solución salina fisiológica 4 mL/kg (SSF); aceite de sacha inchi 0,5 mL (SI05); aceite linaza 0,5 mL (L05), Colesterol 120 mg/kg (C), C+aceite de sacha inchi 0,1 (CSI01), C+aceite de sacha inchi 0,5 mL (CSI05), C+aceite de sacha inchi 1 mL (CSI1); C+aceite de linaza 0,5 mL (CL05) y C+Atorvastatina 15 mg/kg (CAT); los que se administraron por vía oral durante dos meses. La evaluación de la actividad hipolipemiente se realizó a través de evaluaciones de colesterol total, HDL, triglicéridos, urea, glucosa, TGP y fosfatasa alcalina a los 30 y 60 días de iniciada la investigación según métodos enzimáticos, se realizaron adicionalmente mediciones semanales del peso corporal de los animales de experimentación. Los resultados de colesterol total y triglicéridos permitieron determinar la reducción efectiva de colesterol y triglicéridos a través de la siguiente expresión:

$$RE (\%) = ((C_{CGC} - C_T) / C_{CGC}) * 100$$

Donde RE (%) = Representa la reducción efectiva del colesterol (REC) o reducción efectiva de triglicéridos (RET) en %. C_{CGC} = Representa la concentración del colesterol total o triglicéridos del grupo control o del grupo con colesterol. C_T = Representa la concentración del colesterol total o triglicéridos del tratamiento en estudio.

Análisis de datos

Los datos obtenidos de los parámetros séricos de colesterol total, HDL, triglicéridos, glucosa, urea, TGP y fosfatasa alcalina se evaluaron a los 30 y 60 días en el software estadístico SAS V7 (SAS Institute Inc.). Los cálculos de los análisis de varianza (ANOVA) de los diferentes tratamientos se realizó usando el procedimiento del Modelo General Lineal (MGL) para un diseño completo al azar, pruebas múltiples de Tukey se emplearon para determinar la significación de las variables evaluadas en $p \leq 0,05$. Los resultados de la investigación se presentan como valores medios \pm desviación estándar.

RESULTADOS

Las características fisicoquímicas de los aceites crudos empleados en la investigación se muestran en la Tabla 1. Los valores de los índices de yodo y saponificación se encuentran dentro de los valores reportados para aceites con cantidades significativas de ácidos grasos insaturados.³ Los valores de ácidos grasos libres, valor de peróxido y de dienos conjugados indican que los aceites crudos de sachá inchi y linaza son de calidad óptima.

Tabla 1. Características fisicoquímicas de los aceites crudos de sachá inchi y linaza

Característica fisicoquímica	Aceite crudo	
	Sachá inchi	Linaza
Índice de refracción	1,480 ± 0,000	1,478 ¹²
Densidad a 25 °C (g/mL)	0,9269 ± 0,002	0,931 ¹²
Ácidos grasos libres (% ácido oleico)	0,231 ± 0,003	0,304 ± 0,028
Índice de yodo (g de I/ 100g)	194,035 ± 0,381	188,707 ± 0,189
Índice de saponificación (mg KOH/g)	184,748 ± 0,200	197,976 ± 0,480
Valor de peróxido (meq O ₂ / kg)	0,889 ± 0,143	0,396 ± 0,280
Valor de dienos conjugados (umol/g)	7,282 ± 0,524	8,459 ± 1,457

¹²: Biswas *et al.* (2001). Valores promedio de dos repeticiones ± desviación estándar.

El aceite crudo de sachá inchi después de ser decantado, filtrado y deshidratado se analizó según su contenido de ácidos grasos en el cromatógrafo de gases, después de su conversión a ésteres de metilo, los resultados del análisis indican cantidades significativas de ácidos grasos esenciales α -linolénico (47,055%) y ácido linoléico (36,185%), siendo su relación de omega 3 / omega 6 igual 1,3 superior al encontrado por Hamaker *et al.*¹³ e inferior al hallado por Follegati y Romero¹⁴. Los resultados de investigaciones relacionadas con ácidos grasos en el aceite de linaza indican ser superiores en ácido palmítico, ácido oleico y ácido α -linolénico con respecto al sachá inchi, e inferiores en ácido linoléico; el ácido esteárico presenta valores similares para ambos aceites, tabla 2, Rallidis¹⁵Chadini¹⁶.

Tabla 2. Contenido de ácidos grasos del aceite de sachá inchi y de linaza

Ácidos grasos (%)	Presente estudio	SI ¹³	SI ¹⁴	L ¹⁵	L ¹⁶
Ácido mirístico (C14:0)	-	-	-	-	0,2
Ácido palmítico (C16:0)	3,945 ± 0,007	4,50	4,24	5,9	8,6
Ácido esteárico (C18:0)	2,965 ± 0,007	3,20	2,50	3,6	3,3
Ácido oleico (C18:1)	9,010 ± 0,000	9,60	8,41	18,2	15,8
Ácido vacénico	0,575 ± 0,007	-	-	-	-
Ácido linoléico (C18:2)	36,185 ± 0,021	36,80	34,08	13,9	14,2
Ácido α -linolénico (C18:3)	47,055 ± 0,021	45,20	50,41	54,2	57,5
Ácido eicosaenoico	0,270 ± 0,028	-	-	-	-
Ácidos saturados	6,910 ± 0,014	7,70	6,74	9,5	11,9
Ácido monoinsaturados	9,855 ± 0,021	9,60	8,41	18,2	15,8
Ácido poliinsaturados	83,240 ± 0,000	82,00	84,49	68,1	71,7
Relación omega 3/ omega 6	1,30	1,25	1,48	3,89	4,05

SI¹³: Hamaker *et al.* (1992), SI¹⁴: Follegati y Romero (2009), L¹⁵: Rallidis *et al.* (2003), L¹⁶: Clandinin *et al.* (1997). Valores promedio de dos repeticiones ± desviación estándar.

El efecto de los ácidos grasos contenidos en los aceites crudos de sachá inchi y linaza sobre los niveles de colesterol total, HDL, triglicéridos (TRI), glucosa, urea, TGP y fosfatasa alcalina se presentan en las Tablas 3 y 4. La tabla 3 muestra los resultados de los parámetros bioquímicos a los 30 días donde se observan diferencias altamente significativas con $p \leq 0,01$ en todos los tratamientos para colesterol total, HDL, triglicéridos y glucosa, y diferencias significativas con $p \leq 0,05$ para fosfatasa alcalina, los parámetros urea y TGP no presentaron diferencias significativas en los diferentes tratamientos. De acuerdo a los resultados se observa que los tratamientos que presentaron mayor cantidad de colesterol fueron: SI05, C, CSI01; mientras que el tratamiento que presentó la menor cantidad de colesterol fue L05 (Linaza 0,5 mL), los tratamientos: SSF, CSI05, CSI1, CL05 y CAT presentaron cantidades intermedias de colesterol. De acuerdo a la tabla 3, los tratamientos que presentaron significativamente las mayores cantidades de HDL fueron: SI05, L05, CSI01 y CSI05; mientras que el tratamiento constituido por atorvastatina (CAT) presentó los menores valores de HDL, los tratamientos SSF, C, CSI1 y CL05 presentaron valores intermedios. Para el caso de los triglicéridos los mayores valores se encontraron en el tratamiento CL05 (colesterol+linaza 0,5 mL) y los menores valores se encontraron en el tratamiento constituido por atorvastatina (CAT), cantidades intermedias de triglicéridos según la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$ se encontraron en los tratamientos SI05 > L05 = C = CSI01 = CSI05 = CSI1. Los valores de glucosa en los diferentes tratamientos indican que el tratamiento con colesterol presentó significativamente los valores más altos de glucosa, los tratamientos: SSF, SI05, L05, CSI05, CSI1, CL05 y CAT presentaron los valores más bajos, el tratamiento CSI01 presentó valores intermedios. Los valores de fosfatasa alcalina indican que el grupo con colesterol presentó significativamente los valores más altos, mientras que el grupo CSI05 (colesterol+sachá inchi 0,5 mL) presentó los valores más bajos, los otros tratamientos presentaron valores intermedios.

Tabla 3. Parámetros bioquímicos a los 30 días

T	CT (mg/dL)**	HDL (mg/dL)**	TRI (mg/dL)**	G (mg/dL)***	U (mg/dL) ^{ns}	TGP (UI/dL) ^{ns}	FA (UI/dL)*
SSF	155,250 ± 26,190 ab	48,250 ± 4,743 ab	124,250 ± 23,255 bc	83,500 ± 12,201 b	17,250 ± 2,188	16,000 ± 3,625	131,375 ± 30,071 ab
SI05	180,250 ± 18,211 a	53,500 ± 9,024 a	151,250 ± 22,758 ab	83,500 ± 4,309 b	18,000 ± 5,345	14,750 ± 3,495	132,000 ± 33,598 ab
L05	142,250 ± 27,778 b	56,500 ± 3,423 a	130,500 ± 17,345 abc	87,750 ± 8,730 b	15,500 ± 3,251	15,500 ± 2,878	132,500 ± 24,928 ab
C	187,000 ± 19,109 a	49,500 ± 13,191 ab	130,500 ± 24,629 abc	101,750 ± 4,496 a	17,500 ± 4,036	27,500 ± 5,976	154,000 ± 29,418 a
CSI01	181,000 ± 13,459 a	53,250 ± 9,453 a	135,000 ± 9,651 abc	92,000 ± 13,459 ab	20,750 ± 3,576	16,250 ± 6,296	125,375 ± 24,721 ab
CSI05	172,000 ± 31,686 ab	56,000 ± 11,976 a	128,250 ± 21,036 abc	81,750 ± 4,803 b	13,750 ± 6,018	14,750 ± 5,471	103,000 ± 14,412 b
CSI1	153,250 ± 16,585 ab	45,000 ± 4,598 ab	148,750 ± 23,837 abc	85,000 ± 11,032 b	17,500 ± 4,309	22,000 ± 13,918	117,875 ± 28,767 ab
CL05	175,000 ± 32,976 ab	51,250 ± 6,944 ab	160,250 ± 26,190 a	85,000 ± 3,780 b	20,250 ± 9,208	22,000 ± 15,547	139,375 ± 30,052 ab
CAT	163,000 ± 11,637 ab	39,250 ± 5,922 b	117,250 ± 15,719 c	85,250 ± 6,692 b	13,750 ± 3,240	14,500 ± 4,036	133,750 ± 23,261 ab

T: tratamiento, SSF: Solución salina de suero fisiológico, SI05: Aceite de sachá inchi 0,5 mL, L05: Aceite de linaza 0,5 mL, C: Colesterol 120 mg/kg, CSI01: Colesterol + aceite de sachá inchi 0,1 mL, CSI05: Colesterol + aceite de sachá inchi 0,5 mL, CSI1: Colesterol + aceite de sachá inchi 1 mL, CL05: Colesterol + aceite de linaza 0,5 mL. CT: colesterol total, HDL: lipoproteínas de alta densidad, TRI: triglicéridos, G: Glucosa, U: urea, FA: fosfatasa alcalina. ns, *, **, ***: Indican no significante, significancia a $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ y $p \leq 0,001$ respectivamente. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan diferencias significativas en la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. Valores promedio de 8 repeticiones ± desviación estándar.

La tabla 4 muestra los resultados de los parámetros bioquímicos evaluados en los diferentes tratamientos a los 60 días, donde se observan diferencias altamente significativas con $p \leq 0,01$ para colesterol total y diferencias significativas con $p \leq 0,05$ para los parámetros TGP y fosfataza alcalina. Los parámetros HDL, triglicéridos, glucosa y urea no presentaron diferencias significativas en el anova realizado para los diferentes tratamientos. Los valores de colesterol total en los diferentes tratamientos muestran que el tratamiento constituido por colesterol presentó los mayores valores ($189,625 \pm 17,752$ mg/dL), mientras que el tratamiento SI05 (Sacha inchi 0,5 mL) con $138,000 \pm 20,403$ mg/dL presentó los menores valores de colesterol, los otros tratamientos se ordenaron según valores intermedios de colesterol de acuerdo a la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$ como: C > CAT > CS01 = CSI1 = CL05 > SSF = L05 = CSI05. Los valores de TGP muestran que el tratamiento con mayor cantidad de TGP, corresponde al colesterol con $32,500 \pm 8,452$ UI/dL, mientras que los tratamientos CSI1 y CL05 presentaron los menores valores, los demás tratamientos presentaron valores intermedios. Para el caso de la fosfataza alcalina su concentración favoreció a los tratamientos de colesterol y colesterol+linaza 0,5 mL alcanzando valores de $151,000 \pm 30,928$ y $148,750 \pm 18,500$ UI/dL, mientras que el tratamiento que exhibió los menores valores fue el CSI05 (Colesterol+sacha inchi 0,5 mL), los demás tratamientos presentaron valores intermedios.

Tabla 4. Parámetros bioquímicos a los 60 días

T	CT (mg/dL) ^{***}	HDL (mg/dL) ^{ns}	TRI (mg/dL) ^{ns}	G (mg/dL) ^{ns}	U (mg/dL) ^{ns}	TGP (UI/dL) [*]	FA (UI/dL) [*]
SSF	146,500 ± 23,531 bc	44,500 ± 5,127	155,625 ± 38,217	88,000 ± 8,401	18,375 ± 3,701	19,000 ± 12,012 ab	139,625 ± 31,852 ab
SI05	138,000 ± 20,403 c	49,500 ± 8,485	146,750 ± 29,836	81,000 ± 9,457	15,375 ± 3,926	16,875 ± 8,271 ab	142,750 ± 45,493 ab
L05	146,875 ± 10,589 bc	47,875 ± 5,842	139,125 ± 7,019	81,750 ± 5,776	18,125 ± 8,288	16,125 ± 7,754 ab	136,375 ± 39,993 ab
C	189,625 ± 17,752 a	46,625 ± 5,553	161,875 ± 26,046	96,375 ± 10,042	19,750 ± 7,649	32,500 ± 8,452 a	151,000 ± 30,928 a
CSI01	166,125 ± 26,915 abc	47,875 ± 9,877	150,125 ± 59,022	87,375 ± 10,042	19,875 ± 5,566	24,125 ± 14,971 ab	128,500 ± 28,127 ab
CSI05	143,500 ± 28,943 bc	52,125 ± 9,047	124,125 ± 16,745	81,000 ± 10,823	21,000 ± 6,633	18,750 ± 11,511 ab	98,000 ± 11,314 b
CSI1	160,375 ± 12,118 abc	42,875 ± 3,137	145,250 ± 31,567	91,500 ± 8,619	20,625 ± 5,731	15,500 ± 7,838 b	128,000 ± 31,641 ab
CL05	169,875 ± 16,287 abc	53,500 ± 13,794	130,500 ± 20,785	88,125 ± 8,725	19,250 ± 6,018	15,750 ± 11,841 b	148,375 ± 18,500 a
CAT	172,250 ± 25,578 ab	40,750 ± 6,025	138,625 ± 25,230	92,750 ± 12,826	18,750 ± 5,751	22,875 ± 7,140 ab	141,750 ± 15,323 ab

T: tratamiento, SSF: Solución salina de suero fisiológico, SI05: Aceite de sachá inchi 0,5 mL, L05: Aceite de linaza 0,5 mL, C: Colesterol 120 mg/kg, CSI01: Colesterol + aceite de sachá inchi 0,1 mL, CSI05: Colesterol + aceite de sachá inchi 0,5 mL, CSI1: Colesterol + aceite de sachá inchi 1 mL, CL05: Colesterol + aceite de linaza 0,5 mL. CT: colesterol total, HDL: lipoproteínas de alta densidad, TRI: triglicéridos, G: Glucosa, U: urea, FA: fosfataza alcalina. ns, *, ***, Indican no significante, significancia a $p \leq 0,05$ y $p \leq 0,001$ respectivamente. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan diferencias significativas en la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. Valores promedio de 8 repeticiones ± desviación estándar.

