

Composición química, características físico-químicas, trazas metálicas y evaluación genotóxica del aceite de *Plukenetia volubilis* L. (sacha inchi)

José Aranda-Ventura¹, Jorge Villacrés-Vallejo^{1,2}, Felipe Ríos-Isern³

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 04/02/2019
Aprobado: 22/02/2019

Autor corresponsal

José Alberto Aranda Ventura
Av. Abelardo Quiñones #2265-Iquitos
jose.aranda@essalud.gob.pe
965766025

Financiamiento

Instituto de Medicina Tradicional de ESSALUD y The Fundation for Alternative and Integrative Medicine (FAIM) Washington D.C.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Contribución de autores

JAV, FRI: concepción y diseño del estudio; JAV, FRI: recolección/obtención de resultados; JAV: análisis de estadístico e interpretación de datos; JAV: redacción de manuscrito; JAV, JVV, FRI: revisión crítica del manuscrito; JAV, JVV, FRI: aprobación de su versión final del manuscrito

Citar como

Aranda-Ventura J, Villacrés-Vallejo J, Ríos-Isern F. Composición química, características físico-químicas, trazas metálicas y evaluación genotóxica del aceite de *Plukenetia volubilis* L. (sacha inchi). Rev Peru Med Integrativa.2019;4(1):4-14.

Resumen

Objetivos. Determinar la composición química, características físico-químicas y el efecto genotóxico del aceite de *Plukenetia volubilis* L. **Materiales y métodos.** Se evaluó el perfil de ácidos grasos, tocoferoles, esteroides, fosfolípidos, carotenoides, tocotrienoles y fenoles; así como las características físico-químicas y trazas metálicas. La genotoxicidad fue evaluada a través del ensayo de morfología de la cabeza de espermatozoides. Para este ensayo, se emplearon ratones albinos machos formando 3 grupos de experimentación de 7 animales cada uno: control negativo (solución salina 0,9%), control positivo (50 mg/kg/pc/día de ciclofosfamida) y grupo problema que recibió por vía oral 0,5 ml de aceite sachá inchi (NIMET); las sustancias se administraron cada 24 horas por 5 días. **Resultados.** El aceite contiene ácidos grasos poliinsaturados(81,72%), monoinsaturados(10,31%) y saturados(7,67%); siendo el alfa-linolénico (47,35%) y el linoleico (34,34%) los más abundantes. El tocoferol y esteroles más abundante fueron el gamma-tocoferol y el beta-sitosterol respectivamente, y en escasa cantidad se halló: fenoles, fosfolípidos, carotenoides y tocotrienoles. Los índices de refracción, saponificación, yodo, peróxido y de acidez, fueron 1,48, 189 mg KOH/g, 190, 0,9 meq/kg, 1,11 KOH/g respectivamente. La densidad, materia insaponificable y humedad y materias volátiles fueron 0,9276, 0,27%, 0,05% respectivamente. Los niveles de arsénico y de plomo, no excedieron los límites máximos permisibles. El grupo de ciclofosfamida mostró una cantidad mayor de espermatozoides anormales (P<0,01) con respecto a los grupos de solución salina y NIMET; no se halló diferencia significativa entre los grupos de solución salina y NIMET. **Conclusiones.** el aceite de *Plukenetia volubilis*, es rico en ácidos grasos esenciales alfa-linolénico y linoleico, con una óptima proporción omega 6/omega 3, con significativas cantidades de tocoferoles y fitoesteroides los cuales le brindan una estabilidad oxidativa y con características físico-químicas que corroboran su calidad. En este diseño evaluado el aceite de sachá inchi no induce genotoxicidad, podemos decir que su consumo es seguro como alimento.

Palabras clave: *Plukenetia volubilis*, ácidos grasos, tocoferoles, esteroides, genotoxicidad, morfología espermatozoides (Fuente: DeCS)

Chemical composition, physico-chemical characteristics, metallic traces and genotoxic evaluation of *Plukenetia volubilis* L. oil (sacha inchi)

Abstract

Objectives. To determine the chemical composition, physical-chemical characteristics and the genotoxic effect of *Plukenetia volubilis* L. oil. **Materials and methods.** The profile of fatty acids, tocopherols, sterols, phospholipids, carotenoids, tocotrienols and phenols was evaluated; as well as the physical-chemical characteristics and metallic traces. Genotoxicity was assessed through the sperm head morphology test. For this test, male albino mice were used forming 3 experimental groups of 7 animals each: negative control (saline solution 0.9%), positive control (50 mg / kg / pc / day of cyclophosphamide) and problem group received via oral 0.5 ml sachá inchi oil (NIMET); the substances were administered every 24 hours for 5 days. **Results.** The oil contains polyunsaturated (81.72%), monounsaturated (10.31%) and saturated (7.67%) fatty acids; being alpha-linolenic (47.35%) and linoleic (34.34%) the most abundant. The most abundant tocopherol and sterol were gamma-tocopherol and beta-sitosterol respectively, and in a small amount it was found: phenols, phospholipids, carotenoids and tocotrienols. The indices of refraction, saponification, iodine, peroxide and acidity were 1.48, 189 mg KOH / g, 190, 0.9 meq / kg, 1.11 KOH / g respectively. The density, unsaponifiable matter and moisture and volatile materials were 0.9276, 0.27%, 0.05% respectively. The arsenic and lead levels did not exceed the maximum permissible limits. The cyclophosphamide group showed a higher amount of abnormal sperm (P <0.01) with respect to the saline solution and NIMET groups; no significant difference was found between the saline solution and NIMET groups. **Conclusions.** *Plukenetia volubilis* oil, is rich in alpha-linolenic and linoleic essential fatty acids, with an optimum omega 6 / omega 3 ratio, with significant amounts of tocopherols and phytosterols which provide oxidative stability and physical-chemical characteristics that corroborate its quality. In this evaluated design sachá inchi oil does not induce genotoxicity, we can say that its consumption is safe as food.

Key words: *Plukenetia volubilis*, fatty acids, tocopherols, sterols, genotoxicity, sperm morphology (Source: MeSH)

¹ Seguro Social de Salud, Instituto de Medicina Tradicional, Iquitos, Perú.

² Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Facultad de Agronomía, Iquitos, Perú.

³ Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Iquitos, Perú.

Introducción

La planta *Plukenetia volubilis* L., es conocida como sacha inchi, y pertenece a la familia Euphorbiaceae. Provee semillas de las cuales se obtiene aceite y harina de uso frecuente en la alimentación y la medicina tradicional de las comunidades nativas de la Amazonía. Etnomédicamente, se ha reportado que el aceite de sacha inchi es útil en la preparación de una crema para rejuvenecer la piel y sirve para hacer frotaciones en dolores musculares y reumáticos ⁽¹⁾.

