



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**T E S I S**

**EXTRACCIÓN DE ACEITE MEDIANTE FLUIDO  
SUPERCRÍTICO Y CUANTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES  
DE DOS VARIEDADES DE CAÑIHUA (*Chenopodium  
Pallidicaule* Aellen) CUPI E ILLPA-INIA**

**PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN  
CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**AUTOR**

Br. JANETH MIREYA GONZALES CARI

**ASESOR:**

Dra. MERY LUZ MASCO ARRIOLA

**CODIGO ORCID**

0000-0002-5156-6464

**CUSCO-PERÚ**

**2024**

# INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: Extracción de aceite mediante fluido supercrítico y wantificación de tocoferoles de dos variedades de cañihua (Chenopodium Pallidicaule Aellen) Cupí e Illpa - INNIA

Presentado por: Janeth Mireya Gonzales Cari DNI N° 42643122

presentado por: ..... DNI N°: .....

Para optar el título profesional/grado académico de Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 15 de mayo de 2025

[Firma]  
Firma

Post firma Mary Luz Masco Arriola

Nro. de DNI 23847057

ORCID del Asesor http://orcid.org/0000-0002-5156-6464

## Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: **oid:** 27259:459588199/

# Janeth Mireya Gonzales Cari

## EXTRACCIÓN DE ACEITE MEDIANTE FLUIDO SUPERCRÍTICO Y CUANTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES DE DOS VARIEDADES

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

### Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:459588199

105 Páginas

Fecha de entrega

15 may 2025, 6:16 p.m. GMT-5

18.741 Palabras

Fecha de descarga

15 may 2025, 6:26 p.m. GMT-5

106.665 Caracteres

Nombre de archivo

TESIS SUSTENTADA -JANETH MIREYA GONZALES CARI.docx

Tamaño de archivo

9.0 MB

# 10% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

## Filtered from the Report

- ▶ Bibliography
- ▶ Quoted Text
- ▶ Cited Text
- ▶ Small Matches (less than 10 words)

## Top Sources

- 9%  Internet sources
- 1%  Publications
- 6%  Submitted works (Student Papers)

## Integrity Flags

### 0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
ESCUELA DE POSGRADO

---

INFORME DE LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES A TESIS

Dra. NELLY AYDE CAVERO TORRE, Directora (e) General de la Escuela de Posgrado, nos dirigimos a usted en condición de integrantes del jurado evaluador de la tesis intitulada EXTRACCIÓN DE ACEITE MEDIANTE FLUIDO SUPERCRÍTICO Y CUANTIFICACIÓN DE TOCOFEROLES DE DOS VARIEDADES DE CAÑIHUA (*Chenopodium Pallidicaule* Aellen) CUPU E ILLPA-INIA de la Br. JANETH MIREYA GONZALES CARI. Hacemos de su conocimiento que el (la) sustentante ha cumplido con el levantamiento de las observaciones realizadas por el Jurado el día DIECIOCHO DE DICIEMBRE DE 2024.

Es todo cuanto informamos a usted fin de que se prosiga con los trámites para el otorgamiento del grado académico de MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS.

Cusco, 28 de Mayo del 2025

  
DR. ANTONIO RAMIRO JESUS BUENO LAZO  
Primer Replicante

  
MGT. RODNEY VEGA VIZCARRA  
Segundo Replicante

  
Dr. LEONCIO SOLIS QUISPE  
Primer Dictaminante

  
Dr. DAVID CHOQUE QUISPE  
Segundo Dictaminante

## DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen de Guadalupe por darme la voluntad y la fuerza para seguir adelante.

A mi querido esposo Manuel Albarracín Machicado, por su confianza y apoyo en todo momento para poder realizarme profesionalmente, y a mis amados hijos Alinna y Andrés Albarracín Gonzales, quienes son mi alegría y mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más.

A mis queridos padres Jorge y Reyna, por ser ese pilar fundamental para mi formación profesional y por su apoyo incondicional para poder alcanzar todos mis objetivos.

A mi hermano Darwin, por su apoyo moral.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecer a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, a la Escuela de Posgrado y a la plana docente, por mi formación académica y profesional.

Agradezco profundamente a mi asesora de tesis, la Dra. Mery Luz Masco Arriola por toda su paciencia y confianza depositada en mí persona.

A los distinguidos miembros del jurado, por su apoyo y acceder amablemente a formar parte del mismo.

A mi familia, amigos y a todas las personas que me brindaron su apoyo y han hecho posible que este trabajo se culmine con éxito.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
ÍNDICE GENERAL.....	iv
LISTA DE TABLAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS .....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT .....	xii
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO I PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA .....	2
1.1. Situación problemática.....	2
1.2. Formulación del problema .....	4
a. Problema general.....	4
b. Problemas específicos .....	4
1.3. Justificación de la investigación.....	4
1.4. Objetivos de la investigación .....	6
1.4.1. Objetivo general .....	6
1.4.2. Objetivos específicos.....	6
CAPITULO II MARCO TEORICO CONCEPTUAL .....	8
2.1. Bases teóricas .....	8
2.1.1. Cañihua .....	8

2.1.2.	Plantas oleaginosas.....	11
2.1.2.	Vitamina E.....	13
2.1.3.	Extracción de aceite vegetal.....	15
2.1.4.	Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).....	21
2.2.	Marco conceptual.....	23
2.3.	Antecedentes.....	23
CAPITULO III HIPÓTESIS Y VARIABLES.....		26
3.1.	Hipótesis.....	26
3.1.1.	Hipótesis general.....	26
3.1.2.	Hipótesis específicas.....	26
3.2.	Identificación de variables e indicadores.....	26
3.3.	Operacionalización de variables.....	27
CAPITULO IV MATERIALES Y METODOS.....		28
4.1.	Ámbito de estudio: localización política y geográfica.....	28
4.2.	Tipo y nivel de investigación.....	29
4.3.	Unidad de análisis.....	30
4.4.	Población de estudio.....	30
4.5.	Tamaño de muestra.....	30
4.6.	Técnica de selección de muestra.....	30
4.7.	Técnicas de recolección de información.....	30
4.8.	Técnicas de análisis e interpretación de la información.....	32
4.9.	Técnicas para demostrar la verdad o falsedad de las hipótesis planteadas.....	38

CAPITULO V RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
5.1.    Procesamiento, análisis, interpretación y discusión de resultados .....	40
5.2.    Pruebas de hipótesis .....	55
CONCLUSIONES .....	57
RECOMENDACIONES .....	58
BIBLIOGRAFÍA.....	59
APENDICE .....	77

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Composición proximal de diferentes variedades de cañihua y otros granos y cereales	11
<b>Tabla 2</b> Identificación de variables e indicadores .....	27
<b>Tabla 3</b> Operacionalización de variables.....	27
<b>Tabla 4</b> Especificaciones de sistema SFT-150 SFE y configuración utilizada .....	37
<b>Tabla 5</b> Matriz de diseño estadístico .....	39
<b>Tabla 6</b> Composición proximal de las variedades Cupi e Illpa-INIA .....	40
<b>Tabla 7</b> Rendimiento de la obtención de aceite de cañihua.....	42
<b>Tabla 8</b> Resultado de análisis de varianza del rendimiento de aceite de cañihua.....	43
<b>Tabla 9</b> Prueba de medias LSD Fisher para el método de extracción sobre el rendimiento de aceite .....	43
<b>Tabla 10</b> Prueba de medias LSD Fisher para las variedades de cañihua sobre el rendimiento de aceite .....	45
<b>Tabla 11</b> Prueba de medias LSD Fisher para la presencia de perigonio en cañihua sobre el rendimiento de aceite .....	46
<b>Tabla 12</b> Prueba de medias LSD Fisher para la interacción de método de extracción * variedad * perigonio sobre el rendimiento de aceite.....	47
<b>Tabla 13</b> Contenido de $\alpha$ -tocoferol y $\gamma$ -tocoferol extraído por EFS-CO <sub>2</sub> .....	48
<b>Tabla 14</b> Resultado del análisis de varianza para el contenido de $\alpha$ -tocoferol.....	49
<b>Tabla 15</b> Prueba de medias LSD Fisher para perigonio sobre el contenido de $\alpha$ -tocoferol .....	49
<b>Tabla 16</b> Prueba de medias LSD Fisher para la interacción variedad*perigonio sobre el contenido de $\alpha$ -tocoferol .....	50
<b>Tabla 17</b> Resultados del análisis de varianza para el contenido de $\gamma$ -tocoferol.....	50
<b>Tabla 18</b> Prueba de medias LSD Fisher para variedad sobre el contenido de $\gamma$ -tocoferol .....	51
<b>Tabla 19</b> Prueba de medias LSD Fisher para perigonio sobre el contenido de $\gamma$ -tocoferol.....	51

<b>Tabla 20</b> Prueba de medias LSD Fisher para la interacción variedad*perigonio sobre el contenido de $\gamma$ -tocoferol .....	52
<b>Tabla 21</b> Análisis de componentes principales .....	52
<b>Tabla 22</b> Pesos de los componentes principales.....	53
<b>Tabla 23</b> Coeficientes de la correlación de Pearson.....	55
<b>Tabla 24.</b> Resultados de la composición proximal de cañihua en las variedades Cupi e Illpa-INIA, prueba t-student.....	79
<b>Tabla 25.</b> Resultados del rendimiento de aceite obtenido mediante EFS-CO <sub>2</sub> .....	80
<b>Tabla 26.</b> Tratamientos del rendimiento de aceite obtenido mediante EFS-CO <sub>2</sub> .....	80
<b>Tabla 27.</b> Resultado de rendimiento de aceite obtenido por extracción convencional.....	80

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Hábito de crecimiento, decumbente/ lasta (izquierda) y ascendente/ saigua (derecha).....	9
<b>Figura 2.</b> Imagen SEM de 80x (A) Grano de cañihua con perigonio variedad Illpa-INIA. (B) Grano de cañihua con perigonio variedad Cupi. (C) Grano de cañihua sin perigonio variedad Illpa-INIA. (D) Grano de cañihua sin perigonio variedad Cupi.....	10
<b>Figura 3.</b> Formación de triacilglicérido.....	12
<b>Figura 4.</b> Estructura de ácidos grasos.....	13
<b>Figura 5.</b> Estructura de tocoferol y tocotrienol.....	14
<b>Figura 6.</b> Diagrama esquemático que muestra la región del fluido supercrítico para CO <sub>2</sub> . .....	18
<b>Figura 7.</b> Esquema típico de SFE para la extracción de matriz vegetal.....	20
<b>Figura 8.</b> Cromatogramas de una mezcla estándar para tocoferol.....	22
<b>Figura 9</b> Ubicación de INIA – Puno.....	28
<b>Figura 10</b> Cromatograma para la identificación y cuantificación de los tocoferoles ...	38
<b>Figura 11.</b> Rendimiento de aceite según método de extracción.....	44
<b>Figura 12.</b> Rendimiento de aceite según variedad de cañihua.....	45
<b>Figura 13.</b> Rendimiento de aceite según presencia de perigonio.....	46
<b>Figura 14.</b> Resultados de rendimiento de aceite.....	47
<b>Figura 15.</b> Gráfico de eigenvalor para cada componente.....	53
<b>Figura 16.</b> Grafica del análisis de componentes principales.....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS

m s. n. m.: metros sobre el nivel del mar.

EFS-CO<sub>2</sub>: Extracción por fluidos supercríticos de dióxido de carbono.

EAU: Extracción por ultrasonido.

INIA: Instituto Nacional de Innovación Agraria.

HDPE: Polietileno de alta densidad.

HPLC: Cromatografía líquida de alta eficacia.

COVID-19: Enfermedad del coronavirus 2019.

MHz: mega Hertz.

kg/año: kilogramo consumido en un año

g/100g: gramos sobre 100 gramos de muestra.

mg/100g: miligramos sobre 100 gramos de muestra.

μg/g: micro gramo sobre gramos de muestra.

p-valor: valor de probabilidad.

α: Alfa.

β: Beta.

γ: Gamma.

δ: Delta.

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo principal extraer aceite de dos variedades de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen), Cupi e Illpa-INIA, utilizando métodos de extracción convencional y con fluidos supercríticos (EFS-CO<sub>2</sub>), y evaluar su contenido de tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol). La investigación incluyó tres etapas: análisis proximal de las variedades de cañihua, extracción de aceite y cuantificación de tocoferoles mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En la extracción convencional se utilizó hexano como solvente (250 mL), a una temperatura de 70 °C, con un tiempo de mezcla de 1 hora, logrando un rendimiento máximo de 7.45 g/100g en la variedad Cupi sin perigonio. Para la extracción por EFS-CO<sub>2</sub>, los parámetros incluyeron una presión de 27.58 MPa, temperatura de 45 °C, un flujo de CO<sub>2</sub> de 7.08 L/min y un tiempo de extracción de 60 minutos, obteniendo un menor rendimiento, con un valor mínimo de 4.5 g/100g en Illpa-INIA con perigonio. En cuanto al contenido de tocoferoles, se observó un mayor  $\alpha$ -tocoferol en Cupi sin perigonio (2538.49  $\mu$ g/g) y  $\gamma$ -tocoferol en Illpa-INIA sin perigonio (1808.67  $\mu$ g/g), ambos superiores a los reportados en aceites vegetales tradicionales. El análisis estadístico mediante ANOVA confirmó que el método de extracción, la variedad de cañihua y la presencia de perigonio influyeron significativamente en el rendimiento y el contenido de tocoferoles ( $p < 0.05$ ). Este estudio evidencia el potencial del aceite de cañihua como una fuente rica en tocoferoles, resaltando el método EFS-CO<sub>2</sub> por su capacidad para conservar compuestos funcionales, lo que refuerza su aplicabilidad en las industrias alimentaria y farmacéutica.

**Palabras clave:** Cañihua, extracción por fluido supercrítico, aceite, tocoferol.

## ABSTRACT

The main objective of this study was to extract oil from two varieties of cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen), Cupi and Illpa-INIA, using conventional extraction methods and supercritical fluid extraction (SFE-CO<sub>2</sub>), and to evaluate their tocopherol content ( $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -tocopherol). The research included three stages: proximal analysis of the cañihua varieties, oil extraction, and tocopherol quantification using high-performance liquid chromatography (HPLC). For conventional extraction, hexane was used as the solvent (250 mL) at a temperature of 70 °C with a mixing time of 1 hour, achieving a maximum yield of 7.45 g/100g in the Cupi variety without the perigonium. For SFE-CO<sub>2</sub> extraction, the parameters included a pressure of 27.58 MPa, a temperature of 45 °C, a CO<sub>2</sub> flow rate of 7.08 L/min, and an extraction time of 60 minutes, obtaining a lower yield, with a minimum value of 4.5 g/100g in Illpa-INIA with the perigonium. Regarding tocopherol content, higher levels of  $\alpha$ -tocopherol were observed in Cupi without the perigonium (2538.49  $\mu$ g/g) and  $\gamma$ -tocopherol in Illpa-INIA without the perigonium (1808.67  $\mu$ g/g), both exceeding those reported in traditional vegetable oils. Statistical analysis using ANOVA confirmed that the extraction method, cañihua variety, and presence of the perigonium significantly influenced oil yield and tocopherol content ( $p < 0.05$ ). This study highlights the potential of cañihua oil as a rich source of tocopherols, emphasizing the SFE-CO<sub>2</sub> method for its ability to preserve functional compounds, which reinforces its applicability in the food and pharmaceutical industries.

**Keywords:** Cañihua, supercritical fluid extraction, oil, tocopherol.

## INTRODUCCIÓN

La cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen), es un grano andino considerado como un pseudocereal, su cultivo se desarrolla desde los 3500 a 4200 m s. n. m., y que al igual que la quinua (*Chenopodium quinoa* Will) han sido base de la alimentación desde culturas anteriores al incanato, su cultivo se extiende en el altiplano de Perú y Bolivia. Al igual que la quinua, la cañihua se distingue por su alto contenido de proteínas y aminoácidos esenciales, como el triptófano, la metionina y la leucina, entre otros. Aunque su contenido graso es inferior al de cultivos oleaginosos como el girasol, el olivo o la soya, diversos estudios han demostrado que los granos andinos, incluida la cañihua, poseen un contenido de vitamina E (tocoferoles) significativamente superior al de estas oleaginosas, lo que resalta su valor nutricional y funcional.

La creciente demanda de alimentos que no solo aporten proteínas y carbohidratos, sino también beneficios para la salud, ha puesto de relieve la importancia de productos funcionales en la prevención y tratamiento de enfermedades degenerativas y cancerígenas. En este contexto, el contenido de vitamina E en el aceite de cañihua le confiere propiedades funcionales que podrían ser aprovechadas tanto por la industria alimentaria como por la farmacéutica.

Tradicionalmente, la extracción convencional de aceite ha sido el método predominante; sin embargo, tecnologías más avanzadas, como la extracción con fluidos supercríticos (EFS) utilizando CO<sub>2</sub>, están ganando popularidad debido a su capacidad para conservar compuestos funcionales como la vitamina E. Estas tecnologías representan una oportunidad prometedora para impulsar el uso de la cañihua en la región andina y potenciar sus aplicaciones industriales.

## CAPITULO I

### PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

#### 1.1. Situación problemática

En la actualidad, el Perú se encuentra en una inseguridad alimentaria, debido a la mala alimentación generada durante la pandemia COVID-19 (FAO, s. f.), a ello se suma la pobreza que abarca el 36.7% a 40.9% en los departamentos Ayacucho, Cajamarca, Huancavelica, Huánuco, Loreto, Pasco y Puno, (INEI, 2022), por lo que, es necesario tomar acciones para que no se presente una crisis alimentaria (FAO, 2011). Ello se puede lograr incrementando el consumo de alimentos proveniente de cultivos nativos.

Los cultivos andinos históricamente han sido base de la alimentación en América del Sur, además, de contar con una amplia diversidad de especies como: tubérculos, frutas, leguminosas y granos, son considerados super alimentos (Jacobsen et al., 2003), la cañihua (*Chenopodium pallidicaule*), quinua (*Chenopodium quinoa* Will) y kiwicha (*Amaranthus caudatus*), son los representativos de granos andinos. La quinua presenta el 75 % de la producción y la cañihua solamente el 4% (MINAGRI, 2018), el consumo de granos andinos es de 3.2 Kg/año (MIDAGRI, s. f.), siendo la quinua el más consumido, comparado al arroz cuyo consumo es de 47.4 Kg/año. El bajo consumo de cañihua no solo se debe a su baja producción, sino también a la poca versatilidad como insumo de mezclas alimentarias, aunque presenta un alto valor nutricional contenido de carbohidratos de 65.5 -68%, proteínas de 14.7 - 15.5% y grasas de 7.6 - 8.5% (Huamani, 2018). Además contiene vitamina E (tocoferol) en concentraciones de 1514 mg/kg (De Bruin, 1963; Niro et al., 2019). Es fundamental promover el desarrollo de subproductos de alto valor agregado para fortalecer tanto la producción como el consumo de este importante grano andino.

Por otro lado, las enfermedades neurodegenerativas como alzheimer, parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, entre otras (Salamanca-Gómez, 2001), son un problema de salud pública debido a su incremento en la población (OMS, 2006). El daño causado por estas enfermedades puede ser prevenida con el consumo de la vitamina E, que protege el sistema nervioso central, especialmente al cerebelo del daño oxidativo (Ulatowski & Manor, 2015), además que puede ser utilizado como parte de tratamiento (Wagner et al., 2004).

La vitamina E es un compuesto esencial que se encuentra principalmente en los vegetales (Schneider, 2005), siendo las semillas las fuentes más ricas en esta vitamina (Niki & Abe, 2019). Por ejemplo, los aceites de girasol y algodón contienen entre 690 a 1000 mg/kg de vitamina E, respectivamente (Sayago et al., 2007). Sin embargo, la obtención de aceites ricos en compuestos funcionales como la vitamina E depende en gran medida del método de extracción empleado.

En la actualidad, los métodos de extracción convencionales, como la extracción por solvente y Soxhlet, son los más utilizados. No obstante, técnicas emergentes, como la extracción asistida por ultrasonido, fluidos supercríticos y microondas, han demostrado ser más eficaces para preservar las propiedades funcionales de los aceites (Lefebvre et al., 2021). Por ejemplo, en el caso de la quinua, el contenido de tocoferoles varía significativamente según el método utilizado, siendo de 5.982 mg/100 g con extracción convencional y de 336.0 mg/100 g con extracción por fluidos supercríticos (Przygoda, 2015; Tang et al., 2015). Esto sugiere que las técnicas avanzadas no solo permiten la extracción de aceite, sino que también pueden influir en la conservación de compuestos bioactivos.

Por lo antes mencionado, el trabajo de investigación propone la extracción de aceite de cañihua mediante la metodología de fluidos supercríticos y evaluar los tocoferoles.

## **1.2. Formulación del problema**

### **a. Problema general**

¿Cuánto de aceite se podrá extraer mediante fluido supercrítico de dos variedades de cañihua (*Chenopodium Pallidicaule* Aellen) Cupi e Illpa-INIA sin perigonio y cuál será el contenido de tocoferoles?

### **b. Problemas específicos**

¿Cuál es el rendimiento de aceite extraído por método convencional y fluidos supercríticos con y sin perigonio de las variedades de cañihua Cupi e Illpa - INIA?

¿Cuál es el contenido de tocoferoles obtenidos mediante fluidos supercríticos en dos variedades de cañihua con y sin perigonio?

## **1.3. Justificación de la investigación**

La presente investigación se justifica desde múltiples perspectivas: científica, social, económica y ambiental, evidenciando su relevancia en el desarrollo y valorización de cultivos andinos como la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen). Este grano, considerado un pseudocereal, ha formado parte esencial de la dieta de las culturas andinas desde tiempos prehispanicos y, sin embargo, actualmente presenta un bajo nivel de consumo y producción en comparación con otros granos como la quinua. La cañihua, además de ser una fuente rica en proteínas, aminoácidos esenciales y carbohidratos, contiene compuestos bioactivos como la vitamina E (tocoferoles), que le otorgan propiedades funcionales y potenciales beneficios para la salud. Estas características hacen

imperativo su estudio y promoción para fomentar su integración en el mercado alimentario y farmacéutico.

La vitamina E, que fue descubierta por Katherine S. Bishop y Herbert M. Evans en la década de 1920, es un antioxidante soluble en lípidos que juega un papel crucial en la reproducción humana y animal. Aunque el nombre “vitamina E” parece referirse a un solo compuesto, en realidad hay 8 análogos de vitamina E: 4 tocoferoles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ) y 4 tocotrienoles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ), sin embargo, solo se utiliza  $\alpha$ -tocoferol para establecer la cantidad diaria recomendada (RDA) de vitamina E, donde la dosis diaria recomendada para adultos es de 15 mg de  $\alpha$ -tocoferol, pero más del 88 % de la población en Estados Unidos no cumple ello (Ranard & Erdman, 2018). El consumo de vitamina E es importante debido a que, en la actualidad se han realizado diversos estudios que muestran la importancia, prevención de cáncer (Das Gupta & Suh, 2016), evita la neurodegeneración (Ranard & Erdman, 2018), enfermedades cardiovasculares y enfermedad de Alzheimer (Thompson & Cooney, 2020). Cabe mencionar que en varios de los estudios mencionados se basan en  $\alpha$ -tocoferol, por lo que, al momento de la revisión los demás análogos de la vitamina E no se han estudiado, quedando una apertura de los beneficios que puedan tener estos. Por lo que, el estudio de aceites obtenidos de diferentes matrices vegetales y su evaluación sobre el contenido de tocoferoles, no necesariamente el porcentaje de aceite extraído sería importante, sino también los beneficios que aportan los compuestos que contiene.

Sin embargo, la cantidad y calidad de los tocoferoles presentes en el aceite de cañihua no han sido exploradas ampliamente, especialmente cuando se utiliza la extracción con fluidos supercríticos (EFS-CO<sub>2</sub>), un método avanzado que permite preservar compuestos funcionales. Este enfoque innovador no solo permitirá caracterizar el aceite de cañihua,

sino también establecer comparaciones con otros aceites vegetales para demostrar sus ventajas competitivas.

