

Estudio de polifenoles, taninos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante de la semilla de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L)

Ana María Muñoz Jáuregui¹, Carlos Alvarado-Ortiz¹, Fernando Ramos Escudero², Benjamín Castañeda Castañeda³, Edy Barnett Mendoza⁴, Luis Cárdenas Lucero⁴, Jaime Yáñez Farfán⁵, Delia Cajaleón Asencios⁶, Christian Encina Zelada⁷

RESUMEN

Sacha inchi, es una euphorbiaceae conocida como maní del Inca. Se encuentra distribuida en el Perú, en San Martín, Huánuco, Amazonas, Madre de Dios y Loreto.

Objetivo: Determinar la actividad de los compuestos fenólicos de las semillas de sachá inchi y su rol en el color, conservación, sabor de los alimentos y bebidas.

Material y Métodos: El presente estudio se realizó con semillas de sachá inchi colectadas en Tarapoto por el Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIA). En el Centro de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana de la USMP. La determinación de polifenoles totales según Aparicio et al. (1999), taninos totales descrito por Price y Butler (1977) y actividad antioxidante mediante el método ORAC descrito por Prior y Cao (2000). Además de la capacidad inhibición de peróxido de hidrógeno según Wettasinghe y Shahidi (1999).y su poder reductor según Srivastava et al. (2006). Se trabajó con el aceite y la torta, obteniéndose de cada muestra extractos hidrofílicos y lipofílicos.

Resultados: se encontró mayor contenido de polifenoles totales, taninos totales, mayor poder reductor, mayor capacidad de inhibir peróxido de hidrógeno y mayor capacidad antioxidante en el extracto hidrofílico de la torta.

Conclusiones: el extracto hidrofílico de la torta de sachá inchi mostró mayor contenido de polifenoles totales y taninos con acción antioxidante. (Horiz Med 2013; 13(1): 11-18)

Palabras clave: Polifenoles totales, antioxidantes y sachá inchi (fuente: DeCS BIREME)

Study of Polyphenols, Tannins and Chemical Methods to determine Antioxidant Activity in Seeds of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L)

ABSTRACT

Sacha Inchi is a euphorbiaceae known as the Inca peanut that is found in Peru in San Martin, Huánuco, Amazonas, Loreto and Madre de Dios.

Objective: To determine the activity of the phenolic compounds of sachá inchi seeds and its role in the color, durability, taste of food and drink.

Material and Methods: This study was performed with sachá inchi seeds collected in Tarapoto by the National Institute of Agricultural Research and Extension (INIA) in the Center of Biochemistry and Nutrition, Faculty of Human Medicine USMP. The determination of total polyphenols was performed according to Aparicio et al. (1999), total tannins as described by Price and Butler (1977) and antioxidant activity by the ORAC method described by Prior and Cao (2000). Also, the ability to inhibit hydrogen peroxide according Wettasinghe and Shahidi (1999) and their reducing power by Srivastava et al. (2006). We worked with the oil and cake obtained of each sample obtaining hydrophilic and lipophilic extracts.

Results: We found higher total polyphenol content, total tannins, higher reducing power, greater ability to inhibit hydrogen peroxide and increased antioxidant capacity in the hydrophilic extract of cake.

Conclusions: cake hydrophilic extract of sachá inchi showed higher content of total polyphenols and tannins with antioxidant action. (Horiz Med 2013; 13(1): 11-18)

Key words: Total polyphenols, antioxidants and Sacha Inchi (source: MeSH NLM)

¹ Investigador del Centro de Bioquímica y Nutrición. FMH-USMP

² Doctorando Universidad de Sevilla- España

³ Director del Instituto de Investigación FMH-USMP

⁴ Docente del la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la USMP

⁵ Department of Drug Metabolism and pharmacokinetics, Merck & Co., Inc. Merck Research Laboratories, Kenilworth, NJ 07033, USA.

