

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA SEMILLA DE AJONJOLÍ (*SESAMUN INDICUM*  
L), COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE A TRAVÉS  
DEL ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS**

**ANDRÉS FELIPE AHUMADA MAMIÁN**



**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA  
POPAYÁN  
2014**

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA SEMILLA DE AJONJOLÍ (*SESAMUN INDICUM*  
*L*), COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE A TRAVÉS  
DEL ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de químico

ANDRÉS FELIPE AHUMADA MAMIÁN

Director  
RICARDO BENITEZ BENITEZ Ph. D  
Grupo de Investigación Química de Productos Naturales (QPN)  
Departamento de química  
Universidad del Cauca

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA  
POPAYÁN  
2014

Nota de aceptación:

---

---

---

---

Director trabajo de grado \_\_\_\_\_  
Ricardo Benítez, Ph. D

Jurado \_\_\_\_\_  
José Antonio Gallo, M.Sc.

Jurado \_\_\_\_\_  
Adriana Chaurra, Ph.D

Popayán, 18 de marzo de 2014

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darnos el don de la vida y permitir darnos la oportunidad de estudiar esta linda ciencia, para poder entender mejor la vida.

A mis padres, hermana por estar siempre a nuestro lado, sin importar lo que pasara siempre estuvieron ahí para apoyarnos.

A los pastores, el grupo de alabanza e integrantes de la Iglesia Cruzada Cristiana, que siempre estuvieron para alegrarme la vida y pasar unos ratos agradables y permitieron conocer la grandeza de Dios.

Al profesor Ricardo Benítez, por apoyar este trabajo y tener una paciencia extraordinaria.

A los profesores de química, que permitieron ser mejores cada día.

En general a todas las personas que de una u otra forma permitieron que fuera posible cumplir este sueño.

## CONTENIDO

	Pág.
<b>LISTA DE TABLAS</b>	7
<b>LISTA DE GRAFICA</b>	9
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	10
<b>LISTA DE ANEXOS</b>	11
<b>LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS</b>	12
<b>RESUMEN</b>	14
<b>INTRODUCCIÓN</b>	15
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	16
<b>2. OBJETIVOS</b>	17
2.1. GENERALES	17
2.2. ESPECÍFICOS	17
<b>3. MARCO TEÓRICO</b>	18
<b>3.1 AJONJOLÍ</b>	18
3.1.1 Generalidades	18
3.1.2 Principales usos	19
3.1.3 Caracterización de la producción a nivel nacional	19
3.1.4 Análisis físicos y químicos reportados para ajonjolí	20
<b>3.2 ANTIOXIDANTES</b>	22
3.2.1 Antioxidantes primarios	23
3.2.2 Antioxidantes secundarios	23
3.2.3 Antioxidantes terciarios	23
3.2.4 Especies reactivas del oxígeno (ROS) y radicales libres	23
3.2.5 Trolox	24
3.2.6 Método del ABTS	24
3.2.7 Método FRAP	25
<b>3.3 MÉTODO DE COMPARACIÓN DE DATOS INDEPENDIENTES</b>	26
3.3.1. Prueba Shapiro-Wilk	27
3.3.2. Prueba de Levene	28
3.3.3. Prueba t de student para dos muestras independientes	28
3.3.4. Prueba anova	28
3.3.5. Prueba Tukey	29
3.3.6. Prueba no paramétricas	30
3.3.6.1. U de Mann-Wilcoxon	30
3.3.6.2. Prueba de Kruskal-Wallis	31
<b>4. METODOLOGÍA</b>	32
<b>4.1. OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA</b>	32
4.1.1. Análisis proximal de la semilla	32
<b>4.2 EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE L ASEMILLA</b>	32
4.2.1 Extracción del aceite por percolación	32
4.2.2 Extracción del aceite por prensado	32
4.2.2. Análisis de los aceites	32
4.2.2.1 Propiedades físicas y químicas	32
4.2.2.2 Perfil de ácidos grasos	33

4.2.3.	Análisis de las tortas	34
4.2.3.1	Análisis proximal de las tortas	34
4.2.3.2	Perfil de aminoácidos	34
4.2.4	Determinación de la actividad antioxidante de los aceites	35
4.2.4.1	Determinación del poder reductor/antioxidante férrico (FRAP)	35
4.2.4.2	Método de decoloración del $\beta$ -caroteno	36
4.2.4.3	Actividad atrapadora de los radicales libres con ABTS	36
<b>5</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>37</b>
<b>5.1</b>	<b>ANÁLISIS PROXIMAL DE LA SEMILLA</b>	<b>37</b>
<b>5.2</b>	<b>EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE LA SEMILLA</b>	<b>37</b>
5.2.1	Propiedades físicas y químicas del aceite por percolación	37
5.2.2	Propiedades físicas y químicas del aceite por prensado	39
5.2.3	Perfil de ácidos grasos del aceite por percolación	40
5.2.4	Perfil de ácidos grasos del aceite por prensado	41
<b>5.3.</b>	<b>ANÁLISIS DE LAS TORTAS</b>	<b>42</b>
5.3.1	Análisis proximal de la torta obtenida por percolación	42
5.3.2	Análisis proximal de la torta obtenida por prensado	43
5.3.3	Perfil de aminoácidos	44
<b>5.4</b>	<b>DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE</b>	<b>45</b>
5.4.1	Método del poder reductor/antioxidante del hierro férrico del aceite extraído por percolación	45
5.4.2	Método del poder reductor/antioxidante del hierro férrico del aceite extraído por prensado	46
5.4.3	Método del poder reductor/antioxidante del hierro férrico del control	46
5.4.4	Método de decoloración del $\beta$ -caroteno del aceite extraído por percolación	47
5.4.5	Método de decoloración del $\beta$ -caroteno del aceite extraído por prensado	47
5.4.6	Método de decoloración del $\beta$ -caroteno del control	48
5.4.7	Actividad atrapadora de los radicales con ABTS del aceite extraído por percolación	48
5.4.8	Actividad atrapadora de los radicales con ABTS del aceite extraído por Prensado	48
5.4.9	Actividad atrapadora de los radicales con ABTS del control	49
<b>5.5</b>	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	<b>50</b>
5.5.1	Comparación entre metodologías	50
5.5.1.1	Propiedades físicas y químicas	50
5.5.1.2	Perfil de ácidos grasos	52
5.5.1.3	Composición de las tortas de ajonjolí	54
5.5.1.4	Actividad antioxidante	56
5.5.1.4.1	Método del poder reductor/antioxidante del hierro férrico (FRAP)	56
5.5.1.4.2	Método de decoloración del $\beta$ -caroteno	60
5.5.1.4.3	Actividad atrapadora de los radicales con ABTS	63
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>69</b>
	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>70</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>71</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>73</b>

## LISTA DE TABLAS

		Pág.
<b>Tabla 1:</b>	Área cosechada de semillas oleaginosa por producto (toneladas).	20
<b>Tabla 2:</b>	Producción nacional de ajonjolí (toneladas).	20
<b>Tabla 3:</b>	Datos reportados para la extracción de aceite con diferentes solventes.	21
<b>Tabla 4:</b>	Tiempo de inducción oxidativa medida por DSC en el aceite de ajonjolí por cada método de extracción.	21
<b>Tabla 5:</b>	Datos reportados en el contenido de los aceites extraídos (g/100 g de aceite).	21
<b>Tabla 6:</b>	Porcentaje de proteína en la torta de ajonjolí.	22
<b>Tabla 7:</b>	Especies de radicales.	23
<b>Tabla 8:</b>	Metodologías usadas en el análisis proximal de la semilla de ajonjolí.	32
<b>Tabla 9:</b>	Metodologías usadas en el análisis físico y químico de los aceites extraído de las semillas de ajonjolí.	33
<b>Tabla 10:</b>	Condiciones para la cromatografía de gases.	34
<b>Tabla 11:</b>	Condiciones para la cromatografía de HPLC.	35
<b>Tabla 12:</b>	Composición proximal de la semilla de ajonjolí (porcentaje).	37
<b>Tabla 13:</b>	Propiedades físicas y químicas del aceite obtenido por percolación.	38
<b>Tabla 14:</b>	Propiedades físicas y químicas del aceite obtenido por prensado.	39
<b>Tabla 15:</b>	Datos de la composición de ácidos grasos del aceite extraído por percolación.	40
<b>Tabla 16:</b>	Datos de la composición de ácidos grasos del aceite extraído por prensado.	41
<b>Tabla 17:</b>	Comparación de ácidos grasos del aceite extraído por cada método y otros aceites.	42
<b>Tabla 18:</b>	Composición proximal de la torta obtenida por percolación (porcentaje).	43
<b>Tabla 19:</b>	Composición proximal de la torta obtenida por prensado (porcentaje).	43
<b>Tabla 20:</b>	Composición de aminoácidos en las torta de cada método extraído, además el patrón de la FAO. (mg / g proteína).	45
<b>Tabla 21:</b>	Datos actividad antioxidante por FRAP para el aceite extraído por percolación.	46
<b>Tabla 22:</b>	Datos actividad antioxidante por FRAP para el aceite extraído por prensado.	46
<b>Tabla 23:</b>	Datos actividad antioxidante por FRAP para el control (TROLOX).	46
<b>Tabla 24:</b>	Datos actividad antioxidante por $\beta$ -caroteno para el aceite extraído por percolación.	47
<b>Tabla 25:</b>	Datos actividad antioxidante por $\beta$ -caroteno para el aceite extraído por prensado.	47
<b>Tabla 26:</b>	Datos actividad antioxidante por $\beta$ -caroteno para el control (vitamina E).	48
<b>Tabla 27:</b>	Datos actividad antioxidante por ABTS para el aceite extraído por percolación.	48
<b>Tabla 28:</b>	Datos actividad antioxidante por ABTS para el aceite extraído por prensado.	49
<b>Tabla 29:</b>	Datos actividad antioxidante por ABTS para control (TROLOX).	49
<b>Tabla 30:</b>	Prueba de normalización de los datos de las propiedades físico-químicas para los aceites extraídos.	51
<b>Tabla 31:</b>	Prueba de levane de los datos de las propiedades físico-químicas de los aceites extraídos.	51

<b>Tabla 32:</b>	Prueba t de comparación para muestras independientes de los datos de las propiedades físico-químicas de los aceites extraídos.	52
<b>Tabla 33:</b>	Prueba de normalización de los datos de la composición de ácidos grasos, de los aceites extraídos.	53
<b>Tabla 34:</b>	Prueba de levene de los datos de los ácidos grasos de los aceites extraídos.	54
<b>Tabla 35:</b>	Prueba t de comparación para muestras independientes para los datos de ácidos grasos de los aceites extraídos.	54
<b>Tabla 36:</b>	Prueba de normalización de los datos de las tortas de ajonjolí.	55
<b>Tabla 37:</b>	Prueba de levene de los datos de las tortas obtenidas de los aceites extraídos.	55
<b>Tabla 38:</b>	Prueba t de comparación para muestras independientes para los datos de ácidos grasos de los aceites extraídos.	56
<b>Tabla 39:</b>	Prueba de normalización de los datos de la actividad antioxidante por el método FRAP de los aceites extraídos y el control.	57
<b>Tabla 40:</b>	Prueba de anova para la actividad antioxidante por FRAP con una concentración de 2.5 mg de muestra.	57
<b>Tabla 41:</b>	Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por FRAP con una concentración de 2.5mg de muestra.	57
<b>Tabla 42:</b>	Prueba de kruskal - Wallis, para comparación de datos no normales de la actividad antioxidante por FRAP.	59
<b>Tabla 43:</b>	Prueba de normalización de los datos de la actividad antioxidante por el método $\beta$ -caroteno de los aceites extraídos y el control.	61
<b>Tabla 44:</b>	Prueba de levene para la actividad antioxidante por $\beta$ -caroteno.	62
<b>Tabla 45:</b>	Prueba de anova para la actividad antioxidante por $\beta$ -caroteno.	62
<b>Tabla 46:</b>	Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por $\beta$ -caroteno con una concentración de 25.0mg de muestra.	63
<b>Tabla 47:</b>	Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por $\beta$ -caroteno con una concentración de 50.0mg de muestra.	63
<b>Tabla 48:</b>	Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por $\beta$ -caroteno con una concentración de 100.0mg de muestra.	63
<b>Tabla 49:</b>	Prueba de normalización de los datos de la actividad antioxidante por el método ABTS de los aceites extraídos y el control.	64
<b>Tabla 50:</b>	Prueba de levene para la actividad antioxidante por ABTS.	65
<b>Tabla 51:</b>	Prueba de anova para la actividad antioxidante por ABTS.	65
<b>Tabla 52:</b>	Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por ABTS con una concentración de 2.5mg de muestra.	65
<b>Tabla 53:</b>	Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por ABTS con una concentración de 5.0mg de muestra.	66
<b>Tabla 54:</b>	Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por ABTS con una concentración de 10.0mg de muestra.	66
<b>Tabla 55:</b>	Prueba de kruskal - Wallis, para comparación de datos no normales de la actividad antioxidante por ABTS.	67

## LISTA DE GRAFICA

	Pág.
<b>Grafica 1:</b> Comportamiento del control en la actividad antioxidante con ABTS.	49
<b>Grafica 2:</b> Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 5.0mg de muestra.	58
<b>Grafica 3:</b> Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 10.0mg de muestra.	58
<b>Grafica 4:</b> Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 25.0mg de muestra.	59
<b>Grafica 5:</b> Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 50mg de muestra.	60
<b>Grafica 6:</b> Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 100mg de muestra.	60
<b>Grafica 7:</b> Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por ABTS a una concentración de 25mg de muestra.	66
<b>Grafica 8:</b> Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por ABTS a una concentración de 50mg de muestra.	67
<b>Grafica 9:</b> Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por ABTS a una concentración de 100mg de muestra.	69

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Estructura química del trolox y sus productos de oxidación.	Pág. 24
<b>Figura 2:</b>	Mecanismo de reacción entre el $\text{ABTS}^{\cdot+}$ y un compuesto antioxidante (ROH).	25
<b>Figura 3:</b>	Reacción entre el $\text{Fe}^{3+}$ y un compuesto antioxidante $\text{R}^{\cdot}$ .	26
<b>Figura 4:</b>	Reacción de derivatización con fenilisotiocianato.	35
<b>Figura 5:</b>	Cromatograma de aminoácidos de la torta de ajonjolí por el método de prensado.	44

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo A:</b>	Cromatograma de triglicéridos del aceite de ajonjolí por el método de prensado.	Pág. 74
-----------------	---------------------------------------------------------------------------------	------------

## LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

<b>Ala</b>	Alanina
<b>Arg</b>	Arginina
<b>Asp</b>	Ácido aspártico
<b>C</b>	Ácido cáprico
<b>CV</b>	Coefficiente de variación
<b>C 6:0</b>	Ácido caproico
<b>C 8:0</b>	Ácido caprílico
<b>C 10:0</b>	Ácido cáprico
<b>C 12:0</b>	Ácido mirístico
<b>C 13:0</b>	Ácido tridecanoico
<b>C 14:0</b>	Ácido láurico
<b>C 14:1</b>	Ácido miristoleico
<b>C 15:0</b>	Ácido pentadecanoico
<b>C 16:0</b>	Ácido palmítico
<b>C 16:1</b>	Ácido palmitoleico
<b>C 17:0</b>	Ácido margárico
<b>C 18:0</b>	Ácido esteárico
<b>C 18:1 <i>Cis</i></b>	Ácido oleico
<b>C 18:1 <i>Cis Iso</i></b>	Ácido <i>cis</i> – vaccénico
<b>C 18:1 <i>Trans</i></b>	Ácido <i>trans</i> – vaccénico
<b>C 18:2 ct</b>	Ácido ruménico
<b>C 18:2 n6 <i>Cis</i></b>	Ácido linoleico
<b>C 18: 2 tc</b>	Ácido <i>trans</i> – 10, <i>cis</i> – 12 – octadecadienoico
<b>C 18:2 tt</b>	Ácido linolelaídico
<b>C 18:3 n3</b>	Ácido linolénico
<b>C 18:3 ttt</b>	Ácido β – eleostérico
<b>C 18:3 ttc</b>	Ácido caléndico
<b>C 18:3 tct</b>	Ácido <i>trans</i> – 9, <i>cis</i> – 11, <i>trans</i> – 13 – octadecatrienoico
<b>C 18:3 cct</b>	Ácido <i>cis</i> – 6, <i>cis</i> – 9, <i>trans</i> – 11 – octadecatrienoico
<b>C 18:3 ctt</b>	Ácido α-eleostérico
<b>C 18:3 ctc</b>	Ácido punicico
<b>C 20:0</b>	Ácido araquídico
<b>C 20:1</b>	Ácido gadoleico
<b>C 22:0</b>	Ácido behénico
<b>C 22:1 n9</b>	Ácido erúcico
<b>C 24:0</b>	Ácido lignocérico
<b>Cys</b>	Cisteína
<b>DHA</b>	Ácido docosohexaenoico
<b>ENN</b>	Extracto No Nitrogenado
<b>EPA</b>	Ácido eicosapentaenoico
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization of the United Nations
<b>Glu</b>	Ácido glutámico
<b>Gly</b>	Glicina
<b>His</b>	Histidina
<b>ICONTEC</b>	Instituto Colombiano de Normas Técnicas
<b>Ile</b>	Isoleucina
<b>L</b>	Ácido linoleico

<b>La</b>	Ácido láurico
<b>Leu</b>	Leucina
<b>Lys</b>	Lisina
<b>M</b>	Ácido mirístico
<b>Met</b>	Metionina
<b>m.s.n.m</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>O</b>	Ácido oleico
<b>ONU</b>	Organización de las Naciones Unidas
<b>P</b>	Ácido palmítico
<b>PGE</b>	Prostaglandina
<b>Phe</b>	Fenilalanina
<b>Pro</b>	Prolina
<b>PTFE</b>	Politetrafluoroetileno
<b>S</b>	Ácido esteárico
<b>SD</b>	Desviación estandar
<b>Ser</b>	Serina
<b>TAA</b>	Total de aminoácidos
<b>TAG</b>	Triacilglicerol
<b>TAG NI</b>	Triacilglicerol no identificado
<b>TEAA</b>	Total de aminoácidos esenciales
<b>t/ha</b>	Toneladas por hectárea
<b>Thr</b>	Treonina
<b>TR</b>	Tiempo de retención
<b>Trp</b>	Triptófano
<b>Tyr</b>	Tirosina
<b>Val</b>	Valina
<b>WHO</b>	World Health Organization

## RESUMEN

En este trabajo se caracterizó químicamente el aceite ajonjolí cultivada en los municipios de Ovejas y El Carmen Departamento de Bolívar, Colombia. El aceite se le extrajo por dos metodologías, prensado y percolación. Los aceites extraídos no tienen una diferencia significativa de su composición, excepto en la cantidad de insaturaciones, donde el aceite obtenido por prensado tiene mayor cantidad, que a su vez influye en la capacidad antioxidante, ya que tuvo un mejor rendimiento en las pruebas realizadas. No obstante se logró concluir que ambos aceites cumplen con los parámetros de la norma colombiana de comercialización.

Por otro lado se determinó que las harinas de cada proceso si tiene diferencias en su composición, debido a que se extrajeron menor contenido de aceite en la harina obtenida por prensado.

**Palabras claves:** Ajonjolí, *Sesamun indicum L*, aceite, capacidad antioxidante.

## INTRODUCCIÓN

Los aceites vegetales constituyen una alternativa para atender las demandas energéticas alimentarias y agroindustriales de países tropicales en desarrollo. Según informes de la FAO, en los últimos decenios 20 de cada 100 kilocalorías consumidas por las poblaciones de estos países, provienen de cultivos oleaginosos. Los cultivos oleaginosos están entre los más activos en los últimos decenios, y hasta ahora sólo cuatro especies: palma, soja, girasol y colza representan casi el 75% de la producción mundial de semillas oleaginosas. Dado su alto contenido energético, los aceites vegetales desempeñan una función fundamental en la mejora de los suministros energéticos alimentarios de los países en desarrollo, además muestran un panorama amplio y diverso en campos como la industria oleoquímica, los biocombustibles y los alimentos funcionales entre otras posibilidades.

Debido a la especial relevancia que han adquirido los aceites vegetales en la nutrición humana, como consecuencia de los avances alcanzados en el conocimiento de los beneficios y riesgos asociados a los niveles de grasas en la dieta, es necesario considerar los alimentos enriquecidos con ácidos grasos tipo omega como un tema de investigación importante, puesto que los beneficios de los ácidos grasos insaturados en la salud son abundantes, son esenciales para el crecimiento y desarrollo normal, además pueden desempeñar un papel importante en la prevención y el tratamiento de algunas enfermedades (coronarias, renales, inflamatorias, autoinmunes y cáncer). El ajonjolí (*Sesamun Indicum L.*) es una semilla oleaginosa, oriunda de la India donde se extendió a regiones tropicales y subtropicales, donde su alto contenido de aceite que es alrededor del 55% la hacen muy apetecida, además por su contenido de ácidos grasos esenciales para el ser humano.

## 1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de las altas propiedades nutricionales y de las recientes campañas que promueven el consumo de ajonjolí para disminuir el riesgo de enfermedades como la osteoporosis o la arterioesclerosis, para controlar la tensión alta, para superar procesos depresivos (de allí que se le conozca también con el nombre de *alegría*), hay debilidades como:

- Los productos del ajonjolí son muy procesados, hacen que las propiedades químicas del ajonjolí se vean afectadas, disminuyendo su valor nutricional.
- Falta de tecnología de extracción que permita obtener un producto que preserve todas las propiedades del ajonjolí y además que tenga una gran estabilidad.
- Un mejor conocimiento de las propiedades físicas y químicas del ajonjolí de la región de Ovejas y El Carmen departamento de Bolívar.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GENERAL

Contrastar dos procesos para la extracción del aceite de la semilla de ajonjolí (*Sesamum indicum L*), cultivada en los municipios de Ovejas y El Carmen Departamento de Bolívar, Colombia, al evaluar las propiedades del aceite y la torta resultantes de dichos procesos.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Identificar las propiedades físicas (densidad, índice de refracción, viscosidad) y químicas (acidez, índice de yodo, prueba de oxígeno activo, materia insaponificable, índice de acidez, índice de saponificación, índice de peróxidos, índice de Kreis y el perfil de ácidos grasos) de los aceites extraídos de la semilla de ajonjolí por prensado y por percolación.
- Conocer el perfil de aminoácidos en las tortas de la semilla de ajonjolí mediante HPLC, empleando el método Pico-Tag de Waters.
- Analizar por tres metodologías (determinación del poder reductor/antioxidante férrico (FRAP), decoloración del  $\beta$ -caroteno y actividad atrapadora de los radicales libres con ABTS) la actividad antioxidante del aceite obtenido en cada proceso de extracción.
- Comparar los dos procesos de extracción a partir de la identificación de las propiedades físico químicas de la semilla de ajonjolí.
- Establecer la composición química de las tortas de la semilla de ajonjolí (de cada proceso de extracción del aceite) mediante análisis proximal (humedad, ceniza, extracto etéreo, proteína bruta, fibra bruta y extracto no nitrogenado).