Los resultados de los parámetros bioquímicos encontrados a los 30 y 60 días se procedieron a comparar según análisis de varianzas y pruebas de significancia de Tukey con $p \leq 0,05$. La Figura 1 muestra los valores de colesterol total en los diferentes tratamientos, el análisis de varianza considerando los resultados de los 30 y 60 días indican que no existen diferencias significativas para los tratamientos: SSF, L05, C, CSI01, CSI05, CSI1, CL05 y CAT; mientras que para el tratamiento SI05 (Sacha inchi 0,5 mL) presentó una disminución significativa del colesterol hacia los 60 días.

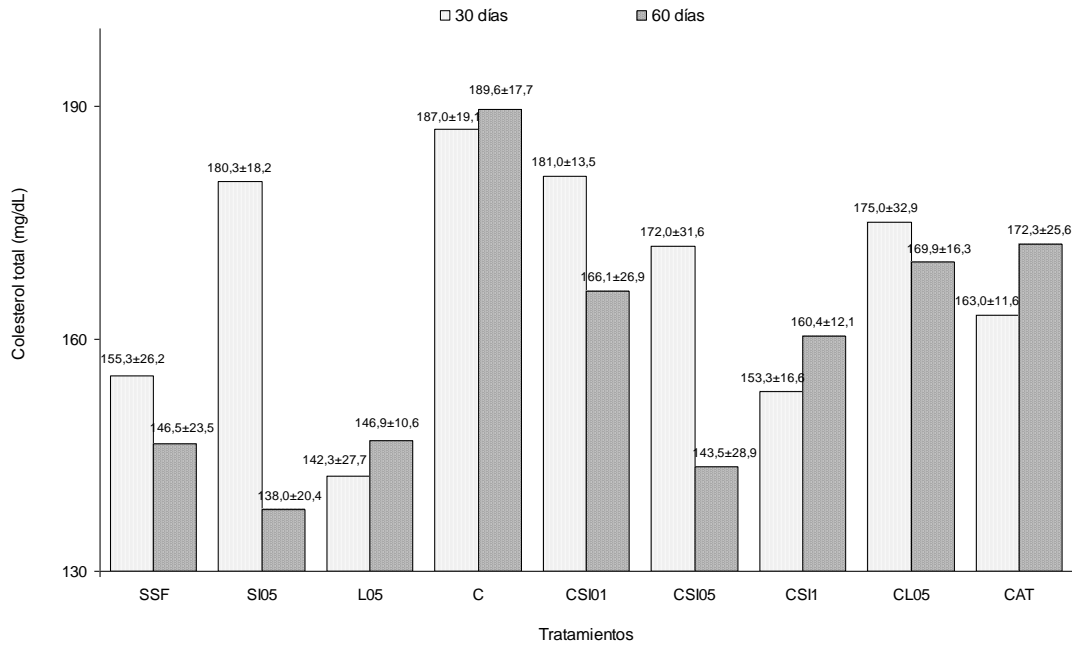


Figura 1. Valores comparativos de colesterol total a los 30 y 60 días en los diferentes tratamientos.

Los valores de HDL en los diferentes tratamientos a los 30 y 60 días indican que no existen diferencias significativas en los tratamientos: SSF, SI05, C, CSI01, CSI05, CSI1, CL05 y CAT, sin embargo en el tratamiento L05 se observaron disminuciones significativas de HDL hacia los 60 días en la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. En todos los casos se observa una disminución de los niveles de HDL hacia los 60 días con excepción de los tratamientos CL05 y CAT donde se observan aumentos no significativos de HDL.

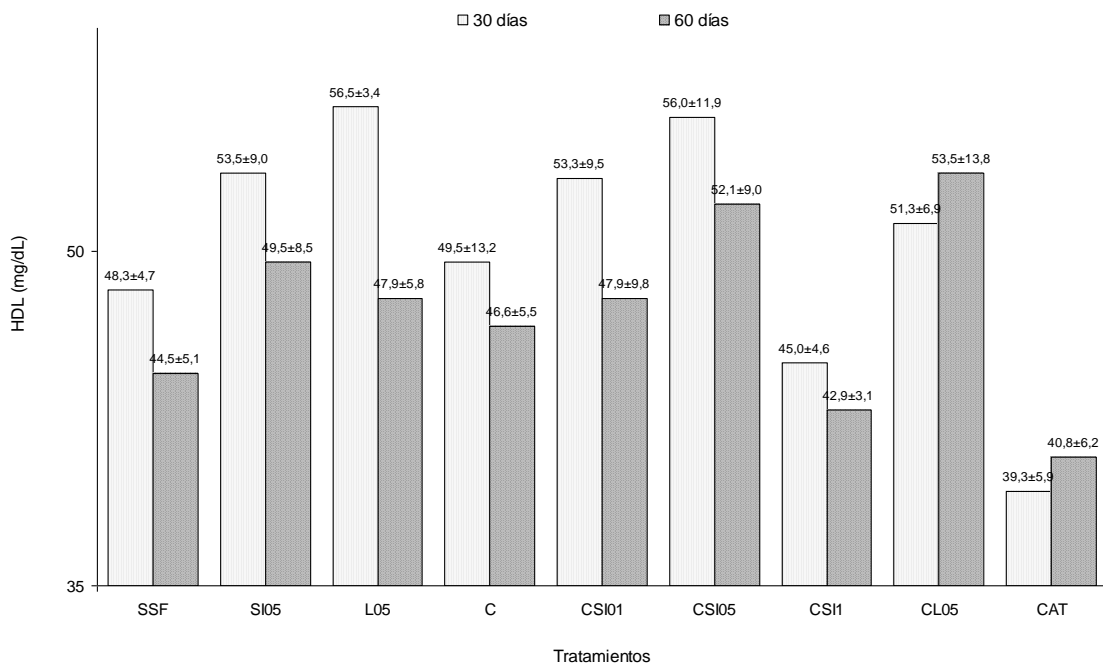


Figura 2. Valores comparativos de HDL a los 30 y 60 días en los diferentes tratamientos

Los niveles de triglicéridos en los diferentes tratamientos se presentan en la figura 3, donde se observan dos grupos, uno donde se produce el aumento de triglicéridos hacia los 60 días y el otro donde existe una disminución de triglicéridos. Los análisis de varianza indican que no existen diferencias significativas al compararse los triglicéridos a los 30 y 60 días en los tratamientos: SSF, SI05, L05, CSI01, CSI05, CSI1 y CAT; mientras que el tratamiento con colesterol mostró un aumento significativo de triglicéridos hacia los 60 días y el tratamiento CL05 produjo una disminución significativa de triglicéridos hacia los 60 días, todos evaluados según la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. Los tratamientos que presentaron una disminución no significativa hacia los 60 días fueron: SI05, CSI05 y CSI1, mientras que los tratamientos que presentaron un aumento no significativo de triglicéridos fueron: SSF, L05, CSI01 y CAT.

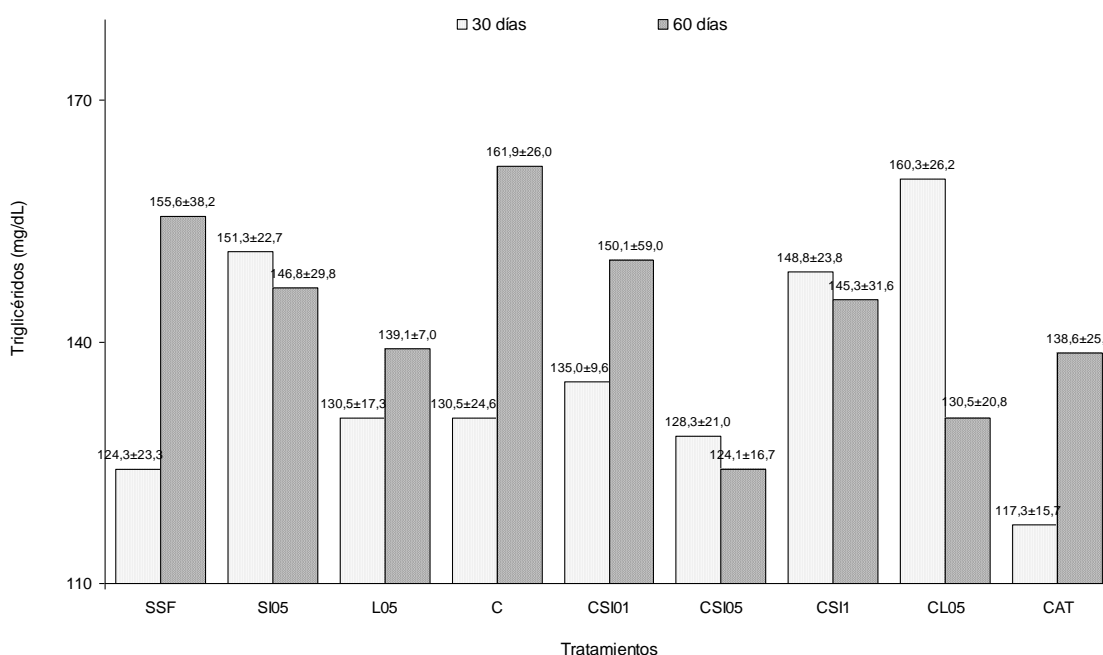


Figura 3. Valores comparativos de triglicéridos a los 30 y 60 días en los diferentes tratamientos

Los valores de glucosa en los diferentes tratamientos a los 30 y 60 días se presentan en la figura 4. Los análisis de varianza para los diferentes tratamientos indican que no existen diferencias significativas para los 30 y 60 días, sin embargo el contenido de la glucosa aumentó de manera no significativa en los tratamientos: SSF, CSI1, CL05 y CAT; mientras que para los tratamientos: SI05, L05, C, CSI01 y CSI05 disminuyó hacia los 60 días de manera no significativa. En esta oportunidad los tratamientos que exhibieron los menores valores de glucosa hacia los 60 días, estuvieron constituidos por el aceite de sachá inchi en 0,5 mL en grupos sin inducción de hipercolesterolemia (SI05) y con inducción de hipercolesterolemia (CSI05), que indicaría que la disminución de colesterol, triglicéridos y aumento de HDL de estos tratamientos se encuentra acompañado con una disminución de los niveles de glucosa a nivel sérico de la sangre de los animales a los que se suministró el aceite de sachá inchi en la cantidad de 0,5 mL por animal.

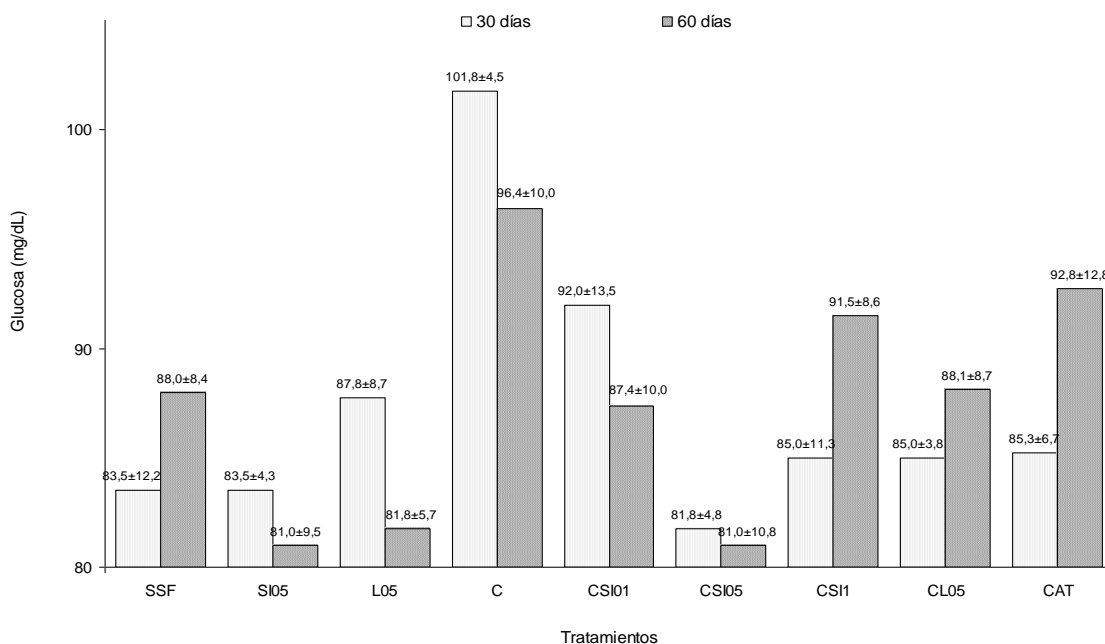


Figura 4. Valores comparativos de glucosa a los 30 y 60 días en los diferentes tratamientos

Los valores de urea evaluados en los diferentes tratamientos a los 30 y 60 días por medio del análisis de varianza muestran sólo un aumento significativo para el tratamiento CSI05 según la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$ hacia los 60 días. Los otros tratamientos no mostraron diferencias significativas, figura 5. Asimismo los tratamientos SSF, L05, C, CSI1 y CAT presentaron incrementos no significativos hacia los 60 días, mientras que los tratamientos SI05 y CL05 presentaron disminuciones no significativas hacia los 60 días de urea.

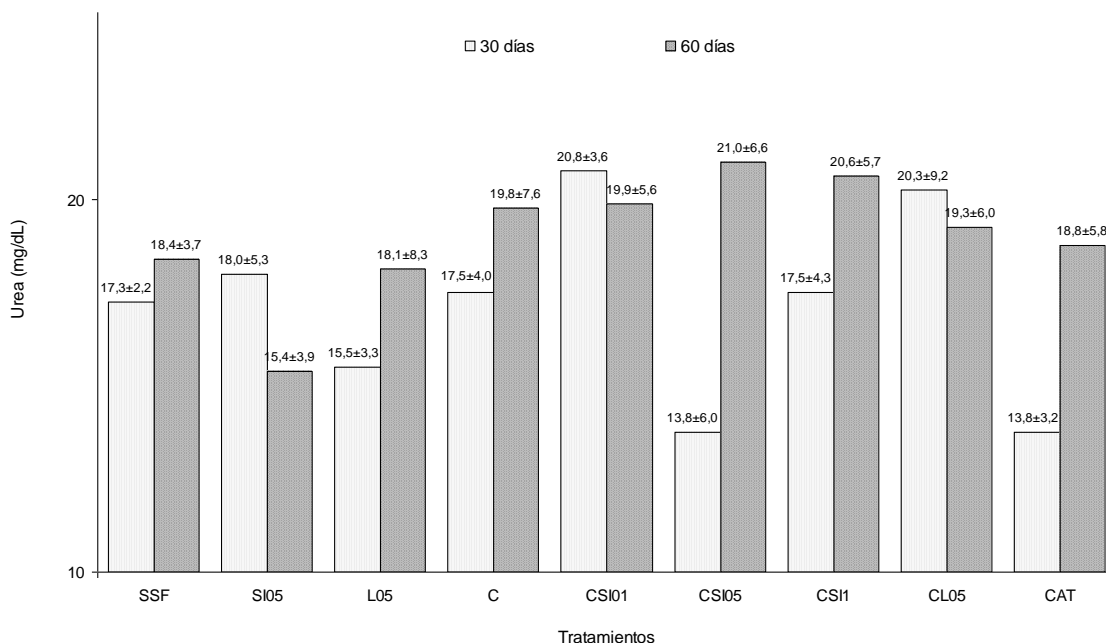


Figura 5. Valores comparativos de urea a los 30 y 60 días en los diferentes tratamientos

Al comparar los valores de TGP a los 30 y 60 días a través de análisis del varianza se observa que sólo hubo un incremento significativo para el tratamiento CAT constituido por Atorvastatina, en los tratamientos SSF, SI05, L05, C, CSI01 y CSI05 se observó un incremento no significativo de los niveles de TGP, mientras que en los tratamientos CSI1 y CL05 se observaron disminuciones no significativas.