⁶ Docente de la Facultad de Bromatología y Nutrición, Universidad Faustino Sánchez Carrión, Huacho, Perú

⁷ Docente auxiliar de la Facultad Industrias Alimentarias UNA La Molina, Lima, Perú

INTRODUCCIÓN

El sacha inchi (*Plukenetia volúbilis L.*) se encuentra en nuestro país en estado silvestre en diversos lugares de San Martín, Ucayali, Huánuco, Amazonas, Madre de Dios y Loreto. El presente informe evalúa la presencia de compuestos fenólicos, taninos y actividad antioxidante de la semilla de sacha inchi (1). La importancia de los compuestos fenólicos por sus propiedades además de antioxidantes y por sus atributos sensoriales que brindan a los alimentos, como el sabor ya que algunos compuestos le dan amargor como el hidroxitirosol, la astringencia de los taninos; el color, algunos amarillentos y otros pardos, y la importancia que tiene por brindar estabilidad por la resistencia a la oxidación lipídica (2) Asimismo son excelentes conservadores naturales, brindando estabilidad al alimento, desplazando a otros conservadores sintéticos.

La primera mención científica del Sacha Inchi fue hecha en 1980 a consecuencia de los análisis de contenido graso y proteico realizados por la Universidad de Cornell en USA, los que demostraron que las semillas del Sacha Inchi tienen alto contenido de proteínas (33%) y aceite (49%)(3).

En Perú, Agroindustrias Amazónicas ha seleccionado variedades hasta con 54% de aceite; la proteína presenta un importante contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales; además es rico en vitaminas A y E(4).

El IMET de EsSalud, determinó carotenos (< 10 ppm), fenoles (0.96 mg/100g) y estanoles libres (<0.5 mg/g) en el aceite de sacha inchi extraído de semillas de la Región Loreto (5).

La proyección en cuanto su aplicación en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica en el mundo esta en aumento, por tanto, evaluar sus propiedades antioxidantes y la presencia de polifenoles, permitirá abrir nuevos mercados (6).

El objetivo del presente trabajo en su primera parte será determinar el contenido de polifenoles totales, taninos totales y actividad antioxidante según el método ORAC así como su poder reductor y capacidad de inhibir al peróxido de hidrógeno de la semilla de sacha inchi.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección de la muestra

La muestra fue obtenida por el personal de la Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología, del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) en la Estación Experimental Agraria “El Porvenir”-Tarapoto. Figura 1.



Figura 1. Plantaciones de *Plukenetia volúbilis L.*: “sacha inchi”, en la zona experimental de INIA-Tarapoto.

Preparación de la muestra

Antes de la extracción del aceite de las semillas de sacha inchi, se procedió a separar la almendra de la cáscara. Se utilizó un martillo y se separó manualmente, almacenándose en bolsas de plástico de grado alimenticio (ziploc) y mantenidas en refrigeración.

La extracción del aceite de las almendras se llevó a cabo por el prensado en frío. Las presiones a la que se utilizó en la extracción fueron de 300 700 PSIA por espacio de 5 minutos, a la presión o temperatura ambiente. Las extracciones se llevaron a cabo con muestras de 90 gramos. Las muestras fueron colocadas en cilindro extractor de acero inoxidable, sometiéndose lentamente hasta llegar a las presiones establecidas, manteniendo la palanca de activación a presión constante por espacio de 5 minutos, controlándose esto con un cronometro.

Terminado el proceso de extracción, la torta residual obtenida luego del prensado, fue secada a 45 °C durante 2 horas. Luego fue envasada y sellada en bolsas plásticas de grado alimenticio (ziploc) y se mantuvieron en refrigeración.

Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales fue previamente acondicionado al método descrito por Aparicio et al. (1999) (7), se usó ácido galico como estándar. Se tomo 500 µL de cada fase y se adicionó 900 µL de folin-ciocalteau (F-C), la mezcla se colocó en vortex durante 5 minutos, después de este tiempo se adicionó 900 µL de molibdato de sodio al 5 % en metanol al 60 %. La reacción fue desarrollada durante 2 horas en oscuridad con agitación constante (Gülçin et al., 2003) (8). La absorbancia fue medida a 725 nm.

