

ESTUDIO NUTRICIONAL DE *Plukenetia huayllabambana* sp. nov

Ana María Muñoz Jáuregui^{a*}, Carlos Alvarado-Ortiz Ureta^a, Benjamín Castañeda Castañeda^b, Frank Lizaraso Caparó^b, Edy Barnett Mendoza^c, Luis Cárdenas Lucero^c, Emma Manco Céspedes^d

RESUMEN

Se realizó el análisis de la composición nutricional de semillas de *Plukenetia huayllabambana* sp. nov, de dos accesiones de la Estación Experimental Agraria El Porvenir del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) ubicadas en el valle de Huallabamba, provincia de Rodríguez de Mendoza de la región Amazonas. Se realizaron contenido de humedad, cenizas, proteínas, lípidos, carbohidratos, fibra, ácidos grasos, magnesio, zinc, hierro, calcio según AOAC, y contenido de fitoesteroles según Fierro *et al.* Los resultados mostraron diferencia significativa en el contenido de grasa, proteínas y humedad. El mayor contenido de grasa fue 48,8% y humedad 7,84% en 02-A, mientras el mayor contenido de proteínas fue 21,13% en 01-A. Se encontró 44,06 mg/100 g de hierro, 38,78 mg/100 g de zinc y 149,53 mg/100 g de calcio en 01-A siendo las de mayor contenido y sus diferencias significativas ($p < 0,05$). Respecto al magnesio se encontraron 2492,00 mg/100 g en 02-A, mostrando diferencias significativas ($p < 0,05$). En aceite 28,47% de ácido linoleico y 9,8% de ácido oleico presentó 01-A, mientras 54% de ácido linolénico presentó 02-A, siendo de mayor contenido ($p < 0,05$). Asimismo, se encontró 208,48 mg/100 g de β -sitosterol en 01-A. Las semillas presentan alto contenido de proteínas, aceite y ácidos grasos poliinsaturados, de gran aporte nutricional.

Palabras clave: Aceite, ácidos grasos, micronutrientes, proteínas.

NUTRITIONAL STUDY OF *Plukenetia huayllabambana* sp. nov

ABSTRACT

Analysis was performed nutritional composition of seed of *Plukenetia huayllabambana* sp. nov., of two accessions from the Porvenir Agrarian Experimental Station of the National Institute of Agrarian Innovation (INIA) in the valley of Huallabamba, Rodríguez de Mendoza, province of Amazonas. There were moisture content, ash, protein, lipids, carbohydrates, fiber, fatty acids, magnesium, zinc, iron, calcium as AOAC, and content of phytoosterols as Fierro *et al.* The results showed significant differences in fat content, protein and moisture. The higher fat content was 48,8% and 7,84% moisture in 02-A, while the higher protein content was 21,13% in 01-A. Found 44,06 mg/100 g iron, 38,78 zinc and 149,53 mg/100 g calcium in 01-A be significant differences and higher content ($p < 0,05$). Regarding 2492,00 mg/100 g magnesium is found in 02-A showing significant differences ($p < 0,05$). In oil 28,47% linoleic acid and 9,8% oleic acid showed 01-A, while 54% of linolenic acid showed 02-A being more

^a Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición.

^b Centro de Medicina Tradicional Andina. Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana. Universidad de San Martín de Porres. Av. Alameda del Corregidor N° 1531. La Molina, Lima 12, Perú.

^c Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la USMP.

^d Instituto Nacional de Innovación Agraria. E-mail: amariamj@yahoo.es

content with significant differences ($p < 0,05$). Also found 208,48 mg/100 g of β -sitosterol in 01-A. The seeds have high protein and polyunsaturated fatty acid, great nutritional.

