

ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LA ESPECIE *Plukenetia volubilis*, Linneo

Migdalia Miranda Martínez^{1,3}, Patricia Manzano Santana² y García Simón Gastón¹

¹Universidad de La Habana Cuba. Instituto de Farmacia y Alimentos. . Calle 222, # 2317, entre 23 y 27. La Coronela, La Lisa. Ciudad de La Habana CUBA. CP 13600. Contacto: gastong@infomed.sld.cu

²Centro de Investigaciones Biotecnológicas de la Escuela Superior Politécnica del Litoral. (CIBE ESPOL). Km. 30.5 Vía Perimetral, Campus Proserpina, Apartado: 09-01-5863. Fax: (593-4) 2 854629. Guayaquil – Ecuador. Contacto: pmanzano@espol.edu.ec

³Asesor Prometeo SENESCYT. Contacto: migdaliimiranda@hotmail.com

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó el estudio de algunos parámetros físico-químicos y químicos de las semillas de *Plukenetia volubilis* L. (*Sacha inchi* o *maní del inca*), que incluyó el estudio como droga cruda, la extracción y análisis por cromatografía gaseosa-espectrometría de masas del aceite fijo, así como la evaluación de su poder antioxidante. Se comprobó que las características físico-químicas de la droga cruda (humedad residual $11,87 \pm 0,02\%$, cenizas totales de $5,26 \pm 0,02\%$, cenizas insolubles en ácido clorhídrico $0,85 \pm 0,03\%$) se encontraban dentro del rango informado por la OMS para drogas vegetales. El rendimiento de aceite de las semillas fue del 32% y en su composición pudo corroborarse la presencia de: ácido dodecanoico; ácido tetradecanoico; octadeceno; ácido hexadecanoico; eicosano; ácido heptadecanoico; ácido 9,12 octadecadienoico; ácido 9,12,15 octadecatrienoico; ácido 16-metil heptadecanoico; tricosano; tetracosano; pentacosano; hexacosano; heptacosano; octacosano; nonacosano. En la evaluación antioxidante de las semillas, realizada por la técnica de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), se pudo apreciar que la especie mostró valores de potencial de reducciones superiores a los de la Vitamina C reconocido compuesto con capacidad reductora y considerado un potente agente antioxidante.

Palabras claves: sachá inchi, parámetros físico-químicos, composición química, actividad antioxidante.

Introducción

La familia Euphorbiaceae es una familia botánica, formada por más de 300 géneros y 7.500 especies. Dentro de esta familia se encuentran hierbas, arbustos, lianas y grandes árboles. La mayoría de ellas tiene abundante latex, en algunos casos venenoso. Es una de las familias de plantas más diversificadas del mundo,

comprende plantas anuales de importancia ornamental, medicinal, alimentaria e industrial (Soukup, 1970).

El género *Plukenetia* ha sido informado en diversas partes del mundo: en Malasia, Nueva Guinea y México (Biblioteca Conmemorativa Orton, 1987). En América Tropical el número de especies reportadas varía de siete a 12 (Stanley y

Steyemark, 1949). En América del Sur la presencia de *Plukenetia* ha sido registrada en la Amazonía, Bolivia y en la Amazonía peruana (Macbride, 1951; Arévalo, 1990-1995).

Plukenetia volubilis L. “Sacha inchi” o “maní del inka”, es un arbusto trepador o rastrojero comúnmente se le encuentra en bordes de bosques secundarios (purmas), en cañaverales, sobre cercos vivos y como maleza en platanales y cultivos permanentes (Brack, 1999; Brack y Bravo, 2005), es una planta oleaginosa silvestre que crece desde los 100 hasta 1500 msnm principalmente en la ceja de selva de la Amazonía peruana, conocida por los nativos desde hace miles de años y utilizada por las culturas preincas e incas como lo testimonian cerámicas encontradas en tumbas (Huacos Mochica - Chimú) (Valles, 1990; Pariona Mendoza, 2008).

La almendra de la planta es utilizada por los pobladores de las áreas rurales de San Martín, Perú, en su alimentación, ya sea cocida o tostada en la preparación de diversos platos, los pobladores nativos de la Amazonía ingieren las hojas crudas o cocidas, así como sus semillas las que consideran muy nutritivas (Soukup, 1970; Brack, 1999; Brack y Bravo, 2005).