## 3 MARCO TEÓRICO

### 3.1 AJONJOLÍ

El ajonjolí o sésamo (*Sesamum indicum L*) es una planta de la familia de las pedaliáceas originaria de la India; se cultiva en climas tropicales y subtropicales de todo el mundo. Hace parte de las oleaginosas ricas en hierro, proteínas y lecitina. El ajonjolí se cultiva en todo el mundo, la semilla está compuesta de 55% de lípidos y 20% de proteínas, proporciona una buena fuente de aceite comestible gourmet. El ajonjolí sirve como un alimento nutritivo para los seres humanos y se usa ampliamente en productos de panadería y confitería.<sup>1-3</sup> Algunas de las características nutraceuticas de las semillas de ajonjolí han sido identificados, incluyendo actividad antioxidante, como hipocolesterolemico, además de tener efecto hepatoprotector, también se han asociado con la prevención de la hipertensión.<sup>3-5</sup>

#### 3.1.1 Generalidades

El ajonjolí es un cultivo anual, prospera en regiones cálidas con temperaturas entre 24 y 30 °C, radiación solar alta y precipitaciones entre 300 y 400 mm. Se produce en diferentes suelos, pero se da mejor en suelos francos y arenosos con drenaje eficiente. En general no requiere muchos cuidados durante el ciclo productivo, aunque muchas veces las cosechas no son muy grandes porque las semillas se caen antes de madurar, por lo cual el rendimiento está entre 0.7 y 0.9 ton/ha.<sup>6</sup>

La clasificación del ajonjolí es la siguiente:

Reino:	Vegetal
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Lamiales
Familia:	Pedaliáceae
Género:	Sesamum
Especie:	Indicum

Las variedades se clasifican por su color y su precocidad. Las más comunes son de color blanco y negro (color tostado). Las primeras se caracterizan por su buen desarrollo y por ser exigentes en nutrientes del suelo, mientras que las variedades negras corresponden a las semillas mezcladas y las que presentan coloraciones entre amarillo y marrón oscuro; la planta es más pequeña con menores rendimientos, se desarrolla en suelos pobres en nutrientes, es más rustica que la blanca y es demandada principalmente para la producción de aceite. Después de extraer el aceite, la parte residual (torta) se puede usar para la alimentación del ganado y de las aves de corral. El aceite de ajonjolí es apetecido por ser de larga duración, esta característica se debe a la presencia de sesamol, un potente antioxidante natural.<sup>6</sup>

Las semillas de ajonjolí contienen un grupo de compuestos, llamados lignanos, que juegan un papel importante en la prevención y mejoramiento de la salud. La sesamina y sesamolina se ha reportado que tienen muchas propiedades farmacológicas, por ejemplo, actividad antioxidante,<sup>7</sup> actividad antiproliferativa irregular de células,<sup>8</sup> mejoran la actividad

antioxidante de la vitamina E en los casos de la peroxidación lipídica,<sup>9</sup> son efectivas para reducir los niveles de colesterol,<sup>10</sup> contribuyen al aumento de las enzimas hepáticas, oxidación de los ácidos grasos,<sup>11</sup> y muestra efectos antihipertensivos<sup>12-13</sup> y efectos neuroprotectores contra la hipoxia o daños en el cerebro.<sup>14</sup> La ingesta de ajonjolí (50 g polvo de semillas de ajonjolí al día durante 5 semanas) afecta positivamente el contenido hormonal, el nivel de antioxidante en fluidos y el tipo de lípidos sanguíneos en las mujeres postmenopáusicas.<sup>15</sup>

Las semillas de ajonjolí y su aceite también contienen otros importantes compuestos biológicamente activos, tales como tocoferoles (vitamina E homólogos).<sup>16-19</sup> En menor concentración se encuentran los tocotrienoles, derivados de tocoferoles con reportadas actividades contra cáncer de próstata y cáncer de mama,<sup>20-21</sup> actividad anti-inflamatoria<sup>22</sup> y prevención parcial de los cambios relacionados con la transcripción en el corazón y el cerebro de ratones.<sup>23</sup> También se ha encontrado que el consumo de cantidades moderadas de las semillas de ajonjolí aumenta significativamente el nivel de tocoferoles del plasma.<sup>24</sup>

Se ha reportado que la variabilidad en las concentraciones de sesamina, sesamolina, tocoferoles y lignanos son responsables de la actividad farmacológica en semillas y aceites de ajonjolí.<sup>25-27</sup> La semilla de ajonjolí y el aceite son ampliamente utilizados para cocinar y en preparaciones cosméticas (Por ejemplo, champú, loción, crema y jabón). En general, los programas de mejoramiento para el ajonjolí se han centrado principalmente en aumentar el área de cultivo, generando una mayor producción, además del contenido de lípidos no saponificables en el aceite.<sup>28</sup>

### **3.1.2 Principales usos:**

El ajonjolí se encuentra en diferentes presentaciones para su uso en:

- Hogares y restaurantes: por lo general, la semilla y el aceite de ajonjolí se usan para aderezar ensaladas, para acompañar otros alimentos, para elaborar tahini o para consumo directo, en el caso de la semilla, por su sabor similar al de las nueces.
- En alimentos se usa la semilla para acompañar otros alimentos como el pan, ensaladas, aceites, margarinas, productos de repostería.
- En la industria cosmética y farmacéutica se utiliza el aceite para la producción de cremas bases líquidas, así como complementos alimenticios.

En cuanto a la demanda de semilla, hay una diferencia sustancial entre los mercados de Estados Unidos y Europa: en el primero, se demanda la semilla de ajonjolí sin cascara, mientras que en Europa el mercado la prefiere con cascara. Los mercados internacionales no aceptan fácilmente productos elaborados a base de ajonjolí; por esa razón, los exportadores colombianos llevan a estos mercados productos semielaborados o semiprocesados, mientras que las barras de ajonjolí, pastas, pan, entre otros, se destinan al mercado interno.<sup>6</sup>

### **3.1.3 Caracterización de la producción a nivel nacional**

Las cadenas oleaginosas comprenden los cultivos que llevan a la producción de aceites y grasas de origen vegetal. En Colombia es importante para la economía nacional por la mano de obra que ocupa y los recursos que genera por los múltiples encadenamientos

que genera desde la provisión de insumos para los distintos cultivos hasta la industria de alimentos y la industria manufacturera. Hacen parte de esta cadena la palma africana, la soya, el algodón, el ajonjolí e, incluso, el olivo.<sup>6</sup>

En la industria de alimentos los principales sectores demandantes son panadería, galletería, confitería, chocolatería y los encurtidos. Otros consumidores importantes son la industria de alimentos balanceados para animales, que se surte de las tortas y cascarillas obtenidas en el proceso de extracción de los diferentes aceites y la industria jabonera y de productos de tocador, que emplea ácidos grasos o residuos de los procesos de refinación.<sup>6</sup>

En el año 2008, de las 291.634 hectáreas dedicadas a los cultivos mencionados, el 76% correspondió a palma africana, el 14% a algodón, el 9% a soya y el 1% a ajonjolí. El ajonjolí no es un cultivo expandido a nivel nacional y su explotación comercial es muy limitada. Tiene presencia principalmente en la costa Caribe, donde históricamente se destaca el departamento de Bolívar como el principal productor nacional, pero en el año 2008 paso a segundo lugar con 805 toneladas, siendo el departamento de Magdalena el más productor con 808 toneladas. De las semillas de ajonjolí se obtienen dos subproductos: aceite y harina.<sup>6</sup>

En el año 2011, la producción nacional de ajonjolí se calculó en 1628 toneladas, de las cuales el 26.10% corresponde a Bolívar, el 12.47% a Sucre y el 45.94% a Magdalena. Colombia produjo, entre 2008 y 2012 un promedio de 2096.6 toneladas anuales. La producción nacional ha tenido un descenso constante menos en el último año, debido a los altos costos de producción y su baja comercialización a nivel nacional.<sup>6</sup> (Ver tabla 1 y 2)

**Tabla 1:** Área cosechada de semillas oleaginosas por producto (toneladas).

Año	Ajonjolí	Algodón	Soya	Maní	Palma Africana
2008	2.305	92.831	55.591	3.550.	815.627
2009	2.180	78.434	63.795	3.158	862.623
2010	1.949	103.183	58.273	5.171	929.889
2011	1.628	96.508	71.171	4.385	1.096.045
2012	2.421	97.474	91.766	3.089	1.137.984

**Tabla 2:** Producción nacional de ajonjolí (toneladas).

Departamento	2.007	2.008	2.009	2.010	2.011
Bolívar	1.474	805	942	975	425
Córdoba	199	214	226	296	175
Magdalena	824	808	523	348	748
Sucre	346	293	198	203	203
Tolima	77	184	278	110	75

### 3.1.4 Análisis físicos y químicos reportados para ajonjolí.

Al aceite de la semilla de ajonjolí extraído por diferentes metodologías, se le han realizado estudios para caracterizar sus propiedades tanto físicas como químicas, dentro de estos

estudios cabe resaltar los estudios de Corso et al. 2010,<sup>29</sup> quienes al comparar el aceite extraído por fluidos supercríticos, empleando como fluidos propano comprimido y CO<sub>2</sub> contra hexano en extracción clásica, el método clásico tubo mayor eficiencia para la extracción de lípidos aduciendo que el porcentaje de proteína es reducido como una función del contenido final del aceite en la torta, (ver tabla 3). Por otro lado, se encontraron diferencias significativas para la estabilidad oxidativa medida por DSC (ver tabla 4), ya que al tener mayor temperatura, la estabilidad de los componentes del aceite se ven comprometidos, en cambio la composición en ácidos grasos del aceite de la semilla no se tuvo una diferencia significativa (ver tabla 5). Al analizar la semilla y la torta producto de los mismos procesos de extracción, reportaron un mayor contenido de proteína en torta para la extracción clásica que para las extracciones con fluidos supercríticos (ver tabla 6).<sup>29</sup>

**Tabla 3:** Datos reportados para la extracción de aceite con diferentes solventes

Solvente	Temperatura de extracción (K)	% extracción	tiempo de extracción (min)
CO <sub>2</sub>	323	67.58	774
Propano	318	64.42	56
Hexano	Ebullición	100	1400

**Tabla 4:** Tiempo de inducción oxidativa medida por DSC en el aceite de ajonjolí por cada método de extracción

Solvente	tiempo (minutos)			
	383 K	393 K	403 K	413 K
CO <sub>2</sub>	405	207	102	59
Propano	383	191	98	62
Hexano	295	104	62	34

**Tabla 5:** Datos reportados en el contenido de los aceites extraídos (g/100 g de aceite)

Ácido graso	CO <sub>2</sub>	Propano	Hexano
Láurico	0.02	0.00	0.00
Mirístico	0.08	0.04	0.00
Palmítico	10.54	10.28	10.30
Palmitoleico	0.02	0.26	0.20
Esteárico	5.08	5.24	5.20
Oleico	36.50	37.26	36.40
Linoleico	46.58	46.00	46.80
Linolénico	0.38	0.32	0.40
Araquídico	0.52	0.46	0.60
Behénico	0.08	0.10	0.10

**Tabla 6:** Porcentaje de proteína en la torta de ajonjolí

Solvente	temperatura de extracción (K)	% proteína
CO <sub>2</sub>	323	32.5
Propano	318	31.7
Hexano	Ebullición	43.3

Badrish et al. 2009,<sup>30</sup> efectuaron los análisis de actividad antioxidante y biológica del extractos acuoso y etanólico de semilla de ajonjolí por diferentes metodologías por ejemplo: la determinación de polifenoles totales y el contenido de flavonoides, la actividad captadora del óxido nitroso, entre otros, encontrando que la dosis 25 – 1000 µg/ml de extractos acuosos y etanólicos, hay una marcada actividad captadora de los diferentes tipos de aniones, así como la capacidad reductora en complejos Fe<sup>+3</sup>/ferricianuro y poder antioxidante en los ensayos de reductores de hierro. En los modelos biológicos, ambos extractos fueron encontrados para inhibir el metal inducido.<sup>32</sup>

El cuerpo humano necesita de ciertos ácidos grasos para el buen funcionamiento de este, ya que el cuerpo no cuenta con las enzimas requeridas para la producción de estos, por lo cual se hace necesario el consumo diario del ácido  $\alpha$ -linolénico y el ácido linoleico, que están presentes en el ajonjolí con un porcentaje cercano al 0.38 y 46 respectivamente.<sup>31</sup>

Estos dos ácidos grasos son los precursores para la producción de importantes sustancias que necesita el cuerpo humano para la prevención de enfermedades y mejorar el rendimiento del cuerpo humano, como son eicosanoides (prostanglandinas, tromboxanos, etc.)<sup>31</sup>

### 3.2 ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas y su papel principal es terminar con las reacciones de oxidación e inhibir otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Algunas de las sustancias antioxidantes naturales más conocidas son el  $\beta$ -caroteno (pro-vitamina A), la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), el selenio, etc.<sup>32</sup>

El término antioxidante fue utilizado originalmente para referirse específicamente a un producto químico que previniera el consumo de oxígeno. A finales del siglo XIX y a principios del siglo XX, extensos estudios, fueron dedicados a las aplicaciones de antioxidantes en importantes procesos industriales, tales como la prevención de la corrosión del metal, la vulcanización del caucho, y la polimerización de combustibles en la formación de escoria en motores de combustión interna.<sup>33</sup>

Las primeras investigaciones sobre el rol de los antioxidantes en biología se centraron en su uso para la prevención de la oxidación de grasas insaturadas, que es la principal causa de rancidez en los alimentos. La *actividad antioxidante* podía ser medida simplemente colocando la grasa en un contenedor cerrado con oxígeno y midiendo la tasa de consumo de éste. Sin embargo fue la identificación de las vitaminas A, C y E como antioxidantes la

que revolucionó el campo y condujo a dilucidar la importancia de los antioxidantes en la bioquímica de los organismos vivos.<sup>32</sup>

Los antioxidantes se clasifican en tres grandes grupos, esto depende de la forma que trabaja cada antioxidante.<sup>32</sup>

### 3.2.1 Antioxidantes primarios

Previenen la formación de nuevos radicales libres, esto lo consiguen convirtiendo los radicales libres existentes en moléculas menos perjudiciales antes de que puedan reaccionar o evitando la formación de radicales libres a partir de otras moléculas, por ejemplo:

- Superóxido dismutasa (SOD): convierte  $O_2$  en peróxido de hidrógeno.
- Glutatión peroxidasa (GPx): convierte el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que formen radicales libres.
- Proteínas de unión a metales (Ferritina, Ceruloplasmina): Limitan la disponibilidad de Fe necesaria para formar el radical OH.<sup>32</sup>

### 3.2.2 Antioxidantes secundarios

Capturan los radicales evitando las reacciones en cadena, por ejemplo: Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), Vitamina C (ascorbato),  $\beta$ -caroteno, Ácido úrico, Bilirrubina, Albúmina.<sup>32</sup>

### 3.2.3 Antioxidantes terciarios

Reparan las biomoléculas dañadas por los radicales libres. Incluyen enzimas reparadoras de ADN y la metionina sulfóxido reductasa.<sup>32</sup>

### 3.2.4 Especies reactivas del oxígeno (ROS) y radicales libres.

El término especies reactivas del oxígeno (ROS) es un término colectivo que incluye radicales libres y ciertas especies no radicales que son oxidantes y/o se convierten fácilmente en radicales libres, como por ejemplo HClO, HBrO,  $O_3$ ,  $ONOO^-$ ,  $O_2$ , o  $H_2O_2$ . La Tabla 7 resume las principales especies reactivas del Oxígeno.<sup>32</sup>

**Tabla 7:** especies de radicales.

Radicales	Estructura	No radicales	Estructura
Hidroxilo	$\cdot OH$	Peróxidos orgánicos	ROOH
Alcoxilo	$RO\cdot$	Oxígeno singlete	$O_2$
Hidroperoxilo	$HOO\cdot$	Peróxido de hidrógeno	$H_2O_2$
Superóxido	$O_2^{\cdot -}$	Ácido hipocloroso	HClO
		Ácido nitroso	$HNO_2$
Peroxilo	$ROO\cdot$	anión nitrilo	$NO_2^-$
		Peroxinitrito	$ONOO^-$
Óxido nítrico	$NO\cdot$	Ácido peroxinitroso	$ONOOH$
		Alquil peroxinitritos	ROONO
Óxido de nitrógeno	$NO_2\cdot$	Ozono	$O_3$
		Ácido hipobromoso	HBrO

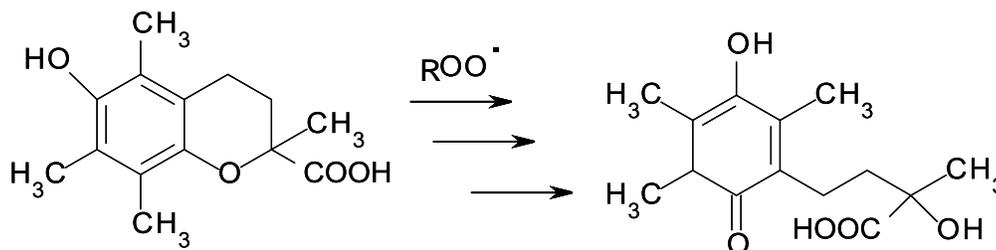
Los antioxidantes sintéticos se usan industrialmente como aditivos. Estos antioxidantes retrasan o previenen los procesos oxidativos que causan el deterioro de los alimentos, el endurecimiento del caucho, el cambio de color y enranciamiento de los aceites y grasa, etc.<sup>33</sup>

### 3.2.5 Trolox

El trolox es efectivo en la preservación de alimentos, inhibe los procesos oxidativos por radicales libres en proteínas y enzimas, además previene la pérdida de receptores serotonina y dopamina en membranas a nivel cerebral en animales. También hay evidencias de su actividad en contra de los daños celulares causados por radicales libres especialmente cuando están conjugados a lactosilfenilpiranosido. La peroxidación del colesterol en dipalmitoilfosfatidilcolina es inhibida efectivamente por este antioxidante, por lo tanto su efectividad en contra de la peroxidación de lipoproteínas de baja densidad.<sup>33</sup>

La estructura de la molécula de trolox muestra los requerimientos para tener una efectiva acción antioxidante, posee una estructura cromanol, la cual confiere su actividad, debido a las grandes posibilidades de tener estructuras resonantes cuando es afectado por un radical, ya que puede llevar más fácilmente el electrón no apareado, por otro lado tiene un grupo carboxilo que incide en su solubilidad moderada en agua, que es otra ventaja, ya que los  $\beta$ -carotenos son liposolubles, además tiene naturaleza fenólica con un éter cíclico cuyo átomo de oxígeno se encuentra en la posición para (a), confiriéndole estabilidad estereoelectrónica a la molécula, a partir de la cual se forma el radical fenoxilo (b) cuando reacciona con un radical peroxilo. En este proceso hay transferencia del átomo de hidrógeno al radical activo formado en el átomo de oxígeno de la molécula.<sup>33</sup>

**Figura 1:** Estructura química del trolox y sus producto de oxidación.<sup>35</sup>



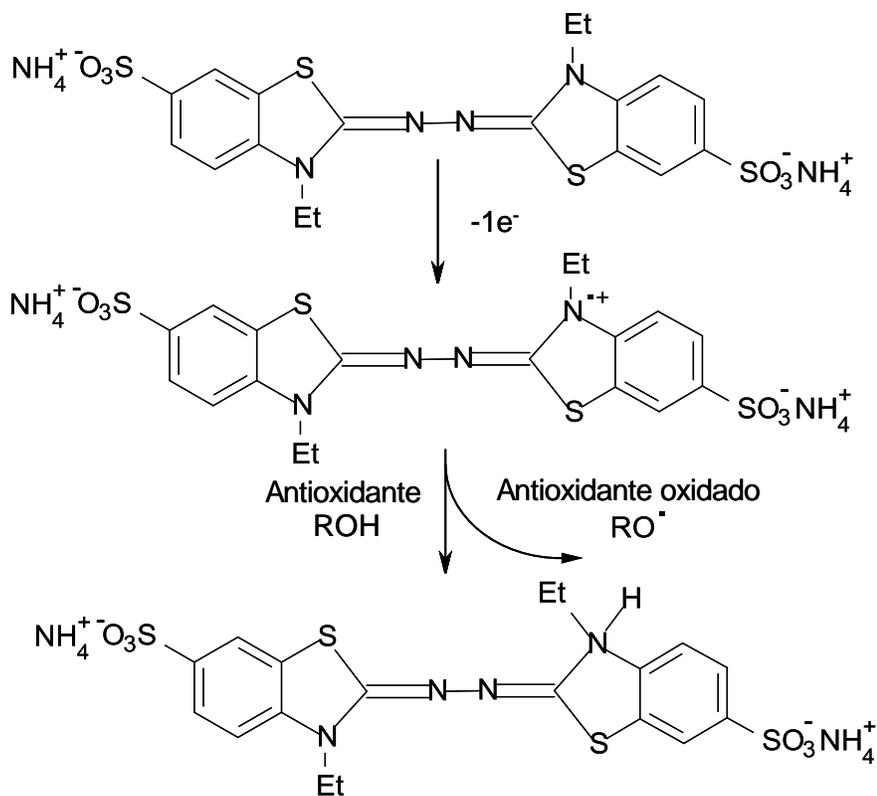
### 3.2.6 Método del ABTS

El 2,2-azinobis-(3-etilbenzotioazolína-6-sulfónato) (ABTS), Este método consiste en la inhibición a través de los antioxidantes del radical catiónico verde azulado  $ABTS^{\cdot+}$ , que se produce por medio de la reacción de persulfato de potasio, generando un compuesto colorado con un máximo de absorción a 415 nm y picos secundarios con máximos a 645, 660, 734, 815 y 820 nm. El patrón utilizado es el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromán-2-carboxílico (Trolox).<sup>33</sup>

Las longitudes de onda más usadas para trabajar, depende de la forma que se vaya a trabajar, aunque las más comunes son: 415 y 734 nm. Se utilizan dos estrategias a la hora de trabajar con este reactivo, la inhibición o la decoloración.<sup>33</sup>

En sus inicios, esta metodología se usaba metamioglobina y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), generando ferrimioglobina que reacciona con el ABTS generando el radical  $ABTS^{\cdot+}$ , pero la muestra a analizar se debe adicionar antes de la formación del radical, este es un método de inhibición. Este método ha recibido muchas contrariedades debido a la forma de agregar la muestra, ya que a la hora de producirse el radical con los antioxidantes de la muestra, generando valores menores por debajo de la realidad. En el año 1999 Re y sus colaboradores implica la producción directa del radical, a través de la reacción entre el ABTS y peroxodisulfato de potasio, pero se usa el método de decoloración. El grado de decoloración se puede medir a través de la diferencia de la longitud de onda de 734 nm. Esto se da en porcentaje de inhibición con la cual se determina la actividad antioxidante como función de la concentración y del tiempo, en comparación con la reactividad relativa del patrón estándar que es el trolox. Este método espectrofotométrico es válido para el estudio de antioxidantes hidrofílicos, lipofílicos o sanguíneos, compuestos puros y extractos alimentarios. En la figura 2 se muestra el mecanismo de reacción general entre el radical  $ABTS^{\cdot+}$  y un antioxidante.<sup>33</sup>

**Figura 2:** Mecanismo de reacción entre el  $ABTS^{\cdot+}$  y un compuesto antioxidante (ROH).<sup>33</sup>



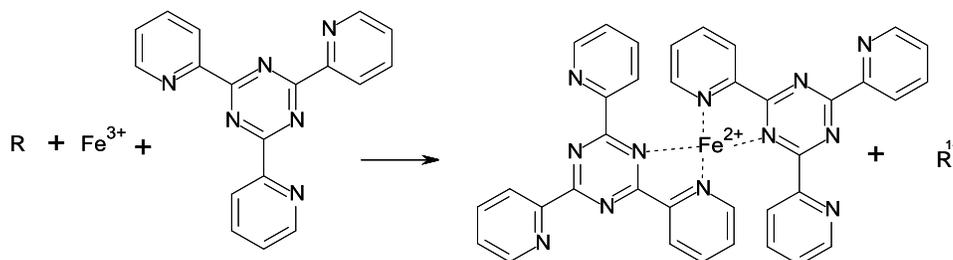
### 3.2.7 Método FRAP

Este método consiste que el  $Fe^{+3}$  pasa a  $Fe^{+2}$  en presencia de antioxidantes. Dado que la reacción del hierro férrico a ferroso ocurre rápidamente con todos los reductores, con un potencial reductor de la mitad que necesita para pasar de  $Fe^{+3}$  a  $Fe^{+2}$ , los valores de este

método expresan la concentración correspondiente de antioxidantes donadores de electrones.