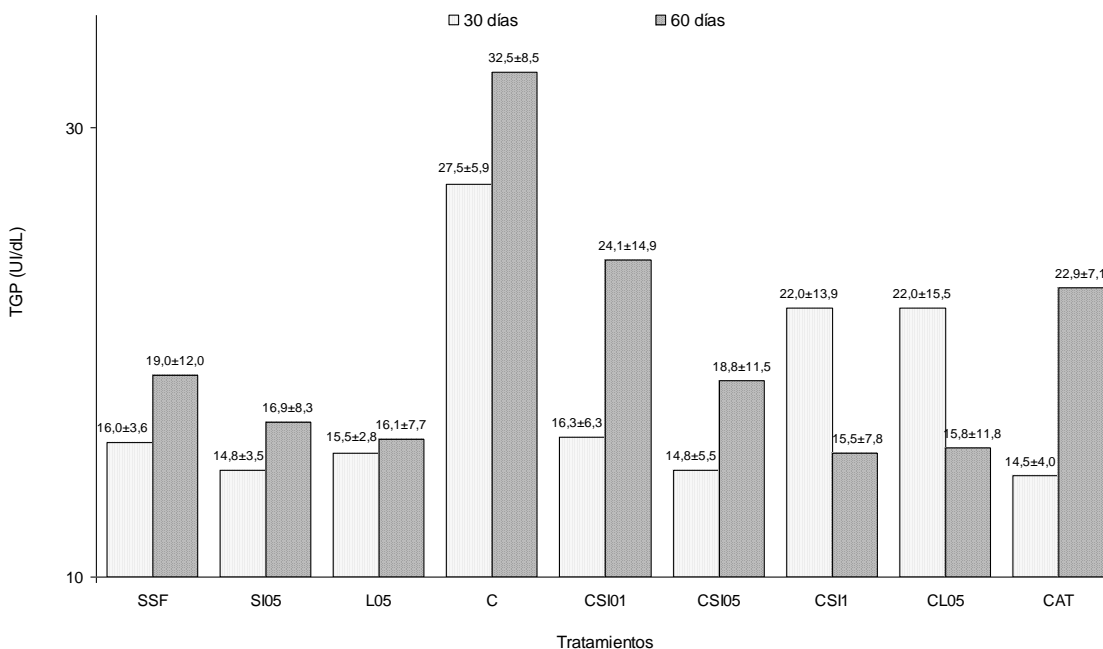


Figura 6. Valores comparativos de TGP a los 30 y 60 días en los diferentes tratamientos

El análisis de varianza de los valores comparativos de fosfatasa alcalina para todos los tratamientos indica que no existen diferencias significativas a los 30 y 60 días. La figura 7 revela que los niveles de fosfatasa alcalina aumentan de manera no significativa hacia los 60 días en los tratamientos SSF, SI05, L05, CSI01, CSI1, CL05 y CAT; mientras que para los tratamientos C y CSI05 disminuyen de manera no significativa. Los valores más bajos de fosfatasa alcalina se reportan para el tratamiento CSI05 a los 30 y 60 días.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados del análisis fisicoquímico de los aceites crudos, así como la de los ácidos grasos contenidos en el aceite de sacha inchi se encuentran de acuerdo con lo encontrado en otras investigaciones. Ángeles, M. 2002¹⁷ Mejía, M. 1997¹⁸ Los valores de ácidos grasos indican que se encuentran constituidos principalmente por triglicéridos de ácidos grasos poliinsaturados tales como el ácido α -linolénico y el ácido linoléico Biswis¹² Hamaker 1992¹³, Follegatti-Romero¹⁴.

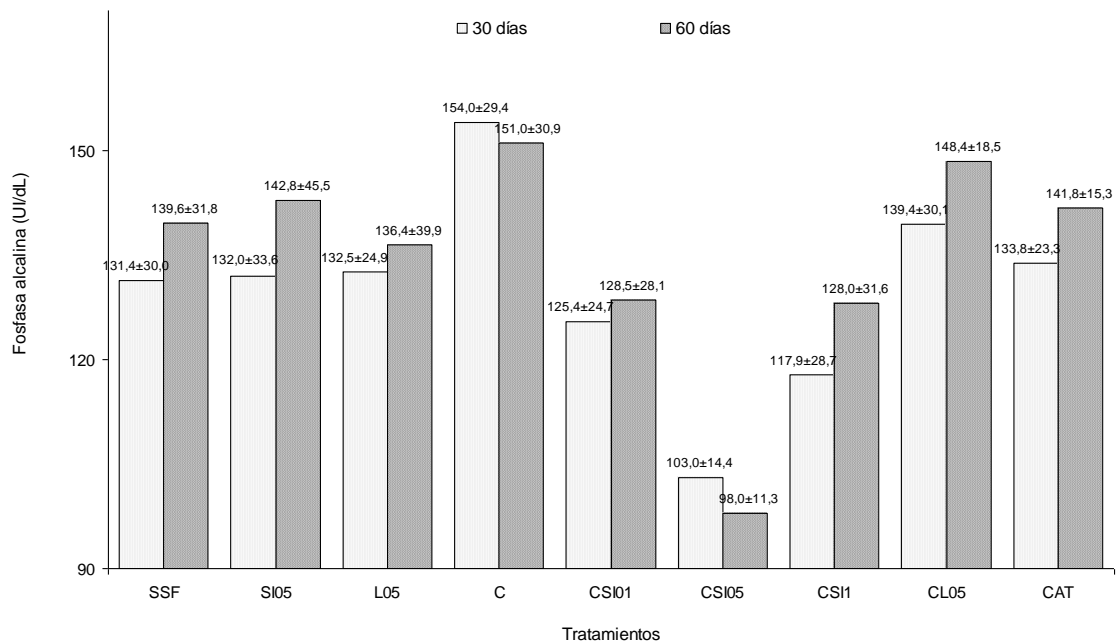


Figura 7. Valores comparativos de fosfatasa alcalina a los 30 y 60 días en los diferentes tratamientos

De acuerdo a los valores reportados de colesterol total hacia los 60 días, se demuestra que el aceite de sachá inchi en la dosis de 0,5 mL redujo significativamente los niveles de colesterol en animales a los que se indujeron hipercolesterolemia (23,94%) así como en animales a los que no se suministró colesterol (5,51%), que indicaría que el aceite de sachá inchi puede ser empleado en tratamientos hipocolesterolémicos, similares resultados fueron encontrados para el aceite de perilla cuyo contenido de AAL es cercano al 60% donde la investigación reveló que los niveles de colesterol total se disminuyen a niveles similares al encontrado para el aceite de pescado en ratas Kim¹⁹, Barceló-Coblijn⁷; la figura 8 muestra la reducción efectiva de colesterol en los diferentes tratamientos de acuerdo a la expresión anotada en la sección de métodos.

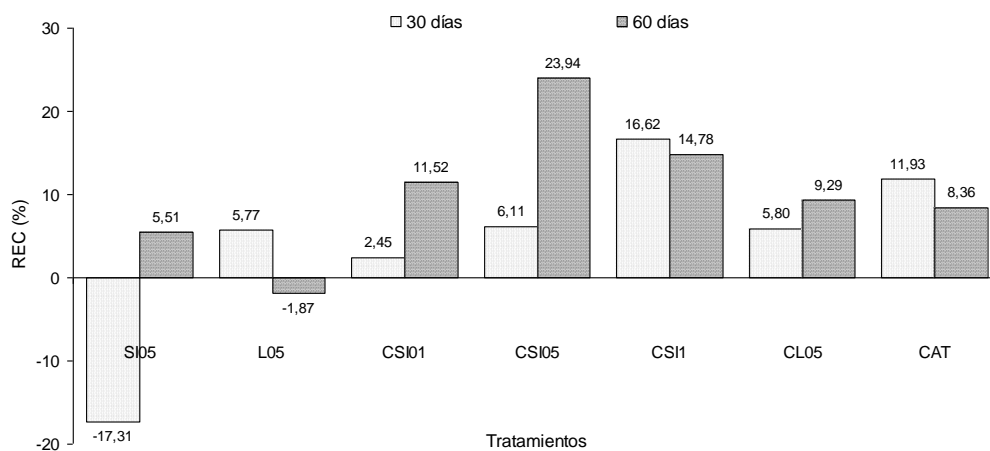


Figura 8. Reducción efectiva del colesterol total a los 30 y 60 días

Gorriti *et al.*²⁰ en una investigación no publicada acerca la actividad hipolipemiante del aceite de sacha inchi en la dosis de 200 mg/kg llegaron a las mismas conclusiones de la presente investigación donde el aceite de sacha inchi redujo los niveles de colesterol con respecto al grupo normal y al grupo que se indujo hipercolesterolemia y cuyos valores llegaron a ser de 40 mg/dL en ratas Holtzmann (135 ± 15g), inferiores al encontrado en la presente investigación donde el grupo de animales con CSI05 (colesterol + aceite de sacha inchi 0,5 mL) alcanzó a los 60 días valores promedio de 143 mg/dL, en otra investigación sobre el efecto hipocolesterolémico del maíz morado Arroyo *et al.*¹¹ reportaron valores cercanos a los 100 mg/dL de colesterol total para ratas Holtzmann, por lo que los valores encontrados de colesterol total en la investigación se encuentran dentro de los rangos normales. Con respecto a los valores de HDL a los 60 días los valores más altos se alcanzaron para los tratamientos CSI05 y CL05, al respecto Gorriti *et al.*²⁰ en la investigación relacionada con la actividad hipolipemiante del sacha inchi en ratas Holtzmann indican un incremento de los valores de HDL con respecto al grupo de colesterol y cuyos valores fueron cercanos a los 25 mg/dL, en lapresente investigación se reportan valores cercanos a los 56 mg/dL a los 30 días para el tratamiento CSI05 mientras que para el fármaco atorvastatina estuvieron alrededor de los 40 mg/dL a los 30 y 60 días, estos resultados indican que el aceite de sacha inchi por su contenido de AAL presenta un efecto cardioprotectivo⁷; en otra investigación de la actividad hipocolesterolémica Arroyo *et al.*¹¹ reportaron valores cercanos a los 90 mg/dL de HDL para el extracto de maíz morado en sus diferentes dosis en ratas Holtzmann. En referencia a los valores de triglicéridos a los 30 y 60 días, la mayor reducción efectiva de triglicéridos fue para el grupo CSI05 (22,03%) a los 60 días, el grupo de CL05 alcanzó los 16,26% y el fármaco atorvastatina alcanzó los 12,52% de reducción efectiva de los triglicéridos (figura 9), resultados que se encuentran de acuerdo a lo reportado por Gorriti *et al.*²⁰ donde los triglicéridos alcanzaron los 93 mg/dL para el grupo con colesterol en ratas Holtzmann, mientras que Arroyo *et al.*¹¹ en la investigación con maíz morado reportaron valores cercanos a los 35 mg/dL de triglicéridos en los grupos del control y extracto de maíz morado en la dosis de 250 mg/kg para ratas Holtzmann; de acuerdo a estos resultados el aceite de sacha inchi a los 60 días presenta un mayor reducción efectiva de triglicéridos en animales hipercolesterolémicos.

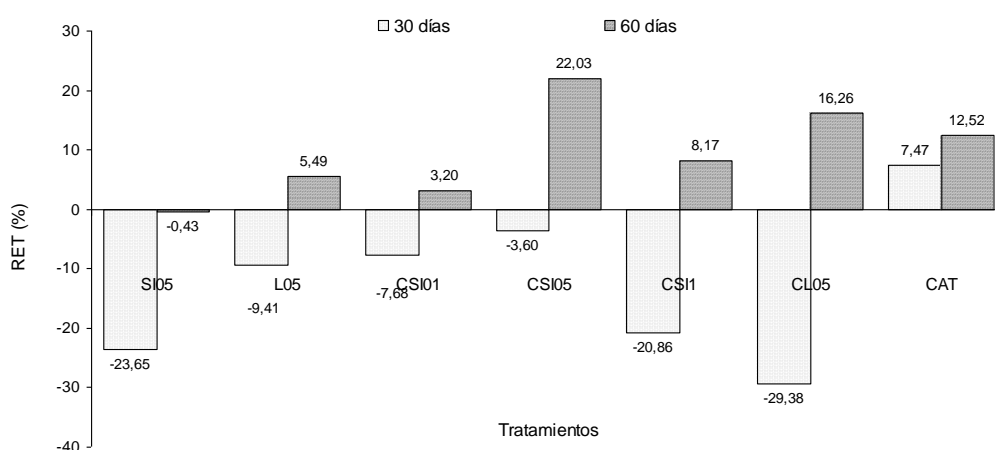


Figura 9. Reducción efectiva de triglicéridos a los 30 y 60 días

En cuanto a los valores de glucosa, éstos fueron menores en el tratamiento CSI05 a los 30 y 60 días, indicando que el consumo de aceite de sachá inchi disminuye los valores de glucosa en los animales de experimentación, al respecto Zang *et al.*²¹ demostraron que el AAL atenúa valores altos de glucosa en cultivos de células humanas. En referencia a los resultados mostrados para los valores de urea estos se encuentran alrededor de los 20 mg/dL siendo ligeramente superior al grupo control SSF, indicando que la función renal se conserva para los diferentes tratamientos, aceites y dosis consideradas. Los valores de TGP y fosfatasa alcalina a los 60 días señalan que los mayores valores se encontraron para el grupo con colesterol (C), aceite de linaza CL05 y el fármaco atorvastatina que indicaría que éstos afectarían la función hepática de las ratas Holtzmann, mientras que el aceite de sachá inchi en la dosis de 0,5 mL en ratas hipercolesterolémicas (CSI05) presentó los valores más bajos de fosfatasa alcalina que sugeriría un efecto protector de la función hepática, para comprobarla se recomendaría investigaciones al respecto.

CONCLUSIONES

La investigación revela que el aceite de sachá inchi presenta un mayor efecto hipolipemiante que el aceite de linaza en ratas Holtzmann.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos nuestro agradecimiento a la GTZ por el financiamiento a la presente investigación, así como a la Fundación para el Desarrollo Agrario – FDA por su apoyo durante el desarrollo de la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruiz A. Manual de Diagnóstico Y Tratamiento de las Dislipidemias. Atha Comunicação e Editora Ltda. Sao Paulo Brazil. Disponible ponlecorazon.com/pdfs/manualdislipidemia.pdf (23-12-09).
2. Carrero JJ, Martín-Bautista E, Boró L, Fonollá J, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr. Hosp.* 2005; 20(1): 63-69.
3. Cuppett S. Oil Quality Indices. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Ronald E. Wrolstad, Terry E. Acree, Haejung An, Eric A. Decker, Michael H. Penner, David S. Reid, Steven J. Schwartz, Charles F. Shoemaker, Denise M. Smith and Peter Sporns, eds.) pp. D1.4.1- D1.4.3. John Wiley & Sons, Inc. 2001.
4. Pascual G, Molina S, Morales C, Valdivia K, Quispe F. Extracción y caracterización de aceite de diez entradas de semilla de maní (*Arachis Hypogaea* L.) y elaboración de maní bañado con chocolate. *Mosaico Cient.* 2006; 3(1): COMPLETAR
5. Guillén M, Ruiz A, Cabo N, Chirinos R, Pascual G. Characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil by FTIR Spectroscopy and ¹H NMR. Comparison with Linseed Oil. *JAOCS.* 2003; 80:755-762
6. El-Rahim AH, Hafiz NA. Investigation on the protective effect of Grape seed on Linseed oils against cyclophosphamide induced genotoxicity in mice. *Global Veterinaria.* 2009; 3(5): 377-382.
7. Barceló-Coblijn G, Murphy EJ. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer Chain n-3 fatty acids: Benefits from human health an a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Progress in Lipid Research.* 2009; 48: 355-374.