En algunos pueblos indígenas de la Amazonía peruana, mezclan el aceite de la especie con harina de esta misma almendra y preparan una crema especial para revitalizar y rejuvenecer la piel (Enrique y Yesid, 1989).

En 1992, en un análisis realizado por el Instituto de Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Cornell en USA encontraron que la especie presentaba un elevado nivel de aceite (49%) y un

contenido relativamente alto de proteínas (33%) (Hamaker *et al.*, 1992).

Las semillas de Sacha inchi son de gran interés debido a su alto contenido en aceite (35-60%), que contiene niveles elevados de ácidos linolénico y linoleico (Guillén *et al.*, 2003; Bondioli y Della Bella, 2006; Castaño *et al.*, 2012) y por lo tanto tiene un gran potencial para aplicaciones en las industrias alimentaria y farmacéutica. Los ácidos linolénico (ω -3) y linoleico (ω -6) alcanzan cerca del 45% y 35% de los ácidos grasos totales respectivamente, mientras que otros ácidos grasos como oleico, palmítico y esteárico, también están presentes en proporciones menores (Hamaker *et al.*, 1992; Guillén *et al.*, 2003; Bondioli y Della Bella, 2006; Castaño *et al.*, 2012); por lo tanto se considera similar al de la linaza. El contenido de proteína de Sacha inchi (~ 27%) es similar a la presente en otras semillas oleaginosas tales como soja, algodón y girasol. El perfil de aminoácidos incluye fenilalanina + tirosina (79 mg / g), leucina (64 mg / g), tirosina (55 mg / g), isoleucina (50 mg / g), lisina (43 mg / g), treonina (43 mg / g) y valina (40 mg / g), y es comparable y en algunos aspectos mejor que la de otras semillas oleaginosas (Hamaker *et al.*, 1992; Gutiérrez *et al.*, 2011).

El aceite de sachá inchi, se considera similar al de la semilla de lino, por su composición en ácidos linolénico y linoleico, los cuales son importantes en la prevención de la enfermedad cardíaca coronaria y la hipertensión y muestra un efecto hipocolesterolémico cuando se usa como suplemento alimenticio (Follegatti-Romero *et al.*, 2009; Huaman *et al.*, 2008).

También para la especie, se ha informado actividad antioxidante en modelos “in

vitro” (Castaño *et al.*, 2012; Muñoz-Jauregui *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta estos antecedentes, es que en este trabajo se trazó como objetivo el estudio de un polvo de las semillas de “Sacha inchi”, que se comercializa en forma de cápsulas, como fitomedicamento en Ecuador.

Materiales y métodos

El material vegetal estuvo constituido por el polvo de seco de las semillas, suministrado por un laboratorio farmacéutico. Los métodos de trabajo utilizados siguieron lo descrito por Miranda - Cuellar (2001), que establece las técnicas operatorias para los métodos de ensayo de las drogas crudas de origen vegetal, así como los Métodos de Control de calidad establecidos por la WHO (1998), determinándose los siguientes parámetros:

Características organolépticas, Humedad residual, Cenizas totales y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10%.

Se realizó una extracción con éter de petróleo 60-80°C, partiendo de 20g del polvo de las semillas y 120mL de disolvente, dejando en maceración durante 1 semana, agitando diariamente durante 20 minutos en una zaranda modelo BIOZARD- 2013.

Una vez transcurrido el tiempo de extracción, se filtró y el extracto fue evaporado en un evaporador rotatorio marca Heidolph modelo Laborota 4001 a presión reducida y a 50° C, calculándose el rendimiento de aceite.

Al aceite obtenido se le determinaron los parámetros físicos químicos: índice de refracción, densidad, pH e índice de rancidez (Miranda-Cuéllar, 2001) y según lo indicado por los métodos oficiales de la AOAC; y se llevó a cabo su

saponificación añadiéndole tres veces volumen en volumen de NaOH 1 N y refluendo durante 2 horas. Después de enfriar, se diluye con agua y se separa la fracción de compuestos insaponificables, extrayendo tres veces con 25 mL de éter dietílico.