En términos económicos, la investigación ofrece una oportunidad para diversificar los productos derivados de la cañihua, promoviendo su transformación en subproductos de alto valor agregado, como el aceite rico en tocoferoles. Esto podría incentivar la producción de cañihua en comunidades agrícolas, generando ingresos adicionales y mejorando las cadenas de valor locales. Además, el uso de tecnologías avanzadas como la extracción por fluidos supercríticos puede posicionar a este aceite en nichos de mercado premium, tanto en el ámbito nacional como internacional.

Finalmente, desde una perspectiva ambiental, el cultivo de cañihua es una práctica sostenible que contribuye a la preservación de la biodiversidad andina y a la mitigación del impacto ambiental asociado con los monocultivos intensivos. Además, la extracción con fluidos supercríticos, al ser una tecnología limpia que no utiliza solventes tóxicos, es respetuosa con el medio ambiente y garantiza un producto final libre de contaminantes.

#### **1.4. Objetivos de la investigación**

##### **1.4.1. Objetivo general**

Extraer aceite mediante fluido supercrítico de dos variedades de cañihua (*Chenopodium Pallidicaule* Aellen) Cupi e Illpa-INIA y cuantificar sus tocoferoles.

##### **1.4.2. Objetivos específicos**

Evaluar el efecto del método de extracción (convencional y fluido supercrítico) de dos variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) con perigonio y sin perigonio sobre el rendimiento de aceite.

Evaluar el efecto de las variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) con perigonio y sin perigonio sobre el sobre el contenido de tocoferol obtenido mediante extracción por fluido supercrítico.

## CAPITULO II

### MARCO TEORICO CONCEPTUAL

#### 2.1. Bases teóricas

##### 2.1.1. Cañihua

La cañihua cuyo nombre científico es *Chenopodium pallidicaule* Aellen, denominado así por Paúl Aellen en 1929 (Apaza, 2010). Considerado como un pseudo cereal, debido a que no son gramíneas, pero tienen usos similares como los cereales en grano (CODEX ALIMENTARIUS, 2016), el término “pseudocereal” combina “cereal”, refiriéndose a granos, con el prefijo “pseudo” que significa “falso o parecido”, donde las plantas más representativas corresponden a la familia Amarathaceae, Chenopodiaceae entre otros (Fletcher, 2016). Se cultiva en las regiones de Puno, Cusco, Huancayo y Huancavelica (INDECOPI, 2018), entre a los 3 800 y 4 200 m s.n.m. (MINAGRI, 2010), es resistente al frío, pudiendo germinar a temperaturas de 5°C y florecer a los 10°C, las semillas maduran a los 15°C y debido a su corta raíz soporta pH entre los 4,8 a 8,5 además muestra cierta tolerancia a la salinidad (MINAGRI, 2018).

Aellen (1929) citado por Apaza (2010), menciona que la clasificación taxonómica propuesta por Aellen es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Angiospermophyta

Clase: Dicotyledoneae

Sub clase: Archichlamydeae

Orden: Centrospermales

Familia: Chenopodiáceae

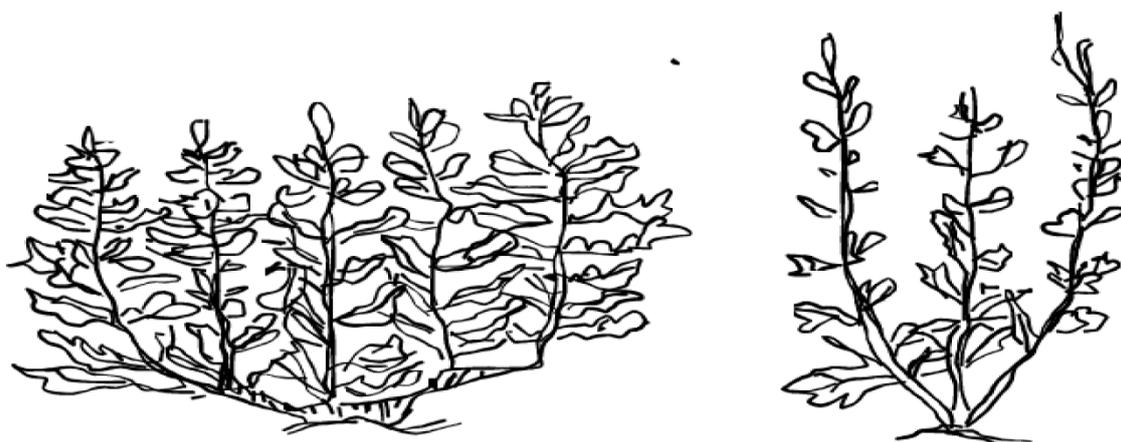
Género: *Chenopodium*

Especie: *Chenopodium pallidicaule*

Existen más de 200 variedades, las cuales se puede clasificar por su ecotipos (saiwa, lasta y pampalasta), coloración de planta (amarillo, rosado, anaranjado, rojo o púrpura ) y coloración de semilla (marrón, castaño, negro entre otros) (INDECOPI, 2018), por su hábito de crecimiento, se divide en dos grupos, decumbentes - lasta y ascendentes - saiwa (Mérida-Lopez et al., 2023). El Perú se cuenta con 48 ecotipos, 430 acciones, y las variedades mejoradas más representativas son Ramis, Cupi e INIA 406 (Apaza, 2010), por su parte en Bolivia tanto la Universidad San Andrés como PROINPA han identificado 9 variedades siendo la Illimani y Kullaca las más distribuidas (Giménez et al., 2017).

**Figura 1.**

*Hábito de crecimiento, decumbente/ lasta (izquierda) y ascendente/ saiwa (derecha).*



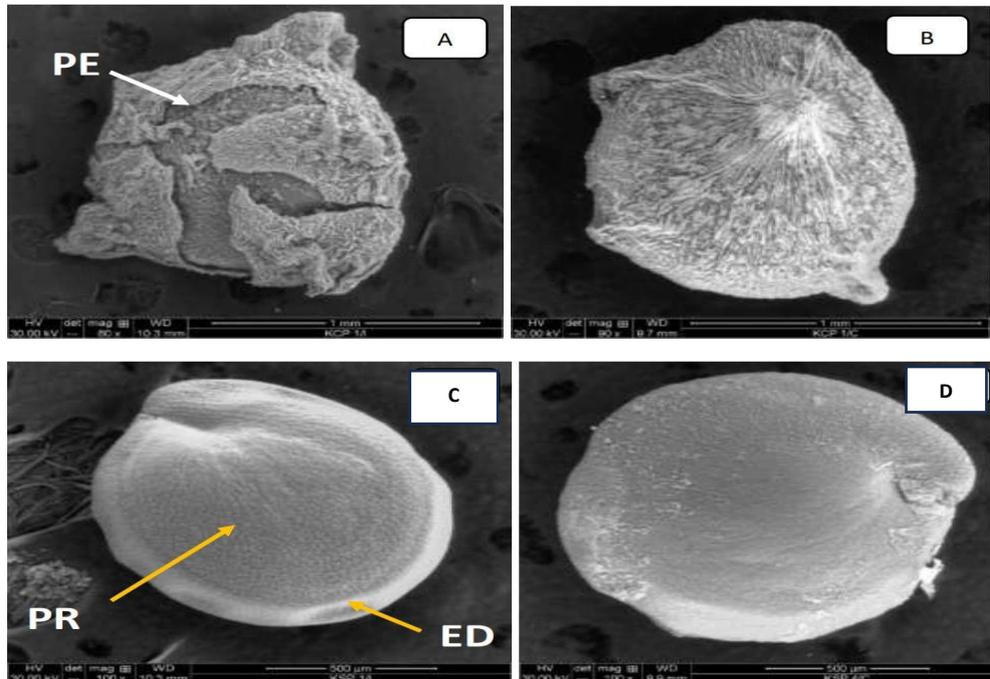
Fuente: Mérida-Lopez et al. (2023)

La semilla o grano de cañihua, es de forma subcilíndrica, cónico y subelipsoidal, presenta un diámetro entre 1 a 1.2 mm, el embrión es curvo-periforme, el epispermo es fino puntiagudo y de diferentes colores, está cubierto de perigonio que es una capa delgada y transparente (Apaza, 2010).

Bravo-Portocarrero et al. (2022), muestran que el rendimiento en la variedad Ramis es 10.35 g/planta y la de Illpa-INIA de 16.85 g/planta, y el tiempo en alcanzar la madurez fisiológica es en Illpa-INIA de 142 días y Ramis de 137 días.

**Figura 2.**

*Imagen SEM de 80x (A) Grano de cañihua con perigonio variedad Illpa-INIA. (B) Grano de cañihua con perigonio variedad Cupi. (C) Grano de cañihua sin perigonio variedad Illpa-INIA. (D) Grano de cañihua sin perigonio variedad Cupi.*



Fuente: Huiche (2018)

Los granos y cereales juegan un papel importante en la dieta diaria, satisfacen aproximadamente la mitad de las necesidades de energía y proteínas. El consumo per cápita de cereales y granos en el Perú muestra que el arroz es el mayor 54 Kg/año, el trigo 43 kg/año, el maíz 12.3 kg/año, y la quinua 1.1 kg/año. El aporte nutricional de estos cereales con respecto a la cañihua (Tabla 1), muestra las ventajas de la cañihua frente a los otros cereales mencionados (INS, 2017; Repo-Carrasco-Valencia et al., 2009, 2010).

**Tabla 1***Composición proximal de diferentes variedades de cañihua y otros granos y cereales*

<b>Variedades de cañihua</b>	<b>Agua %</b>	<b>Proteína %</b>	<b>Grasa %</b>	<b>Carbohidratos %</b>	<b>Fibra %</b>	<b>Referencia</b>
Cupi	10.37	14.41	5.68	63.64	2.98	Repo-Carrasco et al. (2009)
Ramis	11.79	14.88	6.96	65.65	2.79	Repo-Carrasco et al. (2009)
Kello	10.37	15.38	7.36	59.4	3.56	Repo-Carrasco et al. (2010)
Ayara	10.39	14.38	6.66	58.5	3.95	Repo-Carrasco et al. (2010)
Illpa	7.35	18.47	5.11	58.31	6.32	Pauro (2017)
<b>Otros cereales</b>						
Arroz	13.4	7.8	0.7	77.6		INS (2017)
Trigo	12.6	8.4	1.4	76.1		INS (2017)
Maiz	12	7.4	0.5	80	0.4	Villa et al. (2014)
Quinoa	14.7	11.7	12.4	55.3	2.2	Villa et al. (2014)

### 2.1.2. Plantas oleaginosas

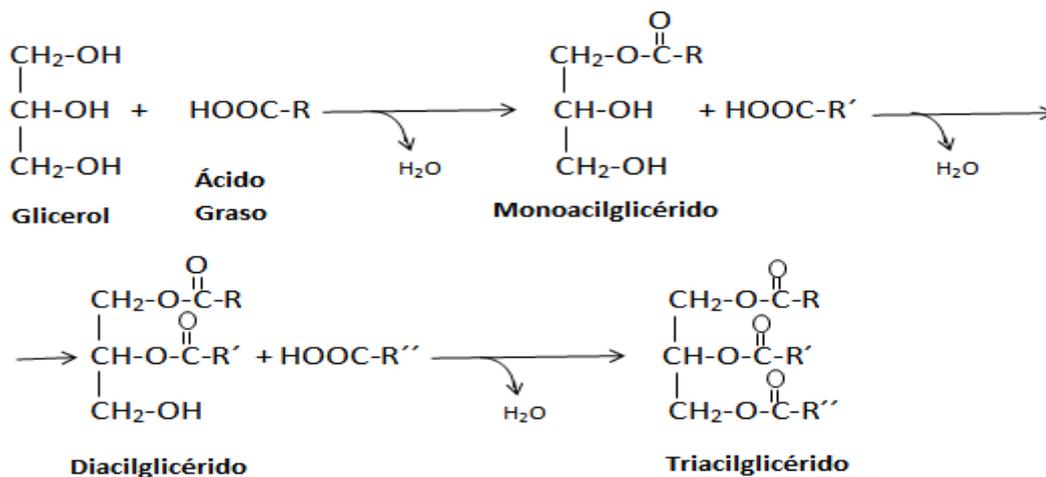
Las plantas oleaginosas, son aquellas de las cuales se puede extraer aceite, ya sea para consumo humano y de uso industrial (SAGARPA, 2017), cuyo contenido de aceite presenta que al girasol con 58.6%, aceituna 32.1% y soya 18.7 % respectivamente (INS, 2017). Existen diferentes plantas que por su contenido aceite pueden ser consideradas plantas oleaginosas alternativas, los cuales contienen valores por encima del 10% (Berti et al., 2006), y si bien la cañihua contiene aproximadamente 7 % (Repo-Carrasco et al., 2009) estas pueden ser utilizadas como una alternativa para la obtención de aceite vegetal.

Las proteínas, carbohidratos y grasas son los principales compuestos de almacenamiento en los granos, para el caso de las grasas este se presenta como ceras o triacilgliceroles (Baud & Lepiniec, 2010), estos se encuentran en el endospermo y en el embrión, diversos estudios han demostrado que las cantidades de triacilgliceroles tanto en el endospermo como en el embrión pueden ser diferentes, así como la composición de ácidos grasos (Miray et al., 2021). Los triacilgliceroles son los lípidos de almacenamiento más comunes, están compuestos por tres grupos acilo grasos esterificados en una cadena principal de glicerol en las posiciones sn -1, sn -2 y sn -3, se forman en una reacción de

condensación entre el glicerol y tres ácidos grasos: el glicerol tiene tres grupos -OH a los que se unen los tres ácidos grasos mediante grupos carboxilo. Esto crea tres enlaces covalentes llamados enlaces éster, el grupo carboxilo de cada ácido graso pierde un átomo de hidrógeno y el glicerol pierde tres grupos -OH. El resultado es que cuando los tres ácidos grasos se unen al glicerol se liberan no una sino tres moléculas de agua (Baud & Lepiniec, 2010).

**Figura 3.**

*Formación de triacilglicérido.*

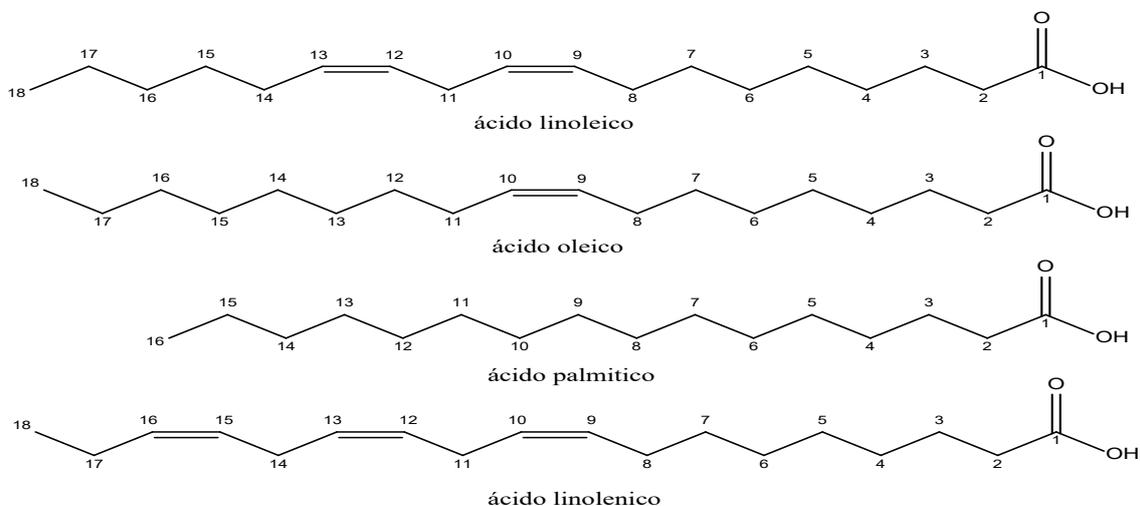


Fuente: Lárez (2017)

Los aceites vegetales están compuestos en un 100 % de grasas INS (2017), constituidos principales ácidos grasos, monoacilgliceroles, diacilgliceroles, triacilgliceroles, fosfolípidos, eicosanoides, resolvinas, docosanoides, esteroles, ésteres de esteroles, carotenoides, vitaminas liposolubles, alcoholes (FAO, 2012b), según Huamaní (2018), en la cañihua están presentes el ácido linoleico (49.6%), ácido oleico (27.9%), ácido palmítico (13.5%) y el ácido linolénico (6.8%), que son importantes a nivel nutricional (FAO, 2012b), lo que hacen atractiva su extracción.

**Figura 4.**

*Estructura de ácidos grasos.*



Fuente: Lárez (2017)

Si bien los granos andinos se caracterizan por el contenido de aminoácidos como la lisina 5.9 g/100 g proteína, metionina 1.6 g/100 g proteína, treonina 4.7 g/100 g proteína y triptófano, 0.9 g/100 g proteína respectivamente (Ayala, 2004), estos no se presentan en el aceite, debido a su característica hidrofóbica además de ser precursoras de las proteínas (Espinosa-Silva, 2015).

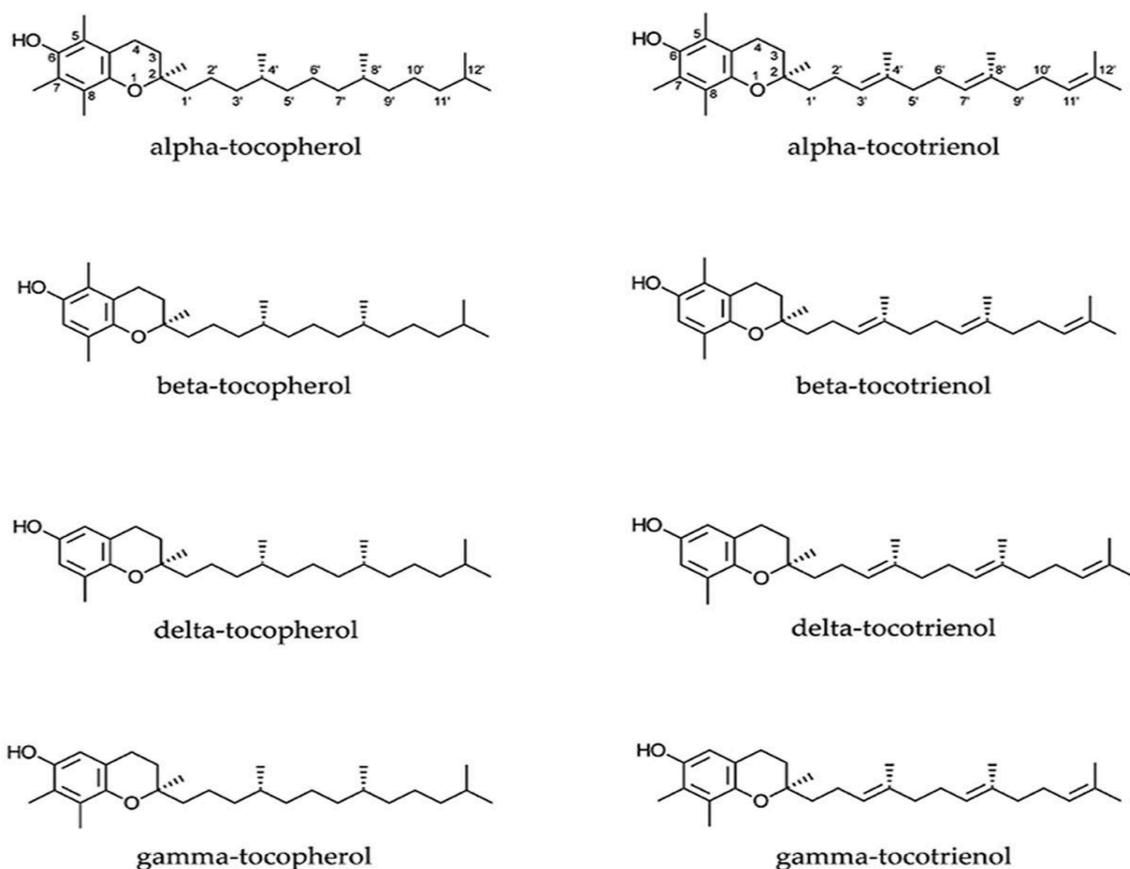
### **2.1.2. Vitamina E**

En el caso de las vitaminas, los aceites presentan vitamina E formados principalmente por tocoferol y tocotrienol (Bravo et al., 1976). Es una vitamina liposoluble, esencial para la salud, generalmente se ingiere con alimentos que contienen grasa, el cuerpo puede almacenarla, por lo que no tiene que consumirse todos los días. (Zingg, 2007). El término “tocoferol” se refiere a los derivados del tocol sustituidos con metilo y no es sinónimo del término vitamina E. Los tococromanoles naturales comprenden dos series homólogas: los tocoferoles con cadena lateral saturada y los tocotrienoles con cadena lateral insaturada (Figura 5). Los homólogos de vitamina E tococromanol con mayor difusión en

la naturaleza son cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocoferol y  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocotrienol. Los tocoferoles y los tocotrienoles tienen la misma estructura química básica caracterizada por una cadena larga unida en la posición 2 de un anillo de cromano. Los tocotrienoles difieren de los tocoferoles porque poseen una cadena lateral C16 de farnesilo en lugar de un isoprenoide saturado. Tanto los tocoferoles como los tocotrienoles pueden diferir en la metilación del grupo de cabeza de cromano:  $\beta$ - y  $\gamma$ - son isómeros estructurales (5,8-dimetiltocol y 7,8-dimetiltocol), mientras que  $\alpha$ - y  $\delta$ - (5,7,8- trimetiltocol y 8-metiltocol) difieren entre sí y de  $\beta$ - y  $\gamma$ - porque poseen un grupo metilo más o uno menos en el anillo aromático (Colombo, 2010).

**Figura 5.**

*Estructura de tocoferol y tocotrienol*



Fuente: Shahidi et al. (2021)

### **2.1.3. Extracción de aceite vegetal**

El proceso de separación de aceites de las semillas oleaginosas se denomina extracción, esto es posible a través de una variedad de técnicas químicas, bioquímicas y mecánicas (Gnansounou & Raman, 2017). Durante las últimas décadas, los investigadores han realizado diferentes esfuerzos en desarrollar métodos de extracción más eficientes y sostenibles (Baskar et al., 2018), para no utilizar solventes dañinos (hexano, metanol, éter de petróleo entre otros) que son perjudiciales para el medio ambiente y los seres humanos (Doria Serrano, 2009). Las extracciones han pasado de las extracciones mecánicas y con solventes convencionales a técnicas no convencionales mejoradas, como la extracción asistida por ultrasonido (EAU) y microondas (EAM) (Yusuf, 2018), la extracción con fluidos supercríticos (EFS) (Ahangari et al., 2021) entre otros.

La extracción mecánica es uno de los métodos más antiguos utilizados para la extracción de aceite, donde las semillas deben de ser trituradas y colocadas entre barreras (capachos), el volumen de la semilla se reduce mediante el uso de prensas mecánica o hidráulicas, lo que obliga a que el aceite y agua salga de las semillas agua y aceite (Yusuf, 2018), aunque el prensado mecánico no es eficiente, pero presenta buena calidad y la posibilidad de aprovechamiento de su torta a diferencia de la extracción se realiza con solventes (Alba Pons, 2015).

El proceso de Extracción por Solvente Convencional (ESC) es uno de los métodos más utilizados para la obtención de aceites vegetales debido a su simplicidad, rentabilidad y eficiencia. Este método se basa en la capacidad del solvente para disolver los aceites presentes en las semillas oleaginosas y extraerlos de manera efectiva. La selección del solvente es un aspecto crítico, ya que debe ser altamente soluble para los aceites y al mismo tiempo permitir una extracción eficiente con el menor impacto posible en la

calidad del producto final. El proceso de ESC generalmente se lleva a cabo mediante uno de dos enfoques principales: por lotes o de forma continua, dependiendo de las necesidades de producción. Consiste en tres etapas fundamentales. La primera etapa es la limpieza y acondicionamiento de las semillas oleaginosas, en la que se eliminan impurezas y se preparan las semillas para maximizar la eficiencia de la extracción. Esto puede incluir el descascarado, la molienda o el calentamiento para facilitar la liberación del aceite. La segunda etapa es la extracción del aceite, en la que las semillas pretratadas se mezclan con el solvente, típicamente en un extractor diseñado para maximizar el contacto entre ambos. Durante este proceso, el solvente penetra en las células de las semillas y disuelve los lípidos, formando una mezcla conocida como miscela (aceite y solvente). La tercera etapa es la separación de la miscela, en la que se eliminan los residuos sólidos de las semillas y se recupera el solvente, dejando el aceite crudo listo para su posterior refinación o uso (Nde & Anuanwen, 2020).

