

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN



**“MODIFICACIÓN DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA EN RATAS
POR INFLUENCIA DEL CONSUMO DE ACEITE DE LINAZA (*Linum
usitatissimum*)”**

Presentada por:

CECILIA VERÓNICA TORRES MUÑOZ

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO

MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN

Lima - Perú

2022

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN

**“MODIFICACIÓN DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA EN RATAS
POR INFLUENCIA DEL CONSUMO DE ACEITE DE LINAZA (*Linum
usitatissimum*)”**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO

MAGISTER SCIENTIAE

Presentada por:

CECILIA VERÓNICA TORRES MUÑOZ

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco
PRESIDENTE

Dra. María Elena Villanueva Espinoza
ASESOR

Ph.D. Haydee Cárdenas de Jurado
MIEMBRO

Ph.D. Carlos Vílchez Perales
MIEMBRO

En memoria de Pepe

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de investigación fue elaborado gracias al financiamiento de la beca CONCYTEC - FONDECYT para estudio en la Maestría en Nutrición, brindada a través del programa CIENCIACTIVA.

Agradezco a la Dra. María Elena Villanueva Espinoza, por su orientación y apoyo durante toda la investigación.

Agradezco a mis compañeros Izabó Guillén, César Lume y Yanet Tito, por su apoyo incondicional durante las distintas etapas del estudio.

Agradezco a Mauro Ayala por sus enseñanzas y apoyo en la etapa experimental realizada en el bioterio.

Y a todos los maestros del programa de Maestría en Nutrición.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. SACIEDAD	3
2.2. COLECISTOQUININA Y APETITO	4
2.3. UTILIZACIÓN DE ACEITES VEGETALES PARA INDUCCIÓN DE SACIEDAD	6
2.3.1. Componentes de los aceites vegetales.....	6
2.3.2. Aceites vegetales.....	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1. ANIMALES.....	12
3.2. DIETA	13
3.2.1. Determinación de dosis de suplemento.....	15
3.2.2. Determinación de tratamientos	15
3.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES	16
3.3.1. Análisis de ácidos grasos	16
3.3.2. Análisis de flavonoides y quercetina	18
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL	18
3.4.1. Evaluación del comportamiento alimentario	18
3.4.2. Evaluación preliminar de la CCK postprandial	20
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
3.5.1. Comportamiento alimentario diario	22
3.5.2. Comportamiento alimentario durante el inicio del día.....	22
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
4.1. EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO.....	24
4.1.1. Comportamiento alimentario diario	24
4.2.2. Comportamiento alimentario durante el inicio del día.....	26

4.2. Evaluación preliminar de la CCK postprandial	28
4.3. Influencia del consumo de aceite de linaza en el comportamiento alimentario .	31
V. CONCLUSIONES.....	33
VI. RECOMENDACIONES	34
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
VIII. ANEXOS	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Composición de alimento balanceado.....	14
Cuadro 2: Dosificación de suplementos.....	14
Cuadro 3: Composición de ácidos grasos del aceite de coco virgen.	16
Cuadro 4: Composición de ácidos grasos del aceite de linaza virgen.	17
Cuadro 5: Número de muestras por cada intervalo de tiempo asignado.....	21
Cuadro 6: Consumo total diario (g/100 g PV) de ratas durante seis días	24
Cuadro 7: Consumo (g/100 g PV) durante los 150 minutos iniciales de alimentación	27
Cuadro 8: CCK plasmática (pg/ml) postprandial en ratas suplementadas.....	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Jaulas metálicas individuales para ratas.	13
Figura 2: Administración oral del tratamiento.	19
Figura 3: Separación de plasma en muestras de sangre.	21
Figura 4: Porcentaje de Ingesta respecto al Control de ratas durante seis días.....	25
Figura 5: Concentración de CCK plasmática postprandial en ratas suplementadas	28

INDICE DE ANEXOS

Anexo I: ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO	
DIARIO	42
Anexo II: ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO	
INICIAL.....	43
Anexo III: CONSUMO (g/100g PV) MEDIO DURANTE EL INICIO DEL DÍA .	46
Anexo IV	49
Anexo V	53
Anexo VI	60

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar la modificación del comportamiento alimentario en ratas Holtzman al consumir aceite de linaza. Adicionalmente, se realizaron observaciones preliminares de la variación de la CCK plasmática postprandial. Considerando que el efecto del aceite de coco sobre el consumo alimentario no está relacionado con la regulación de la saciedad mediada por la CCK, se lo empleó como tratamiento control isocalórico. Para la evaluación del comportamiento alimentario se utilizaron tres tratamientos (n=10), cada uno suplementado durante seis días con 2 g/kg PV de aceite de linaza, aceite de coco y agua respectivamente. Se realizó un ANOVA bajo un DBCA del consumo total diario (g /100g PV) y la prueba de Friedman del consumo (g /100g PV) para cinco períodos durante los 150 minutos iniciales de alimentación. Para la descripción de la concentración de CCK plasmática postprandial se estudiaron cuatro grupos: tres suplementados con 2 g/kg PV de aceite de linaza, aceite de coco y agua respectivamente y uno con ácido α -linolénico como control positivo. Luego se realizaron mediciones de la CCK plasmática a lo largo de los 240 minutos postprandiales. Solo el aceite de linaza tuvo un efecto sobre la saciedad a largo plazo al disminuir el consumo total diario respecto al control ($p < 0.05$). Luego del consumo del aceite de linaza, se vio una tendencia de aumento de la CCK plasmática hasta los 150 minutos postprandiales y luego un descenso a su valor basal. Se concluye que el aceite de linaza afecta el comportamiento alimentario disminuyendo la ingesta total diaria, aparentemente este efecto es mediado por la CCK.

Palabras Clave: Saciedad, Aceite de linaza, *Linum usitatissimum*, Colecistoquinina, CCK.

ABSTRACT

In this study, the effect of flaxseed oil consumption in feeding behavior of Holtzman rats was evaluated. Additionally, preliminary observations of postprandial plasma CCK variation were made. Since the coconut oil effect on food consumption is not related to the CCK satiety regulation pathway, it was used as an isocaloric control treatment. Three treatments (n=10) were used for the evaluation of the feeding behavior, each one supplemented for six days with 2 g/kg LW of flaxseed oil, coconut oil and water respectively. An ANOVA was performed for the total daily consumption (g/100g LW) and the Friedman test for the period consumption (g/100g LW) during five time periods at the initial 150 feeding minutes. Four groups were studied to describe the postprandial plasma CCK concentration: three supplemented with 2 g/kg LW of linseed oil, coconut oil and water respectively and one with α -linolenic acid as a positive control. Plasma CCK measurements were made throughout 240 postprandial minutes. Only flaxseed oil had an effect on long-term satiety by reducing the total daily consumption compared to the control ($p < 0.05$). After the consumption of flaxseed oil, plasma CCK trended to increase to its maximum at 150 postprandial minutes and then it decreased to its basal value. It is concluded that flaxseed oil affects eating behavior by reducing total daily intake, apparently this effect is mediated by CCK.

Key words: Satiety, Flaxseed oil, *Linum usitatissimum*, Cholecystokinin, CCK.

I. INTRODUCCIÓN

La saciedad inducida por el alimento consumido es un mecanismo que permite controlar la cantidad de alimento ingerida. El programa neuroendocrino que maneja la saciedad debería ser suficiente para controlar la alimentación y lograr una digestión eficiente, sin embargo, alrededor del mundo la sobrenutrición y la obesidad se han convertido en problemas predominantes en las sociedades modernas (Sclafani 2013). En el Perú, se ha reportado que en la población mayor de quince años existe una prevalencia de sobrepeso de 37.8 por ciento y 22.3 por ciento de obesidad (INEI 2020). Desde el año 2010 se ha observado una tendencia constante de aumento del porcentaje de población mayor de quince años con exceso de peso, con un aumento de 9 por ciento tan solo en el último quinquenio (Villena Chávez 2017). La obesidad en el Perú es por eso considerada como un problema de salud pública, tanto en niños como en adultos, debido a lo cual es importante encontrar alternativas que puedan contribuir al control de la alimentación en las personas.

El exceso de peso es causado por una sobrealimentación, donde se da un balance inadecuado entre la cantidad de energía consumida en el alimento y la energía utilizada por el cuerpo. Se ha visto que los alimentos ricos en grasas y azúcares activan los sistemas de recompensa del cerebro promoviendo su sobreconsumo, además, de que la efectividad de las señales de saciedad se ve reducida conforme la palatabilidad del alimento aumenta. La exposición crónica a dietas altas en grasas provoca que se requieran niveles más altos de señales de saciedad de corto plazo (péptidos hormonales) y de largo plazo (hormonas adiposas) para suprimir la ingesta (Sclafani 2013). Al verse alterados los mecanismos de señalización de la saciedad, la autorregulación del consumo se ve distorsionada en las personas que consumen dietas altas en grasas y azúcares, por lo que lograr un estímulo de la saciedad en estas personas podría ayudar a controlar su sobreingesta alimentaria.

Se ha visto que los ácidos grasos de cadenas de más de doce carbonos promueven la secreción del péptido hormonal colecistoquinina (CCK), péptido señalizador de la saciedad

a corto plazo (Cummings y Overduin 2007, Liou *et al.* 2011) por lo que la estimulación de su secreción podría ayudar a limitar la sobre ingesta alimentaria. El efecto postprandial luego de la ingesta de ácidos grasos de más de doce carbonos afecta el intervalo de tiempo hasta la siguiente ingesta, regulando la frecuencia de comidas (Cummings y Overduin 2007). Este efecto se ha observado en humanos y modelos animales (Dockray 2012, Woods *et al.* 2018).

El efecto de las grasas en la saciedad ha sido estudiado inicialmente con ácidos grasos purificados y con algunos aceites comerciales con alto porcentaje de ácidos grasos de más de doce carbonos en su composición, como el aceite de maíz, de canola, de girasol y el de oliva (Beglinger y Degen 2004, Liou *et al.* 2011, Maljaars *et al.* 2009). Actualmente, la industria alimentaria tiene interés en una aplicación práctica de esta interacción entre los ácidos grasos y la saciedad, llevándose a cabo experimentos que buscan controlar la disponibilidad de los ácidos grasos en el intestino, entre otros factores técnicos que permitan la estimulación de la saciedad (Alcalá-Bejarano 2014).

El aceite de linaza contiene una mezcla heterogénea de ácidos grasos poliinsaturados (AGPIs), principalmente linolénico, junto a otros ácidos grasos de más de doce carbonos que pueden estimular la producción de CCK. Este aceite es actualmente producido en nuestro país, siendo la semilla principalmente producida en Cajamarca, Junín y Huancavelica, y también en Áncash y La Libertad (Torres Sobenes 2016). Su producción se encuentra en alza y está siendo actualmente impulsada por los gobiernos regionales. Por su composición, es posible que este aceite estimule la saciedad, y su uso como controlador de la sobreingesta alimentaria podría ayudar a disminuir la alta prevalencia de sobrepeso en la población peruana e impulsar una mayor producción nacional, beneficiando a todos los involucrados en la cadena de producción.

Frente a esto, el objetivo de la presente investigación fue la evaluación de la variación del comportamiento alimentario en ratas Holtzman de más de dos meses de edad al consumir aceite de linaza (*Linum usitatissimum*). Como un objetivo secundario se realizaron mediciones preliminares de la CCK plasmática postprandial como un factor indiciario de la variación del comportamiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.SACIEDAD

La ingesta de alimento activa un programa neuroendocrino que involucra señales gástricas, intestinales y pancreáticas que interactúan con el sistema gastrointestinal. Esta señalización se encuentra ampliamente estudiada en el humano y en distintos modelos animales (Dockray 2012, Sclafani 2013). La saciedad se da por dos efectos primarios que el alimento ejerce en el tracto gastrointestinal: la distensión gástrica y la liberación de péptidos señalizadores de las células enteroendocrinas. Estas señales hormonales tienen el fin de equiparar la llegada de nutrientes al intestino con su capacidad de digestión para lograr una absorción eficiente, influenciando sobre la motilidad y las secreciones gastrointestinales (Cummings y Overduin 2007). La saciedad implica así el término de la alimentación y limita la cantidad de alimento ingerida.

El cerebelo es el sitio principal de recepción de estas señales, que son transmitidas por vía neuronal y hormonal. Estos péptidos dan señales de saciedad a corto plazo e interactúan con hormonas adiposas de acción a largo plazo involucradas en la regulación del peso, como leptina e insulina. El primer péptido señalizador descubierto fue la colecistoquinina (CCK) hace más de 20 años, estudios siguientes dieron a conocer otras hormonas intestinales como la GLP-1 y la PYY, y las hormonas pancreáticas amilina y glucagón (Cummings y Overduin 2007).

Cuando el alimento llega al tracto gastrointestinal, su contenido nutricional interactúa con las células enteroendocrinas de función sensitiva, presentes alrededor del lumen (Woods *et al.* 2018). Las células enteroendocrinas intestinales son las células endocrinas más numerosas del cuerpo, se encuentran localizadas entre las criptas y los vellos intestinales, existen al menos 15 subtipos y comprenden alrededor del uno por ciento del total de las células intestinales (Moran *et al.* 2008). Estas células son las que liberan los péptidos hormonales de saciedad en respuesta a los nutrientes.

Durante el curso de la ingesta los nutrientes del alimento estimulan su liberación, incrementándose su secreción hasta llegar a un límite de saciedad, a partir del cual la ingesta es terminada (Sclafani 2013). Este efecto postprandial afecta el intervalo de tiempo hasta la siguiente ingesta, y por ende regula la frecuencia de comidas (Cummings y Overduin 2007).

2.2. COLECISTOQUININA Y APETITO

La CCK es considerada el péptido arquetípico de saciedad intestinal de acción corta, se ha visto que tiene una mayor contribución individual a la saciedad que otros péptidos hormonales, como GLP-1 y PYY (Mars *et al.* 2012). La CCK es producida por las células enteroendocrinas intestinales (también denominadas células I) en la mucosa del duodeno y yeyuno, así como en el cerebro y el sistema nervioso entérico. Sin embargo, se ha observado que la CCK circulatoria es originada principalmente en las células I (Rehfeld y Agersnap 2012). La CCK intestinal es una hormona secretada en respuesta a los nutrientes presentes en el lumen provenientes de los alimentos ingeridos, especialmente a los lípidos y péptidos (Cummings y Overduin 2007), y posiblemente también a algunos tipos de flavonoides (Grau-Bové *et al.* 2020).

Esta hormona induce la saciedad por dos mecanismos: la regulación fisiológica del sistema digestivo y la estimulación de los centros de saciedad del cerebro por la vía vagal-aférente. Los efectos fisiológicos de la CCK son la estimulación de la secreción exocrina del páncreas y la contracción de la vesícula biliar. Estos efectos se dan en parte por la inhibición del vaciamiento gástrico, aumentando la estimulación del mecanoreceptor gástrico. Permiten la regulación de la digestión de nutrientes y del tránsito intestinal con el fin de que se dé una absorción apropiada y no se sobrecargue el sistema digestivo (Desai *et al.* 2016). Así mismo, esta hormona también estimula el centro de la saciedad en el cerebro ya que algunas fibras vagal-aférentes responden de manera sinérgica a la distensión gástrica y a la CCK. Se ha visto *in vitro* que la activación por parte de la CCK de las neuronas sensoriales vagales se ve aumentada por la leptina, y que ambos péptidos funcionan sinérgicamente para aumentar la descarga de las fibras vagal-aférentes potenciando las acciones anoréxicas entre ellas. Por lo que otro rol importante parece ser la regulación del peso corporal en una acción sinérgica con hormonas de acción larga, como la leptina (Cummings y Overduin 2007).