8. Ihara-Watanabe M, Umekawa H, Takahashi T, Furuichi Y. Effects of dietary alpha- or gamma-linoleic acid on levels and fatty acid compositions of serum and hepatic lipids, and activity an mRNA abundance of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 122: 213-220.
9. Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. Laboratorio de Análisis Físicoquímico, Composición de ácidos grasos por Cromatografía de Gases. ITP. Lima. 2003.
10. Ruiz-Roso B, Pérez-Olleros L, Requejo A. El Exxenterol®, un extracto de fibra vegetal con un potente efecto reductor del colesterol. *Schironia*. 2003; 2:5-9.
11. Arroyo J, Ruez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, Valencia J. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays*) en ratas hipercolesterolémicas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2007; 24(2): 157-162.
12. **Biswas** TK, Sana NK, Badal RK, Huque EM. Biochemical study of some oils seeds (Brassica, sesame and linseed). *Pakistan Journal of Biological Science*. 2001; 4(8): 1002-1005.
13. Hamaker B, Valles C, Gilman R, Hardmeier D, Clark H, García H, Gonzales A, Kohlsted I, Castro M. Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis* L.) *Cereal Chem*. 1992; 69:461-463.
14. Follegatti-Romero LA, Piantino CR, Grimaldi R, Cabral FA. Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. *J. of Supercritical Fluids*. 2009; 49: 323-329.
15. Rallidis LS, Paschos G, Liokos GK, Velissaridou AH, Anastasiadis G, Zampelas A. Dietary α -linolenic acid decreases C-reactive protein, serum amyloid A and interleukin-6 in dislipidemic patients. *Atherosclerosis*. 2003; 167: 237-242.
16. Clandinin MT, Foxwell A, Goh YK, Layne K, Jumpsen JA. Omega-3 fatty acid intake results in a relationship between the fatty acid composition of LDL Cholesterol ester and LDL Cholesterol in Humans. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1997; 1346: 247-252.
17. Ángeles, M. 2002. Determinación de la estabilidad del aceite crudo y semi refinado de la semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sometido a temperaturas variables de almacenamiento. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Lima.
18. Mejía, M. 1997. Extracción y refinación del aceite de sachá inchi. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Lima.
19. Kim HK, Choi H. Dietary alpha-linolenic acid lowers postprandial lipid levels with increase of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid contents in rat hepatic membrane. *Lipids*. 2001; 36:1331-1336.
20. Gorriti A, Arroyo J, Quispe F, Jurado B. Actividad hipolipemiente de las semillas de *Plukenetia volubilis* L. (Sachá inchi). Jornadas de Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos -Lima. 2006.
21. Zhang W, Wang R, Han S-F, Bu L, Wang S-W, Ma H, Jia G-L. α -Linolenic acid attenuates high glucose-induced apoptosis in cultured Human umbilical vein endothelial cells via PI3k/Akt/eNOS pathway. *Nutrition*. 2007; 23: 762-770.

Evaluación de la actividad antihipertensiva del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en ratas Holtzmann

Evaluation of the antihypertensive activity of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil in Holtzmann rats

Arilmi Gorriti^{1a}, Jorge Arroyo^{1b,c}, Fredy Quispe², Braulio Cisneros^{1b},
Martín Condorhuamán^{1b}, Víctor Chumpitaz^{1b}

RESUMEN

En la presente investigación se determinó la actividad hipotensora del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en las dosis de 0,1, 0,5 y 1 mL en ratas Holtzmann hipertensas con L-NAME. Los resultados señalan que los niveles de frecuencia cardíaca se normalizan con la administración del aceite en las dosis indicadas, los valores de reducción efectiva de presión arterial sistólica (REPAS) a las dosis 0,5 y 1 mL de aceite de sachá inchi producen un similar efecto, mientras que los valores de reducción efectiva de presión arterial diastólica (REPAD) de las ratas hipertensas muestran que la dosis de 0,1 mL es tan efectiva como la de 1 mL del aceite de sachá inchi.

Palabras clave: Aceite de sachá inchi, hipertensión, L-NAME, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, frecuencia cardíaca.

ABSTRACT

In the present investigation the activity hipotensor of the sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil was determined in the doses of 0,1, 0,5 and 1 mL in hipertens Holtzmann rats with L-NAME. The results indicate that the levels of heart frequency are normalized with the administration of the oil in the suitable doses, the values of effective reduction of systolic arterial pressure (REPAS) indicate that the doses 0,5 and 1 mL of sachá inchi oil produce a similar effect, while the values of effective reduction of pressure arterial diastolic (REPAD) of the hipertensas rats show that the dose of 0,1 mL is as effective as that of 1 mL of the sachá inchi oil.

Key words: Sachá inchi oil, hypertension, L-NAME, pressure arterial systolic, pressure arterial diastolic, heart frequency.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), considera la hipertensión arterial como una epidemia silenciosa por constituir el factor de mayor riesgo en las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, la hipertensión arterial se encuentra asociada a la enfermedad isquémica cardíaca, insuficiencia cardíaca de la enfermedad vascular cerebral, neuropatías y con numerosas alteraciones orgánicas y funcionales por las lesiones macrovasculares que presenta, afectando la salud de millones de personas a nivel mundial y una de las más costosas para el individuo, la familia y el país. En ese sentido en los últimos años se han identificado una serie de factores que de manera independiente o concurrente incrementan en forma directa la probabilidad de desenlaces clínicos, por lo que hoy, se dispone de una gran cantidad de fármacos que pueden modificar el curso de esta enfermedad. Sin embargo un número importante de individuos tratados con estos fármacos permanecen vulnerables a las complicaciones de la hipertensión arterial o efectos adversos que producen, ante esta necesidad se

^{1a} Laboratorio de Farmacognosia y Medicina tradicional, Facultad de Farmacia y Bioquímica. arilmigorritig@gmail.com

^{1b} Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina

^{1c} Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina

² Unidad de I-D+I, Empresa Agronegocios peruagro S.R.L. agronegocios.peruagro@gmail.com

plantéa la presente investigación que tiene como objetivo determinar el aceite de sacha inchi, oleaginosa nativa de la biodiversidad peruana y encontrar nuevas alternativas terapéuticas que disminuyan este factor de riesgo¹⁻⁷.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El aceite crudo de sacha inchi utilizado en la investigación se obtuvo a partir de semillas recolectadas en el Departamento de San Martín, Perú, ubicado en latitud sur 06°22'27,7" y longitud oeste 76°36'12,6" sobre los 379 msnm, entre los meses de febrero y marzo del 2009. Todos los reactivos y solventes utilizados fueron de grado analítico Sigma Aldrich Chemical Co. y Merck.

Métodos

Obtención del aceite crudo de sacha inchi

Alrededor de 200g de almendras convenientemente seleccionadas se colocaron en un cilindro de acero inoxidable de la prensa hidráulica (Marca Nacional) y se procedieron a prensar hasta alcanzar la presión de 3000 psi. El aceite crudo obtenido se decantó y posteriormente se filtró a través de papel filtro (Whatman N°1) con la ayuda de una bomba de vacío (Copelametic, USA), los volúmenes filtrados se almacenaron a la temperatura de 5 °C en frascos de color ámbar^{8,9}.

Análisis del aceite crudo

El aceite crudo se evaluó según los métodos: Índice de acidez método AOAC (1990, 940.28), índice de yodo método AOAC (1990, 920.159), índice de peróxido método AOAC (1990, 965.33), densidad en el densitómetro (Mettler Toledo Densito 30P, USA) e índice de refracción en el refractómetro (Mettler Toledo Modelo 30PX, USA). Los ácidos grasos del aceite de sacha inchi fueron convertidos a su correspondientes ésteres de metilo y evaluados por CG de acuerdo al método validado por el Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (LABS-ITP-FQ-002-98, 2003)⁹⁻¹¹.

Evaluación de la actividad hipotensora del aceite de sacha inchi

La evaluación de la actividad hipotensora del aceite de sacha inchi se realizó de acuerdo al modelo de hipertensión por L-NAME teniendo en cuenta lo realizado por Sánchez-Mendoza *et al.* (2003) y Arroyo *et al.* (2008)²⁻¹², donde la administración de L-NAME (NG-nitro-L-arginina metil éster) produce aumentos en el orden del 20 al 40% de la tensión arterial sistólica y diastólica en ratas, además de producir fibrosis cardíaca y nefropatía, características de daño del órgano blanco similares al producido por la hipertensión en humanos. El diseño experimental contempló 60 ratas albinas machos de la cepa Holtzman con pesos promedio de 180 ± 20g, las cuales se distribuyeron al azar en seis grupos de 12 animales cada uno, siendo estos grupos: un grupo control sin exposición (control negativo) con SSF 4 mL/kg, grupo con L-NAME en la dosis de 50 mg/kg (LN), LN + aceite de sacha inchi 0,1 mL, LN + aceite de sacha inchi 0,5 mL y el grupo de LN + aceite de sacha inchi 1 mL; los que fueron administrados por vía oral. Para la medida de la actividad antihipertensiva se utilizó un equipo de medida de presión arterial incruenta marca LE 5002® Panlab, que contiene un microprocesador o sensor para captar indirectamente valores de presión arterial en la cola de la rata, registrando valores de presión arterial sistólica (PAS), presión arterial

diastólica (PAD) y frecuencia cardíaca (FC) expresados en mmHg. Los ambientes donde se realizaron las evaluaciones de la actividad antihipertensiva se mantuvieron libres de ruidos para reducir el estrés en los animales, que fueron tratados y colocados en el cepo sin traumas; las mediciones de la presión arterial se realizaron el día cero, 6, 9, 13, 16, 20, 23, 26 y 30 por las mañanas en el mismo horario, se efectuaron previa vasodilatación de las venas de la cola del animal, obtenida al mantener la temperatura del ambiente en 35 °C durante 30 minutos, el valor considerado fue el promedio de cinco lecturas consecutivas. Los resultados de presión arterial sistólica y diastólica permitieron determinar la reducción efectiva de la presión arterial sistólica y diastólica a través de la siguiente expresión:

$$\text{REPAS/REPAD (\%)} = ((P_{L\text{-NAME}} - P_T) / P_{SSF}) * 100$$

Donde REPAS/REPAD (%) = Representa la reducción efectiva de la presión arterial sistólica (REPAS) o reducción efectiva de la presión arterial diastólica (REPAD) en %. $P_{L\text{-NAME}}$ = Representa la presión (mmHg) del grupo con inducción de hipertensión en este caso L-NAME. P_T = Representa la presión (mmHg) del grupo en estudio con actividad hipotensora. P_{SSF} = Representa la presión (mmHg) del grupo normal, SSF.

Análisis de datos

Los datos obtenidos de la frecuencia cardíaca, presión arterial sistólica y presión arterial diastólica analizados al inicio del experimento así como a los 3, 6, 9, 13, 16, 20, 23, 26 y 30 días se evaluaron en el software estadístico SAS V7 (SAS Institute Inc.). Los cálculos de los análisis de varianza (ANOVA) de los diferentes tratamientos así como en los diferentes tiempos se realizó utilizando el procedimiento del Modelo General Lineal (MGL) para un diseño completo al azar con los factores tiempo y tratamiento, pruebas múltiples de Tukey se emplearon para determinar la significancia de las variables evaluadas en $p \leq 0,05$. Los resultados de la investigación se presentan como valores medios \pm desviación estándar.

RESULTADOS

Las características fisicoquímicas del aceite crudo empleado en la investigación se muestran en la tabla 1. Los valores de índice de yodo y saponificación se encuentran dentro de los valores reportados para aceites con cantidades significativas de ácidos grasos insaturados⁵ (Cuppett *et al*, 2001).

Tabla 1. Características fisicoquímicas del aceite crudo de sachá inchi

Característica fisicoquímica	Aceite crudo
	Sachá inchi
Índice de refracción	1,480 \pm 0,000
Densidad a 25 °C (g/mL)	0,9269 \pm 0,002
Ácidos grasos libres (% ácido oleico)	0,231 \pm 0,003
Índice de yodo (g de I/ 100g)	194,035 \pm 0,381
Índice de saponificación (mg KOH/g)	184,748 \pm 0,200
Valor de peróxido (meq O ₂ / kg)	0,889 \pm 0,143
Valor de dienos conjugados (umol/g)	7,282 \pm 0,524

Valores promedio de dos repeticiones \pm desviación estándar.

Los valores de ácidos grasos libres, valor de peróxido y de dienos conjugados indican que el aceite crudo de sachá inchi es de calidad óptima. El aceite crudo de sachá inchi después de ser decantado, filtrado y deshidratado se analizó según su contenido de ácidos grasos en el cromatógrafo de gases, después de su conversión a ésteres de metilo, los resultados del análisis indican cantidades significativas de ácidos grasos esenciales α -linolénico (47,055%) y ácido linoléico (36,185%), siendo su relación de omega 3/omega 6 igual 1,3 superior al encontrado por⁶ Hamaker *et al.* (1992) e inferior al hallado por⁹ Follegati y Romero (2009), Tabla 2.

Tabla 2. Contenido de ácidos grasos del aceite de sachá inchi

Ácidos grasos (%)	Presente estudio	SI ¹³	SI ¹⁴
Ácido mirístico (C14:0)	-	-	-
Ácido palmítico (C16:0)	3,945 ± 0,007	4,50	4,24
Ácido esteárico (C18:0)	2,965 ± 0,007	3,20	2,50
Ácido oleico (C18:1)	9,010 ± 0,000	9,60	8,41
Ácido vacénico	0,575 ± 0,007	-	-
Ácido linoléico (C18:2)	36,185 ± 0,021	36,80	34,08
Ácido α -linolénico (C18:3)	47,055 ± 0,021	45,20	50,41
Ácido eicosaenoico	0,270 ± 0,028	-	-
Ácidos saturados	6,910 ± 0,014	7,70	6,74
Ácido monoinsaturados	9,855 ± 0,021	9,60	8,41
Ácido poliinsaturados	83,240 ± 0,000	82,00	84,49
Relación omega 3/ omega 6	1,30	1,25	1,48

SI¹³: Hamaker *et al.* (1992), SI¹⁴: Follegati y Romero (2009). Valores promedio de dos repeticiones \pm desviación estándar.

Los valores de frecuencia cardiaca, presión arterial sistólica y presión arterial diastólica de la investigación durante 30 días, se presentan en las tablas 3, 4 y 5 respectivamente. El análisis de varianza de la frecuencia cardiaca para el número de días del experimento, indica diferencias significativas con $p \leq 0,05$, la prueba de significancia de Tukey con $p \leq 0,05$ muestra que la mayor frecuencia cardiaca promedio se observó a los 13 días de iniciado el experimento en los diferentes tratamientos, mientras que la menor frecuencia cardiaca promedio se observó a los 23 días incluso por debajo del día cero, todos los otros días presentaron frecuencias cardiacas intermedias; al realizar el análisis de varianza para los diferentes tratamientos se observó que existen diferencias altamente significativas con $p \leq 0,001$ para la frecuencia cardiaca y la prueba de significancia de Tukey con $p \leq 0,05$, revela que el tratamiento LNAME presentó los valores promedio más altos de frecuencia cardiaca durante la investigación, mientras que los otros tratamientos estadísticamente no presentaron diferencias significativas entre sí, lo que indicaría que el aceite de sachá inchi en sus diferentes dosis en las ratas hipertensas tiende a normalizar su frecuencia cardiaca a niveles normales que el control de suero salino fisiológico (SSF), tabla 3.