El extracto acuoso se acidula hasta pH 3 con ácido clorhídrico concentrado y se extrae tres veces con 25 mL de éter dietílico. Las fracciones etéreas reunidas se lavan con agua destilada hasta pH 7, se seca con sulfato de sodio anhidro y se rotula como fracción de compuestos saponificables.

Previo al análisis por el sistema acoplado cromatografía gaseosa-espectrometría de masas (CG-EM), la fracción saponificable fue metilada. Para 20 µL de fracción se utilizaron 50 µL de yoduro de metilo, 100 µL de acetona y 50 mg de carbonato de potasio, incubándose a 60° C por tres horas.

Para el análisis por el sistema CG-EM, se emplearon las siguientes condiciones de análisis: Cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6890 acoplado a un espectrómetro de masas 5973. Columna: HP-5MS 15m x 0,25mm x 0,25µm; volumen de inyección: 1µL, modo “split”; temperatura del inyector: 280° C; gas portador y flujo: helio a un flujo de 1mL/min.; rampa de temperatura: temperatura inicial 60° C por 2min, con programación de 4° C/min hasta 100° C y de 100°C a 290°C, 10° C/min, temperatura final 290° C 5 min; el espectrómetro de masas fue operado a 70eV con un rango de masas de 45-700 uma; temperatura de la fuente: 230° C.

La evaluación antioxidante del producto (semillas pulverizadas), se realizó por la técnica de FRAP (Ferric Reducing

Antioxidant Power), que permite medir el poder antioxidante total evaluando la capacidad reductora de hierro férrico en extractos naturales, mezclas de los mismos, extractos biológicos e incluso compuestos químicos aislados. Consiste en medir la capacidad de la muestra para reducir el hierro férrico a ferroso. A un pH bajo se coloca en el medio de reacción el complejo Fe^{3+} -TPTZ, este complejo en presencia de agentes reductores se reduce a Fe^{2+} -TPTZ que desarrolla un color azul intenso con un máximo de absorción a 593 nm. Las condiciones del ensayo favorecen la reducción del complejo y están ajustadas para que la formación de color solo ocurra por efecto de la muestra que se añade y no

por causas artefactuales. Los estudios se realizan estableciendo comparaciones con grupos controles, blancos o patrones, según lo establezca el protocolo de estudio en cuestión. En este caso particular al ser la muestra estudiada una muestra coloreada se preparó adicionalmente a lo referido un blanco color que permitiera descartar las interferencias introducidas por esta situación.

Resultados y discusión

El estudio se comenzó con el establecimiento de los parámetros de calidad del polvo de las semillas, los resultados se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Algunos parámetros de calidad del polvo de las semillas de Sacha inchi.

PARAMETROS	RESULTADOS
Descripción	Polvo color crema de olor característico
Humedad residual (%)	11,87 ± 0,02
Cenizas totales (%)	5,26 ± 0,02
Cenizas insolubles en hcl 10%	0,85 ± 0,03

El estudio se continuó con la extracción del aceite el cual presentó un rendimiento de 32,8% y los parámetros físico-

químicos de calidad, determinados se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de calidad del aceite de sachá inchi

PARAMETROS	RESULTADO
Densidad g/mL	0.9073
pH	6,98
Índice de refracción	1.476
Índice de rancidez	Negativo

En la figura 1, se presenta el cromatograma gaseosos analítico obtenido para la fracción de compuestos saponificables y en la tabla 3, se relacionan los compuestos que pudieron

identificarse por el sistema acoplado CG-EM, incluyendo en ésta los tiempos de retención y la abundancia relativa de cada compuesto identificado.