La mayoría de estudios de CCK y apetito han sido llevados a cabo en ratas, principalmente se ha estudiado el efecto de la administración exógena de CCK-8 sintética y pocos estudios han evaluado el efecto de la CCK endógena producida en respuesta al consumo de comida (Gibbons *et al.* 2016). El efecto observado después la administración exógena en diversos organismos es la reducción de la cantidad de alimento ingerido acompañada de un incremento progresivo de frecuencia de la ingesta, incrementando así la saciedad post-prandial pero equiparándose el consumo total de ración diaria. A diferencia del efecto de la CCK exógena, el efecto sobre la saciedad de la CCK endógena producida en respuesta al consumo de comida no es tan claro (Gibbons *et al.* 2016). Esto puede deberse a que en los diferentes organismos estudiados existen distintos tipos de formas bioactivas de CCK, y ya que cada forma bioactiva no tiene la misma actividad biológica (Sayegh *et al.* 2014) solo la evaluación de la CCK-8 no explica el patrón alimentario derivado de la saciedad inducida por CCK.

En ratas, la CCK-58 parece ser la única forma liberada por las células I, y esta forma es también la principal en perros y humanos (Overduin *et al.* 2014). Por lo que las respuestas pancreáticas post-prandiales son más similares a las que se dan en respuesta a CCK-58 (Overduin *et al.* 2014, Washington *et al.* 2011).

2.3. UTILIZACIÓN DE ACEITES VEGETALES PARA INDUCCIÓN DE SACIEDAD

2.3.1. Componentes de los aceites vegetales

El Codex Alimentarius (FAO/OMS 2019) define a los aceites vegetales comestibles como “productos alimenticios constituidos principalmente por glicéridos de ácidos grasos obtenidos de fuentes vegetales, que también pueden contener pequeñas cantidades de otros lípidos (como fosfátidos, constituyentes insaponificables y ácidos grasos libres naturalmente presentes)”. Acorde a esta definición, Graciani (2006) clasifica a los componentes de los aceites en dos grupos: mayoritarios y minoritarios.

Los ácidos grasos son los componentes mayoritarios de los aceites, presentes principalmente en forma de acilglicéridos. Los componentes minoritarios se encuentran en mayor cantidad en aceites no refinados, por ejemplo, en los aceites vírgenes se pueden encontrar isoprenoides (tocoferoles, tocotrienoles, esteroides y terpenos), compuestos fenólicos (fenoles ácidos y flavonoides), pigmentos (clorofilas, carotenoides, betalaínas y flavonoides) y componentes volátiles (compuestos orgánicos saturados, insaturados, aromáticos, hidrocarburos terpénicos, alcoholes, aldehídos, esteroides y éteres). Estos han adquirido una gran importancia desde el punto de vista nutricional pues exhiben potenciales beneficios para la salud (Navas Hernández 2010).

Ácidos grasos como inductores de saciedad

Hace 35 años Saunders y Read (1985) observaron el efecto inhibitorio del aceite de maíz sobre el consumo de alimento en humanos, años después Burton-Freeman *et al.* (1999) demostraron que las grasas tienen este mismo efecto inhibitorio en ratas. Ambos demostraron que la duración del intervalo entre comidas se alarga conforme el porcentaje de energía proveniente de grasas en el alimento se incrementa. Al bloquear el receptor intestinal de CCK (CCK1R) se redujo el intervalo entre comidas a su valor normal y se incrementó el tamaño de comida, demostrando así una relación entre la saciedad inducida por grasas y la hormona CCK endógena (Burton-Freeman *et al.* 1999).

Estudios posteriores han mostrado que la CCK postprandial circulante es un indicador sensible a la cantidad de grasa en la comida, viéndose influenciada por la longitud y el grado de insaturación de los ácidos grasos presentes en la dieta. Se ha determinado que los ácidos grasos de más de 12 carbonos promueven en mayor medida esta secreción por

parte de las células I, tal como fue comprobado *in vitro*, en ratones (Liou *et al.* 2011, Tanaka *et al.* 2008), en ratas (Ooyama *et al.* 2009) y en humanos (Maljaars *et al.* 2009). Por otro lado, se ha visto que la secreción de CCK se ve más estimulada por aceites que contienen altas concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (AGMIs y AGPIs) (Maljaars *et al.* 2009, Pasman *et al.* 2008).

Este efecto de la longitud e insaturación de los ácidos grasos del alimento en la disminución de la saciedad parece ser causado por la manera que son absorbidos en el intestino. En el tracto gastrointestinal proximal los triglicéridos del alimento son hidrolizados a ácidos grasos y monoglicéridos, luego esos ácidos grasos forman micelas que son transportadas a la superficie de los enterocitos. Mientras que los ácidos grasos saturados de cadena media (de menos de 12 carbonos) son transportados rápidamente al hígado por el sistema venoso, los de mayor tamaño permanecen más tiempo en el intestino, donde inducen la secreción de los péptidos hormonales (Maher y Clegg 2021). El mayor efecto sobre la secreción de CCK por parte de los ácidos grasos insaturados podría ser atribuible a su mayor facilidad de formar micelas y estar por ende más disponibles para su detección por parte de los enterocitos, y para su posterior absorción (Maljaars *et al.* 2009).

Componentes minoritarios como inductores de saciedad

Los flavonoides son un grupo de compuestos polifenólicos con una estructura benzo- γ -pirona que se encuentran en plantas. Ensayos *in vitro* en células STC-1 (línea celular de células endocrinas intestinales) han demostrado que la secreción de CCK se ve estimulada por algunos flavonoides como naringenina, hesperetina, quercetina, kaempferol, apigenina y rutina (Al Shukor *et al.* 2016, Kim *et al.* 2013), en ensayos *ex vivo* en tejido intestinal de murinos se ha visto que es estimulada por la epigallocatequina (Song *et al.* 2015) y en tejido intestinal de cerdos por la catequina (Grau-Bové *et al.* 2020).

No solo se ha demostrado que flavonoides puros puedan estimular la secreción de CCK, sino también parece ser que las mezclas de ellos en distintas proporciones tienen diferentes efectos en esta estimulación. Grau-Bové *et al.* (2020) demostraron que el “extracto proantocianidina de semillas de uva” puede duplicar la secreción de CCK en tejido intestinal duodenal de cerdo. Este extracto es una fuente de compuestos flavan-3-ols como monómeros de catequina y epicatequina, y sus respectivos oligómeros. En este

mismo estudio se observó que una mezcla de catequina/epicatequina aumenta la secreción de CCK, pero la epicatequina por sí sola no.

Se ha reportado adicionalmente que los flavonoides aumentan la secreción entero hormonal no solo de CCK, sino también de otras hormonas como la PYY y la GLP-1 tanto *in vitro* como *ex vivo* en tejidos de cerdos y humanos (Grau-Bové *et al.* 2020). Estos efectos son dependientes de la concentración de la sustancia, por lo que se postula que los extractos de plantas ricos en flavonoides podrían tener un efecto *in vivo* en la saciedad.

No se ha observado un efecto similar sobre la CCK en otros componentes minoritarios de los aceites vegetales. Al Shukor *et al.* (2014) demostraron *in vitro* que los fenoles no reducen la ingesta interactuando con la CCK intestinal.

2.3.2. Aceites vegetales

Aceite de linaza

La semilla de linaza (*Linum usitatissimum* L.) es una semilla aceitosa que contiene entre el 38-45 por ciento de aceite, el contenido de ácidos grasos varía según el genotipo, entre tipos, cultivares, y por factores ambientales. El aceite virgen de linaza es considerado una fuente rica de ácidos grasos poli insaturados como el ácido linoleico (14-24 por ciento) y α -linolénico (36-72 por ciento), y en menor medida de mono insaturados como el ácido oleico (7-24 por ciento) (Arias Nuñuvero y Lopez Carranza 2015). También contiene ácidos grasos saturados en menor concentración (menos de 5 por ciento) como el palmítico (4-5 por ciento) y esteárico (2 por ciento), y alrededor de uno por ciento de otros ácidos grasos saturados de cadena corta (López Lucero 2010, Arias Nuñuvero y Lopez Carranza 2015). La parte insaponificable del aceite de linaza está conformada principalmente por esteroides y tocoferoles (0.4-1.4 por ciento de lípidos). Se ha reportado un contenido total de fenoles entre 76.8 - 307.3 mg ácido ferúlico/100g y de flavonoides de 12.7 - 25.6 mg luteolina/100g (Choo *et al.* 2007).

El ácido α -linolénico (18:3) o ALA forma parte de la familia ω -3 de los ácidos grasos, mientras que el ácido linoléico (18:2) o LA forma parte de la familia ω -6. Ambos son ácidos grasos esenciales poliinsaturados con dos funciones principales: conformar la estructura de las membranas y ser precursores de los eicosanoides. Los eicosanoides que se derivan del ácido eicosapentaenoico (EPA), que a su vez se deriva del ALA, inhiben la inflamación; mientras que los que derivan del ácido araquidónico (AA), que deriva del

LA, promueven la inflamación. El LA se encuentra en menor cantidad en el aceite de linaza y cumple además funciones energéticas, de reserva metabólica, y forma parte de la estructura básica de algunas hormonas y sales biliares (Johnsson 2009). El ácido oleico (18:1) es un ácido graso monoinsaturado que forma parte de la familia ω -9 de los ácidos grasos. Su consumo disminuye los niveles de colesterol total, de colesterol LDL y de triglicéridos, mejorando el perfil de ácidos grasos y disminuyendo así el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (Shim *et al.* 2014, Arias Nuñuvero y Lopez Carranza 2015, López Lucero 2010). Además, parece ser que los fitoestrógenos presentes en el aceite, particularmente lignanos, tienen efectos antiinflamatorios (López Lucero 2010, Shim *et al.* 2014).

No se ha reportado el efecto del aceite de linaza sobre la saciedad o sobre la secreción de la CCK *in vivo* ni *in vitro*, pero por su alto contenido de ácidos grasos insaturados, se estima que tiene el potencial de aumentar la saciedad y secreción de la CCK postprandial en ratas.

Fuente de ácidos grasos de cadena media: Aceite de coco

El aceite de coco virgen es extraído a partir del endospermo del coco (*Cocos nucifera* L.). El 90 por ciento del aceite de coco está compuesto por ácidos grasos saturados y el 9 por ciento por ácidos grasos insaturados. Alrededor del 20 por ciento de ácidos grasos son triglicéridos de cadena media (TCM), los cuales están conformados por un glicerol unido a tres ácidos grasos de cadena media de entre 6 y 12 carbonos (Maher y Clegg 2021).

El ácido láurico es el principal tipo ácido graso encontrado (45-52 por ciento), seguido por el mirístico (16-21 por ciento) y palmítico (6-10 por ciento). Los ácidos grasos menores a 12 carbonos que lo componen son el ácido cáprico (5-8 por ciento), ácido caprílico (4-10 por ciento) y ácido caproico (0.5 por ciento). En este aceite se pueden encontrar tres tipos de ácidos grasos insaturados: oléico (5-10 por ciento), linoléico (0.7-2.5 por ciento) y araquídico (0.09 por ciento) (Restrepo *et al.* 2020, Clegg 2017).

El aceite de coco contiene varios compuestos bioactivos, como fenoles, tocoferoles, tocotrienoles, fitoesteroles y flavonoides. Entre los compuestos fenólicos reportados por diversos autores se encuentran el ácido p-Cumárico, el ácido caféico, el ácido ferúlico y el ácido hidrobenczoico (Restrepo *et al.* 2020). Tiene un contenido total de flavonoides de 2.47 mg de catequina/kg, de los cuales un 35 por ciento ha sido identificado como

catequina (Seneviratne y Sudarshana Dissanayake 2008). Otros flavonoides identificados en este aceite son ácido gálico, quercetina, dihidrokaempferol y miricetina 3-glucósido (Illam *et al.* 2017).

Los TCM que conforman este aceite pueden tener efectos anoréxicos por mecanismos no hormonales atribuidos a que provocan un aumento en la oxidación de ácidos grasos en el hígado y la subsecuente elevación de los niveles de ATP hepáticos en ratas. A diferencia de los ácidos grasos de más de 12 carbonos, los TCM se absorben rápidamente luego de la ingestión al ser directamente transportados en el sistema venoso portal hacia el hígado provocando un aumento de energía disponible que lleva a una disminución de la ingesta (Clegg 2017, Maher y Clegg 2021). Sin embargo, cabe resaltar que se ha reportado que solo entre el 20 y 30 por ciento de ácido láurico (C12:0) actúa como TCM durante la digestión y el resto es absorbido en forma de quilomicrones igual que los ácidos grasos de más de 12 carbonos (Clegg 2017). Esto significa que solo entre 20-35 por ciento de los ácidos grasos del aceite de coco podrían actuar como TCM. Aun conociendo los efectos anoréxicos de los TCM, actualmente no hay suficientes estudios para afirmar que el aceite de coco tenga algún impacto en el consumo a largo plazo. Y no existe ninguna investigación que haya encontrado una relación clara entre el consumo de aceite de coco y saciedad.

Bellissimo y Anderson (2003) reportaron que el aceite de coco y el aceite de oliva, un aceite con gran cantidad de AGMIs, disminuyeron en la misma cantidad el consumo de comida total en ratas, con un efecto mayor en el tercer día de tratamiento. Las ratas que consumieron aceite de coco comieron menos que el control hasta las 2 horas posteriores al suministro del aceite, mientras que las que consumieron aceite de oliva comieron menos solo durante la primera hora, en ambos casos disminuyó el consumo a lo largo del día de manera similar. Cuando fue suministrado devazepide, un fuerte inhibidor del receptor de CCK predominante en el sistema digestivo (CCK1R), previo a la administración de aceite de coco aún se vio disminuida la ingesta de comida. Sin embargo, cuando se suministró devazepide antes del aceite de oliva ya no se vio el efecto de este aceite sobre la saciedad. Lo cual indica que el efecto que el aceite de coco pueda tener sobre la saciedad no está relacionado con el control hormonal de la CCK.

En humanos, se ha reportado que el aceite de coco no incrementa la saciedad y no afecta la ingesta de comida comparado con ácidos grasos de más de 12 carbonos (Clegg 2017).

Rizzo *et al.* (2016) observaron que luego de tomar helados compuestos con distintas proporciones de aceite de coco y aceite de girasol la ingesta total se mantuvo igual en todas las proporciones. De manera similar a los resultados de Bellissimo y Anderson (2003) en ratas, en el grupo que consumió mayor cantidad de aceite de coco disminuyó el consumo en la primera comida pero fue compensado luego, mientras que el grupo que consumió mayor cantidad de aceite de girasol consumió más en la primera comida pero menos en la segunda.

La administración del aceite de coco se consideró de utilidad para fines comparativos ya que el efecto que tiene sobre la saciedad, a diferencia del ocasionado por los ácidos grasos insaturados, parece no estar asociado al mecanismo de la CCK por su composición de ácidos grasos. Esta característica permitió obtener un patrón de consumo no inducido por la CCK intestinal.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ANIMALES

Se utilizaron ratas macho de la línea Holtzman de más de dos meses de edad, procedentes del Bioterio de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). Se utilizaron 34 ratas para realizar dos evaluaciones consecutivas:

Para la evaluación del comportamiento alimentario se utilizaron 30 ratas distribuidas en tres tratamientos (peso inicial 229 ± 39 g) y para la evaluación preliminar de la CCK postprandial se utilizaron 34 ratas distribuidas en cinco tratamientos (peso inicial 260 ± 37 g).

Ambas evaluaciones se llevaron a cabo en el Bioterio de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM) en un ambiente controlado y purificado, dentro del cual los animales se mantuvieron en jaulas metálicas individuales ventiladas con agua *ad libitum* (Figura 1). Durante la evaluación del comportamiento alimentario el alimento se brindó cada día luego del tratamiento por 12 horas *ad libitum*, seguidas de 12 horas de ayuno. Durante la evaluación preliminar de la CCK postprandial no se brindó alimento junto al tratamiento.