Lo que se mide es el contenido de  $\text{Fe}^{2+}$ , ya que genera un compuesto organometálico con la sustancia 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) haciendo posible cuantificar el hierro, ya que se genera un compuesto que tiene absorbancia a 593 nm, (Ver figura 3).

**Figura 3:** Reacción entre el  $\text{Fe}^{3+}$  y un compuesto antioxidante R.



### 3.3 MÉTODO DE COMPARACIÓN DE DATOS INDEPENDIENTES

Para comparar dos o más poblaciones, se deben tener en cuenta que se deben cumplir estrictamente cinco parámetros que son: I) Las observaciones deben ser independientes entre sí. II) Las observaciones deben hacerse en poblaciones distribuidas normalmente. III) Las poblaciones deben tener homocedasticidad (igualdad de varianzas o varianzas conocidas). IV) Las variables correspondientes deben ser cuantitativas continuas. V) Cuando existen más de dos poblaciones comparadas, las medias de estas poblaciones normales y homocedásticas deben ser combinaciones lineales de efectos debidos a las columnas y a las filas o a ambos. Cuando estas condiciones se satisfacen, entonces se puede aplicar la prueba "t" o "F", según sea el caso.<sup>34, 35</sup>

En la situación en que existe el interés de comparar dos poblaciones es necesario que se cumplan las cuatro primeras condiciones para que se pueda aplicar la prueba t-student. Como consecuencia (asumiendo que las condiciones 1 y 4 se cumplen a priori, lo cual no necesariamente es así), cada vez que un investigador desee comparar dos grupos de datos mediante esta prueba, debe necesariamente examinar la normalidad de los mismos en ambos. Tal normalidad, puede demostrarse empleado algunas de las pruebas que existen al respecto: Anderson-Larning, Kolmogorov-Smirnov (con la corrección de Lilliefore) y Shapiro-Wilk, entre otras; como los datos obtenidos por cada prueba son tres, solamente se utilizara la prueba de Shapiro Wilk.<sup>34, 35</sup>

Una vez comprobada tal normalidad, se debe probar homocedasticidad. Para este efecto existen pruebas lo suficientemente robustas, tales como la de Levene o la de Bartlett, entre otras. Si las varianzas resultan iguales es necesario aplicar la prueba t-student específica para estos casos; en caso contrario, si las varianzas resultan desiguales se aplica una forma especial de la prueba en análisis, la cual es la t' -student (t prima). Si el supuesto de normalidad no se cumple y, además, no se considera la presencia o ausencia de homocedasticidad para determinar el tipo de prueba a aplicar, entonces surge la posibilidad de transformar los datos. El tipo de transformación depende de la

estructura y naturaleza de los valores de la variable, del comportamiento de las varianzas y de las medias de los valores de las variables. La transformación de los datos busca normalizar la distribución no normal de los datos originales o igualdad de varianzas entre los "tratamientos" o ambos al mismo tiempo. Luego de transformar los datos, se aplican algunas de las pruebas antes descritas y, se verifica el supuesto y la homocedasticidad bajo las condiciones de datos transformados. Si se cumple la normalidad, se puede aplicar la prueba t correspondiente, en concordancia con la relación entre varianzas observadas.<sup>34, 35</sup>

Bajo las circunstancias de que la normalidad no se cumplen y no se considera la presencia o ausencia de homocedasticidad, aún después de transformar los datos adecuadamente y el investigador insiste en aplicar la prueba t "tradicional" (a datos originales o transformados), se pierde Potencia en la aplicación de la prueba y no se puede controlar la probabilidad del error de Tipo I, lo que puede conducir a encontrar significaciones estadísticas donde no existen o viceversa. Esto sólo tiene una traducción posible: los hechos que emanan del resumen estadístico no tienen validez ninguna y, por tanto, toda inferencia teórica sobre su base podría contener errores. Se han reunido pruebas empíricas demostrando que las desviaciones ligeras de los supuestos intrínsecos de las pruebas paramétricas no pueden tener efectos radicales en la cifra de probabilidad obtenida o que el uso de un diseño aleatorizado permite probar hipótesis sin necesidad de suponer la forma de la distribución.<sup>34, 35</sup>

Si la normalidad no se cumple, no queda otra alternativa que emplear las pruebas no paramétricas. Las alternativas no paramétricas de la prueba de t-student más empleadas son las pruebas U de Mann-Whitney y la prueba Z de Kolmogorov-Smirnov.<sup>34, 35</sup>

De lo antes planteado, surge el concepto de Potencia- Eficiencia de una prueba, el cual se refiere al incremento del tamaño de muestra necesario para hacer una prueba, por ejemplo, B tan poderosa como otra prueba que llamaremos A, donde esta última es la más poderosa conocida. Las pruebas paramétricas (t-student entre ellas) tienen mayor potencia-eficiencia que las no paramétricas; por tal razón los investigadores deben preferir el uso de pruebas paramétricas. Pero, ante la imposibilidad de su uso (por las razones antes explicadas), se debe procurar las no paramétricas, tratando de incrementar al máximo el tamaño de muestra (n) posible en ambos grupos de tal forma que tal incremento permita, a su vez, aumentar la potencia perdida por la imposibilidad de emplear pruebas paramétricas.<sup>34, 35</sup>

### 3.3.1 Prueba Shapiro-Wilk<sup>35, 36</sup>

Es la prueba más eficaz cuando se tienen menos de 30 datos. La hipótesis nula de la prueba es: *"los datos no tienen una distribución normal"*.

Como son pocos datos, se ordenan de menor a mayor y se calcula el estadístico de contraste que se presenta en la ecuación 1.

**Ecuación 1:**

$$w = \frac{1}{ns^2} \left( \sum a_{tn} x_{n-t+1} - x_t \right)$$

Dónde: S es la varianza muestral  
 n es el número de datos  
 a son datos que aparecen tabulados en los manuales.

La hipótesis nula se rechaza cuando se tiene un valor mayor que el dato que aparece en la tabla.

### 3.3.2 Prueba de Levene.<sup>35, 37</sup>

Determina de homogeneidad de varianzas. Donde la hipótesis nula es que hay diferencia significativa entre las varianzas de las variables.

**Ecuación 2:** 
$$L = \frac{(n-k) \sum n_i (\bar{V}_i - V)^2}{(k-1) \sum (V_{ij} - \bar{V}_i)^2}$$

### 3.3.3 Prueba t de student para dos muestras independientes.<sup>35, 38</sup>

Esta prueba se utiliza solamente cuando: Los dos tamaños muestrales (esto es, el número, n, de participantes en cada grupo) son iguales y se puede asumir que las dos distribuciones poseen la misma varianza.

El estadístico t a probar si las medias son diferentes se puede calcular como sigue:

**Ecuación 3:** 
$$t = \frac{\bar{X}_i - \bar{X}_j}{\sqrt{\frac{1}{2}(S_{X_i}^2 + S_{X_j}^2)} \cdot \sqrt{\frac{2}{n}}}$$

Dónde: S es la desviación estándar  
 n es el número de datos  
 $\bar{X}_i$  promedio de la variable i  
 $\bar{X}_j$  promedio de la variable j

¿Qué pasa si las varianzas son diferentes?

**Ecuación 4:** 
$$t = \frac{\bar{X}_i - \bar{X}_j}{\sqrt{\frac{S_i^2}{n_i} + \frac{S_j^2}{n_j}}}$$

### 3.3.4 Prueba anova.<sup>35, 39</sup>

Es una técnica estadística que sirve para decidir o determinar si las diferencias que existen entre las medias de tres o más grupos (niveles de clasificación) son estadísticamente significativas. Estas técnicas se basan en la partición de la varianza para establecer si la varianza explicada por los grupos formados es suficientemente mayor que la varianza residual o no explicada.

El análisis de la varianza (ANOVA) es una técnica estadística de contraste de hipótesis.

Tradicionalmente estas técnicas, conjuntamente con las técnicas de regresión lineal múltiple, de las que prácticamente son una extensión natural, marcan el comienzo de las técnicas multivalentes. Con estas técnicas se manejan simultáneamente más de dos

variables, y la complejidad del aparato matemático se incrementa proporcionalmente con el número de variables en juego.

El análisis de la varianza de un factor es el modelo más simple: una única variable nominal independiente, con tres o más niveles, explica una variable dependiente continua. Otra alternativa, que aparentemente es más lógica e intuitiva, consiste en comparar, en todas las posibles combinaciones de dos en dos, las medias de todos los subgrupos formados.

En el ANOVA se comparan medias, no varianzas: medias de los subgrupos o estratos originados por los factores de clasificación estudiados. Un ANOVA entonces prueba si la variación asociada a una fuente explicada es grande concerniente a la variación inexplicada.

Si ese cociente (la estadística de F) es tan grande que la probabilidad que ocurrió por casualidad es baja (por ejemplo,  $P \leq 0.05$ ), podemos concluir (en ese nivel de la probabilidad) que esa fuente de la variación tenía un efecto significativo.

### 3.3.5 Prueba Tukey.<sup>35, 37</sup>

Cuando realizamos un análisis de varianza, un valor de F significativo nos indica que no todas las condiciones producen el mismo efecto sobre la variable independiente. Con el fin de tener mayores elementos para la toma de decisiones es importante saber dónde se encuentran dichas diferencias significativas y si éstas siguen unas tendencias que nos permitan una mejor toma de decisiones. Una prueba que nos permite evaluar dicha diferenciación es la prueba de Tukey, que mide la diferencia de los valores de la medias de dos grupos en términos de la varianza intragrupal.

Tukey (1953) propuso un procedimiento para testar la hipótesis nula, con  $\alpha$  siendo exactamente el nivel global de significancia, cuando las muestras tienen tamaños iguales, y en el máximo  $\alpha$ , cuando las muestras tiene tamaños diferentes como se muestra en las ecuaciones 5 y 6

El test de Tukey utiliza la distribución de la estadística de amplitud en la forma de **Student**.

$$\text{Ecuación 5: } q = \frac{Y_{max} - Y_{min}}{\sqrt{\frac{MQ_E}{n}}}$$

Siendo  $Y_{max}$  y  $Y_{min}$  la mayor y la menor medida respectivamente

$$\text{Ecuación 6: } T_\alpha = q_\alpha(a, f) \sqrt{\frac{MQ_E}{n}}$$

Siendo  $f$ : el número de grados de libertad, asociado con  $MQ_E$  y  $q_\alpha(\alpha, f)$  se halla en las tablas estadísticas.

Si el valor absoluto de la diferencia entre dos medidas fuera mayor que  $T_\alpha$  entonces  $H_0$  debe ser rechazada.

La versión para muestras de tamaños diferentes es a veces llamada procedimiento de Tukey-Kramer.

### 3.3.6 Pruebas no paramétricas.<sup>35, 40</sup>

Se denominan pruebas no paramétricas aquellas que no presuponen una distribución de probabilidad para los datos, por ello se conocen también como de distribución libre.

En la mayor parte de ellas los resultados estadísticos se derivan únicamente a partir de procedimientos de ordenación y recuento, por lo que su base lógica es de fácil comprensión. Cuando trabajamos con muestras pequeñas ( $n < 10$ ) en las que se desconoce si es válido suponer la normalidad de los datos, conviene utilizar pruebas no paramétricas, al menos para corroborar los resultados obtenidos a partir de la utilización de la teoría basada en la normal.

En estos casos se emplea como parámetro de centralización la mediana, que es aquel punto para el que el valor de  $X$  está el 50% de las veces por debajo y el 50% por encima.

Las pruebas no paramétricas no requieren asumir normalidad de la población y en su mayoría se basan en el ordenamiento de los datos, la población tiene que ser continua. El parámetro que se usa para hacer las pruebas estadísticas es la Mediana y no la Media.

#### 3.3.6.1 U de Mann Whitney – Wilcoxon.<sup>35</sup>

En la prueba U de Mann Whitney-Wilcoxon se comparan 2 grupos independientes y que no tienen distribución normal o que sean ordinales; paralela a la prueba  $t$  de contraste para muestras independientes. Contrasta si dos poblaciones muestreadas son equivalentes en su posición.

La hipótesis nula del contraste es que las dos muestras, de tamaño  $n_1$  y  $n_2$ , respectivamente, proceden de poblaciones continuas idénticas:  $H_0 = f_1(x) = f_2(x)$

La hipótesis alternativa puede ser unilateral o bilateral y únicamente supone que la tendencia central de una población difiere de la otra, pero no una diferencia de forma o de dispersión. Por esta razón esta prueba es el equivalente no paramétrico de la prueba  $t$  para la diferencia de dos medias cuando las muestras son independientes pero no puede suponerse la normalidad de las poblaciones de origen.

Para realizar el contraste se ordenan conjuntamente las observaciones de las dos muestras, de menor a mayor, y se les asignan rangos de 1 a  $n_1+n_2$ , ecuación 7. Si la tendencia central de ambas poblaciones es la misma los rangos deberían distribuirse aleatoriamente entre las dos muestras y el rango medio correspondiente a las observaciones de una muestra debería ser muy similar al correspondiente a las observaciones de la otra. El estadístico de prueba U de Mann-Whitney se construye a partir de la suma de rangos de una de las muestras,  $R_i$ , elegida arbitrariamente:

$$\text{Ecuación 7: } U_i = n_1 n_2 + \frac{n_1(n_1+1)}{2} - R_i \text{ donde } i = 1, 2$$

Para tamaños de muestra pequeños la distribución del estadístico U, bajo el supuesto de que la hipótesis nula sea cierta, es discreta y está tabulada. Si los tamaños son suficientemente grandes la distribución del estadístico se aproxima a una normal de parámetros como se muestra en la ecuación 8.

**Ecuación 8:** 
$$U_u = \frac{n_1 n_2}{2}$$

La aproximación a la normal, z, cuando tenemos muestras lo suficientemente grandes viene dada por la ecuación 9.

**Ecuación 9:** El estadístico de prueba es el valor  $Z: Z = \frac{U - \mu}{\delta_u}$

**3.3.6.2 Prueba de Kruskal-Wallis.**<sup>40</sup>

Es un método no paramétrico para probar si un grupo de datos proviene de la misma población. Intuitivamente, es idéntico al anova con los datos reemplazados por categorías. Es una extensión de la prueba de la U de Mann – Whitney para 3 o más grupos. Ya que es una prueba no paramétrica, la prueba de Kruskal-Wallis no asume normalidad en los datos, en oposición al tradicional anova. Sí asume, bajo la hipótesis nula, que los datos vienen de la misma distribución. Una forma común en que se viola este supuesto es con datos heterocedásticos.

El estadístico está dado por la ecuación 10

**Ecuación 10:** 
$$K = (N - 1) \frac{\sum_{i=1}^g n_i (\bar{r}_i - \bar{r})^2}{\sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^{n_i} (r_{ij} - \bar{r})^2}$$

Dónde:  $n_i$  es el número de observaciones en el grupo  $i$   
 $r_{ij}$  es el rango de la observación  $j$  en el grupo  $i$   
 $N$  es el número total de observaciones entre todos los grupos  

$$\bar{r}_i = \frac{\sum_{j=1}^{n_i} r_{ij}}{n_i} \qquad \bar{r} = \frac{N+1}{2}$$

Finalmente el valor a evaluar es aproximado por  $Pr(X_{g-1}^2 \geq K)$

## 4 METODOLOGÍA

### 4.1 OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Las semillas de ajonjolí fueron adquiridas de la producción de los municipios de Ovejas y El Carmen, departamento de Bolívar, Colombia. Se secaron durante 4 horas a 55 °C y se realizó un análisis proximal y se sometieron a la extracción por los dos métodos, percolación y prensado, para su comparación.

#### 4.1.1 Análisis proximal de la semilla

La composición proximal de semilla se determinó de acuerdo a la tabla 8.

**Tabla 8:** Metodologías usadas en el análisis proximal de la semilla de ajonjolí.

DETERMINACIÓN	DESCRIPCIÓN	MÉTODO
Humedad	Deshidratación a 100-105°C en estufa a presión constante hasta peso constante	AOAC 950.43 <sup>41</sup>
Ceniza	Calcinación a 550°C por 4 horas	AOAC 991.36 <sup>42</sup>
Extracto etéreo	Extracción Soxhlet por 4 horas	AOAC 920.153 <sup>43</sup>
Proteína bruta	Kjeldahl: Digestión ácida y destilación de nitrógeno (N x 6.25)	AOAC 968.06 <sup>44</sup> (adaptado)
Fibra bruta	Weende: Digestión ácido-base y calcinación	AOAC 962.09 <sup>45</sup>
Extracto no nitrogenado (ENN)	Por diferencia	

### 4.2 EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE LA SEMILLA

#### 4.2.1 Extracción del aceite por percolación

La extracción del aceite por percolación, se efectuó en un recipiente de 4.5 L empleando hexano grado analítico como solvente y 1000 g de semilla molida. De este proceso se obtuvo el aceite (AS) y la torta (TS), los cuales fueron analizados posteriormente.

#### 4.2.2 Extracción del aceite por prensado

La extracción del aceite por prensado, se realizó en una prensa hidráulica SHIMADZU UDH 50 del laboratorio de concretos de ingeniería civil de la Universidad del Cauca, este proceso se llevó a cabo mediante prensado de la semilla a temperatura ambiente con el fin de no alterar la composición química del aceite. De este proceso se obtuvo el aceite obtenido por prensado (AP) y la torta (TP).