Taninos

Se determinó mediante el método propuesto por Price y Butler (1977) (9). Una alícuota de 200 µL de cada fase (lipofílica e hidrofílica), se adicionaron 600 µL de FeCl₃ a 0.1 M en 0.1 N de HCl, luego se dejó reaccionar por 5 minutos, después de este tiempo se adicionó 600 µL de K₃Fe(CN)₆ a 0.008 M, se dejó reposar por 10 minutos para el desarrollo del color, las lecturas se tomaron a 720 nm. Los resultados fueron expresados en mg catequina equivalente por kg de muestra.

Actividad antioxidante

A. Ensayo ORAC

Este método se usa para medir la actividad antioxidante indicando la capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno. El fundamento del método es el descenso de la emisión de fluorescencia que sufre la ficobiliproteína R- ó β-Ficoertrina de *Porphyridium cruentum* a causa del daño químico que afecta a su conformación e integridad química provocado por especies reactivos (Prior y Cao, 2000) (10).

La especie que se empleó en el presente estudio fue la ABAP (2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride), generadora de radicales peroxilos, ya que estos son más importantes tanto a nivel

fisiológico como patológico. En la bibliografía se ha descrito otros tipos de especies reactivas (Prior y Cao, 2000), Cu²⁺-ascorbato (Glazer, 1990) y Cu²⁺-H₂O₂ para producir radicales hidroxilos; también Cu²⁺ como oxidante, pero estos otros radicales están menos relacionados con la situación fisiológica. El AAPH sufre descomposición espontánea y produce radicales peroxilos con un rango determinado primariamente por la temperatura.

Para determinar la actividad antioxidante de una muestra es preciso hacer referencia a un antioxidante estándar; el antioxidante de uso mas generalizado es el TROLOX.

La inhibición de las especies reactivas por un compuesto antioxidante se refleja en la protección frente a la pérdida de la fluorescencia de la ficoeritrina. Esta protección resulta ser una medida de la capacidad antioxidante de dicho compuesto y se puede cuantificar mediante dos parámetros (Prior y Cao, 1999):

- El tiempo que el antioxidante protege la ficoeritrina de sufrir el daño oxidativo.
 - El % de la inhibición a diferentes tiempos.
- a. Preparación de los reactivos (Cao y Prior, 1999)
- Buffer Fosfato PBS (75 mM, pH 7)
- Se prepara una disolución de K₂HPO₄, 0.75 M y una de NaH₂PO₄, 0.75 M. Se mezclan en la proporción K₂HPO₄/NaH₂PO₄, 61.6/31.9 (v/v) y se diluye con agua desionizada. El pH de esta disolución buffer debe ser 7, lo cual debe constar usando un pHmetro.
- Ficoeritrina (68 mg/L)
- Se prepara una disolución madre (170 mg/L) disolviendo 1 mg de ficoeritrina en 5.90 mL de PBS. La disolución de trabajo se obtiene con buffer la solución madre.
- ABAP (160 mM)
- Se pesan 434 mg de ABAP y se disuelven en 10 mL de PBS.
- TROLOX (20 µmol/L)
- Se prepara una disolución madre disolviendo 5.0 mg de Trolox en 200 mL de PBS, la solución de trabajo

se obtiene diluyendo la primera con PBS (1/4 v/v)

b. Descripción del método

El ensayo ORAC se lleva a cabo microcubetas fluorimétricas.

La reacción ensayada en la siguiente:

150 µL de muestra + 150 µL de ficoeritrina (68 mg/mL) + 75 µL ABAP (160 mM)

Se prepara también un blanco y un estándar (TROLOX)

Inmediatamente se mide la fluorescencia (excitación 540 nm, emisión 565 nm), cada 5 minutos durante 60 minutos, hasta que descienda aproximadamente a 0 o a menos de un 5 % del valor inicial. Se usó un espectrofluorómetro RF-1501 Shimadzu, con interfase a PC, fuente de luz lámpara de Xenón, los filtros de fluorescencia con una longitud de excitación de 540 nm y una longitud de emisión de 565 nm.