El aceite de *Plukenetia volubilis* contiene ácidos grasos poliinsaturados (78,15-84,49%), monoinsaturados (7,50-10,71%) y saturados (6,74-7,70%); siendo el omega 3 (45,2-50,41%) y el omega 6 (32,66-36,8%), los principales poliinsaturados y el omega 9 (8,41-10,45%), el principal monoinsaturado; también contiene tocoferoles y esteroides ⁽²⁾. Se ha reportado como actividades biológicas del aceite: que afecta la adherencia del *Staphylococcus aureus* a los queratinocitos y elimina a esta bacteria de los queratinocitos y explantes de piel humana ⁽³⁾, reduce la masa tumoral y proliferación de células del tumor de Walker 256 *ex vivo*, reduce los niveles plasmáticos de citoquinas inflamatorias (TNF-alfa e interleuquina IL-6) de ratas portadoras del tumor de Walker 256 ⁽⁴⁾, actividad antilipídica en ratas ⁽⁵⁾ y en humanos ⁽⁶⁻⁸⁾. Se ha reportado escasos estudios preclínicos de toxicidad sobre este aceite ^(3,5).

En la actualidad, la búsqueda de alternativas terapéuticas dentro de las plantas medicinales se ha intensificado. La mayoría de estas plantas o sus productos (medicinas herbales), se usan sin conocer su composición química y sin conocer su toxicidad; esto es un reto, puesto que el uso de estas medicinas no solo debe estar basada en el conocimiento tradicional, sino que se debe garantizar su uso seguro, ya que es frecuente relacionar la palabra "natural" con inocuo y desconocer las posibles reacciones adversas que pueden causar.

En este contexto, es importante que de una medicina herbal se conozca al detalle su composición química, sus características fisico-químicas, así como que cuente con estudios desde la óptica de la genética toxicológica, en donde se evalúe el daño a las células germinales masculinas (ensayo morfología de la cabeza de los espermatozoides). Como un aporte para el consumo seguro del aceite de *Plukenetia volubilis* por la población, el presente estudio evaluó la composición química, características fisico-químicas y trazas metálicas del aceite procedente de semillas cultivadas en Iquitos-Loreto respetando las buenas prácticas agrícolas y supervisado por el Instituto de Medicina Tradicional-IMET de ESSALUD, también se evaluó el efecto genotóxico de este aceite sobre células germinales.

Materiales y métodos

Material vegetal

La planta y sus semillas de la especie *Plukenetia volubilis* fueron recolectadas en la comunidad de Padre Cocha, provincia de Maynas, Loreto-Perú. Una excata se depositó en el Herbarium Amazonense-AMAZ (Facultad de Ciencias Biológicas-Universidad Nacional de la Amazonía Peruana-UNAP, Iquitos-Perú), donde fue identificado como *Plukenetia volubilis* L. (0036532).

Extracción del aceite

Los frutos capsulares maduros fueron secados al aire protegidos de la luz solar directa, luego se extrajeron las semillas y se secaron. Se separaron los mejores cotiledones (color y forma); 10 kg de estos fueron aplastados y prensados en frío. El aceite obtenido fue filtrado en tres etapas y almacenado en botellas de vidrio ámbar de 250 mL. Este procedimiento se realizó en la empresa Negocios Agroindustriales Loreto S.A.C., y fue supervisado por el Departamento de Farmacognosia del IMET. Este producto cuenta con Registro de Propiedad Industrial (certificado 00154013) en INDECOPI, etiquetado como Nutraceite Omega 3 de IMET®.

Composición química y características fisico-químicas

Muestras del Nutraceite Omega 3 del IMET® fueron enviadas al Laboratorio POS Bio – Sciences, 118 Veterinary Road, Saskatoon, Saskatchewan, Canadá S7N 2R4, para evaluar el perfil de ácidos grasos, tocoferoles, esteroides, fosfolípidos, carotenoides, tocotrienoles y fenoles. Así también, se evaluaron las características fisico-químicas como la gravedad específica a 25 °C, el índice de refracción a 25 °C, el índice de yodo, el índice de saponificación, la materia insaponificable, el índice de peróxido, la humedad y materias volátiles y el índice de acidez. Otra muestra del Nutraceite Omega 3 del IMET®, fue enviada al Laboratorio Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C. en Lima, para la evaluación de trazas metálicas de arsénico, plomo, cobre y hierro. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Animales

Se emplearon ratones albinos machos cepa Balb/C/CNPB, con peso corporal de 20-25 g, y adquiridos en el Centro Nacional de Producción de Biológicos del Instituto Nacional de Salud-INS. Los animales fueron sometidos a cuarentena e inspección clínica por 7 días antes de iniciar los experimentos. En el proceso de experimentación los animales se mantuvieron en salas climatizadas (24 ± 2 °C,

40–70% de humedad relativa y 12 h de fotoperiodo) y alimentados con pienso peletizado y agua *ad libitum*. El manejo de animales de laboratorio se hizo cumpliendo estrictamente con las normas establecidas para el uso de animales en trabajos de laboratorio, respetando sus derechos universales de acuerdo con la Declaración de la Asociación Médica Mundial sobre el uso de animales en la investigación biomédica.

Diseño experimental

El método empleado fue adaptado de Arencibia *et al.* ⁽⁹⁾; para el ensayo de morfología de la cabeza de espermatozoides, se emplearon ratones albinos. Se establecieron tres grupos de experimentación de siete animales cada uno: control negativo (solución salina 0,9%, vía oral), control positivo (50 mg/kg/pc/día de ciclofosfamida, vía intraperitoneal) y grupo problema que recibió por vía oral 0,5±0,02 mL de Nutraceite Omega 3 de IMET® (NIMET). Las sustancias se administraron cada 24 h durante cinco días.

Ensayo de morfología de la cabeza de espermatozoides

Consistió en el siguiente proceso: sacrificio de los animales por dislocación cervical a 35 días de haber recibido la primera dosis de las sustancias de prueba, separación y pesado de testículos y epidídimos, preparación de suspensión espermática con la porción distal de epidídimos y 3 mL de solución salina al 0,9%, tinción con 300 µL de eosina al 1%, extensión de láminas con la suspensión espermática, observación microscópica con aumento de 400X (se observaron aproximadamente 1010 espermatozoides por animal) y el criterio de clasificación que se siguió fue el planteado por Wyrobek y Bruce⁽¹⁰⁾, el cual se basa en cabezas de espermatozoides normales y anormales, estas últimas clasificadas en amorfas, banana y sin gancho. Como criterio de genotoxicidad se consideró el incremento significativo del número de espermatozoides con cabezas anormales.

Análisis estadístico

Se empleó el programa SPSS v24.0. Los datos obtenidos fueron expresados como media ± DE. Asimismo, la significancia de las diferencias entre los grupos de estudio fue determinada con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey después de realizar la ANOVA de una vía. Un valor $p < 0,01$ fue considerado estadísticamente significativo.