La extracción asistida por ultrasonido (EAU), es un tipo especial de onda de sonido más allá del oído humano, con frecuencias que van de 20 a 100 MHz, las ventajas de los EAU incluyen tiempos de extracción más cortos, demandas de energía bajas y una alta eficiencia de extracción (Fuad & Don, 2016). La EAU se atribuye principalmente al comportamiento de la cavitación que provoca la formación y crecimiento de burbujas y su posterior colapso. El resultado de este colapso son efectos físico-químicos y mecánicos que provocan la ruptura de la matriz del material, lo que facilita la liberación de compuestos extraíbles y ayuda al movimiento del solvente hacia la muestra, aumentando así la liberación de los compuestos objetivo de la matriz hacia el solvente (Jing et al., 2015).

La extracción por fluido supercrítico (EFS), se basa en el uso de un fluido supercrítico (FS), donde una sustancia a una temperatura y presión por encima de su punto crítico no

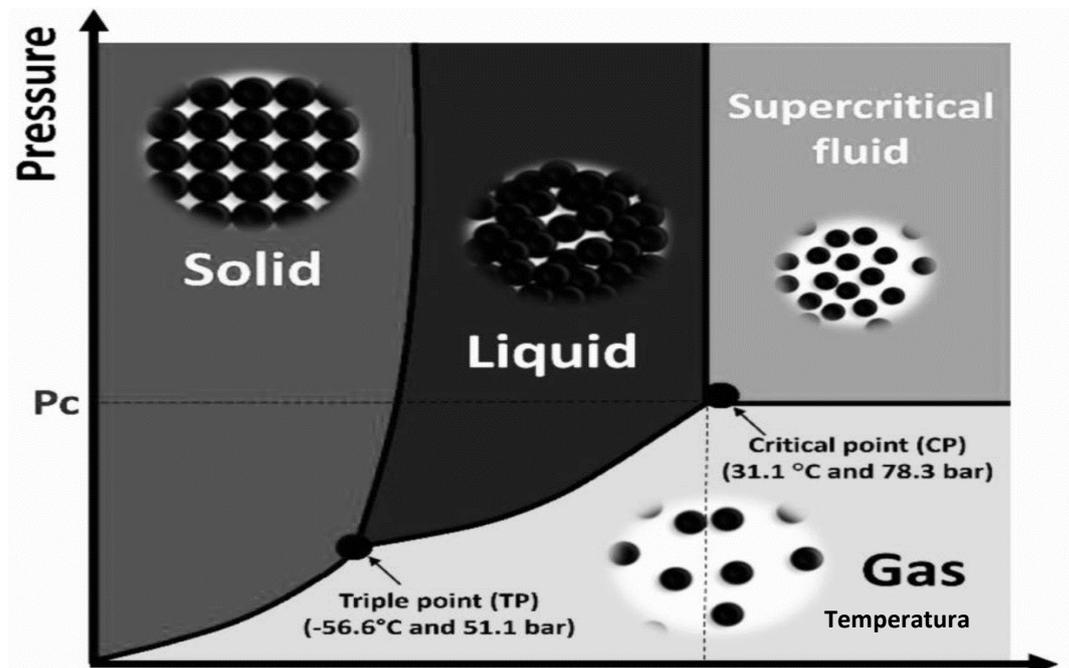
existen distintas fases líquidas y gaseosas, mediante la EFS, el solvente puede difundirse a través de matrices sólidas y posteriormente disolver materiales como líquidos normales. Dado que muchos EFS se realizan cerca del punto crítico del fluido, cuando pequeños cambios en la presión o la temperatura dan como resultado grandes cambios en la densidad del fluido (Niessen & Woelk, 2007). Aunque se puede emplear una variedad de solventes en condiciones supercríticas, el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) es el más utilizado para la recuperación de compuestos bioactivos y valiosos a partir de matrices naturales. El CO<sub>2</sub> presenta varias ventajas, incluyendo condiciones críticas leves, no tóxico, no inflamable, no explosivo y, además, fácilmente disponible. Además, al ser un gas en condiciones ambientales, el CO<sub>2</sub> se elimina fácilmente de los extractos obtenidos durante la descompresión, lo que permite obtener extractos libres de disolventes. Esta última propiedad es de interés para la generación de compuestos bioactivos para ser utilizados en la industria alimentaria (Herrero et al., 2015).

Las propiedades de los solventes utilizados en la Extracción con Fluidos Supercríticos (EFS) pueden modificarse ajustando parámetros como la presión y la temperatura, lo que afecta directamente la densidad del fluido y, en consecuencia, su capacidad de solvencia. Esta flexibilidad convierte a la EFS en una técnica altamente selectiva y versátil, especialmente adecuada para la extracción de compuestos específicos en matrices naturales complejas. Cambios pequeños en las condiciones operativas permiten al fluido supercrítico actuar como un solvente eficaz para una amplia gama de compuestos, desde no polares hasta moderadamente polares, preservando su funcionalidad y calidad. Esto la hace ideal para aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética, donde se requieren métodos de extracción eficientes y respetuosos con los compuestos bioactivos (Niessen & Woelk, 2007)..

Sin embargo, un desafío significativo del uso de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) como fluido supercrítico es su baja polaridad, lo que dificulta la extracción de compuestos altamente polares. Este problema puede mitigarse mediante el uso de co-solventes, como etanol o agua, que incrementan la polaridad del sistema y amplían la gama de compuestos extraíbles. El  $\text{CO}_2$  supercrítico alcanza su estado crítico a  $31.1\text{ }^\circ\text{C}$  y  $78.3\text{ bar}$ , condiciones que son relativamente suaves, lo que lo hace ideal para materiales sensibles al calor y minimiza la degradación química de los compuestos bioactivos. En este contexto, la EFS se destaca como una técnica de extracción limpia, eficiente y adaptable, capaz de ofrecer productos de alta calidad con un menor impacto ambiental (Fig. 6) (Niessen & Woelk, 2007).

**Figura 6.**

*Diagrama esquemático que muestra la región del fluido supercrítico para  $\text{CO}_2$ .*



Fuente: Niessen & Woelk (2007).

Teniendo en cuenta la naturaleza química de la mayoría de los compuestos bioactivos naturales, generalmente compuestos polares, es posible que el  $\text{CO}_2$  por sí solo no pueda

extraerlos. Para hacer frente a este problema, se emplean co-solventes (también llamados modificadores) durante la extracción en pequeñas proporciones (típicamente, 1–10%). Estos cosolventes son solventes con mayor polaridad que el CO<sub>2</sub>, ampliando la gama de compuestos alcanzables aumentando la polaridad de la mezcla supercrítica (Banchero, 2020). Otra ventaja práctica de EFS es la posibilidad de realizar el fraccionamiento durante la descompresión, simplemente usando dos o más pasos de descompresión (Arturo-Perdomo et al., 2021).

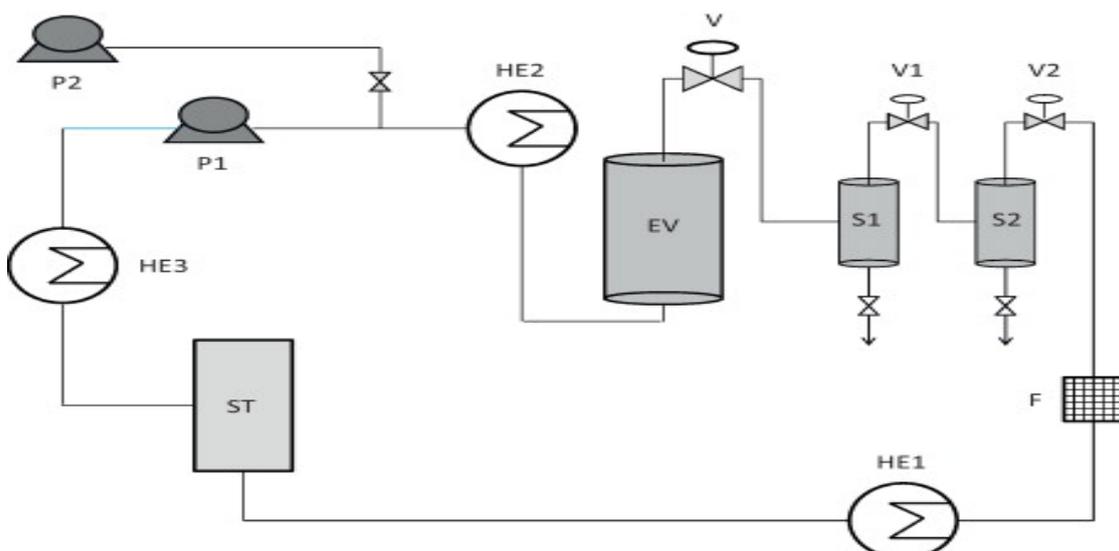
Por tanto, en un proceso de extracción intervienen una gran cantidad de factores, no solo los mencionados anteriormente (disolvente supercrítico, naturaleza del modificador, proporción de modificador, temperatura y presión), sino también otros parámetros relacionados con la muestra y el proceso de extracción, como el contenido de agua, tamaño de partícula, agente dispersante, cantidad, caudal, tiempo de extracción o fraccionamiento. Incluso se puede variar el modo de extracción, de modo estático a dinámico o mixto utilizando un paso estático corto seguido de un paso dinámico más largo (Yousefi et al., 2019).

La Figura 7, muestra un esquema de EFS de materiales sólidos, el diseño del equipo implica un procedimiento semicontinuo. La pieza central del dispositivo EFS es el recipiente de extracción (EV) cargado con la materia prima a extraer. La materia prima (secada y triturada) generalmente se carga en una canasta, ubicada dentro del extractor, y permite una rápida carga y descarga del recipiente de extracción. El recipiente de extracción es comúnmente cilíndrico, como regla general, se recomienda que la relación entre la longitud y el diámetro sea de 5 a 7. Desde el fondo del recipiente de extracción se carga continuamente el disolvente supercrítico, a la salida del extractor el disolvente supercrítico con los solutos extraídos fluye a través de una válvula de despresurización (V) hacia un separador (S1) en el que, debido a la menor presión, se separan los extractos

del disolvente gaseoso y se recogen. Algunos dispositivos EFS contienen dos o más separadores, como es el caso del esquema que se muestra en la Fig. 7. En este caso, es posible fraccionar el extracto en dos o más fracciones (fraccionamiento en línea) ajustando las temperaturas y presiones adecuadas en los separadores. En el último separador del sistema de descompresión en cascada el disolvente alcanza la presión del sistema de recirculación (generalmente alrededor de 4 - 6 MPa). Luego, luego de pasar por un filtro (F), el solvente gaseoso es licuado (HE1) y almacenado en un tanque de suministro (ST). Cuando se retira el solvente de este tanque, se bombea (P1), luego se calienta (HE2) hasta la presión y temperatura de extracción deseadas. Antes de bombear, generalmente se requiere un preenfriamiento del solvente (HE3) para evitar la cavitación de la bomba. Si se emplea un co-solvente, es necesaria una bomba adicional (P2). Normalmente, el co-solvente se mezcla con el disolvente antes de la introducción en HE2 (Fornari et al., 2012).

**Figura 7.**

*Esquema típico de SFE para la extracción de matriz vegetal.*



*Nota: P1: bomba de CO<sub>2</sub>; P2: bomba de codisolvente; HE1, HE2, HE3: intercambiadores de calor; EV: recipiente de extracción; S1, S2: células separadoras; V, V1, V2: válvulas reguladoras de contrapresión; ST: Tanque de almacenamiento de CO<sub>2</sub>; F: filtro.*

*Fuente: Fornari et al. (2012).*

#### **2.1.4. Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)**

La HPLC se emplea comúnmente en el análisis de metabolitos, ya que proporciona una excelente herramienta de separación y cuantificación. Independientemente de la clase de compuesto, la separación mediante el modo de fase inversa es el método elegido en HPLC. Las columnas de octadecil sílice (ODS o C18) se utilizan comúnmente como fase estacionaria en HPLC de fase reversa. Otros materiales, como C8 o C2, también se pueden usar fases fenilo, amino y ciano para proporcionar diferentes grados de selectividad. La selectividad depende también de la composición de la fase móvil. Comúnmente se usan metanol o acetonitrilo en combinación con varios porcentajes de agua para preparar la fase móvil que se puede emplear en modo isocrático o en gradiente. La temperatura de la columna, el pH de la fase móvil y sus modificadores son otros parámetros que pueden usarse para optimizar la separación de esteroides. El uso de columnas estrechas y cortas puede reducir con éxito la cantidad de disolvente necesaria y el tiempo de análisis (Hameedat et al., 2022).

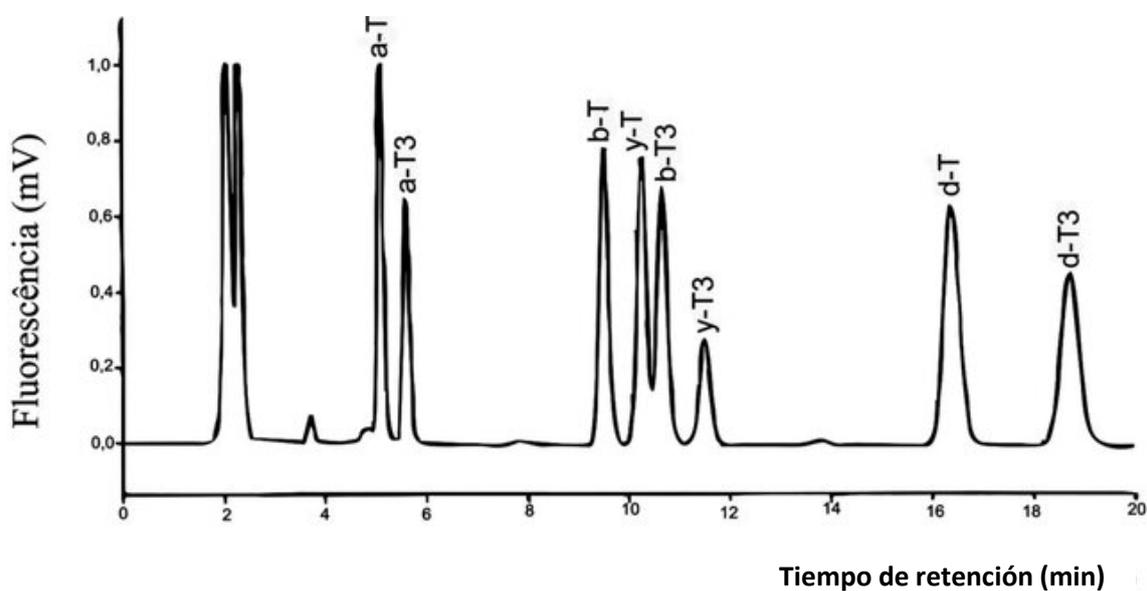
La preparación de muestras para la determinación cromatográfica de tocoferoles y tocotrienoles en aceites vegetales puede incluir extracción líquido-líquido sin saponificación o extracción con disolvente después de la saponificación. Estos diferentes procedimientos están condicionados por la matriz alimentaria bajo evaluación. El análisis se puede realizar con HPLC o cromatografía de gases (GC). Sin embargo, normalmente se ignora la GC debido a la naturaleza no volátil de estos compuestos, lo que requiere una derivatización antes del paso de cuantificación. HPLC tanto normal (NP) como de fase reversa (RP) son las metodologías más comunes utilizadas para el análisis de tocoferoles y tocotrienoles. Al comparar las columnas RP y NP para la separación, estas últimas muestran la principal ventaja, ya que permiten una buena separación de todos los isómeros. Los detectores de HPLC utilizados en el análisis de estos compuestos incluyen

detección ultravioleta (UV), fluorescencia, dispersión de luz por evaporación (ELSD), electroquímica y amperométrica. La detección por fluorescencia se describe como más sensible y selectiva que la UV (Cunha et al., 2006).

La Figura 8 muestra un perfil cromatográfico típico obtenido para mezclar las soluciones estándar de los ocho isómeros de la vitamina E. La elución de los compuestos siguió el orden característico utilizando un sistema de fases normal, a saber:  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocotrienol,  $\beta$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol,  $\beta$ -tocotrienol,  $\gamma$ -tocotrienol,  $\delta$ -tocoferol,  $\delta$ -tocotrienol (Guinazi et al., 2009).

**Figura 8.**

*Cromatogramas de una mezcla estándar para tocoferol*



## 2.2. Marco conceptual

**Cañihua.** Es una planta que crece en la región andina, contando con más de 200 variedades

**Perigonio.** Es una envoltura externa, formada generalmente por un verticilo o tépalos.

**Vitamina E.** Es un grupo de ocho compuestos solubles en grasa que incluyen cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles.

**Tocoferol.** es un compuesto orgánico liposoluble, existen cuatro isómeros de tocoferol, (alfa, beta, gamma y delta), siendo el alfa-tocoferol el más abundante y biológicamente activo en el cuerpo humano

## 2.3. Antecedentes

Del Carpio-Jiménez et al. (2023), evaluaron la composición y propiedades del aceite obtenido de cañihua, mediante EFS-CO<sub>2</sub>. El rendimiento de extracción fue de 2.14 g /100 g. El principal ácido graso insaturado fue el ácido linoleico (42.1%), seguido del ácido oleico (24,7%) y el ácido linolénico (3,0%). La gravedad específica fue 0,897 a 20 °C, el índice de acidez promedio fue 0.48 mg/KOH, y el índice de saponificación fue 190 mg KOH/g de aceite.

Yu et al. (2023), extrajeron aceite de tarwi (*Lupinus mutabilis*) por EFS-CO<sub>2</sub>, evaluaron el efecto de la presión, la relación solvente-alimentación, el tamaño de partícula de la muestra y la temperatura sobre el rendimiento del aceite. A 500 bar, 40 °C, solvente-alimentación de 24 y 5 horas se extrajo el 86% de aceite a las 5 horas. Demostraron que, el aumento en la temperatura fue desfavorable para el rendimiento de aceite y contenido de tocoferoles, además que, a calidad del aceite y el rendimiento no tenían

configuraciones óptimas idénticas, lo que abrió posibilidades para producir diferentes calidades de aceites.

Clara et al. (2020), caracterizaron los aceites de chía (*Salvia hispanica*), sésamo (*Sesamum indicum*) y quinua (*Chenopodium quinoa*), extraído mediante prensa en frío. El aceite de quinua se destacó por su mayor estabilidad oxidativa (17,55 h) y mayor cantidad de compuestos fenólicos (190.84 mg/100 g). Los aceites de sésamo y quinua no mostraron diferencias significativas para los carotenoides, pero el aceite de sésamo tuvo mayor contenido de tocoferoles totales (656.50 mg/kg) seguido de la quinua con (343.48 mg/kg).

Sun et al. (2021), utilizaron EFS-CO<sub>2</sub> para obtener aceite rico en tocoferoles a partir de semillas de canola (*Brassica napus*). Los resultados mostraron una concentración ~8 veces superior al método de extracción por solvente (n-hexano), a una presión de 18 MPa, temperatura de 70 °C, tiempo de mantenimiento de 60 min y tiempo de extracción de 30 min, son las condiciones óptimas de extracción. Además, se demostró que a tiempos prolongados y adición de cosolvente (etanol) se tuvo impactos negativos en el contenido de tocoferoles.

Jafarian Asl et al. (2020), investigaron métodos de extracción modificados EFS-CO<sub>2</sub> para obtener compuestos de alto valor agregado a partir del orujo de aceite de colza y se realizaron comparaciones con la extracción soxhlet modificada (extracción con solvente + sílice). Para la EFS, los parámetros de extracción óptimos fueron temperatura de 40 °C, presión de 350 bar (para fitoesteroles), 400 bar (para tocoferol), 5% en peso de etanol como co-solvente y pretratamiento de saponificación. El procedimiento EFS optimizado condujo a la recuperación de tres fitoesteroles principales (50 % en peso de  $\beta$ -sitosterol, 23.91 % en peso brasicasterol y 36.25 % en peso de campesterol) y solo  $\alpha$ -tocoferol. Además, no hubo efecto sinérgico con el pretratamiento de saponificación + codisolvente

y la eficiencia y concentración de los compuestos objetivo fueron menores que las del CO<sub>2</sub>+ codisolvente.

Narváez-Cuenca et al. (2020), obtuvieron aceite comestible a partir de semillas de guayaba mediante EFS-CO<sub>2</sub>. El aceite se caracterizó por su composición de ácidos grasos, propiedades fisicoquímicas, contenido de compuestos fenólicos, misceláneos, fitosteroles y tocoferoles. El aceite, obtenido con un rendimiento de 8.6 g aceite/100g de semillas, entre los fitosteroles y tocoferoles, el  $\beta$ -sitosterol (1048.9 mg/100g de aceite) y el  $\gamma$ -tocoferol (82.6 mg/100g de aceite) fueron los más abundantes.

Repo-Carrasco-Valencia et al. (2010), determinaron tocoferoles en granos andinos, en quinua obtuvo para  $\alpha$  tocoferol 721.4 ppm y  $\gamma$  tocoferol 797.2 ppm, mientras que la cañihua presento 726ppm de  $\alpha$  tocoferol, y 788.4 ppm para  $\gamma$  tocoferol. Respecto al contenido de  $\gamma$  tocoferoles, este fue ligeramente mayor para los aceites resultantes. Al realizar una comparación con el maíz se determinó que este, contiene 251 ppm de  $\alpha$  tocoferoles y 558 ppm de  $\gamma$  tocoferoles, siendo inferiores con respecto al de los granos andinos.

## CAPITULO III

### HIPÓTESIS Y VARIABLES

#### 3.1. Hipótesis

##### 3.1.1. Hipótesis general

El contenido de tocoferoles en el aceite extraído de las variedades Cupi e Illpa-INIA de cañihua (*Chenopodium Pallidicaule* Aellen) obtenido mediante extracción por fluido supercrítico es superior a otros aceites vegetales.

##### 3.1.2. Hipótesis específicas

El rendimiento de aceite obtenido a partir de las variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) está significativamente influenciado tanto por el método de extracción (convencional y extracción con fluidos supercríticos EFS-CO<sub>2</sub>) como por la presencia o ausencia de perigonio. Se espera que estos factores interactúen entre sí, afectando la eficiencia del proceso de extracción, con implicancias en el aprovechamiento de las variedades para la obtención de subproductos ricos en compuestos funcionales.

El contenido de tocoferoles, específicamente  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol, en el aceite extraído mediante EFS-CO<sub>2</sub>, varía significativamente entre las variedades Cupi e Illpa-INIA de cañihua y está influenciado por la presencia o ausencia de perigonio. Estas diferencias pueden atribuirse a las propiedades intrínsecas de cada variedad y a las características estructurales del grano.

#### 3.2. Identificación de variables e indicadores

Considerando que la presente investigación se realizó en tres etapas, las variables se muestran en la Tabla 2.

### 3.3. Operacionalización de variables

La operacionalización de variables se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2**

*Identificación de variables e indicadores*

Etapa	Descripción de etapa	Variable independiente	Variable Dependiente	Indicador
1	Se realizó el análisis proximal en las variedades de cañihua	Variedad de cañihua (Cupi e Illpa-INIA).	Humedad Ceniza Grasa Proteína Fibra Carbohidratos	Contenido proximal
2	Se realizó la extracción de aceite por diferentes métodos de extracción (convencional y fluido supercrítico) variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) y perigonio (contiene y no contiene)	Métodos de extracción (convencional y fluido supercrítico) Variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) Perigonio (contiene y no contiene)	Rendimiento en la extracción de aceite	Cantidad de aceite extraído
3	Se cuantifico tocoferoles del aceite obtenido por fluido supercrítico en variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) y perigonio (contiene y no contiene)	Variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) Perigonio (contiene y no contiene)	$\alpha$ tocoferol $\gamma$ tocoferol	Contenido de tocoferoles

**Tabla 3**

*Operacionalización de variables*

Etapa	Variable independiente	Variable dependiente	Dimensión	Indicador	Instrumento
1	Variedad de cañihua (Cupi e Illpa-INIA).	Humedad	Gravimetría de compuesto mayoritarios	Contenido proximal	Método estufa
		Ceniza			Método mufla
		Grasa			Método soxhlet
		Proteína			Método Kjehdal
		Fibra			Método Weende
		Carbohidratos			Diferencial
2	Métodos de extracción (convencional y fluido supercrítico)	Rendimiento en la extracción de aceite	Aceite extraído	Cantidad de aceite extraído	Porcentaje de aceite extraído
	Variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA)				
	Perigonio (contiene y no contiene)				
3	Variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA)	$\alpha$ tocoferol	Presencia de tocoferoles	Contenido de tocoferoles	HPLC DAD
	Perigonio (contiene y no contiene)	$\gamma$ tocoferol			

## CAPITULO IV

### MATERIALES Y METODOS

#### 4.1. **Ámbito de estudio: localización política y geográfica**

Las variedades de cañihua tanto Cupi e Illpa-INIA, fueron obtenidas en el Instituto Nacional de Innovación Agraria de Puno (INIA – Puno) ubicado en el Centro Poblado de Salcedo, de la Municipalidad Provincial de Puno, a latitud 15°52'52.10"S y longitud 70° 0'8.72"O (Figura 9). La extracción de aceites de los granos de cañihua por fluidos supercríticos se realizó en la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP) en la Planta piloto de la Facultad de Ingeniería Industrial. La extracción por solvente, la cuantificación proximal y caracterización de tocoferoles por HPLC-DAD, se realizó en el Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría, de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC).