#### 4.2.2 Análisis de los aceites.

##### 4.2.2.1 Propiedades físicas y químicas

Para establecer las propiedades físicas y químicas de los aceites extraídos, por los dos métodos diferentes (AS y AP), se efectuaron los siguientes análisis: acidez, densidad, índice de refracción, viscosidad, índice de yodo, prueba de oxígeno activo, materia

insaponificable materia volátil, índice de acidez, índice de saponificación, índice de peróxidos y el índice de Kreis. La metodología empleada para cada determinación se describe a continuación en la tabla 9:

**Tabla 9:** Metodologías usadas en el análisis físico y químico de los aceites extraído de las semillas de ajonjolí.

DETERMINACIÓN	DESCRIPCIÓN	MÉTODO
Acidez	Determinación de la cantidad de ácidos grasos libres.	Boekenoogen <sup>46</sup>
Densidad	Relación de peso entre el aceite y agua a 20 °C	AOAC 920.212 <sup>47</sup>
Índice de refracción	Medición de la línea de refracción en un prisma a 20 °C	AOAC 921.08 <sup>48</sup>
Viscosidad	Determinación por medición de tiempo y velocidad de flujo	Stokes <sup>49</sup>
Índice de yodo	Cantidad de yodo absorbido con relación a la cantidad de insaturaciones	AOAC 920.159 <sup>50</sup>
Prueba de oxígeno activo	Medición de la estabilidad de oxidación	AOCS Cd 12 – 57 <sup>51</sup>
Materia insaponificable	Porcentaje de aceite que es insaponificable	AOAC 972.28F <sup>46</sup>
Materia volátil	Porcentaje de aceite que se volatiliza a 105°C	ISO 662 DE 1998 <sup>51</sup>
Índice de acidez	Cantidad de KOH que reacciona con ácidos grasos libres	AOAC 940.28 <sup>52</sup>
Índice saponificación	Cantidad de KOH para dar aproximación del peso molecular de los ácidos grasos.	AOAC 920.160 <sup>53</sup>
Índice de peróxidos	Cantidad de yodo absorbido en relación al oxígeno activo de un aceite	AOAC 965.33 <sup>54</sup>
Índice de Kreis	Coloración roja por la reacción entre la floroglucina y el aldehído epidrínico	Holm y Greenbank <sup>46</sup>

#### 4.2.2.2 Perfil de ácidos grasos

El método empleado para el análisis y cuantificación de ácidos grasos de los aceites extraídos, por los dos métodos diferentes (AS y AP), fue la cromatografía de gases, previa derivatización a ésteres volátiles, de acuerdo con el método estandarizado por la empresa ACEGRASAS S.A.<sup>55</sup> Para ello se pesó 20 mg de aceite y se añadieron 3 mL de solución cloroformo:metanol (1:1). Se agito la mezcla durante 1.5 h, se centrifugo a 4000 × g durante 15 min. El sobrenadante se diluyo con 1 mL de cloroformo y 2 mL de agua destilada, se mezcló y centrifugo durante 5 minutos a 4000 × g. La fase clorofórmica se mezcló con 0.5 mL de acetona deshidratada y se evaporo a 39 °C. Después, las muestras se secaron en atmósfera de nitrógeno, se añadieron 3 mL de HCl/Metanol al 5%, se sellaron los viales y se colocaron en un baño de agua a 85 °C durante 150 min. A continuación, las muestras se colocaron en un congelador (-20 °C) durante 15 min. Los ácidos grasos se obtuvieron separando la fase polar con una doble extracción, empleando 1 mL de hexano y posterior secado con nitrógeno gaseoso. El residuo de ésta extracción

(ésteres metílicos de ácidos grasos-FAMES) se disolvió en cloroformo para su posterior análisis de cromatografía de gases, con las condiciones que se ven en la tabla 10

**Tabla 10:** Condiciones para la cromatografía de gases

Item	Condición
Cromatografo de gases	Hewlett-Packard HP-5890A
Inyector	On-column
Detector	Ionización de llama (FID)
Columna	capilar polietilen-glicol (60 m × 0.32 id × 0.25 µm espesor de película; Supelcowax-10, Supelco, Bellefonte, PA)
Temperatura del inyector	270 °C
Temperatura inicial del horno	180 °C
Gradiente de temperatura:	5 °C/min
Temperatura final del horno	250 °C
Temperatura del detector:	310 °C
Gas portador	Nitrógeno
Caudal del gas portador	0.8 mL/min

Los ácidos grasos son identificados por comparación de sus tiempos de retención con los de estándares Marca RAL (España), referencia: GN 90001<sup>56</sup>

### 4.2.3 Análisis de las tortas

#### 4.2.3.1 Análisis proximal de las tortas

La composición proximal de cada una de las tortas se realizó de la misma forma que el análisis proximal de la semilla de acuerdo a la tabla 8.

#### 4.2.3.2 Perfil de aminoácidos

El método empleado para el análisis y cuantificación de aminoácidos en las tortas (TS y TP), fue el método Pico-Tag de Waters (Millipore Corp, Milford, MA) aplicado a hidrolizados de proteína, el cual conlleva tres etapas bien diferenciadas: 1) Hidrólisis de la proteína, 2) Reacción de derivatización pre-columna de los aminoácidos, 3) Separación y cuantificación por cromatografía. El sistema Pico-Tag de Waters utilizado en un equipo con una columna de fase reversa Pico-Tag Waters HPLC 3.9 x 150 mm, auto-muestreador para inyección automática y software Milenio 32. La derivatización y análisis de los aminoácidos se ejecutó de acuerdo a los procedimientos descritos en el manual del operador Pico-Tag (Millipore Corp, Milford, MA, 1990). Para la primera etapa, se añadió metionilsulfona a la muestra como patrón interno antes de la homogeneización y posterior hidrólisis con vapor de HCl 6 N en un vial sellado al vacío, a 112 °C durante 24 h en la estación de trabajo Pico-Tag. Luego se efectuó un nuevo secado al vacío, se mezcló con 15 µL de metanol/agua/trimetilamina (2:2:1 en volumen), y resecado. Para la segunda etapa, se derivatizo con 20 µL de una solución metanol/trietilamina/agua/fenilsiotiocianato (PITC) (7:1:1:1 en volumen) y se diluyo con 200 µL de solución diluyente Pico-Tag. Después se filtró a través de un filtro jeringa PVDF (Whatman Inc, Clifton, NJ), con tamaño de poro de 0,2 µm. Finalmente, se separaron y analizaron los aminoácidos derivatizados por HPLC.<sup>57</sup>

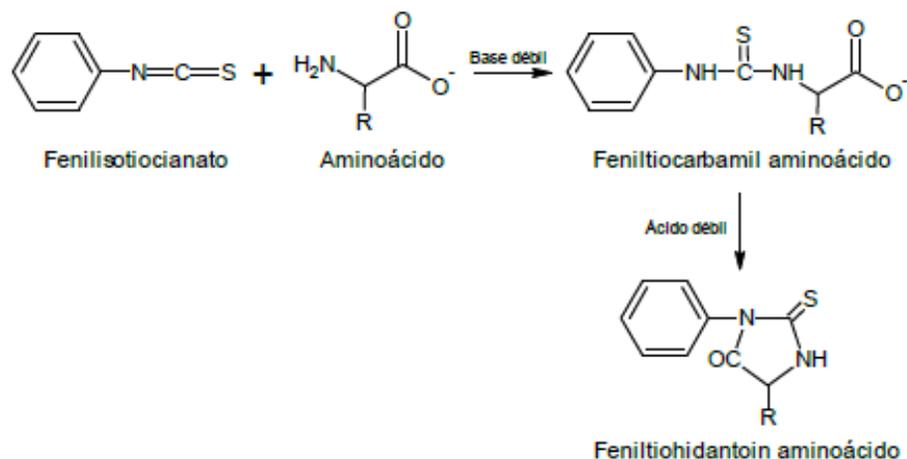
**Tabla 11:** Condiciones para la cromatografía HPLC

Item	Condición
Temperatura de la columna	36 °C
Fase móvil	acetato/acetonitrilo 9,35:6,5 (la solución de acetato es una mezcla de acetato de sodio 140 mM y 4 mM de trietilamina, ajustada a pH 5,9 con ácido acético) (eluyente A) y acetonitrilo/agua 6:4 (eluyente B)
Modo de elución	Gradiente (0 – 1,6 min, 100% A; 13 min, 54% A – 46% B; 13,2 – 15,0 min, 100% B)
Flujo de la fase móvil	1 mL/min
Longitud de onda:	254 nm

Los aminoácidos fueron identificados por comparación de sus tiempos de retención con los de una solución estándar AA-STD-18 (Sigma) de 17 aminoácidos (L - ácido aspártico, L - ácido glutámico, L - alanina, L - arginina, L - cisteína, L - fenilalanina, glicina, L - histidina, L - isoleucina, L - leucina, L - lisina, L - metionina, L - prolina, L - serina, L - tirosina, L - treonina, L - valina), cada uno a una concentración de 2,5 µmol/mL (en HCl 0,1 N), excepto la cisteína (1, 25 µmol/mL).<sup>57</sup>

La reacción producida en la derivatización de los aminoácidos se muestra en la figura 3.

**Figura 4:** Reacción de derivatización con fenilisotiocianato.



#### 4.2.4 Determinación de la actividad antioxidante de los aceites

##### 4.2.4.1 Determinación del poder reductor/antioxidante férrico (FRAP)

Esta prueba se realizó según lo describe Katalanic et al. (2004),<sup>58</sup> Se preparó una disolución de trabajo de reactivo compuesta por la mezcla de 10 volúmenes de tampón fosfato 0.25 M, pH 3.6, un volumen de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mM en HCl 40 mM y un volumen de cloruro férrico 20 mM. A 1.5 ml de esta mezcla se le añadieron 50 µL de extracto convenientemente diluido y 150 µL de agua MilliQ. Los medios de reacción se

incubaron durante 30 minutos a 37°C y, una vez transcurridos este tiempo, se registró la absorbancia a 593 nm.

Los resultados se expresaron como  $\mu\text{mol}$  de Fe(II) por g de aceite. Para ello se construyó una recta patrón con disoluciones de concentración conocida de  $\text{FeSO}_4$ , comprendidas entre 0.2 y 10 mM.

#### 4.2.4.2 Método de decoloración del $\beta$ -caroteno

Para esta prueba se modificó el método espectrofotométrico de Siramon y Ohtani (2007)<sup>59</sup> que se basa en la capacidad de diversos extractos de disminuir la decoloración oxidativa del  $\beta$ -caroteno en una emulsión ácida de  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico. Se disolvió una muestra de 2,0 mg de  $\beta$ -caroteno cristalino en 10 mL de cloroformo, se pasa 1 mL de esta solución a un vaso de precipitados, se retiró el cloroformo por rota-evaporación, se adiciono 20 mg de ácido linoleico y 200 mg de Tween 40 y 50 mL de agua destilada y se agito fuertemente. A continuación se colocó 5 mL de la mezcla a una serie de tubos que contienen 100  $\mu\text{L}$  del aceite. (20 mg de aceite en 1 mL de una mezcla metanol/agua). Inmediatamente, se determinó la absorbancia a 470 nm para el tiempo 0 y posteriormente se registró cada 15 min incubando la muestra en un baño de agua a 50 °C durante un periodo de 120 min. Se empleó un tubo con 100  $\mu\text{L}$  de butil-hidroxi-tolueno (BHT 100ppm) como control positivo y otro con 100  $\mu\text{L}$  de agua como blanco. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado. La actividad antioxidante se evalúa en términos del blanqueamiento del  $\beta$ -caroteno, usando la expresión de la ecuación 11:

$$\text{Ecuación 11: } AA\% = 100 - \frac{A_{0s} - A_{120s}}{A_{0c} - A_{120c}} \times 100$$

Dónde:

$A_{0s}$  y  $A_{0c}$ : absorbancia de los tubos muestras y controles al tiempo cero.

$A_{120s}$  y  $A_{120c}$ : son las absorbancias medidas en las muestras y en blanco respectivamente al final de la incubación.

#### 4.2.4.3 Actividad atrapadora de los radicales libres CON ABTS

La actividad atrapadora de radicales libres, se midió modificando los métodos reportados por Rout y Banerjee (2007),<sup>60</sup> se emplea la sal di-amónica del ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico) (ABTS, Aldrich Chemie, Munich, Germany), el radical catión ( $\text{ABTS}^+$ ) se produjo al reaccionar ABTS desde una solución inicial con persulfato de potasio hasta una concentración final de 7 mM y 2.45 mM, respectivamente en 10 mL de agua, la mezcla se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente durante 24 horas antes de su uso. Se diluyo la solución de  $\text{ABTS}^+$  con una solución 5 mM de amortiguador fosfato salino (PBS) de pH 7.4, hasta una absorbancia de 0.70 ( $\pm 0.02$ ) a 734 nm en una cubeta de 1 cm a 30 °C. Posteriormente se adiciono 2 mL de la solución diluida  $\text{ABTS}^+$  a 20  $\mu\text{L}$  de aceite de ajonjolí o de 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox, Aldrich Chemie) con concentraciones finales de Trolox que van de 0 a 8  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en PBS, la absorbancia se registra cada minuto durante 10 min a 30 °C. Se efectuó un blanco para cada ensayo. Se calculó y dibujo el porcentaje de inhibición de la absorbancia a 734 nm en función de la concentración de antioxidantes, se usa Trolox como referencia.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 ANÁLISIS PROXIMAL DE LA SEMILLA

En la tabla 12, se muestra el contenido de aceite señalado como extracto etéreo que contiene la semilla de ajonjolí determinado por triplicado, siguiéndole el extracto nitrogenado y la proteína bruta, haciéndola una semilla de un alto contenido energético, además de ser una semilla con un alto potencial para la extracción y comercialización del aceite, beneficiando a las personas que cultivan el ajonjolí, ya que pueden generar un valor agregado a su cultivo, vendiendo no solo la semilla, sino el aceite y la torta que puede ser usada para el consumo humano o animal.

**Tabla 12:** Composición proximal de la semilla de ajonjolí (porcentaje).

Determinación	Semilla Base seca					
	1	2	3	Promedio	SD	CV
Cenizas	5.7460	5.7844	5.6796	5.7367	0.0530	0.9242
Extracto etéreo	51.4998	51.0937	50.9237	51.1724	0.2960	0.5784
Proteína Bruta	19.7207	19.8990	19.0124	19.5440	0.4690	2.3995
Fibra Bruta	1.6806	2.0162	1.8145	1.8371	0.1689	9.1959
Extracto No Nitrogenado	21.3529	21.2067	22.5698	21.7098	0.7484	3.4471

### 5.2 EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE LA SEMILLA

El aceite de ajonjolí es el principal componente de la semilla de ajonjolí, además es el derivado que más se comercializa para el consumo humano. Se extrajeron por dos métodos diferentes para hacer una comparación de cual metodología es la mejor, que conservando las más altas estándares de calidad, por lo cual se hicieron varios análisis a cada aceite.

#### 5.2.1 Propiedades físicas y químicas del aceite por percolación

El aceite obtenido por percolación cumple con los parámetros de ley para su comercialización, con un alto grado de precisión entre los datos, excepto en la prueba de acidez, que es mayor al 5%, pero esto se da debido a que tiene una concentración pequeña, haciendo que sea más difícil obtener una buena precisión de los datos, pero de todas maneras cumple con los límites. (Ver tabla 13)

La acidez de este aceite, me indica que tiene una baja cantidad de ácidos grasos libres, alrededor del 4%, por lo cual su pH tampoco será muy bajo, ya que no se tiene una alta cantidad de H<sup>+</sup> disponibles. En la densidad, nos podemos dar cuenta que está dentro del rango permitido, pero por el límite inferior, lo que me revela que hay más sustancias que su peso está distribuido sobre una mayor área. En el índice de refracción me indica que tiene una alta pureza el aceite, no tiene sustancias que le generen problemas al aceite más adelante. El índice de yodo tiene un valor medio, indicando que tiene un punto medio de insaturaciones, haciéndolo susceptible a una oxidación y rancidez media, ya que estos insaturaciones favorecen estos procesos no deseados en el aceite, ya que generaría daños a la estructura de los componentes del aceite, pudiendo generar un problema de

salud más adelante, por lo cual toca tener un cuidado especial para el aceite, ya que se debe guardar en lugares adecuados y bien tapados, ya que no permitirían un contacto con el oxígeno de la atmósfera, aunque la prueba de oxígeno activo, me indica que el aceite es resistente a la oxidación, también me dice que tiene determinadas sustancias que están en el aceite y tienen actividad antioxidante, ya que no permiten la rancidez del aceite tan rápido, mostrando su potencial como antioxidante el aceite, que se determinara más adelante, por medio de los tres métodos de determinación de la actividad antioxidante.

**Tabla 13:** Propiedades físicas y químicas del aceite obtenido por percolación.

DETERMINACIÓN	Aceite por Solvente						Límites*
	1	2	3	Prom	SD	CV	
Acidez (g oleico/100g muestra)	0.0479	0.0414	0.0443	0.0446	0.00328	7.354	Max. 0.05
Densidad (20°C/agua a 20°C)	0.918	0.917	0.919	0.918	0.0010	0.109	0.915–0.923
Índice de refracción; 25°C	1.468	1.465	1.467	1.467	0.0015	0.104	1.465–1.469
Índice de yodo; Wijs (mg I <sub>2</sub> /g de aceite)	111.3	108.0	109.9	109.7	1.66	1.5	104–120
Prueba del oxígeno activo (sin antioxidante)	20.4	19.3	19.7	19.8	0.56	2.8	Min 16:0
Materia Insaponificable (%)	1.93	1.87	1.76	1.85	0.086	4.65	Max. 2%
Índice saponificación (mg KOH/g aceite)	192.4	193.6	192.9	193.0	0.60	0.3	187–195
Índice de peróxidos (meq de oxígeno activo/kg de aceite)	5.089	5.105	5.118	5.104	0.015	0.285	Max 10
Índice de acidez (mg de KOH/g de aceite)	4.453	4.446	4.434	4.444	0.0096	0.216	Max 4,0
Materia volátil (%)	0.0465	0.0448	0.0456	0.0456	0.0009	1.863	Max 0,2
Índice de Kreis (rancidez)	-	-	-	-	-	-	-

\* Valores establecidos para la comercialización del aceite

El aceite extraído por percolación, contiene sustancias que no se pueden saponificarlas, pero están en la medida adecuada, aunque está muy cerca del límite; los aceites en general tienen un contenido de material insaponificable, que incluye sustancias de alto peso molecular, que pueden generar daños al organismo del consumidor como causar taponamiento de las venas y arterias, también generando daño a los riñones, debido a su incapacidad de evacuar estos compuestos.

El índice de saponificación del aceite se encuentra en el límite superior, indicando alto contenido de triglicéridos, diglicéridos, ésteres; estas sustancias son muy temidas por las personas, ya que son las que generan problemas cardiovasculares.

El índice de peróxidos, nos confirma la hipótesis de la buena calidad antioxidante del aceite, los valores obtenidos se encuentran alrededor de la mitad del aceptado, es importante tener en cuenta que esta metodología de extracción, hace que la actividad antioxidante disminuya un poco, debido al uso de temperatura, ya que facilita la oxidación de los componentes del aceite.

El índice de acidez, es el único valor que se sale de los límites, teniendo en cuenta la acidez obtenida del aceite, nos indica que la composición de ácidos grasos libres, son de bajo peso molecular, ya que a menor peso molecular de los ácidos grasos del aceite, hay mayor contenido de H<sup>+</sup>, generando valores altos en el índice de acidez. Se debe este valor a que no se tuvo las mejores condiciones de para extraer el aceite, ya que no se hicieron en atmosfera inerte, se guardó en las condiciones que permite un laboratorio, además al transportar la muestra a los laboratorios de la empresa ACEGRASAS, se realizó también en condiciones de temperatura ambiental, no en atmosfera reducida, ni temperatura controlada.

Los valores de la materia volátil, me muestra que el aceite no es muy volátil, por lo tanto no se perderá aceite, a través del tiempo, ya que no se volatilizara, haciendo estable los valores calculados, ya que si el aceite se volatilizara, los valores de las propiedades físicas o químicas variarían, haciendo el aceite no apto para el consumo y su comercialización.

El aceite mostro ausencia de rancidez, indicando que no hay daños en la calidad del aceite causados por la oxidación, los datos obtenidos de las propiedades físicas y químicas, además la actividad antioxidante, son muy confiables.

### 5.2.2 Propiedades físicas y químicas del aceite por prensado

En el aceite extraído por prensado (ver tabla 14), se obtiene valores muy parecidos al extraído por percolación, se realizara una parte estadística para determinar que parámetros son diferentes entre los aceites extraídos por ambas metodologías.

**Tabla 14:** Propiedades físicas y químicas del aceite obtenido por prensado.

DETERMINACIÓN	Aceite por prensado						Límites*
	1	2	3	Prom	SD	CV	
Acidez (g oleico/100g muestra)	0.0412	0.0454	0.0392	0.0419	0.00315	7.507	Max. 0.05
Densidad (20°C/agua a 20°C)	0.919	0.916	0.919	0.918	0.0017	0.189	0.915–0.923
Índice de refracción; 25°C	1.465	1.468	1.469	1.467	0.0021	0.142	1.465–1.469
Índice de yodo; Wijs	114.4	115.4	112.0	113.9	1.75	1.5	104–120
Prueba del oxígeno activo (sin antioxidante)	18.2	19.2	18.2	18.5	0.58	3.1	Min 16:0
Materia Insaponificable (%)	1.73	1.80	1.75	1.76	0.036	2.05	Max. 2%
Índice saponificación (mg KOH/g aceite)	192.4	192.1	193.3	192.6	0.62	0.3	187–195
Índice de peróxidos (meq de oxígeno activo/kg de aceite)	4.022	4.056	4.072	4.050	0.026	0.630	Max 10
Índice de acidez (mg de KOH/g de aceite)	4.167	4.214	4.207	4.196	0.0254	0.604	Max 4,0
Materia volátil (%)	0.0416	0.0425	0.0410	0.0417	0.0008	1.818	0,2
Índice de Kreis (rancidez)	-	-	-	-	-	-	

\* Valores establecidos para la comercialización del aceite

Un punto adicional que se debe tener en cuenta, es el porcentaje de aceite extraído, ya que por percolación se extrae un porcentaje mayor, en cambio por prensado,

obtendremos menos rendimiento de extracción, pero se facilitaran extraer sustancias diferentes a los lípidos, por ejemplo: proteínas, minerales, fibra, entre otras, pero en muy pequeña cantidad que son las que pueden desequilibrar la balanza de un lado.

### 5.2.3 Perfil de ácidos grasos del aceite por percolación

Al mirar la composición de ácidos grasos del aceite (ver tabla 15), se puede resaltar el alto contenido de linoléico, que en promedio es 42,39% de los ácidos grasos, un aceite muy importante en la dieta alimenticia de los seres humanos, el cual pertenece al grupo de omega 6, que son aceites esenciales.

También se puede ver el alto contenido de oleico, que es en promedio 38.01%, el cual pertenece al grupo de los omega 9, aunque no está considerado como un aceite esencial.

El contenido de linolénico, es muy bajo con un promedio de 0.36%, este es un aceite esencial muy importante en el organismo, ya que este ácido graso que pertenece a los omega 3, permite que el cuerpo humano tenga mayor capacidad de defensa hacia determinadas enfermedades como: asma, problemas cardiovasculares y entre otras.

El contenido de ácido palmítico es elevado y consumir este aceite, este ácido graso es uno de los responsables que las personas tengan problemas en el sistema circulatorio, ya que genera problemas de colesterol alto, haciendo que el aceite se tenga que realizarse determinaos procedimientos para tratar de disminuir el contenido de este ácido graso, ya que no es muy recomendable.