Resultados

Las semillas de *Plukenetia volubilis* L evaluadas tienen un rendimiento de aceite entre 39,9 a 41,5% y este aceite

(Nutraceute Omega 3 De IMET®) contiene ácidos grasos poliinsaturados (81,72%), monoinsaturados (10,31%) y saturados (7,67%); siendo el omega 3 (alfa-linolénico 47,35%) y el omega 6 (linoleico 34,34%) los principales poliinsaturados, y el omega 9 (oleico 9,48%), el principal monoinsaturado. Los principales tocoferoles hallados fueron gamma-tocoferol y el delta-tocoferol. Los principales esteroides fueron: beta-sitosterol y el estigmasterol. También se detectó, en escasa cantidad, fenoles, fosfolípidos, carotenoides y tocotrienoles (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química del aceite de la semilla de *Plukenetia volubilis*

Componentes químicos	Promedio/DE
Ácidos grasos (%)	
C16 Palmítico	4,31 ± 0,00
C16:1 hexadecenoico	0,09 ± 0,01
C17 margarico	0,10 ± 0,00
C18 Esteárico	3,17 ± 0,00
C18:1n9 oleico (omega 9)	9,48 ± 0,01
C18:1 octadecenoico	0,46 ± 0,00
C18:2n6 linoleico (omega 6)	34,34 ± 0,00
C18:3n3α-linolenico (omega 3)	47,35 ± 0,02
C20 Araquidico	0,09 ± 0,01
C20:1n9 eicosenoico	0,29 ± 0,01
C20:2n6 eicosadienoico	0,03 ± 0,00
Otros	0,31 ± 0,04
Total, saturados	7,67 ± 0,01
Total, monoinsaturados	10,31 ± 0,01
Total, poliinsaturados	81,72 ± 0,02
Omega 6/Omega 3	0,73
Tocoferoles (mg/100g)	
Delta-tocoferol	69,80 ± 0,76
Gamma-tocoferol	159,07 ± 3,01
Alfa-tocoferol	0,51 ± 0,10
Total	229,39 ± 3,87
Esteroides (mg/100g)	
Campesterol	16,31 ± 0,13
Estigmasterol	60,45 ± 0,73
Beta-sitosterol	130,27 ± 1,25
Otros esteroides	27,20 ± 0,28
Total	234,20 ± 1,83
Fosfolípidos (%)	
Total	0,02 ± 0,01
Fenoles (mg/100g)	
Total	1,02 ± 0,15
Carotenoides(ppm)	
Total	< 10
Tocotrienoles (mg/g)	
Total	< 0,01

Fuente: Analytical report – POS Bio - Sciences.Project N° 905. Lab Number: AA37030.

Sample description: Nutraceite Omega 3 de IMET® (aceite de *Plukenetia volubilis*)

Las características físico-químicas del aceite (Tabla 2).

Tabla 2. Características físico-químicas del aceite de la semilla de *Plukenetia volubilis*

Parámetro	Resultado
Gravedad específica a 25 °C	0,9276
Índice de refracción a 25 °C	1,48
Índice de saponificación	189 mg KOH/g
Índice de yodo	190
Materia insaponificable	0,27%
Índice de peróxido	0,90 meq/kg
Humedad y materias volátiles	0,05 %
Índice de acidez	1,11 mg KOH/g

Fuente: Analytical report – POS Bio - Sciences. Project N° 905. Lab Number: AA37030. Sample description: Nutraceite Omega 3 de IMET® (aceite de *Plukenetia volubilis*)

Ensayo de morfología de la cabeza de espermatozoides

Ninguno de los animales de los tres grupos experimentales murió en el desarrollo del experimento. En cuanto a los pesos corporales totales de testículos y de epidídimos, hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre los pesos totales del grupo de ciclofosfamida y el grupo de solución salina; también hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre los pesos de los testículos del grupo de ciclofosfamida y el grupo que recibió aceite de sachá inchi (NIMET); no se halló diferencia estadísticamente significativa entre los pesos de los epidídimos de los tres grupos (Tabla 4).

En la Tabla 5 se aprecian los promedios del conteo de espermatozoides normales y anormales por grupo de estudio. Se evidenciaron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre la cantidad de espermatozoides normales del grupo de ciclofosfamida y los grupos que recibieron solución salina y aceite de sachá inchi (NIMET); no se hallaron diferencias significativas entre estos dos últimos grupos. Se hallaron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre la cantidad de espermatozoides anormales del grupo de ciclofosfamida y los grupos de solución

Las trazas metálicas (Tabla 3).

Tabla 3. Trazas metálicas en el aceite de la semilla de *Plukenetia volubilis*

Parámetro	Resultado	Límite máximo (mg/kg)
Arsénico (As)	No detectable	0,1
Plomo (Pb)	< 0,1 mg/kg	0,1
Cobre (Cu)	0,28 mg/kg	0,4
Hierro (Fe)	2,57 mg/kg	5,0

Fuente: Laboratorio de ensayo – SAT. Informe de ensayo N° DT-11588-02-2011 Muestra: Nutraceite Omega 3 de IMET® (aceite de *Plukenetia volubilis*)

salina y NIMET. Dentro de los espermatozoides anormales del grupo que recibió ciclofosfamida, los tipos que predominaron fueron los sin gancho y los amorfos.

Discusión

El uso de la medicina herbal está creciendo en todo el mundo tanto para la alimentación los llamados “alimentos funcionales”, como para el tratamiento los denominados “fitofármacos”. Las preparaciones de una sola hierba o sus derivados, las formulaciones étnicas y modernas de medicina herbal se utilizan ampliamente como terapias complementarias o para mejorar el bienestar del consumidor⁽¹¹⁾. La Amazonía peruana es fuente de una gran biodiversidad, produce muchas especies vegetales de gran valor nutritivo y medicinal, como la *Plukenetia volubilis* L (sacha inchi).

En el presente estudio, 100 g de sus semillas rinden entre 39,9 a 41,5 g de aceite, por prensado en frío, lo cual está dentro del rango (33 a 54%) reportado por otros estudios con esta especie⁽¹²⁻¹⁴⁾ recolectada en otras áreas de cultivo. Este contenido de aceite es equiparable al de las semillas de linaza (34-45%), perilla (40%)⁽¹⁵⁻¹⁷⁾, cártamo (30-40%)⁽¹⁸⁾, y canola (38-44%)⁽¹⁹⁾, pero es superior al contenido de aceite de las semillas de soya (16,5-17,5%)⁽²⁰⁾ y chíca (26,7-35,0%)⁽¹⁶⁾. Algunas de las investigaciones mencionadas aquí, solo evaluaron un genotipo.

Tabla 4. Pesos promedios corporales totales, de testículos y de epidídimos obtenidos de los tres grupos experimentales de ratones albinos

Tratamiento	Mortalidad	Peso total (g)	Peso testículos (g)	Peso epidídimos (g)
Sol. Salina 0,9%	0/7	27,14±0,81	0,19±0,06	0,07±0,02
Ciclofosfamida 50 mg/kg/d	0/7	21,86±1,89*	0,15±0,01**	0,05±0,02
NIMET 0,5mL/d	0/7	24,57±3,64	0,22±0,02	0,05±0,02

Los valores representan la media ± DE los pesos para siete ratones por grupo. Análisis estadístico, ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Tukey. *Hay diferencia significativa ($p < 0,01$) al compararlo con el grupo de sol. salina. **Hay diferencia significativa ($p < 0,01$) al compararlo con el grupo NIMET.

Tabla 5. Cuantificación de espermatozoides con cabeza normal y anormal obtenido de los tres grupos experimentales de ratones albinos

Tratamiento	Normales	Anormales	Tipos anormales		
			Amorfos	Bananas	Sin gancho
Sol. salina 0,9%	981,14 ± 9,84	9,76 ± 5,66	15,85 ± 6,62	0,88 ± 0,70	12,57 ± 3,05
Ciclofosfamida 50mg/kg/d	643,85 ± 25,62*	122,10 ± 8,25**	141,71 ± 25,35	18,14 ± 5,90	211,43 ± 16,05
NIMET 0,5 mL/d	982,85 ± 4,2	9,19 ± 0,94	14,85 ± 4,3	3,71 ± 2,06	9,00 ± 5,31

Los valores representan la media ± DE de los espermatozoides para siete ratones por grupo. Análisis estadístico, ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Tukey. *Hay diferencia significativa ($p < 0,01$) al compararlo con los grupos de sol. salina y NIMET. **Hay diferencia significativa ($p < 0,01$) al compararlo con los grupos sol.salina y NIMET

Cabe señalar que la variación genética y epigenética podría resultar en una superposición de los contenidos de lípidos entre diferentes semillas oleaginosas ⁽²⁾.