Key words: Oil, fatty acids, micronutrients proteins

INTRODUCCIÓN

La revista *Nordic Journal of Botany*, hace referencia y describe una nueva especie en el Perú que fue presentada y reportada a nivel mundial: *Plukenetia huayllabambana* sp. nov. Pertenece al género pan tropical de lianas y enredaderas. Muestra características similares a *P. stipellata* L. J. Gillespie y *P. volubilis* L.¹, presentando esta última especie en su composición numerosos nutrientes, principalmente proteínas, aminoácidos, vitamina E, fitoesteroles, ácidos grasos esenciales omega 3, 6 y 9, estas últimas en cantidades elevadas siendo de importancia nutricional y terapéutica su consumo para el control de radicales libres y una serie de enfermedades crónicas².

Las investigaciones de los beneficios saludables de *Plukenetia volubilis* L., realizadas por Gorriti *et al*, concluyeron que no existe toxicidad alguna en ratas a las que se les administró por 60 días el aceite (0,5 mL/kg) y los estudios bioquímicos mostraron que disminuyeron los niveles de colesterol, triglicéridos e incrementaron el colesterol HDL con respecto al grupo control³. Por otro lado, Huamán *et al*, investigaron los efectos del consumo de *Plukenetia volubilis* L o “sacha inchi”, donde concluyeron que reduce los niveles de triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL y aumenta los niveles de colesterol HDL en adultos jóvenes de 18 a 25 años⁴. Asimismo, Garmendia *et al*, determinaron que la ingesta del aceite produjo disminución en los valores promedio del CT, y AGNE con elevación del c-HDL en ambos grupos que consumieron 5 y 10 mL diarios de una suspensión conteniendo 2g/5mL de aceite de sacha inchi por cuatro meses en pacientes con hiperlipoproteinemia⁵.

Actualmente se comercializan como si fueran la misma especie, existiendo diferencias organolépticas y morfológicas entre ambas especies como se aprecia en las semillas de las figuras 1 y 2.

El presente estudio determinó el aporte nutricional que tiene *Plukenetia huayllabambana* sp. nov., realizando la composición proximal, contenido de minerales, ácidos grasos y fitoesteroles.



Figura1. Semilla de *Plukenetia huayllabambana* sp. nov.



Figura2. Semilla de *Plukenetia volubilis* L.

PARTE EXPERIMENTAL

En la colecta de la semilla se tuvo en consideración las características de producción reportadas sobre su adaptación a pisos agroecológicos de 1 300 – 2 200 m.s.n.m. Se realizó el muestreo en dos accesiones de la Estación Experimental Agraria “El Porvenir” del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), en la provincia de Rodríguez de Mendoza de la región Amazonas, específicamente en el valle de Huayllabamba. La colecta se llevó a cabo en 2 campos de cultivo con pendientes mayores al 15%, según se describe en la tabla 1, procediéndose luego a su acondicionamiento para su traslado a Lima.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico *Statgraphics Centurion*[®], aplicando un análisis de varianza (ANOVA); y en los casos donde existió diferencias significativas (con un nivel de significancia del 95%) para cada una las muestras evaluadas en cada análisis, se procedió a realizar un test de comparación múltiple aplicando la prueba de Duncan ($p < 0,05$)⁶.

Tabla 1. Zonas de colección de semillas de *Plukenetia huayllabambana* sp. nov.

Colecta	01-A
Accesión	Huayllabamba
Lugar	Rodríguez de Mendoza
Provincia	Rodríguez de Mendoza
Departamento	Amazonas
Donante	Sr. Alfonso Saldaña Peláez
Fundo	El Mirador cerca al Cielo
Fecha de cosecha	30/04/11 y 05/05/11
Estado de plantación	Un año y medio
Tipo de tutor	Vivo
Datos GPS	18 225578 9293058 1708
Cantidad adquirida	25 kg
Colecta	02-A
Accesión	Huayllabamba
Lugar	Sector Omia - Rodríguez de Mendoza
Provincia	Rodríguez de Mendoza
Departamento	Amazonas
Donante	Sr. Maurilio Loja Pizarro
Fundo	Limón Loma
Fecha de cosecha	29/04/2011
Estado de plantación	Dos años
Tipo de tutor	Espalderas con alambre
Datos GPS	18 234294 9285958 1460
Cantidad adquirida	25 kg