En todo momento se mantuvo un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas y se mantuvo una temperatura alrededor de 26 °C. Los principios generales de cuidado animal siguieron las disposiciones publicadas por el Instituto Nacional de Salud (INS) en la Resolución Jefatural N°102-2012-J-OPE/INS. Los protocolos de experimentación fueron evaluados y aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con registro N° 007-CE-UDI-FFB-2020.



Figura 1: Jaulas metálicas individuales para ratas.

3.2. DIETA

En la evaluación del comportamiento alimentario se utilizó alimento balanceado para roedores producido por el Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos de la UNALM (PIPS-UNALM). La Energía Metabolizable del alimento fue de 2900 Kcal/kg y su composición se detalla en el Cuadro 1. Para el tratamiento “Linaza” se adicionó aceite de linaza a la dieta, para el tratamiento “Control isocalórico” se adicionó aceite de coco y para el tratamiento “Control” se suplementó agua de mesa. En todos los tratamientos se suplementó 2 g de aceite por kg de peso vivo de rata (g/kg PV).

El día anterior a la evaluación preliminar de la CCK postprandial los animales fueron alimentados con alimento balanceado por 12 horas *ad libitum*, luego de 12 horas de ayuno se inició el estudio. Durante esta evaluación las ratas fueron suplementadas según lo presentado en el Cuadro 2. El aceite de linaza, el aceite de coco y el agua fueron suplementados en 2 g por kg de peso vivo de rata (g/kg PV). En esta evaluación se adicionó a los tres tratamientos anteriores el tratamiento “Control Positivo” que utilizó Ácido α -Linolénico suplementado en 0.25 g/kg PV (920 μ mol/kg PV). Para lograr esta dosis se

administró 2 g/kg PV a cada rata de una emulsión de Ácido α -Linolénico (≥ 99 por ciento Sigma-Aldrich) en agua preparada a una concentración de 409.44 $\mu\text{mol/ml}$.

Cuadro 1: Composición de alimento balanceado

Componente	Contenido (g/100g)
Proteína digestible	17.00
Grasa máxima	6.00
Fibra máxima	4.00
Humedad máxima	14.00
Lisina digestible mínima	0.92
Metionina + Cisteína digestible mínima	0.98
Fósforo disponible mínimo	0.37
Calcio mínimo	0.63

Nota: Adaptado de la información publicada por PIPS-UNALM. Alimento fabricado a base de harina de maíz, torta de soya, harina integral extruída de soya, subproductos de trigo, aceite de palma, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, cloruro de colina 60%, cloruro de sodio, aminoácidos sintéticos, premezcla de vitaminas y minerales, antioxidantes y antifúngicos.

Cuadro 2: Dosificación de suplementos

Grupo	Suplemento
Evaluación del comportamiento alimentario	
Linaza (n=10)	Aceite de Linaza
Control isocalórico (n=10)	Aceite de Coco
Control (n=10)	Agua
Evaluación preliminar de la CCK postprandial	
Linaza (n=10)	Aceite de Linaza
Control isocalórico (n=5)	Aceite de Coco
Control positivo (n=6)	Emulsión Ácido α -Linolénico
Control (n=7)	Agua
Inicial (n=2)	-

3.2.1. Determinación de dosis de suplemento

La dosis de 2g/kg PV de suplemento para cada rata fue equivalente a ~0.5 ml de la sustancia para cada individuo, variando el volumen según el peso de cada animal. Este volumen promedio fue elegido debido a que es una fracción del volumen del estómago lleno de una rata (3.4 ml) e inferior a la dosis máxima posible (10ml/kg) establecida para ratas (McConnell *et al.* 2008). De esta manera el estómago de los animales se llenó parcialmente con aceite, permitiendo que haya espacio para que puedan alimentarse con normalidad.

3.2.2. Determinación de tratamientos

En el tratamiento Control Isocalórico se utilizó aceite de coco como suplemento con el fin de que las ratas de este grupo consumieran la misma cantidad de calorías que las pertenecientes al tratamiento Linaza, pero utilizando un aceite con características diferentes al aceite de linaza (con baja concentración de ácidos grasos insaturados), y con un efecto sobre la saciedad no relacionado con la regulación mediada por la CCK intestinal. De esta manera, se buscó descartar que la saciedad provocada por el tratamiento Linaza sea debida a las calorías aportadas o por la interacción de los componentes del aceite con la CCK.

En el tratamiento Control se suplementó agua en cantidad isovolumétrica al tratamiento Linaza. Se utilizó esta sustancia para descartar que la saciedad fuera provocada por el volumen del suplemento recibido en los tratamientos.

Para la evaluación preliminar de la CCK postprandial, el ácido α -linolénico fue seleccionado para ser el Control Positivo debido a que se ha reportado su efecto *in vitro* de inducción de la secreción de CCK por diversos autores (Liou *et al.* 2011, Pasma *et al.* 2008, Tanaka *et al.* 2008) y además es el ácido graso que está presente en mayor porcentaje en el aceite de linaza. La dosis utilizada fue 9 veces la dosis mínima de reportada, 100 μ mol/kg PV de ácido α -linolénico, con efecto en la secreción de CCK en ratones (Tanaka *et al.* 2008).

3.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES

El aceite de linaza extra virgen fue extraído de las semillas de linaza (*Linum usitatissimum* L.) por prensado en frío, filtrado y envasado por ARSENNA S.A.C. para la marca “Gatti”, y fue adquirido en un distribuidor autorizado de esta marca. El aceite de coco extra virgen fue extraído del coco (*Cocos nucifera* L.) por prensado al frío, filtrado y envasado por NATURALLY DIVINE PERU S.A.C. para la marca “Naturally Divine”, y fue adquirido en la oficina central de la marca.

3.3.1. Análisis de ácidos grasos

La composición de ácidos grasos del aceite de coco fue analizada por el laboratorio AGQ Labs (Lima, Perú) utilizando la técnica de cromatografía de gases acoplada a detector de ionización de llama. Primero se disolvió el aceite en éter dietílico y se decantó el sobrenadante, luego se agregó una disolución metanólica de KOH. El sobrenadante fue inyectado directamente al cromatógrafo GC/FID de Shimadzu QP-2010.

Cuadro 3: Composición de ácidos grasos del aceite de coco virgen.

Ácidos grasos	Concentración relativa (g/100g)
Aráquico (20:0)	0.10±0.03
Cáprico (10:0)	5.87±0.53
Caprílico (8:0)	7.07±0.64
Caproico (6:0)	0.55±0.11
Esteárico (18:0)	3.20±0.64
Láurico (12:0)	50.00±4.50
Linoleico (18:2)	0.91±0.18
Mirístico (14:0)	18.00±1.62
Oleico (18:1)	5.98±1.20
Palmítico (16:0)	8.40±1.68
Saturados totales	93.19
Monoinsaturados totales	5.98
Poliinsaturados totales	0.91

La composición de ácidos grasos del aceite de linaza fue analizada por la Unidad de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH) utilizando la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El

equipo utilizado fue un Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 acoplado a un detector espectrómetro de masa Agilent Technologies 5975C. Primero se disolvieron 100 mg de aceite en 10 ml de pentano y se agregaron 100 μ l de KOH 11.3 por ciento en metanol. El sobrenadante fue inyectado directamente una columna Zebtron 810021zb/7MG-G037-10, 250 °C: 100 m x 250 μ m x 0.2 μ m. El tiempo de corrida total fue de 37.5 La rampa de temperatura empezó en 120 °C por 1 min, subió a 10 °C/min hasta 175 °C por 10 min, luego a 5 °C/min hasta 210 °C por 5 min y finalmente 5 °C/min hasta 230 °C.

Cuadro 4: Composición de ácidos grasos del aceite de linaza virgen.

Ácidos grasos	Concentración relativa (g/100g)
Mirístico (14:0)	0.04±0.00
Palmítico (16:0)	5.55 ± 0.07
Palmitoleico (16:1)	0.07 ± 0.00
Heptadecanoico (17:0)	0.06 ± 0.01
Cis-10-heptadecenoico (17:1)	0.05 ± 0.00
Esteárico (18:0)	4.00 ± 0.07
Oleico (18:1)	18.77 ± 0.10
Cis-11-octadecenoico (18:1)	0.79 ± 0.03
Linoleico (18:2)	13.85 ± 0.06
Cis,cis-9,15-octadecadienoico (18:2)	0.15 ± 0.00
Araquídico (20:0)	0.14 ± 0.02
γ -Linolénico (18:3)	0.20 ± 0.01
α -Linolénico (18:3)	55.88 ± 0.33
Cis-11-Eicosenoico (20:1)	0.23 ± 0.01
Docosanoico (22:0)	0.12 ± 0.01
Tetracosanoico (24:0)	0.09 ± 0.00
Saturados totales	10.00
Monoinsaturados totales	19.91
Poliinsaturados totales	70.08

3.3.2. Análisis de flavonoides y quercetina

La Unidad de Investigación en Productos Naturales de la UPCH realizó la cuantificación de los flavonoides totales en el aceite mediante espectrofotometría y la determinación del contenido de quercetina mediante cromatografía HPLC. Para estos análisis se utilizaron 30 g de cada aceite que fueron disueltos en éter petróleo, luego esta solución fue extraída con MeOH-H₂O (6:4), y posteriormente se eliminó el solvente en un rotavapor. Finalmente, se redisolvió el extracto en metanol y se concentró para utilizarlo en ambas pruebas. Para la cuantificación de flavonoides se preparó una curva de calibración de catequina entre 80 y 50 ppb, y se midió en el espectrofotómetro a 510 nm.

Para la cuantificación de quercetina el extracto concentrado se analizó en una columna Kromasil Eternity XT-1.8-C18 (2.1 x 100 nm) a 30° C. Se utilizó como eluyente A agua con 0.1 por ciento ácido fórmico, y como eluyente B acetonitrilo. La gradiente utilizada para el tiempo 0-10 minutos fue 30 por ciento del eluyente B, para el tiempo 10-20 minutos fue 60 por ciento de eluyente B, para el tiempo 20-25 minutos fue 60 por ciento eluyente B y para el tiempo 25-26 minutos fue 30 por ciento de eluyente B. El límite de detección de quercetina fue de 2 ppm.

Los flavonoides totales obtenidos para aceite de coco fueron 0.045 ± 0.02 mg catequina/g de aceite. Para el aceite de linaza se obtuvieron 0.043 ± 0.01 mg catequina/g de aceite. No se encontró la presencia del flavonoide quercetina en ambos aceites.

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.4.1. Evaluación del comportamiento alimentario

Se dispusieron 30 ratas de manera aleatoria en tres grupos de tratamiento (n=10) denominados “Linaza”, “Control isocalórico” y “Control”, diferenciados por la sustancia de tratamiento suplementada a su dieta.

Adaptación

Las ratas tuvieron una semana de adaptación al ambiente, durante la cual se alojaron en jaulas metálicas individuales, además se les brindó todos los días agua *ad libitum* y alimento balanceado durante 12 horas (de 8am a 8pm). A partir del cuarto día se realizó la adaptación al procedimiento de suplementación para todas las ratas: antes de proporcionarles alimento se administraron oralmente 0.5 ml de agua, utilizando para cada animal una jeringuilla

descartable estéril sin aguja de 1 ml de capacidad. El tercer y sexto día se suplementó “Complejo B Electrolitos” (Biomont) en el agua a una concentración de 25g/L, según recomendación del fabricante.

Ensayo *in vivo*

Tras la semana de adaptación se dio inicio al experimento. Los animales se alojaron en jaulas metálicas individuales durante 6 días con agua *ad libitum* y 25 g de alimento balanceado disponible *ad libitum* durante 12 horas (de 8 am a 8 pm). La administración del tratamiento se realizó de manera oral utilizando una jeringuilla descartable estéril de 1 ml de capacidad para cada rata, y se realizó inmediatamente antes de proporcionarle el alimento. Se administraron 2 g/kg PV según cada tratamiento como se establece en el Cuadro 2.

El consumo se midió diariamente a los 30, 60, 90, 120, 150 y 720 minutos luego de brindarles el alimento, este fue calculado sustrayendo el peso de la comida remanente en el comedero a la cantidad inicial. Para realizar estas mediciones se utilizó una balanza electrónica analítica modelo ACS-03T (DAKOTA). El consumo se expresó en gramos consumidos por cada 100 g de peso vivo (g/100g PV). La cantidad mínima de comida considerada fue de 0.05g (Castonguay *et al.* 1986).



Figura 2: Administración oral del tratamiento.

La data de consumo se representó gráficamente como el “Porcentaje de la Ingesta del Control”. Esto fue calculado en base a la ecuación, modificada de Savastano & Covasa (2007), que calcula este indicador:

$$\%Control = \frac{\text{Consumo del Tratamiento (g/ 100g PV)}}{\text{Consumo del Control (g/ 100g PV)}} \times 100$$

3.4.2. Evaluación preliminar de la CCK postprandial

Para esta prueba, se dispusieron 34 ratas de manera aleatoria en cuatro grupos de tratamiento diferenciados por la sustancia de tratamiento suplementada a su dieta: “Linaza”, “Control isocalórico”, “Control positivo” y “Control”. Se utilizó un grupo adicional denominado “Inicial”, a este grupo no se le suministró tratamiento con el fin de obtener el valor basal de CCK circulante (Cuadro 2). Por razones logísticas solo se ha considerado un animal de experimentación en la mayoría de las determinaciones, y esta cantidad de repeticiones no ameritó la realización de un análisis estadístico. Constituyendo los resultados datos indiciarios para una experimentación posterior.

Adaptación

Se realizó la adaptación al procedimiento de suplementación oral con jeringa descartable estéril sin aguja utilizando 0.5 ml de agua. A los animales se les brindó agua *ad libitum* y alimento balanceado durante 12 horas (de 8am a 8pm).

Ensayo *in vivo*

Tras 12 horas de ayuno se les suministró el tratamiento utilizando una jeringa descartable estéril sin aguja de 1 ml de capacidad para cada rata. Se administraron 2 g/kg PV de suplemento para los tratamientos “Linaza”, “Control isocalórico”, “Control positivo” y “Control”; para el tratamiento “Control positivo” el ácido α -linolénico fue suplementado 0.25 g/kg PV (920 μ mol/kg PV).

Toma de muestras de plasma sanguíneo

A cada individuo se le tomó una muestra de sangre al finalizar un intervalo de tiempo asignado luego de la administración del tratamiento para la cuantificación de la CCK circulante. Los intervalos asignados se muestran en el Cuadro 5. Las ratas fueron sacrificadas antes de la toma de muestras de sangre inyectando a cada animal una dosis letal de ketamina (150mg/kg) y xilacina (10 mg/kg). Luego de comprobar la inconsciencia y la ausencia de dolor del dolor, según los indicadores de falta de reflejo podal y de respiración localizada en la región abdominal, se procedió a la toma de muestra por punción cardiaca. En los tratamientos “Control isocalórico”, “Control” y “Control positivo” se perdieron muestras por manipulación en algunos intervalos asignados de muestreo durante la siguiente etapa del estudio.

Cuadro 5: Número de muestras por cada intervalo de tiempo asignado

Grupo	Tiempo* (minutos)						
	0	90	120	150	180	210	240
Linaza		1	1	1	2	3	2
Control isocalórico		1	1	p	1	p	2
Control positivo		p	1	1	1	2	1
Control		1	1	1	1	p	3
Inicial	2						

*Intervalo de tiempo luego de la suplementación del tratamiento.

p: Intervalos asignados dónde se perdieron muestras para el análisis CCK circulante.

Las muestras de sangre fueron depositadas en tubos Vacutainer™ de 6 ml con anticoagulante EDTA. Posteriormente se centrifugaron durante 10 minutos a 3000 rpm a 4°C en una centrífuga Universal 320R (Hettich), y se separó el sobrenadante para la obtención de plasma. El plasma resultante fue congelado inmediatamente en nitrógeno líquido y luego fue almacenado a -80°C en una ultracongeladora para su posterior análisis.