El valor ORAC se obtiene calculando la diferencia de áreas bajo la curva de descenso de fluorescencia de B-ficoeritrina a lo largo del tiempo entre el blanco y una muestra. Los resultados finales se expresan usando equivalentes en trolox.

c. Cálculos de los resultados

Los resultados fueron expresados como valor ORAC. La cuantificación del área bajo la curva (AUC) de emisión de fluorescencia, recogiendo simultáneamente la información de intensidad y tiempo. A diferencia de otros métodos que se emplean en la medida de la capacidad antioxidante. Se obtiene calculando la diferencia de áreas bajo las curvas de descenso de fluorescencia de ficoeritrina a lo largo del tiempo entre blanco y una muestra.

B. Ensayo de Peróxido de hidrogeno

$$AUC = (0.5 + f_5/f_0 + f_{10}/f_0 + f_{15}/f_0 + \dots + f_{55}/f_0 + f_{60}/f_0) * CT$$

Donde:

f_0 = es la fluorescencia inicial en el ciclo zero.

f_{60} = es la fluorescencia en el ultimo tiempo

CT = es el tiempo del ciclo a los 5 minutos

AUC = se obtiene de la sustracción del AUC del blanco de los datos de la muestra

La extracción del aceite como de la torta en fase hidrofílica, fue disuelta en 3.4 mL de agua destilada y mezclada con 600 µL de 43 mM solución de peróxido de hidrogeno (Wettasinghe y Shahidi, 1999) (11). La reacción fue incubada a 37 °C y después de 40 minutos se registraron las absorbancias a 230 nm, se utilizó como estándar de referencia, catequina a 200 ppm.

C. Ensayo de poder reductor

El poder reductor de los extractos fue medido por incubación de la reacción a 50 °C por 20 min., que contenía KH₂PO₄ (0.2 mol/L, pH 6.6), ferrocianuro de potasio (1 g/100 mL en agua). La reacción fue terminada por la adición de TCA (10 g/100 mL en agua), luego fue centrifugada a 3000 rpm durante 10 min y el sobrenadante fue mezclado con cloruro férrico (0.1 g/100 mL en agua), la absorbancia fue medida a 700 nm (Srivastava et al., 2006) (12). El incremento de la concentración en mg CE/kg indico el poder reductor.

Análisis estadístico mediante T tests (LSD) para variables. El análisis de varianza (ANOVA) fue desarrollado mediante un diseño completamente randomizado y se utilizó la prueba de T tests (LSD) para variables, los datos fueron procesados por un Sistema de Análisis Estadístico (SAS statistic analysis system), el nivel de significancia establecido fue $p < 0.01$.

RESULTADOS

Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales tanto en aceite y torta, en fase hidrofílico y lipofílica se muestra en la Tabla 1, donde se aprecia mayor contenido en el extracto hidrofílico de la torta.

Tabla 1. Contenido de polifenoles totales en aceite y torta de sachá inchi

Condición	Fase	Muestra	Contenido (mg GAE/kg)	CV (%)
Hidrofílico	MeOH:agua (60:40)	Torta	67.64 ± 0.12a	0.17
Lipofílico	Hexano	Aceite	15.50 ± 0.36b	2.32
Lipofílico	Hexano	Torta	12.83 ± 0.60c	4.66
Hidrofílico	MeOH:agua (60:40)	Aceite	2.79 ± 0.14d	4.99

Letras (a - d), indican diferencia significativa a $p < 0.01$, la media corresponde a 3 replicas. Los datos fueron calculados a partir de una curva de estándar de ácido galico ($y = 0,0196x - 0,0211$, $R^2 = 0.9996$)

Taninos

En la Tabla 2, se muestra el contenido de taninos tanto del aceite como de la torta, en fase hidrofílica y lipofílica. Mientras los resultados de la Tabla N° 3, indican los aspectos visuales y espectrofotométricos de las reacciones, siendo el extracto hidrofílico de la torta el que presenta un color azul alto.