Preparación de la muestra

La extracción del aceite de las semillas se llevó a cabo por el prensado en frío. Las presiones a las que se sometió la extracción fueron de 300 a 700 psi, por espacio de 5 minutos, a temperatura ambiente. Las extracciones se llevaron a cabo con muestras de 90 g. Las muestras fueron colocadas en cilindro extractor de acero inoxidable, sometándose lentamente hasta llegar a las presiones establecidas, manteniendo la palanca de activación a presión constante por espacio de 5 minutos. Después de la extracción de las almendras prensadas fueron deshidratadas a temperaturas de 45 °C por dos horas. Posteriormente las semillas fueron pulverizadas por un **maxi chopper** (picadora); el pulverizado de la torta obtenida fue pasado por un tamiz de 600 µm.

Determinación de humedad

Se determinó exactamente en una masa de 5 g de la muestra, con aproximación de 0,1 mg, en placa petri previamente secada y tarada, se llevó a la estufa a 105 °C, hasta peso constante, según el método de la AOAC N° 935.29 o mét. 27.3.06 - 16th Ed⁷.

Determinación de proteínas

Se determinaron a través del método macro Kjeldahl, con sulfato de sodio, sulfato de cobre pentahidratado y selenio en relación 10:1:0,1, como mezcla catalizadora para la digestión, usando el Método AOAC 991.200 mét. 33.2.11 -16thEd⁷.

Determinación de grasa cruda

Se efectuó siguiendo el método del Soxhlet, con éter de petróleo como solvente extractor, siguiendo el Método AOAC 920.39⁷. Se pesó 10,000g ± 0,001 de muestra molida y seca y se colocó en el cartucho de extracción en el sifón. Se calentó a través de manta calefactora durante 4 h., luego retiró y se evaporó gran parte del disolvente. Se dejó enfriar en el desecador y, una vez alcanzada la temperatura ambiente se determinó el peso.

Determinación de fibra cruda

Se determinó la fibra cruda según AOAC 962.09/90⁷. Se extrajo la grasa de la muestra con éter de petróleo hasta que el solvente quede incoloro. Luego se secó la muestra, la que fue transferida a un vaso de 600 mL. Se añadieron 200 mL de solución de ácido sulfúrico caliente y se hirvió durante treinta minutos. Fue filtrado en caliente, utilizando el papel filtro y lavado el residuo con agua caliente destilada, hasta neutralidad del líquido lavado. Luego se transfirió el residuo a otro vaso de 600 mL y se añadió 200 mL de la solución de hidróxido de sodio al 1,25%. Se hirvió durante treinta minutos, se filtró en caliente y luego lavado hasta pH neutro. Inmediatamente fue lavado con por lo menos dos porciones de 100 mL de alcohol etílico de 96% y secado en estufa a 130 °C. Se dejó enfriar en desecador y se midió la masa constante.

Determinación de ceniza

Se ejecutó según AOAC N° 968.08-16th Ed⁷. Se calcinó en crisoles a 600 °C, durante 15 minutos, se enfrió en un desecador y se determinó la masa. Una masa de 1 g de la muestra molida, seca y libre de grasa, fue calcinado en una mufla a una temperatura 550 °C, hasta obtener cenizas blancas, libres de carbono, por 2 horas, aproximadamente, hasta masa constante. Se enfrió en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesó. La diferencia de masa obtenida indicó el contenido de ceniza de la muestra.

Determinación de minerales

La suspensión de las cenizas para la determinación de minerales se hizo con ácido nítrico 6N y 3N. Se transfirió a matraces volumétricos de 100 mL, llevados a volumen con agua

bidestilada. Se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica Carl Zeiss con lámparas de cátodo hueco de cobre, zinc, calcio y hierro, según el método AOAC 965.09⁷.