#### **Figura 9**

*Ubicación de INIA – Puno.*



Fuente: GoogleEarth (s.f)

## **4.2. Tipo y nivel de investigación**

### **4.2.1. Tipo de investigación**

La presente investigación se clasifica como básica, ya que su objetivo principal es ampliar el conocimiento sobre las propiedades del aceite extraído de la cañihua, específicamente en relación con su contenido de tocoferoles. Es de tipo experimental, dado que se controlaron y manipularon variables para analizar los efectos del método de extracción, las variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) y la presencia o ausencia de perigonio sobre el rendimiento del aceite y el contenido de tocoferoles. Además, corresponde a una investigación transversal, ya que los datos fueron recolectados en un único período de tiempo, sin realizar un seguimiento a lo largo de distintos momentos. Por último, la naturaleza de la investigación es cuantitativa, debido a que se basa en la medición precisa y el análisis estadístico de variables como el rendimiento del aceite y los contenidos de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol.

### **4.2.2. Nivel de investigación**

El nivel de la investigación es explicativo, ya que tiene como objetivo analizar las relaciones de causa y efecto entre las variables involucradas en el estudio. En este contexto, se busca determinar cómo los métodos de extracción (convencional y con fluidos supercríticos), las variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) y la presencia o ausencia de perigonio influyen en el rendimiento de aceite y el contenido de tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol). Este enfoque permite no solo describir las características de las variables, como el contenido proximal de la cañihua, sino también comprender los mecanismos detrás de los resultados observados, aportando explicaciones fundamentadas sobre las diferencias en los parámetros analizados.

### **4.3.Unidad de análisis**

Tocoferoles (alfa y gamma) obtenidos en el aceite de dos variedades de cañihua.

### **4.4.Población de estudio**

Es la cañihua producida en la región Puno, tanto de las variedades Cupi e Illpa-INIA.

### **4.5.Tamaño de muestra**

Se utilizaron 1.97 kg de la variedad Illpa-INIA y 1.335 kg de la variedad Cupi,

### **4.6.Técnica de selección de muestra**

La muestra se obtuvo mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia, debido a que, si bien la producción se da en diferentes zonas de la región, los agricultores mezclan las variedades y la presente investigación debe de garantizar que la variedad no este mezclada, por lo que la muestra fue obtenida de la Estación Experimental Agraria INIA Illpa-Puno (Anexo 3).

### **4.7.Técnicas de recolección de información**

En esta investigación se implementaron diversas técnicas de recolección de información para garantizar la obtención de datos precisos y relevantes, alineados con los objetivos y las etapas experimentales del estudio. Estas técnicas fueron seleccionadas en función de la naturaleza de las variables y los métodos empleados, permitiendo una recolección sistemática y confiable.

Una de las principales técnicas utilizadas fue la observación directa, aplicada durante las actividades desarrolladas en los laboratorios. Esta técnica permitió registrar en tiempo real los procedimientos experimentales realizados, como la caracterización proximal de las variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA), el rendimiento de los métodos de

extracción de aceite (convencional y mediante fluidos supercríticos) y la cuantificación de tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol). La observación directa incluyó el monitoreo de cada etapa experimental, lo que garantizó la identificación inmediata de cualquier desviación o anomalía en los procesos.

Además, se llevaron a cabo mediciones experimentales, fundamentales para obtener datos cuantitativos precisos relacionados con las variables de estudio. Para ello, se emplearon instrumentos especializados, como balanzas analíticas para determinar la humedad y el rendimiento de aceite, equipos Soxhlet para la extracción convencional y un sistema de extracción por fluidos supercríticos (EFS) para garantizar la conservación de compuestos funcionales. Asimismo, la cuantificación de los tocoferoles se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), lo que permitió identificar y cuantificar con exactitud los niveles de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol en las muestras de aceite extraído. Estas mediciones fueron esenciales para evaluar el impacto de las variables independientes, como el método de extracción, la variedad de cañihua y la presencia o ausencia de perigonio.

Como complemento, se utilizó la revisión documental, una técnica que permitió fundamentar la investigación en un marco teórico sólido y contextualizar los resultados obtenidos. Para ello, se recopilaron y analizaron fuentes científicas relacionadas con los granos andinos, los métodos de extracción de aceite y los compuestos bioactivos, como la vitamina E. La revisión de literatura también fue clave para comparar los resultados obtenidos en este estudio con hallazgos previos y evaluar la contribución de la investigación al conocimiento existente.

Finalmente, se empleó la observación directa, para registrar datos obtenidos mediante servicios externos. Esto incluyó, por ejemplo, los resultados de la extracción de aceite por

fluidos supercríticos, realizada en la planta piloto de la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP). Esta técnica permitió complementar la información recolectada directamente en los laboratorios locales con datos generados en instalaciones especializadas, asegurando la calidad y precisión de los resultados.

#### **4.8. Técnicas de análisis e interpretación de la información**

##### **4.8.1. Acondicionamiento de materia prima**

Las variedades de cañihua adquirida en el INIA – Puno, fueron separadas en mitades tanto de la Cupi como Illpa-INIA, luego se transportaron en bolsas de polietileno de alta densidad (HPDE). Para retirar el perigonio de la cañihua se utilizó el método propuesto por Gonzales, (2011), teniendo como principio el método de lavado vía húmeda para quinua (Ahumada et al., 2016), se procedió a la inmersión de la cañihua en agua en una relación de 1:3, a temperatura ambiente (aproximadamente 12 °C), frotando levemente, el perigonio se retiró por desbaste, este proceso se realizó por cuatro veces, luego se secó por exposición directa al sol, de la cañihua sin perigonio que fue utilizada para la extracción de aceite. Para la molienda se utilizó un molinillo eléctrico RAF modelo R.7113 de las variedades de cañihua con y sin perigonio, se embolsaron y se almacenaron.

##### **4.8.2. Análisis proximal**

**a) Humedad.** La determinación de la humedad se realizó siguiendo el método AOAC 964.22. Primero, se pesaron 10 g de muestra en una balanza de precisión Sartorius, modelo Entris 124-1S. Posteriormente, la muestra se depositó en una luna de reloj de vidrio que había sido previamente desecada, se secó a 105°C en una estufa de aire forzado Memmert, modelo UF55plus, hasta alcanzar un peso constante. Después del

secado, la luna de reloj se trasladó a una campana desecadora y se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Finalmente, se calculó aplicando la Ecuación 1.

$$\% Humedad = \frac{Peso\ húmedo - Peso\ seco}{Peso\ húmedo} * 100 \quad ec.1$$

**b) Ceniza.** Para determinar el contenido de cenizas, se empleó el método estandarizado AOAC 942.05. Inicialmente, se pesaron 2 g de muestra utilizando una balanza de precisión Sartorius, modelo Entris 124-1S. Posteriormente, la muestra se colocó en un crisol de 15 mL y se incineró en un horno mufla Thermo Scientific, modelo FB1310M, a una temperatura de 600°C durante 2 horas. Después de la incineración, el crisol se trasladó a una campana desecadora y se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, se calculó mediante la Ecuación 2:

$$\% Ceniza = \frac{Peso\ ceniza}{Peso\ de\ muestra} * 100 \quad ec. 2$$

**c) Grasa.** La determinación de grasa, se realizó conforme a lo establecido en NTP 206.017. Se peso 2 g de muestra previamente desecada balanza de precisión Sartorius modelo Entris 124-1S, se calculó la masa del balón Soxhlet previamente desecado ( $P_1$ ), se secó la muestra a 100 °C en estufa Memmert modelo UF55plus de aire forzado hasta masa constante, se colocó la muestra desecada al interior de cartuchos de celulosa Scharlau de 22x100 mm, se agregó 200 mL de éter de petróleo Supelco (densidad 0.666 g/cm<sup>3</sup>) durante 5 horas, se desarmó el sistema soxhlet y se pesa el matraz a la cual se destilo para recuperar el solvente y luego se colocó en estufa Memmert modelo UF55plus a 105 °C durante 1 h, se pesó la masa de aceite extraído con el matraz ( $P_2$ ) y se determina el porcentaje de grasa mediante la Ecuación 3.

$$G = \frac{(P_2 - P_1)}{m} * 100 \quad ec. 3$$

Donde:  $G$  = grasa,  $P_1$  = Peso del vaso con el extracto etéreo o residuo de grasa de la muestra,  $P_2$  = Peso del vaso vacío, y  $m$  = Peso de la muestra empleada.

**d) Proteína.** La determinación de proteína se llevó a cabo utilizando el método Kjeldahl, conforme a lo establecido en la NTP 201.021. Para este procedimiento, se empleó un balón de vidrio de 100 mL de Baltalab, al que se añadieron perlas de vidrio para regular la ebullición. Además, se agregaron 15 g de Sulfato de potasio anhidro (Supelco,  $\geq 99\%$  de pureza), 0.5 g de sulfato de cobre (II) (Merck,  $\geq 99\%$  de pureza), y 2 g de muestra dispuesta sobre papel parafinado de dimensiones 9 x 6 cm. Todos los componentes fueron pesados con precisión utilizando una balanza Sartorius modelo Entris 124-1S. Se añadió cuidadosamente 25 mL de ácido sulfúrico (J.T. Baker, 95 – 98% de pureza) al balón y se mezcló suavemente. Posteriormente, el balón se colocó inclinado a  $40^\circ$  y se calentó hasta que la espuma se disipó. Se continuó el calentamiento, rotando el balón ocasionalmente, hasta que el líquido adquirió un color verde esmeralda y se mantuvo en ebullición durante 1.5 horas. Después de enfriar hasta  $40^\circ\text{C}$ , se agregaron 50 mL de agua destilada. Para la valorización, en un matraz Boeco de 500 mL, se añadió 50 mL de ácido bórico (Supelco,  $\geq 99.5\%$  de pureza) al 4%, junto con 4 gotas de una solución indicadora compuesta por 2 g de rojo de metilo y 1 g de azul de metileno disueltos en 1 L de etanol al 95%. El tubo que contenía la muestra se colocó en el lado izquierdo del destilador. Una vez dispuesto el balón y el matraz con ácido bórico, se dosificaron unos 40 mL de hidróxido de sodio (Supelco,  $\geq 98\%$  de pureza) al 40%. La destilación se llevó a cabo durante 20 minutos, resultando en aproximadamente 150 mL de destilado. Para la valorización, se utilizó ácido clorhídrico (Supelco, 37% de pureza) a 0.1 N. Para el blanco, se utilizó glutamato monosódico, se calculó según la siguiente Ecuación 4:

$$N = \frac{(V_1 - V_0) * 0.0014}{m} * 100 \quad \text{ec. 4}$$

Donde:  $V_1$  = Volumen en mL de solución de ácido clorhídrico 0.1 N requerida para ensayo en blanco,  $V_0$  = Volumen en mL de solución de ácido clorhídrico 0.1 N requerida para por la muestra, y  $m$ = Peso de la muestra empleada.

- e) **Fibra.** La determinación de fibra se llevó a cabo según lo estipulado en la NTP 205.003. Inicialmente, se tomó una muestra de 2 g de la cual se extrajo la grasa utilizando el método de Soxhlet, ya descrito previamente. Posteriormente, la muestra desgrasada y seca fue transferida a un vaso de precipitados de 500 mL, al que se añadieron 200 mL de ácido sulfúrico. La mezcla se calentó hasta ebullición y se mantuvo en estas condiciones durante 30 minutos. Tras la cocción, la muestra se filtró utilizando papel Whatman N° 1, y se lavó con agua caliente hasta que el filtrado fue transparente. Además, se realizó un lavado de la muestra en el papel filtro con alcohol etílico al 95%, repitiendo el proceso dos veces. El porcentaje de fibra se calculó mediante la Ecuación 5:

$$\%Fc = \frac{Fb - C}{m} * 100 \quad \text{ec. 5}$$

Donde:  $Fc$  = porcentaje de fibra cruda,  $Fb$ = masa de fibra bruta,  $C$ = masa de ceniza de la fibra y  $m$  = masa de muestra

- f) **Carbohidratos.** La determinación del porcentaje de carbohidratos, se obtuvo por diferencia después que se completaron los análisis de ceniza, proteína, grasa y fibra mediante la Ecuación 6.

$$\%CHO = 100\% - (\%P + \%C + \%G + \%Fc) \quad \text{ec.6}$$

Donde  $\% CHO$  = Porcentaje de carbohidratos,  $\%P$  = porcentaje de proteína,  $\% C$  = porcentaje de ceniza,  $\% G$  = porcentaje de grasa, y  $\% Fc$  = porcentaje de fibra cruda

### **4.8.3. Extracción de aceite de cañihua**

Para la extracción de aceite mediante método convencional, se utilizó el procedimiento descrito por Hermógenes et al. (2010). Inicialmente, se tomaron 30 g de muestra y se mezclaron con 250 mL de hexano de J.T. Baker (99% de pureza). La mezcla se homogeneizó utilizando un vortex Genie, modelo 079075, durante 1 hora. Posteriormente, se centrifugó la mezcla usando una centrífuga GreetMed, modelo 800D, con diámetro de rotor de 280 mm a 4000 rpm durante 10 minutos. El aceite disuelto en el solvente se separó mediante destilación simple a 70 °C, temperatura que fue suficiente para realizar la separación deseada de manera efectiva. Tras la extracción, la torta residual se secó en un horno a 70 °C hasta alcanzar un peso constante. Finalmente, se calculó el porcentaje de extracción de aceite en función de la pérdida de peso de la muestra.

Para la obtención de aceite mediante EFS-CO<sub>2</sub>, se empleó el sistema SFT-150 SFE de Supercritical Fluid Technologies, Inc., (ver Tabla 4) equipado con una bomba HPLC isocrática estándar Serie II y un cilindro de CO<sub>2</sub> líquido. Para las condiciones de extracción se utilizó la propuesta por Del Carpio-Jiménez et al. (2023) con modificaciones. Las condiciones del CO<sub>2</sub> en el tanque se ajustaron para alcanzar el estado supercrítico. El CO<sub>2</sub> en condiciones supercríticas ingresó a la cámara de extracción durante 30 minutos (tiempo de remojo) para la extracción estática. Para la extracción dinámica, el CO<sub>2</sub> en condiciones supercríticas fluyó a través del lecho fijo formado por las semillas molidas, durante 60 minutos. El CO<sub>2</sub> con el aceite extraído se dirigió a la cámara de separación, donde el gas se expandió hasta la presión atmosférica. Las condiciones del proceso de extracción fueron: un flujo de 7.08 L/min de dióxido de carbono, una temperatura de extracción de 45 °C y una presión de extracción de 27.58 MPa.

La Tabla 4 muestra las características del equipo y la configuración utilizada para la extracción.

**Tabla 4**

*Especificaciones de sistema SFT-150 SFE y configuración utilizada*

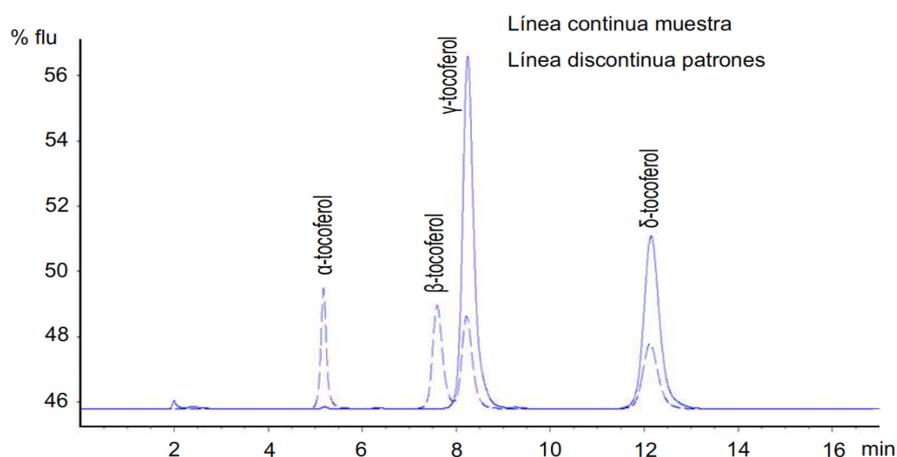
<b>Especificaciones del sistema SFT-150 SFE</b>	<b>Configuración utilizada en la Extracción</b>
<b>Rango de presión operativa:</b> Hasta 10,000 psi (690 bar).	<b>Presión:</b> 27.58 MPa (276 bar).
<b>Rango de temperatura operativa:</b> Hasta 200 °C.	<b>Temperatura:</b> 45 °C.
<b>Capacidad del recipiente de extracción:</b> 100 mL.	<b>Volumen procesado:</b> Muestras de cañihua molida.
<b>Flujo de CO<sub>2</sub>:</b> Ajustable hasta 10 L/min.	<b>Flujo de CO<sub>2</sub>:</b> 7.08 L/min.
<b>Compatibilidad con Co-solventes:</b> Admite etanol y metanol.	<b>Co-solventes:</b> No utilizados (CO <sub>2</sub> puro empleado).
<b>Materiales de construcción:</b> Acero inoxidable resistente a la corrosión.	<b>Material empleado:</b> No se modifica; estándar del sistema.
<b>Tiempo de extracción:</b> Configurable según el experimento.	<b>Tiempo:</b> 60 minutos.

#### 4.8.4. Cuantificación de tocoferoles

La cuantificación de tocoferoles se llevó a cabo utilizando la metodología establecida por la IUPAC N° 2.432. Para esto, se pesó aproximadamente 50 mg de muestras de aceite de cañihua fueron disueltos en hexano de Sigma Aldrich (grado HPLC, 95% de pureza) y colocados en viales para su análisis directo. Se utilizó un sistema HPLC Agilent serie 1200 con un detector de fluorescencia Agilent serie 1260 Infinity para la detección. La separación cromatográfica se realizó utilizando una columna Agilent Zorbax SB-C18 de 4.6 x 75 mm y 3.5 µm. La fase móvil consistió en una mezcla de Acetonitrilo de Sigma Aldrich (grado HPLC, pureza ≥99.9%) y 2-Propanol de Sigma Aldrich (grado HPLC, pureza ≥99.9%) en una proporción de 70:30, con un flujo de 1 mL/min y un volumen de inyección de 20 µL. El detector de fluorescencia se ajustó a una longitud de excitación de 290 nm y una longitud de emisión de 330 nm. Los tocoferoles se identificaron comparando los tiempos de retención con los de los patrones correspondientes.

**Figura 10**

*Cromatograma para la identificación y cuantificación de los tocoferoles*



#### **4.9. Técnicas para demostrar la verdad o falsedad de las hipótesis planteadas**

Considerando las Tablas 2 y 3, la presente investigación se desarrolló en 3 etapas, las técnicas utilizadas por cada etapa fueron:

- a) **Etapa 1.** Se realizó la descripción del contenido proximal considerando las variedades de cañihua Cupi e Illpa-INIA y se realizó la comparación de media t-student (Anexo 3).
- b) **Etapa 2.** Se realizó el análisis del rendimiento de aceite mediante un Diseño Completamente al Azar con Arreglo factorial 2x2x2 con 3 repeticiones, donde el factor 1 fue el método de extracción (convencional y fluido supercrítico), factor 2 fue las variedades de cañiha (Cupi e Illpa-INIA) y factor 3 fue el perigonio (contiene y no contiene), estos fueron sometidos a un Análisis de Varianza con un nivel de significancia al 5%, cuando el p-valor fue menor a 0.05, se realizó la prueba de comparación de medias LSD Fisher, el software utilizado fue el INFOSTAT (software libre).

c) **Etapa 3.** Se realizó el análisis de contenido de tocoferol mediante un Diseño Completamente al Azar con Arreglo factorial 2x2 con 3 repeticiones, donde el factor 1 fue las variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) y factor 2 fue el perigonio (contiene y no contiene), estos fueron sometidos a un Análisis de Varianza con un nivel de significancia al 5%, cuando el p-valor fue menor a 0.05, se realizó la prueba de comparación de medias LSD Fisher, además se realizó el Análisis de Componentes Principales y se obtuvo los coeficientes de correlación de Pearson el software utilizado fue el INFOSTAT (software libre).

**Tabla 5**

*Matriz de diseño estadístico*

Etapa	Factores	Niveles	Variable respuesta	Pruebas Estadísticas	Software
<b>Etapa 1:</b> Análisis proximal	Variedades de cañihua	Cupi	Humedad, ceniza, carbohidratos, fibra, proteína y grasa	Prueba T de Student (p-valor < 0.05).	INFOSTAT
		Illpa-INIA			
<b>Etapa 2:</b> Rendimiento de aceite	Método de extracción	Convencional	Rendimiento de aceite	Análisis de varianza (ANOVA), Prueba de comparación de medias LSD Fisher (p-valor < 0.05).	INFOSTAT
		EFS - CO <sub>2</sub>			
	Variedades de cañihua	Cupi			
		Illpa-INIA			
Perigonio	Con perigonio				
	Sin perigonio				
<b>Etapa 3:</b> Contenido de tocoferoles	Variedades de cañihua	Cupi	$\alpha$ -tocoferol	Análisis de varianza (ANOVA), Prueba de comparación de medias LSD Fisher (p-valor < 0.05).	INFOSTAT, SPSS, R
		Illpa-INIA	$\gamma$ -tocoferol.		
	Perigonio	Con perigonio			
		Sin perigonio			

## CAPITULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1. Procesamiento, análisis, interpretación y discusión de resultados

La Tabla 6 muestra el resultado del análisis proximal en la cañihua, según los datos obtenidos que se muestran en el Apéndice 2 Tabla 12., donde se demuestra que no existe diferencia estadística significativa debido a que el p-valor es mayor a 0.05.

**Tabla 6**

*Composición proximal de las variedades Cupi e Illpa-INIA*

Composición	Variedad	
	Cupi	Illpa-INIA
<b>Humedad (g/100g)</b>	10.79±0.25	10.76±0.42
<b>Proteína (g/100g)</b>	11.38±0.25	12.04±0.13
<b>Grasa (g/100g)</b>	6.61±0.34	6.55±0.28
<b>Ceniza (g/100g)</b>	3.27±0.14	3.32±0.16
<b>Fibra (g/100g)</b>	8.03±0.03	7.97±0.17
<b>Carbohidratos (g/100g)</b>	67.91±0.95	67.33±0.07

La humedad en la variedad Cupi fue de 10.79 g/100 g e Illpa-INIA 10.76 g/100 g, el INS (2017) muestra que la humedad es 12.04 g/100 g en cañihua parda, Huamaní (2018) 12.3 g/100 g en el ecotipo chilliwa, Repo-Carrasco et al. (2010) 10.37 g/100g de la variedad Kello, esta diferencia se debe a la capacidad de absorción de agua, el transporte del agua dentro de la pared celular y la humedad en equilibrio (Van Meel et al., 2011), la humedad relativa como factor climatológico que altera la actividad de agua y por ende la humedad en equilibrio (FAO, 2012a).