Tabla 3. Valores de frecuencia cardiaca durante 30 días en los diferentes tratamientos

Tratamiento	Días – Frecuencia cardiaca (mmHg)								
	0	6	9	13	16	20	23	26	30
SSF	400,667 ±34,942	390,467 ±42,943	396,533 ±21,948	414,800 ±34,145	390,333 ±59,891	400,400 ±44,564	389,067 ±68,551	402,333 ±118,976	390,200 ±36,123
L-NAME	439,200 ±42,841	459,000 ±48,157	450,200 ±36,573	428,467 ±20,170	426,800 ±69,475	435,000 ±47,958	425,067 ±42,155	427,467 ±116,557	440,600 ±29,792
L-NAME-SI01	366,133 ±71,457	400,600 ±67,309	402,733 ±31,317	390,667 ±61,396	438,000 ±28,340	435,467 ±33,842	336,000 ±20,692	422,733 ±23,858	420,267 ±39,246
L-NAME-SI05	406,667 ±86,237	395,133 ±50,562	395,733 ±12,842	427,133 ±64,139	400,067 ±69,769	411,133 ±59,251	375,267 ±66,876	399,267 ±62,551	380,333 ±45,136
L-NAME-SI1	412,667 ±42,272	400,467 ±47,224	407,667 ±96,548	420,133 ±63,404	380,400 ±63,362	390,267 ±76,953	399,133 ±65,496	420,267 ±77,545	399,000 ±71,098

SSF: Solución salina de suero fisiológico, L-NAME: L-NAME 50 mg/kg, L-NAME-SI01: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,1 mL, L-NAME-SI05: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,5 mL, L-NAME-SI1: L-NAME + aceite de sachá inchi 1 mL. Valores promedio de 12 repeticiones ± desviación estándar

El análisis de varianza de la presión sistólica para el número de días de la investigación, muestra que no existieron diferencias significativas, es decir que la presión hallada en tiempo cero días estadísticamente no es diferente del día 30 en los diferentes tratamientos; sin embargo los tratamientos entre si presentaron diferencias altamente significativas siendo el grupo con LNAME el que presentó los mayores valores de presión arterial sistólica, mientras que el grupo SSF presentó los valores más bajos, los otros grupos con L-NAME y aceite de sachá inchi presentaron valores intermedios ordenándose de la siguiente manera: L-NAME-SI01 > L-NAME-SI05 = L-NAME-SI1, tabla 4.

Tabla 4. Valores de presión arterial sistólica durante 30 días en los diferentes tratamientos

Tratamiento	Días – Presión sistólica (mmHg)								
	0	6	9	13	16	20	23	26	30
SSF	105,733 ±16,149	102,533 ±19,795	104,733 ±17,994	102,533 ±19,935	103,533 ±15,436	104,400 ±14,525	100,200 ±13,996	100,733 ±16,538	102,333 ±12,625
L-NAME	153,733 ±39,734	165,667 ±31,926	173,200 ±25,392	169,800 ±24,302	167,733 ±44,176	164,333 ±31,789	159,800 ±27,791	150,467 ±21,820	148,467 ±21,669
L-NAME-SI01	148,867 ±39,459	150,733 ±32,714	147,600 ±31,085	145,400 ±46,409	148,400 ±31,309	148,333 ±27,218	144,600 ±27,735	140,467 ±25,247	140,733 ±29,980
L-NAME-SI05	138,800 ±36,987	145,733 ±28,004	142,733 ±39,745	140,133 ±33,865	138,200 ±26,857	135,200 ±17,921	131,000 ±4,706	131,933 ±10,010	125,200 ±23,013
L-NAME-SI1	139,533 ±23,268	142,200 ±25,552	139,000 ±22,750	140,400 ±24,245	138,533 ±32,967	133,133 ±5,235	133,667 ±24,274	130,200 ±25,752	128,267 ±23,313

SSF: Solución salina de suero fisiológico, L-NAME: L-NAME 50 mg/kg, L-NAME-SI01: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,1 mL, L-NAME-SI05: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,5 mL, L-NAME-SI1: L-NAME + aceite de sachá inchi 1 mL. Valores promedio de 12 repeticiones ± desviación estándar

Los resultados de la presión arterial diastólica evaluados según el número de días del experimento en el análisis de varianza, indica que no existieron diferencias significativas entre los mismos, es decir los valores de presión fueron estadísticamente similares en el día cero que en el día 30 del experimento en los diferentes tratamientos; sin embargo al evaluarse los valores de presión entre los diferentes tratamientos se observaron diferencias altamente significativas con $p \leq 0,001$, el análisis de significancia de Tukey con $p \leq 0,05$ indica que el grupo de animales constituido por L-NAME presentó los mayores valores

promedio de presión arterial diastólica en todo el experimento, mientras que el tratamiento SSF presentó los valores más bajos de presión, los grupos con L-NAME y aceite de sachá inchi presentaron valores intermedios, tabla 5.

Tabla 5. Valores de presión diastólica durante 30 días en los diferentes tratamientos

Tratamiento	Días – Presión diastólica (mmHg)								
	0	6	9	13	16	20	23	26	30
SSF	88,400 ±10,405	80,467 ±14,407	82,067 ±14,265	79,333 ±9,803	82,400 ±16,075	84,133 ±16,427	80,333 ±19,920	79,400 ±16,826	80,333 ±15,751
L-NAME	119,133 ±43,271	124,733 ±59,408	127,200 ±27,561	121,133 ±13,969	120,933 ±51,163	126,200 ±45,284	114,467 ±33,278	110,333 ±10,048	111,333 ±14,826
L-NAME-SI01	109,733 ±49,958	111,267 ±33,906	110,133 ±20,556	107,267 ±44,939	99,333 ±18,133	92,200 ±15,812	95,067 ±15,392	99,000 ±20,716	95,333 ±11,356
L-NAME-SI05	109,400 ±43,953	115,333 ±50,515	118,200 ±29,612	112,067 ±36,088	108,000 ±16,907	112,133 ±18,169	101,133 ±13,648	100,067 ±13,231	102,667 ±13,259
L-NAME-SI1	107,000 ±15,689	109,600 ±30,305	111,000 ±18,323	103,400 ±22,248	106,400 ±30,121	101,000 ±13,099	97,200 ±11,040	95,667 ±18,212	90,200 ±11,346

SSF: Solución salina de suero fisiológico, L-NAME: L-NAME 50 mg/kg, L-NAME-SI01: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,1 mL, L-NAME-SI05: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,5 mL, L-NAME-SI1: L-NAME + aceite de sachá inchi 1 mL. Valores promedio de 12 repeticiones ± desviación estándar

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados del análisis fisicoquímico de los aceites crudos, así como de los ácidos grasos contenidos en el aceite de sachá inchi se encuentran de acuerdo con lo encontrado en otras investigaciones. Los valores de ácidos grasos indican que se encuentran constituidos principalmente por triglicéridos de ácidos grasos poliinsaturados tales como el ácido α -linolénico y el ácido linoléico.

De acuerdo a los valores reportados de frecuencia cardíaca se puede afirmar que el aceite de sachá inchi en sus diferentes dosis tienden a normalizar sus valores de frecuencia en las ratas hipertensas, sugiriendo un efecto protector debido al contenido de ácido α -linolénico presente en el aceite de sachá inchi. Los valores de presión arterial sistólica en los diferentes tratamientos y la expresión indicada en la sección de métodos permitieron determinar su reducción efectiva en ratas hipertensas, las que se indican en la figura 1. Los resultados mostrados en la figura 1 indican que las dosis de 0,5 mL y 1 mL de aceite de sachá inchi presentan los mayores porcentajes de reducción de la presión arterial sistólica de las ratas hipertensas con L-NAME, la figura también muestra los mayores picos de reducción de la hipertensión entre los 9 y 23 días, disminuyendo éstas hacia los 30 días, por otro lado la dosis de 0,1 mL de aceite de sachá inchi produce las menores reducciones de presión arterial sistólica en los animales hipertensos.

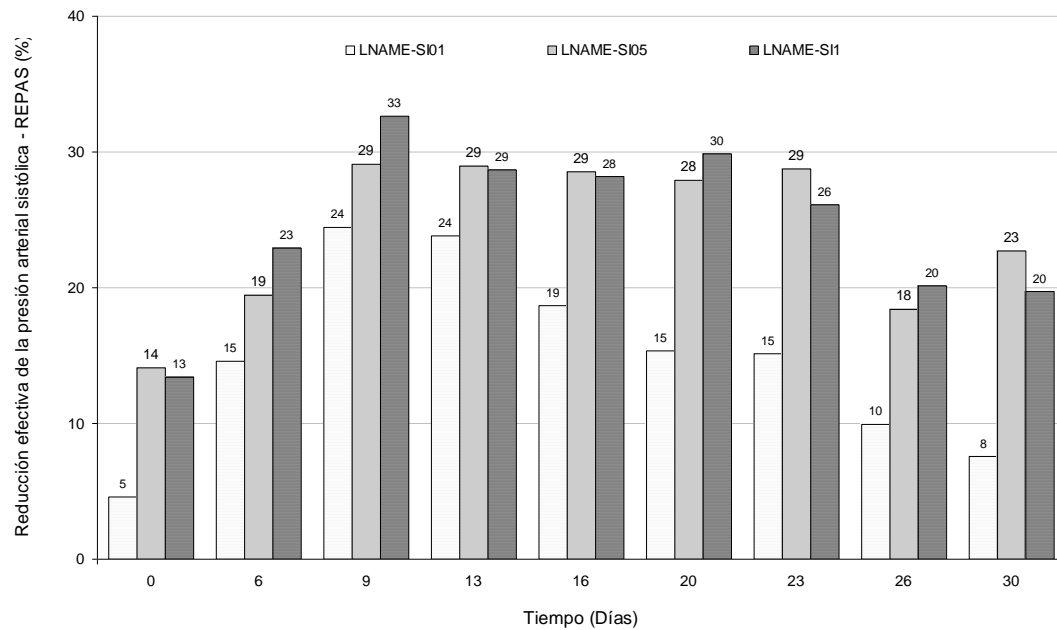


Figura 1. Reducción efectiva de la presión arterial sistólica con aceite de sachá inchi en ratas hipertensas con L-NAME. L-NAME-SI01: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,1 mL, L-NAME-SI05: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,5 mL, L-NAME-SI1: L-NAME + aceite de sachá inchi 1 mL

Los valores de presión arterial diastólica se trasladaron a la expresión indicada en métodos y se obtuvieron los valores de reducción efectiva de presión arterial diastólica de las ratas sometidas a hipertensión con L-NAME, figura 2.

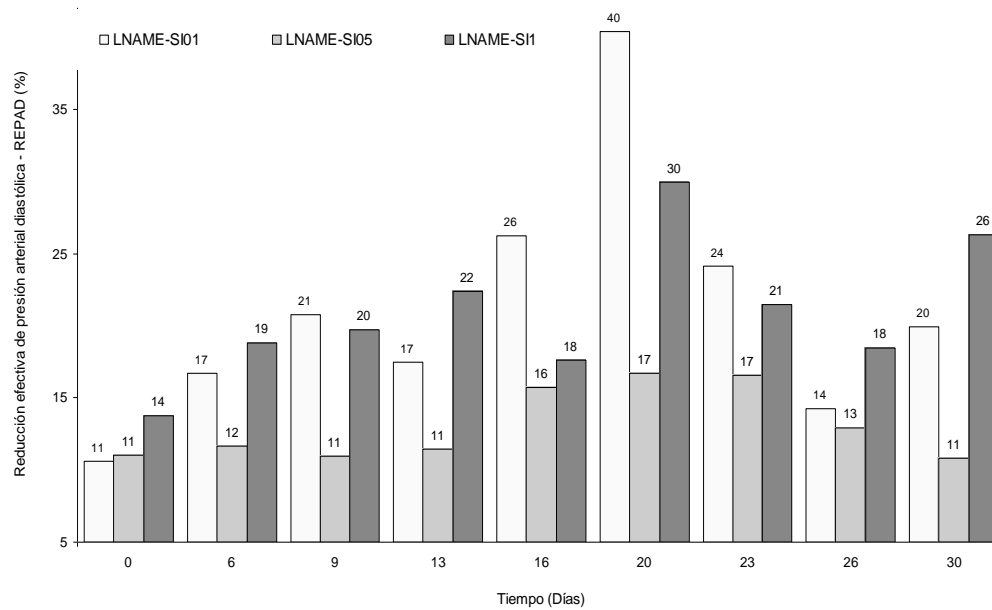


Figura 2. Reducción efectiva de la presión arterial diastólica con aceite de sachá inchi en ratas hipertensas con L-NAME. LNAME-SI01: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,1 mL, LNAME-SI05: L-NAME + aceite de sachá inchi 0,5 mL, LNAME-SI1: L-NAME + aceite de sachá inchi 1 mL

Los resultados indican reducciones efectivas hasta un 40% en el grupo de animales con aceite de sachá inchi en la dosis de 0,1 mL a los 20 días, un hecho relevante al respecto es que el aceite de sachá inchi en las dosis de 0,1 mL y 1 mL presentan los mayores porcentajes de reducción de la presión arterial diastólica en todos los días evaluados, siendo este porcentaje mayor para la dosis 0,1 mL en los días 9, 16, 20 y 23, mientras que para la dosis de 1 mL en los días 6, 13, 26 y 30. La dosis de 0,5 mL del aceite de sachá inchi presentó los porcentajes más bajos de reducción de presión arterial diastólica en las ratas hipertensas durante la investigación.

CONCLUSIONES

La investigación revela que el aceite de sachá inchi en las dosis de 0,1, 0,5 y 1 mL presentan actividad hipotensora en ratas Holtzmann hipertensas con L-NAME (50 mg/kg)

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos nuestro agradecimiento a la GTZ por el financiamiento a la presente investigación, así como a la Fundación para el Desarrollo Agrario – FDA por su apoyo durante el desarrollo de la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **ojo arreglar la numeración de las referencias como la página 24-25**

1. Ángeles, M. 2002. Determinación de la estabilidad del aceite crudo y semi refinado de la semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sometido a temperaturas variables de almacenamiento. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Lima.
2. Arroyo J, Ruez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga B, De la Cruz W, Valencia J. Actividad antihipertensiva y antioxidante del extracto hidroalcohólico atomizado de Maíz morado (*Zea mays* L) en ratas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2008; 25(2): 195-199.
3. Barceló-Coblijn G, Murphy EJ. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer Chain n-3 fatty acids: Benefits from human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Progress in Lipid Research*. 2009; 48: 355-374.
4. Carrero JJ, Martín-Bautista E, Boró L, Fonollá J, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr. Hosp*. 2005; 20(1): 63-69.
5. Cuppett S. Oil Quality Indices. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Ronald E. Wrolstad, Terry E. Acree, Haejung An, Eric A. Decker, Michael H. Penner, David S. Reid, Steven J. Schwartz, Charles F. Shoemaker, Denise M. Smith and Peter Sporns, eds.) pp. D1.4.1- D1.4.3. John Wiley & Sons, Inc. 2001.
6. Follegatti-Romero LA, Piantino CR, Grimaldi R, Cabral FA. Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. *J. of Supercritical Fluids*. 2009; 49: 323-329.
7. Guillén M, Ruiz A, Cabo N, Chirinos R, Pascual G. Characterization of Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil by FTIR Spectroscopy and ¹H NMR. Comparison with Linseed Oil. *JAOCS*. 2003; 80:755-762 Pascual G, Molina S,
8. Pascual G, Molina S, Morales C, Valdivia K, Quispe F. Extracción y caracterización de aceite de diez entradas de semilla de maní (*Arachis Hypogaea* L.) y elaboración de maní bañado con chocolate. *Mosaico Cient*. 2006; 3(1):
9. Hamaker B, Valles C, Gilman R, Hardmeier D, Clark H, García H, Gonzales A, Kohlsted I, Castro M. Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis* L.) *Cereal Chem*. 1992; 69:461-463.
10. Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. Laboratorio de Análisis Fisicoquímico, Composición de ácidos grasos por Cromatografía de Gases. ITP. Lima. 2003.
11. Mejía, M. 1997. Extracción y refinación del aceite de sachá inchi. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Lima.
12. Sánchez-Mendoza MA, Martínez-Ayala SO, Hernández-Hernández JA, Zuñiga- Sosa L, Pastelín-Hernández G, Escalante-Acosta BA. Participación del óxido nítrico y los metabolitos del ácido araquidónico vía citocromo P450 en la regulación de la presión arterial. *Arch Cardiol Mex*. 2003; 73(2): 98-104.