En el aceite estudiado hay un predominio de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) 81,72%; moderada cantidad de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) 10,31%, y menor cantidad de ácidos grasos saturados 7,67%; estos valores concuerdan con otros estudios reportados del aceite de *Plukenetia volubilis*, extraído de semillas recolectadas en otras regiones del Perú ^(12,21,22). Estos resultados son importantes, dado que según la Asociación Americana del Corazón (AHA), los ensayos clínicos aleatorizados mostraron que grasa poliinsaturada de aceites vegetales que sustituyeron a grasas saturadas de productos lácteos y carne, redujo la enfermedad cardiovascular (CVD); así también, en estudios observacionales en muchas poblaciones, se mostró que una baja ingesta de grasa saturada junto a una alta ingesta de PUFA y MUFA está asociada con bajas tasas de CVD ⁽²³⁾.

Los ácidos grasos omegas fueron los componentes encontrados con mayor frecuencia, entre ellos: alfa-linolénico (omega 3 de origen vegetal) 47,35%, linoleico (omega 6) 34,34% y oleico (omega 9) 9,48%, estos porcentajes están dentro del rango de los requisitos nutricionales sobre perfil de ácidos grasos del aceite de *Plukenetia volubilis* L, según la Norma Técnica Peruana 151.400:2014 ⁽²⁴⁾. A los ácidos grasos alfa-linolénico (ALA) y linoleico (LA), se les denomina "ácidos grasos esenciales", porque no pueden sintetizarse en el organismo, así que deben ser suministrados a partir de la alimentación; la fuente principal del ALA son las semillas de chía, linaza, sacha inchi y sus aceites derivados, en tanto que la fuente principal de LA son las semillas de girasol, maíz, soya, colza, cártamo, sésamo, cáñamo, pepitas de uva y frutos secos como nueces, pecanas, piñones. El ALA es el precursor de los ácidos grasos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), mientras que el LA es el precursor del ácido araquidónico (AA) ⁽²⁵⁾.

En personas que consumen las típicas dietas occidentales, la proporción de AA/EPA en los fosfolípidos de las membranas

de las células inflamatorias puede ser de 20/1 y, por lo tanto, el substrato predominante en la obtención de eicosanoides es el AA. Cuando este ácido graso es movilizado de las membranas por acción de la fosfolipasa A2, actúa como substrato de enzimas como las COX y lipooxigenasas, generando eicosanoides tales como PGE2 y LTB4, con propiedades inflamatorias. La incorporación de EPA y DHA en la dieta se hace a expensas del AA, de modo que hay menos substrato disponible para síntesis de eicosanoides proinflamatorios. El EPA también puede ser substrato de las COX y lipooxigenasas, originando las prostaglandinas y tromboxanos de la serie 3, los leucotrienos y ácidos hidroxieicosapentaenoicos de la serie 5, todos ellos con evidente efecto antiinflamatorio ⁽²⁵⁾, de esto se deduce que dietas o productos con alto contenido de ALA se asocian con bajos niveles de citoquinas proinflamatorias y altos niveles de citoquinas antiinflamatorias ^(26,27).

Pero no basta una alimentación con alto contenido de ALA, sino que debe ir acompañada con una adecuada proporción de LA (omega 6)/ALA (omega 3), dado que ambos ácidos grasos compiten por el mismo sistema enzimático que los transforma en sus derivados AA y EPA, DHA. El aceite de las semillas de *Plukenetia volubilis* L. cultivadas en Loreto (Padre cocha), según nuestra evaluación tiene una proporción de omega 6/omega 3 de 0,73, lo cual es muy cercano al rango (omega 6/omega 3: 0,76-0,89) reportado en un estudio de 17 muestras de esta especie cultivada en otras regiones del Perú ⁽²²⁾; nuestro hallazgo también se aproxima al rango (omega 6/omega 3: 0,83-1,09) mostrado por otro estudio de 16 cultivos diferentes de semillas de *Plukenetia volubilis* de las regiones de San Martín y Loreto (Requena) ⁽¹²⁾. Estas proporciones son mucho más bajas que los valores reportados para los aceites extraídos de la canola (2,22), olivo (7,69), soya (6,66) y nuez (5,0) ⁽²⁸⁾; pero el aceite extraído de las semillas de linaza y de la chía tienen proporciones de omega 6/omega 3 (0,27 y 0,26 a 0,34 respectivamente) ^(16,29) más bajas que las del sacha inchi.

Según investigadores de The Center for Genetics, Nutrition and Health, Washington DC, USA, en la dieta occidental la proporción de LA (omega 6)/ALA (omega 3) ha aumentado entre 10/1 y 20/1, esta alta proporción de

omega 6, compuesta en gran parte por LA, está lejos de ser óptima y es altamente inapropiada para el desarrollo y crecimiento normal, así como altamente protrombótica y proinflamatoria, lo cual contribuye a la prevalencia de aterosclerosis, obesidad y diabetes. La proporción de LA (omega 6)/ALA (omega 3) en el cerebro entre 1/1 y 2/1 está de acuerdo con los datos de aspectos evolutivos de la dieta, la genética y los estudios con modelo animal fat-1. Por lo tanto, una proporción de 1/1 a 2/1 de LA (omega 6)/ALA (omega 3) debería ser la proporción objetivo para la nutrición y salud humana⁽³⁰⁾. El aceite de *Plukenetia volubilis* L evaluado, en el presente estudio, tiene una proporción LA(omega 6)/ALA(omega 3) de 0,73 y si analizamos otros estudios de cultivos de esta especie recolectada en otras regiones del Perú^(12,22), podemos establecer un rango para la proporción LA (omega 6)/ALA (omega 3) entre 0,73 a 1,09, los cuales son valores muy próximos a la proporción objetivo; se plantea esto sin dejar de reconocer los beneficios para la salud de otros aceites vegetales como los de oliva, linaza, chía, nuez, almendra, avellana, pistacho, coco, entre otros.