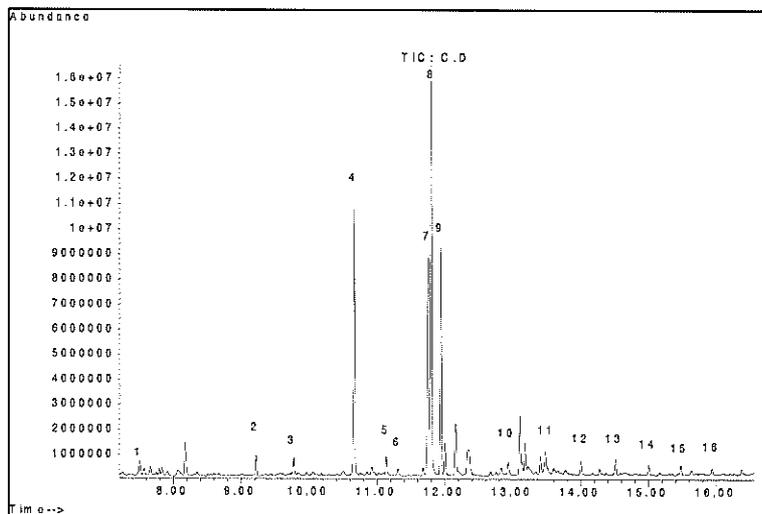


Figura 1. Cromatograma gaseoso (TIC) de la fracción de compuestos saponificables del aceite de Sacha inchi

Tabla 3. Compuestos identificados en la fracción de compuestos saponificables del aceite de Sacha inchi

No	Compuestos	Tiempos de retención (minutos)	Abundancia relativa (%)
1	Ácido dodecanoico	7.50	1,03
2	Ácido tetradecanoico	9.21	1,51
3	octadeceno	9.77	1,31
4	Ácido hexadecanoico	10.66	19,31
5	Eicosano	11.13	1,30
6	Ácido heptadecanoico	11.30	0,67
7	Ácido 9,12 octadecadienoico	11.75	18,57
8	Ácido 9,12,15 octadecatrienoico	11.79	32,17
9	Ácido 16-metil heptadecanoico	11.94	16,00
10	tricosano	12.92	1,25
11	tetracosano	13.47	1,94
12	pentacosano	14.00	1,02
13	hexacosano	14.51	1,44
14	heptacosano	15.00	0,94
15	octacosano	15.47	0,87
16	nonacosano	15.93	0,67

Leyenda: Los ácidos grasos fueron identificados en la forma de sus ésteres metílicos

Los resultados de la actividad antioxidante se presentan en la tabla 4, en la misma se representan los valores

medios ± la desviación estándar de al menos 5 réplicas.

Tabla 4. Capacidad reductora de hierro férrico de las cápsulas de las semillas de Sacha inchi.

PARÁMETRO	SACHA INCHI	VITAMINA C
Potencial de Reducción (µM)	480.72 ± 37.04. ^(a)	415.23 ± 15.5 ^(b)

Leyenda: letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05)

Para la humedad residual 11,87%, las cenizas totales 5,26% y las cenizas insolubles en ácido 0,85%, los valores obtenidos se encuentran dentro de los informados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 1998, para drogas vegetales, permitiendo una adecuada conservación de la droga vegetal.

El rendimiento de aceite vegetal se encuentra dentro de los rangos informados en la literatura y en su composición se destaca la presencia de los ácidos linolénico (ácido 9, 12,15 octadecatrienoico) y linoleico (ácido 9,12 octadecadienoico), como componentes mayoritarios, también cabe señalar la presencia del ácido palmítico (ácido hexadecanoico) y del ácido 16-metil heptadecanoico, abundantes en el aceite; así como de hidrocarburos lineales de alta masa molecular en su composición.

En cuanto a la capacidad antioxidante de la semilla, pudo apreciarse que el producto mostró valores de potencial de reducciones superiores a los de la Vitamina C reconocido compuesto con capacidad reductora y considerado un potente agente antioxidante, se aprecian diferencias significativas entre las semillas de Sacha inchi y la vitamina C, por lo que se puede destacar que el producto presenta actividad antioxidante en el modelo ensayado. Estos resultados concuerdan con lo informado en la literatura, aunque en otros modelos experimentales.

Según Castaño *et al.* (2007), algunos ácidos grasos poseen actividad antioxidante, además de propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas, también para el aceite se han ensayado propiedades anticolesterolémicas en ensayos clínicos (Huamán *et al.*, 2012).

Los resultados obtenidos, confirman los usos que se le da a la planta como alimento y como medicinal.

Referencias

Arévalo, G. 1990-1995. Colección, caracterización y mantenimiento de germoplasma de oleaginosas nativas. In Tarapoto, Perú. INIA, Estación Experimental El Porvenir. Informe Anual Tarapoto s.p.

Biblioteca conmemorativa Orton. 1987. Bibliografía corta sobre *Plukenetia*. Euphorbiaceae. Comunicación DC/SIT-55 del 27 de Enero, N° 3242.