**Tabla 15:** Datos de la composición porcentual de ácidos grasos del aceite extraído por percolación.

Ácido graso	1	2	3	Promedio (%)	DS	CV
Mirístico (C14:0)	-	-	-	-	-	-
Pentadecanoico (C15:0)	1.48	1.67	1.49	1.55	0.11	6.91
Palmítico (C16:0)	10.51	10.52	9.87	10.30	0.37	3.62
Palmitoleico (C16:1)	0.12	0.16	0.15	0.14	0.02	14.52
Heptadecanoico (C17:0)	0.07	0.08	0.07	0.07	0.01	7.87
Esteárico (C18:0)	5.23	5.01	4.99	5.08	0.13	2.62
Oleico (C18:1n9c)	38.14	37.81	38.09	38.01	0.18	0.47
C18:1isómero c	-	-	-	-	-	-
Linoléico (C18:2n6c)	42.25	42.10	42.81	42.39	0.37	0.88
Araquídico (C20:0)	0.52	0.54	0.53	0.53	0.01	1.89
Eicosenoico (C20:1n9)	0.18	0.16	0.18	0.17	0.01	6.66
Linolénico (C18:3n3)	0.38	0.36	0.33	0.36	0.03	7.06
Behénico (C22:0)	0.16	0.12	0.09	0.12	0.04	28.47
Erúxico C22:1n9	0.05	0.06	0.04	0.05	0.01	20.00

Con la composición de ácidos grasos del aceite extraído por medio de percolación, podemos darnos cuenta que son coherentes con los datos de las propiedades físicas y químicas, ya que se puede ver el contenido de insaturaciones, además el contenido de

ácidos grasos con cadenas carbonada cortas, es mayor a los de cadenas largas, generando el desequilibrio a la hora del índice de acidez. Además los problemas que tiene el aceite, el mejoramiento es muy fácil de hacerlo, como se dijo antes, disminuir el contenido de ácido palmítico y adicionarle más ácido linolénico, para mejorar la composición del aceite y además se arreglar el problema del índice de acidez, solamente tocaría determinar cuánto toca eliminar de palmítico y cuanto adicionar de linolénico

#### 5.2.4 Perfil de ácidos grasos del aceite por prensado

La composición de datos del aceite (ver tabla 16), se puede notar un comportamiento muy similar en la composición de los ácidos grasos, pero en esta forma de extracción se favoreció la extracción de los ácidos grasos con cadena más larga, comprobando lo que se dijo acerca de las propiedades físicas y químicas de cada aceite, al tener una composición más equilibrada el índice de acidez fue más bajo, esto se debe específicamente a que subió el contenido del ácido linolénico y bajo el de ácido palmitoleico.

**Tabla 16:** Datos de la composición porcentual de ácidos grasos del aceite extraído por prensado.

Ácido graso	1	2	3	Promedio (%)	DS	CV
Mirístico (C14:0)	-	-	-	-	-	-
Pentadecanoico (C15:0)	1.44	1.51	1.49	1.48	0.04	2.44
Palmítico (C16:0)	9.13	9.38	9.54	9.35	0.21	2.21
Palmitoleico (C16:1)	0.14	0.13	0.11	0.13	0.02	12.06
Heptadecanoico (C17:0)	0.05	0.04	0.04	0.04	0.01	13.32
Esteárico (C18:0)	4.28	4.51	4.35	4.38	0.12	2.69
Oleico (C18:1n9c)	39.41	39.12	38.78	39.10	0.32	0.81
C18:1isómero c	-	-	-	-	-	-
Linolénico (C18:2n6c)	43.82	43.68	43.73	43.74	0.07	0.16
Araquídico (C20:0)	0.52	0.51	0.57	0.53	0.03	6.03
Eicosenoico (C20:1n9)	0.19	0.18	0.21	0.19	0.02	7.90
Linolénico (C18:3n3)	0.42	0.39	0.41	0.41	0.02	3.76
Behénico (C22:0)	0.09	0.1	0.12	0.10	0.02	14.78
Erúcico C22:1n9	0.06	0.07	0.07	0.07	0.01	8.66

Estos resultados serán sometidos a análisis estadístico para determinar que ácidos grasos fueron extraídos con mayor eficiencia cada metodología y usar los resultados como argumento para explicar las diferencias o semejanzas entre los procedimientos

En la tabla 17 vemos la comparación de los promedios de los aceites extraídos por las diferentes metodologías y otros aceites, además se tomó un patrón de ajonjolí que es propiedad de ACEGRASAS.

Podemos notar a primera vista que el contenido de ácido palmítico es casi el doble en el aceite de ajonjolí que en los aceites de sachá inchi y de cartamo, haciéndolos por este lado de mucha mejor calidad por razones establecidas anteriormente.

**Tabla 17:** Comparación de ácidos grasos del aceite extraído por cada método y otros aceites.

Ácido graso	Aceite sachá inchi	Aceite Cartamo	Aceite Ajonjolí	AS	AP
				Promedio	Promedio
Mirístico(C14:0)	0.00	0.08	0.00	-	-
Pentadecanoico(C15:0)	0.00	0.00	1.53	1.55	1.48
Palmítico (C16:0)	4.20	5.07	9.29	10.30	9.35
Palmitoleico (C16:1)	0.05	0.08	0.16	0.14	0.13
Heptadecanoico (C17:0)	0.09	0.03	0.06	0.07	0.04
Esteárico (C18:0)	2.89	2.00	4.88	5.08	4.38
Oleico (C18:1n9c)	8.45	75.70	39.04	38.01	39.10
C18:1isómero c	0.66	0.00	0.00	-	-
Linoléico (C18:2n6c)	35.31	15.67	43.61	42.39	43.74
Araquídico (C20:0)	0.08	0.42	0.52	0.53	0.53
Eicosenoico (C20:1n9)	0.23	0.32	0.17	0.17	0.19
Linolénico (C18:3n3)	47.66	0.08	0.36	0.36	0.41
Behénico (C22:0)	0.04	0.30	0.12	0.12	0.10
Erúcico C22:1n9	0.00	0.00	0.05	0.05	0.07

El aceite de cártamo posee mayor contenido de ácido oleico (75%), seguido por los aceites de ajonjolí (el patrón de acegrasas y extraídos por las dos metodologías), siendo el aceite de sachá inchi el que menos tiene (8%), recordar que este ácido pertenece a los omega 9.

Al comparar el ácido linoléico entre los tres aceites, vemos que el aceite de ajonjolí tiene mejor contenido (43%), pero tiene un valor nutricional es el saha inchi, debido a que aporta una mayor proporción de los omega 3, 6 y 9.

Los otros ácidos grasos de cada aceite, son muy similares, o son tan pequeños sus contenidos que en muchos de ellos no alcanzan ni el 1%, estos ácidos de menor concentración afectaran considerablemente las propiedades físicas y químicas de cada aceite.

Si miramos solamente el aceite de ajonjolí, comparando cada metodología y el patrón de ACEGRASA, vemos mucha similitud entre sí, con apenas una diferencia que no llega ni siquiera al 1% de la composición, solamente el ácido palmítico, es el que más diferencia trae entre el ajonjolí patrón de ACEGRASAS con el extraído por percolación, en cambio con el prensado son casi iguales.

### 5.3 ANÁLISIS DE LAS TORTAS

#### 5.3.1 Análisis proximal de la torta obtenida por percolación

En la tabla 18, se puede notar que la torta que se obtuvo por percolación, se extrajo alrededor de un 98% de aceite que tenía la semilla. Como se esperaba, todos los

componentes incrementaron su proporción en la torta, menos el extracto etéreo, que fue la fracción que se extrajo.

**Tabla 18:** Composición proximal de la torta obtenida por percolación (porcentaje).

Determinación	1	2	3	Promedio	SD	CV
Humedad	4.620	4.694	4.541	4.618	0.077	1.657
Cenizas	11.126	11.217	10.949	11.098	0.136	1.228
Extracto etéreo	1.089	1.044	1.070	1.068	0.023	2.116
Proteína Bruta	38.176	38.565	36.529	37.757	1.081	2.863
Fibra Bruta	3.400	3.670	3.492	3.521	0.137	3.897
Extracto No Nitrogenado	41.588	40.810	43.419	41.939	1.339	3.194

El contenido de humedad se incrementa por varios motivos, las sustancias volátiles ligada y estructural, queda libre al extraer el aceite, además el solvente que quedo residual en la torta, ya que no se puede extraer el 100% del solvente.

La torta obtenida, tiene unas características muy interesantes, que es su alto contenido de cenizas, proteína y extracto no nitrogenado, haciéndola toda una materia prima que se puede aprovechar de muchas formas, por ejemplo: alimentación animal y humana. Permitiéndoles a los cultivadores y personas que extraen el aceite de la semilla de ajonjolí, tener otra fuente de ingresos, ya que esta torta se puede comercializar a un buen precio, como pasa con la torta de soya, que se mezcla con maíz, miel de purga, entre otros productos, la procesan y se convierte en alimento para aves.

### 5.3.2 Análisis proximal de la torta obtenida por prensado

En el proceso de extracción por prensado (ver tabla 19), se extrajo un 90% del aceite que tenía la materia prima, debido a que este proceso no tiene la efectividad adecuada para la extracción del extracto etéreo, debido a que la torta a la hora de hacer el proceso de prensado, queda impregnada de aceite la materia prima, perdiéndose una cantidad considerable, pero también se da la facilidad de que el aceite quede con residuos microscópicos de proteína, fibra, cenizas o de extractos no nitrogenados, ya que estos componentes son arrastrados por el aceite que sale a la hora de ser exprimido, estos residuos pueden tener un grado de actividad antioxidantes, además hace que las propiedades físicas y químicas varíen de una u otra forma, esto se comprobara en el análisis estadístico, más adelante.

**Tabla 19:** Composición proximal de la torta obtenida por prensado (porcentaje)

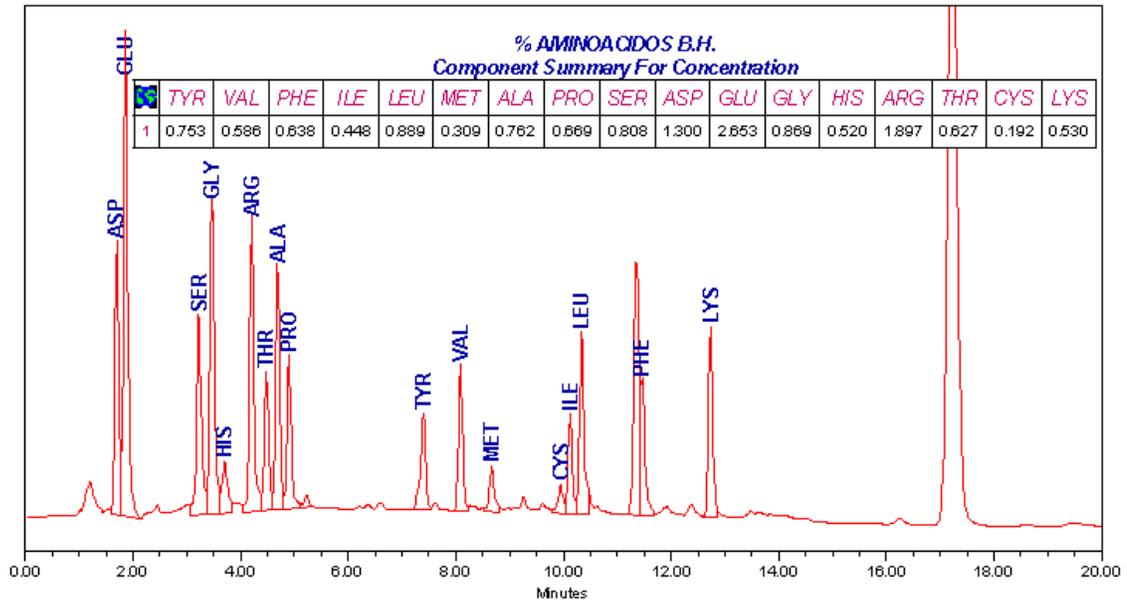
Determinación	1	2	3	Promedio	SD	CV
Humedad	1.189	1.208	1.120	1.172	0.046	3.950
Cenizas	10.929	11.034	10.851	10.938	0.092	0.840
Extracto etéreo	5.399	5.286	5.340	5.342	0.057	1.058
Proteína Bruta	38.019	38.150	36.200	37.456	1.090	2.910
Fibra Bruta	3.269	3.740	3.461	3.490	0.237	6.784
Extracto No Nitrogenado	41.195	40.582	43.028	41.602	1.273	3.060

### 5.3.3 Perfil de aminoácidos

Al extraer el aceite de la materia prima por medio de las dos metodologías, nos queda como residuo las tortas, pero tienen un alto contenido de proteína bruta, se le sacó la composición de aminoácidos (ver figura 4), los resultados nos muestran que ambas tortas contienen los requerimientos mínimos que recomienda la FAO para alimentación humana, excepto en tres casos, lisina, leucina y triptófano, donde se necesitaría un enriquecimiento de estos aminoácidos, para garantizar la óptima relación de aminoácidos esenciales en ambas tortas (Ver tabla 20).

Entre las tortas, hay diferencias pequeñas, incluso algunos resultados son iguales, pero en este caso por falta de no tener más datos para cada torta no se le hará un análisis estadístico.

**Figura 5:** Cromatograma de aminoácidos de la torta de ajonjolí por el método de prensado.



**Tabla 20:** Composición de aminoácidos en las torta de cada método extraído, además el patrón de la FAO. (mg / g proteína).

AMINOÁCIDOS	Semilla	Torta percolación	Torta Prensado	FAO/WHO/ONU Patrón de puntuación
<b>Esenciales</b>				
His	32.4	33.5	33.8	19
Ile	44.1	44.7	44.3	28
Leu	46.8	47.1	45.6	66
Lys	7.8	8.1	8.5	58
Met	35.3	35.8	36.1	---
Cys	14.2	13.4	14.0	---
Met + Cys	49.5	49.2	50.1	25
Phe	46.4	45.8	46.9	---
Tyr	72.3	71.8	71.4	---
Phe + Tyr	118.7	117.6	118.3	63
Thr	51.3	51.8	52.1	34
Trp	---	---	---	11
Val	44.1	43.9	43.7	35
<b>No esenciales</b>				
Asp + Asn	122.4	123.1	122.7	---
Glu + Gln	104.8	104.7	104.4	---
Ser	45.7	45.0	45.5	---
Gly	58.9	59.4	59.2	---
Arg	9.2	9.3	9.7	---
Ala	54.7	54.3	55.3	---
Pro	53.4	53.9	53.1	---
TEAA	394.7	395.9	396.4	339
TAA	843.8	845.6	846.3	
% TEAA	46.8	46.8	46.8	

#### 5.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

##### 5.4.1 Método del poder reductor/antioxidante del hierro férrico del aceite extraído por percolación

La actividad antioxidante del aceite extraído por percolación (ver tabla 21), nos muestra que tiene un crecimiento gradual, que al llegar a valores por encima de 50%, su crecimiento se va disminuyendo, hasta llegar a un 94%, el coeficiente de variación

disminuye debido a que reaccionan cada vez más las moléculas que hay en el aceite con el catión del hierro, haciendo que la variación sea muy pequeña.

**Tabla 21:** Datos actividad antioxidante por FRAP para el aceite extraído por percolación

mg DE ACEITE	Porcentaje de Fe reducido			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	39.6	40.0	40.1	39.9	0.26	0.663
5.0	74.8	75.1	74.8	74.9	0.17	0.231
10.0	91.9	91.9	92.1	92.0	0.12	0.126
25.0	93.0	93.1	93.1	93.1	0.06	0.062
50.0	93.9	94.0	94.0	94.0	0.06	0.061
100.0	94.0	94.1	94.0	94.0	0.06	0.061

#### 5.4.2 Método del poder reductor/antioxidante del hierro férrico del aceite extraído por prensado

El aceite extraído por prensado (ver tabla 22) muestra una actividad antioxidante que crece con un comportamiento casi lineal, que después se va disminuyendo la pendiente, hasta llegar a reaccionar alrededor del 95% el hierro, teniendo cada vez menos coeficiente de variación.

**Tabla 22:** Datos actividad antioxidante por FRAP para el aceite extraído por prensado.

mg DE ACEITE	Porcentaje de Fe reducido			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	18.0	18.2	17.5	17.9	0.36	2.014
5.0	25.5	25.6	25.1	25.4	0.26	1.042
10.0	57.4	57.4	57.0	57.3	0.23	0.403
25.0	88.3	88.1	88.1	88.2	0.12	0.131
50.0	93.0	93.0	92.9	93.0	0.06	0.062
100.0	94.9	95.0	94.9	94.9	0.06	0.061

#### 5.4.3 Método del poder reductor/antioxidante del hierro férrico del control

La actividad antioxidante del control (ver tabla 23), muestra un continuo crecimiento llegando a un rendimiento de reducir al hierro en un 95% a 100mg de muestra. También podemos ver que se incrementa su coeficiente de variación a medida de que disminuye el contenido de aceite, esto se debe también a que el rendimiento de reacción puede variar mucho a medida que es menor el aceite.

**Tabla 23:** Datos actividad antioxidante por FRAP para el control (TROLOX).

mg DE CONTROL	Porcentaje de Fe reducido			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	12.5	12.3	11.8	12.2	0.36	2.955
5.0	18.2	18.4	17.7	18.1	0.36	1.992
10.0	32.0	32.1	32.5	32.2	0.26	0.822
25.0	61.0	61.0	60.7	60.9	0.17	0.284
50.0	87.2	87.0	87.0	87.1	0.12	0.133
100.0	95.0	94.9	95.0	95.0	0.06	0.061

#### 5.4.4 Método de decoloración del $\beta$ -caroteno del aceite extraído por percolación

El rendimiento del aceite / emulsión tiene un comportamiento de la actividad antioxidante aumenta a medida que aumenta el contenido de aceite (ver tabla 24). En este caso pasa algo similar con el coeficiente de variación, que a medida que es mayor el contenido de aceite es menor el coeficiente de variación es menor, ya que son inversamente proporcionales, esto sucede, ya que al haber poca cantidad de aceite, el aceite tiene de donde escoger para reaccionar, y las velocidades de reacción son distintas para todas las reacciones.

Por otro lado, miramos que a 100 mg de aceite el promedio es mayor a 1, esto se debe a que el control usado en el proceso (emulsión ácida de  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico), tiene menor posibilidad capacidad antioxidante, por lo cual el aceite tuvo un mejor rendimiento,

**Tabla 24:** Datos actividad antioxidante por  $\beta$ -caroteno para el aceite extraído por percolación.

mg DE ACEITE	RENDIMIENTO ACEITE / EMULSIÓN			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	0.007	0.010	0.013	0.007	0.010	0.013
5.0	0.037	0.036	0.044	0.037	0.036	0.044
10.0	0.113	0.123	0.109	0.113	0.123	0.109
25.0	0.395	0.400	0.372	0.395	0.400	0.372
50.0	0.845	0.830	0.884	0.845	0.830	0.884
100.0	1.130	1.155	1.200	1.130	1.155	1.200

#### 5.4.5 Método de decoloración del $\beta$ -caroteno del aceite extraído por prensado

Para el aceite por prensado (ver tabla 25) tiene un comportamiento similar a lo ocurrido con el aceite extraído por percolación, ya que el contenido de aceite es inversamente proporcional al coeficiente de variación, además a 100 mg de aceite, también vemos un comportamiento similar al del aceite extraído por percolación, ya que sucede lo mismo que se explicó anteriormente.

**Tabla 25:** Datos actividad antioxidante por  $\beta$ -caroteno para el aceite extraído por prensado.

mg DE ACEITE	RENDIMIENTO ACEITE / EMULSIÓN			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	0.009	0.010	0.014	0.011	0.003	24.1
5.0	0.043	0.045	0.038	0.042	0.004	8.6
10.0	0.117	0.119	0.130	0.122	0.007	5.7
25.0	0.405	0.400	0.377	0.394	0.015	3.8
50.0	0.965	0.979	1.029	0.991	0.034	3.4
100.0	1.320	1.286	1.369	1.325	0.042	3.1

#### 5.4.6 Método de decoloración del $\beta$ -caroteno del control

La vitamina E tiene un comportamiento lineal adecuado a lo esperado, ya que es un caroteno (Ver tabla 26).