Determinación de ácidos grasos

Los ácidos grasos del aceite han sido analizados por cromatografía de gases (GC) utilizando como referencia el método propuesto por la AOAC⁷ para la preparación e identificación de ésteres metílicos (FAMES) de ácidos grasos. Se pesó 25 mg de aceite en un tubo de base plana con tapa rosca. Inmediatamente se adicionó 5 mL de NaOH 0,5 N en metanol grado GC con adición constante de N₂, la mezcla fue puesta a 100 °C por 5 min. Luego se colocó en frío y se adicionó 2 mL de trifluoruro de boro (BF₃) en metanol, en presencia de N₂. La mezcla fue llevada a 100 °C por 30 min. Luego se disminuyó la temperatura entre 30 a 40 °C y se añadió 1 mL de isooctano en presencia de N₂, vorteamos vigorosamente por 30 segundos. Después de añadir 5 mL de NaCl saturado, en presencia de N₂, fue agitado vigorosamente y se dejó en reposo para separar las fases, seguidamente fue transferido el sobrenadante a un tubo cónico en presencia de N₂, repitiendo tres veces la extracción. Los sobrenadantes fueron juntados y evaporados hasta aproximadamente 1 mL, se filtró y colocó en viales del automuestreador.

Para la cuantificación de los ácidos grasos se utilizó un equipo de cromatografía de gases Agilent modelo AT-6850. Equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar de Supelco SPTM-2380 de sílice fundida de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno un espesor de fase de 0,2 µm, con inyector programable split-splitless (PSSI).

Las condiciones del análisis fueron a una temperatura de inyección 250 °C, temperatura del detector 275 °C. La programación del horno: temperatura de inicio 50 °C, rampa 4 °C/min hasta 250 °C, manteniéndose por 15 minutos. Se utilizó gas de arrastre helio de 99,99 % de pureza, a una velocidad 1 mL/min, con un sistema de inyección modo Split, a una proporción 1:20.

Determinación del contenido de esteroides

Se realizó por cromatografía de alta performance HPLC según Fierro *et al.*⁸. El tratamiento de muestra se ejecutó según Consejo Oleico Internacional. COI/T.20/Doc. N°30. Se pesó 5 g de muestra seca, luego se añadió 50 mL de solución etanólica de hidróxido potásico 2 N y algo de piedra pómez, se llevó a reflujo a ebullición suave hasta que tenga lugar la saponificación. Luego de 30 min de ebullición se adicionó 50 mL de agua destilada. Se añadió aproximadamente 80 mL de éter etílico en una pera de decantación, realizando tres extracciones. Se combinó las tres extracciones de éter en una pera de decantación que contenga 50 mL de agua. Se procedió a lavar con agua hasta pH neutro, luego se filtró con sulfato sódico anhidro. Inmediatamente se concentró en rotavapor a 30 °C al vacío. De allí fue reconstituido en 2 mL de metanol HPLC y filtrado usando Acrodisc[®] de jeringa y colocado en viales de cromatografía para su análisis por HPLC en el equipo HPLC Merck-Hitachi Lachrom 7000, usando columna RP Symmetry C18, tamaño de partícula 5,0 µm; de longitud 4,6 mm x 250 mm, usando una fase móvil ACN:METH (65:35) con flujo 1,2 mL/min y longitud de onda de 215 nm en sistema isocrático.

RESULTADOS Y DISCUSION

Composición de macronutrientes en semillas de los ecotipos de *Plukenetia huallabambana* sp. nov.

Los métodos de secado son los más comunes para valorar el contenido de humedad en los alimentos; aunque estos métodos dan buenos resultados que pueden interpretarse sobre bases

de comparación, es preciso tener presente que a) algunas veces es difícil eliminar por secado toda la humedad presente; b) a cierta temperatura el alimento es susceptible de descomponerse, con lo que se volatilizan otras sustancias además de agua (Kirk *et al.*, 1996)⁹. Con respecto a los resultados, las semillas en la tabla 2 presentan mayor humedad en 02-A (7,84%) superior a los valores obtenidos en *P. volubilis* L (3,3%)¹⁰.

Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes. Las cenizas de los alimentos deberán estar comprendidas entre ciertos valores, lo cual facilitará en parte su identificación (Kirk *et al.*, 1996)⁹. En cuanto a cenizas 01-A (2,36%), presenta mayor contenido pero inferior a los reportados en *P. volubilis* L (4%).

En grasas se halló hasta 48,84% en la 02-A, superior al contenido a *P. volubilis* L (42%)¹⁰. En cuanto a proteínas se halló 21,13% en 01-A mientras Sathe *et al.*, en *P. volubilis* L encontraron 25% en semilla desengrasada¹¹.

Tabla 2. Contenido de macronutrientes en semillas de *Plukenetia huallabambana* sp. nov.

Análisis		01-A%	02-A%
grasa	prom	45,87	48,84
	d.s.	0,10	0,84
	c.v.	0,22	1,72
	Duncan	a	b
proteínas	prom	21,13	20,33
	d.s.	0,05	0,02
	c.v.	0,23	0,10
	Duncan	b	a
humedad	prom	4,82	7,84
	d.s.	0,09	0,10
	c.v.	1,91	1,26
	Duncan	a	b
cenizas	prom	2,36	2,30
	d.s.	0,05	0,01
	c.v.	2,10	0,61
	Duncan	a	a
fibra	prom	2,62	2,63
	d.s.	0,05	0,04
	c.v.	2,10	1,43
	Duncan	a	a
ELN carbohidratos	prom	25,84	20,7

Valores promedio obtenido por análisis triplicado. Test de comparación múltiple, aplicando la prueba de Duncan ($p < 0,05$). Letras diferentes indican que son muestras estadísticamente diferentes.

Contenido de hierro, calcio, zinc y magnesio

Los minerales que se encuentran en los alimentos en algunos casos estos elementos son naturales en los alimentos mientras que en otros casos son producto de la contaminación. En la semilla de *P. volubilis* L se halló 32,1 mg/100 de magnesio, 240,6 mg/100 de calcio, 10,3 mg/100 de hierro y 4,9 mg/100 de zinc¹⁰. Según la tabla 3 se debe destacar el gran aporte de *P. huayllabambana* sp. nov. en hierro (44,06 mg/100 g), zinc (38,78 mg/100 g) en 01-A y magnesio (2492mg/100 g) en 02-A.

Tabla 3. Contenido de fierro, zinc, calcio y magnesio en semillas de *Plukenetia huallabambana* sp. nov.

Análisis de minerales		01-A mg/100g	02-A mg/100g
Hierro	prom	44,06	39,55
	d.s.	0,01	0,21
	c.v.	0,03	0,52
	Duncan	a	b
Zinc	prom	38,78	33,74
	d.s.	0,25	0,06
	c.v.	0,64	0,17
	Duncan	b	a
Calcio	prom	149,53	116,48
	d.s.	3,27	0,14
	c.v.	2,18	0,12
	Duncan	a	b
Magnesio	prom	2446,09	2492,00
	d.s.	6,42	5,66
	c.v.	2,63	0,23
	Duncan	a	a

Valores promedio obtenido por análisis triplicado. Test de comparación múltiple, aplicando la prueba de Duncan ($p < 0,05$). Letras diferentes indican que son muestras estadísticamente diferentes.

Contenido de ácidos grasos

En la tabla 4, existe diferencia significativa en el contenido de los ácidos palmítico, oleico(9,8%) y linoleico (28,47%) entre las dos accesiones estudiadas, encontrándose mayor contenido en el 01-A, siendo el ácido graso más abundante el linolénico (54%) presente en mayor concentración en el 02-A.

Según la Norma Técnica Peruana (NTP 151.400:2009) para el aceite extraído de la semilla de sachá inchi del género *Plukenetia*, el perfil de ácidos grasos del aceite de *Plukenetia volubilis* L., debe contener 8,9% de ácido graso oleico, 32,1% de ácido graso linoleico y 44,7% de ácido graso linolénico¹².