Determinación de la DL50 y evaluación de la toxicidad oral a 60 días del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en ratas Holtzmann. Comparación con el aceite de linaza

Determination of DL50 and evaluation a 60-day oral toxicity of sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) oil in Holtzmann rats. Comparison with linseed oil

Arlimi Gorriti^{1a}, Jorge Arroyo^{1b,c}, Fredy Quispe², Braulio Cisneros^{1c},
Martín Condorhuamán^{1c}, Víctor Chumpitaz^{1c}

RESUMEN

Objetivos: Determinar la DL50 y evaluar la toxicidad oral a 60 días de los aceites crudos de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza en ratas Holtzmann. **Material y métodos:** Se utilizaron ratones macho de la cepa Balb C57 en grupos de diez animales cada uno a los que se administró por vía oral dosis crecientes de aceites crudos de sachá inchi y linaza hasta llegar a 1 mL para la determinación de la DL50; la determinación de la toxicidad oral a dosis repetida durante 60 días se realizó con 64 ratas macho divididos en ocho grupos de ocho ratas cada uno, incluyendo grupos con colesterol, los grupos fueron: solución salina fisiológica 4 mL/kg (SSF), aceite de sachá inchi 0,5 mL (SI05), aceite de linaza 0,5 mL (L05), colesterol 120 mg/kg (C), C + aceite de sachá inchi 0,1 mL (C-SI01), C + aceite de sachá inchi 0,5 mL (C-SI05), C + aceite de sachá inchi 1 mL (C-SI1) y C + aceite de linaza 0,5 mL (C-L05); en los que se midió el peso corporal durante todo el experimento y evaluaciones de colesterol total, HDL, triglicéridos, glucosa, urea, TGP y fosfatasa alcalina a los 30 y 60 días del experimento. **Resultados:** Los aceites crudos de sachá inchi y linaza tienen una DL50 por encima de los 37,00 mg/kg de masa corporal, las evaluaciones de los parámetros séricos en sangre de las ratas indica que los aceites crudos de sachá inchi y linaza no presentan toxicidad crónica hacia los 60 días y su administración disminuye principalmente los niveles de colesterol, triglicéridos, glucosa y produce aumentos de HDL. **Conclusiones:** El estudio revela que los aceites crudos de sachá inchi y linaza no presentan toxicidad alguna bajo las condiciones de la investigación.

Palabras clave: Sachá inchi, *Plukenetia volubilis*, L. linaza, *Linum usitatissimum*, DL50, toxicidad oral

ABSTRACT

Objectives: To determine the DL50 and to evaluate the oral toxicity to 60 days of the crude oils of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) and linseed in Holtzmann rats. **Material and methods:** Male mice of the strain Balb C57 were used in groups of ten animals each one to those that it was administered for via oral growing dose of raw oils of sachá inchi and linseed until arriving to 1 mL for the determination of the DL50; the determination of the oral toxicity to repeated dose during 60 days was carried out with 64 Holtzmann rats male divided in eight groups of eight rats each one, including groups with cholesterol, the groups were: solution saline physiologic 4 mL/kg (SSF), oil of sachá inchi 0,5 mL (SI05), oil of linseed 0,5 mL (L05), cholesterol 120 mg/kg (C), C + oil of sachá inchi 0,1 mL (C-SI01), C + oil of sachá inchi 0,5 mL (C-SI05), C + oil of sachá inchi 1 mL (C-SI1) and C + oil of linseed 0,5 mL (C-L05); in those that the corporal weight was measured during the whole experiment and evaluations of total cholesterol, HDL, triglycerides, glucose, urea, TGP and alkaline fosfatasa to the 30 and 60 days of the experiment. **Results:** The raw oils of sachá inchi and linseed have a DL50 above the 37,00 mg/kg of corporal mass, the evaluations of the seric parameters in blood of the rats indicate that the raw oils of sachá inchi and linseed don't present chronic toxicity toward the 60 days and their administration diminishes mainly the levels of cholesterol, triglycerides, glucose and it produces increases of HDL. **Conclusions:** The study reveals that the raw oils of sachá inchi and linseed don't present toxicity some under the conditions of the investigation.

Key words: Sachá inchi, *Plukenetia volubilis*, linseed, *Linum usitatissimum*, DL50, oral toxicity

INTRODUCCIÓN

El sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) es una euphorbiaceae que se distribuye desde América Central hasta Bolivia y en nuestro país en la selva alta y baja, en alturas que van desde los 100 hasta los 2000 msnm sobre zonas con precipitaciones anuales promedio de 1084 mm y temperaturas que oscilan entre los 10 y 36,6 °C.^{1,2,3} Investigaciones realizadas en sachá inchi revelan contenidos relativamente superiores de aceite con respecto a las semillas de soya, maíz, maní, girasol, algodón, palma y oliva;⁴ el análisis de ácidos grasos del aceite revela contenidos de ácido linoléico comparable al aceite de maní y ácido α -linoléico (AAL) superior a los aceites de soya, maíz, maní, girasol, algodón, palma y oliva,⁴ sin embargo contenidos inferiores de AAL y ácido oleico que el aceite de linaza.³

^{1a} Laboratorio de Farmacognosia y Medicina tradicional, Facultad de Farmacia y Bioquímica. arlimigorriti@gmail.com

^{1b} Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina

^{1c} Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina

² Unidad de I-D+I, Empresa Agronegocios peruagro S.R.L. agronegocios.peruagro@gmail.com

Tanto el sachu inchi como la linaza presentan cantidades considerables de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), los cuales son esenciales para el organismo humano.^{5,6} Al respecto numerosos efectos cardioprotectores, antiarrítmicos, antiinflamatorios, hipotensivos, neuroprotectores, hipotriglicéridémicos e hipocolesterolémicos entre otros, se han demostrado del componente mayoritario del aceite de sachu inchi y de linaza (AAL), así como su rol esencial como precursor de ácidos grasos de cadena mas larga EPA y DHA en el organismo.^{6,7} Conocidas las propiedades que presentan los aceites ricos en AAL se realiza la presente investigación con el objetivo de evaluar la DL50 y toxicidad oral crónica del aceite de sachu inchi, oleaginoso nativa de la biodiversidad peruana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El aceite crudo de sachu inchi utilizado en la investigación se obtuvo a partir de semillas recolectadas en el Departamento de San Martín, Perú, ubicado en latitud sur 06°22'27,7" y longitud oeste 76°36'12,6" sobre los 379 msnm, entre los meses de febrero y marzo del 2009. El aceite crudo de linaza se obtuvo a partir de semillas adquiridas en el mercado Central La Parada de Lima, Perú. Todos los reactivos y solventes utilizados fueron de grado analítico Sigma Aldrich Chemical Co. y Merck.

Métodos

Obtención de los aceites crudos de sachu inchi y linaza

Alrededor de 200g de almendras o semillas convenientemente seleccionadas se colocaron en un cilindro de acero inoxidable de la prensa hidráulica (Marca Nacional) y se procedieron a prensar hasta alcanzar la presión de 3000 psi. Los aceites crudos obtenidos se decantaron y posteriormente se filtraron a través de papel filtro (Whatman N°1) con la ayuda de una bomba de vacío (Copelametic, USA), los volúmenes filtrados se almacenaron a la temperatura de 5°C en frascos de color ámbar.

Análisis de los aceites crudos

Los aceites crudos se evaluaron según los métodos: Índice de acidez método AOAC (1990, 940.28), índice de yodo método AOAC (1990, 920.159), índice de peróxido método AOAC (1990, 965.33), densidad en el densitómetro (Mettler Toledo Densito 30P, USA) e índice de refracción en el refractómetro (Mettler Toledo Modelo 30PX, USA). Los ácidos grasos del aceite de sachu inchi fueron convertidos a su correspondientes ésteres de metilo y evaluados por CG de acuerdo al método validado por el Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (LABS-ITP-FQ-002-98, 2003).⁸

Evaluación de la dosis límite y DL50 en ratones

Se utilizaron 110 ratones macho de la cepa Balb C57 con peso promedio de 20 ± 3g procedentes del Instituto Nacional de Salud (Lima, Perú), los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en 11 grupos de 10 animales cada uno, según el método de Vega y Carrillo⁹. Después de una semana de aclimatación y alimentación con ratonina paletizada y agua a voluntad, previo ayuno de 4 horas, se les administró por vía oral: solución de suero fisiológico 10 mL/kg a un grupo, y a los diez grupos restantes aceite de sachu inchi en cantidades crecientes de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 y 1 mL por ratón; después de los cuales los animales fueron observados constantemente durante las primeras 24 horas y diariamente

durante un periodo de 14 días registrándose cualquier síntoma tóxico que pudiera presentarse , con el número de muertes que pudiera presentarse en cada grupo se procede a calcular la DL50 empleando el método Probit. Los mismos grupos y cantidad de animales se emplearon de manera similar para estimar la dosis límite y DL50 del aceite de linaza.

Evaluación de la toxicidad oral repetida a los 60 días en ratas Holtzmann

Se utilizaron 64 ratas albinas macho de la cepa Holtzmann con pesos promedio de 100 ± 20 gramos procedentes del Instituto Nacional de Salud (Lima, Perú), los que se mantuvieron en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el experimento se inició con condicionamiento previo de 48 horas, con agua y alimento *ad libitum*, ciclo luz-día de 12 horas y temperatura entre 22 y 26 °C. El modelo experimental contempló la presencia de grupos de animales a los que se administraron los aceites de sachi inchi y linaza, y grupos de animales a los que se administraron colesterol y los aceites crudos para determinar su efecto, para esto se emplearon 8 grupos de ocho ratas cada uno, siendo estos: un control normal que recibió solución salina fisiológica 4 mL/kg (SSF); aceite de sacha inchi 0,5 mL (SI05); aceite de inaza 0,5 mL (L05), Colesterol 120 mg/kg (C), C+aceite de sacha inchi 0,1 mL (C-SI01), C+aceite de sacha inchi 0,5 mL (C-SI05), C+aceite de sacha inchi 1 mL (C-SI1) y C+aceite de linaza 0,5 mL (C-L05); los que se administraron por vía oral durante 60 días. La evaluación de la toxicidad oral repetida se realizó a través de evaluaciones del peso corporal (g) y sus resultados permitieron determinar el incremento del peso corporal a través de la siguiente expresión: $IPC (\%) = ((P_T - P_C) / P_C) * 100$ Donde *IPC*= Representa el incremento del peso corporal (*IPC*) en %, P_T = Peso del tratamiento en estudio, P_C = Peso del control. Para determinar el efecto acumulativo tóxico de los aceites crudos de sacha inchi y linaza sobre los animales, y el efecto de los aceites sobre grupos de animales a los que se les administró colesterol se realizaron evaluaciones bioquímicas de colesterol total, HDL, triglicéridos, urea, glucosa, TGP y fosfatasa alcalina según métodos enzimáticos de acuerdo a recomendaciones de la OECD (Guidelines for the Testing of Chemicals)¹⁰ a los 30 y 60 días del experimento.

Análisis de datos

Los datos obtenidos semanalmente de los pesos corporales y de los parámetros séricos de colesterol total, HDL, triglicéridos, glucosa, urea, TGP y fosfatasa alcalina a los 30 y 60 días se evaluaron en el software estadístico SAS V7 (SAS Institute Inc.). Los cálculos de los análisis de varianza (ANOVA) de los diferentes tratamientos se realizó utilizando el procedimiento del Modelo General Lineal (MGL) para un diseño completo al azar, pruebas múltiples de Tukey se emplearon para determinar la significancia de las variables evaluadas en $p \leq 0,05$. Los resultados de la investigación son presentados como valores medios \pm desviación estándar.

RESULTADOS

Las características fisicoquímicas de los aceites crudos empleados en la investigación se muestran en la Tabla 1. Los valores de índice de yodo y saponificación se encuentran dentro de los valores reportados para aceites con cantidades significativas de ácidos grasos insaturados.⁴ Los valores de ácidos grasos

libres, valor de peróxido y de dienos conjugados indican que los aceites crudos de sachá inchi y linaza son de calidad óptima.

Tabla 1. Características fisicoquímicas de los aceites crudos de sachá inchi y linaza

Característica fisicoquímica	Aceite crudo	
	Sachá inchi	Linaza
Índice de refracción	1,480 ± 0,000	1,478 ¹¹
Densidad a 25 °C (g/mL)	0,9269 ± 0,002	0,931 ¹¹
Ácidos grasos libres (% ácido oleico)	0,231 ± 0,003	0,304 ± 0,028
Índice de yodo (g de I/ 100g)	194,035 ± 0,381	188,707 ± 0,189
Índice de saponificación (mg KOH/g)	184,748 ± 0,200	197,976 ± 0,480
Valor de peróxido (meq O ₂ / kg)	0,889 ± 0,143	0,396 ± 0,280
Valor de dienos conjugados (umol/g)	7,282 ± 0,524	8,459 ± 1,457

¹¹: Biswas *et al.* (2001). Valores promedio de dos repeticiones ± desviación estándar.

El aceite crudo de sachá inchi después de ser decantado, filtrado y deshidratado se analizó según su contenido de ácidos grasos en el cromatógrafo de gases, después de su conversión a ésteres de metilo, los resultados del análisis indican cantidades significativas de ácidos grasos esenciales α -linolénico (47,055%) y ácido linoléico (36,185%)¹¹⁻¹³, siendo su relación de omega 3/omega 6 igual 1,3 superior al encontrado por Hamaker *et al.*¹² Los resultados de investigaciones relacionadas con ácidos grasos en el aceite de linaza indican ser superiores en ácido palmítico, ácido oleico y ácido α -linolénico con respecto al sachá inchi, e inferiores en ácido linoléico; el ácido esteárico presenta valores similares para ambos aceites, tabla 2.^{14,15}

Tabla 2. Contenido de ácidos grasos del aceite de sachá inchi y de linaza

Ácidos grasos (%)	Presente estudio	SI ¹²	SI ¹³	L ¹⁴	L ¹⁵
Ácido mirístico (C14:0)	-	-	-	-	0,2
Ácido palmítico (C16:0)	3,945 ± 0,007	4,50	4,24	5,9	8,6
Ácido esteárico (C18:0)	2,965 ± 0,007	3,20	2,50	3,6	3,3
Ácido oleico (C18:1)	9,010 ± 0,000	9,60	8,41	18,2	15,8
Ácido vacénico	0,575 ± 0,007	-	-	-	-
Ácido linoléico (C18:2)	36,185 ± 0,021	36,80	34,08	13,9	14,2
Ácido α -linolénico (C18:3)	47,055 ± 0,021	45,20	50,41	54,2	57,5
Ácido eicosaenoico	0,270 ± 0,028	-	-	-	-
Ácidos saturados	6,910 ± 0,014	7,70	6,74	9,5	11,9
Ácido monoinsaturados	9,855 ± 0,021	9,60	8,41	18,2	15,8
Ácido poliinsaturados	83,240 ± 0,000	82,00	84,49	68,1	71,7
Relación omega 3/ omega 6	1,30	1,25	1,48	3,89	4,05

SI¹²: Hamaker *et al.* (1992), SI¹³: Follegati y Romero (2009), L¹⁴: Rallidis *et al.* (2003), L¹⁵: Clandinin *et al.* (1997). Valores promedio de dos repeticiones ± desviación estándar.