Los ácidos omegas 3 (EPA y DHA) de origen marino, son los más estudiados y hay evidencia consistente de una reducción de eventos cardiovasculares asociados al consumo de pescado y su aceite, también hay evidencias claras sobre su efecto beneficioso sobre la hipertrigliceridemia⁽²⁵⁾; pero la Food and Drug Administration (FDA) y la Environmental Protection Agency (EPA) han emitido alertas que recomiendan que mujeres en edad fértil, embarazadas, madres lactantes y niños pequeños eviten comer algunos tipos de pescados, debido a que el ácido omega 3 presente en los peces se encuentra limitado por la presencia de metilmercurio, el cual es un compuesto orgánico letal que puede afectar adversamente la fertilidad y ocasionar problemas cardíacos, temblores, pérdida de la visión y de la memoria⁽³¹⁾, ante esta situación está justificada la investigación de nuevas fuentes de omega 3, dado que los omegas 3 marinos se pueden producir a partir del ALA de una fuente vegetal, los aceites ricos en ALA como los aceites de sachá inchi, linaza y chía tienen un gran potencial. En el último reporte de la Asociación Americana del Corazón (AHA) se informa que hay evidencia consistente de que una mayor ingesta de ALA y niveles más altos en sangre de ALA están asociados con bajo riesgo de enfermedad cardíaca coronaria (CHD) mortal⁽²³⁾, esto se debe porque ejerce un efecto antiinflamatorio a nivel vascular, el cual involucra múltiples marcadores de inflamación y, dado que la inflamación es un componente importante en la progresión de la aterosclerosis⁽²⁶⁾, este sería su principal mecanismo de acción, además de su ya conocido efecto hipolipemiente.

Si bien es cierto que el ALA es una promisoriosa fuente de EPA y DHA, su conversión es limitada, según algunas investigaciones^(32,33), además, hay evidencia de que el efecto

del ALA se puede afectar por la proporción de LA⁽³⁴⁾; de esto se deduce que altas cantidades de LA resulta en altas cantidades de AA, mientras que en una situación en la que el ALA predomine sobre el LA, como es el caso del aceite de *Plukenetia volubilis*, la ruta metabólica es orientada a la formación de EPA y DHA⁽³⁵⁾, esto es corroborado con un estudio clínico en voluntarios saludables, en donde se compara el aceite de sachá inchi (LA 34,9%, ALA 47,7%, LA/ALA 0,73) con el aceite de girasol (LA 57,2%, ALA 0,6%, LA/ALA 95,3), mostrando que la ingesta de 15 mL de aceite de sachá inchi, en dosis única, incrementó los niveles plasmáticos de ALA y DHA (más evidente en las mujeres que en los hombres), lo cual no ocurrió en los que tomaron aceite de girasol; también se reportó una tendencia a incrementar el AA con altas dosis de aceite de girasol, mientras que con altas dosis de aceite de sachá inchi hubo una tendencia a reducir el AA e incrementar el DHA⁽³⁶⁾.

El total de tocoferoles contenido en el aceite de *Plukenetia volubilis* de Loreto (extraído por prensado en frío) evaluado fue 229,39 mg/100 g de aceite (con predominio del gamma-tocoferol 159,07 mg/100 g y el delta-tocoferol 69,8 mg/100 g) mientras que en otro estudio con la misma especie y el mismo tipo de extracción, solo que procedente de Tingo María, la cantidad total de tocoferoles fue 279 mg/100 g, en el mismo estudio, pero extraído el aceite por el método de extracción soxhlet, la cantidad total de tocoferoles fue de 239 mg/100 g⁽³⁷⁾. El aceite de sachá inchi contiene más tocoferoles que el aceite de linaza (tocoferoles totales 15,4 – 93,4 mg/100g)⁽³⁸⁾ y que el aceite de chía (tocoferoles totales 71,8 mg/100 g)⁽³⁹⁾, lo cual le brinda una mayor estabilidad oxidativa, compensando así su alto contenido de PUFA. La actividad antioxidante de los tocoferoles en los lípidos sigue este orden: gamma > delta > alfa > beta⁽⁴⁰⁾, y justamente el aceite de sachá inchi evaluado contiene cantidades significativas de los dos primeros tocoferoles.

El beta-sitosterol (130,27 mg/100 g) es el fitoesterol predominante en el aceite de *Plukenetia volubilis* evaluado, seguido del estigmasterol (60,45 mg/100 g) y el campesterol (16,31 mg/100 g); valores semejantes se hallaron en el aceite de esta especie, pero cultivada en otra región⁽⁴¹⁾: beta-sitosterol 139,6 mg/100 g, estigmasterol 68,9 mg/100 g y campesterol 17,5 mg/100 g. El aceite de linaza tiene más beta-sitosterol (145 mg/100 g) y más campesterol (58,4 mg/100 g) que el aceite de sachá inchi, pero menos estigmasterol (23,8 mg/100 g) que el aceite de sachá inchi⁽¹⁶⁾. El aceite de chía tiene más beta-sitosterol (312,5 mg/100 g) y más campesterol (69 mg/100 g) que los aceite de sachá inchi y linaza, pero menos estigmasterol (28,8 mg/100 g) que el aceite de sachá inchi⁽⁴²⁾; los tres aceites con alto contenido

en PUFA y ALA, tienen como fitoesterol predominante al beta-sitosterol. Los fitoesteroles son importantes, porque se demostró que su suplementación en la dieta puede disminuir los niveles de LDL-C (10%) lo cual reduciría el riesgo cardiovascular (10-20%)⁽⁴³⁾.

Los compuestos fenólicos totales (CFT) para el aceite de *Plukenetia volubilis* evaluado fue 1,02 mg equivalente ácido gálico (EAG)/100 g de aceite, hay escasos reportes del contenido de fenoles en el aceite de esta especie, pero si hay información de CFT en semillas de 16 cultivos de sachá inchi de otras regiones, en donde se estableció un rango 64,6 – 80,0 mg equivalente ácido gálico (EAG)/100 g de semilla⁽¹⁷⁾, evidenciando que hay más fenoles en las semillas que en el aceite. El contenido de CFT en el aceite de sachá inchi es muy cercano al contenido de CFT de los aceites de linaza (1,14 mg equivalente ácido cafeico EAC/100 g); girasol (1,20 mg EAC/100 g); maíz (1,26 mg EAC/100g); colza (1,31 mg EAC/100 g) y soya (1,48 mg EAC/100 g). Los compuestos fenólicos tienen mucha influencia sobre la estabilidad oxidativa, las características sensoriales y nutricionales de un producto y pueden prevenir el deterioro a través de la eliminación de las reacciones de los radicales libres responsable de la oxidación de los lípidos⁽⁴⁴⁾.

También se halló 0,02 % de fosfolípidos totales en el aceite de *Plukenetia volubilis* evaluado, hay escasos estudios de este compuesto en el aceite de esta especie, como lo reportado en el aceite de semillas de *Plukenetia volubilis* cultivada en Colombia (fosfolípidos totales ~1%)⁽¹⁴⁾; los fosfolípidos son importantes porque pueden aumentar la estabilidad oxidativa de aceites vegetales, debido a sus propiedades antioxidantes y sinergismo con los tocoferoles⁽²⁹⁾. A pesar de que el aceite de sachá inchi tiene poca cantidad de fenoles y fosfolípidos, la actividad de ambos compuestos en el barrido de radicales libres puede ser muy significativo. Otros compuestos hallados en el aceite evaluado fueron los carotenoides y tocotrienoles, aunque solo se halló trazas de ellos.

La variabilidad de las concentraciones de los diferentes compuestos químicos hallados en el aceite evaluado, al compararlo con los valores de otros cultivos de la misma especie, puede deberse a diferentes factores como: a) variedades, subespecies o ecotipos; b) Tiempo de cosecha; c) Método o tecnologías de extracción del aceite; d) Tiempo de almacenamiento del aceite envasado; e) Lugar de cosecha o distribución geográfica; f) Tipo de práctica agrícola; g) Clima, y h) Método cuantitativo de análisis de los compuestos químicos⁽¹²⁾, de allí la importancia de realizar la “trazabilidad de un producto”, que significa hacer el seguimiento y registro de las actividades de siembra,

mantenimiento, cosecha, poscosecha, hasta obtener el producto final lo cual actualmente es un requisito importante para el biocomercio.