Tabla 4. Contenido de ácidos grasos en el aceite de la semilla de *Plukenetia huallabambana* sp. nov.

Perfil de ácidos grasos		01-A				02-A			
		prom	d.s.	c.v.	Duncan*	prom	d.s.	c.v.	Duncan*
Palmítico	C16:0	5,36	0,007	0,13	b	5,16	0,007	0,14	a
Palmitoleico	C16:1	0,05	0,000	0,00	a	0,05	0,000	0,00	a
Heptadecanoico	C17:0	0,07	0,000	0,00	a	0,07	0,000	0,00	a
Esteárico	C18:0	2,41	0,007	0,29	b	2,17	0,000	0,00	a
Oleico	C18:1	9,80	0,000	0,00	b	9,33	0,007	0,08	a
Linoleico	C18:2	28,47	0,014	0,05	b	28,09	0,007	0,03	a
Linolénico	C18:3	52,67	0,042	0,08	a	54,00	0,000	0,00	b
Araquídico	C20:0	0,10	0,000	0,00	b	0,09	0,000	0,00	a
Eicosenoico	C20:1	0,27	0,000	0,00	a	0,27	0,000	0,00	a
AG saturado		7,93	0,014	0,18	b	7,49	0,007	0,09	a
Monoinsaturado		10,12	0,000	0,00	b	9,65	0,007	0,07	a
Poliinsaturado		81,14	0,057	0,07	a	82,09	0,007	0,01	b
No identificados		0,81	0,042	5,24	a	0,79	0,007	0,90	a

*Test de comparación múltiple, aplicando la prueba de Duncan ($p < 0,05$). Letras iguales indican que son muestras estadísticamente similares, mientras que letras diferentes indican que son muestras estadísticamente diferentes.

Contenido de fitosteroles

En la tabla 5, existen diferencias significativas en el contenido de estigmasterol y $\hat{\alpha}$ -sitosterol, destacando el contenido de $\hat{\alpha}$ -sitosterol (237,49 mg/100 g) en el 02-A.

El aceite de sacha inchi contiene 247,2 mg/100 g de esteroides vegetales, siendo los componentes mayoritarios: sitosterol, estigmasterol y el campesterol¹³ (figura 3).

Tabla 5. Contenido de stigmasterol y $\hat{\alpha}$ -sitosterol de las muestras de *Plukenetia huallabambana* sp nov.

Muestra	stigmasterol (mg/100 g)			β -sitosterol (mg/100 g)		
	prom	d.s.	Duncan	prom	d.s.	Duncan
01-A	188,40	4,97	a	208,48	0,21	c
02-A	205,40	3,59	b	237,49	0,11	d

*Test de comparación múltiple, aplicando la prueba de Duncan ($p < 0,05$). Letras iguales indican que son muestras estadísticamente similares, mientras que letras diferentes indican que son muestras estadísticamente diferentes.