**Tabla 26:** Datos actividad antioxidante por  $\beta$ -caroteno para el control (vitamina E).

mg DE CONTROL	RENDIMIENTO CONTROL / EMULSIÓN			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	0.005	0.009	0.010	0.008	0.004	50.0
5.0	0.033	0.037	0.041	0.037	0.007	18.9
10.0	0.103	0.106	0.115	0.108	0.005	4.6
25.0	0.220	0.218	0.237	0.225	0.010	4.4
50.0	0.507	0.497	0.472	0.492	0.011	2.2
100.0	1.015	0.999	0.950	0.988	0.010	1.0

#### 5.4.7 Actividad atrapadora de los radicales con ABTS del aceite extraído por percolación

La actividad antioxidante por este método, podemos ver que el aceite tiene un buen rendimiento, donde podemos ver un crecimiento lineal al principio, pero a medida que va llegando a obtener un rendimiento por encima del 50%, podemos ver que su rendimiento, ya no es lineal, sino en forma semiparabólica, ya que al tener un rendimiento cercano al 100%, es más difícil obtener un mejor rendimiento, ya que se tiene una menor cantidad de oxidantes, se demora más en reaccionar, ya que hay menor probabilidad de que se encuentren los oxidantes y reductores, pero estas probabilidades se incrementan con aumentar el contenido de aceite, aunque nunca se lograra una reacción del 100%, pero con 100mg de aceite, podemos ver que se logra reducir el 90.2% de los radicales. (Ver tabla 27)

**Tabla 27:** Datos actividad antioxidante por ABTS para el aceite extraído por percolación.

mg DE ACEITE	% DE INHIBICIÓN			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	21.3	21.2	20.6	21.0	0.38	1.80
5.0	40.3	40.2	39.7	40.1	0.32	0.80
10.0	65.8	65.7	66.2	65.9	0.26	0.40
25.0	82.1	82.1	81.7	82.0	0.23	0.28
50.0	88.2	87.9	87.9	88.0	0.17	0.20
100.0	90.3	90.3	90.0	90.2	0.17	0.19

#### 5.4.8 Actividad atrapadora de los radicales con ABTS del aceite extraído por prensado

La actividad antioxidante del aceite extraído por prensado, podemos ver que tiene un comportamiento muy similar con la actividad antioxidante del aceite prensado, ya que tiene un comportamiento lineal y después semiparabólico. Donde el coeficiente de variación disminuye a medida que aumenta el contenido de aceite en el ensayo. Lo máximo que se logró en la actividad antioxidante fue 89.7% de rendimiento. (Ver tabla 28)

**Tabla 28:** Datos actividad antioxidante por ABTS para el aceite extraído por prensado.

mg DE ACEITE	% DE INHIBICIÓN			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	7.9	7.7	8.4	8.0	0.36	4.51
5.0	20.9	20.7	21.4	21.0	0.36	1.72
10.0	44.1	44.0	43.6	43.9	0.26	0.60
25.0	81.2	81.2	80.7	81.0	0.29	0.36
50.0	88.9	88.9	89.3	89.0	0.23	0.26
100.0	89.8	89.8	89.5	89.7	0.17	0.19

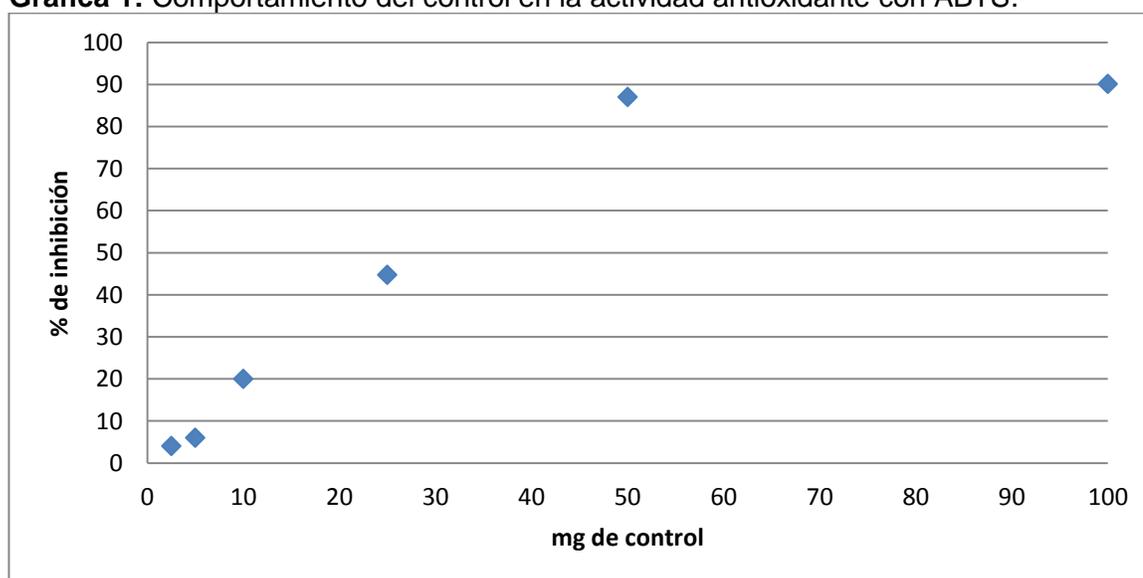
#### 5.4.9 Actividad atrapadora de los radicales con ABTS del control

El control (Trolox) tuvo un comportamiento muy diferente los dos aceites, donde al principio tiene un comportamiento semiparabolico, con concavidad hacia arriba, pasa después a tener un comportamiento lineal y por ultimo un comportamiento semiparabolico con concavidad hacia abajo (ver grafica 1). Este comportamiento me indica que el rendimiento a bajas cantidades aumenta, pero después se estabiliza, hasta un punto donde su rendimiento disminuye, ya que al haber poca cantidad de radicales, la probabilidad que se encuentre los oxidantes y reductores disminuye. (Ver tabla 29)

**Tabla 29:** Datos actividad antioxidante por ABTS para control (TROLOX).

mg DE CONTROL	% DE INHIBICIÓN			PROMEDIO	DESV	CV
2.5	3.4	4.1	4.5	4.0	0.56	13.92
5.0	6.3	6.2	5.5	6.0	0.44	7.26
10.0	19.8	19.9	20.4	20.0	0.32	1.61
25.0	44.9	44.8	44.4	44.7	0.26	0.59
50.0	86.9	86.9	87.3	87.0	0.23	0.27
100.0	90.2	90.2	89.9	90.1	0.17	0.19

**Grafica 1:** Comportamiento del control en la actividad antioxidante con ABTS.



## **5.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

### **5.5.1 Comparación entre metodologías**

Para hacer esta comparación toca tener en cuenta lo que se escribió en el marco teórico, dependiendo de la clase de datos, toca por las pruebas paramétricas o no paramétricas.

#### **5.5.1.1 Propiedades físicas y químicas**

En la tabla 30, podemos ver que todas las variables son normales para el caso de la extracción por solvente, pero en prensado solamente dos variables no son normales que son: densidad y oxígeno activo, eso se da debido a que en la metodología por prensado sale componentes que afecta la medida de oxígeno activo, ya que estos componentes que están en cantidades pequeñas, compiten para reaccionar, provocando que los datos no sean normales, en cambio con el solvente, es diferente, ya que se extrajo el 98% de la parte etérea, generando que sean normales, en el caso de la densidad, pasa lo mismo, las sustancias que están en pequeña cantidad, me afectan a la hora de calcular la densidad, ya que estos componentes generan un cambio en el peso, debido que la relación masa volumen se diferente, haciendo que los datos no sean normales. Las variables que no tienen datos normales, se les harán pruebas no paramétricas.

En la tabla 31 se muestra la prueba de Levene, para todas las variables normales, dando como resultado una igualdad de varianzas para las dos metodologías de extracción del aceite, por lo tanto al hacer la prueba t de comparación para muestras independientes, se debe analizar el resultado que me arroja el programa, donde se señale que hay la homogeneidad de las varianzas son iguales, para comparar si hay o no diferencias significativas entre los dos procedimientos.

En la tabla 32, se muestra que las variables: índice de yodo, índice de peróxidos, índice de acidez y Material volátil, son significativamente diferentes en los dos tipos de extracción, por lo tanto, me indica que hay una diferencia significativa en el número de insaturaciones, siendo mayor en el aceite prensado, esto se debe a que este procedimiento de extracción, permite la extracción de otras sustancias que no son lipídicas, como proteínas y carbohidratos, haciendo posible una mayor posibilidad de tener mayor cantidad insaturaciones, ya que los aminoácidos de las proteínas contienen ciertas insaturaciones, además hay que tener en cuenta el contenido de ácidos grasos, ya que dependiendo de la concentración de estos, también se puede tener mayor contenido de grasa saturadas o insaturadas, por lo cual se tendrá en cuenta más adelante, cuando se analice si hay o no diferencia significativa en el contenido de ácidos grasos.

El índice de peróxidos, hay un mejor comportamiento del aceite extraído por percolación, debido al extraer alrededor del 98% del aceite, lo que favorece la extracción de sustancias que reaccionan con el oxígeno activo, en cambio el aceite extraído por prensado, aunque tiene mas insaturaciones, solo se pudo extraer el 90%, generando que sustancias antioxidantes queden en la torta.

**Tabla 30:** Prueba de normalización de los datos de las propiedades físico-químicas para los aceites extraídos.

	Extracción	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
<b>Acidez</b>	Prensado	.253	3	.	.964	3	.637
	Percolación	.196	3	.	.996	3	.879
<b>Densidad</b>	Prensado	.385	3	.	.750	3	.000
	Percolación	.175	3	.	1.000	3	1.000
<b>Índice de refracción</b>	Prensado	.292	3	.	.923	3	.463
	Percolación	.253	3	.	.964	3	.637
<b>Índice de Yodo</b>	Prensado	.272	3	.	.947	3	.554
	Percolación	.207	3	.	.992	3	.833
<b>Oxígeno activo</b>	Prensado	.385	3	.	.750	3	.000
	Percolación	.238	3	.	.976	3	.702
<b>Material insaponificable</b>	Prensado	.276	3	.	.942	3	.537
	Percolación	.243	3	.	.972	3	.679
<b>Material saponificable</b>	Prensado	.292	3	.	.923	3	.463
	Percolación	.211	3	.	.991	3	.817
<b>Índice de peróxidos</b>	Prensado	.260	3	.	.959	3	.609
	Percolación	.194	3	.	.996	3	.886
<b>Índice de acidez</b>	Prensado	.334	3	.	.859	3	.264
	Percolación	.236	3	.	.977	3	.712
<b>Material volátil</b>	Prensado	.233	3	.	.979	3	.723
	Percolación	.182	3	.	.999	3	.935

**Tabla 31:** Prueba de levene de los datos de las propiedades físico-químicas de los aceites extraídos.

Propiedad	F	Significancia
<b>Acidez</b>	.003	.961
<b>Índice de refracción</b>	.500	.519
<b>Índice de yodo</b>	.041	.849
<b>Materia insaponificable</b>	2.040	.226
<b>Índice de saponificación</b>	.037	.859
<b>Índice de peróxidos</b>	1.184	.338
<b>Índice de acidez</b>	4.490	.101
<b>Materia volátil</b>	.016	.905

**Tabla 32:** Prueba t de comparación para muestras independientes de los datos de las propiedades físico-químicas de los aceites extraídos.

Propiedad	Varianzas	Sig (2 colas)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Acidez	Igual	.377	.0026000	.0026215	-.004678	.0098784
	Desigual	.377	.0026000	.0026215	-.004681	.0098808
Índice de refracción	Igual	.678	-.000667	.001491	-.004806	.003472
	Desigual	.680	-.000667	.001491	-.004957	.003623
Índice de Yodo	Igual	.039	-4.2000	1.3900	-8.0594	-.3406
	Desigual	.039	-4.2000	1.3900	-8.0637	-.3363
Material insaponificable	Igual	.159	.09333	.05395	-.05647	.24314
	Desigual	.193	.09333	.05395	-.09063	.27730
Material saponificable	Igual	.505	.3667	.5011	-1.0246	1.7580
	Desigual	.505	.3667	.5011	-1.0253	1.7587
Índice de peróxidos	Igual	.000	1.054000	.016961	1.006909	1.101091
	Desigual	.000	1.054000	.016961	1.001640	1.106360
Índice de acidez	Igual	.000	.248333	.015656	.204865	.291801
	Desigual	.001	.248333	.015656	.193337	.303329
Material volátil	Igual	.004	.0039333	.0006566	.0021103	.0057563
	Desigual	.004	.0039333	.0006566	.0021002	.0057665

El índice de acidez es mayor en el aceite extraído a través de prensado, esto se debe a que se saca mayor cantidad de aceite, por lo cual salen mucho más cantidad de ácidos grasos, además como se dijo que este aceite favorece la extracción de ácidos grasos de bajo peso molecular, se comprueba la diferencia entre ambas metodologías.

La materia volátil reafirma lo planteado hasta ahora, que el solvente permite una mayor extracción de ácidos grasos pequeños, por lo cual se favorece una mayor volatilidad, ya que a menor peso molecular, mayor facilidad de que se evapore una sustancia.

### 5.5.1.2 Perfil de ácidos grasos

En la composición de los ácidos grasos, observamos en la tabla 33 que el ácido: heptadecanoico, no tiene un comportamiento normal, por lo cual se debe de realizar una prueba no paramétrica, por lo cual se realizara a través de la prueba de Mann Whitney, ya que es el método de comparar dos variables independientes, cuando son variables no paramétricas, si no que la diferencia esta que la t de student es mucho más precisa y robusta.

Los ácidos: palmítico y eicosenoico tienen un comportamiento normal, cuando las semillas se las presen, pero no es normal por solvente, lo que indica que hay pequeñas moléculas que interfieren debido a que se extrajo la mayor cantidad de la parte lipídica, por lo cual me produce un valor no normal. En el ácido erucico, tuvo un comportamiento normal por la extracción con solvente, pero no por prensado, pero se debe al mismo argumento expresado para los dos ácidos anteriores

Todos los ácidos grasos que tiene un comportamiento normal, se les aplico la prueba de Levene, para determinar si tienen o no igualdad de varianzas. La tabla 34 nos muestra que todas tienen homogeneidad de varianzas.

En la tabla 35, vemos La prueba t de comparación de datos para muestras independientes, muestra que hay una diferencia significativa en los ácidos grasos: esteárico, oleico, linoléico y linolénico. Lo que indica que los componentes más importantes del aceite, si dependen de que metodología se usa para sus extracción.

Al mirar la composición de ácidos grasos de cada aceite, vemos que en el caso del ácido esteárico es mayor en el aceite extraído por solvente, pero este ácido es una grasa saturada, lo que indica que es un problema para la salud, ya que puede aumentar, el riesgo de sufrir un problema coronario. En cambio los ácidos oleico, linoléico y linolénico, son mayores en el aceite extraído por prensado, además son compuestos que pertenecen a la familia de los omega, que son ácidos grasos esenciales para el ser humano, por lo cual es muy importante tener un mayor contenido de estos ácidos que es alrededor del 83%, en cambio en el AS tiene un porcentaje del 80%.

**Tabla 33:** Prueba de normalización de los datos de la composición de ácidos grasos, de los aceites extraídos

Ácido graso	Extracción	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Pentadecanoico	Prensado	.942	3	.537
	Percolación	.789	3	.089
Palmítico	Prensado	.984	3	.759
	Percolación	.762	3	.026
Palmitoleico	Prensado	.964	3	.637
	Percolación	.923	3	.463
Heptadecanoico	Prensado	.750	3	.000
	Percolación	.750	3	.000
Esteárico	Prensado	.951	3	.576
	Percolación	.812	3	.144
Oleico	Prensado	.998	3	.913
	Percolación	.861	3	.269
Linoléico	Prensado	.974	3	.688
	Percolación	.900	3	.385
Araquídico	Prensado	.871	3	.298
	Percolación	1.000	3	1.000
Eicosenoico	Prensado	.964	3	.637
	Percolación	.750	3	.000
Linolénico	Prensado	.964	3	.637
	Percolación	.987	3	.780
Behénico	Prensado	.964	3	.637
	Percolación	.993	3	.843
Erúcico	Prensado	.750	3	.000
	Percolación	1.000	3	1.000

**Tabla 34:** Prueba de levene de los datos de los ácidos grasos de los aceites extraídos.

Ácido graso	F	Significancia
Pentadecanoico	6.068	.069
Palmitoleico	.500	.519
Estearico	.155	.714
Oleico	.568	.493
Linoléico	7.393	.053
Araquídico	5.565	.078
Linolénico	.643	.468
Behénico	1.385	.305

**Tabla 35:** Prueba t de comparación para muestras independientes para los datos de ácidos grasos de los aceites extraídos.

Propiedad	Varianzas	Sig (2 colas)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Pentadecanoico	Igual	.364	.06667	.06515	-.11422	.24755
	Desigual	.396	.06667	.06515	-.16973	.30306
Palmitoleico	Igual	.326	.01667	.01491	-.02472	.05806
	Desigual	.331	.01667	.01491	-.02623	.05957
Estearico	Igual	.002	.69667	.10269	.41156	.98177
	Desigual	.003	.69667	.10269	.40991	.98343
Oleico	Igual	.006	-1.09000	.20902	-1.6703	-.50967
	Desigual	.012	-1.09000	.20902	-1.7370	-.44298
Linoléico	Igual	.004	-1.35667	.21990	-1.9672	-.74613
	Desigual	.021	-1.35667	.21990	-2.2446	-.46873
Araquídico	Igual	.872	-.00333	.01944	-.05730	.05063
	Desigual	.877	-.00333	.01944	-.07530	.06864
Linolénico	Igual	.042	-.05000	.01700	-.09719	-.00281
	Desigual	.054	-.05000	.01700	-.10143	.00143
Behénico	Igual	.417	.02000	.02211	-.04139	.08139
	Desigual	.438	.02000	.02211	-.05446	.09446

Para el ácido heptanoico, La prueba U de Mann whitney nos da un F de .000 y una significancia de .043, donde podemos ver que si hay una diferencia significativa entre ambas metodologías, teniendo un contenido más alto la metodología por solvente, pero hay que tener en cuenta que este ácido graso es saturado, por lo cual no es muy recomendable para el consumo humano, ya que igual al ácido esteárico, puede generar problemas de salud.

### 5.5.1.3 Composición de las tortas de ajonjolí

En la tabla 36 podemos observar que la prueba de Shapiro-Wilk que todas las variables son normales, por lo cual se hará la prueba t de comparación de muestras independientes.

**Tabla 36:** Prueba de normalización de los datos de las tortas de ajonjolí.

	Extracción	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
<b>Humedad</b>	Prensado	.307	3	.	.903	3	.395
	Percolación	.177	3	.	1.000	3	.964
<b>Cenizas</b>	Prensado	.206	3	.	.993	3	.838
	Percolación	.250	3	.	.967	3	.650
<b>Extracto etéreo</b>	Prensado	.178	3	.	.999	3	.951
	Percolación	.208	3	.	.992	3	.829
<b>Proteína Bruta</b>	Prensado	.364	3	.	.800	3	.115
	Percolación	.318	3	.	.887	3	.346
<b>Fibra Bruta</b>	Prensado	.215	3	.	.989	3	.797
	Percolación	.249	3	.	.967	3	.653
<b>Extracto No Nitrogenado</b>	Prensado	.292	3	.	.923	3	.465
	Percolación	.270	3	.	.948	3	.563

En la tabla 37, podemos ver que todas las variables tienen homogeneidad de las varianzas, por lo cual se debe mirar a la hora de hacer la prueba t de comparación de muestras independientes, el valor que indique la igualdad de varianzas.

En la tabla 38, vemos la prueba t de las variables de las tortas, se puede notar que no todas las variables son significativamente iguales, las variables que son diferentes son: humedad y extracto etéreo, ya que en el proceso de percolación podemos ver que se extrajo el 98% en cambio por prensado se extrajo el 90% del aceite, por lo cual se puede ver la diferencia, la humedad se da porque sustancias volátiles quedaron en la torta y se incrementa el contenido de humedad, además se puede notar que algunos restos de solvente pudieron quedar en la torta después de hacer el proceso de percolación y secado de la misma, las demás variables, no hay diferencia significativa, ya que la diferencia de masa es tomada por las cuatro variables y por lo cual no se da una diferencia.

**Tabla 37:** Prueba de Levene de los datos de las tortas obtenidas de los aceites extraídos.

Propiedad	F	Significancia
<b>Humedad</b>	.381	.570
<b>Cenizas</b>	.590	.485
<b>Extracto etéreo</b>	1.326	.314
<b>Proteína bruta</b>	.004	.955
<b>Fibra bruta</b>	.734	.440
<b>Extracto no nitrogenado</b>	.006	.940

**Tabla 38:** Prueba t de comparación para muestras independientes para los datos de ácidos grasos de los aceites extraídos.

Propiedad	Varianzas	Sig (2 colas)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Humedad	Iguals	.000	3.446000	.051635	3.302637	3.589363
	Desiguales	.000	3.446000	.051635	3.289614	3.602386
Cenizas	Iguals	.168	.159333	.094878	-.104089	.422756
	Desiguales	.178	.159333	.094878	-.119401	.438068
Extracto etéreo	Iguals	.000	-4.274000	.035141	-4.371567	-4.176433
	Desiguales	.000	-4.274000	.035141	-4.395497	-4.152503
Proteína bruta	Iguals	.752	.300333	.886242	-2.160269	2.760936
	Desiguales	.752	.300333	.886242	-2.160338	2.761005
Fibra bruta	Iguals	.856	.030667	.158043	-.408130	.469463
	Desiguales	.858	.030667	.158043	-.454388	.515722
Extracto no nitrogenado	Iguals	.768	.337333	1.066753	-2.624447	3.299113
	Desiguales	.768	.337333	1.066753	-2.627496	3.302163

#### 5.5.1.4 Actividad antioxidante

##### 5.5.1.4.1 Método del poder reductor/antioxidante del hierro férrico (FRAP)

La prueba de normalidad (ver tabla 39) nos muestra que en el primer caso se puede usar pruebas paramétricas, las tres últimas concentraciones toca usar pruebas no paramétricas, en las concentraciones de 10 y 25 mg de aceite, se va a determinar a través de una caja de barras y bigotes. A los datos no normales se les va a realizar la prueba de Kruskal – Wallis. El control usado fue el Trolox.

La prueba de Levene me muestra que tiene una significancia de .797, por lo cual hay homogeneidad de varianzas, por lo tanto se puede usar el anova, para determinar que si hay o no diferencia significativa entre los diferentes aceites extraídos y el control utilizado.

En la tabla 40 La prueba del anova, nos muestra que hay una diferencia significativa entre las variables, para determinar que variables son diferentes, realizaremos la prueba de tukey.

En la tabla 41, Podemos ver que hay diferencia significativa entre los aceites extraídos y el control, esto se debe por la proporción de ácidos insaturados, la cantidad de sustancias extraídas como aminoácidos, lignanos que hacen una gran diferencia entre los aceites extraídos, además se muestra que son mejores que el control utilizado.

**Tabla 39:** Prueba de normalización de los datos de la actividad antioxidante por el método FRAP de los aceites extraídos y el control.