El contenido de proteína en la variedad Cupi es de 11.38 g/100 g y de Illpa-INIA 12.4 g/100 g respectivamente, el INS (2017) muestra que proteína es 13.8 g/100 g en cañihua parda, Huamaní (2018) 15.3 g/100 g en el ecotipo chilliwa, por lo que las variedades Cupi e Illpa-INIA son menores con respecto a lo obtenido en otras investigaciones, Repo-

Carrasco et al. (2010) muestra que el contenido de diferentes muestras de cañihua, ello es debido a la genética (Rojas et al., 2016), la fertilización influye directamente en el contenido de proteína (Dillchneider et al., 2019) como también el tipo de suelo (Flores-Margez et al., 2021).

El contenido de grasa en la variedad Cupi es de 6.61 g/100 g y de Illpa-INIA 6.55 g/100 g respectivamente, el INS (2017) muestra que grasa es 3.5 g/100 g en cañihua parda, el contenido de grasa es diversa según lo demostrado Repo-Carrasco et al. (2010), el contenido de grasa se encuentra dentro de lo esperado, esta variación se debe a la diferencia existente en el perfil de ácidos grasos (Ayerza, 2019), además de que una alta fertilización en el cultivo aumenta la proteína pero disminuye la grasa (Martín Sánchez et al., 2020).

El contenido de ceniza en la variedad Cupi es de 3.27 g/100 g y de Illpa-INIA 3.32 g/100 g respectivamente, el INS (2017) muestra que ceniza es 5.1 g/100 g en cañihua parda, pero se encuentra dentro de los valores obtenidos por Repo-Carrasco et al. (2010), el uso de fertilizantes minerales incrementa el contenido de minerales (Prasad & Shivay, 2020), la absorción de minerales por la planta (Martínez-Ballesta et al., 2009) y el contenido de minerales afecta el contenido de ceniza (Marques et al., 2022).

El contenido de fibra en la variedad Cupi es de 8.03 g/100 g y de Illpa-INIA 7.97 g/100 g, se encuentra dentro de los valores obtenidos por Repo-Carrasco et al. (2010) y son diferentes entre las variedades, estas diferencia se debe al estado de maduración en el momento de cosecha (Bedoya & Maldonado, 2022), el riego incrementa el contenido de fibra (Sosa-Yáñez et al., 2022), además que la fertilización puede incrementar el contenido de fibra pero reduce el contenido de proteínas (Zubillaga et al., 2016).

El contenido de carbohidratos en la variedad Cupi es de 67.91 g/100 g y de Illpa-INIA 67.33 g/100 g respectivamente, el INS (2017) muestra que ceniza es 66.2 g/100 g en cañihua parda, además que estos valores son superiores a los encontrados por Repo-Carrasco et al. (2010), donde el riego, el estrés hídrico y el estrés biótico afecta el contenido de carbohidratos (Valdés & Morales-rosales, 2019) como también el CO<sub>2</sub> ambiental (Ulfat et al., 2021).

El Tabla 7, muestra los resultados del rendimiento de aceite a partir de la cañihua, según los datos obtenidos que se muestran en el Apéndice 3 Tabla 13 y 14, la variedad Cupi sin perigonio y extraído mediante método convencional es el mejor con 7.45 g/100 g, y la de menor valor es la variedad Illpa-INIA con perigonio extraído mediante EFS-CO<sub>2</sub>

**Tabla 7**

*Rendimiento de la obtención de aceite de cañihua*

Variedad	Perigonio	Rendimiento g/100 g	
		Convencional	EFS-CO <sub>2</sub>
Cupi	Con perigonio	6.38±0.06b	5.55±0.04d
	Sin perigonio	7.45±0.09a	5.36±0.05d
Illpa-INIA	Con perigonio	6.07±0.13c	4.5±0.06e
	Sin perigonio	6.34±0.35b	5.43±0.03d

La Tabla 8 muestra el análisis de varianza del rendimiento de aceite de cañihua, donde los el factor método de extracción (p-valor <0.0001), variedad (p-valor <0.0001), perigonio (p-valor <0.0001), las interacciones método de extracción\*perigonio (p-valor 0.019) y método de extracción\*variedad\*perigonio (p-valor <0.0001), al ser menores de 0.05 muestran diferencia estadística entre sí, por su parte la interacción método de extracción\*variedad (p-valor 0.0699) y variedad\*perigonio (p-valor 0.1703) son mayores de 0.05 por lo que no muestran diferencia estadística significativa.

**Tabla 8**

Resultado de análisis de varianza del rendimiento de aceite de cañihua

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Método de Extracción	10.91	1	10.91	553.98	<0.0001
Variedad	2.17	1	2.17	110.05	<0.0001
Perigonio	1.63	1	1.63	82.64	<0.0001
Método de Extracción*Variedad	0.07	1	0.07	3.77	0.0699
Método de Extracción*Perigonio	0.13	1	0.13	6.8	0.019
Variedad*Perigonio	0.04	1	0.04	2.06	0.1703
Método de Extracción*Variedad*Perigonio	1.39	1	1.39	70.63	<0.0001
Error	0.32	16	0.02		
Total	16.65	23			

El método de extracción al presentar diferencia estadística significativa se desarrolló la prueba de medias LSD Fisher (Tabla 9), donde el método de extracción convencional es superior y diferente al EFS-CO<sub>2</sub>.

**Tabla 9**

Prueba de medias LSD Fisher para el método de extracción sobre el rendimiento de aceite

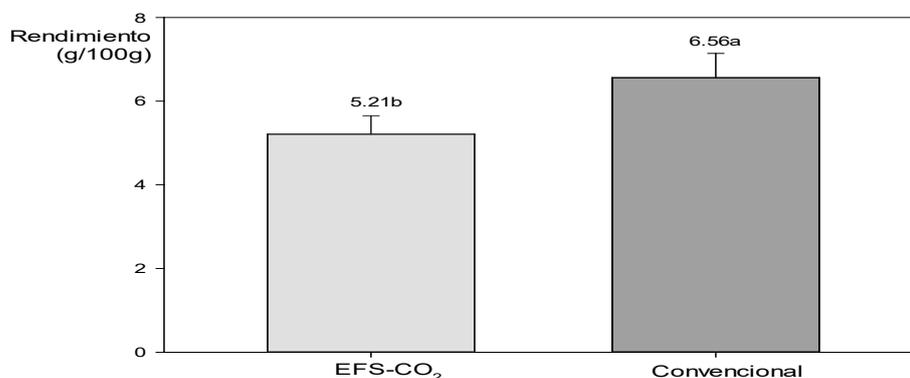
<b>Método de Extracción</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
Convencional	6.56	12	0.04	a
EFS-CO <sub>2</sub>	5.21	12	0.04	b

La extracción de aceite mediante EFS-CO<sub>2</sub> se destaca por su eficiencia en la extracción de compuestos sin dejar residuos de solventes y es más respetuosa con el medio ambiente que los métodos tradicionales (Sovov & Stateva, 2011), por lo que se ha utilizado para extraer carotenoides (De Andrade et al., 2019), aceites con alto contenido de polifenoles (Talha Afraz et al., 2023), además se ha demostrado que este método de extracción permite obtener aceite de gran pureza y calidad. Estudios han demostrado que el método de extracción convencional soxhlet presenta mejores rendimientos que por EFS-CO<sub>2</sub>, en el tarwi la extracción por soxhlet extrajo 19.8 g/100g y en EFS-CO<sub>2</sub> 16.2 g/100g (M. Yu

et al., 2022), Mu et al. (2021) y Aytaç, (2022) mostraron también que el método soxhlet extrae mayor cantidad que EFS-CO<sub>2</sub>. La EFS-CO<sub>2</sub> frente a otros métodos como es prensa en frío y extracción por microonda ha presentado mejores resultados como lo demuestra Hu et al. (2023) en la que utilizando semillas de calabaza extrajo 56.4 g/100g por prensa en frío, 69.5 g/100g por microondas y 74.9 g/100g por EFS-CO<sub>2</sub>. Del Carpio-Jiménez et al. (2023) mediante EFS-CO<sub>2</sub> extrajo aceite 8.6 g/100g a partir de cañihua pero no mencionan la variedad utilizada, en quinua Wejnerowska & Ciaciuch (2018), Cerón et al. (2016) mencionan que el rendimiento obtenido por EFS-CO<sub>2</sub> estadísticamente es igual a la obtenida por método convencional. Además que los parámetros de extracción en EFS-CO<sub>2</sub> como la temperatura, presión, flujo de CO<sub>2</sub>, disolvente, tiempo de extracción influyen en la extracción de aceite (Ahangari et al., 2021).

**Figura 11.**

*Rendimiento de aceite según método de extracción*



Las variedades de cañihua, específicamente Cupi e Illpa-INIA, mostraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de aceite, según se evidencia en la prueba de medias LSD de Fisher (ver Tabla 10).

**Tabla 10**

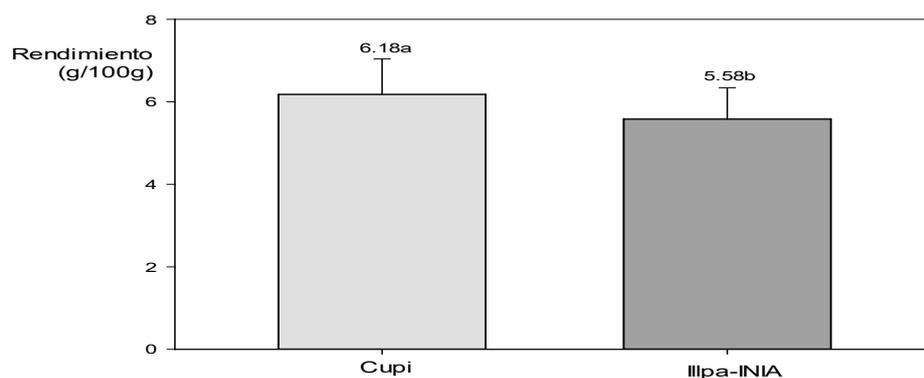
Prueba de medias LSD Fisher para las variedades de cañihua sobre el rendimiento de aceite

Variedad	Medias	n	E.E.	
Cupi	6.18	12	0.04	a
Illpa-INIA	5.58	12	0.04	b

La variedad Cupi destacó por su mayor rendimiento, alcanzando los 6.18 g/100g. Este fenómeno de variabilidad en el contenido de aceite no es exclusivo de la cañihua; se observa también en otros cultivos. Por ejemplo, Kondić-Špika et al. (2019) encontraron diferencias en el contenido de aceite entre 11 variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.), con variaciones de 3.64 g/100g a 5.57 g/100g. De manera similar, Wang et al. (2018) reportaron que en 48 genotipos de maní (*Arachis hypogaea* L.), el contenido osciló entre 40 g/100g y 58 g/100g. Asimismo, Yu et al. (2009) notaron una variación de 2.24 g/100g a 3.76 g/100g en arroz con distintas características genotípicas. Además de los factores genotípicos y agroecológicos, el contenido de aceite puede verse afectado por el tamaño del grano, el método de secado y el tamaño del germen, así como la madurez del grano, según lo indican estudios previos (Apaza, 2010; Briceño, 2007; Torres-Morales et al., 2010)(Apaza, 2010; Briceño, 2007; Torres-Morales et al., 2010).

**Figura 12.**

*Rendimiento de aceite según variedad de cañihua*



Al observar diferencias estadísticamente significativas en el perigonio, se realizó la prueba de medias LSD de Fisher (ver Tabla 11), demostrando que el grano de cañihua, una vez retirado el perigonio, alcanza el mayor rendimiento en la extracción de aceite, con un contenido de 6.14 g/100g. Este resultado sugiere que la presencia del perigonio sí influye en la variabilidad del contenido de aceite (Quiroga Ledezma et al., 2018).

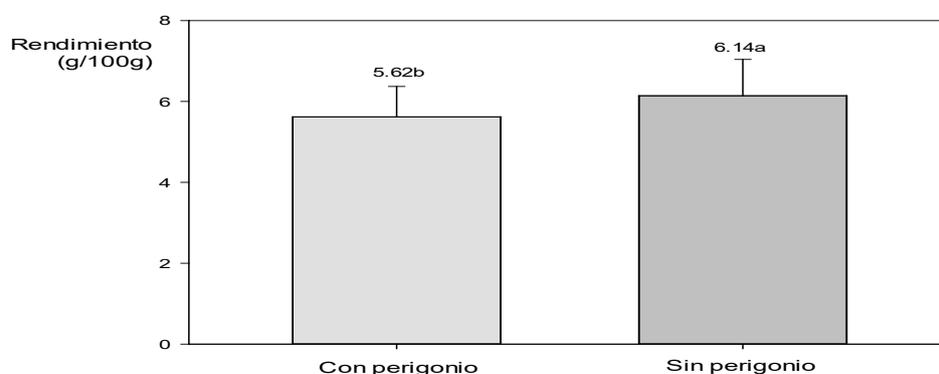
**Tabla 11**

Prueba de medias LSD Fisher para la presencia de perigonio en cañihua sobre el rendimiento de aceite

<b>Perigonio</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
Sin perigonio	6.14	12	0.04	a
Con perigonio	5.62	12	0.04	b

**Figura 13.**

*Rendimiento de aceite según presencia de perigonio*



El método de extracción, las variedades de cañihua, y el perigonio, mostraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de aceite, según se evidencia en la prueba de medias LSD de Fisher (ver Tabla 12). El rendimiento, expresado en g/100g, varía según si el perigonio está presente o ha sido retirado, lo que se refleja en el eje horizontal. En el método convencional, Cupi sin perigonio lidera con un rendimiento de 7.45 g/100g, superando los otros tratamientos. En contraste, el método EFS-CO<sub>2</sub> produce los menores

rendimientos con Illpa-INIA con perigonio. A pesar de que el EFS-CO<sub>2</sub> ha demostrado eficacia en otros estudios, es necesario optimizar los parámetros de extracción para potenciar la obtención de aceite de cañihua. El cultivo y la producción de cañihua no solo deben enfocarse en el rendimiento de aceite, sino también en el valor de los subproductos generados. Aunque la cañihua puede ofrecer menos aceite que otras semillas oleaginosas, es crucial explorar las propiedades únicas de los componentes del aceite que podrían tener aplicaciones beneficiosas (ver figura 14).

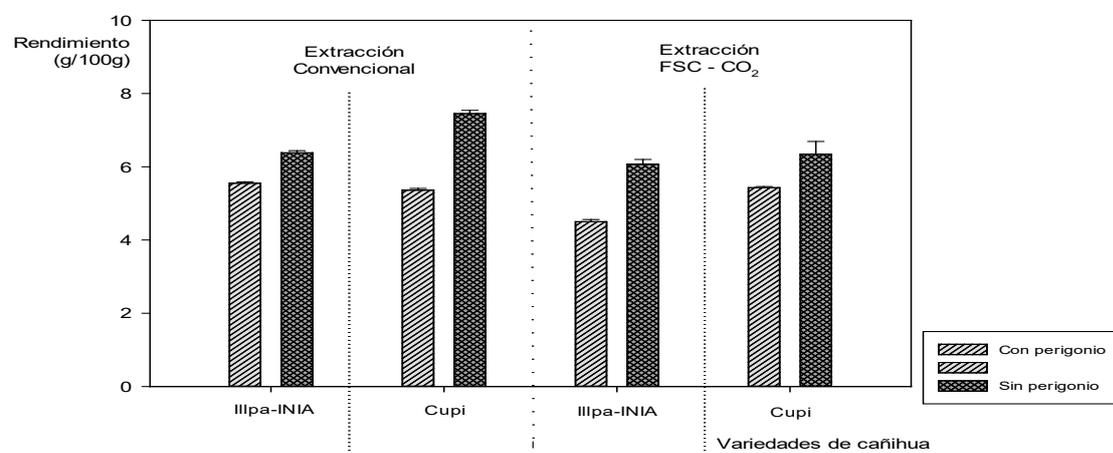
**Tabla 12**

Prueba de medias LSD Fisher para la interacción de método de extracción \* variedad \* perigonio sobre el rendimiento de aceite

Método de Extracción	Variedad	Perigonio	Medias	n	E.E.	
Convencional	Cupi	Sin perigonio	7.45	3	0.08	a
Convencional	Cupi	Con perigonio	6.38	3	0.08	b
Convencional	Illpa-INIA	Sin perigonio	6.34	3	0.08	b
Convencional	Illpa-INIA	Con perigonio	6.07	3	0.08	c
EFS-CO <sub>2</sub>	Cupi	Con perigonio	5.55	3	0.08	d
EFS-CO <sub>2</sub>	Illpa-INIA	Sin perigonio	5.43	3	0.08	d
EFS-CO <sub>2</sub>	Cupi	Sin perigonio	5.36	3	0.08	d
EFS-CO <sub>2</sub>	Illpa-INIA	Con perigonio	4.5	3	0.08	e

**Figura 14.**

*Resultados de rendimiento de aceite*



El contenido de tocoferol tanto de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol se muestra en el Apéndice 3, la Tabla 13 muestra los resultados,

**Tabla 13**

*Contenido de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol extraído por EFS-CO<sub>2</sub>*

<b>Variedad</b>	<b>Perigonio</b>	<b><math>\alpha</math>-tocoferol <math>\mu\text{g/g}</math></b>	<b><math>\gamma</math>-tocoferol <math>\mu\text{g/g}</math></b>
Cupi	Con perigonio	1223.3 $\pm$ 43.8c	1368.22 $\pm$ 41.95c
	Sin perigonio	2538.49 $\pm$ 32.8a	1272.44 $\pm$ 46.45d
Illpa-INIA	Con perigonio	1245.55 $\pm$ 34.79c	1586.47 $\pm$ 36.63b
	Sin perigonio	2463.03 $\pm$ 22.27b	1808.67 $\pm$ 22.25a

La variedad Cupi sin perigonio para  $\alpha$ -tocoferol presento el mayor valor con 2538.49  $\mu\text{g/g}$ , además la variedad Illpa-INIA sin perigonio presento un valor de 2463.03  $\mu\text{g/g}$ , estos valores son superiores a los reportado por Repo-Carrasco et al. (2003) con 726  $\mu\text{g/g}$ , de la quinua amarilla germinada 1883  $\mu\text{g/g}$  (Pachari Vera et al., 2019), aceite de girasol deodorizado 513.9  $\mu\text{g/g}$  (Tasan & Demirci, 2005), aceite de oliva virgen del cultivar Lentisca 444  $\mu\text{g/g}$  (Beltrán et al., 2010), en aceite de maíz 173  $\mu\text{g/g}$  y soya 273.3  $\mu\text{g/g}$  (Grilo et al., 2014). Para  $\gamma$ -tocoferol donde la variedad Illpa-INIA sin perigonio presento el mayor valor con 1808.67  $\mu\text{g/g}$ , además la variedad Cupi con perigonio presento un valor de 1368.22  $\mu\text{g/g}$ , estos valores son superiores a los reportado por Repo-Carrasco et al. (2003) con 788.4  $\mu\text{g/g}$ , de la quinua amarilla germinada 1883  $\mu\text{g/g}$  (Pachari Vera et al., 2019), aceite de girasol deodorizado 2.4  $\mu\text{g/g}$  (Tasan & Demirci, 2005), aceite de oliva virgen del cultivar Lentisca 14  $\mu\text{g/g}$  (Beltrán et al., 2010), en aceite de maíz 259.7  $\mu\text{g/g}$  y soya 273.3 (Grilo et al., 2014). Por todo lo descrito, el aceite de cañihua presenta un potencial debido al elevado contenido de tocoferoles en especial de  $\gamma$ -tocoferol.

El análisis de varianza del contenido de  $\alpha$ -tocoferol se muestra en la Tabla 14, donde el factor perigonio (p-valor < 0.0001) y la interacción variedad\*perigonio (p-valor 0.0388)

son menores de 0.05, por lo que existe diferencia estadística significativa, por su parte el factor variedad (p-valor 0.2157) al ser mayor de 0.05 no presenta diferencia estadística significativa.

**Tabla 14**

Resultado del análisis de varianza para el contenido de  $\alpha$ -tocoferol

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Variedad	2123.8	1	2123.8	1.81	0.2157
Perigonio	4810833.26	1	4810833.26	4093.79	<0.0001
Variedad*Perigonio	7161.02	1	7161.02	6.09	0.0388
Error	9401.23	8	1175.15		
Total	4829519.31	11			

El perigonio al presentar diferencia estadística significativa se desarrolló la prueba de medias LSD Fisher (Tabla 15), donde la cañihua sin perigonio muestra mayor contenido de  $\alpha$ -tocoferol con 2500.76  $\mu\text{g/g}$ , si bien a la fecha no se han encontrado estudios similares acerca del aporte de perigonio en  $\alpha$ -tocoferol, se conoce que  $\alpha$ -tocoferol es un antioxidante común y que mejora la resistencia de las plantas al estrés abiótico (Sadiq et al., 2019), considerando ello, el contenido elevado de  $\alpha$ -tocoferol se debería a las condiciones climatológicas de la región Puno en la que se cultiva la cañihua.

**Tabla 15**

Prueba de medias LSD Fisher para perigonio sobre el contenido de  $\alpha$ -tocoferol

<b>Perigonio</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
Sin perigonio	2500.76	6	13.99	a
Con perigonio	1234.42	6	13.99	b

La interacción variedad\*perigonio al presentar diferencia estadística significativa se desarrolló la prueba de medias LSD Fisher (Tabla 16), donde la variedad Cupi sin perigonio presenta el mayor contenido de  $\alpha$ -tocoferol con 2538.49  $\mu\text{g/g}$ , y la variedad Illpa-INIA sin perigonio con 2463.03  $\mu\text{g/g}$ , son estadísticamente diferentes entre sí, por

lo que el contenido de  $\alpha$ -tocoferol es diferente entre variedades tanto de géneros y especies vegetales (Ramos-Díaz, 2015).

**Tabla 16**

Prueba de medias LSD Fisher para la interacción variedad\*perigonio sobre el contenido de  $\alpha$ -tocoferol

Variedad	perigonio	Medias	n	E.E.	
Cupi	Sin perigonio	2538.49	3	19.79	a
Illpa-INIA	Sin perigonio	2463.03	3	19.79	b
Illpa-INIA	Con perigonio	1245.55	3	19.79	c
Cupi	Con perigonio	1223.3	3	19.79	c

El análisis de varianza del contenido de  $\gamma$ -tocoferol se muestra en la Tabla 17, donde el factor variedad (p-valor < 0.0001), perigonio (p-valor 0.0203) y la interacción variedad\*perigonio (p-valor 0.0001) son menores de 0.05, por lo que existe diferencia estadística significativa.

**Tabla 17**

Resultados del análisis de varianza para el contenido de  $\gamma$ -tocoferol

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Variedad	426936.84	1	426936.84	296.78	<0.0001
Perigonio	11986.39	1	11986.39	8.33	0.0203
Variedad*Perigonio	75829.64	1	75829.64	52.71	0.0001
Error	11508.35	8	1438.54		
Total	526261.23	11			

La variedad al presentar diferencia estadística significativa se desarrolló la prueba de medias LSD Fisher (Tabla 18), donde la cañihua de variedad Illpa-INIA muestra mayor cantidad de  $\gamma$ -tocoferol con 1697.57  $\mu\text{g/g}$ , además cabe resaltar que el contenido de  $\gamma$ -tocoferol es menor que la de  $\alpha$ -tocoferol (Beltrán et al., 2010; Grilo et al., 2014; Pachari Vera et al., 2019; Repo-Carrasco-Valencia et al., 2009; Tasan & Demirci, 2005), además de que Pachari Vera et al. (2019) muestra que existe diferencia del contenido entre las variedades de una misma especie como es de quinua.

**Tabla 18**

Prueba de medias LSD Fisher para variedad sobre el contenido de  $\gamma$ -tocoferol

<b>Variedad</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
Illpa-INIA	1697.57	6	15.48	a
Cupi	1320.33	6	15.48	b

El perigonio al presentar diferencia estadística significativa se desarrolló la prueba de medias LSD Fisher (Tabla 19), donde la cañihua sin perigonio muestra mayor cantidad de  $\gamma$ -tocoferol con 1540.55  $\mu\text{g/g}$ , a la fecha no se han encontrado estudios similares acerca del aporte de perigonio en  $\gamma$ -tocoferol.