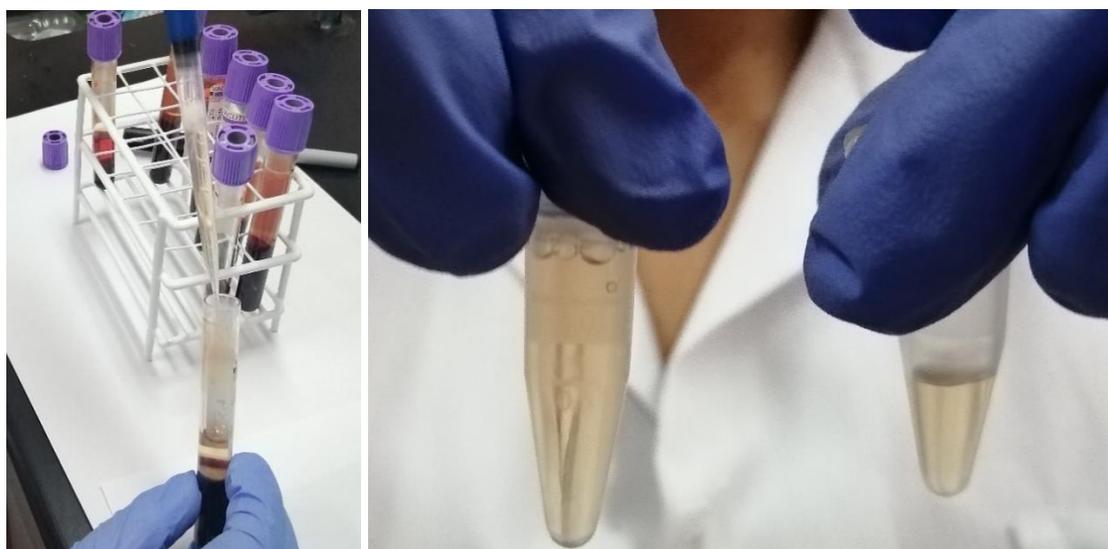


Figura 3: Separación de plasma en muestras de sangre.

Cuantificación de CCK circulante

Se utilizó un inmunoensayo (EIA) para la detección y cuantificación de la CCK circulante, el cual fue realizado en el Laboratorio de Parasitología y Enfermedades Infecciosas de la UPCH. Se utilizó el kit de detección “Cholecystikin (CCK) EIA” con Número de Catálogo RAB0039 (Sigma-Aldrich), este kit tiene una sensibilidad de 0.2 pg/ml y un rango de

detección de 0.1 a 1000 pg/ml. Se siguió el protocolo de elaboración de la curva de calibración y de tratamiento de las muestras recomendado por el fabricante. Las placas se leyeron a 450 nm en la lectora de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices). Se obtuvo la ecuación de cuatro parámetros a partir de la curva de calibración utilizando el *software* Sigma plot.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.5.1. Comportamiento alimentario diario

El consumo de alimento total diario fue analizado mediante una ANOVA con un diseño de bloques completamente al azar (DBCA). Dentro del diseño se utilizó tratamiento (Control, Control isocalórico y Linaza) como factor y el día de medición como bloque. Posteriormente se realizó la prueba Tukey de comparación de pares entre tratamientos. El Modelo lineal Aditivo fue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = observación del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo bloque

μ =media general

τ_i = efecto del i-ésimo tratamiento

β_j =efecto del j-ésimo bloque

ε_{ij} =error experimental

El análisis estadístico fue realizado con el *software* R v.4.0.5. Paquete Statistical Procedures for Agricultural Research v.1.3-5.

3.5.2. Comportamiento alimentario durante el inicio del día

El consumo durante cada período de medición dentro de los 150 minutos postprandiales (0 - 30, 30 - 60, 60 - 90, 90 - 120 y 120 -150 minutos) fue analizado utilizando la prueba de Friedman utilizando tratamiento (Control, Control isocalórico y Linaza) como tratamiento y el día de medición como bloque. Esta prueba no paramétrica fue utilizada debido a que los errores no tuvieron una distribución normal. Posteriormente se realizó la prueba de Fisher (LSD) de comparación de pares entre tratamientos.

El estadístico de la prueba de Friedman (Pereira *et al.* 2015) es:

$$T = \frac{12}{nK(K+1)} \sum_{k=1}^K R_{.k}^2 - 3n(K+1)$$

Dónde:

n=Número de tratamientos

K=número de bloques

$R_{.k} = \sum_{i=1}^n R_{ik}$; R_{ik} es la suma de los rangos para el tratamiento k en los n bloques.

El análisis estadístico fue realizado con el *software* R v.4.0.5. Paquete Statistical Procedures for Agricultural Research v.1.3-5.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO

4.1.1. Comportamiento alimentario diario

La medición de consumo total diario (g/100 g PV) se realizó luego de 12 horas de brindarles el tratamiento y el alimento a las ratas. El análisis ANOVA mostró que existió diferencia entre las medias del consumo total diario de los tratamientos ($p=0.001$) y que el día (bloque) también tuvo un efecto sobre el consumo total diario ($p=0.02$) (**Anexo**). Al realizar la prueba de Tukey *post hoc* entre tratamientos se observó que el consumo total diario del grupo Linaza es menor que el de los otros dos tratamientos, mientras que el consumo de los grupos Control y Control isocalórico es estadísticamente igual (Cuadro 6).

Cuadro 6: Consumo total diario (g/100 g PV) de ratas durante seis días

Día	Control	Isocalórico	Linaza
1	9.42±0.59	8.88±0.48	8.03±0.76
2	8.68±0.54	8.66±0.44	7.93±0.36
3	9.04±0.68	8.58±0.46	7.97±0.46
4	8.09±0.58	8.02±0.33	7.50±0.50
5	8.38±0.41	8.29±0.46	7.20±0.42
6	8.25±0.41	7.51±0.32	6.92±0.49
Promedio	8.64±0.22a	8.32±0.17a	7.59±0.21b

Media±Error Estándar

Letras diferentes en una fila tienen diferencia significativa, Prueba de Tukey ($p<0.05$)

El consumo total diario en todos los tratamientos tiende a descender entre el primer y sexto día de experimentación (Cuadro 6). Esta tendencia de descenso del consumo entre el inicio y final del periodo experimental fue también observada por Alcalá-Bejarano (2014) y por Bellissimo y Anderson (2003), para todos los grupos en ensayos similares donde se evaluaron distintas fuentes de grasa en ratas durante varios días.

Al analizar el consumo total diario como Porcentaje de la Ingesta del Tratamiento Control en cada día (Figura 4) se puede observar que en los tratamientos Control isocalórico y Linaza hay una tendencia en disminuir el consumo respecto al Control, siendo más marcada la disminución durante el sexto día en ambos tratamientos. El tratamiento Linaza presenta la mayor disminución en todos los días evaluados, teniendo el menor valor al sexto día (83.97 por ciento de Control).

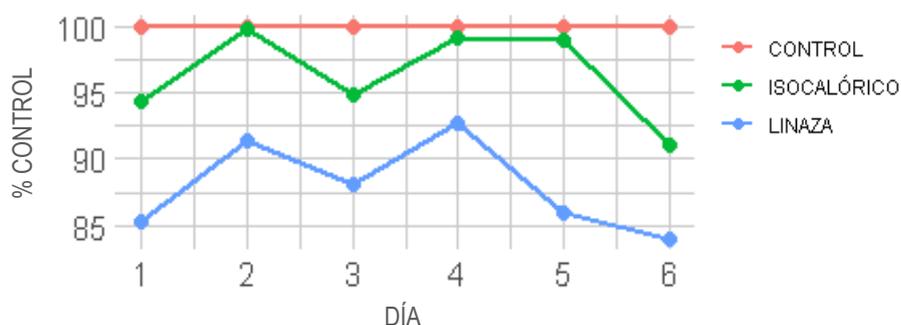


Figura 4: Porcentaje de Ingesta respecto al Control de ratas durante seis días

Influencia de distintas fuentes de grasa en el comportamiento alimentario

El resultado del grupo Control isocalórico va acorde con resultados previos donde se ha visto que el aceite de coco no afecta el consumo de comida diario total (Bellissimo y Anderson 2003, Clegg 2017, Rizzo *et al.* 2016). En cambio, el grupo que consume aceite de linaza sí presenta una disminución estadísticamente significativa del consumo total diario.

Existe un efecto de los días sobre el consumo total diario en todos los grupos de ensayo, que se vio reflejado en la disminución del consumo conforme transcurren los días del experimento. En el grupo Linaza, parece haber una mayor disminución en el consumo en las ratas que ingirieron aceite de linaza en los últimos dos días (Porcentaje de Ingesta respecto al Control).

4.2.2. Comportamiento alimentario durante el inicio del día

Se realizó la medición del consumo (g/100g PV) de las ratas durante los períodos de alimentación entre los 0 - 30, 30 - 60, 60 - 90, 90 - 120 y 120 - 150 minutos posteriores a la introducción del alimento. La prueba de Friedman mostró una diferencia significativa en el consumo en el primer y segundo período ($p < 0.01$); y en el quinto período de alimentación ($p < 0.1$) (Cuadro 7, Anexo II).

Al realizar la prueba de Fisher *post hoc* entre tratamientos (Cuadro 7) se observó que en los dos primeros períodos el consumo del grupo Linaza fue significativamente menor que el del grupo Control ($p < 0.01$), mientras que en el tercer, cuarto y quinto período el consumo del grupo Linaza fue estadísticamente igual al del grupo Control. El consumo del grupo Linaza a pesar de ser igual al del grupo Control en los últimos períodos, tiende en todos a ser menor al del Control. Se pudo observar que el consumo del grupo Linaza es significativamente menor al del grupo Control isocalórico en el segundo y quinto período de tiempo ($p < 0.05$), y tendió a ser menor al del grupo Control isocalórico durante todos los períodos estudiados.

El consumo del grupo Control isocalórico también es inferior al del Control durante los primeros 60 minutos ($p < 0.05$), y en los tres últimos períodos de alimentación el consumo es estadísticamente igual al del Control. El consumo del grupo Control isocalórico tiende a ser mayor que el del Control a partir del tercer período, lo cual podría indicar un consumo compensatorio frente a la disminución de la ingesta durante los 60 minutos iniciales.

Influencia de distintas fuentes de grasa en el comportamiento alimentario

La fuente de grasa tuvo un efecto en el comportamiento alimentario, en las ratas que consumieron aceite de linaza y aceite de coco se dio una disminución de consumo durante los primeros 60 minutos de alimentación. En el grupo Linaza, se ve una tendencia a consumir menos que los otros tratamientos.

Las ratas que consumen aceite de coco tienden a aumentar su consumo respecto a los grupos Control y Linaza a partir del tercer período de alimentación, llegando a consumir significativamente más que las ratas suplementadas con Linaza en el quinto período ($p < 0.05$). Este consumo compensatorio en las ratas que ingirieron aceite de coco se corresponde con lo previamente reportado (Bellissimo y Anderson 2003, Clegg 2017, Rizzo *et al.* 2016).

Cuadro 7: Consumo (g/100 g PV) durante los 150 minutos iniciales de alimentación

Período (min)	Friedman	Control				Isocalórico				Linaza			
		Mdn	Q ₁	Q ₃		Mdn	Q ₁	Q ₃		Mdn	Q ₁	Q ₃	
0 – 30	0.002	2.02	1.72	2.52	a	1.93	1.60	2.20	b	1.96	1.57	2.11	b
30 – 60	0.000	0.70	0.52	0.98	a	0.65	0.38	0.90	b	0.53	0.06	0.93	c
60 – 90	0.303	0.35	0.04	0.61	a	0.40	0.04	0.73	a	0.10	0.00	0.57	a
90 – 120	0.596	0.32	0.03	0.67	a	0.16	0.00	0.76	a	0.13	0.00	0.53	a
120 – 150	0.063	0.04	0.00	0.62	ab	0.15	0.00	0.76	a	0.09	0.00	0.44	b

Mdn, Mediana; Q₁, Primer Cuartil; Q₃, Tercer Cuartil.

Letras diferentes en una fila tienen diferencia significativa, Prueba de Fisher(p<0.05)

4.2. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA CCK POSTPRANDIAL

Se ha reportado en ratas y humanos que el patrón de CCK postprandial es fluctuante, tendiendo a subir y bajar a lo largo del tiempo pero manteniendo una misma tendencia: inicialmente la CCK circulante se eleva rápidamente entre los 10 y 30 minutos postprandiales, para posteriormente permanecer elevado entre 3 y 5 horas luego de comer (Suzuki *et al.* 2005). En este estudio se buscó ver la respuesta de la CCK circulante a partir de los 90 minutos postprandiales.

La Figura 5 muestra la concentración de CCK circulante en ratas en distintos intervalos de tiempo luego de la administración de cada tratamiento. El valor basal de CCK circulante se obtuvo de ratas a las que no se les brindó suplementación alguna luego de 12 horas de ayuno (Tratamiento Inicial). El valor basal de 69.49 pg/ml es similar al valor de ~75 pg/ml obtenido por Alcalá-Bejarano (2014) y Katanyutanon *et al.* (2008) en ratas con peso normal alimentadas con una dieta estándar.

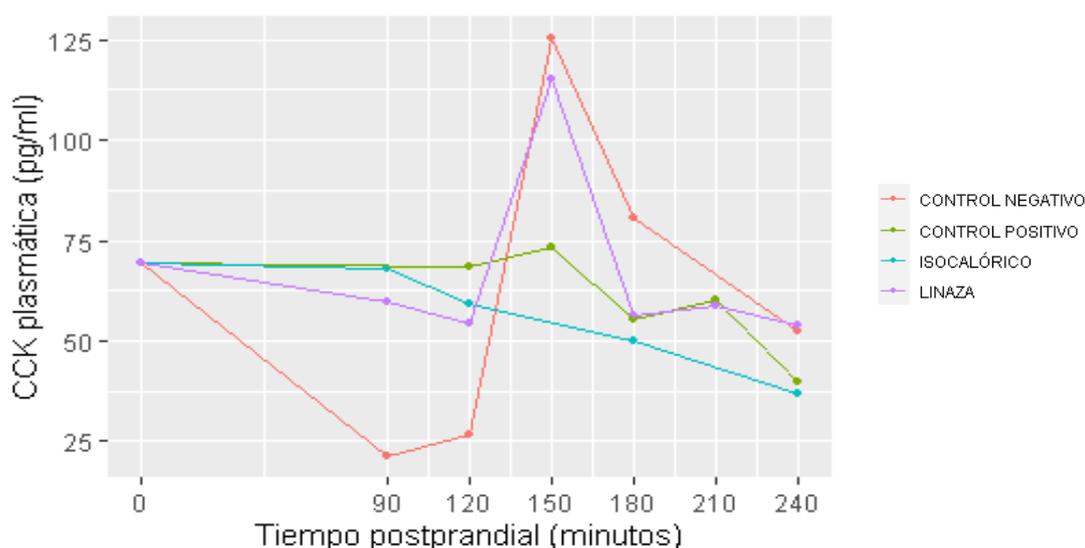


Figura 5: Concentración de CCK plasmática postprandial en ratas suplementadas

Entre los minutos 90 y 150 del periodo postprandial en los tratamientos Control, Control positivo y Linaza se observó una pendiente positiva en la variación de la CCK plasmática, viéndose una tendencia de aumento más marcado en el Control y Linaza. Entre los minutos 180 y 240 se observó una pendiente negativa en la variación de la CCK plasmática en todos los tratamientos. En Control y Linaza se ve un retorno a los valores basales de CCK plasmática, y en Control isocalórico y Control Positivo el valor en el minuto 240 es menor al basal.

Cuadro 8: CCK plasmática (pg/ml) postprandial en ratas suplementadas.