Concentración	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	
Percolación	2.5	.314	3	.	.893	3	.363
	5.0	.385	3	.	.750	3	.000
	10.0	.385	3	.	.750	3	.000
	25.0	.385	3	.	.750	3	.000
	50.0	.385	3	.	.750	3	.000
	100.0	.385	3	.	.750	3	.000
Prensado	2.5	.276	3	.	.942	3	.537
	5.0	.314	3	.	.893	3	.363
	10.0	.385	3	.	.750	3	.000
	25.0	.385	3	.	.750	3	.000
	50.0	.385	3	.	.750	3	.000
	100.0	.385	3	.	.750	3	.000
Control	2.5	.276	3	.	.942	3	.537
	5.0	.276	3	.	.942	3	.537
	10.0	.314	3	.	.893	3	.363
	25.0	.385	3	.	.750	3	.000
	50.0	.385	3	.	.750	3	.000
	100.0	.385	3	.	.750	3	.000

**Tabla 40:** Prueba de anova para la actividad antioxidante por FRAP con una concentración de 2.5 mg de muestra.

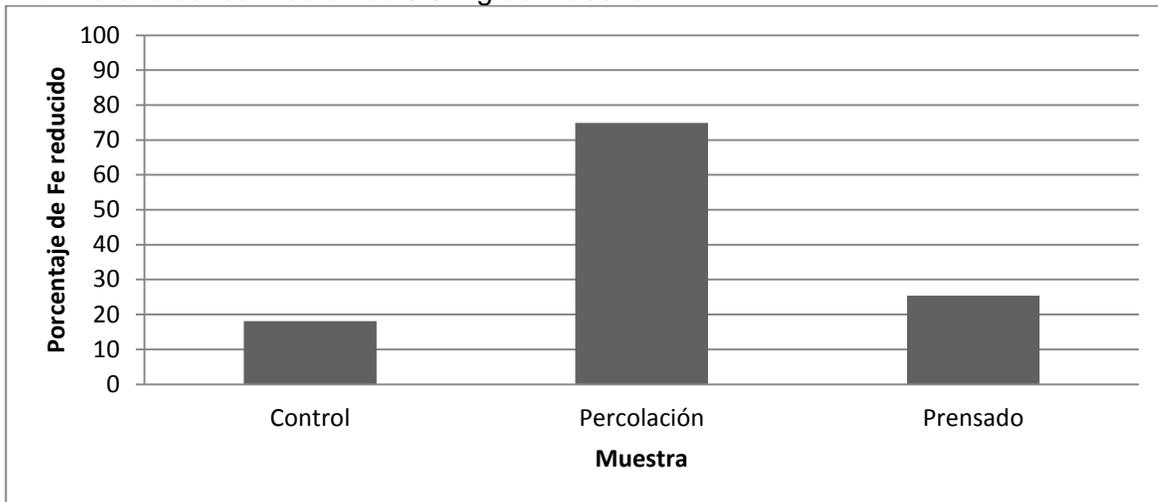
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrada	F	Significancia
Entre los grupos	1283.780	2	641.890	5835.364	.000
Dentro de los grupos	.660	6	.110		
Total	1284.440	8			

**Tabla 41:** Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por FRAP con una concentración de 2.5mg de muestra.

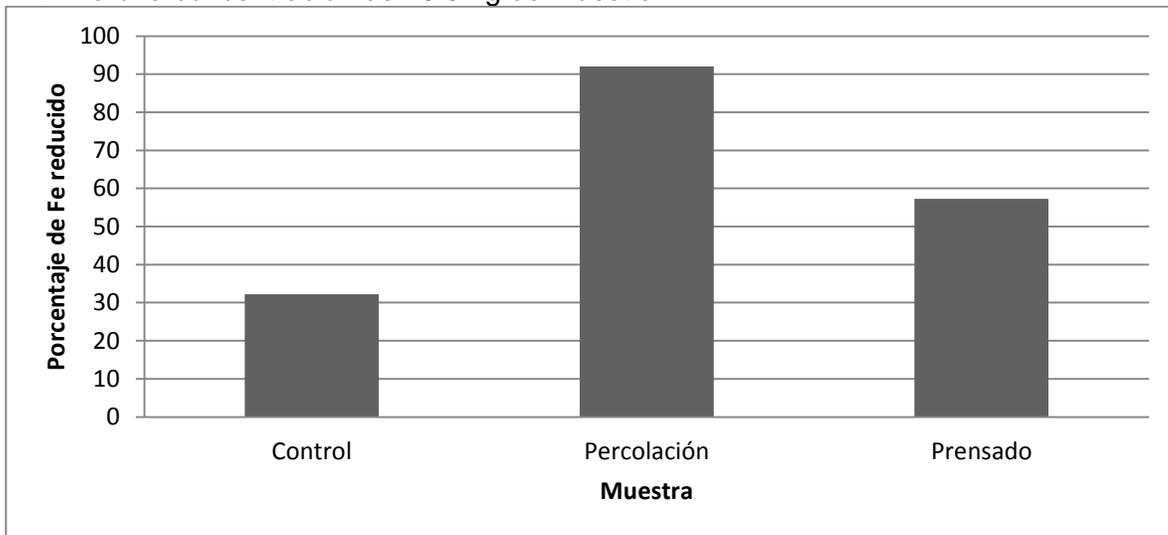
EXTRACCIÓN	N	Subconjunto de la alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	3	12.200		
Percolación	3		17.900	
Prensado	3			39.900
Significancia		1.000	1.000	1.000

En las gráficas 2 y 3 podemos ver que hay una diferencia significativa entre los aceites y el control, a una concentración de 5 y 10 mg de muestra, ya que no se solapan los valores entre las variables estudiadas, esto se debe a lo que se dijo anteriormente, que se debe a la composición de cada aceite y del control.

**Gráfica 2:** Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 5.0 mg de muestra.



**Gráfica 3:** Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 10.0mg de muestra.



La tabla 42, se puede ver que hay una diferencia significativa entre las concentraciones, 25, 50 y 100 mg de muestra, pero no sabemos si son los aceites extraídos o el control, por lo cual se determinara a través de la prueba de la gráfica de barras y bigotes, la cual me dirá entre quienes hay diferencia significativa, pero si es muy pequeña la diferencia entre una pareja.

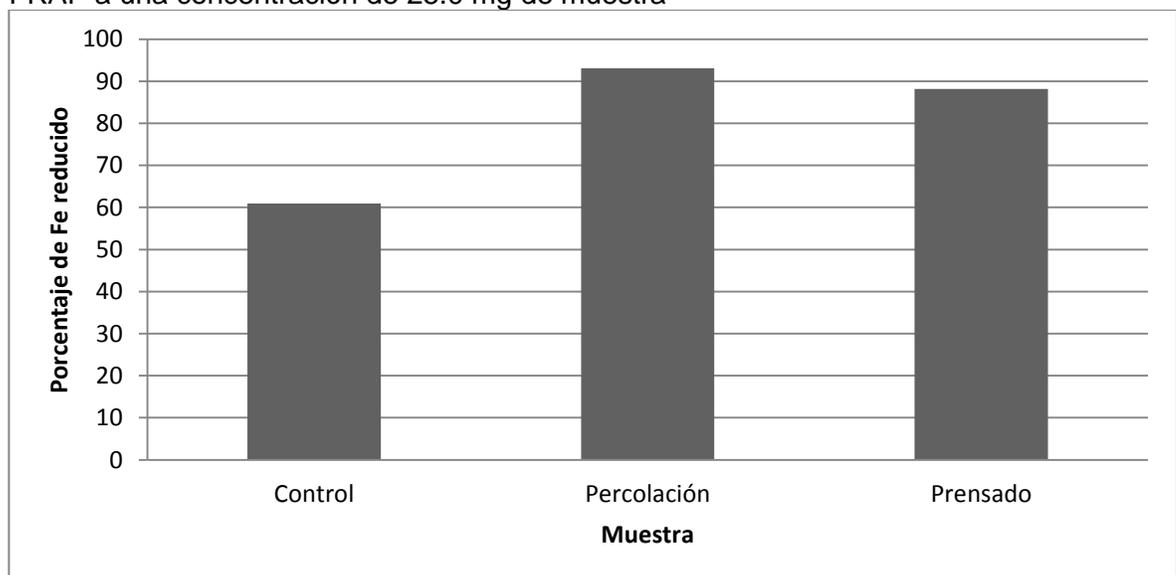
**Tabla 42:** prueba de kruskal - Wallis, para comparación de datos no normales de la actividad antioxidante por FRAP.

	25 mg	50 mg	100 mg
<b>Chi-cuadrado</b>	7.385	7.385	6.054
<b>gl</b>	2	2	2
<b>Significancia</b>	.025	.025	.048

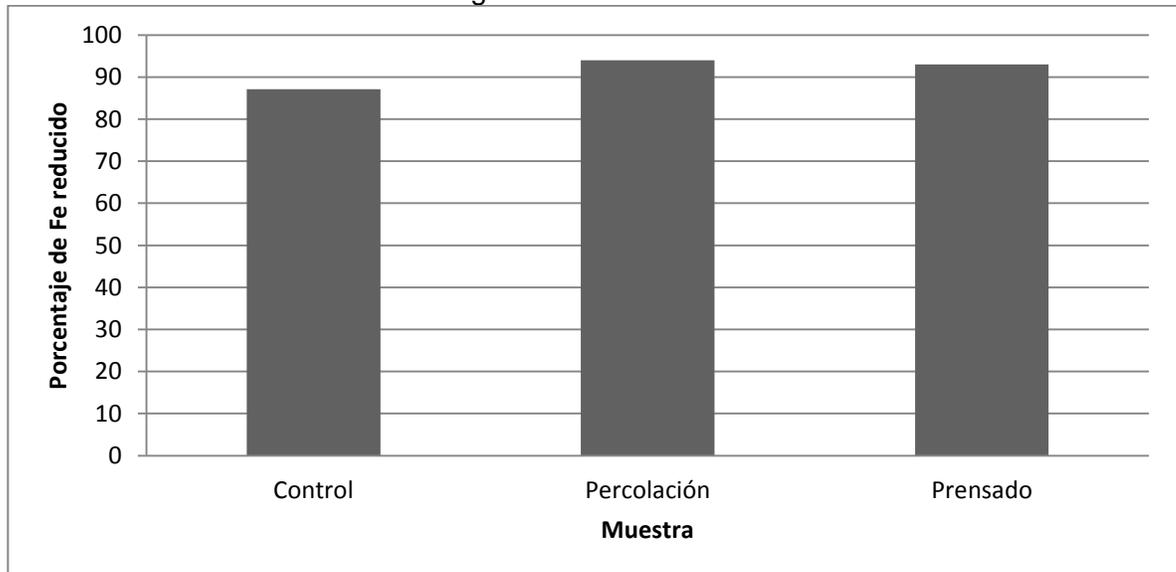
En las gráficas 4, 5 podemos ver que el control está muy por debajo de los dos aceites, mostrando que el aceite tiene un mejor potencial que el control utilizado, pero entre las dos metodologías, podemos ver que hay una pequeña diferencia, como los valores no se solapan, podemos decir que hay una diferencia significativa entre los dos métodos de extracción, mostrando que las pequeñas concentraciones de lignanos hacen la diferencia.

En la gráfica 6 podemos ver que no hay una diferencia muy marcada entre el control y los aceites extraídos, llegando a tener un comportamiento muy similar, pero un poco más bajo el de percolación.

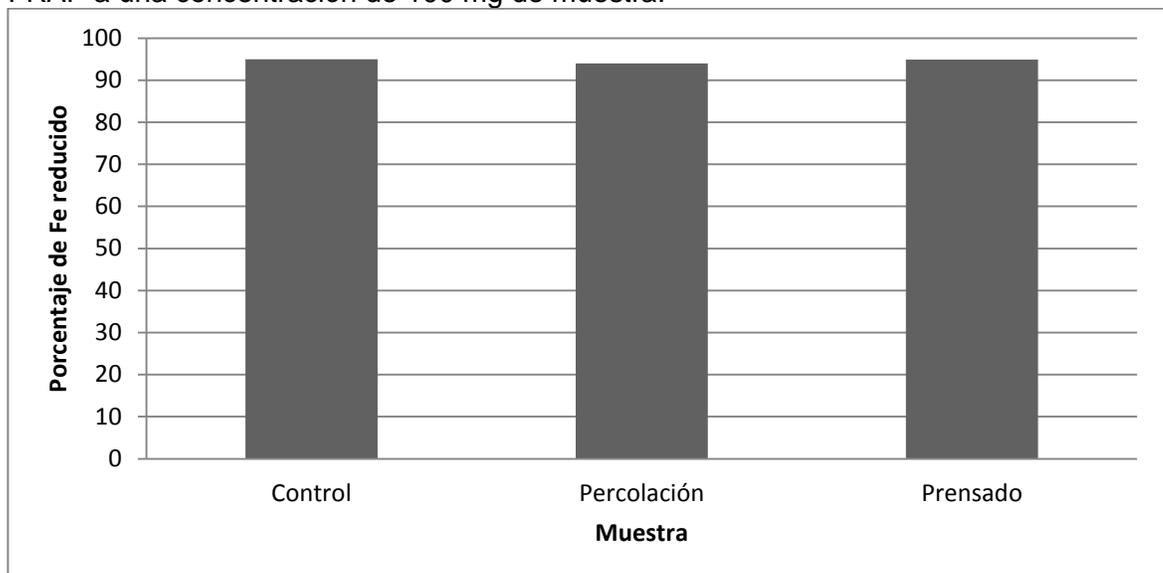
**Gráfica 4:** Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 25.0 mg de muestra



**Grafica 5:** Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 50 mg de muestra.



**Grafica 6:** Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por FRAP a una concentración de 100 mg de muestra.



#### 5.5.1.4.2 Método de decoloración del $\beta$ -caroteno

La prueba de Shapiro - Wilk (ver tabla 43) nos indica que todos los datos obtenidos tienen un comportamiento normal, lo cual nos permite hacer pruebas paramétricas para determinar que procedimiento fue mejor a la hora de tener una

mejor capacidad antioxidante por este método y compararlo con el control (vitamina E).

En la tabla 44, está la prueba de Levene, que nos garantiza la homogeneidad de las varianzas, por lo cual nos permite usar la prueba anova para determinarla mejor capacidad antioxidante.

En la tabla 45, la prueba del anova, nos muestra que en pequeñas cantidades no hay diferencias significativas, pero de 25 mg de aceite, ya tenemos diferencia de la actividad antioxidante, esto se debe a que al ser poca cantidad, los radicales tienen que reaccionar con todo el aceite, por lo cual las sustancias que están en pequeña proporción, no pueden hacer la diferencia, ya que en ambos aceites hay reacción con estas sustancias, pero al incrementar la cantidad de aceite, estas sustancias como proteínas, determinados terpenos, o la cantidad de ácidos grasos, hacen que la diferencia sea mucho más marcada.

**Tabla 43:** Prueba de normalización de los datos de la actividad antioxidante por el método  $\beta$ -caroteno de los aceites extraídos y el control.

mg muestra	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	
<b>Percolación</b>	2.5	.117	3	.	1.000	3	1.000
	5.0	.343	3	.	.842	3	.220
	10.0	.276	3	.	.942	3	.537
	25.0	.323	3	.	.879	3	.321
	50.0	.280	3	.	.938	3	.520
	100.0	.241	3	.	.974	3	.688
<b>Prensado</b>	2.5	.314	3	.	.893	3	.363
	5.0	.276	3	.	.942	3	.537
	10.0	.333	3	.	.862	3	.274
	25.0	.323	3	.	.879	3	.321
	50.0	.306	3	.	.905	3	.400
	100.0	.214	3	.	.989	3	.801
<b>Control</b>	2.5	.314	3	.	.893	3	.363
	5.0	.175	3	.	1.000	3	1.000
	10.0	.292	3	.	.923	3	.463
	25.0	.351	3	.	.828	3	.183
	50.0	.276	3	.	.942	3	.537
	100.0	.294	3	.	.921	3	.455

**Tabla 44:** Prueba de Levene para la actividad antioxidante por  $\beta$ -caroteno.

Concentración (mg)	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Significancia
2.5	.000	2	6	1.000
5.0	.133	2	6	.878
10.0	.061	2	6	.942
25.0	.452	2	6	.656
50.0	.905	2	6	.454
100.0	.050	2	6	.952

Como se están comparando tres variables, no sabemos entre que variables hay diferencias significativas, ya que el ANOVA no me permite determinar estas diferencias entre cada variable, por lo cual usaremos la prueba de Tukey para cada concentración que dio una significancia menor que 0.050.

**Tabla 45:** Prueba de ANOVA para la actividad antioxidante por  $\beta$ -caroteno.

Concentración		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrada	F	Sig.
2.5 mg	Entre los grupos	.000	2	.000	.913	.451
	Dentro de los grupos	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
5.0 mg	Entre los grupos	.000	2	.000	1.187	.368
	Dentro de los grupos	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
10.0 mg	Entre los grupos	.000	2	.000	3.150	.116
	Dentro de los grupos	.000	6	.000		
	Total	.001	8			
25.0 mg	Entre los grupos	.055	2	.028	149.951	.000
	Dentro de los grupos	.001	6	.000		
	Total	.057	8			
50.0 mg	Entre los grupos	.398	2	.199	267.479	.000
	Dentro de los grupos	.004	6	.001		
	Total	.403	8			
100.0 mg	Entre los grupos	.170	2	.085	61.647	.000
	Dentro de los grupos	.008	6	.001		
	Total	.179	8			

En los tres casos (tablas 46 al 48) se ve que el aceite de ajonjolí tiene un mejor comportamiento que el control, esto se debe a los tocoferoles, lignanos y diversas

sustancias que están en baja cantidad, pero tienen un alto poder antioxidante, que el control no tiene. Al comparar los aceites extraídos, vemos que ha 25mg de aceite, no hay diferencia, pero de ahí para arriba, ya hay diferencia significativa, esto se debe a que el aceite extraído por prensado, ya que hay mayor proporción de ácidos grasos insaturados en el aceite prensado, además se confirma lo de las pruebas físico-químicas, por lo cual es mucho mejor el rendimiento.

**Tabla 46:** Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por  $\beta$ -caroteno con una concentración de 25.0mg de muestra.

EXTRACCIÓN	N	Subconjunto de la alfa = 0.05	
		1	2
Control	3	.22500	
Percolación	3		.38900
Prensado	3		.39400
Significancia		1.000	.896

**Tabla 47:** Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por  $\beta$ -caroteno con una concentración de 50.0mg de muestra.

EXTRACCIÓN	N	Subconjunto de la alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	3	.49200		
Percolación	3		.85300	
Prensado	3			.99100
Significancia		1.000	1.000	1.000

**Tabla 48:** Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por  $\beta$ -caroteno con una concentración de 100.0mg de muestra.

EXTRACCIÓN	N	Subconjunto de la alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	3	.98800		
Percolación	3		1.16167	
Prensado	3			1.32500
Significancia		1.000	1.000	1.000

#### 5.5.1.4.3 Actividad atrapadora de los radicales con ABTS

Los datos de la actividad antioxidante, la mitad de los datos en los aceites extraídos tienen un comportamiento normal (ver tabla 49), cuando son pequeños su concentración, en cambio son anormales en altas concentraciones de aceite, en cambio el control

(Trolox), dos tercios de sus datos tienen comportamiento anormal y un tercio son normales, por lo tanto, para los datos donde las tres variables son normales se hará la prueba de Levene, para determinar si se puede hacer la prueba de anova, en cambio a los anormales, se le aplicará la prueba de Kruskal – Wallis.

En la tabla 50, prueba de Levene que nos dice si las varianzas son homogéneas, en este caso podemos usar la prueba anova para determinar la mejor capacidad antioxidante.

La prueba anova, de la tabla 51, nos muestra que hay diferencia significativa entre las variables, pero no nos dice entre quienes, por lo cual se hará la prueba de Tukey para cada concentración y determinar que variables tienen diferencias.

**Tabla 49:** Prueba de normalización de los datos de la actividad antioxidante por el método ABTS de los aceites extraídos y el control.

mg muestra	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	
<b>Percolación</b>	2.5	.337	3	.	.855	3	.253
	5.0	.328	3	.	.871	3	.298
	10.0	.314	3	.	.893	3	.363
	25.0	.385	3	.	.750	3	.000
	50.0	.385	3	.	.750	3	.000
	100.0	.385	3	.	.750	3	.000
<b>Prensado</b>	2.5	.276	3	.	.942	3	.537
	5.0	.276	3	.	.942	3	.537
	10.0	.314	3	.	.893	3	.363
	25.0	.385	3	.	.750	3	.000
	50.0	.385	3	.	.750	3	.000
	100.0	.385	3	.	.750	3	.000
<b>Control</b>	2.5	.238	3	.	.976	3	.702
	5.0	.343	3	.	.842	3	.220
	10.0	.328	3	.	.871	3	.298
	25.0	.314	3	.	.893	3	.363
	50.0	.385	3	.	.750	3	.000
	100.0	.385	3	.	.750	3	.000

**Tabla 50:** Prueba de Levene para la actividad antioxidante por ABTS.

Concentración (mg)	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Significancia
2.5	.412	2	6	.680
5.0	.319	2	6	.738
10.0	.176	2	6	.843

La actividad antioxidante, determinada por ABTS, en las tablas desde la 52 hasta la 54 muestra que tiene mejor capacidad de actividad antioxidante en general, lo cual me indica que es más eficiente el aceite extraído por percolación que por prensado, esto se debe a que por solvente, se puede extraer mayor cantidad de la parte lipídica, que hace una gran diferencia, a la hora de hacer la actividad antioxidante en poca concentración, incluso ambos aceites son mejores que el control, lo cual el aceite es de excelentes cualidades.

**Tabla 51:** Prueba de Anova para la actividad antioxidante por ABTS.

Concentración		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrada	F	Sig.
2.5 mg	Entre los grupos	476.002	2	238.001	1224.006	.000
	Dentro de los grupos	1.167	6	.194		
	Total	477.169	8			
5.0 mg	Entre los grupos	1749.076	2	874.538	6197.512	.000
	Dentro de los grupos	.847	6	.141		
	Total	1749.922	8			
10.0 mg	Entre los grupos	3157.369	2	1578.684	19463.233	.000
	Dentro de los grupos	.487	6	.081		
	Total	3157.856	8			

**Tabla 52:** Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por ABTS con una concentración de 2.5 mg de muestra

EXTRACCIÓN	N	Subconjunto de la alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	3	4.000		
Prensado	3		8.000	
Solvente	3			21.033
Significancia		1.000	1.000	1.000

**Tabla 53:** Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por ABTS con una concentración de 5.0 mg de muestra.

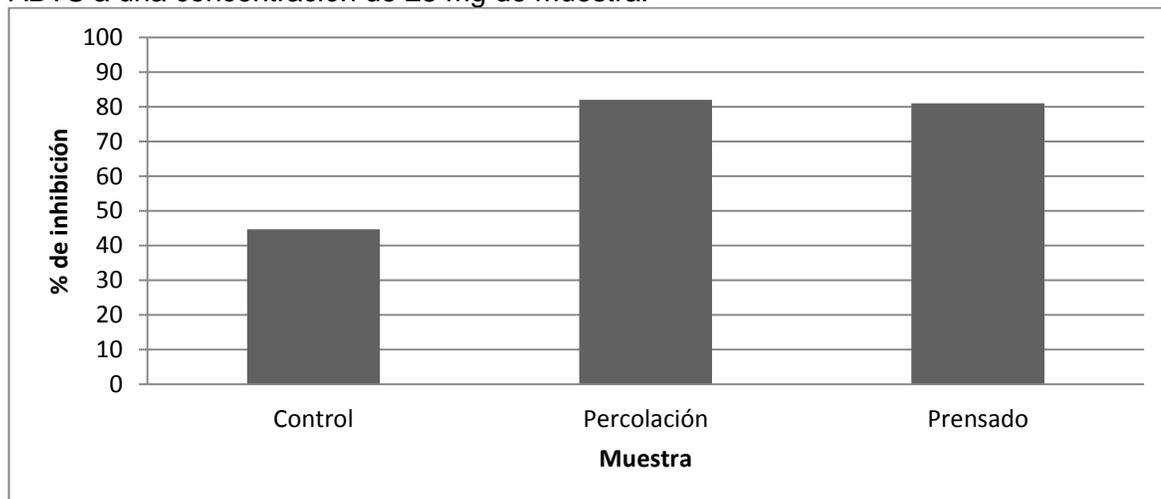
EXTRACCIÓN	N	Subconjunto de la alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	3	6.000		
Prensado	3		21.000	
Solvente	3			40.067
Significancia		1.000	1.000	1.000

**Tabla 54:** Prueba de Tukey para la actividad antioxidante por ABTS con una concentración de 10.0 mg de muestra.

EXTRACCIÓN	N	Subconjunto de la alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	3	20.033		
Prensado	3		43.900	
Solvente	3			65.900
Significancia		1.000	1.000	1.000

Como los datos de la prueba antioxidante con 25 mg de muestra todos no son normales, entonces se determinó a través de la gráfica de cajas y bigotes, donde se determinó que hay una diferencia muy pequeña entre ambos aceites, pero los dos aceites y las muestra, nos muestran que hay una diferencia muy marcada (ver grafica 7).