**Tabla 19**

Prueba de medias LSD Fisher para perigonio sobre el contenido de  $\gamma$ -tocoferol

<b>Perigonio</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
Sin perigonio	1540.55	6	15.48	a
Con perigonio	1477.35	6	15.48	b

La interacción variedad\*perigonio al presentar diferencia estadística significativa se desarrolló la prueba de medias LSD Fisher (Tabla 20), donde la variedad Illpa-INIA sin perigonio presenta el mayor contenido de  $\gamma$ -tocoferol con 1808.67  $\mu\text{g/g}$ , siendo superior a lo reportado por Repo-Carrasco et al. (2009) con 788.4  $\mu\text{g/g}$ , a la fecha no se cuenta con otros estudios. En la actualidad diferentes estudios solo han reportado las ventajas de  $\alpha$ -tocoferol, quedando abierta estudios de  $\gamma$ -tocoferol y la posibilidad de poder obtener aceite de caihua considerando el contenido  $\gamma$ -tocoferol.

**Tabla 20**

Prueba de medias LSD Fisher para la interacción variedad\*perigonio sobre el contenido de  $\gamma$  - tocoferol

<b>Variedad</b>	<b>Perigonio</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
Illpa-INIA	Sin perigonio	1808.67	3	21.9	a
Illpa-INIA	Con perigonio	1586.47	3	21.9	b
Cupi	Con perigonio	1368.22	3	21.9	c
Cupi	Sin perigonio	1272.44	3	21.9	d

Para simplificar el conjunto de datos y examinar las tendencias subyacentes de las variables, se llevó a cabo un análisis de componentes principales, cuyos resultados se detallan en la Tabla 21.

**Tabla 21**

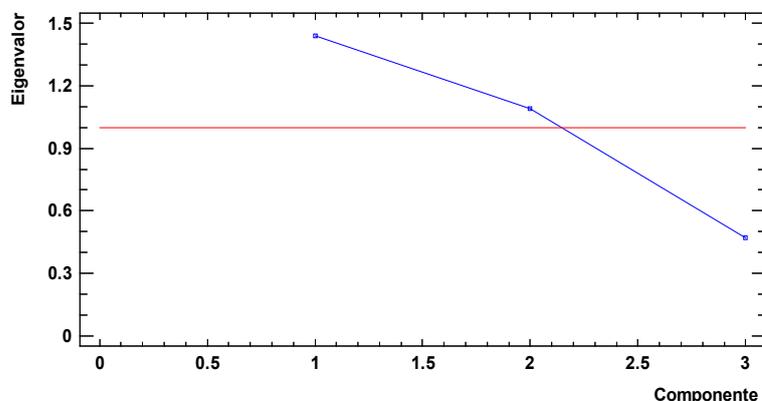
*Análisis de componentes principales*

<b>Componente</b>	<b>Eigenvalor</b>	<b>Porcentaje de Varianza</b>	<b>Porcentaje Acumulado</b>
1	1.439	47.988	47.988
2	1.089	36.3	84.288
3	0.471	15.712	100

La Tabla 21, presenta el resumen los resultados de un análisis de componentes principales que ha logrado aglomerar la información de los datos en tres componentes principales, abarcando así la totalidad de la variabilidad inherente a los datos originales. La componente 1 presenta un eigenvalor de 1.439, seguido por la componente 2 con un eigenvalor de 1.089, ambos superiores a uno, lo cual los señala como significativos. Estos dos componentes, en conjunto, explican un 84.288% del total de la varianza acumulada. La Figura 15 correspondiente ilustra los eigenvalores obtenidos, destacando aquellos que exceden el umbral de significancia, establecido en 1 y demarcado por una línea horizontal roja. Este umbral enfatiza la importancia de los componentes cuyos eigenvalores son suficientemente grandes como para ser considerados en el análisis.

**Figura 15.**

*Gráfico de eigenvalor para cada componente*



La Tabla 22 indica los pesos asociados a las variables dependientes rendimiento,  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol, en relación con los dos componentes principales obtenidos en el análisis de componentes principales.

**Tabla 22**

*Pesos de los componentes principales*

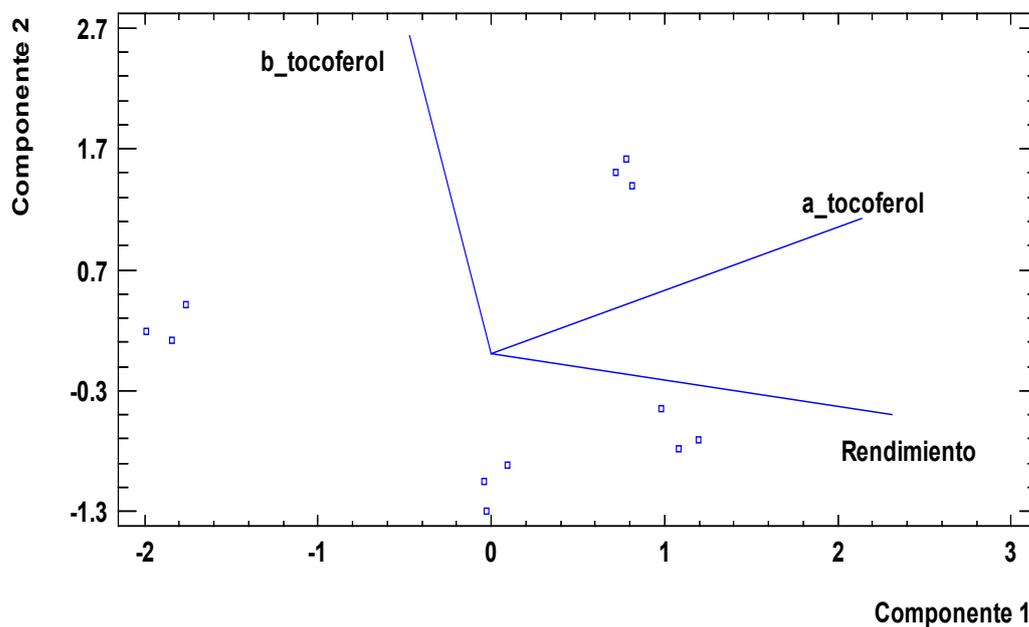
	<b>Componente 1</b>	<b>Componente 2</b>
<b>Rendimiento</b>	0.726	-0.171
<b><math>\alpha</math>-tocoferol</b>	0.671	0.386
<b><math>\gamma</math>-tocoferol</b>	-0.148	0.906

Según lo mostrado en la Tabla 22, para la componente 1, el rendimiento y el  $\alpha$ -tocoferol tienen pesos positivos de 0.726 y 0.671, respectivamente, lo que sugiere una variación proporcional: a medida que aumenta el rendimiento, también lo hace el contenido de  $\alpha$ -tocoferol. Por otro lado, el  $\gamma$ -tocoferol, con un peso de -0.148, muestra una asociación inversa débil con este componente, lo que implica que su influencia en la variabilidad captada por el componente 1 es limitada. Esto podría indicar que el rendimiento y el  $\alpha$ -tocoferol están correlacionados o varían conjuntamente en el conjunto de datos analizados.

En cuanto a la componente 2, se observa una correlación positiva fuerte entre el  $\alpha$ -tocoferol y el  $\gamma$ -tocoferol, reflejada en sus pesos de 0.386 y 0.906, respectivamente. Este comportamiento indica que un incremento en el  $\gamma$ -tocoferol está asociado con un aumento en el  $\alpha$ -tocoferol. En contraste, el rendimiento presenta un peso negativo de -0.171, señalando una relación inversa con el componente 2; sin embargo, esta relación es de magnitud menor y sugiere que el rendimiento no influye significativamente en este componente. Por lo tanto, el  $\gamma$ -tocoferol se perfila como el factor distintivo del segundo componente, marcando esta dimensión como única en la representación de la variabilidad de los datos.

**Figura 16.**

*Grafica del análisis de componentes principales*



La Tabla 23 muestra el resultado de los coeficientes de la correlación de Pearson de las variables dependientes como son rendimiento,  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol.

**Tabla 23***Coefficientes de la correlación de Pearson*

	<b>Rendimiento</b>	<b><math>\alpha</math>-tocoferol</b>	<b><math>\gamma</math>-tocoferol</b>
<b>Rendimiento</b>	1	0.16	0.53
<b><math>\alpha</math>-tocoferol</b>	0.43	1	0.71
<b><math>\gamma</math>-tocoferol</b>	-0.2	0.12	1

La Tabla 23 revela los coeficientes de correlación de Pearson, que oscilan entre -1 y 1, reflejando distintos grados de asociación lineal entre las variables: un coeficiente de 1 señala una correlación positiva total, -1 denota una perfecta correlación negativa, y 0 implica ausencia de correlación. En el caso del rendimiento y el  $\alpha$ -tocoferol, un coeficiente de 0.43 sugiere una relación positiva moderada, indicando que un incremento en el rendimiento tiende a ir acompañado de un aumento en los niveles de  $\alpha$ -tocoferol. Contrariamente, un coeficiente de -0.2 entre rendimiento y  $\gamma$ -tocoferol sugiere una leve asociación inversa, donde un aumento en el rendimiento podría conllevar una disminución en el  $\gamma$ -tocoferol. Por último, el  $\alpha$ -tocoferol y el  $\gamma$ -tocoferol presentan un coeficiente de 0.71, señalando una fuerte correlación positiva que sugiere que un incremento en una de estas variables generalmente predice un aumento en la otra.

## **5.2.Pruebas de hipótesis**

En la segunda etapa, se buscó determinar el impacto del método de extracción, la variedad de cañihua y la presencia o ausencia de perigonio sobre el rendimiento de aceite. La hipótesis nula ( $H_0$ ) establecía que estos factores no tenían un efecto significativo sobre el rendimiento de aceite, mientras que la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) sugería que al menos uno de estos factores influía significativamente. Se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de tres vías bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x2x2, considerando los siguientes factores: método de extracción (convencional y EFS-CO<sub>2</sub>),

variedad de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) y perigonio (con y sin). El nivel de significancia fue  $\alpha = 0.05$ . Si el p-valor asociado a alguno de los factores o sus interacciones era menor que 0.05, se rechazaba  $H_0$ , concluyendo que el factor en cuestión influía significativamente en el rendimiento del aceite. Este análisis permitió evaluar tanto los efectos individuales como las posibles interacciones entre los factores, proporcionando una visión integral de las variables que afectan la extracción de aceite.

En la tercera etapa, el enfoque se centró en analizar si el contenido de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol variaba según la variedad de cañihua y la presencia o ausencia de perigonio. La hipótesis nula ( $H_0$ ) planteaba que no existían diferencias significativas en los contenidos de tocoferoles entre las condiciones estudiadas, mientras que la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) sugería diferencias significativas. Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x2, considerando los factores variedad (Cupi e Illpa-INIA) y perigonio (con y sin). Adicionalmente, se aplicó un análisis de correlación de Pearson y un análisis de componentes principales (ACP) para evaluar las relaciones entre el rendimiento de aceite y los contenidos de tocoferoles. El nivel de significancia fue  $\alpha = 0.05$ . Si el p-valor de algún factor o interacción era menor que 0.05, se rechazaba  $H_0$ , concluyendo que dicho factor afectaba significativamente el contenido de tocoferoles. Este enfoque permitió no solo identificar diferencias significativas en los tocoferoles, sino también explorar las relaciones entre las variables evaluadas, brindando una comprensión más completa de las características funcionales del aceite de cañihua.

## CONCLUSIONES

La cantidad de aceite obtenido oscilo entre 7.45 a 4.5 g/100g, además se demostró que existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor  $< 0.05$ ) tanto para el método de extracción, donde el método convencional presento mayor rendimiento que EFS-CO<sub>2</sub>, la variedad Cupi, presento mayor rendimiento y esta se incrementó sin la presencia de perigonio (7.45 g/100g extraído por método convencional) en la cañihua.

Del contenido de  $\alpha$ -tocoferol en la variedad Cupi sin perigonio es mayor con 2538.49  $\mu\text{g/g}$  y de  $\gamma$ -tocoferol en la variedad Illpa-INIA sin perigonio es mayor con 1808.67  $\mu\text{g/g}$ , ambos presentas diferencia estadísticamente significativa ( $p$ -valor  $< 0.05$ ) con respecto a los demás tratamientos. En el análisis de componentes principales, para la componente 1 muestra una relación positiva entre rendimiento y  $\alpha$ -tocoferol, y para la componente 2 existe una relación positiva entre  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol, además que según los coeficientes de correlación de Pearson existe una relación positiva entre el rendimiento y  $\alpha$ -tocoferol, y presenta una relación negativa entre rendimiento y  $\gamma$ -tocoferol.

## RECOMENDACIONES

Realizar estudios para poder caracterizar diferentes variedades y ecotipos de cañihua a fin de poder obtener no solo información sino para proponer alguna variedad que presente mejores características en su composición proximal y poder incrementar sosteniblemente el cultivo de cañihua.

Determinar los parámetros óptimos de presión, temperatura, flujo masico de CO<sub>2</sub> para la extracción de aceite en EFS-CO<sub>2</sub>, además de evaluar la calidad del aceite no solo por la presencia de tocoferol sino de la estabilidad del aceite obtenido.

Evaluar el contenido de tocoferoles tanto de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol en diferentes variedades de cañihua y realizar trabajos considerando la germinación de la cañihua.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ahangari, H., King, J. W., Ehsani, A., & Yousefi, M. (2021). Supercritical fluid extraction of seed oils – A short review of current trends. *Trends in Food Science and Technology*, *111*(March), 249–260. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.066>
- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, *45*(3), 438–469. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n3.62043>
- Alba Pons, G. (2015). Aceites vegetales, hacia una producción sostenible. *El Hombre y la Máquina*, *46*, 9–19.
- Apaza, V. (2010). *Manejo y mejoramiento de kañiwa*. Convenio Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA-Puno, Centro de Investigación de Recursos Naturales y Medio Ambiente-CIRNMA, Bioersivity International y el International Fund for Agricultural Development-IFAD.
- Arturo-Perdomo, D., Jiménez Mora, J. P., Ibáñez, E., Cifuentes, A., Hurtado-Benavides, A., & Montero, L. (2021). Extraction and Characterization of the Polar Lipid Fraction of Blackberry and Passion Fruit Seeds Oils Using Supercritical Fluid Extraction. *Food Analytical Methods*, *14*(10), 2026–2037. <https://doi.org/10.1007/s12161-021-02020-5>
- Ayala, G. (2004). Aporte de los Cultivos andinos a la Nutrición Humana. *Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación.*, 101–112. [http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/10737%5Cnhttp://www.cipotato.org/artc1/series/06\\_PDF\\_RTAs\\_Capacitacion/07\\_Aporte\\_c](http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/10737%5Cnhttp://www.cipotato.org/artc1/series/06_PDF_RTAs_Capacitacion/07_Aporte_c)

ultivos\_andinos\_nutric\_human.pdf

Ayerza, R. (2019). Variaciones en el contenido de proteína, lípidos y ácidos grasos de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) producida comercialmente en Ecuador. *La Técnica: Revista de las Agrociencias*. ISSN 2477-8982, 22(22), 11.

[https://doi.org/10.33936/la\\_tecnica.v0i22.1785](https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i22.1785)

Aytaç, E. (2022). Comparison of extraction methods of virgin coconut oil: cold press, soxhlet and supercritical fluid extraction. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 57(3), 426–432. <https://doi.org/10.1080/01496395.2021.1902353>

Banchero, M. (2020). Recent advances in supercritical fluid dyeing. *Coloration Technology*, 136(4), 317–335. <https://doi.org/10.1111/cote.12469>

Baskar, G., Kalavathy, G., Aiswarya, R., & Abarnaebenezer Selvakumari, I. (2018). Advances in bio-oil extraction from nonedible oil seeds and algal biomass. En *Advances in Eco-Fuels for a Sustainable Environment*. Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102728-8.00007-3>

Baud, S., & Lepiniec, L. (2010). Physiological and developmental regulation of seed oil production. *Progress in Lipid Research*, 49(3), 235–249.

<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2010.01.001>

Bedoya, R. A., & Maldonado, M. E. (2022). Características nutricionales y antioxidantes de la especie de frijol petaco (*Phaseolus coccineus*). *Revista chilena de nutrición*, 49(1), 34–42. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182022000100034>

Beltrán, G., Jiménez, A., del Río, C., Sánchez, S., Martínez, L., Uceda, M., & Aguilera, M. P. (2010). Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and

- genetic factors. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 633–639.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.03.003>
- Berti, M., Wilckens, R., Fischer, S., Evia, F., Tramón, C., & Pertierra, R. (2006). Oleaginosas especiales. En *Universidad de Concepción*.
- Bravo-Portocarrero, R., Leon-Tacca, B., Llanos-Nina, J., & Medina, W. (2022). Caracterización morfológica y evaluación agronómica de 3 variedades y 27 accesiones de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) procedentes del banco de germoplasma Camacani, Puno, Perú. *Bioagro*, 34(2), 111–124.  
<https://doi.org/10.51372/bioagro342.2>
- Bravo, D. M., Puratic, Q. F. O., & Slephan, R. (1976). Vitamina E. *Revista Chilena de Pediatría*, 47, 402–408.
- Briceño, D. (2007). *La temperatura y el tiempo del secador como factor determinante en el proceso de secado del grano de soya en la extracción de aceite*. Universidad Técnica de Ambato.
- Cerón, L. J., Hurtado, A. M., & Ayala, A. A. (2016). Efecto de la presión y la temperatura de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico sobre el rendimiento y composición de xyaba (*Psidium guajava*). *Informacion Tecnologica*, 27(6), 249–258. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000600025>
- Clara, M. P. F., Veronezi, C. M., & Jorge, N. (2020). Evaluation of quality of chia (*Salvia hispanica*), sesame (*Sesamum indicum*), and quinoa (*Chenopodium quinoa*) oils. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 63, 1–7.  
<https://doi.org/10.1590/1678-4324-2020180351>

- CODEX ALIMENTARIUS. (2016). *Anteproyecto de revisión de la clasificación de alimentos y piensos: grupos de productos seleccionados grupo 020 – gramíneas de cereales en grano* (Vol. 8). FAO - OMS.
- Colombo, M. L. (2010). An Update on Vitamin E, Tocopherol and Tocotrienol— Perspectives. *Molecules*, *15*, 2103–2113.  
<https://doi.org/10.3390/molecules15042103>
- Cunha, S. C., Amaral, J. S., Fernandes, J. O., & Oliveira, M. B. P. P. (2006). Quantification of tocopherols and tocotrienols in Portuguese olive oils using HPLC with three different detection systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(9), 3351–3356. <https://doi.org/10.1021/jf053102n>
- Das Gupta, S., & Suh, N. (2016). Tocopherols in cancer: An update. *Molecular nutrition & food research*, *60*(6), 1354–1363.  
<https://doi.org/10.1002/mnfr.201500847>
- De Andrade, M., Kestekoglou, I., Charalampopoulos, D., & Chatzifradkou, A. (2019). Supercritical Fluid Extraction of Carotenoids from Vegetable Waste Matrices. *Molecules*, *24*. <https://doi.org/10.3390/molecules24030466>
- De Bruin, A. (1963). Investigation of the food value of Quinoa and Cañihua seed. *Journal of Food Science*, *29*(6), 872–876.
- del Carpio-Jiménez, C., Molleda-Gutierrez, R. S., & Tapia-Delgado, P. (2023). Evaluation of Properties of *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) Oil for Possible Use in Cosmetic Formulations. *Journal of oleo science*, *72*(5), 501–509.  
<https://doi.org/10.5650/jos.ess22318>

- Dillchneider, A., Frasier, I., Funaro, D., Fernández, R., & Quiroga, A. (2019). Nitrogen Fertilization Strategies To Increase Yield and Protein of Wheat in the Pampean Semiarid Region. *Semiárida: Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam*, 29(1), 53–62. [https://doi.org/10.19137/semiarida.2019\(01\).53-62](https://doi.org/10.19137/semiarida.2019(01).53-62)
- Doria Serrano, M. del C. (2009). Química verde: un nuevo enfoque para el cuidado del medio ambiente. *Educación Química*, 20(4), 412–420. [https://doi.org/10.1016/s0187-893x\(18\)30044-2](https://doi.org/10.1016/s0187-893x(18)30044-2)
- Espinosa-Silva, R. (2015). Propiedades Termodinámicas del Efecto Hidrofóbico en la Estabilidad Proteica. *Jurnal de Ciencia e Ingeniería*, 7(1), 1–9.
- FAO. (s. f.). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: El Perú es el país con la Inseguridad Alimentaria más alta de Suramérica | FAO en Perú | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Recuperado 21 de marzo de 2023, de <https://www.fao.org/peru/noticias/detail-events/es/c/1603081/>
- FAO. (2011). *La Seguridad Alimentaria: información para la toma de decisiones*. 4. [www.ipcinfo.org](http://www.ipcinfo.org)
- FAO. (2012a). Factores físicos que afectan al grano almacenado. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*, 1–6.
- FAO. (2012b). Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. En *Oms (Organizaci)*.
- Fletcher, R. J. (2016). Pseudocereals : Overview. En *Encyclopedia of Food Grains* (2<sup>a</sup> ed., Vol. 2). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00039-5>
- Flores-Margez, J. P., Corral-Díaz, B., Osuna-Ávila, P., & Hernández-Escamilla, J. A.

- (2021). Response of wheat flour varieties in three types of soils in northern Mexico. *Terra Latinoamericana*, 39, 1–13.  
<https://doi.org/10.28940/TERRA.V39I0.817>
- Fornari, T., Vicente, G., Vázquez, E., García-Risco, M. R., & Reglero, G. (2012). Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*, 1250, 34–48.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.04.051>
- Fuad, F. M., & Don, M. M. (2016). Ultrasonic-assisted extraction of oil from calophyllum inophyllum seeds: Optimization of process parameters. *Jurnal Teknologi*, 78(10), 199–206. <https://doi.org/10.11113/jt.v78.4946>
- Giménez, T., Mamani, F., & Wilfredo, C. (2017). *El Arte de Cultivar Cañahua* (IICA (ed.)).
- Gnansounou, E., & Raman, J. K. (2017). Life Cycle Assessment of Algal Biorefinery. En *Life-Cycle Assessment of Biorefineries*. Elsevier B.V.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63585-3.00007-3>
- Gonzales, D. (2011). *Manejo de módulos y equipos para el procesamiento de cañihua*. Dirección Regional Agraria Puno.
- Grilo, E. C., Costa, P. N., Gurgel, C. S. S., Beserra, A. F. de L., Almeida, F. N. de S., & Dimenstein, R. (2014). Alpha-tocopherol and gamma-tocopherol concentration in vegetable oils. *Food Science and Technology*, 34(2), 379–385.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612014005000031>
- Guinazi, M., Miranda Milagres, R. C. R., Pinheiro-SanT’Ana, H. M., & Chaves, J. B. P.

- (2009). Tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and eggs. *Quimica Nova*, 32(8), 2098–2103. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422009000800021>
- Hameedat, F., Hawamdeh, S., Alnabusi, S., & Zayed, A. (2022). High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Fluorescence Detection for Quantification of Steroids in Clinical, Pharmaceutical, and Environmental Samples: A Review. *Molecules*, 27(1087), 32. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules27061807>
- Hermógenes, G., Velásquez, J., & Cuartas, P. (2010). Extracción con solventes y purificación de aceite a partir de semillas de *Jatropha Curcas*. *Revista Investigaciones Aplicadas*, 4(2), 77–86.
- Herrero, M., Sánchez-Camargo, A. del P., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2015). Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 71, 26–38. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.01.018>
- Hu, T., Zhou, L., Kong, F., Wang, S., Hong, K., Lei, F., & He, D. (2023). Effects of Extraction Strategies on Yield, Physicochemical and Antioxidant Properties of Pumpkin Seed Oil. *Foods*, 12(18), 1–12. <https://doi.org/10.3390/foods12183351>
- Huamaní, F. de M. (2018). Evaluación del perfil químico - nutricional y actividad antioxidante de tres ecotipos de Cañihua (*Chenopodium Pallidicaule* AELLEN) procedentes de Puno. *Universidad Peruana Cayetano Heredia*, 1–63. <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/5954>
- Huiche, A. (2018). Determinacion de las isotermas de sorcion de agua, propiedades

microestructurales de dos variedades de granos de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) con y sin perigonio [Universidad Nacional del Altiplano]. En *Universidad Nacional del Altiplano*.

[http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/11136/Huiche\\_Mamani\\_Amparo\\_Lilliam\\_Gisella.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/11136/Huiche_Mamani_Amparo_Lilliam_Gisella.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

INDECOPI. (2018). *Cañihua*. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual.