Tiempo* (minutos)	Inicial	Control	C. positivo	C. isocalórico	Linaza
0	69.49 ± 10.65				
90		21.19	-	68.17	59.87
120		26.50	68.56	59.42	54.14
150		125.56	73.30	-	115.15
180		80.44	55.31	49.98	56.22 ± 2.97
210		-	60.15 ± 0.79	-	58.66 ± 7.06
240		52.46 ± 12.89	39.82	36.32 ± 2.36	55.20 ± 8.84

Media±DE

*Intervalo de tiempo luego de la suplementación del tratamiento.

En el tratamiento Control, cuyo suplemento es agua en una cantidad isovolumétrica al de Linaza, el valor de CCK plasmática a los 240 minutos es menor al basal. Esto puede deberse a que las ratas de este grupo han tenido un ayuno más prolongado, Koop *et al.* (1987) y Kanayama & Liddle (1991) reportaron que a más tiempo de ayuno existe una mayor disminución de la CCK plasmática en ratas.

Entre el tiempo inicial y el minuto 240 se puede ver una fluctuación en los valores de CCK, siendo en el minuto 90 el punto mínimo y en el minuto 150 el punto máximo (Cuadro 8). Esta elevación máxima podría ser provocada por haber pasado varias horas (2 horas y media) desde la hora de comida a la que las ratas estaban acostumbradas a comer.

Yuan *et al.* (2014) realizaron un análisis de la variación de CCK en *Schizothorax prenanti* antes y después del horario usual de comida, y reportó que la CCK intestinal empieza a aumentar desde una hora antes de la hora usual de comida y sigue aumentando hasta las tres horas siguientes a pesar de que no se le brinde comida al animal. Es más, en el estudio de Yuan *et al.* (2014) la CCK intestinal fue mayor una hora luego del horario usual de comida en el grupo de animales que fueron mantenidos en ayunas comparativamente a aquellos que sí fueron alimentados en el tiempo correspondiente. El grupo de ratas Control es el único que se mantuvo en ayunas luego de la hora usual de comida, los otros grupos recibieron una sustancia calórica en ese horario, por lo que el valor de CCK plasmática obtenido en el minuto 150 podría ser el reflejo de esta tendencia de aumento de la CCK intestinal durante las primeras horas de ayuno luego del horario al que los animales están acostumbrados a comer. Esto podría explicar por qué la CCK plasmática en este punto de medición es mayor en el Control que en el resto de los tratamientos.

En el tratamiento Control positivo el suplemento utilizado fue una emulsión de ácido α -linolénico en agua que se administró en forma isovolumétrica al de Linaza, logrando una dosis de ácido graso de 0.25 g/kg PV para cada rata (920 $\mu\text{mol/kg PV}$). El ácido α -linolénico fue seleccionado para ser el Control positivo debido a que se ha reportado su efecto *in vitro* de inducción de la secreción de CCK por diversos autores (Liou *et al.* 2011, Pasma *et al.* 2008, Tanaka *et al.* 2008), se ha dilucidado el mecanismo mediante el cual la induce (Tanaka *et al.* 2008) y además es el ácido graso que está presente en mayor porcentaje en el aceite de linaza. La dosis utilizada fue 9 veces la dosis mínima reportada, 100 $\mu\text{mol/kg PV}$ de ácido α -linolénico, con efecto en la secreción de CCK en ratones (Tanaka *et al.* 2008). La cantidad de ácido α -linolénico para cada rata fue un octavo de la dosis (en g/kg PV) de aceite de linaza para cada individuo, por lo que se esperaba que el efecto en la secreción de CCK fuese menor al de los otros tratamientos con aceites. La baja cantidad suplementada a cada animal puede ser una razón para la baja elevación de la CCK plasmática hasta el minuto 150 del período postprandial y la pronta disminución del valor de CCK circulante por debajo de los niveles basales a partir del minuto 180.

El aceite de coco fue utilizado en el tratamiento Control isocalórico por estar compuesto principalmente por ácidos grasos saturados, con un bajo porcentaje de ácidos grasos insaturados que puedan inducir a la secreción de CCK. Este tratamiento parece no tener efecto sobre la secreción de la CCK postprandial, pues se observa que sus valores disminuyen constantemente entre el minuto 0 y el 240 (Figura 5). Previamente se ha reportado que el aceite de coco no interactúa con el receptor CCK1R y debido a su composición, alto porcentaje de TCM y ácidos saturados, tiene una baja inducción de CCK intestinal (Bellissimo y Anderson 2003). En este tratamiento se perdieron dos puntos de medición, por lo que esta tendencia podría ser solo aparente.

En el tratamiento Linaza se puede observar un aumento en la CCK plasmática desde el minuto 0 hasta los 150 minutos postprandiales, siendo el ácido α -linolénico la principal fuente de grasa en el tratamiento (56 por ciento). Un patrón similar de elevación continua hasta los 120 minutos postprandiales ha sido reportado por Alcalá-Bejarano (2014) en ratas que consumen ácido oléico como principal fuente de grasa, donde los niveles de CCK aumentan desde ~ 75 pg/ml (basal) hasta ~ 110 pg/ml (minuto 120). *In vitro*, se ha visto que el ácido oléico causa una secreción similar (145 pg/ml) que el α -linolénico (124 pg/ml) en células STC-1 (Pasma *et al.* 2008). Comparando la evolución a lo largo del tiempo de la CCK plasmática postprandial en ratas cuya fuente principal de grasa es ácido oléico versus

aquellas con ácido α -linolénico, y los resultados *in vitro* de ambas fuentes de grasa, parece ser que el ácido α -linolénico estimula de manera similar la CCK que el ácido oléico.

Las ratas que consumieron aceite de linaza presentan la mayor elevación de la CCK circulante a los 150 minutos. La elevación de la CCK por tiempo prolongado, cuando la supresión de hambre se debilita y el hambre se va rehabilitando, está probablemente relacionada con la gestión del procesamiento de los nutrientes del intestino estimulando efectos fisiológicos (como la secreción exocrina del páncreas y la contracción de la vesícula biliar)(Gibbons *et al.* 2016).

4.3. INFLUENCIA DEL CONSUMO DE ACEITE DE LINAZA EN EL COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO

La suplementación de aceite de linaza disminuyó significativamente el consumo en ratas respecto al Control durante los primeros 60 minutos y respecto al Control isocalórico entre los 30-60 y los 120-150 minutos de alimentación. Las ratas suplementadas con este aceite tendieron a comer menos que los otros tratamientos durante los 150 minutos iniciales de alimentación. La disminución de la ingesta se mantuvo hasta el final del día, ya que las ratas del grupo Linaza tuvieron un consumo total diario significativamente menor a los otros tratamientos. Este efecto saciante del aceite de linaza sobre el consumo total diario pareció verse aumentado conforme los animales consumieron durante más días el aceite de linaza, llegando al menor valor de consumo total diario en el sexto día (porcentaje del Control).

En contraste, el tratamiento Control isocalórico no disminuyó el consumo total diario. Si bien hubo una disminución de consumo durante la primera hora de alimentación, este bajo consumo inicial se vio compensado por una tendencia de aumento del consumo a lo largo del día.

El tratamiento recibido en el grupo Linaza y el Control fue isovolumétrico por lo que el efecto del aceite de linaza sobre la saciedad encontrado en la evaluación del comportamiento alimentario no fue por la distensión gástrica postprandial provocada por el volumen del suplemento. Dado que tanto las ratas del grupo Linaza como las del grupo Control isocalórico consumieron la misma cantidad de calorías y que ambos grupos disminuyeron su consumo respecto al Control de manera similar durante la primera hora de alimentación, esta disminución de consumo inicial podría haber sido causada por la energía aportada por los ácidos grasos suplementados. Sin embargo, el patrón de consumo de ambos tratamientos

varió a lo largo del día, con un mayor consumo de las ratas del grupo Control isocalórico respecto a las del grupo Linaza durante los 30-60, 120-150 minutos iniciales de alimentación y al final del día. A partir de estos resultados, se puede decir que el aceite de linaza estimuló saciedad a mayor largo plazo que el aceite de coco.

Esta diferencia en el consumo sería causada por la composición de los aceites suplementados y la estimulación diferenciada que ejercen sobre la saciedad. La saciedad causada por el aceite de coco es atribuida a la rápida digestión de los TCM que lo conforman, lo que disminuye la ingesta a corto plazo. Mientras que el aceite de linaza contuvo un 90 por ciento de AGMIs y AGPIs, ácidos grasos de más de 12 carbonos a los que se les atribuye la estimulación de la secreción de los péptidos hormonales (Clegg 2017, Maher y Clegg 2021).

En la evaluación preliminar de la CCK postprandial, las ratas que consumieron aceite de linaza en ayunas presentaron un patrón particular de CCK plasmática postprandial. Lo que brindó un indicio de que este aceite podría tener un efecto diferenciado en la CCK circulante. Adicionalmente, el patrón alimentario observado en las ratas que consumieron aceite de linaza fue similar al reportado para la CCK-58, la única forma intestinal de CCK detectada en ratas, con una disminución de la alimentación sin presentar un consumo compensatorio hasta el final día. (Overduin *et al.* 2014). Estos indicios permiten plantear la posibilidad de que el patrón alimentario en el tratamiento Linaza sea debido a que el aceite de linaza estimuló la secreción de CCK endógena al inicio de la alimentación. Asimismo, la inducción de la digestión provocada por la estimulación progresiva de la CCK endógena por parte del aceite de linaza durante los 150 minutos iniciales de alimentación pudo influenciar en el patrón alimentario, sumado a la estimulación de la CCK provocada por el alimento estándar utilizado.

No se puede concluir si los fenoles presentes en el aceite de linaza pueden explicar parte del efecto de este aceite sobre la CCK circulante y el aumento de la saciedad. Tanto el aceite de linaza como el de coco tuvieron una concentración similar de fenoles y no se pudo identificar ninguno de los fenoles con efecto conocido sobre la inducción de CCK en ninguno de los dos aceites. Sin embargo, debe resaltar que el análisis de solo el péptido CCK para explicar el comportamiento alimentario es limitado, y se requiere hacer el análisis de otras hormonas orexigénicas y anorexigénicas para lograr explicar la posible interacción entre el aceite de linaza y el complejo sistema de control de saciedad.

V. CONCLUSIONES

1. El consumo de 2 g/kg PV de aceite de linaza en ratas Holtzman de más de dos meses de edad provocó una disminución de la ingesta en ratas durante los primeros 60 minutos de alimentación y una disminución del consumo total diario.
2. El consumo de 2 g/kg PV de aceite de linaza en ayunas en ratas Holtzman de más de dos meses de edad tendió a provocar un aumento en la CCK plasmática entre el minuto 0 hasta los 150 minutos postprandiales y luego un retorno a los valores basales. El aumento de la saciedad obtenida al consumir aceite de linaza pudo ser debido a la capacidad de este aceite para inducir la CCK endógena por su composición de ácidos grasos, 20 por ciento AGMIs y 70 por ciento por AGPIs.

Escriba el texto aquí

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda probar la suplementación de diferentes dosis de aceite de linaza y observar la respuesta del consumo.
- Se podría realizar un estudio a largo plazo durante varias semanas para analizar el efecto de los días en la disminución del consumo total diario de las ratas del grupo de Linaza.
- Se recomienda evaluar con mayor precisión el efecto del consumo de aceite de linaza sobre la CCK circulante postprandial para una mejor comprensión de sus efectos sobre la CCK endógena, además de evaluar otras hormonas orexigénicas y anorexigénicas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al Shukor, N; Raes, K; Van Camp, J; Smagghe, G. 2014. Analysis of interaction of phenolic compounds with the cholecystokinin signaling pathway to explain effects on reducing food intake. *Peptides* 53:225-231. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.02.006>.

Al Shukor, N; Ravallec, R; Van Camp, J; Raes, K; Smagghe, G. 2016. Flavonoids stimulate cholecystokinin peptide secretion from the enteroendocrine STC-1 cells. *Fitoterapia* 113:128-131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.07.016>.

Alcalá-Bejarano, JM. 2014. Estudio experimental del efecto de ingredientes alimentarios funcionales sobre la ingesta de alimento, peso corporal y utilización digestiva y metabólica e nutrientes. Posible utilización en dietas para sobrepeso y obesidad. Tesis para optar al grado de Doctor. Granada, España, Universidad de Granada. 347 p.

Arias Nuñuvero, JO; Lopez Carranza, NA. 2015. Estabilidad oxidativa y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de lino (*Linum usitatissimum*) procedentes de Corongo y Otuzco, extraído por prensado en frío. (en línea). Para optar por el título de Ingeniero Agroindustrial. Perú, Universidad Nacional del Santa. 212 p. Consultado 6 nov. 2018. Disponible en <http://repositorio.uns.edu.pe/handle/UNS/1987>.

Beglinger, C; Degen, L. 2004. Fat in the intestine as a regulator of appetite—role of CCK. *Physiology & Behavior* 83(4):617-621. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.07.031>.

Bellissimo, N; Anderson, GH. 2003. Cholecystokinin-A Receptors Are Involved in Food Intake Suppression in Rats after Intake of all Fats and Carbohydrates Tested. *The Journal of Nutrition* 133(7):2319-2325. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/133.7.2319>.

Burton-Freeman, B; Gietzen, DW; Schneeman, BO. 1999. Cholecystokinin and serotonin receptors in the regulation of fat-induced satiety in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 276(2):R429-R434. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.276.2.R429>.

Casanova-Martí, À; Serrano, J; Blay, MT; Terra, X; Ardévol, A; Pinent, M. 2017. Acute selective bioactivity of grape seed proanthocyanidins on enteroendocrine secretions in the gastrointestinal tract (en línea). *Food & Nutrition Research* 61(1). DOI: <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1321347>.

Castonguay, TW; Kaiser, LL; Stern, JS. 1986. Meal pattern analysis: artifacts, assumptions and implications. *Brain Research Bulletin* 17(3):439-443. DOI: [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(86\)90252-2](https://doi.org/10.1016/0361-9230(86)90252-2).

Choo, W-S; Birch, J; Dufour, J-P. 2007. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *Journal of Food Composition and Analysis* 20(3-4):202-211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.12.002>.

Clegg, ME. 2017. They say coconut oil can aid weight loss, but can it really? *European Journal of Clinical Nutrition* 71(10):1139-1143. DOI: <https://doi.org/10.1038/ejcn.2017.86>.

Cummings, DE; Overduin, J. 2007. Gastrointestinal regulation of food intake. *Journal of Clinical Investigation* 117(1):13-23. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI30227>.

Desai, AJ; Dong, M; Harikumar, KG; Miller, LJ. 2016. Cholecystokinin-induced satiety, a key gut servomechanism that is affected by the membrane microenvironment of this receptor. *International Journal of Obesity Supplements* 6(S1):S22-S27. DOI: <https://doi.org/10.1038/ijosup.2016.5>.

Dockray, GJ. 2012. Cholecystokinin. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity* 19(1):8-12. DOI: <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e32834eb77d>.

FAO/OMS. 2019. Comisión del Codex Alimentarius: Norma para aceites vegetales especificados. Roma, Italia.

Gibbons, C; Finlayson, G; Caudwell, P; Webb, D-L; Hellström, PM; Näslund, E; Blundell, JE. 2016. Postprandial profiles of CCK after high fat and high carbohydrate meals and the

relationship to satiety in humans. *Peptides (Serie Peptidergic gut-brain mechanisms in hunger and satiety – the Full4Health project)* 77:3-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.09.010>.

Graciani, E. 2006. *Los aceites y grasas: composición y propiedades* (en línea). Primera edición. Madrid, España, Editorial Mundi-Prensa. 316 p. Disponible en <https://books.google.com.gt/books?id=1op2ymH3rR4C>.

Grau-Bové, C; González-Quilen, C; Terra, X; Blay, MT; Beltrán-Debón, R; Jorba-Martín, R; Espina, B; Pinent, M; Ardévol, A. 2020. Effects of Flavanols on Enteroendocrine Secretion. *Biomolecules* 10(6):844. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10060844>.