Tabla 2. Contenido de taninos en aceite y torta de sachá inchi

Condición	Fase	Muestra	Contenido (mg GAE/kg)	CV (%)
Hidrofílico	MeOH:agua (60:40)	Torta	47.23 ± 0.04a	0.09
Lipofílico	Hexano	Aceite	9.38 ± 0.04b	0.46
Hidrofílico	MeOH:agua (60:40)	Aceite	6.18 ± 0.03c	0.51
Lipofílico	Hexano	Torta	4.99 ± 0.03d	0.63

Letras (a - d), indican diferencia significativa a $p < 0.01$, la media corresponde a 3 replicas. Los datos fueron calculados a partir de una curva de estándar de catequina ($y = 0,0485x - 0,0053$, $R^2 = 0,9996$)

Tabla 4. Actividad antioxidante ORAC

Tiempo(min)	FLUORESCENCIA							
	Control/PBS		TROLOX		ExOil		ExTor	
0	1015,751	1015,751	1015,784	1015,784	1015,813	1015,813	1015,792	1015,792
5	1015,578	1014,354	1015,784	1015,784	1015,813	1015,813	1015,792	1015,792
10	464,465	450,698	1015,784	1015,784	1015,813	1015,813	1015,792	1015,792
15	234,923	222,985	1015,784	1015,784	737,610	735,428	1015,792	1015,792
20	139,050	125,548	1015,784	1015,784	505,148	503,143	1015,792	1015,792
25	123,072	115,874	1015,784	1015,784	387,261	384,279	1015,792	1015,792
30	109,138	101,619	1015,784	1015,784	292,461	290,525	865,456	868,537
35	99,256	92,164	956,661	951,253	248,981	249,125	718,153	719,129
40	79,824	72,816	812,158	810,954	223,684	223,719	603,528	600,748
45	55,638	52,975	716,038	715,690	195,608	196,348	517,401	514,679
50	42,203	40,598	600,775	602,548	174,397	175,504	451,530	447,699
55	38,235	37,154	510,560	513,129	159,009	158,026	403,217	401,802
60	38,107	37,009	450,216	453,001	143,092	144,043	364,817	361,708

Tabla 3. Aspecto visual y espectrofotométrico del contenido de taninos

Color	Contenido	Teórico	Estimación Espectrofotométrica			
		Abs (720 nm)	EAL	EAH	ETL	ETH
Azul intenso	Alto	0.71 - 3.2				
Azul	Alto	0.60 - 0.70				X
Turquesa	Moderadamente alto	0.50 - 0.59				
Verde oscuro	Moderadamente	0.40 - 0.49				
Verde	Intermedio	0.15 - 0.39		X		
Verde limón	Bajo	0.04 - 0.14		X	X	

EAL = extracción aceite lipofílico; EAH = extracción aceite hidrofílico; ETL = extracción torta lipofílico; ETH = extracción torta hidrofílico.

Actividad antioxidante

A. Ensayo ORAC

El método antioxidante ORAC muestra que el extracto hidrofílico de la torta presenta mayor actividad antioxidante como lo muestra la Tabla 4 y la Figura 2.