Bondioli P. y L. Della Bella. 2006. Alpha linolenic acid rich oils. Composition of *Plukenetia volubilis* (Sacha inchi) oil from Peru. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse. 83:120-123.

Brack, A. y F. Bravo. 2005. Perú: Legado milenario - Millenary Legacy. Lima. Publicado por Universidad de San Martín de Porres, Escuela Profesional de Turismo y Hotelería, p.16812.

Brack, A. 1999. *Plukenetia volubilis* L. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. PNUD. Cuzco - Perú. p. 55013.

Castaño D., P. Valencia, E. Murillo y J. Jordi. 2007. Ácidos grasos sustituidos en especies vegetales tropicales y su relación con la actividad antioxidante. Scientia et Technica Año XIII; 33. UTP. ISSN 0122-1701.

Castaño D.L., M.P. Valencia, E. Murillo, J.J. Méndez y J.E. Joli. 2012. Composición de ácidos grasos de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo) y su relación con la bioactividad del vegetal. Rev Chil Nutr. 39(1): 45-52.

Enrique, Q. y M. Yesid. 1989. Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello. Programa de Recursos Vegetales del Convenio Andrés Bello, Secretaría Ejecutiva Permanente del Convenio Andrés Bello. Publicado por

- Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello.
- Follegatti-Romero L.A., C.R. Piantino, R. Grimaldi y F.A. Cabral. 2009. Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. *J. Supercrit. Fluid.* 49:323-329.
- Guillén M.D., A. Ruiz, N. Cabo, R. Chirinos y G. Pascual. 2003. Characterization of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and HNMR comparison with linseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80:755-762.
- Gutiérrez, L., L.M. Rosadab y A. Jiménez. 2011. Chemical composition of Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y Aceites.* 62 (1):76-83, ISSN: 0017-3495. Doi: 10.3989/gya044510.
- Hamaker B.R., C. Valles, R. Gilman, R.M. Hardmeier, D. Clark, H.H. García, A.E. Gonzales, I. Kohlstað, M. Castro, R. Valdivia, T. Rodríguez y M. Lescano. 1992. Amino acid and fatty acid profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis* L.). *Cereal Chemistry.* 6(4): 461-463.
- Huamán J.J., B.E. Fogel, P.I. Escobar y K.Y. Castillo. 2012. Efectos de la ingesta de *Plukenetia volubilis* Linneo o "Sachá inchi" en el perfil lipídico de adultos jóvenes. *Acta Médica Peruana.* 29(3): 155-159.
- Huaman J., K. Chávez, E. Castañeda, S. Carranza, T. Chávez, Y. Beltrán, C. Caffo, R. Cadillo y J. Cadenillas. 2008. Efecto de la *Plukenetia volubilis* Linneo (sachá inchi) en la trigliceridemia posprandial. *An. Fac. med.* 69(4):263-266. ISSN 1025-5583.
- Macbride, J.F. 1951. Euphorbiaceae. In *Flora of Perú. Botanical series. Field Museum of Natural History.* 13 IIIA (1):115-118.
- Miranda M. y A. Cuéllar. 2011. Manual de prácticas de laboratorio. *Farmacognosia y productos naturales.* Habana: Editorial Félix Varela, páginas 25-49, 74-79.
- Muñoz-Jauregui, A., F. Ramos-Escudero, C.A. Ortiz-Ureta. 2010. Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Rev. Soc. Quím. Perú.* 76(3):234-241. ISSN 1810-634X.
- Pariona-Mendoza, N. 2008. Obtención de los ácidos grasos del aceite de *Plukenetia volubilis* L. "Sachá Inchi" para la utilización en la industria y estudio fitoquímico cualitativo de la almendra. Tesis de grado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Química e Ingeniería Química.
- Soukup, J. 1970. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana. Imprenta Colegio Salesiano, Lima.
- Stanley, P.C. y S.A. Steyemark. 1949. *Flora of Guatemala. Fieldiana Botany.* Chicago Natural History Museum, 24(6):153-156.
- Valles, C.R. 1990. El "Sachá inchi", planta nativa de importancia proteica y aceitera promisorá para la selva alta. *Separata,* 2 p.
- WHO. World Health Organization. 1998. *Quality control methods for medicinal plant materials.* Ginebra. WHO/PHARM/92.559.