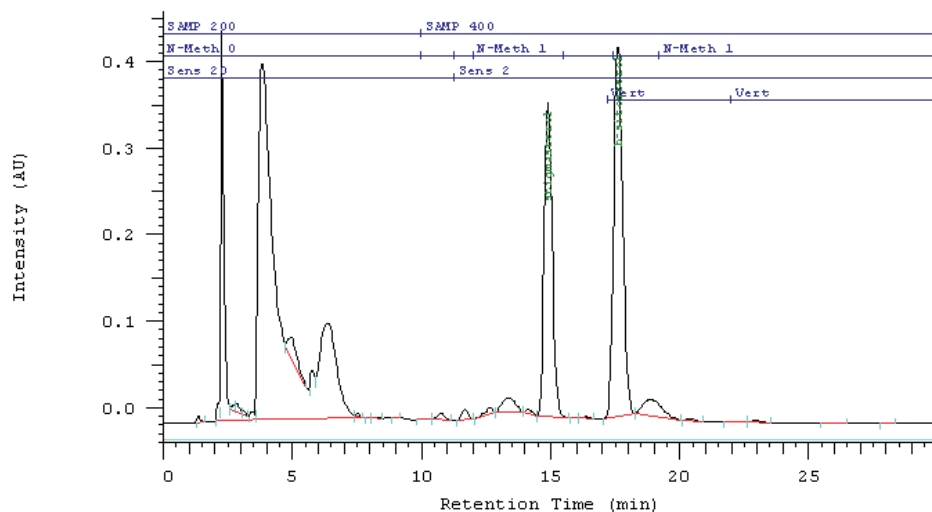


Figura 3. Cromatograma del contenido de stigmasterol y β -sitosterol en semilla de *Plukenetia huayllabambana* sp. nov.

CONCLUSIONES

Plukenetia huayllabambana sp. nov. presenta alto contenido de aceite superior a *Plukenetia volubilis* L, con elevadas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, constituidos principalmente por ácidos linolénico y linoleico considerados como ácidos grasos esenciales, y en menor contenido ácido oleico, siendo el ácido linolénico de mayor contenido en el aceite de *P. huayllabambana* sp. nov. que en el aceite de *P. volubilis* L.

Las semillas de *P. huayllabambana* sp. nov. presentan un gran aporte de minerales como hierro, calcio, zinc y magnesio. Además, contiene un alto contenido proteico y de fitoesteroles, sobre todo de β -sitosterol. Es una especie con gran aporte nutricional para la alimentación mundial.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Universidad San Martín de Porres y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONCYTEC por el apoyo económico recibido en la ejecución de la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bussmann, R., Tellez, C., Glenn A. *Plukenetia huayllabambana* sp. nov. (Euphorbiaceae) from the upper Amazon of Perú, *Nordic Journal of Botany*, 2009; 27(4):313-315.
2. Muñoz A., Ramos F., Ortiz-Ureta C., et al. Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semilla de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2010; 76(3):234-241.

3. Gorriti a., Arroyo J., Quispe F., *et al.* Toxicidad oral a 60 días del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza (*Linum usitatissimum* L.) *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.* 2010; 27(3): 352-60.
4. Huamán J., Chávez K., Castañeda E., *et al.* Efecto de la *Plukenetia volubilis* Linneo (sachá inchi) en la trigliceridemia posprandial *An. Fac. med.*, 2008; 69(4): 263-266.
5. Garmendia F., Pando R., Ronceros G. Efecto del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteinemia, *Rev. peru. med. exp. salud pública*, 2011; 28(4): 628-632.
6. Vargas A. Estadística descriptiva e inferencial. Univ de Castilla La Mancha, España, 1995.
7. Association of Official Agricultural Chemists AOAC 16th Ed. Washington, 1995.
8. Fierro A., Vásquez Y., Reyes-Parada M., Sepúlveda-Boza S. Determinación cuantitativa del β -sitosterol presente en vegetales de la dieta. Posibles implicancias para su uso preventivo en poblaciones susceptibles, *Clínica y Ciencia*, 2004; 2(2):43-48.
9. Kirk R. S., Sawyer R., Egan H. Composición y análisis de alimentos de Pearson, segunda edición; Compañía editorial continental SA de CV, México, 1996.
10. Gutiérrez L., Rosada L., Jiménez A. Chemical composition of sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction, *Rev. Grasas y aceites*, 2011;62(1):76-83.
11. Sathe S., Hamaker B., Sze-Tao K., Venkatachalam M. Isolation, purification, and biochemical characterization of a novel water soluble protein from Inca Peanut (*Plukenetia volubilis* L.). *J. Agric Food Chem.* 2002; 50(17): 4906-4908
12. Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias-INDECOPI. Norma Técnica Peruana NTP 151.400:2009: Aceite de Sachá Inchi del género *Plukenetia*.- Requisitos. 2009.
13. Bondioli P., Della Bella L., Rettke P. Alpha linolénic acid rich oils. Composition of *Plukenetia volubilis* L (Sachá Inchi) oil from Perú. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse.* 2006; 83(3):120-123