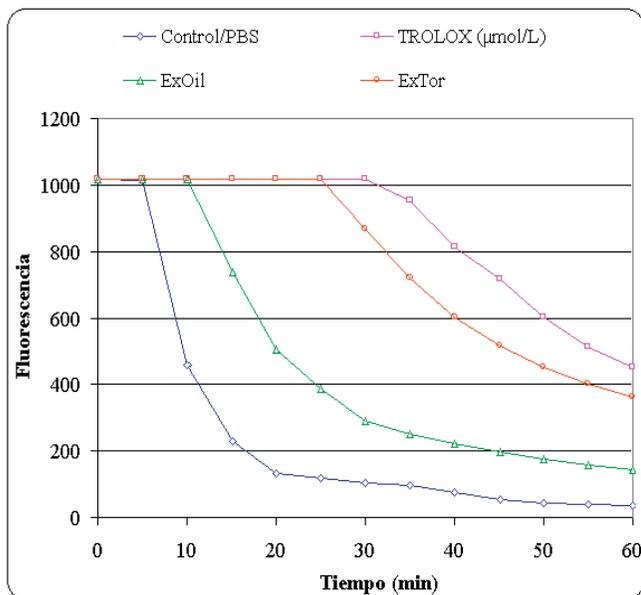


Figura 2. Cinética de descenso de fluorescencia de la β-ficoeritrina

Este ensayo se realizó en ausencia y presencia de un extracto hidrofílico (MeOH:agua [60:40 v/v]) del aceite y semilla de sachá inchi, mostrando mayor capacidad antioxidante el extracto hidrofílico de la torta (ver Tabla 5).

Tabla 5. Capacidad antioxidante de extracto hidrofílico de aceite y torta de sachá inchi.

Condición	Fase	Muestra	Valor	ORACFe (µmol TE/kg)	CV (%)
Hidrofílico	MeOH:agua	(60:40) Torta	170.46 +/- 0.02		0.01
Hidrofílico	MeOH:agua	(60:40) Aceite	7.54 +/- 0.08		1.11

Datos expresados como promedio +/- SD de 2 observaciones por muestra.

B. Ensayo de peróxido de hidrógeno

Los ensayos de capacidad de inhibición de peróxido de hidrógeno demostraron el extracto hidrofílico de la torta que presenta mayor capacidad inhibitoria (ver tabla 6).

Tabla 6. Ensayo peróxido de hidrógeno

CONDICIÓN	CONCENTRACION							
	ABSORBANCIAS		H2O2(mM)		PROM	SD		
H2O2	0,260	0,258	0,260	6,450	6,450	6,450	6,45	0,00
Catequina + H2O2	0,028	0,026	0,027	0,695	0,650	0,670	0,67	0,02
Aceite + H2O2	0,132	0,134	0,133	3,275	3,350	3,299	3,31	0,04
Torta + H2O2	0,083	0,082	0,083	2,059	2,050	2,059	2,06	0,01

Datos fueron expresados en mM de concentración de peróxido de hidrógeno

C. Ensayo de poder reductor

Expresa la capacidad de reducir el férrico a ferroso. Los resultados mostraron mayor poder reductor al extracto hidrofílico de la torta (ver tabla 7).

Tabla 7. Poder reductor de semilla de sachá inchi

MUESTRA	mg	CE/kg	PROM	SD
ACEITE_LIP	1,083	0,883	0,682	0,883
ACEITE_HID	1,685	1,886	1,485	1,685
TORTA_LIP	ND	ND	ND	
TORTA_HID	28,972	29,373	28,771	29,038

Expresadas en función de catequina estándar.

DISCUSIÓN

El contenido de polifenoles que presenta el extracto hidrofílico de la torta es mayor en forma significativa en relación con los otros extractos de sachá inchi evaluados. Según estudios realizados en aceite de oliva, la concentración de polifenoles es de 433 a 195 mg GE/kg (13) y varía según el tipo de cepa, el grado de maduración y otros factores externos como condiciones agronómicas, climáticas, altura y tipo de cepa, procesamiento entre otros factores (14).

El contenido de taninos es mayor en el extracto hidrofílico de la torta, esto se explica por la estructura química de los taninos que tienen afinidad por los solventes polares.

La actividad antioxidante de los polifenoles depende del número y la localización de los grupos hidroxilo que contiene en su estructura. Además de su actividad antioxidante, se han atribuido otras propiedades biológicas a los compuestos fenólicos: inhiben la agregación plaquetaria y ejercen como agentes vaso relajantes, antiinflamatorios y anticancerígenos (15).