Illam, SP; Narayanankutty, A; Raghavamenon, AC. 2017. Polyphenols of virgin coconut oil prevent pro-oxidant mediated cell death. *Toxicology Mechanisms and Methods* 27(6):442-450. DOI: <https://doi.org/10.1080/15376516.2017.1320458>.

INEI. 2020. PERÚ: ENFERMEDADES NO TRANSMISIBLES Y TRANSMISIBLES, 2019. Perú. 196 p.

Johnsson, P. 2009. *Bioactive Phytochemicals in Flaxseed*. Tesis para optar al grado de Doctor. Uppsala, Swedish University of Agricultural Sciences. 76 p.

Kanayama, S; Liddle, RA. 1991. Influence of food deprivation on intestinal cholecystokinin and somatostatin. *Gastroenterology* 100(4):909-915. DOI: [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(91\)90263-K](https://doi.org/10.1016/0016-5085(91)90263-K).

Katanyutanon, S; Wu, R; Wang, P. 2008. The Effect of Whole-Body Radiation on Blood Levels of Gastrointestinal Peptides in the Rat. *Radiation Injury* :6.

Kim, HY; Park, M; Kim, K; Lee, YM; Rhyu, MR. 2013. Hesperetin Stimulates Cholecystokinin Secretion in Enteroendocrine STC-1 Cells. *Biomolecules and Therapeutics* 21(2):121-125. DOI: <https://doi.org/10.4062/biomolther.2012.077>.

Koop, I; Kimmich, T; Koop, H; Arnold, R. 1987. Effect of Food Deprivation on the Function of the Intestinal Cholecystokinin-Producing Cell in the Rat. *Digestion* 38(2):114-123. DOI: <https://doi.org/10.1159/000199580>.

Liou, AP; Lu, X; Sei, Y; Zhao, X; Pechhold, S; Carrero, RJ; Raybould, HE; Wank, S. 2011. The G-Protein-Coupled Receptor GPR40 Directly Mediates Long-Chain Fatty Acid-Induced Secretion of Cholecystokinin. *Gastroenterology* 140(3):903-912.e4. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.10.012>.

Liou, AP; Sei, Y; Zhao, X; Feng, J; Lu, X; Thomas, C; Pechhold, S; Raybould, HE; Wank, SA. 2011. The extracellular calcium-sensing receptor is required for cholecystokinin secretion in response to L-phenylalanine in acutely isolated intestinal I cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 300(4):538-546. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00342.2010>.

López Lucero, LC. 2010. Caracterización de distintas variedades de linaza (*Linum usitatissimum* L.) mediante la determinación del contenido de materia grasa y perfil lipídico. Memoria para optar por el título de Ingeniero de Alimentos. Chile, Universidad Austral de Chile. 125 p.

Maher, T; Clegg, ME. 2021. A systematic review and meta-analysis of medium-chain triglycerides effects on acute satiety and food intake. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 61(4):636-648. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1742654>.

Maljaars, J; Romeyn, EA; Haddeman, E; Peters, HP; Masclee, AA. 2009. Effect of fat saturation on satiety, hormone release, and food intake. *The American Journal of Clinical Nutrition* 89(4):1019-1024. DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27335>.

Mars, M; Stafleu, A; de Graaf, C. 2012. Use of satiety peptides in assessing the satiating capacity of foods. *Physiology & Behavior* 105(2):483-488. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.08.033>.

McConnell, EL; Basit, AW; Murdan, S. 2008. Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue, and implications for in-vivo experiments. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 60(1):63-70. DOI: <https://doi.org/10.1211/jpp.60.1.0008>.

Moran, GW; Leslie, FC; Levison, SE; McLaughlin, JT. 2008. Review: Enteroendocrine cells: Neglected players in gastrointestinal disorders? *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 1(1):51-60. DOI: <https://doi.org/10.1177/1756283X08093943>.

Navas Hernández, PB. 2010. Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales. Para optar por el título de doctor. España, Universidad de Castilla La Mancha. 307 p.

Ooyama, K; Kojima, K; Aoyama, T; Takeuchi, H. 2009. Decrease of Food Intake in Rats after Ingestion of Medium-Chain Triacylglycerol. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 55(5):423-427. DOI: <https://doi.org/10.3177/jnsv.55.423>.

Overduin, J; Gibbs, J; Cummings, DE; Reeve, JR. 2014. CCK-58 elicits both satiety and satiation in rats while CCK-8 elicits only satiation. *Peptides* 54:71-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.01.008>.

Pasman, WJ; Heimerikx, J; Rubingh, CM; van den Berg, R; O'Shea, M; Gambelli, L; Hendriks, HF; Einerhand, AW; Scott, C; Keizer, HG; Mennen, LI. 2008. The effect of Korean pine nut oil on in vitro CCK release, on appetite sensations and on gut hormones in post-menopausal overweight women. *Lipids in Health and Disease* 7(1):10. DOI: <https://doi.org/10.1186/1476-511X-7-10>.

Pereira, DG; Afonso, A; Medeiros, FM. 2015. Overview of Friedman's Test and Post-hoc Analysis. *Communications in Statistics - Simulation and Computation* 44(10):2636-2653. DOI: <https://doi.org/10.1080/03610918.2014.931971>.

Rehfeld, JF; Agersnap, M. 2012. Unsulfated cholecystokinin: An overlooked hormone? *Regulatory Peptides* 173(1-3):1-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2011.09.009>.

Restrepo, MC; Zabala, LM; Guiot, L. 2020. Aceite de coco: características nutricionales y posibles aportes a la salud humana. Trabajo de grado para optar el título de Especialista en Alimentación y Nutrición. Antioquía, Colombia, Corporación Universitaria Lasallista. 51 p.

Rizzo, G; Masic, U; Harrold, JA; Norton, JE; Halford, JCG. 2016. Coconut and sunflower oil ratios in ice cream influence subsequent food selection and intake. *Physiology & Behavior* 164(Pt A):40-46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.05.040>.

Saunders, K; Read, NW. 1985. Effect of Ileal and Intravenous Infusions of Fat Emulsions on Feeding and Satiety in Human Volunteers. *Gastroenterology* 89:1293-197.

Savastano, DM; Covasa, M. 2007. Intestinal nutrients elicit satiation through concomitant activation of CCK1 and 5-HT3 receptors. *Physiology & Behavior* 92(3):434-442. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.04.017>.

Sayegh, AI; Washington, MC; Raboin, SJ; Aglan, AH; Reeve, JR. 2014. CCK-58 prolongs the intermeal interval, whereas CCK-8 reduces this interval: Not all forms of cholecystokinin have equal bioactivity. *Peptides* 55:120-125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.02.014>.

Sclafani, A. 2013. Gut–brain nutrient signaling. Appetition vs. satiation. *Appetite* 71:454-458. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.05.024>.

Seneviratne, KN; Sudarshana Dissanayake, DM. 2008. Variation of phenolic content in coconut oil extracted by two conventional methods. *International Journal of Food Science & Technology* 43(4):597-602. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01493.x>.

Shim, YY; Gui, B; Arnison, PG; Wang, Y; Reaney, MJT. 2014. Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review. *Trends in Food Science & Technology* 38(1):5-20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.03.011>.

Song, W-Y; Aihara, Y; Hashimoto, T; Kanazawa, K; Mizuno, M. 2015. (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces secretion of anorexigenic gut hormones. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 57(2):164-169. DOI: <https://doi.org/10.3164/jcbtn.15-50>.

Suzuki, S; Ramos, EJB; Goncalves, CG; Chen, C; Meguid, MM. 2005. Changes in GI hormones and their effect on gastric emptying and transit times after Roux-en-Y gastric bypass in rat model. *Surgery* 138(2):283-290. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2005.05.013>.

Tanaka, T; Katsuma, S; Adachi, T; Koshimizu, T; Hirasawa, A; Tsujimoto, G. 2008. Free fatty acids induce cholecystokinin secretion through GPR120. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 377(4-6):523-527. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00210-007-0200-8>.

Torres Sobenes, B. 2016. Estudio de prefactibilidad para la instalación de una planta de producción de hojuelas de linaza (*Linum usitatissimum*). Trabajo de investigación para optar el título profesional de Ingeniero Industrial. Perú, Universidad de Lima. 135 p.

Villena Chávez, JE. 2017. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en el Perú. Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia 4(63):593-598.

Washington, MC; Coggeshall, J; Sayegh, AI. 2011. Cholecystokinin-33 inhibits meal size and prolongs the subsequent intermeal interval. Peptides 32(5):971-977. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.02.007>.

Woods, SC; May-Zhang, AA; Begg, DP. 2018. How and why do gastrointestinal peptides influence food intake? Physiology & Behavior 193:218-222. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.02.048>.

Yuan, D; Wang, T; Zhou, C; Lin, F; Chen, H; Wu, H; Wei, R; Xin, Z; Li, Z. 2014. Leptin and cholecystokinin in *Schizothorax prenanti*: Molecular cloning, tissue expression, and mRNA expression responses to periprandial changes and fasting. General and Comparative Endocrinology 204:13-24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.05.013>.

VIII. ANEXOS

Anexo I: ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO DIARIO

Consumo (g/100g PV) medio total diario

Tratamiento	Día	Media	SE	% Control
Control	1	9.421	0.5946436	100
Control	2	8.680	0.5346110	100
Control	3	9.037	0.6764105	100
Control	4	8.089	0.5757767	100
Control	5	8.375	0.4076143	100
Control	6	8.248	0.4118166	100
Isocalórico	1	8.884	0.4822222	94.30
Isocalórico	2	8.657	0.4400001	99.75
Isocalórico	3	8.576	0.4660405	94.90
Isocalórico	4	8.017	0.3284443	99.14
Isocalórico	5	8.286	0.4572191	98.94
Isocalórico	6	7.509	0.3215361	91.06
Linaza	1	8.032	0.7587047	85.27
Linaza	2	7.932	0.3577175	91.39
Linaza	3	7.966	0.4609873	88.14
Linaza	4	7.498	0.4940486	92.70
Linaza	5	7.201	0.4239063	85.98
Linaza	6	6.926	0.4950313	83.97

ANOVA

Factor	GL	SC	MC	F	p valor
Bloque: Día	5	32.07642	6.415285	2.751262	0.020
Tratamiento	2	34.69397	17.346984	7.439435	0.001
Residuales	172	401.06290	2.331761	NA	NA

Anexo II: ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO INICIAL

Prueba de Friedman

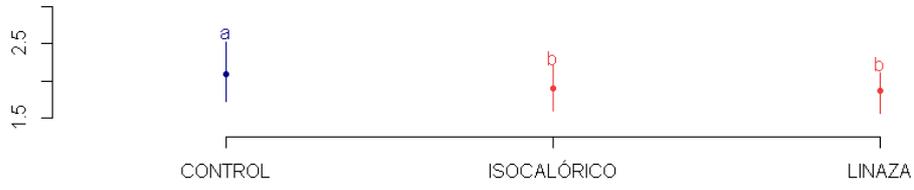
Período (minutos)	χ^2	GL	T	p valor
0 – 30	9.333	2	17.5	0.002
30 – 60	10.333	2	31	0.000
60 – 90	2.333	2	1.20	0.303
90 – 120	1.130	2	0.52	0.596
120 – 150	4.333	2	2.826	0.063

Comparación de Fisher

Comparación	Diferencia	p valor	LCL	UCL
0 – 30 minutos				
Control – Isocalórico	8	0.0012	4.01	11.99
Control – Linaza	10	0.0002	6.01	13.99
Isocalórico - Linaza	2	0.2897	-1.99	5.99
30 – 60 minutos				
Control – Isocalórico	4	0.0179	0.85	7.15
Control – Linaza	11	0.0000	7.85	14.15
Isocalórico - Linaza	7	0.0006	3.85	10.15
60 – 90 minutos				
Control – Isocalórico	-4	0.2674	-11.59	3.59
Control – Linaza	1	0.7751	-6.59	8.59
Isocalórico - Linaza	5	0.1728	-2.59	12.59
90 -120 minutos				
Control – Isocalórico	1.0	0.7831	-6.88	8.88
Control – Linaza	3.5	0.3455	-4.38	11.38
Isocalórico - Linaza	2.5	0.4956	-5.38	10.38
120 – 150 minutos				
Control – Isocalórico	-5	0.1303	-11.76	1.76
Control – Linaza	2	0.5245	-4.76	8.76
Isocalórico - Linaza	7	0.0437	0.24	13.76

0 – 30 minutos

Groups and Interquartile range



30 – 60 minutos

Groups and Interquartile range



60 -90 minutos

Groups and Interquartile range



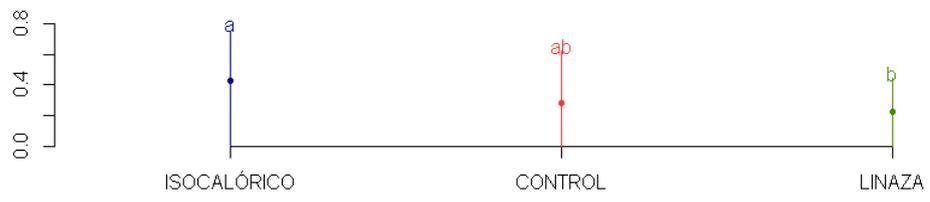
90 - 120 minutos

Groups and Interquartile range



120 – 150 minutos

Groups and Interquartile range



Anexo III: CONSUMO (g/100g PV) MEDIO DURANTE EL INICIO DEL DÍA

Tratamiento	Período	Día	Media	DE
Control	0-30	1	2.295	0.56319027
Control	0-30	2	2.004	0.49112575
Control	0-30	3	2.232	0.5894027
Control	0-30	4	1.978	0.48725544
Control	0-30	5	1.998	0.43580835
Control	0-30	6	2.051	0.36053823
Control	0-30	Prom	2.093	0.4886623
Control	30-60	1	0.749	0.51971053
Control	30-60	2	0.720	0.31173354
Control	30-60	3	0.726	0.34235134
Control	30-60	4	0.738	0.26414632
Control	30-60	5	0.927	0.48205697
Control	30-60	6	0.723	0.38134412
Control	30-60	Prom	0.764	0.3843070
Control	60 -90	1	0.364	0.26949341
Control	60 -90	2	0.241	0.26822249
Control	60 -90	3	0.600	0.36110934
Control	60 -90	4	0.422	0.30088028
Control	60 -90	5	0.217	0.24226019
Control	60 -90	6	0.444	0.37437952
Control	60 -90	Prom	0.381	0.3210970
Control	90-120	1	0.562	0.54639826
Control	90-120	2	0.518	0.45133861
Control	90-120	3	0.298	0.32324043
Control	90-120	4	0.346	0.45252857
Control	90-120	5	0.331	0.38344767
Control	90-120	6	0.363	0.38218813
Control	90-120	Prom	0.403	0.4226081
Control	120-150	1	0.147	0.32853377
Control	120-150	2	0.346	0.3854924
Control	120-150	3	0.207	0.29638764
Control	120-150	4	0.245	0.31348386
Control	120-150	5	0.335	0.39539728
Control	120-150	6	0.423	0.55039474
Control	120-150	Prom	0.284	0.3826141
Isocalórico	0-30	1	2.025	0.34852853
Isocalórico	0-30	2	1.861	0.38132673
Isocalórico	0-30	3	2.080	0.51732206
Isocalórico	0-30	4	1.815	0.36003859
Isocalórico	0-30	5	1.805	0.43671118