INEI. (2022). Pobreza afectó al 25.9% de la población. *Nota de Prensa N° 072, 2020*, 1–3. <https://m.inei.gov.pe/media/MenuRecursivo/noticias/nota-de-prensa-no-072-2022-inei.pdf>

INS. (2017). Centro Nacional de Alimentación Y Nutrición. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos Lima –Perú. En *Repositorio.Ins.Gob.Pe* (Instituto, Número 56). Instituto Nacional de Salud y Ministerio de Salud. <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/INS/1034/tablas-peruanas-QR.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Jacobsen, S., Mujica, A., & Ortiz, R. (2003). La importancia de los cultivos andinos. *Fermentum. Revista Venezolana de Sociología y Antropología*, 13, 14–34.

Jafarian Asl, P., Niazmand, R., & Yahyavi, F. (2020). Extraction of phytosterols and tocopherols from rapeseed oil waste by supercritical CO<sub>2</sub> plus co-solvent: A comparison with conventional solvent extraction. *Heliyon*, 6(3), e03592. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03592>

Jing, C. L., Dong, X. F., & Tong, J. M. (2015). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of flavonoid compounds and antioxidants from alfalfa using response

surface method. *Molecules*, 20(9), 15550–15571.

<https://doi.org/10.3390/molecules200915550>

Kondić-Špika, A., Mladenov, N., Grahovac, N., Zorić, M., Mikić, S., Trkulja, D., Marjanović-Jeromela, A., Miladinović, D., & Hristov, N. (2019). Biometric analyses of yield, oil and protein contents of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes in different environments. *Agronomy*, 9(6), 8–10.

<https://doi.org/10.3390/agronomy9060270>

Lárez, C. (2017). Determinación del índice de saponificación en aceite de maíz usando unalipasa de procedencia nacional. *ResearchGate*, April, 26–42.

[https://www.researchgate.net/publication/320622547\\_Determinacion\\_del\\_indice\\_de\\_saponificacion\\_en\\_aceite\\_de\\_maiz\\_usando\\_una\\_lipasa\\_de\\_procedencia\\_nacional](https://www.researchgate.net/publication/320622547_Determinacion_del_indice_de_saponificacion_en_aceite_de_maiz_usando_una_lipasa_de_procedencia_nacional)

1

Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques : A review. *Journal of Chromatography A*, 1635, 461770. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461770>

Marques, A. C., Coelho, A. R. F., Pessoa, C. C., Daccak, D., Luís, I. C., Almeida, A. S., Campos, P. S., Simões, M., Pessoa, M. F., Reboredo, F. H., Ramalho, J. C., Silva, M. M., Marques, P., Legoinha, P., Pais, I. P., Oliveira, K., & Lidon, F. C. (2022). Comparison between Varieties of Rice (*Oryza sativa* L.) Produced in Portugal—Mineral and Quality Analysis. *Chemistry Proceedings*, 3, 46.

<https://doi.org/10.3390/iocag2022-12185>

Martín Sánchez, J. V., González Gullón, M. I., Hernando Álvarez, G., Prieto Ruiz, J., Capuano, A., & Delgado Arroyo, M. D. M. (2020). Study of the effects of different

fertilization options and rotations on crop camelina in a semiarid region of Spain.

*Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 36(3), 517–528.

<https://doi.org/10.20937/RICA.53520>

Martínez-Ballesta, M. C., Dominguez-Perles, R., Moreno, D. A., Muries, B., Alcaraz-

López, C., Bastías, E., García-Viguera, C., & Carvajal, M. (2009). Minerals in plant food: Effect of agricultural practices and role in human health. *Sustainable Agriculture*, 2, 111–128. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0394-0\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0394-0_8)

Mérida-Lopez, J., Pérez, S., Morales, R., Purhagen, J., Bergenstahl, B., & Rojas, C.

(2023). Comparison of the Chemical Composition of Six Canihua ( *Chenopodium pallidicaule* ) Cultivars Associated with Growth Habits and after Dehulling. *Foods*.

<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods12081734>

MIDAGRI. (s. f.). *Consumo de granos andinos llega a 2.3 kilogramos per cápita anual*

- Noticias - Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego - Plataforma del Estado

Peruano. Oficina de Comunicaciones. Recuperado 21 de marzo de 2023, de

<https://www.gob.pe/institucion/midagri/noticias/45213-consumo-de-granos-andinos-llega-a-2-3-kilogramos-per-capita-anual>

MINAGRI. (2010). *Cañihua*. Ministerio de Agricultura y Riego.

MINAGRI. (2018). *Manejo Agronomico de Granos Andinos*. Ministerio de Agricultura y Riego.

Miray, R., Kazaz, S., To, A., & Baud, S. (2021). Molecular control of oil metabolism in the endosperm of seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1–23.

<https://doi.org/10.3390/ijms22041621>

- Mu, J., Wu, G., Chen, Z., Brennan, C. S., Tran, K., Dilrukshi, H. N. N., Shi, C., Zhen, H., & Hui, X. (2021). Identification of the fatty acids profiles in supercritical CO<sub>2</sub> fluid and Soxhlet extraction of Samara oil from different cultivars of *Elaeagnus mollis* Diels seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, *101*(November 2020), 103982. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103982>
- Narváez-Cuenca, C. E., Inampues-Charfuelan, M. L., Hurtado-Benavides, A. M., Parada-Alfonso, F., & Vincken, J. P. (2020). The phenolic compounds, tocopherols, and phytosterols in the edible oil of guava (*Psidium guava*) seeds obtained by supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, *89*(May 2019), 103467. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103467>
- Nde, D. B., & Anuanwen, C. F. (2020). Optimization methods for the extraction of vegetable oils: A review. *Processes*, *8*(2). <https://doi.org/10.3390/pr8020209>
- Niessen, H. G., & Woelk, K. (2007). Investigations in supercritical fluids. *Topics in Current Chemistry*, *276*(September 2005), 69–110. <https://doi.org/10.1007/b135837>
- Niki, E., & Abe, K. (2019). Vitamin E: Structure, Properties and Functions. En *Vitamin E: Chemistry and Nutritional Benefits* (Número 11, pp. 1–11). The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781788012409-00001>
- Niro, S., D'Agostino, A., Fratianni, A., Cinquanta, L., & Panfili, G. (2019). Gluten-free alternative grains: Nutritional evaluation and bioactive compounds. *Foods*, *8*(6), 2–10. <https://doi.org/10.3390/foods8060208>
- OMS. (2006). *Trastornos neurológicos, desafíos para la salud pública*. Organización Mundial de la Salud.

Pachari Vera, E., Alca, J. J., Rondón Saravia, G., Callejas Campioni, N., & Jachmanián Alpuy, I. (2019). Comparison of the lipid profile and tocopherol content of four Peruvian quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivars ('Amarilla de Marangani', 'Blanca de Juli', INIA 415 'Roja Pasankalla', INIA 420 'Negra Collana') during germination. *Journal of Cereal Science*, 88(June), 132–137.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.05.015>

Pauro, T. (2017). Evaluacion del comportamiento de almidones y harinas de dos variedades de Cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) procesada para la preparacion de harinas precocidas. Universidad Nacioanl del Altiplano.

Prasad, R., & Shivay, Y. S. (2020). Agronomic biofortification of plant foods with minerals, vitamins and metabolites with chemical fertilizers and liming. *Journal of Plant Nutrition*, 43(10), 1534–1554.  
<https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1738464>

Przygoda, K. (2015). *Extraction of tocopherol-enriched oils from Quinoa seeds by supercritical fluid extraction*. 63, 41–47.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.038>

Quiroga Ledezma, C. C., Ortiz Mérida, A. J., & Escalera Vásquez, C. R. (2018). Evaluación de un proceso novedoso de beneficiado en seco del grano de cañahua (*Chenopodium Pallidicaule aellen*), basado en la aplicación de un lecho fluidizado tipo surtidor. *Investigacion & Desarrollo*, 18(1), 17–34.  
<https://doi.org/10.23881/idupbo.018.1-2i>

Ramos-Diaz, J. M. (2015). Use of amaranth, quinoa, kañiwa and lupine for the development of gluten-free extruded snacks. En *University of Helsinki* (pp. 1–134).

- Ranard, K. M., & Erdman, J. W. (2018). Effects of dietary RRR  $\alpha$ -tocopherol vs all-racemic  $\alpha$ -tocopherol on health outcomes. *Nutrition Reviews*, *76*(3), 141–153.  
<https://doi.org/10.1093/nutrit/nux067>
- Repo-Carrasco-Valencia, R., de La Cruz, A. A., Alvarez, J. C. I., & Kallio, H. (2009). Chemical and functional characterization of kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) grain, extrudate and bran. *Plant Foods for Human Nutrition*, *64*(2), 94–101.  
<https://doi.org/10.1007/s11130-009-0109-0>
- Repo-Carrasco-Valencia, R., Hellström, J. K., Pihlava, J. M., & Mattila, P. H. (2010). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*, *120*(1), 128–133.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.087>
- Repo-Carrasco, R., Espinoza, C., & Jacobsen, S. E. (2003). Nutritional value and use of the andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International*, *19*(1–2), 179–189.  
<https://doi.org/10.1081/FRI-120018884>
- Rojas, W., Vargas, A., & Porcel, M. (2016). La diversidad genética de la quinua: potenciales usos en el mejoramiento y agroindustria. *RIIARn*, *3*(2), 114–124.  
[http://www.scielo.org.bo/pdf/riiarn/v3n2/v3n2\\_a01.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/riiarn/v3n2/v3n2_a01.pdf)
- Sadiq, M., Akram, N. A., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., & Ahmad, P. (2019). Alpha-Tocopherol-Induced Regulation of Growth and Metabolism in Plants Under Non-stress and Stress Conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, *38*(4), 1325–1340. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09936-7>

- SAGARPA. (2017). Oleaginosas canola, cártamo, girasol, soya. En *Planeación Agrícola Nacional 2017 - 2030*.
- Salamanca-Gómez, F. (2001). Avances en el estudio de las enfermedades neurodegenerativas. En *Gaceta Medica de Mexico* (Vol. 137, Número 5).
- Sayago, A., Marín, M., Aparicio, R., & Morales, M. (2007). Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y aceites*, 58(1), 74–86.
- Schneider, C. (2005). *Review Chemistry and biology of vitamin E*. 7–30.  
<https://doi.org/10.1002/mnfr.200400049>
- Shahidi, F., Pinaffi-Langley, A. C. C., Fuentes, J., Speisky, H., & de Camargo, A. C. (2021). Vitamin E as an essential micronutrient for human health: Common, novel, and unexplored dietary sources. *Free Radical Biology and Medicine*, 176(June), 312–321. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.09.025>
- Sosa-Yáñez, L. C., García-Hernández, J. L., Rodríguez-Félix, F., Bello-Pérez, L. A., Tovar, J., López-Córdova, J. P., & López-Ahumada, Y. G. A. (2022). Influence of three irrigation regimes on the agronomic quality of cultivated rye in the coast of Hermosillo, Sonora, Mexico. *Terra Latinoamericana*, 40, 1–12.  
<https://doi.org/10.28940/TERRA.V40I0.1073>
- Sovov, H., & Stateva, R. P. (2011). Supercritical fluid extraction from vegetable materials. *Reviews in Chemical Engineering*, 27, 79–156.  
<https://doi.org/10.1515/REVCE.2011.002>
- Sun, Q., Shi, J., Scanlon, M., Xue, S. J., & Lu, J. (2021). Optimization of supercritical-CO<sub>2</sub> process for extraction of tocopherol-rich oil from canola seeds. *Lwt*,

145(March), 111435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111435>

Talha Afraz, M., Xu, X., Adil, M., Faisal Manzoor, M., Zeng, X., Han, Z., & Aadil, R.

M. (2023). Subcritical and Supercritical Fluids to Valorize Industrial Fruit and Vegetable Waste. *Foods*, *12*, 2417.

Tang, Y., Li, X., Chen, P. X., Zhang, B., Hernandez, M., Zhang, H., Marcone, M. F.,

Liu, R., & Tsao, R. (2015). Characterisation of fatty acid , carotenoid , tocopherol / tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd . genotypes. *FOOD CHEMISTRY*, *174*, 502–508.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.040>

Tasan, M., & Demirci, M. (2005). Total and individual tocopherol contents of

sunflower oil at different steps of refining. *European Food Research and*

*Technology*, *220*(3–4), 251–254. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1045-8>

Thompson, M. D., & Cooney, R. V. (2020). The Potential Physiological Role of  $\gamma$ -

Tocopherol in Human Health: A Qualitative Review. *Nutrition and Cancer*, *72*(5),

808–825. <https://doi.org/10.1080/01635581.2019.1653472>

Torres-Morales, B., Coutiño-Estrada, B., Muñoz-Orozco, A., Santacruz-Varela, A.,

Mejía-Contreras, A., Serna-Saldivar, S. O., García-Lara, S., & Palacios-Rojas, N.

(2010). Selección para contenido de aceite en el grano de variedades de maíz de la raza comiteco de Chiapas, México. *Agrociencia*, *44*(6), 679–689.

Ulatowski, L. M., & Manor, D. (2015). Neurobiology of Disease Vitamin E and

neurodegeneration. *Neurobiology of Disease*, *84*, 78–83.

<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.04.002>

- Ulfat, A., Mehmood, A., Ahmad, K. S., & Ul-Allah, S. (2021). Elevated carbon dioxide offers promise for wheat adaptation to heat stress by adjusting carbohydrate metabolism. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27(10), 2345–2355. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01080-5>
- Valdés, C. V., & Morales-rosales, E. J. (2019). Variability in soluble carbohydrates of the stem and its contribution to grain yield in wheat. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(3), 615–627.
- Van Meel, P. A., Erich, S. J. F., Huinink, H. P., Kopinga, K., De Jong, J., & Adan, O. C. G. (2011). Moisture transport in coated wood. *Progress in Organic Coatings*, 72(4), 686–694. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2011.07.011>
- Villa, D. Y. G., Russo, L., Kerbab, K., Landi, M., & Rastrelli, L. (2014). Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium pallidicaule* (cañ ihua) and *Chenopodium quinoa* (quinoa) seeds. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 26(7), 609–615. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v26i7.18187>
- Wagner, K.-H., Kamal-Eldin, A., & Elmadfa, I. (2004). Gamma-Tocopherol – An Underestimated Vitamin? Karl-Heinz. *Annal of Nutrition & Metabolism*, 169–188. <https://doi.org/10.1159/000079555>
- Wang, X., Xu, P., Yin, L., Ren, Y., Li, S., Shi, Y., Alcock, T. D., Xiong, Q., Qian, W., Chi, X., Pandey, M. K., Varshney, R. K., & Yuan, M. (2018). Genomic and Transcriptomic Analysis Identified Gene Clusters and Candidate Genes for Oil Content in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*, 36(3), 518–529. <https://doi.org/10.1007/s11105-018-1088-9>
- Wejnerowska, G., & Ciaciuch, A. (2018). Optimisation of oil extraction from Quinoa

- seeds with supercritical carbon dioxide with co-solvents. *Czech Journal of Food Sciences*, 36(1), 81–87. <https://doi.org/10.17221/122/2017-CJFS>
- Yousefi, M., Rahimi-Nasrabadi, M., Pourmortazavi, S. M., Wysokowski, M., Jesionowski, T., Ehrlich, H., & Mirsadeghi, S. (2019). Supercritical fluid extraction of essential oils. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 118, 182–193. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.038>
- Yu, M., Kniepkamp, K., Thie, J. P., Witkamp, G.-J., & van Haren, R. (2022). Supercritical carbon dioxide extraction of oils from Andean lupin beans Lab-scale performance, process scale-up, and economic evaluation. *Food Process Engineering*.
- Yu, M., Kniepkamp, K., Thie, J. P., Witkamp, G.-J., & van Haren, R. (2023). Supercritical carbon dioxide extraction of oils from Andean lupin beans Lab-scale performance, process scale-up, and economic evaluation. *Journal of Food Process Engineering*, 46, 1–19. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14289>
- Yu, Y.-H., Li, G., Fan, Y.-Y., Zhang, K.-Q., Min, J., Zhu, Z.-W., & Zhuang, J.-Y. (2009). Genetic relationship between grain yield and the contents of protein and fat in a recombinant inbred population of rice. *Journal of Cereal Science*, 50(1), 121–125. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.03.008>
- Yusuf, A. K. (2018). A review of methods used for seed oil extraction. *International Journal of Science and Research*, 7(12), 233–238.
- Zingg, J. M. (2007). Vitamin E : An overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine*, 28, 400–422. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2007.05.004>

Zubillaga, M., Juan, G., & Alder, M. (2016). Amaranto: una alternativa de diversificación productiva de calidad nutricional en la norpatagonia Argentina. *Pesquisa e Inovação nas Ciências que Alimentam o Mundo, V*, 1–23.

INFOSTAT (2022) [Software]. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.  
<https://www.infostat.com.ar>

## **APENDICE**

**Apéndice 1.  
Matriz de consistencia**

TÍTULO	PROBLEMA		OBJETIVO		HIPÓTESIS		VARIABLE		INDICADOR
	Problema general:	Objetivo general:	Objetivo general:	Hipótesis general:	Variable independiente	Variable Dependiente			
Extracción de aceite mediante fluido supercrítico de dos variedades de cañihua (Chenopodium Pallidicaule Aellen) Cupi e Illpa-INIA con perigonio y sin perigonio y su cuantificación de tocoferoles.	¿Cuánto de aceite se podrá extraer mediante fluido supercrítico de dos variedades de cañihua (Chenopodium Pallidicaule Aellen) Cupi e Illpa-INIA con perigonio y sin perigonio y cuál será el contenido de tocoferoles?	Extraer aceite mediante fluido supercrítico de dos variedades de cañihua (Chenopodium Pallidicaule Aellen) Cupi e Illpa-INIA con perigonio y sin perigonio y su cuantificación de tocoferoles.	Existe diferencia entre la composición proximal entre las variedades Cupi e Illpa-INIA de cañihua (Chenopodium Pallidicaule Aellen)						
	<b>Problemas específicos</b>	<b>Objetivo específico:</b>	<b>Hipótesis estadística</b>						
	¿Cuál es la composición proximal de dos variedades de cañihua Cupi e Illpa-INIA?	Determinar la composición proximal de dos variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA).	Existe diferencia entre la composición proximal entre las variedades Cupi e Illpa-INIA de cañihua (Chenopodium Pallidicaule Aellen)		Variedad de cañihua (Cupi e Illpa-INIA).	Humedad Ceniza Grasa Proteína Fibra Carbohidratos			g/100g g/100g g/100g g/100g g/100g g/100g
	¿Qué efecto tendrá el método de extracción (convencional y fluido supercrítico) variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) perigonio (contiene y no contiene) sobre el rendimiento de aceite?	Evaluar el efecto del método de extracción (convencional y fluido supercrítico) variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) perigonio (contiene y no contiene) sobre el rendimiento de aceite.	El rendimiento de aceite extraído a partir de la cañihua en sus variedades Cupi e Illpa-INIA con y sin perigonio se ve afectado por método de extracción (convencional y fluido supercrítico).		Métodos de extracción (convencional y fluido supercrítico) Variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) Perigonio (contiene y no contiene)		Rendimiento en la extracción de aceite		g/100g
	¿Qué efecto tendrá las variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) perigonio (contiene y no contiene) sobre el contenido de tocoferol obtenido mediante extracción por fluido supercrítico?	Evaluar el efecto de variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) perigonio (contiene y no contiene) sobre el contenido de tocoferol obtenido mediante extracción por fluido supercrítico.	El contenido de tocoferoles es diferente entre variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) y perigonio (con perigonio y sin perigonio)		Variedades de cañihua (Cupi e Illpa-INIA) Perigonio (contiene y no contiene)		α tocoferol γ tocoferol		µg/g µg/g

**Apéndice 2.**  
**Resultados de composición proximal**

**Tabla 24.**

*Resultados de la composición proximal de cañihua en las variedades Cupi e Illpa-INIA, prueba t-student*

Composición	Cupi					Illpa-INIA					t	p-valor
	R1	R2	R3	$\bar{x}$	S	R1	R2	R3	$\bar{x}$	S		
Humedad	10.79	11.04	10.54	10.79	0.25	10.73	11.19	10.35	10.76	0.42	0.19	0.43
Proteína	11.48	11.56	11.09	11.38	0.25	12.01	12.18	11.92	12.04	0.13	-0.82	0.23
Grasa	6.71	6.88	6.23	6.61	0.34	6.53	6.83	6.29	6.55	0.28	0.28	0.40
Ceniza	3.30	3.40	3.13	3.27	0.14	3.31	3.48	3.16	3.32	0.16	-0.41	0.35
Fibra	7.99	8.03	8.05	8.03	0.03	7.94	8.15	7.81	7.97	0.17	0.50	0.32
Carbohidratos	67.85	68.87	67.01	67.91	0.93	67.36	67.39	67.25	67.33	0.07	1.04	0.18

**Apéndice 3.**  
**Resultados de la obtención de aceite**

**Tabla 25.**

Resultados del rendimiento de aceite obtenido mediante EFS-CO<sub>2</sub>

<b>Código</b>	<b>Muestra</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1	Illpa-INIA con perigonio	4.509	4.432	4.5524
2	Cupi con perigonio	5.593	5.52	5.54
3	Illpa-INIA sin perigonio	5.432	5.406	5.46
4	Cupi sin perigonio	5.326	5.41	5.34

**Tabla 26.**

Tratamientos del rendimiento de aceite obtenido mediante EFS-CO<sub>2</sub>

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>MUESTRA</b>	<b>TEMPERATURA (°C)</b>	<b>PRESIÓN (MPa)</b>	<b>TIEMPO DE EXTRACCIÓN (MIN)</b>	<b>SOLVENTE CO2 (% PUREZA)</b>	<b>FLUJO DE CO2 (PIE<sup>3</sup>/h)</b>	<b>FLUJO DE CO2 (L/MIN)</b>	<b>RENDIMIENTO (g/100g)</b>
<b>T1</b>	ILLPA (HARINA + PERIGONIO)	40	27.58	60	99.5	15	7.08	4.5
<b>T2</b>	ILLPA (HARINA)	40	27.58	60	99.5	15	7.08	5.43
<b>T3</b>	CUPI (HARINA)	40	27.58	60	99.5	15	7.08	5.36
<b>T4</b>	CUPI (HARINA + PERIGONIO)	40	27.58	60	99.5	15	7.08	5.55
<b>T5</b>	CUPI (PERIGONIO)	40	27.58	60	99.5	15	7.08	-
<b>T6</b>	ILLPA (PERIGONIO)	40	27.58	60	99.5	15	7.08	-

**Tabla 27.**

Resultado de rendimiento de aceite obtenido por extracción convencional

<b>Código</b>	<b>Muestra</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1	Illpa-INIA con perigonio	5.913	6.126	6.161
2	Cupi con perigonio	6.417	6.414	6.308
3	Illpa-INIA sin perigonio	6.184	6.094	6.735
4	Cupi sin perigonio	7.546	7.384	7.417

## **ANEXOS**

# Anexo 1

## Certificado emitido por INIA para la cañihua variedades Cupi e Illpa-INIA



PERÚ

Ministerio de Agricultura y Riego



Instituto Nacional de Innovación Agraria

2018 - 2027 "Decenio de la Igualdad de Oportunidades para mujeres y hombres"  
"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

### LABORATORIO OFICIAL DE ANÁLISIS DE CALIDAD DE SEMILLAS

Av. La Molina N° 1981, Lima 12 - Perú. Telefax: (511) 240-2100 Anexo: 340 http://www.inia.gob.pe