Con respecto a las características físico-químicas del aceite de *Plukenetia volubilis* evaluado (Tabla 2), estos valores cumplen con los requisitos según lo establecido por la Norma Técnica Peruana para este aceite 151.400:2014⁽²⁴⁾. Esto implicaría que el aceite de sachá inchi evaluado es un aceite de calidad y que no está adulterado. La gravedad específica (o densidad) del aceite (0,9276) es más alta que del aceite de maíz, semilla de algodón y soya⁽⁴⁵⁾; esto se explica porque cuanto más insaturado es un aceite, mayor es su densidad. El índice de refracción del aceite de sachá inchi evaluado (1,48) es bastante similar al del aceite de oliva (1,467), el aceite de soja (1,473), el aceite de girasol (1,473), el aceite de maíz (1,473) y el aceite de semilla de algodón (1,468)⁽²⁾. El índice de refracción está en relación directa con el número de dobles enlaces⁽⁴⁵⁾. Su índice de acidez (1,11 mg KOH/g) permite catalogar al aceite evaluado como un aceite virgen, según por la Norma Técnica Peruana para este aceite 151.400:2014⁽²⁴⁾.

Los indicadores oxidativos para un aceite son los índices de acidez, yodo, peróxido, y saponificación; así como el valor de p-anisidina⁽²⁾, la mayoría de ellos fueron evaluados para el aceite de sachá inchi estudiado y cumplieron con la Norma Técnica Peruana para este aceite 151.400:2014⁽²⁴⁾. El índice yodo de un aceite está en función de su grado de insaturación, como ocurre en el caso del aceite de sachá inchi (PUFA + MUFA = 92,03 %, índice de yodo = 190). El bajo índice de peróxido es una característica de los aceites con alta resistencia a la oxidación⁽⁴⁶⁾, como es el caso del aceite evaluado (0,90 meq/kg). Con respecto a los metales traza hallados en el aceite evaluado (Tabla 3), los metales pesados arsénico y plomo no excedieron los límites máximos permisibles para metales pesados establecidos por la Norma Técnica Peruana para este aceite 151.400:2014⁽²⁴⁾, en cuanto a los metales cobre y hierro sus cantidades fueron menores que el nivel máximo aceptado para aceites vegetales vírgenes⁽⁴⁷⁾, estos metales son conocidos prooxidantes efectivos en la oxidación lipídica, por lo que no deben exceder el límite máximo aceptado⁽²⁹⁾.

El aceite de sachá inchi tiene aplicaciones muy promisorias en la industria alimentaria y el campo farmacéutico, pero su alto contenido de PUFA es un factor que podría afectar su estabilidad oxidativa, lo que implicaría una pérdida de su valor nutricional y la formación de una serie de compuestos producidos por la rancidez oxidativa, los cuales son la principal causa del deterioro del aceite. La estabilidad oxidativa se

evalúa por métodos estáticos como el índice de peróxido (con un valor bajo para el aceite de sachá inchi evaluado, indicando una significativa resistencia a la oxidación) y por métodos dinámicos como el índice de estabilidad oxidativa (OSI) por Rancimat; al respecto, se reportó en un estudio el OSI del aceite de sachá inchi mediante Rancimat a temperaturas de 80° (20.51 h), 90° (4.65 h), 100° (1.59 h) y 110° C(0.49 h), estos datos permitieron estimar la vida útil del aceite de sachá inchi a temperaturas habituales de almacenamiento de 20 °C, 25 °C y 30 °C en 3,29, 1,79 y 0,79 años respectivamente ⁽⁴⁸⁾, esta alta estabilidad oxidativa supera a otros aceites vegetales cuya vida útil fue estimada como el de la uva (0,22 años), sésamo(0,5 años) y girasol(1,68 años), a la misma temperatura ⁽⁴⁹⁾.

El uso de hierbas medicinales para la prevención y tratamiento de las enfermedades es una práctica ancestral, pero a pesar de su rol beneficioso, algunas de ellas pueden provocar efectos adversos ⁽⁵⁰⁾, de allí la importancia de los estudios preclínicos toxicológicos, así como la farmacovigilancia continua de las medicinas herbarias para promover su uso seguro. Los estudios toxicológicos de muchas medicinas herbarias son limitados, más aun, los estudios de genotoxicidad. El ensayo de morfología de la cabeza de los espermatozoides es una técnica sensible, rápida y económica para determinar la inducción de daño de una sustancia en las células germinales masculinas ⁽⁹⁾. El hallazgo en este ensayo fue una supervivencia de los ratones del 100 % en los tres grupos, pero cabe recalcar que la administración de las sustancias de estudio fue por solo cinco días. Con respecto a los pesos corporales, de testículos y de epidídimos en los grupos de estudio, el peso corporal promedio del grupo que recibió ciclofosfamida ($p < 0,01$) fue evidentemente menor que el peso promedio del grupo que recibió solución salina, mientras que no se halló diferencia significativa entre los pesos corporales del grupo NIMET y el grupo que recibió solución salina; el peso promedio de los testículos del grupo que recibió ciclofosfamida ($p < 0,01$) fue menor que del grupo NIMET, este dato concuerda con la información de que el uso de dosis crónicas de ciclofosfamida produce disminución del peso de los órganos reproductivos y alteraciones histológicas en los testículos ⁽⁵¹⁾. No hubo diferencia significativa entre los pesos de los epidídimos de los tres grupos.

Con respecto al conteo de los espermatozoides normales y anormales por grupo de estudio, el grupo que recibió ciclofosfamida mostró una cantidad mucho mayor de espermatozoides anormales ($p < 0,01$) con respecto a los grupos NIMET y de solución salina; la cantidad de espermatozoides anormales fue muy escasa y semejante

en estos últimos dos grupos. El grupo NIMET presentó cantidades semejantes de espermatozoides normales que el grupo de solución salina (la mayoría de los espermatozoides contabilizados fueron normales); por otro lado, el grupo de ciclofosfamida tuvo cantidades menores, evidenciando diferencia significativa con los dos grupos anteriores. En condiciones normales, la incidencia de anomalías en la morfología de la cabeza de espermatozoides ocurre, pero es muy baja. Se ha reportado que la toxicidad reproductiva de la ciclofosfamida es mediada por estrés oxidativo y que daños al ADN pueden ser los responsables del incremento en el porcentaje de espermatozoides con cabezas anormales, demostrándose por tinción de naranja acridina, que la exposición a ciclofosfamida causa roturas de simple y doble cadena en ADN de espermatozoides ⁽⁵²⁾.

Es importante considerar la influencia de los procesos fisiológicos y metabólicos del animal de experimentación en el efecto genotóxico de los productos naturales y las diversas sustancias en general. Los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción por diferentes sistemas enzimáticos pueden inactivar o potenciar el efecto de las genotoxinas ⁽⁵³⁾; de tal manera que la absorción intestinal deficiente y excreción preferencial de componentes genotóxicos, podrían influir en la atenuación o ausencia de respuesta genotóxica *in vivo*. Adicionalmente, los componentes genotóxicos y antigenotóxicos presentes en el producto natural pueden actuar simultáneamente en los órganos o células diana o interactuar entre sí, por lo que puede haber ausencia de efectos nocivos.