El método antioxidante ORAC muestra que el extracto hidrofílico de la torta presenta mayor actividad antioxidante. Asimismo coincide con su poder reductor de peróxido de hidrógeno y capacidad quelante, existiendo coherencia entre los resultados obtenidos aplicando los diferentes métodos mencionados. Debemos resaltar que el método ORAC utiliza un tipo de especie oxidante presente en el organismo como son los radicales peroxilo, ya que el empleo de radicales peroxilo ó hidroxilo en ensayos como ORAC, TRAP, TOSC, DCFH-DA les añade un mayor significado biológico, ya que estas ROS son las más importantes a nivel fisiológico (15).

Existe una relación directa entre el contenido total de polifenoles y su capacidad antioxidante en los extractos evaluados de la semilla de sachá inchi ya que el extracto hidrofílico de la torta es la que presenta mayor contenido de polifenoles totales y mayor actividad antioxidante.

En conclusión, el extracto hidrofílico de la torta de sachá inchi muestra mayor contenido de polifenoles totales y taninos con acción antioxidante. El extracto hidrofílico de la torta presentó mayor actividad antioxidante (según el método ORAC) y mayor inhibición de peroxido de hidrógeno con mayor poder reductor.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Presidente de CONCYTEC, Dr. Augusto Mellado Méndez; a la USMP y al Decano de la Facultad de Medicina Humana Dr. Frank Lizaraso Caparó por haber hecho posible la realización de esta investigación.

Fuentes de financiamiento

Este trabajo fue financiado por CONCYTEC y la USMP.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valles, C. Sacha inchi, importante oleaginosa selvática. Pura selva. p.40- 41.
2. Oliveras M. Calidad del aceite de Oliva virgen extra antioxidantes y función biológica. Universidad de Granada.
3. Hazen y Stoewesand. Resultados de análisis del aceite y proteína del cultivo de sachá inchi. Universidad de Cornell. USA. 1980
4. Proyecto OMEGA. El Inca Inchi. Agroindustrias Amazónicas. Lima - Perú. 2002. p.6.
5. Instituto de Medicina Tradicional-IMET. POS Pilot Plant Corp. Canada. Bioprocessingsolutions: Analytical report to carotenes profile, stanols (free), total phenols. Sampledescription: brand name: Nutraceute Omega 3 De IMET, common name: Aceite de Sachainchi, scientific name: *Plukenetia volubilis* L. Project N° 905. Report date: 4/15/09. Lab Group ID: 090324094440. Lab Number: AA19520.
6. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. PNUD. Cusco-Perú. 1999. p.550.
7. Aparicio R, Roda L, Albi M.A, Gutierrez F.J. Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by rancimat. Journal of Agricultural and Food Chemistry 1999; 47(10); 4150 - 4155.

8. Gülçin I, Oktay M, Kireççi E, Küfrevioğlu O.I. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry* 2003; 83(3): 371 - 382
9. Price M.L, Butler L.G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1977; 25(6): 1268- 1273.
10. Cao, G, Prior RL. Measurement of Oxygen Radical Absorbance Capacity in biological samples. *Meth Enzymol* 1999; (5): 50-62.
11. Wettasinghe M, Shahidi F. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds. *Food Chemistry* 1999; 67(4): 399 - 414.
12. Srivastava A, Harish SR, Shivanandappa T. Antioxidant activity of the roots of *Decalepis hamiltonii* (Wight & Arn.). *LWT - Food Science and Technology* 2006; 39(10): 1059 - 1065.
13. Gómez-Alonso S, Fregapane G, Salvador M, Gordon M. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of virgin olive oil during frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003; 51(3): 667 - 672.
14. Martínez -Valverde M, Periago M, Ros G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *ALAN*. 2000; 50(1).
15. Fernández-Pachón S, Villano D, Troncoso A, y García-Parrilla M. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo. *ALAN*. 2006; 56(2):110-122.

Correspondencia:

Ana María Muñoz Jáuregui
Dirección: Av. Alameda del corregidor 1531-
Las Viñas, La Molina. Lima - Perú.
Teléfono: 999717828
Correo electrónico: amariamj@yahoo.es

Recibido: 03 de diciembre de 2012
Aprobado: 20 de febrero de 2013