Los resultados del análisis de toxicidad de los aceites crudos de sachá inchi y linaza para determinar la DL50 indican que los ratones que recibieron aceite de sachá inchi hasta 1 mL no mostraron signos de toxicidad alguna, mientras que los ratones que recibieron aceite de linaza en la dosis de 1 mL mostraron

sudoración profusa que al pasar 2 horas se estabilizaron, permaneciendo así todos los animales hasta los 14 días de observación. Si la densidad del aceite de sacha inchi fue de 0,9269 g/mL y el peso del ratón al concluir el experimento fue de 25g, se demuestra que la DL50 se encuentra sobre los 37076 mg/ kg de masa corporal; para el caso del aceite de linaza la DL50 se encuentra sobre los 37240 mg/ kg debido a que su densidad fue de 0,931 mg/mL.

La tabla 3 muestra la evaluación del peso corporal de los animales en los diferentes tratamientos hacia las 8 semanas, la tabla señala que en la primera semana no se presentaron diferencias significativas del peso corporal en los diferentes tratamientos, hacia la segunda semana se observa que existen diferencias altamente significativas con $p \leq 0,001$ entre los diferentes tratamientos y de acuerdo a la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$ el tratamiento C-SI1 presenta el peso promedio más alto con respecto a los otros tratamientos, mientras que los tratamientos SSF, L05 y C-SI05 presentan los valores más bajos; hacia la tercera y cuarta semana el análisis de varianza muestra diferencias altamente significativas con $p \leq 0,001$ y $p \leq 0,01$ respectivamente entre los diferentes tratamientos, donde el tratamiento C-SI1 presenta los valores más altos, la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$ indica que los tratamientos SSF, SI05, L05, C-SI01 y C-SI05 presentan los valores más bajos; hacia la quinta semana el análisis de varianza indica diferencias altamente significativas con $p \leq 0,01$ entre los diferentes tratamientos, en esta oportunidad los tratamientos C y C-SI1 presentaron los mayores valores de acuerdo a la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$, mientras que el tratamiento SSF presentó el menor valor promedio del peso corporal; en la sexta semana los tratamientos no presentaron diferencias significativas; hacia la séptima semana los tratamientos presentaron diferencias significativas con $p \leq 0,05$ en el análisis de varianza, el grupo constituido por C presentó los mayores pesos, mientras que los pesos más bajos se observaron en el tratamiento C-SI01 de acuerdo a la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$; hacia la semana ocho del experimento no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 3. Peso corporal de los animales en los diferentes tratamientos

T	Peso de animal – semana (g)								
	0	1 ^{ns}	2 ^{***}	3 ^{***}	4 ^{**}	5 ^{**}	6 ^{ns}	7 [*]	8 ^{ns}
SSF	92,250 ± 9,765	126,125 ± 7,530	148,375 ± 8,782 c	177,375 ± 10,649 b	187,250 ± 13,615 b	201,125 ± 12,322 b	226,625 ± 13,917	208,125 ± 18,681 ab	229,125 ± 23,185
SI05	103,750 ± 11,498	130,250 ± 15,554	155,125 ± 14,788 bc	183,625 ± 18,369 b	195,125 ± 17,884 b	207,500 ± 17,287 ab	231,125 ± 16,574	210,750 ± 21,783 ab	231,375 ± 31,382
L05	97,625 ± 7,633	129,625 ± 4,955	153,625 ± 5,878 c	184,000 ± 12,717 b	196,750 ± 12,870 b	209,250 ± 10,152 ab	232,375 ± 14,530	212,000 ± 20,164 ab	234,875 ± 26,314
C	88,000 ± 8,264	128,500 ± 20,466	161,625 ± 17,062 bc	189,750 ± 18,722 ab	212,000 ± 18,860 ab	233,125 ± 17,275 a	254,250 ± 23,132	240,250 ± 29,654 a	246,625 ± 31,455
C-SI01	88,750 ± 6,386	166,625 ± 7,328	156,000 ± 8,053 bc	175,125 ± 10,329 b	196,125 ± 13,705 b	215,000 ± 13,815 ab	226,125 ± 19,216	202,625 ± 24,559 b	212,500 ± 33,372
C-SI05	90,625 ± 14,202	117,250 ± 16,386	153,125 ± 18,773 c	177,500 ± 20,157 b	197,125 ± 24,275 b	217,875 ± 22,925 ab	238,375 ± 16,707	213,750 ± 16,158 ab	224,375 ± 13,763
C-SI1	94,625 ± 10,169	125,750 ± 11,817	183,875 ± 11,618 a	211,875 ± 16,711 a	226,250 ± 20,226 a	235,875 ± 28,871 a	229,125 ± 26,417	227,875 ± 22,087 ab	249,500 ± 20,354
C-L05	94,000 ± 11,148	124,875 ± 12,755	175,000 ± 13,277 ab	193,250 ± 19,862 ab	210,125 ± 19,526 ab	215,375 ± 15,464 ab	226,625 ± 12,950	216,000 ± 15,033 ab	224,125 ± 18,404

T: Tratamiento, SSF: Solución salina de suero fisiológico, SI05: Aceite de sacha inchi 0,5 mL, L05: Aceite de linaza 0,5 mL, C: Colesterol 120 mg/kg, C-SI01: Colesterol + aceite de sacha inchi 0,1 mL, C-SI05: Colesterol + aceite de sacha inchi 0,5 mL, C-SI1: Colesterol + aceite de sacha inchi 1 mL, C-L05: Colesterol + aceite de linaza 0,5 mL. ns, *, **, ***: Indican no significante, significancia a $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ y $p \leq 0,001$ respectivamente. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan diferencias significativas en la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. Valores promedio de 8 repeticiones ± desviación estándar.

El efecto de los aceites crudos de sachá inchi y linaza sobre los niveles de colesterol total, HDL, triglicéridos, glucosa, urea, TGP y fosfatasa alcalina se presentan en las tablas 4 y 5. La tabla 4 muestra los resultados bioquímicos a los 30 días donde se observa diferencias altamente significativas con $p \leq 0,01$ según el análisis de varianza entre los tratamientos para los parámetros de colesterol total y glucosa, mientras que para los triglicéridos y fosfatasa alcalina se observan diferencias significativas con $p \leq 0,05$ entre los diferentes tratamientos, los parámetros de HDL, urea y TGP estadísticamente no presentaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

Tabla 4. Parámetros bioquímicos séricos de los animales a los 30 días

T	CT (mg/dL)**	HDL (mg/dL) ^{ns}	TRI (mg/dL)*	G (mg/dL)***	U (mg/dL) ^{ns}	TGP (UI/dL) ^{ns}	FA (UI/dL)*
SSF	155,250 ± 26,190 ab	48,250 ± 4,743	124,250 ± 23,255 b	83,500 ± 12,201 b	17,250 ± 2,188	16,000 ± 3,625	131,375 ± 30,071 ab
SI05	180,250 ± 18,211 ab	53,500 ± 9,024	151,250 ± 22,758 ab	83,500 ± 4,309 b	18,000 ± 5,345	14,750 ± 3,495	132,000 ± 33,598 ab
L05	142,250 ± 27,778 b	56,500 ± 3,423	130,500 ± 17,345 ab	87,750 ± 8,730 b	15,500 ± 3,251	15,500 ± 2,878	132,500 ± 24,928 ab
C	187,000 ± 19,109 a	49,500 ± 13,191	130,500 ± 24,629 ab	101,750 ± 4,496 a	17,500 ± 4,036	27,500 ± 5,976	154,000 ± 29,418 a
C-SI01	181,000 ± 13,459 a	53,250 ± 9,453	135,000 ± 9,651 ab	92,000 ± 13,459 ab	20,750 ± 3,576	16,250 ± 6,296	125,375 ± 24,721 ab
C-SI05	172,000 ± 31,686 ab	56,000 ± 11,976	128,250 ± 21,036 ab	81,750 ± 4,803 b	13,750 ± 6,018	14,750 ± 5,471	103,000 ± 14,412 b
C-SI1	153,250 ± 16,585 ab	45,000 ± 4,598	148,750 ± 23,837 ab	85,000 ± 11,032 b	17,500 ± 4,309	22,000 ± 13,918	117,875 ± 28,767 ab
C-L05	175,000 ± 32,976 ab	51,250 ± 6,944	160,250 ± 26,190 a	85,000 ± 3,780 b	20,250 ± 9,208	22,000 ± 15,547	139,375 ± 30,052 ab

T: tratamiento, SSF: Solución salina de suero fisiológico, SI05: Aceite de sachá inchi 0,5 mL, L05: Aceite de linaza 0,5 mL, C: Colesterol 120 mg/kg, C-SI01: Colesterol + aceite de sachá inchi 0,1 mL, C-SI05: Colesterol + aceite de sachá inchi 0,5 mL, C-SI1: Colesterol + aceite de sachá inchi 1 mL, C-L05: Colesterol + aceite de linaza 0,5 mL. CT: colesterol total, HDL: lipoproteínas de alta densidad, TRI: triglicéridos, G: Glucosa, U: urea, FA: fosfatasa alcalina. ns, *, **, ***: Indican no significante, significancia a $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ y $p \leq 0,001$ respectivamente. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan diferencias significativas en la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. Valores promedio de 8 repeticiones ± desviación estándar.

De acuerdo a la tabla 5, los valores de colesterol total muestran que el tratamiento C presenta significativamente los mayores valores, mientras que los tratamientos SI05, L05 y C-SI05 presentan similares valores promedio que el tratamiento control SSF según la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. A pesar que los valores de HDL se vieron favorecidos en los tratamientos C-L05 y C-SI05 hacia los 60 días, el análisis de varianza indica que no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. En cuanto a los triglicéridos, éstos fueron menores en el grupo C-SI05 constituido por colesterol y aceite de sachá inchi 0,5 mL, sin embargo el análisis de varianza muestra que no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos hacia los 60 días. El análisis de varianza de los valores de glucosa hacia los 60 días indica diferencias altamente significativas para los diferentes tratamientos, el grupo con colesterol presentó los mayores valores, mientras que los valores más bajos fueron hallados en los grupos SI05, L05 y C-SI05 incluso que el grupo control SSF según la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. Los valores de urea hacia los 60 días no exhibieron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. El grupo constituido por colesterol presentó significativamente los mayores valores de TGP hacia los 60 días, mientras que los valores más bajos fueron encontrados en los tratamientos C-SI1 y C-L05 con respecto a los otros tratamientos incluso que el grupo control SSF. En el caso de la fosfatasa alcalina los tratamientos C y C-L05 según el análisis de significancia de Tukey con $p \leq 0,05$ presentan los mayores

valores, mientras que el tratamiento C-SI05 constituido por colesterol + aceite de sachá inchi 0,5 mL presenta significativamente los valores más bajos incluso que el presentado por el grupo control SSF.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados del análisis fisicoquímico de los aceites crudos, así como de los ácidos grasos contenidos en el aceite de sachá inchi se encuentran de acuerdo con lo encontrado en otras investigaciones.^{16,17} Los valores de ácidos grasos indican que se encuentran constituidos principalmente por triglicéridos de ácidos grasos poliinsaturados tales como el ácido α -linolénico y el ácido linoléico.⁴

Tabla 5. Parámetros bioquímicos séricos de los animales a los 60 días

T	CT (mg/dL) ^{***}	HDL (mg/dL) ^{ns}	TRI (mg/dL) ^{ns}	G (mg/dL) [*]	U (mg/dL) ^{ns}	TGP (UI/dL) [*]	FA (UI/dL) [*]
SSF	146,500 ± 23,531 b	44,500 ± 5,127	155,625 ± 38,217	88,000 ± 8,401 ab	18,375 ± 3,701	19,000 ± 12,012 ab	139,625 ± 31,852 ab
SI05	138,000 ± 20,403 b	49,500 ± 8,485	146,750 ± 29,836	81,000 ± 9,457 b	15,375 ± 3,926	16,875 ± 8,271 ab	142,750 ± 45,493 ab
L05	146,875 ± 10,589 b	47,875 ± 5,842	139,125 ± 7,019	81,750 ± 5,776 b	18,125 ± 8,288	16,125 ± 7,754 ab	136,375 ± 39,993 ab
C	189,625 ± 17,752 a	46,625 ± 5,553	161,875 ± 26,046	96,375 ± 10,042 a	19,750 ± 7,649	32,500 ± 8,452 a	151,000 ± 30,928 a
C-SI01	166,125 ± 26,915 ab	47,875 ± 9,877	150,125 ± 59,022	87,375 ± 10,042 ab	19,875 ± 5,566	24,125 ± 14,971 ab	128,500 ± 28,127 ab
C-SI05	143,500 ± 28,943 b	52,125 ± 9,047	124,125 ± 16,745	81,000 ± 10,823 b	21,000 ± 6,633	18,750 ± 11,511 ab	98,000 ± 11,314 b
C-SI1	160,375 ± 12,118 ab	42,875 ± 3,137	145,250 ± 31,567	91,500 ± 8,619 ab	20,625 ± 5,731	15,500 ± 7,838 b	128,000 ± 31,641 ab
C-L05	169,875 ± 16,287 ab	53,500 ± 13,794	130,500 ± 20,785	88,125 ± 8,725 ab	19,250 ± 6,018	15,750 ± 11,841 b	148,375 ± 18,500 a

T: tratamiento, SSF: Solución salina de suero fisiológico, SI05: Aceite de sachá inchi 0,5 mL, L05: Aceite de linaza 0,5 mL, C: Colesterol 120 mg/kg, C-SI01: Colesterol + aceite de sachá inchi 0,1 mL, C-SI05: Colesterol + aceite de sachá inchi 0,5 mL, C-SI1: Colesterol + aceite de sachá inchi 1 mL, C-L05: Colesterol + aceite de linaza 0,5 mL. CT: colesterol total, HDL: lipoproteínas de alta densidad, TRI: triglicéridos, G: Glucosa, U: urea, FA: fosfatasa alcalina. ns, *, **, ***: Indican no significante, significancia a $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ y $p \leq 0,001$ respectivamente. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan diferencias significativas en la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$. Valores promedio de 8 repeticiones \pm desviación estándar.

Los valores altos de inocuidad mostrados de los aceites crudos de sachá inchi y linaza al evaluar la DL50 están de acuerdo con los usos y aplicaciones que tiene el aceite de linaza en el mercado de productos funcionales así como su denominación GRAS como alimento seguro,^{5,6,14,18} en el mismo sentido se confirma la inocuidad del aceite de sachá inchi, aplicando la denominación para los tóxicos dada por Willians *et al.*¹⁹ el aceite de sachá inchi se califica como una sustancia relativamente inocua porque la DL50 se encuentra por encima de los 15000 mg/kg.