**Grafica 7:** Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por ABTS a una concentración de 25 mg de muestra.



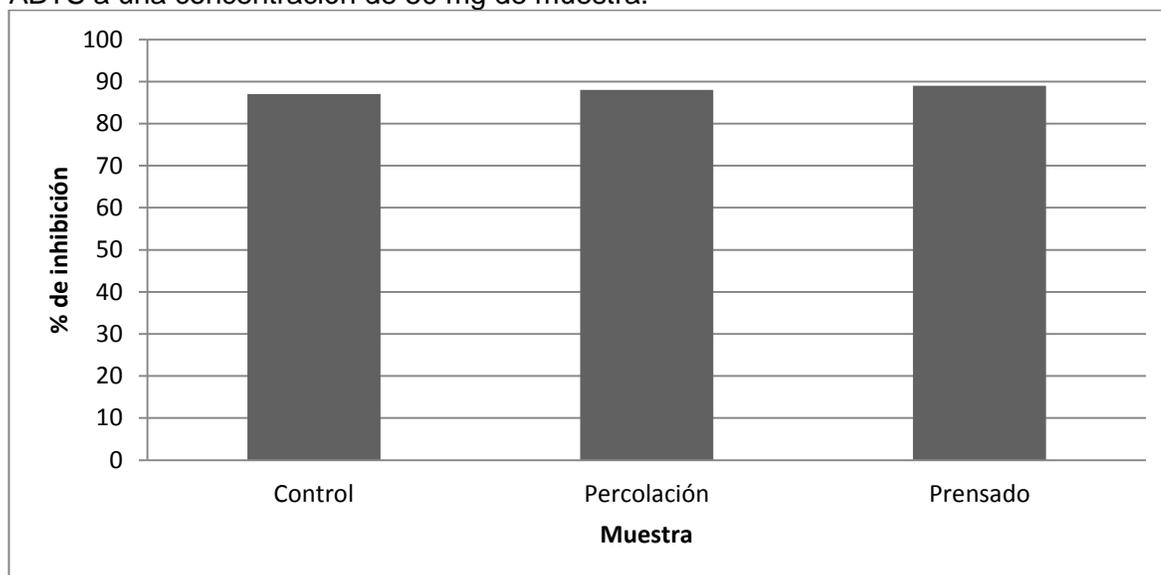
En la tabla 55, se determinó que si hay diferencia entre las muestras, a un volumen de 50 y 100 mg de aceite, pero no podemos decir entre cuales, por lo cual se determinara a través de la prueba de la gráfica de barras y bigotes, la cual me dirá entre quienes hay diferencia significativa.

**Tabla 55:** Prueba de kruskal - Wallis, para comparación de datos no normales de la actividad antioxidante por ABTS.

	50 mg	100 mg
<b>Chi-cuadrado</b>	7.385	6.108
<b>gl</b>	2	2
<b>Significancia</b>	.025	.047

En la gráfica 8 podemos ver que hay una diferencia muy mínima entre los aceites, pero ya si hay una diferencia más marcada entre el control y el aceite extraído por prensado, pero en general es muy mínima.

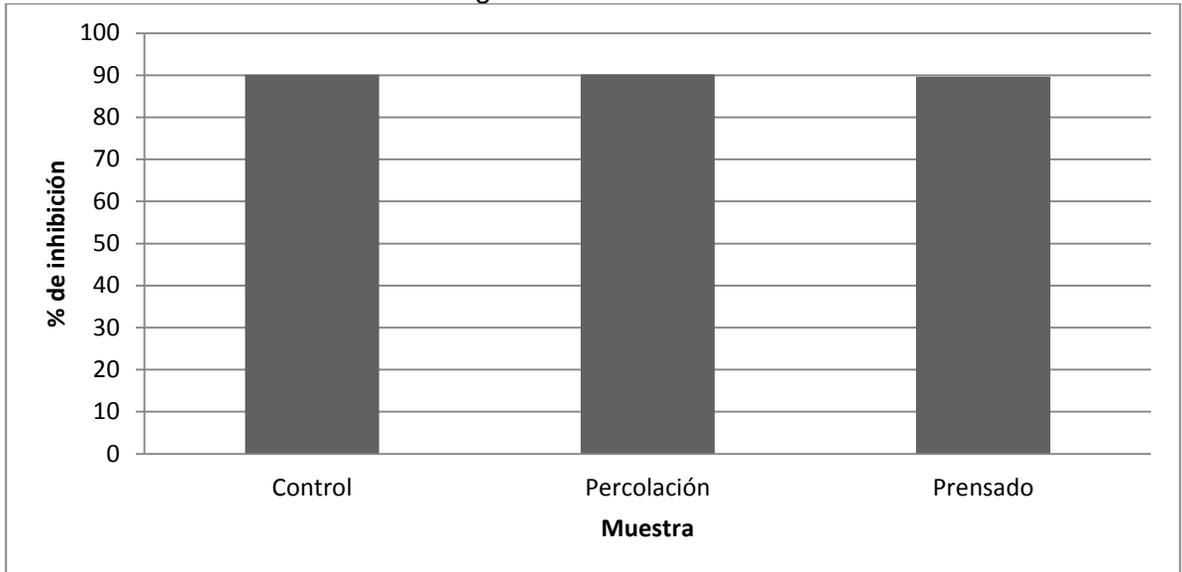
**Gráfica 8:** Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por ABTS a una concentración de 50 mg de muestra.



En la gráfica 9 podemos ver que no hay diferencia muy grande entre las muestras, se nota que son casi iguales, pero hay una diferencia muy pequeña entre los dos aceites. En cambio el control no tiene diferencia entre los dos aceites.

Vemos que en la actividad antioxidante siempre es mejor en poca cantidad el aceite extraído por percolación, esto se debe en parte a que se extrae mayor cantidad de la fracción etérea, pero el aceite extraído por prensado mejora su rendimiento a medida que se utiliza una mayor cantidad de aceite, solamente toca determinar la concentración adecuada para un rendimiento óptimo de cada aceite

**Grafica 9:** Comparación entre los aceites y el control de la actividad antioxidante por ABTS a una concentración de 100mg de muestra



## 6 CONCLUSIONES

- ✓ El proceso de extracción por percolación extrajo ligeramente mayor cantidad de aceite con un 98%, en comparación con el prensado que fue del 90%, donde en los demás componentes de la torta a excepción de la humedad no hay una diferencia significativa.
- ✓ Las propiedades físicas y químicas de los aceites son en la mayoría significativamente iguales, pero el aceite prensado contiene mayor cantidad de insaturaciones, esto se da ya que contiene una mayor concentración de ácidos grasos insaturados que el aceite extraído por percolación.
- ✓ Las tortas, contienen un alto contenido de aminoácidos, que satisfacen los parámetros que tiene la FAO, pero tiene deficiencias en tres aminoácidos, que tocaría hacer un enriquecimiento y son: lisina, leucina y triptófano. Haciéndola una potencial fuente de nutrición para niños y adultos.
- ✓ La actividad antioxidante de los aceites tiene un mejor comportamiento que los controles usados (vitamina E en la decoloración del  $\beta$ -caroteno y Trolox en las otras dos pruebas). El aceite extraído por percolación, tiene un mejor rendimiento a bajas cantidades pero si la cantidad se incrementa el aceite prensado tiene igual o mejor rendimiento.
- ✓ El mejor proceso es el prensado, ya que se obtiene un aceite de mayor calidad, en cuanto a ácidos grasos esenciales, además la actividad antioxidante se puede igualar al extraído por percolación, usando mayor cantidad de aceite, por otro lado no se debe purificarlo para poderlo consumir, además es un proceso más económico.

## RECOMENDACIONES

- ✓ Se requiere un estudio más detallado en la parte de cuantificación de los aminoácidos, además de hacer una determinación *in vitro* e *in vivo*, para la absorción de estos aminoácidos.
- ✓ Determinar otras actividades antioxidantes para conocer con mayor exactitud el rendimiento de cada aceite, para saber si también pueden tener una mayor aplicación, además de la adecuada formulación médica, donde se pueda conocer el óptimo consumo.
- ✓ Determinar el volumen adecuado para usarlo como complemento alimenticio por sus altos contenidos de los ácidos grasos esenciales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Shahidi, F., Liyana-Pathirana, C. M., & Wall, D. S. (2006). Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions. *Food Chemistry*, 99, 478–483.
2. Abou-Gharbia, H. A., Shahidi, F., Shehata, A. A. Y., & Youssef, M. M. (1997). Effects of processing on oxidative stability of sesame oil extracted from intact and dehulled seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74, 215–221.
3. Benguo Liu, Xiaona Guo, Kexue Zhu, Yang Liu. Nutritional evaluation and antioxidant activity of sesame sprouts *Food Chemistry* 129 (2011) 799–803.
4. Chen, P. R., Chien, K. L., Su, T. C., Chang, C.J., Liu, T., Cheng, H., et al. (2005). Dietary sesame reduces serum cholesterol and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolemia. *Nutrition Research*, 25, 559–567.
5. Lazarou, D., Grougnet, R., & Papadopoulos, A. (2007). Antimutagenic properties of a polyphenol-enriched extract derived from sesame-seed perisperm. *Mutation Research*, 634, 163–171.
6. Cadena Productiva de los Montes de María, Editado por: Corporación PBA y las organizaciones de Productores de los Montes de María La Silueta ediciones, 2009.
7. Suja, K. P., Jayalekshmy, A., & Arumughan, C. (2004). Free radical scavenging behavior of antioxidant compounds of sesame (*Sesamum indicum* L.) in DPPH system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), 912–915.
8. Yokota, T., Matsuzaki, Y., Koyama, M., Hitomi, T., Kawanaka, M., Enoki-Konishi, M., et al. (2007). Sesamin, a lignan of sesame, down-regulates cyclin D1 protein expression in human tumor cells. *Cancer Science*, 98(9), 1447–1453.
9. Ghafoorunissa, Hemalatha, S., & Rao, M. V. (2004). Sesame lignans enhance antioxidant activity of vitamin E in lipid peroxidation systems. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 262(1–2), 195–202.
10. Visavadiya, N. P., & Narasimhacharya, A. V. R. L. (2008). Sesame as a hypocholesteremic and antioxidant dietary component. *Food and Chemical Toxicology*, 46(6), 1889–1895.
11. Ashakumary, L., Rouyer, I., Takahashi, Y., Ide, T., Fukuda, N., Aoyama, T., et al. (1999). Sesamin, a sesame lignan, is a potent inducer of hepatic fatty acid oxidation in the rat. *Metabolism*, 48(10), 1303–1313.
12. Lee, C. C., Chen, P. R., Lin, S., Tsai, S. C., Wang, B. W., Chen, W. W., et al. (2004). Sesamin induces nitric oxide and decreases endothelin-1 production in HUVECs: Possible implications for its antihypertensive effect. *Journal of Hypertension*, 22(12), 2329–2338.
13. Nakano, D., Kurumazuka, D., Nagai, Y., Nishiyama, A., Kiso, Y., & Matsumura, Y. (2008). Dietary sesamin suppresses aortic NADPH oxidase in DOCA salt hypertensive rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 35(3), 324–326.
14. Cheng, F. C., Jinn, T. R., Hou, R. C., & Tzen, J. T. C. (2006). Neuroprotective effects of sesamin and sesamol on gerbil brain in cerebral ischemia. *International Journal of Biomedical Science*, 2(3), 284–288.
15. Wu, W. H., Kang, Y. P., Wang, N. H., Jou, H.J., & Wang, T. A. (2006). Sesame ingestion affects sex hormones, antioxidant status, and blood lipids in postmenopausal women. *The Journal of Nutrition*, 136(5), 1270–1275.
16. Williamson, K. S., Morris, J. B., Pye, Q. N., Kamat, C. D., & Hensley, K. (2008). A survey of sesamin and composition of tocopherol variability from seeds of eleven diverse sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes using HPLC-PAD-ECD. *Phytochemical Analysis*, 19(4), 311–322.
17. Hemalatha, S., & Ghafoorunissa (2004). Lignans and tocopherols in Indian sesame cultivars. *Journal of American oil Chemists' Society*, 81, 467–470.
18. Dietrich, M., Traber, M. G., Jacques, P. F., Cross, C. E., Hu, Y., & Block, G. (2006). Does gamma-tocopherol play a role in the primary prevention of heart disease and cancer? A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(4), 292–299.
19. Jiang, Q., Christen, S., Shigenaga, M. K., & Ames, B. N. (2001). Gamma-tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 714–722.
20. Guthrie, N., Gapor, A., Chambers, A. F., & Carroll, K. K. (1997). Inhibition of proliferation of estrogen receptor-negative MDA-MB-435 and -positive MCF-7 human breast cancer cells by palm oil tocotrienols and tamoxifen, alone and in combination. *The Journal of Nutrition*, 127(3), 544S–548S.

21. Gysin, R., Azzi, A., & Visarius, T. (2002). Gamma-tocopherol inhibits human cancer cell cycle progression and cell proliferation by down-regulation of cyclins. *The FASEB Journal*, 16(14), 1952–1954.
22. Jiang, Q., & Ames, B. N. (2003). Gamma-tocopherol, but not alpha-tocopherol, decreases proinflammatory eicosanoids and inflammation damage in rats. *The FASEB Journal*, 17(8), 816–822.
23. Park, S. K., Page, G. P., Kim, K., Allison, D. B., Meydani, M., Weindruch, R., et al. (2008). Alpha- and gamma-tocopherol prevent age-related transcriptional alterations in the heart and brain of mice. *The Journal of Nutrition*, 138(6), 1010–1018.
24. Cooney, R. V., Custer, L. J., Okinaka, L., & Franke, A. A. (2001). Effects of dietary sesame seeds on plasma tocopherol levels. *Nutrition and Cancer*, 39(1), 66–71.
25. Wu, W. H. (2007). The contents of lignans in commercial sesame oils of Taiwan and their changes during heating. *Food Chemistry*, 104, 341–344.
26. Kim, K. S., Lee, J. R., & Lee, J. S. (2006). Determination of sesamin and sesamol in sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds using UV spectrophotometer and HPLC. *Korean Journal of Crop Science*, 51(1), 95–100.
27. Shirato-Yasumoto, S., Komeichi, M., Okuyama, Y., & Horigane, A. (2003). A simplified HPLC quantification of sesamin and sesamol in sesame seed. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 35(1), 27–34.
28. Rangkadilok N; Pholphana N; Mahidol C; Wongyai W; Saengsooksree K; Nookabkaew S; Satayavivad J. (2010). Variation of sesamin, sesamol and tocopherols in sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds and oil products in Thailand, *Food Chemistry* 122, 724–730
29. Marinês P. Corso, Márcia R. Fagundes-Klen, Edson A. Silva, Lúcio Cardozo Filho, et al. (2010). Extraction of sesame seed (*Sesamum indicum* L.) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide *The Journal of Supercritical Fluids*, 52, 56-61.
30. Badrish Soni, Nishant P. Visavadiya, Nirav Dalwadi. Free radical scavenging and antiatherogenic activities of *Sesamum indicum* seed extracts in chemical and biological model systems *Food Chemical toxicology*, 47 (2009): 2507-2515.
31. VÁZQUEZ, C. De Cos, A. López, C. Lípidos. En: *Alimentación y Nutrición. Manual Teórico-Práctico*. 2 ed. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, 2005. p. 15.
32. BURNEO, Z. Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de los extractos totales de doce especies vegetales nativas del sur de Ecuador : *Adiantum poiretti* (Culantrillo), *Neonelsonia acuminata* (Zanahoria blanca), *Siparuna eggersii* (Monte de oso), *Ilex guayusa* (Guayusa), *Verbena litoralis* (Verbena), *Justicia colorata* (Insulina), *Oreocalix grandiflora* (Cucharillo), *Baccharis genistelloides* (Tres filos), *Artocarpus altilis* (Fruto del pan), *Costus comosus* (Caña agria), *Piper crassinervium* (Guabiduca) y *Croton wagneri* (Mosquera). Tesis de grado. Universidad Técnica particular de Loja. Loja. 2009. 16 – 25.
33. GASCA, C. (2012). Evaluación de la actividad antioxidante en el extracto etanólico del cadillo (*Pavonia sapioides*). Tesis de grado. Popayán, 24 – 29
34. DIAZ, V. (2009). ERRORES ESTADÍSTICOS FRECUENTES AL COMPARAR DOS POBLACIONES INDEPENDIENTES. *Revista Chilena de Nutrición*. Diciembre, Vol. 36, n. 4.
35. CUELLAR, S.V., PAZ, C.M. (2012). Implementación de un método analítico por UV y CLAE para la evaluación de la migración de peróxido de benzoilo y anhídrido maleico en un polímero a base de almidón de yuca modificado. Tesis de grado, 37-41
36. Gutiérrez, I, Martínez, J., Santiago, M., García, D., Análisis de la relación entre la intensidad del tráfico de datos y el número de alumnos en universidades españolas. Online: <http://www.maths.ed.ac.uk/~jmartinezgarcia/papers/jitel07.pdf>
37. Pruebas estadísticas, capítulo 8. Online: [http://www.unac.edu.pe/documentos/organizacion/vri/cdcitra/Informes\\_Finales\\_Investigacion/Abril\\_2011/IF\\_VIVANCO\\_FIPA/I\\_Capitulo%208\\_Pruebas%20estad%EDsticas.pdf](http://www.unac.edu.pe/documentos/organizacion/vri/cdcitra/Informes_Finales_Investigacion/Abril_2011/IF_VIVANCO_FIPA/I_Capitulo%208_Pruebas%20estad%EDsticas.pdf)
38. [http://es.wikipedia.org/wiki/Prueba\\_t\\_de\\_Student](http://es.wikipedia.org/wiki/Prueba_t_de_Student)
39. Las pruebas estadísticas. Online: <http://scientific-european-federationosteopaths.org/es/prueba-estadisticas>
40. Pruebas no paramétricas. Universidad de Barcelona. Online: [http://www.ub.edu/aplica\\_infor/spss/cap6-2.htm](http://www.ub.edu/aplica_infor/spss/cap6-2.htm)
41. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Determination of moisture content*. En: *Official Methods of Analysis*. AOAC 950.43. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.

42. \_\_\_\_\_. *Fat in Feeds*. En: Official Methods of Analysis. AOAC 991.36. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
43. \_\_\_\_\_. *Determination of Ash Content*. En: Official Methods of Analysis. AOAC 920.153. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
44. \_\_\_\_\_. *Determination of the nitrogen content*. En: Official Methods of Analysis. AOAC 968.06. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
45. \_\_\_\_\_. *Crude Fiber Analysis*. En: Official Methods of Analysis. AOAC 962.09. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
46. <http://es.scribd.com/doc/42854211/94/Indice-de-Kreis-Holm-y-Greenbank-1923>
47. \_\_\_\_\_. Specific Gravity (Apparent) of Oils Pycnometer Method. En: Official Methods of Analysis. AOAC 920.212. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
48. \_\_\_\_\_. Index of Refraction of Oils and Fats. En: Official Methods of Analysis. AOAC 921.08. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
49. Landau LD; Lifshitz EM. "*Mecánica de Fluidos*". Vol. 6 del Curso de Física Teórica. Ed. Reverté. 1991
50. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Iodine Absorption Number of Oils and Fats. En: Official Methods of Analysis. AOAC 920.159. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
51. <http://html.rincondelvago.com/extraccion-de-aceites-esenciales.html>
52. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Index of Acidity of Oils and Fats. En: Official Methods of Analysis. AOAC 940.28. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
53. \_\_\_\_\_. *Saponification value*. En: Official Methods of Analysis. AOAC 920.160. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
54. \_\_\_\_\_. Index of Peroxides of Oils and Fats. En: Official Methods of Analysis. AOAC 965.33. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, MD: The association, 2005.
55. <http://www.recercat.cat/bitstream/handle/2072/4751/NUEVAS%20TENDENCIAS%20EN%20EL%20AN%20C3%81LISIS%20DE%20%20C3%81CIDOS%20GRASOS.pdf?sequence=1>
56. AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. Fatty Acid Composition by GC: *cis*, *cis* and *trans* isomers. En: *Official Methods and Recommended Practices. AOCS Ce 1C – 89*. 6<sup>th</sup> ed. Urbana, Illinois: The association, 2009.
57. Waters (1995) *Pico-Tag Amino Acid Analysis System Operator's Manual*, Waters Chromatography Division Millipore Corporations, Manual No. 88140. Milford, Massachusetts.
58. <http://repositorio.bib.upct.es/dspace/bitstream/10317/159/2/proyecto%20del%20tomillo-def.pdf>
59. Siramon. P. and Y. Ohtani, (2007). Antioxidative and antiradical activities of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand. *J. Wood Sci.*, 53: 498-504.
60. Rout S. y Banerjee R, (2007) Free radical scavenging, anti-glycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*. *Bioresource Technology*, 98 (16), 3159-3163.
61. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. Sexta actualización. NTC 1486. Santafé de Bogotá D.C.: ICONTEC, 2008, p. 31-32.
62. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. Referencias bibliográficas. Contenido, forma y estructura. NTC 5613. Santafé de Bogotá D.C.: ICONTEC, 2008, p. 7-26.

## ANEXOS

### Anexo A: Cromatograma de triglicéridos del aceite de ajonjolí por el método de prensado