Isocalórico	0-30	6	1.794	0.32359777
Isocalórico	0-30	Prom	1.897	0.3992734
Isocalórico	30-60	1	0.931	0.44225307
Isocalórico	30-60	2	0.655	0.41753924
Isocalórico	30-60	3	0.662	0.41866975
Isocalórico	30-60	4	0.624	0.39808427
Isocalórico	30-60	5	0.522	0.32502301
Isocalórico	30-60	6	0.535	0.35690794
Isocalórico	30-60	Prom	0.655	0.4017567
Isocalórico	60 -90	1	0.436	0.31120544
Isocalórico	60 -90	2	0.428	0.42365603
Isocalórico	60 -90	3	0.279	0.32039723
Isocalórico	60 -90	4	0.621	0.41186421
Isocalórico	60 -90	5	0.274	0.2819063
Isocalórico	60 -90	6	0.528	0.51718893
Isocalórico	60 -90	Prom	0.428	0.3904034
Isocalórico	90-120	1	0.316	0.26009386
Isocalórico	90-120	2	0.550	0.38675288
Isocalórico	90-120	3	0.313	0.40565571
Isocalórico	90-120	4	0.346	0.45252857
Isocalórico	90-120	5	0.591	0.59024387
Isocalórico	90-120	6	0.363	0.42695429
Isocalórico	90-120	Prom	0.387	0.4188608
Isocalórico	120-150	1	0.217	0.30397552
Isocalórico	120-150	2	0.419	0.51472646
Isocalórico	120-150	3	0.469	0.59092123
Isocalórico	120-150	4	0.245	0.31348386
Isocalórico	120-150	5	0.561	0.42453767
Isocalórico	120-150	6	0.230	0.35282987
Isocalórico	120-150	Prom	0.425	0.5885100
Linaza	0-30	1	1.900	0.44367167
Linaza	0-30	2	1.876	0.45107772
Linaza	0-30	3	1.815	0.36003859
Linaza	0-30	4	1.803	0.33661876
Linaza	0-30	5	1.895	0.35081644
Linaza	0-30	6	1.779	0.50774985
Linaza	0-30	Prom	1.864	0.4025053
Linaza	30-60	1	0.721	0.64626204
Linaza	30-60	2	0.556	0.47357258
Linaza	30-60	3	1.930	0.38456332
Linaza	30-60	4	0.624	0.39808427
Linaza	30-60	5	0.436	0.42445261
Linaza	30-60	6	0.499	0.49715748

Linaza	30-60	Prom	0.556	0.4709470
Linaza	60 -90	1	0.120	0.18220854
Linaza	60 -90	2	0.415	0.29228015
Linaza	60 -90	3	0.410	0.35367894
Linaza	60 -90	4	0.621	0.41186421
Linaza	60 -90	5	0.302	0.38449976
Linaza	60 -90	6	0.269	0.30112568
Linaza	60 -90	Prom	0.29	0.3272008
Linaza	90-120	1	0.405	0.37482604
Linaza	90-120	2	0.237	0.33944552
Linaza	90-120	3	0.322	0.39205444
Linaza	90-120	4	0.233	0.29170177
Linaza	90-120	5	0.147	0.19601884
Linaza	90-120	6	0.300	0.27231511
Linaza	90-120	Prom	0.274	0.3150744
Linaza	120-150	1	0.239	0.21850263
Linaza	120-150	2	0.237	0.33944552
Linaza	120-150	3	0.186	0.2668001
Linaza	120-150	4	0.149	0.22883506
Linaza	120-150	5	0.336	0.29496524
Linaza	120-150	6	0.196	0.28253623
Linaza	120-150	Prom	0.227	0.2591948

Anexo IV



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

Informe de resultados

Solicitante: Izabó Guillén Valenzuela

Muestra: 2 muestras de aceite vegetal con códigos: "Linaza" y "Sacha inchi".

Análisis: Perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Fecha de entrega de Resultados: 21 febrero 2020

RESULTADOS

En las páginas 2 a 4 del presente informe.

Atentamente,

Dra. Rosario Rojas Durán

Unidad de Investigación en Productos Naturales
LID-Laboratorio 209
e-mail: rosario.rojas@upch.pe
<https://investigacion.cayetano.edu.pe/catalogo/productosnaturales/uipn>
Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 233227

Página 1 de 4

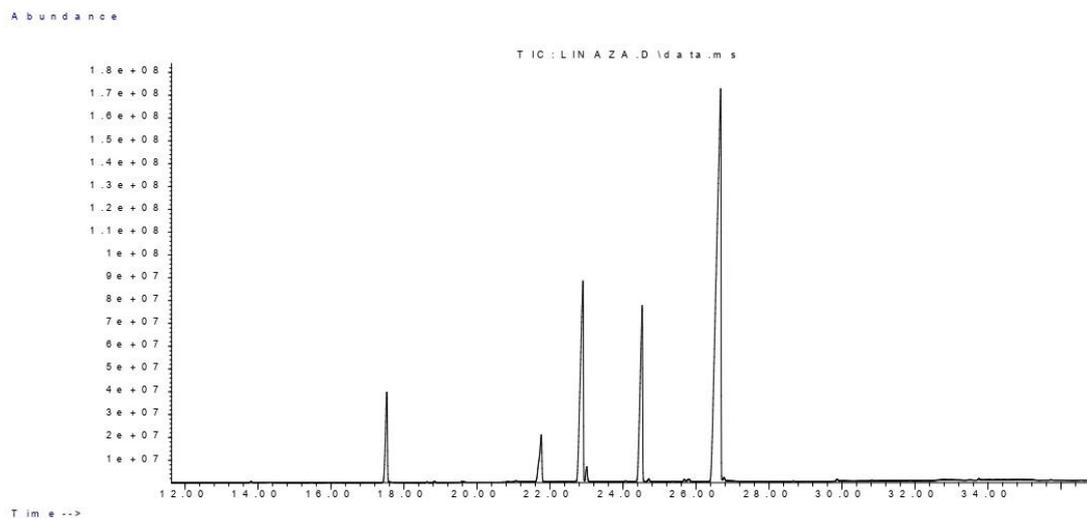
Av. Honorio Delgado 430, Lima 31 / Apartado Postal 4314
Central Telefónica: (511) 319-0000 2402 Secretaría Académica de
Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

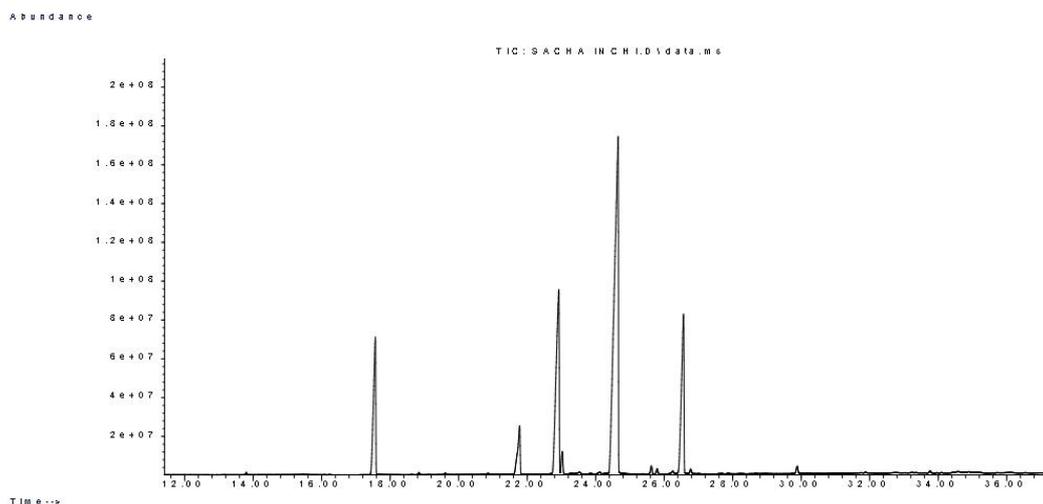
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	Concentración relativa (%)	
		LINAZA	SACHA INCHI
Mirístico (14:0)	13.81	0.04 ± 0.00	0.10 ± 0.00
Palmitico (16:0)	17.55	5.55 ± 0.07	10.89 ± 0.01
Palmitoleico (16:1)	18.84	0.07 ± 0.00	0.11 ± 0.00
Heptadecanoico (C17:0)	19.61	0.06 ± 0.01	0.10 ± 0.00
<i>Cis</i> -10-heptadecenoico (17:1)	20.85	0.05 ± 0.00	0.14 ± 0.02
Esteárico (18:0)	21.77	4.00 ± 0.07	4.36 ± 0.06
Oleico (18:1)	22.92	18.77 ± 0.10	20.30 ± 0.07
<i>Cis</i> -11-octadecenoico (18:1)	23.01	0.79 ± 0.03	1.28 ± 0.02
Linoleico (18:2)	24.52	13.85 ± 0.06	46.91 ± 0.22
<i>Cis,cis</i> -9,15-octadecadienoico (18:2)	24.71	0.15 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Araquídico (20:0)	25.68	0.14 ± 0.02	0.42 ± 0.00
γ-Linolénico (18:3)	25.79	0.20 ± 0.01	0.29 ± 0.00
α-Linolénico (C18:3)	26.58	55.88 ± 0.33	14.25 ± 0.04
<i>Cis</i> -11-Eicosenoico (C20:1)	26.77	0.23 ± 0.01	0.27 ± 0.01
Docosanoico (C22:0)	29.88	0.12 ± 0.01	0.43 ± 0.01
Tetracosanoico (C24:0)	33.78	0.09 ± 0.00	0.14 ± 0.00

ÁCIDO GRASO	Concentración relativa (%)	
	LINAZA	SACHA INCHI
Saturados	10.00	16.44
Monoinsaturados	19.91	22.10
Polinsaturados	70.08	61.45

Cromatograma de gases de Aceite de Linaza



Cromatograma de gases de Aceite de Sacha inchi



Condiciones cromatográficas:

Equipo: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.

Columna: Zebtron 810021zb/7MG-G037-10, 250 °C: 100 m x 250 µm x 0.2 µm

Rampa de temperatura: Empieza en 120 °C por 1 min, sube a 10 °C/min hasta 175 °C por 10 min, luego a 5 °C/min hasta 210 °C por 5 min y finalmente 5 °C/min hasta 230 °C.

Tiempo de corrida: 37.5 min

Inyección: 1 µL

Split: 10: 1

Gas portador: He, 1ml/min

Muestra: 100 mg fue disuelto con 10 mL de pentano y se agregó 100 µL de KOH al 11.2 % en Metanol. Se agitó por 1 minuto y se centrifugó. El sobrenadante fue inyectado directamente al GC-MS.

Anexo V



INFORME DE ENSAYO

Anula y sustituye a la versión anterior : AL-21/017087

Nº de Referencia: AL-21/017087-M1	Registrada en: AGQ Perú	Cliente (^): TORRES MUÑOZ CECILIA VERONICA
Análisis: 00023360-1	Centro Análisis: Alkemi	Domicilio NO INDICA
Tipo Muestra: Aceite de Coco	Fecha Recepción: 29/01/2021	(^):
Fecha Inicio: 25/02/2021	Fecha Fin: 26/02/2021	Contrato: QMT-PE210100690
Descripción(^): Aceite de coco		Cliente 3ª(^) ----

Fecha/Hora 29/01/2021	Muestreado por: Janzen Trujillo
Muestreo:	
Lugar de Muestreo: Lima	
Punto de Muestreo: XXX1_Lima	

A continuación se exponen el Informe de Ensayo y Anexo Técnico asociados a la muestra, en los cuales se pueden consultar toda la información relacionada con los ensayos realizados.

Los Resultados emitidos en este informe, no han sido corregidos con factores de recuperación. Siguiendo el protocolo recogido en nuestro manual de calidad, AGQ guardará bajo condiciones controladas la muestra durante un periodo determinado después de la finalización del análisis. Una vez transcurrido este periodo, la muestra será eliminada. Si desea información adicional o cualquier aclaración, no dude en ponerse en contacto con nosotros.

Covadonga Alonso Alonso
LAB ORGANICO

FECHA EMISIÓN: 10/06/2021

OBSERVACIONES (*):

Anula y sustituye a la versión anterior : AL-21/017087

Nº de Referencia: AL-21/017087-M1	Tipo Muestra: Aceite de Coco
Descripción(^): Aceite de coco	Fecha Fin: 26/02/2021

RESULTADOS ANALITICOS

Parámetro	Resultado	Unidades	Incert
Información Nutricional			
Ác. Grasos Monoinsaturados (Grasa Monoinsaturada)	< 0,05	g/100 g	-
Ác. Grasos Poliinsaturados (Grasa Poliinsaturada)	< 0,05	g/100 g	-
Ác. Grasos Saturados (Grasa Saturada)	< 0,05	g/100 g	-
Acidos Grasos Trans	< 0,05	g/100 g	-
Ácidos Grasos			
Ác. Alfa Linolénico (C18:3n3)	< 0,05	%	-
Ác. Aráquico (C20:0)	0,10	%	-
Ác. Araquidónico (C20:4n5c)	< 0,05	%	-
Ác. Behénico (C22:0)	< 0,05	%	-
Ác. Butírico (C4:0)	< 0,05	%	-
Ác. Cáprico (C10:0)	5,87	%	-
Ác. Caprílico (C8:0)	7,07	%	-
Ác. Caproico (C6:0)	0,55	%	-
Ác. Dihomo-Gammalinolénico (C20:3n8c)	< 0,05	%	-
Ác. Docosadienoico (C22:2n13c)	< 0,05	%	-
Ác. Docosahexaenoico (C22:6n4c) DHA	< 0,05	%	-
Ác. Eicosadienoico (C20:2n11c)	< 0,05	%	-
Ác. Eicosapentaenoico (C20:5n5) EPA	< 0,05	%	-
Ác. Eicosatrienoico (C20:3n11c)	< 0,05	%	-
Ác. Elaídico (C18:1n9t)	< 0,05	%	-
Ác. Erucico (C22:1)	< 0,05	%	-
Ác. Estearico (C18:0)	3,2	%	-
Ác. Gadoleico (C20:1n9c)	< 0,05	%	-
Ác. Gamma Linolénico (C18:3n6)	< 0,05	%	-
Ác. Heneicosanoico (C21:0)	< 0,05	%	-
Ác. Laurico (C12:0)	50	%	-
Ác. Lignocérico (C24:0)	< 0,05	%	-
Ác. Linoleico (C18:2n6c)	0,91	%	-
Ác. Linoleídico (C18:2n6t)	< 0,05	%	-
Ác. Margárico (C17:0)	< 0,05	%	-
Ác. Margaroleico (C17:1)	< 0,05	%	-
Ác. Mirístico (C14:0)	18	%	-
Ác. Miristoleico (C14:1)	< 0,05	%	-
Ác. Nervónico (C24:1)	< 0,05	%	-
Ác. Oleico (C18:1n9c)	5,98	%	-
Ác. Palmiteláídico (C16:1t)	< 0,05	%	-
Ác. Palmítico (C16:0)	8,4	%	-
Ác. Palmitoleico (C16:1c)	< 0,05	%	-
Ác. Pentadecanoico (C15:0)	< 0,05	%	-
Ác. Pentadecenoico (C15:1)	< 0,05	%	-
Ác. Tricosanoico (C23:0)	< 0,05	%	-
Ác. Tridecanoico (C13:0)	< 0,05	%	-
Ác. Undecanoico (C11:0)	< 0,05	%	-

Anula y sustituye a la versión anterior : AL-21/017087

Nº de Referencia: AL-21/017087-M1	Tipo Muestra: Aceite de Coco
Descripción(^): Aceite de coco	Fecha Fin: 26/02/2021

Nota: Los Resultados de este informe solo afectan a la muestra tal como es recibida en el laboratorio. Queda prohibida la reproducción parcial de este informe sin la aprobación por escrito del laboratorio. Las incertidumbres de los parámetros acreditados están calculadas y a disposición del cliente. AGQ no se hace responsable de la información proporcionada por el cliente, asociada a la toma de muestras y a otros datos descriptivos, marcados con (^). A: Ensayo subcontratado y acreditado. N: Ensayo subcontratado y no acreditado. RE: Recuento en placa estimado. La Incertidumbre aplicada al resultado no aplica para valores menores al Límite de Cuantificación (LC).