### CERTIFICADO OFICIAL DE ANÁLISIS DE LOTE DE SEMILLAS N° 0670 -2018-MINAGRI-INIA-DGIA-SDRIA-ARES

<b>Información Declarada por el Solicitante</b>										
Nombre:		EEA ILLPA - INIA Puno								
Dirección:		Rinconada Salcedo s/n. Dist. Puno, Prov. Puno - Dpto. Puno.								
RUC:		20448637663								
<b>Información del Lote</b>										
Especie:		Chenopodium pallidicaule			Cultivar: Illpa - INIA			Clase / Categoría: No Certificada		
N° Envases:		40		Peso del Lote (k):		1,970.0		( b )		Código del Lote: NC-ILL1-007-16
<b>Los del Muestreo</b>										
Muestreador: Ing. José Limache Jarecca						Fecha del muestreo: 27/09/2018				
<b>Resultados de los Análisis</b>										
						N° de Solicitud de Análisis: N° 0903-2018				
Peso recibido (gramos):			Fecha de recepción de la muestra:			Fecha de término del análisis:				
145.24			09/10/2018			12/10/2018				
ANÁLISIS DE PUREZA			PRUEBA DE GERMINACION						CONTENIDO DE HUMEDAD (%)	
% en peso			% en número							
Semilla pura	Materia inerte	Otras semillas	Número de días	Plántulas normales	Semillas duras	Semillas frescas	Plántulas anormales	Semillas muertas		
99.7%	0.3%	Trazas	3	97%	0%	0%	1%	2%	10.4%	
Clase de materia inerte:										
Palos, piedras, tegumentos de semillas.										
Otras semillas:										
---										
Otras Determinaciones:										
---										
<b>Observaciones:</b>										
a. Siembra sobre papel y puesta de ensayo al ciclo 25°C constante.										
b. El lote esta conformado por treinta y nueve (39) sacos de 50 kg y un (1) saco de 20 kg.										
c. Este Certificado corresponde al formato N° 0725										
Lugar y Fecha:				<b>INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA</b> Dirección de Gestión de la Innovación Agraria Sub dirección de Regulación de la Innovación Agraria Área de Regulación en Semillas						
La Molina, 15 de octubre 2018				 <b>ING. SUSANA L. CHUMHAUCA MATEO</b> Responsable Laboratorio Oficial de Análisis de Semillas Firma y Sello						



2018 - 2027 "Decenio de la Igualdad de Oportunidades para mujeres y hombres"  
"Año de Diálogo y la Reconciliación Nacional"

LABORATORIO OFICIAL DE ANÁLISIS DE CALIDAD DE SEMILLAS  
Av. La Molina Nº 1981, Lima 12 - Perú. Teléfax: (511) 240-2100 Anexo: 340 http://www.inia.gob.pe

CERTIFICADO OFICIAL DE ANÁLISIS DE LOTE DE SEMILLAS  
Nº 0674 -2018-MINAGRI-INIA-DGIA-SDRIA-ARES

<b>Información Declarada por el Solicitante</b>												
Nombre:		EEA ILLPA - INIA Puno										
Dirección:		Rinconada Salcedo s/n. Dist. Puno, Prov. Puno - Dpto. Puno.										
RUC:		20448637663										
<b>Información del Lote</b>												
Especie:		Chenopodium pallidicaule			Cultivar:		Cupi			Clase / Categoría:		No Certificada
Nº Envasas:		27		Peso del Lote (k):		1,335.0		( b )		Código del Lote:		NC-ILL-1-006-16
<b>Datos del Muestreo</b>												
Muestreador:						Ing. José Limache Jarecca				Fecha del muestreo:		27/09/2018
<b>Resultados de los Análisis</b>										<b>Nº de Solicitud de Análisis:</b>		Nº 0904-2018
Peso recibido (gramos):			Fecha de recepción de la muestra:				Fecha de término del análisis:					
170.00			09/10/2018				15/10/2018					
<b>ANÁLISIS DE PUREZA</b>			<b>PRUEBA DE GERMINACION</b>						<b>CONTENIDO DE HUMEDAD (%)</b>			
% en peso			% en número									
Semilla pura	Materia inerte	Otras semillas	Número de días	Plántulas normales	Semillas duras	Semillas frescas	Plántulas anormales	Semillas muertas				
99.9%	0.1%	0.0%	5	93%	0%	0%	3%	4%	10.4%			
Clase de materia inerte:										Tegumentos de semillas.		
Otras semillas:										---		
Otras Determinaciones:										---		
<b>Observaciones:</b>												
a. Siembra sobre papel y puesta de ensayo al ciclo 25°C constante.												
b. El lote esta conformado por veinte y seis (26) sacos de 50 kg y un (1) saco de 35 kg.												
c. Este Certificado corresponde al formato N° 0730												
Lugar y Fecha:				 <b>INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA</b> Dirección de Gestión de la Innovación Agraria Sub dirección de Regulación de la Innovación Agraria Área de Regulación en Semillas INC. SUSANA L. CHUMBLAUCATEO Responsable Laboratorio Oficial de Análisis de Semillas Firma y Sello								
La Molina, 16 de octubre 2018												

**Anexo 2.**  
**Resultados de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol de aceite obtenido por EFS-CO<sub>2</sub> emitido por el Laboratorio de cromatografía y espectrofotometría de la UNSAAC**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

**RESULTADOS**

Cusco, 25 de Junio del 2021 <sup>C-09</sup>

Solicitantes : Janeth Mireya Gonzáles Cari  
 Tipo de Análisis : Determinación de Gamma tocoferol  
 Método : Cromatografía Líquida  
 Tipo de Muestras : Cañihua  
 Cantidad de Muestra : 4, aproximadamente 100 gr. de cada uno  
 Almacenamiento : 4 °C.

Código	Cañihua	Repeticiones			Promedio
		1	2	3	Gamma Tocoferol % en grasa total
1	Illpa INIA	0,156	0,157	0,163	0,159
2	Cupi	0,141	0,137	0,132	0,137
3	Illpa Harina	0,183	0,181	0,179	0,181
4	Cupi Harina	0,123	0,126	0,132	0,127

Código	Cañihua	Repeticiones			Promedio
		1	2	3	Alfa Tocoferol % en grasa total
1	Illpa INIA	0,123	0,122	0,129	0,125
2	Cupi	0,127	0,123	0,118	0,123
3	Illpa Harina	0,249	0,245	0,245	0,246
4	Cupi Harina	0,256	0,255	0,250	0,254

Nota: Los resultados obtenidos expresa el porcentaje de Gama y Alfa tocoferol encontrados en la grasa total de cada muestra, la detección se realizó por el análisis del tiempo de retención y espectro ultravioleta del estándar Gama tocoferol frente a las señales de la muestra.



Quim. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría – UNSAAC.  
 CQP - 914



**RESULTADOS**

Cusco, 25 de Junio del 2021 <sup>C-09</sup>

Solicitantes : Janeth Mireya Gonzáles Cari  
Tipo de Análisis : Determinación de Gamma tocoferol  
Método : Cromatografía Líquida  
Tipo de Muestras : Cañihua  
Cantidad de Muestra : 4, aproximadamente 100 gr. de cada uno  
Almacenamiento : 4 °C.

Código	Cañihua	Repeticiones			Promedio
		1	2	3	Gamma Tocoferol ug/gr Aceite
1	Ilipa INIA	1559.953	1571.205	1628.263	1586.5
2	Cupi	1407.263	1373.519	1323.868	1368.2
3	Ilipa Harina	1831.547	1807.353	1787.108	1808.7
4	Cupi Harina	1234.025	1259.226	1324.07	1272.4

Código	Cañihua	Repeticiones			Promedio
		1	2	3	Alfa Tocoferol ug/gr Aceite
1	Ilipa INIA	1231.503	1219.972	1285.167	1245.5
2	Cupi	1265.353	1226.597	1177.942	1223.3
3	Ilipa Harina	2488.202	2454.978	2445.904	2463.0
4	Cupi Harina	2562.466	2551.898	2501.112	2538.5

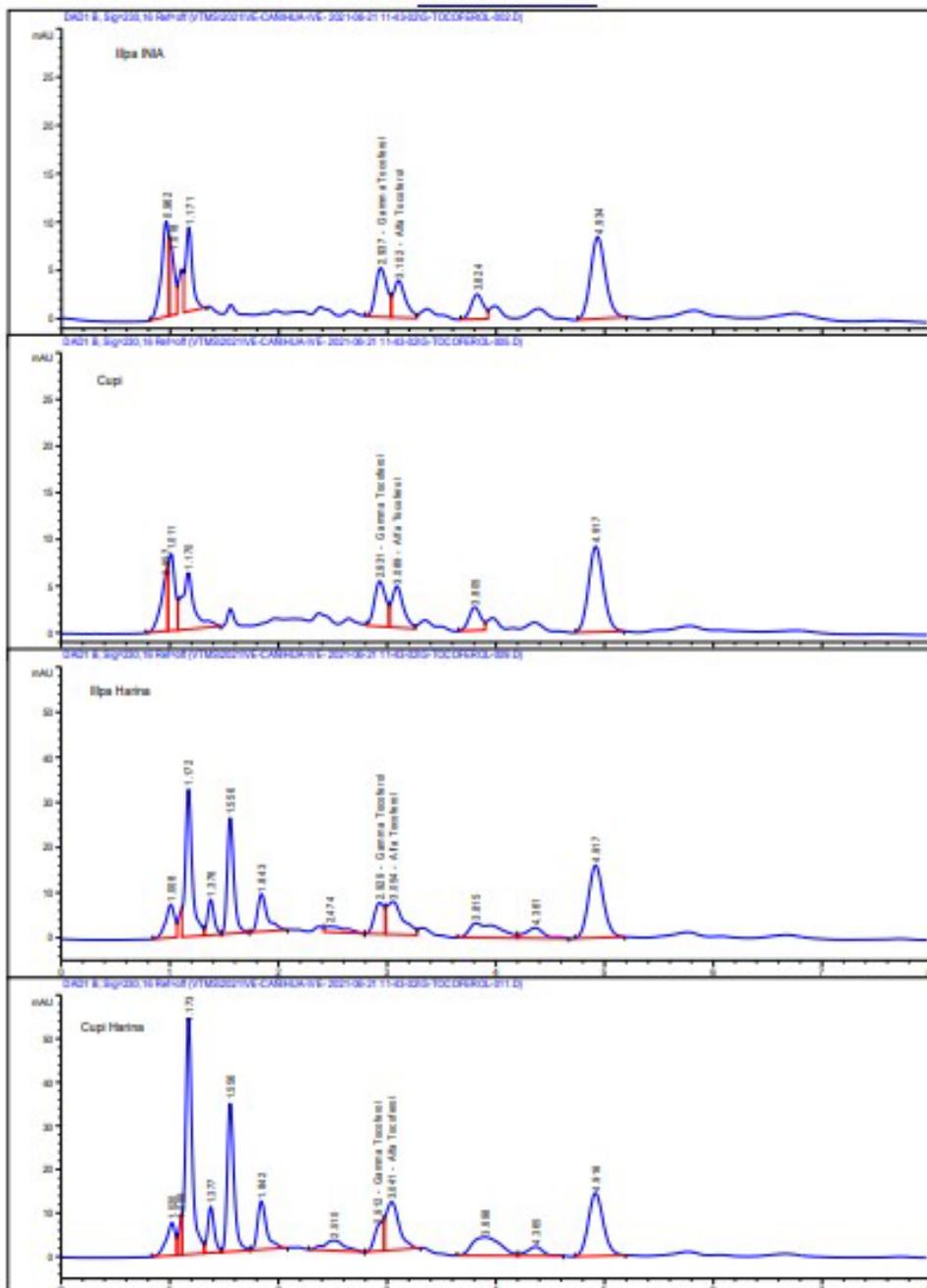
Nota: Los resultados obtenidos expresa el porcentaje de Gama y Alfa tocoferol encontrados en el Aceite extraído de cada muestra, la detección se realizó por el análisis del tiempo de retención y espectro ultravioleta del estándar Gama tocoferol frente a las de la muestra.



Químico. Jorge Choquenaira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría – UNSAAC.  
CQP - 914



## RESULTADOS



*[Handwritten Signature]*

Quirico, Jorge Chiquenaira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNSAAC.  
CQP - 914



## RESULTADOS

### Condiciones de Análisis por HPLC (7)

Cromatógrafo	: Agilent serie 1200
Software	: Chemstation V03.02
Columna	: Zorbax SB-C18 4.6 x 75mm, 3.5µm
Pre Columna	: Zorbax Eclipse XDB-C18 4.6d x 12.5 mm x 5µm
Flujo de Columna	: 0.9 ml/min.
Fase móvil A	: Acetonitrilo: 2 Propanol 70:30
Sistema de Análisis	: Isocrático
Detección DAD	: 295 nm vitamina E
Temperatura del Horno	: 30.0°C
Tiempo de Análisis	: 8 min.
Volumen de Inyección	: 1.0 µl

### Referencia

1. Azrina, A., Abd Aziz, N., Khoo, H. E., Amin, I., Al-Sheraji, S. H. and Muhammad Rizal, R. Cholesterol and alpha-tocopherol contents of fish and other seafood from. 7. International Food Research Journal Volume 22 Issue 1, 2015 <http://www.ifrj.upm.edu.my/volume-22-2015.html>
2. Burmeister, A., Bondiek, S., Apel, L., Kühne, C., Hillebrand, S., & Fleischmann, P. (2011). Comparison of carotenoid and anthocyanin profiles of raw and boiled Solanum tuberosum and Solanum phureja tubers. Journal of Food Composition and Analysis, 24(6), 865–872. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.03.006>
3. Czauderna, M. & Kowalczyk, J. & Niedzwiedzka, K.M.. (2009). Simple HPLC Analysis of Tocopherols and Cholesterol from Specimens of Animal Origin. Chemia Analityczna. 54. 203-214. <http://beta.chem.uw.edu.pl/chemanal/PDFs/2009/CHAN2009V54P00203.pdf>
4. Edison, B. (2009). Analysis of Tocopherols by High Performance Liquid Chromatography. E-Journal of Chemistry; Hindawi. <https://doi.org/10.1155/2009/415864>
5. He, J., & Giusti, M. M. (2011). High-purity isolation of anthocyanins mixtures from fruits and vegetables – A novel solid-phase extraction method using mixed mode cation-exchange chromatography. Journal of Chromatography A, 1218(44), 7914–7922. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.09.005>
6. Kand'ár, R., Novotná, P., & Drábková, P. (2013). Determination of Retinol, -Tocopherol, Lycopene, and -Carotene in Human Plasma Using HPLC with UV-Vis Detection: Application to a Clinical Study [Research article]. <https://doi.org/10.1155/2013/460242>
7. Khamkaew, C. (2017). Effects of Mobile Phase Composition as a Function of Temperature on Isocratic Elution Behavior of  $\beta$ -carotene in Reversed-Phase Liquid Chromatographic Systems. International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences, 6(3), 94–97. <https://doi.org/10.18178/ijpmbs.6.3.94-97>. Program of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University, Muang District, Songkhla Province 90000, Thailand, &
8. Rodríguez-Saona, L. E., & Wrolstad, R. E. (2005). Acetone extraction and chloroform partition of anthocyanins. Unit F1.1. In R. E. Wrolstad, & S. J. Schwartz (Eds.), Handbook of food analytical chemistry (pp. 7). New York: John Wiley & Sons, Inc.



Quim. Jorge Choquenaira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría – UNSAAC.  
CQP - 914

-----  
 Calibration Table  
 -----

Tocoferoles

Calib. Data Modified : 3/5/2021 12:26:59 PM

Calculate : External Standard  
 Based on : Peak Area

Rel. Reference Window : 5.000 %  
 Abs. Reference Window : 0.000 min  
 Rel. Non-ref. Window : 5.000 %  
 Abs. Non-ref. Window : 0.000 min

Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs  
 Uncalibrated Peaks : using compound Gamma Tocoferol  
 Partial Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated  
 Correct All Ret. Times: No, only for identified peaks

Curve Type : Linear  
 Origin : Included  
 Weight : Equal

Recalibration Settings:  
 Average Response : Average all calibrations  
 Average Retention Time: Floating Average New 75%



Calibration Report Options :  
 Printout of recalibrations within a sequence:  
     Calibration Table after Recalibration  
     Normal Report after Recalibration  
 If the sequence is done with bracketing:  
     Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: DAD1 B, Sig=230,16 Ref=off

RetTime	Lvl	Amount	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
[min]	Sig	[ug/ml]			
2.869	1	25.00000	19.13667	1.30639	Gamma Tocoferol
	2	50.00000	33.39980	1.49701	
	3	100.00000	64.05949	1.56105	
	4	200.00000	113.05889	1.76899	
	5	400.00000	246.29619	1.62406	
3.122	1	25.00000	10.50009	2.38093	Alfa Tocoferol
	2	50.00000	28.71925	1.74099	
	3	100.00000	72.63999	1.37665	
	4	200.00000	159.68224	1.25249	
	5	400.00000	346.45981	1.15454	

More compound-specific settings:

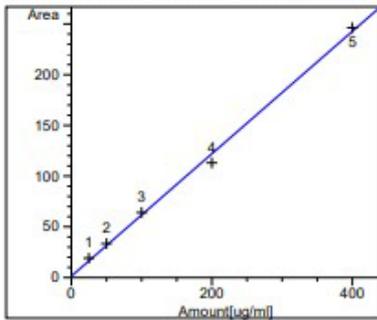
Compound: Gamma Tocoferol  
 Time Window : From 2.700 min To 3.030 min

Compound: Alfa Tocoferol  
 Time Window : From 3.030 min To 3.300 min

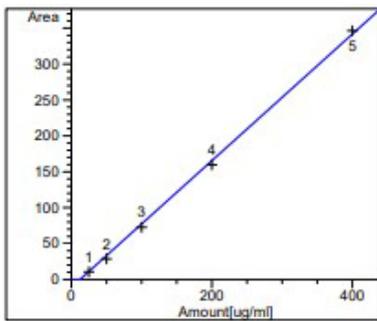
-----  
 Peak Sum Table  
 -----

\*\*\*No Entries in table\*\*\*  
 -----

Calibration Curves



Gamma Tocopherol at exp. RT: 2.869  
DAD1 B, Sig=230,16 Ref=off  
Correlation: 0.99865  
Residual Std. Dev.: 5.28210  
Formula:  $y = mx + b$   
m: 6.03496e-1  
b: 1.37363  
x: Amount  
y: Height



Alfa Tocopherol at exp. RT: 3.122  
DAD1 B, Sig=230,16 Ref=off  
Correlation: 0.99878  
Residual Std. Dev.: 7.34257  
Formula:  $y = mx + b$   
m: 8.81764e-1  
b: -10.89423  
x: Amount  
y: Height

**Anexo 3.**  
**Panel fotográfico**



Fotografía 1. Semilla de cañihua sin perigonio variedad Cupi



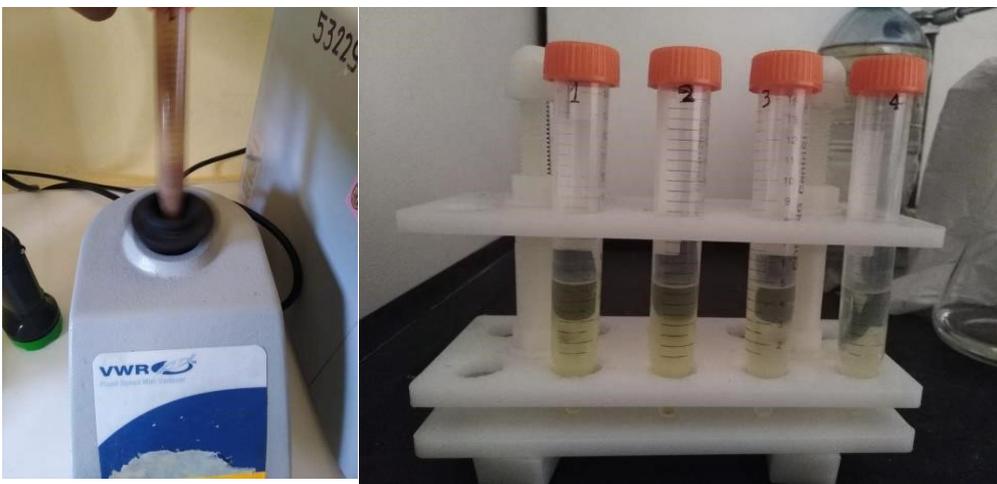
Fotografía 2. Semilla de cañihua sin perigonio variedad Illpa-INIA



Fotografía 3. Muestras de cañihua



Fotografía 4. Extracción de aceite por método convencional



Fotografía 5. Obtención de aceite por método convencional



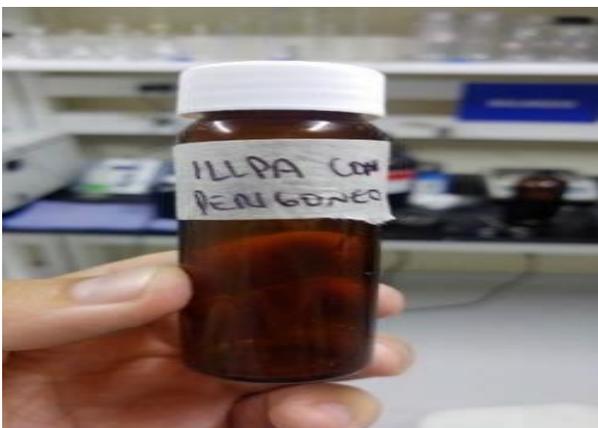
Fotografía 6. Aceite obtenido de cañihua.



Fotografía 7. Colocación de muestras para sistema EFS-CO<sub>2</sub>.



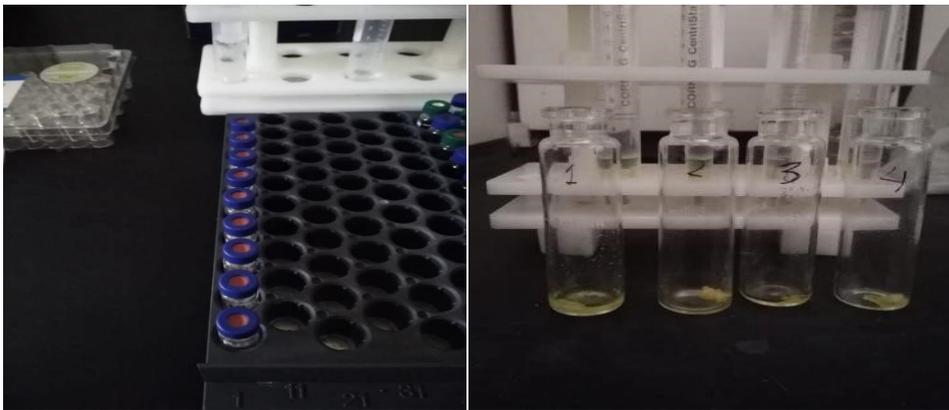
Fotografía 8. Equipo de sistema EFS-CO<sub>2</sub>.



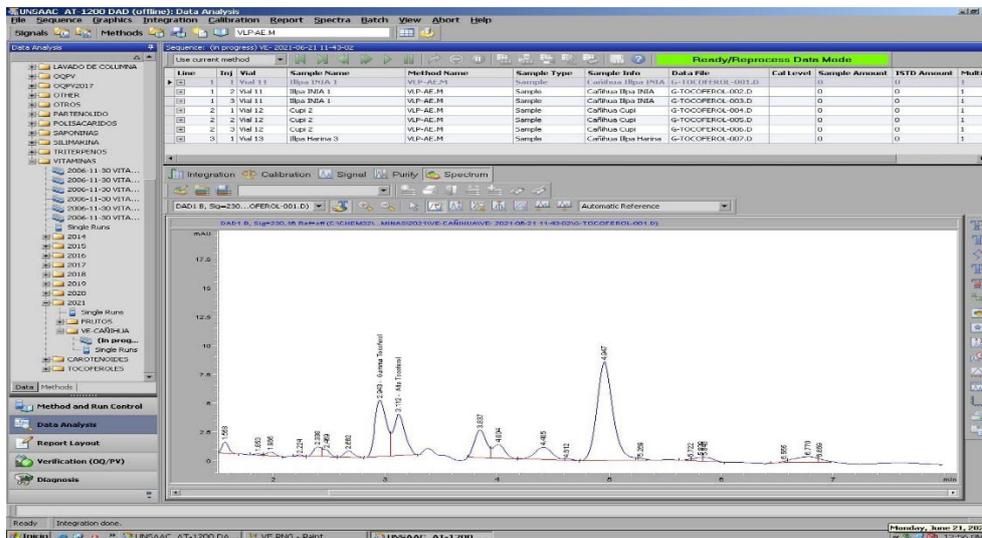
Fotografía 9. Muestra de aceite extraída por EFS-CO<sub>2</sub>.



Fotografía 10. Equipo de HPLC\_DAD



Fotografía 11. Muestra de aceite para ser analizadas por HPLC-DAD



Fotografía 12. Cromatograma de la muestra de cañihua