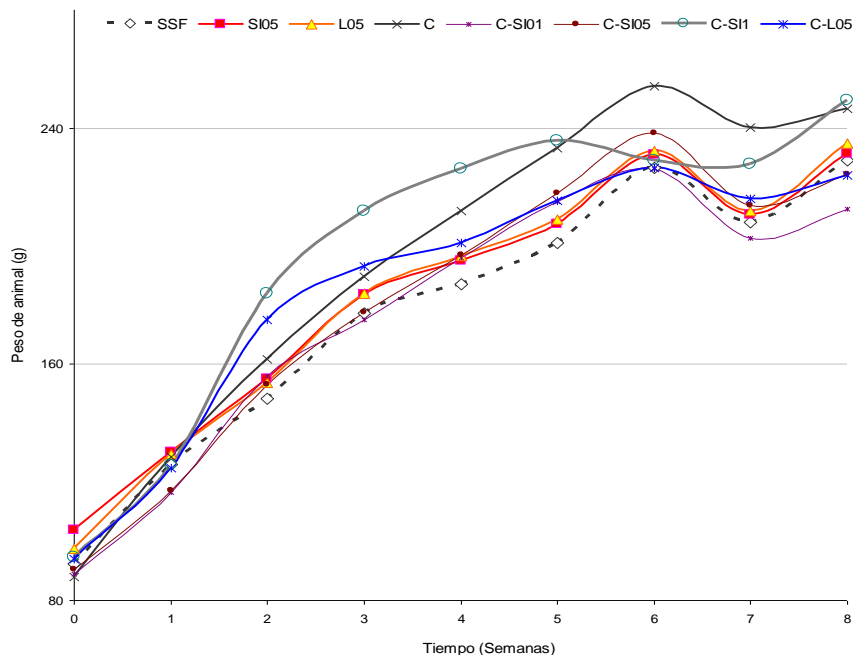


Figura 1. Peso corporal de los animales en los diferentes tratamientos. SSF: Solución salina de suero fisiológico, SI05: Aceite de sacha inchi 0,5 mL, L05: Aceite de linaza 0,5 mL, C: Colesterol 120 mg/kg, C-SI01: Colesterol + aceite de sacha inchi 0,1 mL, C-SI05: Colesterol + aceite de sacha inchi 0,5 mL, C-SI1: Colesterol + aceite de sacha inchi 1 mL, C-L05: Colesterol + aceite de linaza 0,5 mL. Cada punto representa valores promedio de 8 repeticiones.

Adicionalmente los estudios anatomopatológicos macroscópicos no mostraron ninguna alteración en los órganos estudiados ni se observaron alteraciones clínicas ni síntomas indicativos de toxicidad en los animales, asimismo las evaluaciones del peso corporal de los animales como síntoma de toxicidad indican que se encuentran dentro de los valores establecidos para la curva de crecimiento de la especie y línea en estudio, la figura 1 muestra el comportamiento del peso corporal en los diferentes tratamientos durante las 8 semanas del experimento.

A pesar de que se observaron diferencias significativas del peso corporal entre los diferentes tratamientos a la segunda, tercera, cuarta, quinta y séptima semana, los valores se encontraron dentro de los límites establecidos para los animales a los que se administraron los aceites crudos (SI05 y L05) y para los grupos de animales a los que se administró el colesterol y los aceites crudos (C, C-SI01, C-SI05, C-SI1 y CL05). El incremento de peso corporal hallado a partir de la expresión descrita en la sección de métodos, muestra que los incrementos con respecto al SSF fueron principalmente en los grupos de colesterol (C) y colesterol + aceite de sacha inchi 1 mL (C-SI1), donde el exceso del aceite se traduce en una conversión de los ácidos grasos del sacha inchi hacia otros ácidos grasos y oxidación- β con el consecuente aumento de peso²⁰; sin embargo el grupo colesterol + aceite de linaza 0,5 mL (C-L05) presentó cantidades significativas del incremento del peso corporal en las semanas 2, 3, 4, 5 y 7 del experimento, figura 2.

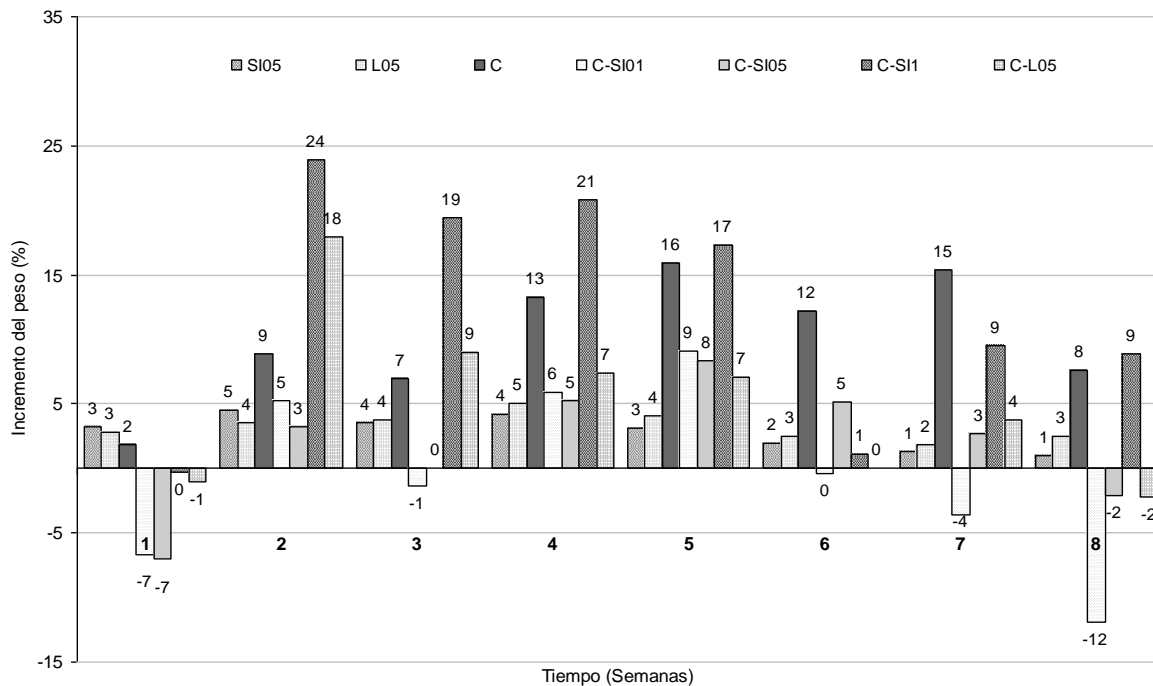


Figura 2. Incremento del peso corporal de los animales en los diferentes tratamientos. SI05: Aceite de sacha inchi 0,5 mL, L05: Aceite de linaza 0,5 mL, C: Colesterol 120 mg/kg, C-SI01: Colesterol + aceite de sacha inchi 0,1 mL, C-SI05: Colesterol + aceite de sacha inchi 0,5 mL, C-SI1: Colesterol + aceite de sacha inchi 1 mL, C-L05: Colesterol + aceite de linaza 0,5 mL. Cada barra representa valores promedio de 8 repeticiones.

Los valores reportados para colesterol total a los 30 y 60 días se encuentran dentro de los rangos normales establecidos en ratas albinas de la cepa Holtzmann, en esta investigación se concluye que hacia los 30 y 60 días el grupo al que se administró colesterol presentó los mayores valores de colesterol total y que este redujo con la administración de los aceites crudos de sacha inchi y linaza en sus diferentes dosis, incluso por debajo del grupo control SSF, al respecto Arroyo *et al.*²¹ en la investigación sobre antocianinas del maíz morado y la hipocolesterolemia en ratas Holtzmann reportó valores entre 85 y 110 mg/dL para los grupos en estudio. Los valores de HDL en la investigación se encontraron entre 44,50 mg/dL para el grupo control SSF y alrededor de 56,00 mg/dL para los tratamientos L05 y C-SI05, resultados que se confirman por investigaciones relacionadas sobre ácidos grasos poliinsaturados los cuales concluyen que el consumo de estos ácidos grasos disminuyen los niveles de colesterol total, triglicéridos y aumentan los niveles de HDL en la sangre.⁶ Para el caso de los triglicéridos el tratamiento con colesterol + aceite de sacha inchi 0,5 mL (C-SI05) presentó los menores valores hacia los 60 días incluso por debajo del grupo control SSF, confirmando el efecto de los ácidos grasos poliinsaturados sobre la disminución de triglicéridos en los grupos de animales,²² los valores encontrados estuvieron entre 124,125 y 161,875 mg/dL para el tratamiento C-SI05 y C respectivamente. Los rangos normales de glucosa establecidos para ratas Holtzmann se encuentran entre 63 y 143 mg/dL de glucosa, para la presente investigación los valores de glucosa se encontraron entre 81,000 y 101,750 mg/dL, en esta oportunidad el tratamiento que presentó los valores más bajos a los 30 y 60 días fue el grupo constituido por colesterol + aceite de sacha inchi 0,5 mL cuyos valores estuvieron incluso por debajo del grupo control

SSF, lo que indicaría que la disminución del colesterol y triglicéridos va acompañado con una disminución de los niveles de glucosa en los animales que forman parte del tratamiento C-SI05.²³ El análisis de varianza para los valores de urea hacia los 30 y 60 días indica que no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, sin embargo los tratamientos C-SI05 y SI05 presentaron los valores más bajos para los 30 y 60 días respectivamente. En cuanto a los valores de TGP estos se encontraron entre 14,750 y 32,500 UI/dL, siendo el tratamiento C el que presentó los mayores valores a los 30 y 60 días, mientras que los tratamientos C-SI05 y C-SI1 presentaron los valores más bajos a los 30 y 60 días respectivamente; los valores reportados en la investigación se encontraron dentro de los rangos normales (17 – 68 UI/dL) establecidos para este parámetro sérico en sangre de los animales. Los rangos normales de fosfatasa alcalina para ratas Holtzmann se encuentran entre 123 – 570 UI/dL, nosotros en la investigación reportamos valores entre 98,000 y 154,000 UI/dL, siendo el tratamiento con colesterol el que presentó los mayores valores a los 30 y 60 días, mientras que el tratamiento colesterol + aceite de sachá inchi 0,5 mL presentó los valores más bajos hacia los 30 y días, revelando que el aceite de sachá inchi disminuye los niveles de fosfatasa alcalina en animales a los que se administró colesterol.

CONCLUSIONES

La DL50 de los aceites crudos de sachá inchi y linaza se encuentra por encima de los 37,00 mg/ kg de masa corporal, clasificándose a los aceites crudos como no tóxicos. La investigación de la toxicidad oral hacia los 60 días revela que los aceites de sachá inchi y linaza no producen efectos nocivos en ratas y su consumo favorece la disminución de colesterol total, triglicéridos y glucosa y el incremento de HDL a nivel sérico en ratas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos nuestro agradecimiento a la GTZ por el financiamiento a la presente investigación, así como a la Fundación para el Desarrollo Agrario – FDA por su apoyo durante el desarrollo de la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brack A. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles de Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos "Bartolomé de las Casas". Cuzco. 1999.
2. Arévalo G. Colección, Caracterización y Mantenimiento de Germoplasma de Oleaginosas Nativas. EEA El Porvenir - INIA. Informes Anuales 1990-1995. Tarapoto. 1996.
3. Guillén M, Ruiz A, Cabo N, Chirinos R, Pascual G. Characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil by FTIR Spectroscopy and ¹H NMR. Comparison with Linseed Oil. JAOCS. 2003; 80:755-762
4. Cuppelt S. Oil Quality Indices. In Current Protocols in Food Analytical Chemistry (Ronald E. Wrolstad, Terry E. Acree, Haejung An, Eric A. Decker, Michael H. Penner, David S. Reid, Steven J. Schwartz, Charles F. Shoemaker, Denise M. Smith and Peter Sporns, eds.) pp. D1.4.1- D1.4.3. John Wiley & Sons, Inc. 2001.
5. El-Rahim AH, Hafiz NA. Investigation on the protective effect of Grape seed on Linseed oils against cyclophosphamide induced genotoxicity in mice. Global Veterinaria. 2009; 3(5): 377-382.
6. Barceló-Coblijn G, Murphy EJ. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer Chain n-3 fatty acids: Benefits from human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. Progress in Lipid Research. 2009; 48: 355-374.
7. Ihara-Watanabe M, Umekawa H, Takahashi T, Furuichi Y. Effects of dietary alpha- or gamma-linoleic acid on levels and fatty acid compositions of serum and hepatic lipids, and activity and mRNA abundance of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase in rats. Comparative Biochemistry and Physiology Part A. 122: 213-220.
8. Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. Laboratorio de Análisis Físicoquímico, Composición de ácidos grasos por Cromatografía de Gases. ITP. Lima. 2003.
9. Vega C, Carrillo C. Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto de *Ocimum gratissimum* L. (Orégano cimarrón). Rev Cubana Plant Med. 1997; 2(2-3): 14-18.
10. OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. 1995; N°47 [Serie en Internet]. [Citado 15 May 2008]. Disponible en: <http://www.oecd.org>.
11. Biswas TK, Sana NK, Badal RK, Huque EM. Biochemical study of some oil seeds (Brassica, sesame and linseed). Pakistan Journal of Biological Science. 2001; 4(8): 1002-1005.
12. Hamaker B, Valles C, Gilman R, Hardmeier D, Clark H, García H, Gonzales A, Kohlsted I, Castro M. Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis* L.) Cereal Chem. 1992; 69:461-463.
13. Follegatti-Romero LA, Piantino CR, Grimaldi R, Cabral FA. Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. J. of Supercritical Fluids. 2009; 49: 323-329.
14. Rallidis LS, Paschos G, Liokos GK, Velissaridou AH, Anastasiadis G, Zampelas A. Dietary α-linolenic acid decreases C-reactive protein, serum amyloid A and interleukin-6 in dyslipidemic patients. Atherosclerosis. 2003; 167: 237-242.
15. Clandinin MT, Foxwell A, Goh YK, Layne K, Jumpson JA. Omega-3 fatty acid intake results in a relationship between the fatty acid composition of LDL Cholesterol ester and LDL Cholesterol in Humans. Biochimica et Biophysica Acta. 1997; 1346: 247-252.
16. Ángeles, M. 2002. Determinación de la estabilidad del aceite crudo y semi refinado de la semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sometido a temperaturas variables de almacenamiento. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Lima.
17. Mejía, M. 1997. Extracción y refinación del aceite de sachá inchi. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Facultad de Industrias Alimentarias, UNALM, Lima.
18. Wang Ch, Harris WS, Cheng M, Lichtenstein AH, Balk EM, Kupelnick B, Jordan HS. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not α-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary-and secondary-prevention studies: a systematic review. Am J Clin Nutr. 2006; 84: 5-17.
19. Williams P, Burson J. Industrial Toxicology Safety and Health Applications in the Work place. Ed. Van Nostrand Rein Hold Company. New York. 1985.

20. Burdge GC, Wootton SA. Conversion of α -linolenic acid to palmitic, palmitoleic, stearic and oleic acid in men and women. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential fatty acids*. 2003; 69: 283-290.
21. Arroyo J, Ruez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, Valencia J. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays*) en ratas hipercolesterolémicas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2007; 24(2): 157-162.
22. Carrero JJ, Martín-Bautista E, Boró L, Fonollá J, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr. Hosp*. 2005; 20(1): 63-69.
23. Zhang W, Wang R, Han S-F, Bu L, Wang S-W, Ma H, Jia G-L. α -Linolenic acid attenuates high glucose-induced apoptosis in cultured Human umbilical vein endothelial cells via PI3k/Akt/eNOS pathway. *Nutrition*. 2007; 23: 762-770.