Cabe plantear la probabilidad que componentes del aceite sachá inchi, tengan un potencial antigenotóxico. El perfil de ácidos grasos detectado indica que el aceite contiene un contundente porcentaje mayor de ácidos grasos poliinsaturados esenciales (ALA 47,35%, AL 34,34%), estos compuestos químicos forman parte de la membrana celular. Además, la presencia de antioxidantes liposolubles como los tocoferoles y otros antioxidantes(fenoles) en este aceite, protegen la integridad de sus ácidos grasos esenciales y la membrana celular, lo que implica la protección de nuestras moléculas, células y tejidos del daño oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno. Así también, los ácidos grasos insaturados en aceites frescos, naturales y sin calentar, como el sachá inchi, son antimutagénicos, lo que significa que protegen nuestro material genético de ser atacados por químicos tóxicos que causan mutaciones; los ácidos grasos alfa-linolénico, linoleico y oleico son efectivos ⁽⁵⁴⁾ cuando se usan en las proporciones correctas.

Por lo que concluimos que el aceite de las semillas de *Plukenetia volubilis*, cultivada en Loreto-Perú, es un aceite

virgen, rico en PUFA, con predominio de los ácidos grasos esenciales omegas 3 y 6, con una óptima proporción omega 6/omega 3, con significativas cantidades de tocoferoles y fitoesteroles los cuales le brindan una buena estabilidad oxidativa y con características físico-químicas que corroboran su calidad. Además, no induce toxicidad reproductiva ni genotoxicidad, esto integrado a la evidencia ya existente, podemos decir que su consumo es seguro como alimento y con un gran potencial en la prevención de enfermedades cardiovasculares, y con un uso promisorio en enfermedades de la piel. Es importante, promover la agroindustria con este

producto, así como promover su biocomercio, construyendo una cadena de valor.

Agradecimientos

Al excongresista norteamericano (FMC) Berkley Bedell, fundador de The Foundation for Alternative and Integrative Medicine (FAIM) Washington D.C, por financiar los estudios de composición química del aceite de *Plukenetia volubilis*. Al señor Ferdinando Pisani Massamormile, por ayudarnos a gestionar esta financiación.

Referencias bibliográficas

- Correo J, Yesid H. Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello–SECAB; Ministerio de Educación y Ciencia de España. Corporación Andina de Fomento – CAF. Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello: *Plukenetia volubilis*. Colombia 1998. T–VII, 577-96,
- Wang S, Zhu F, Kakuda Y. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.): Nutritional composition, biological activity, and uses. *Food Chemistry*. 2018; 265: 316 – 28.
- Gonzalez-Aspajo G, Belkhelda H, Haddioui-Hbabi L, Bourdy G, & Deharo E. Sacha Inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) effect on adherence of *Staphylococcus aureus* to human skin explant and keratinocytes in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015; 171:330–4.
- Schiessel DL, Yamazaki RK, Kryczyk M, Coelho I, Yamaguchi AA, et al. α -Linolenic Fatty Acid Supplementation Decreases Tumor Growth and Cachexia Parameters in Walker 256 Tumor-Bearing Rats. *Nutr Cancer*. 2015; 67(5):839-46.
- Gorriti A, Arroyo J, Quispe F, Cisneros B, Condorhuamán M, Almora Y, et al. Oral toxicity at 60-days of sachá inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) and linseed (*Linum usitatissimum* L.), and determination of lethal dose 50 in rodents. *Rev Peru Med Ex Salud Pública*. 2010; 27: 352–60.
- Garmendia F, Pando R, & Ronceros G. Effect of Sacha Inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) on the lipid profile of patients with hyperlipoproteinemia. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2011; 28: 628–32.
- Gonzales GF, Gonzales C. A randomized, double-blind placebo-controlled study on acceptability, safety and efficacy of oral administration of sachá inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) in adult human subjects. *Food Chem Toxicol*. 2014; 65:168-76
- Aranda-Ventura J, Villacrés-Vallejo J, García Ruiz J, Nina Chora E, Ríos Isern F. Efecto del aceite de *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi) sobre la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia en pacientes con hiperlipidemias mixta del CAMEC – Iquitos. Investigaciones ganadoras del Premio en Ciencias de la Salud “Kaelin 2011” EsSalud. [Internet]. Lima: Biblioteca Central 2011(citado 6 enero 2019). Disponible en: http://www.essalud.gob.pe/biblioteca_central/pdfs/sacha_kaelin_ENUMERADO.pdf
- Arencibia DF, Gámez R, Gutiérrez A, Pardo B, Curveco D, García H, et al. Evaluación genotóxica del D-004, extracto del fruto de *Roystonea regia*, mediante el ensayo de la morfología de la cabeza del espermatozoide en ratas Sprague Dawley. *Rev. Toxicol*. 2009; 26: 127-30
- Wyrobek AJ, Bruce WR. Chemical induction of sperm abnormalities in mice. *Cell Biology*.1975; 72(11): 4425-9.
- Enioutina EY, Salis ER, Job KM, Gubarev MI, Krepkova LV, Sherwin CM. Herbal Medicines: challenges in the modern world. Part 5. status and current directions of complementary and alternative herbal medicine worldwide. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2017; 10(3):327-38.
- Chirinos R, Zuoleta G, Pedreschi R, Mignolet E, Larondelle Y, et al. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Chemistry*. 2013; 141:1732-9.
- Pereira de Souza A, Gohara A, Rodrigues Â, Evelázio de Souza N, Visentainer J, et al. Sacha inchi as potential source of essential fatty acids and tocopherols: multivariate study of nut and shell. *Acta Scientiarum. Technology*.2013; 35(4): 757-63
- Gutiérrez L F, Rosada L M, Jiménez A. Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characterisation of their lipid fraction. *Grasas y Aceites*.2011; 62: 76–83.
- Bozan B, Tenelli F. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seeds and seed oils. *Bioresource Technology*.2008; 99: 6354–9.
- Ciftci ON, Przybylski R, Rudzinska M. Lipids components of flax, perilla and chia seeds. *European Journal of Lipid Science and Technology*.2012; 114: 794–800.
- Morris DH, Vaisey-Genser M. Flaxseed. In B. Caballero (Ed.). *Encyclopedia of food sciences and nutrition* (pp. 2525–2531). New York: Academic Press.2003