Anula y sustituye a la versión anterior : AL-21/017087

Nº de Referencia: AL-21/017087-M1	Tipo Muestra: Aceite de Coco
Descripción(^): Aceite de coco	Fecha Fin: 26/02/2021

ANEXO TÉCNICO

Parámetro	PNT	Técnica	Ref. Norma.	Lim Cuantif/ Detec (#)
Información Nutricional				
Ác. Grasos Monoinsaturados (Grasa Monoinsaturada)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 g/100 g
Ác. Grasos Poliinsaturados (Grasa Poliinsaturada)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 g/100 g
Ác. Grasos Saturados (Grasa Saturada)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 g/100 g
Ácidos Grasos Trans	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 g/100 g
Ácidos Grasos				
Ác. Alfa Linolénico (C18:3n3)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Aráquico (C20:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Araquidónico (C20:4n5c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Behénico (C22:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Butírico (C4:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Cáprico (C10:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Caprílico (C8:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Caproico (C6:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Dihomo-Gammalinolénico (C20:3n8c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Docosadienoico (C22:2n13c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Docosaheptaenoico (C22:6n4c) DHA	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Eicosadienoico (C20:2n11c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Eicosapentaenoico (C20:5n5) EPA	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Eicosatrienoico (C20:3n11c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Elaídico (C18:1n9t)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Erucico (C22:1)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Esteárico (C18:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Gadoleico (C20:1n9c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Gamma Linolénico (C18:3n6)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Heneicosanoico (C21:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Laurico (C12:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Lignocérico (C24:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Linoleico (C18:2n6c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Linoleídico (C18:2n6t)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Margárico (C17:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Margaroleico (C17:1)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Mirístico (C14:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Miristoleico (C14:1)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Nervónico (C24:1)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Oleico (C18:1n9c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Palmitealídico (C16:1t)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Palmítico (C16:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Palmitoleico (C16:1c)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Pentadecanoico (C15:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Pentadecenoico (C15:1)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Tricosanoico (C23:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %

(#) El Lim Cuantif es el valor a partir del cual cuantificamos. El Lim Detec es el valor a partir del cual detectamos (aplica a ensayos cualitativos). Para los parámetros de Radioactividad es el AMD

Anula y sustituye a la versión anterior : AL-21/017087

Nº de Referencia: AL-21/017087-M1	Tipo Muestra: Aceite de Coco
Descripción(^): Aceite de coco	Fecha Fin: 26/02/2021

Parámetro	PNT	Técnica	Ref. Norma.	Lim Cuantif/ Detec (#)
Acidos Grasos				
Ác. Tridecanoico (C13:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %
Ác. Undecanoico (C11:0)	AQ-298	Cromat CG FID		0,05 %

(#) El Lim Cuantif es el valor a partir del cual cuantificamos. El Lim Detec es el valor a partir del cual detectamos (aplica a ensayos cualitativos). Para los parámetros de Radioactividad es el AWD

Anula y sustituye a la versión anterior : AL-21/017087

Nº de Referencia: AL-21/017087-M1	Tipo Muestra: Aceite de Coco
Descripción(^): Aceite de coco	Fecha Fin: 26/02/2021

Observaciones (*):

M1: Por petición del cliente se incluye el desglose de ácidos grasos.

Cálculo del desglose de ácidos grasos teniendo en cuenta la grasa como el 100%:

Ácidos grasos saturados (g/100 g de producto):	93.1	(incertidumbre: 9%)
Ácidos grasos monoinsaturados (g/100 g de producto):	6.0	(incertidumbre: 9%)
Ácidos grasos poliinsaturados (g/100 g de producto):	0.9	(incertidumbre: 20%)
Ácidos grasos trans (g/100 g de producto):	0,0	

(*) El Lim Cuantif es el valor a partir del cual cuantificamos. El Lim Detecc es el valor a partir del cual detectamos (aplica a ensayos cualitativos). Para los parámetros de Radioactividad es el AMD

Para % relativos de ácidos grasos ≥ 0.05 y ≤ 0.05 la incertidumbre expandida a aplicar es $\pm 25\%$ del valor informado.

Para % relativos de ácidos grasos ≥ 0.05 y ≤ 5.00 la incertidumbre expandida a aplicar es $\pm 20\%$ del valor informado

Para % relativos de ácidos grasos mayores de 5 % la incertidumbre expandida a aplicar es $\pm 9\%$ del valor informado

Anexo VI



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

Informe de resultados

Solicitante:	UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA (Ing. César Lume)
Muestra:	5 muestras de Aceites vegetales: aceite de sacha Inchi, linaza, maracuyá, aguaje y coco
Análisis:	Servicio de cuantificación de flavonoides totales y quercetina en 05 muestras de aceites vegetales-Convenio de gestión No. 183-2015-FONDECYT
Fecha de entrega de Resultados:	25 noviembre 2020

RESULTADOS

En las páginas 2 a 6 del presente informe.
Atentamente,

Dra. Rosario Rojas Durán

Unidad de Investigación en Productos
Naturales LID-Laboratorio 209
e-mail: rosario.rojas@upch.pe
<https://investigacion.cayetano.edu.pe/catalogo/productosnaturales/uiipn>
Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 233227

Página 1 de 6

Av. Honorio Delgado 430, Lima 31 / Apartado Postal 4314
Central Telefónica: (511) 319-0000 2402 Secretaria Académica de
Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri

INFORME DE RESULTADOS

1. Información de la muestra

Tipo de muestra: Muestras de aceites vegetales de sachá Inchi, linaza, maracuyá, aguaje y coco

Solicitante: Ing. Cesar Lume, Universidad Nacional Agraria La Molina

Ensayos solicitados: Contenido de quercetina mediante cromatografía HPLC y determinación de flavonoides totales por método espectrofotométrico.

Fecha de recepción de muestras: 29 octubre 2020

2. Procedimiento

2.1 Determinación de contenido quercetina mediante cromatografía HPLC

Treinta gramos de aceite fueron disueltos en 50 ml de éter de petróleo. La solución fue extraída con 60x3 mL de MeOH-H₂O (6:4). Las soluciones hidroalcohólicas fueron reunidas y el solvente fue eliminado en un rotavapor. Se redisolvió el extracto en metanol y se lavó con éter de petróleo. El extracto metanólico fue concentrado y se llevó a 5 mL en un fiola. Este extracto fue empleado para los dos tipos de ensayos programados.

Condiciones: Columna: Kromasil Eternity XT-1.8-C18 (2.1 x 100 mm)

Temperatura: 30°C

Eluyente: **A:** H₂O-0.1%HCOOH **B:** ACN → 0-10min:30%B, 10-20 min: 60%B, 20-25:60%B, 25-26min: 30%B

2.2 Determinación de flavonoides totales mediante por espectrofotometría

Se preparó una curva de calibración de catequina entre 80 y 50 ppb. El extracto obtenido en el paso anterior se trató de forma similar y se midió en un espectrofotómetro UV a 510 nm.

3. Resultados

3.1 Determinación del contenido de quercetina mediante cromatografía HPLC

La concentración de quercetina en las muestras analizadas está por debajo del límite de detección del método (2 ppm), lo que no permite confirmar la presencia de quercetina. La concentración según el valor del límite de detección significaría que el contenido de quercetina, en caso la muestra contenga el compuesto, estaría por debajo de los 0.33 mg quercetina/g muestra. Los cromatogramas de algunas muestras (ver Anexo 1) exhiben señales que sugieren la presencia de otros compuestos diferentes de la quercetina, posiblemente otros compuestos fenólicos.

3.2 Determinación del contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides se expresa en mg de catequina por gramo de muestra, tal como se muestra en la siguiente tabla:

Muestra	mg catequina/g de muestra
Aceite de sacha inchi	0.049 ± 0.01
Aceite de linaza	0.043 ± 0.01
Aceite de maracuya	< 0.010
Aceite de aguaje	< 0.010
Aceite de coco	0.045 ± 0.02

Los valores de contenido total de flavonoides sustentan los resultados obtenidos en el análisis de quercetina mediante HPLC. El bajo contenido no permitió cuantificar por encima del límite de detección.

Atentamente,

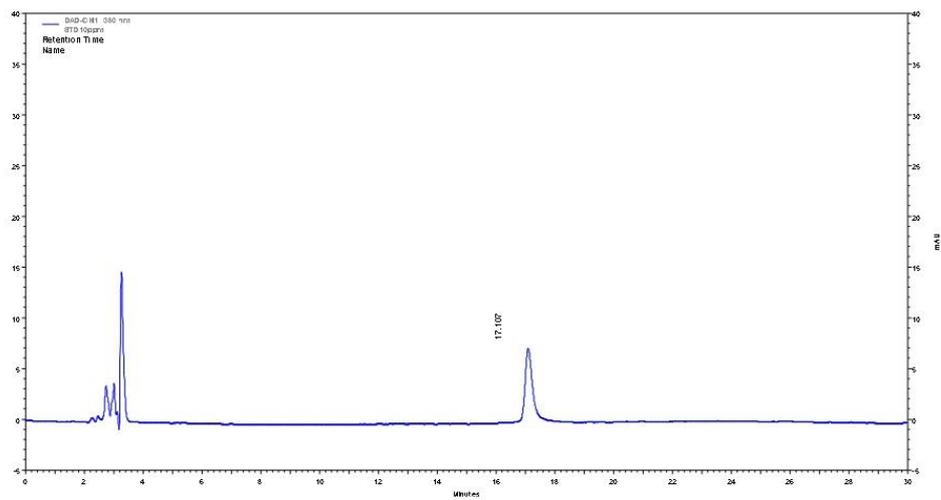


Dra. Rosario Rojas Durán

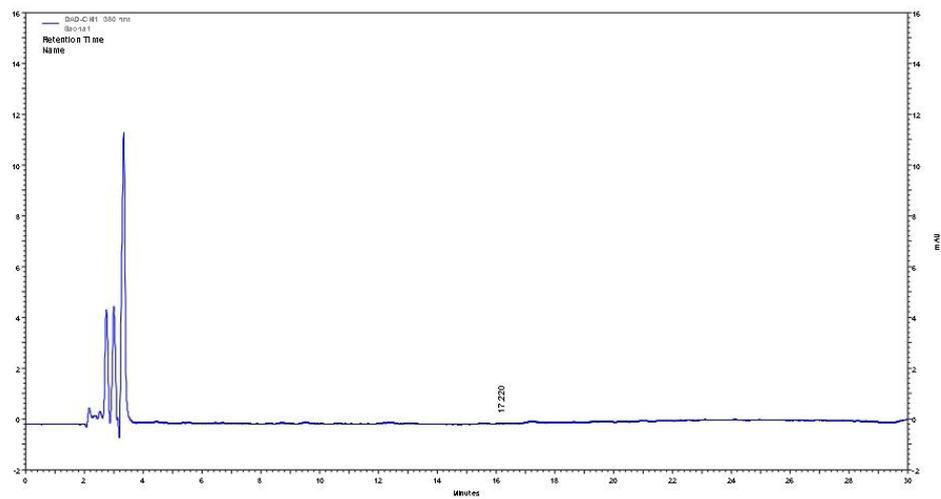
Unidad de Investigación en Productos
Naturales LID-Laboratorio 209
e-mail: rosario.rojas@upch.pe

Anexo 1. Cromatogramas HPLC de aceites vegetales

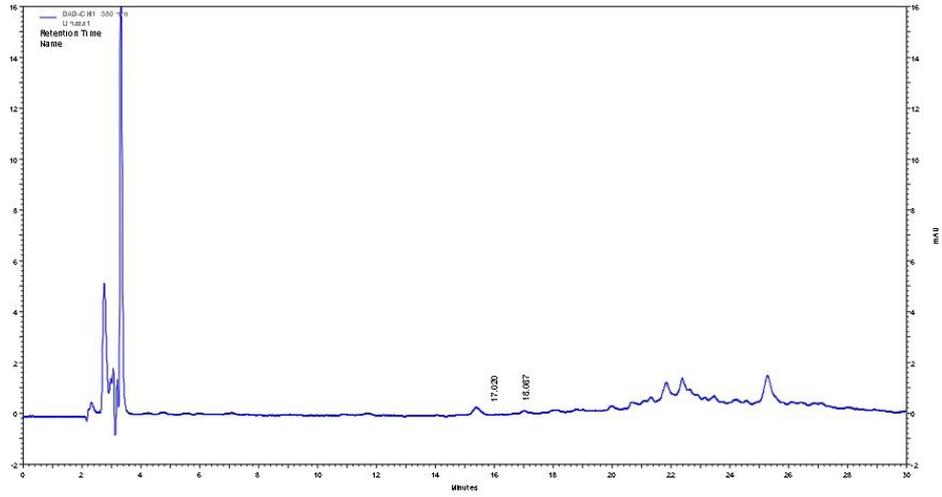
1. Estandar de quercetina (10 ppm)



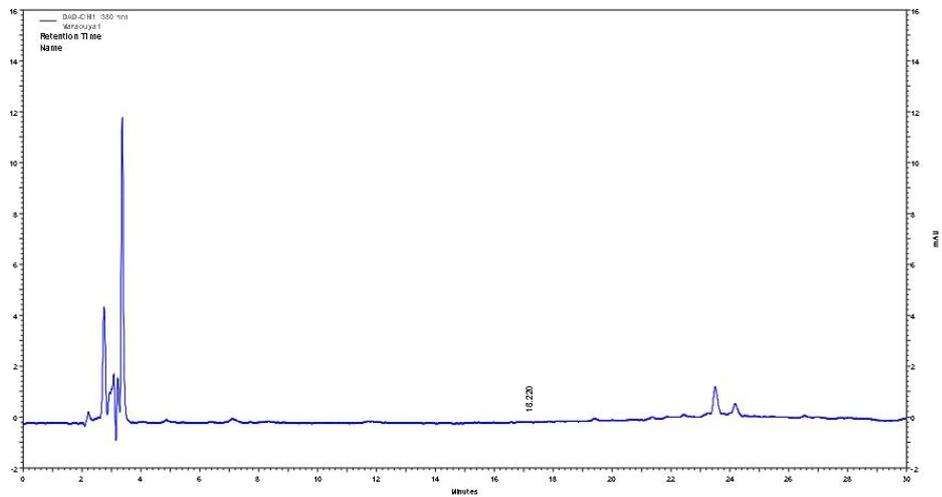
2. Muestra de aceite de Sacha Inchi



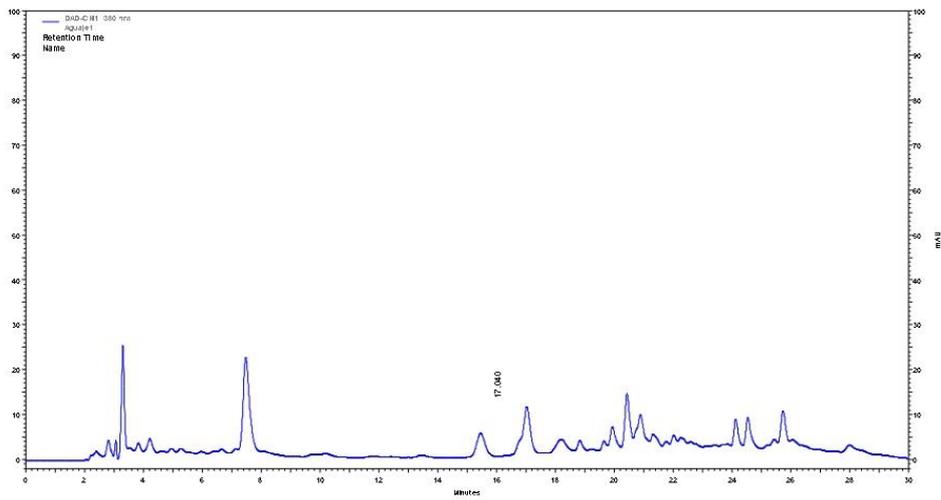
3. Muestra de aceite de linaza



4. Muestra de aceite de Maracuyá



5. Muestra de aceite de aguaje



6. Muestra de aceite de coco