18. Smith J. Safflower oil. In F. Shahidi (Ed.). *Bailey's industrial oil and fat products. Part 2 Edible oil & fat products: Edible oils* (6th ed.). New York, USA: John Wiley & Sons, Inc. 2007.
19. Przybylski R, Mag T, Eskin N.A. M, McDonald B.E. Canola oil. In F. Shahidi (Ed.). *Bailey's industrial oil and fat products. Part 2 Edible oil & fat products: Edible oils* (6th ed.). New York, USA: John Wiley & Sons, Inc. 2007.
20. Yoshida H, Hirakawa Y, Murakam CH, Mizushina Y, Yamade T. Variation in the content of tocopherols and distribution of fatty acids within soyabean seeds (*Glycine max* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 2003; 16:429–40.
21. Prado I, Giufrida W, Alvarez V, Cabral V, Quispe-Condori S, Saldaña M, et al. Phase equilibrium measurements of Sacha Inchi oil (*Plukenetia volubilis*) and CO₂ at high pressures. *J Am Oil Chem Soc*. 2011; 88:1263–9.
22. Maurer N E, Hatta-Sakoda B, Pascual-Chagman G, Rodriguez-Saona LE. Characterisation and authentication of a novel vegetable source of omega-3 fatty acids, Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *Food Chemistry*. 2012;134: 1173–80.
23. Sacks FM, Lichtenstein AH, Wu JHY, Appel LJ, Creager MA, Kris-Etherton PM, et al. Dietary Fats and Cardiovascular Disease: A Presidential Advisory from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;18;136(3):e1-e23.
24. Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias-INDECOPI. Norma Técnica Peruana NTP 151.400:2014: Sacha Inchi. Aceite. Requisitos. 2014-05-08. 2da Edición.
25. Ros E, López-Miranda J, Pico C, Rubio MA, Babio N, Sala-Vila A, et al. Consenso sobre las grasas y aceites en la alimentación de la población española adulta; postura de la Federación Española de Sociedades de Alimentación, Nutrición y Dietética (FESNAD). *Nutr Hosp*. 2015;32(2):435-77.
26. Zhao G, Etherton TD, Martin KR, et al. Dietary alpha-linolenic acid inhibits proinflammatory cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85(2):385-91
27. Hassan A, Ibrahim A, Mbodji K, Coëffier M, Ziegler F, Bounoure F, et al. An α -linolenic acid-rich formula reduces oxidative stress and inflammation by regulating NF- κ B in rats with TNBS-induced colitis. *J Nutr*. 2010;140(10):1714-21
28. Belitz, H. D., & Grosch, W. (1999). *Food Chemistry* (2nd ed.). Berlin, Germany: Springer-Verlag.
29. Ixtaina VY, Martínez ML, Spotorno V, Mateo CM, Maestri DM, Diehl VVK, et al. Characterisation of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011; 24(2),166–74.
30. Simopoulos AP. Evolutionary aspect of diet: the omega-6/omega-3 ratio and the brain. *Molecular Neurobiology*. 2011;44: 203–15.
31. García Montalvo IA. Los aceites vegetales como alternativa en la prevención de enfermedades cardiovasculares. *Medicina para y por Residentes*. 2017;6(1):22-3
32. Brenna JT, Salem N Jr, Sinclair AJ, Cunnane SC, ISSFAL. Alpha-Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2009;80:85–91.
33. Plourde M, Cunnane SC. Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2007; 32:619–34.
34. Liou YA, King DJ, Zirbik D, Innis SM. Decreasing linoleic acid with constant α -linolenic acid in dietary fats increase (n-3) eicosapentaenoic acid in plasma phospholipids in healthy men. *J Nutr*. 2007; 137:945-52.
35. Chiang YL, Haddad E, Rajaram S, Shavlik D, Sabaté J. The effect of dietary walnuts compared to fatty fish on eicosanoids, cytokines, soluble endothelial adhesion molecules and lymphocyte subsets: a randomized, controlled crossover trial. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2012; 87(4-5):111-7.
36. Gonzales GF, Gonzales C, Villegas L. Exposure of fatty acids after a single oral administration of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) and sunflower oil in human adult subjects. *Toxicol Mech Methods*. 2014;24(1):60-9
37. Follegatti-Romero LA, Piantino CR, Grimaldi R, Cabral FA. Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. *Journal of Supercritical Fluids*. 2009; 49:323–9.
38. Obranović M, Škevin D, Kraljić K, Pospišil M, Neđeral S, Blekić M, et al. Influence of Climate, Variety and Production Process on Tocopherols, Plastoquinone-8 and Pigments in Flaxseed Oil. *Food Technol Biotechnol*. 2015;53(4):496-504.
39. Villanueva E, Rodríguez G, Aguirre E, Castro V. Influencia de antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de chia (*Salvia hispanica* L.) por rancimat. *Scientia agropecuaria*. 2017;8(1):19-27.
40. Schmidt Š, Pokorný J. Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for lipids-A review. *Czech Journal of Food Science*. 2005; 23: 93–102.
41. Bondioli P, Della Bella L, Rettke P. Alpha linolenic acid rich oils. Composition of *Plukenetia volubilis* (Sacha inchi) oil from Perú. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*. 2006; 83:120–3.
42. Dabrowski G, Konopka I, Czaplicki S. Supercritical CO₂ extraction in chia oils production: impact of process duration and co-solvent addition. *Food Sci Biotechnol*. 2018;27(3):677-86

43. Han H, Yan P, Chen L, Luo C, Gao H, Deng Q, et al. Flaxseed Oil Containing α -Linolenic Acid Ester of Plant Sterol Improved Atherosclerosis in ApoE Deficient Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:958217.
44. Siger A, Nogala-Kalucka M, Lampart-Szczapa E. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*. 2008; 15:137-49
45. O'Brien RD, Jones LA, King CC, Wakelyn PJ, Wan PJ. (2007). Cottonseed oil. In F. Shahidi (Ed.). (6th ed.). Part 2 Edible Oil & Fat Products: Edible Oils New York, USA: John Wiley & Sons Inc.
46. Garcia-Pantaleon DM, Gonzalez J, Moreno-Alvarez MJ, Belen-Camacho DR, Medina-Martinez C, Linares O. Características físico-químicas del aceite del endospermo de la Palma Yagua (*Attalea cryptanther*). *Grasas y aceites*. 2006; 57(3): 308-12.
47. Codex Alimentarius Commission: Codex Stan, 1999. Codex Standard for Edible Fats and Oils Not Covered by Individual Standards. Codex Stan 19-1981, Rev 2-1999.
48. Rodríguez G, Villanueva E, Glorio P, Baquerizo M. Estabilidad oxidativa y estimación de la vida útil del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Scientia agropecuaria*. 2015;6(3):155-63.
49. Navas, H. 2010. Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla La Mancha, Facultad de Ciencias Químicas. España.
50. Gruszycki Kisiel MR, Tauguinas Pérez AL, Baez Carrizo M, Alba Díaz DA, Gruszycki Kisiel AE. Importancia de la farmacovigilancia en medicina herbaria. *Rev Cubana Plant Med [Internet]*. 2017 Mar [citado 2019 Ene 28]; 22(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962017000100003&lng=es
51. Torres A. Efecto del *Vasconcellea pubescens* "papaya de monte" sobre la calidad espermática de ratones macho tratados con ciclofosfamida y el efecto en el desarrollo de embriones preimplantacionales. [Tesis para optar el título profesional de Biólogo Genetista]. Lima: Facultad de Ciencias biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
52. Rezvanfar MA, Sadrkhanlou RA, Ahmadi A, Shojaei-Sadee H, Rezvanfar M.A., Mohammadirad A, et al. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. *Human & Exp. Toxicol*. 2008; 27: 901-10.
53. Ashby J. The unique role of rodents in the detection of possible human carcinogens and mutagens. *Mutat Res*. 1983;115(2):177-213
54. Erasmus U. *Fats that Heal, Fats that Kill*, Book Publishing Company; 2007