



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**“INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS RANCIMAT SOBRE LA  
DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA  
DE ACEITE DE SESAMUM INDICUM L. ”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO  
AGROINDUSTRIAL**

**AUTORES**

- . BACH. VILLANUEVA LÓPEZ, EUDES**
- . BACH. CASTILLO BENITES, DARWIN RAFAEL**

**ASESOR:**

**Dr. GILBERT NILO RODRÍGUEZ PAUCAR**

**NUEVO CHIMBOTE - PERÚ**

**2014**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



**HOJA DE CONFORMIDAD DE ASESOR**

El presente trabajo de tesis titulado: “**INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS RANCIMAT SOBRE LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA DE ACEITE DE *SESAMUM INDICUM L.***”. Ha contado con el asesoramiento de quien deja constancia de su aprobación. Por tal motivo, firmo el presente trabajo en calidad de Asesor. Designado por RESOLUCION DECANATURAL N° 500 – 2013 – UNS – FI.

---

**Dr. GILBERT NILO RODRÍGUEZ PAUCAR**  
**ASESOR**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



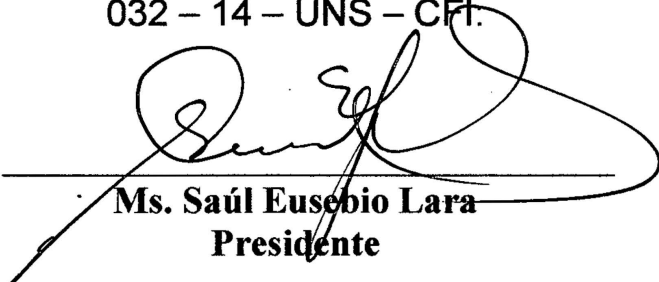
**TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

*“Influencia de los Parámetros Rancimat sobre la Determinación  
del Índice de Estabilidad Oxidativa de Aceite de Sesamum  
Indicum L”*

**TESISTAS**

**Bach. Darwin Rafael Castillo Benites**  
**Bach. Eudes Villanueva López**

Revisado y Aprobado el día 31 de Enero del 2014 por el siguiente  
Jurado Evaluador, designado mediante Resolución Decanatural N°  
032 – 14 – UNS – CFI.

  
**Ms. Saúl Eusebio Lara**  
**Presidente**

  
**Dr. Gilbert Rodríguez Paucar**  
**Secretario**

  
**Ing. Daniel Sánchez Vaca**  
**Integrante**

## DEDICATORIA

*A Dios, que diariamente me da la vida y la fortaleza para seguir adelante en la lucha por un mejor porvenir.*

*A mis queridos padres, Rafael y Alicia que con sus sabios consejos y esfuerzo saben apoyarme en todo momento hasta el final del camino emprendido en mi desarrollo como profesional y persona de bien, y a mi hermana Michelle, Dios los bendiga y los guarde siempre.*

DARWIN

## **AGRADECIMIENTO**

Por medio del presente trabajo, queremos agradecer de forma muy especial a todas y cada una de las personas que colaboraron para la realización de esta Tesis: a nuestros amigos: Silvia H., Jesús Gabriel Diestra B., Edward Aurora V.; por su desinteresado pero gran apoyo en todo nuestro paso por la universidad, a los buenos catedráticos de la E.A.P. de Ingeniería Agroindustrial que nos ayudaron a despertar el lado investigativo que todo buen UNIVERSITARIO debe desarrollar como parte de su vida profesional.

A nuestro asesor Dr. Gilbert Rodríguez Paucar por su asesoramiento científico, estímulo para seguir investigando y creciendo intelectualmente, cuya capacidad ha sido un aporte invaluable.

A los técnicos de esta casa superior de estudios Ing. John Gonzales C. Ing. Lenin Palacios A. y Luis Zapata C. por sus habilidades y criterios compartidos durante la realización de esta investigación.

A nuestra alma mater, Universidad Nacional del Santa, por el apoyo y la oportunidad de prepararnos académicamente y forjar un Chimbote con un futuro óptimo.

Al Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial por darnos la oportunidad de poder realizar toda esta investigación dentro de sus instalaciones y poder desarrollar ciencia.

**LOS AUTORES**

## ÍNDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
I. INTRODUCCIÓN	14
II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	16
2.1. Lípidos	16
2.2. Aceites	16
2.3. Aceites Comestibles de Semillas Oleaginosas	17
2.3.1. Aceite de Sésamo	18
2.3.1.1. Composición Química de la Semilla de Sesamum Indicum L.	20
2.3.1.2. Composición de Ácidos Grasos del Aceite de Semillas de Sesamum Indicum L.	20
2.3.1.3. Comparación de los Tocoferoles y Tocotrienoles en los Aceites de Semillas de Sesamum Indicum L.	21
2.4. Composición de los Aceites Vegetales	21
2.4.1. Componentes Mayoritarios	21
2.4.1.1. Ácidos Grasos	22
A) Ácidos Grasos Saturados	23
B) Ácidos Grasos Monoinsaturados	24
C) Ácidos Grasos Poliinsaturados	24
2.4.2. Componentes Minoritarios	25
2.4.2.1. Isoprenoides	25
A) Isoprenoides Mixtos	25
B) Esteroles	28
C) Terpenos	30
2.4.3. Compuestos Fenólicos	31
2.4.3.1. Flavonoides	32
2.4.3.2. Pigmentos	34
2.4.4. Componentes Volátiles	35
2.5. Propiedades Organolépticas de Aceites Vegetales	36
2.6. Propiedades Antioxidantes de los Componentes Menores de Aceites Vegetales Vírgenes	37
2.7. Aceites Vegetales Vírgenes y Aceites Vegetales Refinados	38
2.8. Extracción de Aceite de Semillas Oleaginosas	39

2.8.1. Extracción Mecánica o por Prensado	40
2.8.2. Extracción con Disolvente	41
2.9. Cinética del Deterioro de los Alimentos y Predicción de la Vida Útil	42
2.9.1. Reacción de Orden Cero	44
2.9.2. Reacción de Primer Orden	45
2.9.3. Efecto de la Temperatura	46
2.10. Cinética del Deterioro de los Aceites de Semillas Oleaginosas	49
2.10.1. Radicales Libres	50
2.10.1.1. Fuente de los Radicales Libres	51
2.10.1.2. Toxicidad de los Radicales Libres	52
2.10.2. Oxidación de Aceites Vegetales Vírgenes	53
2.10.3. Proceso de Oxidación de Lípidos	55
2.10.4. Mecanismos de Oxidación de Lípidos: Tradicional Cadena de los Radicales Libres	56
2.10.4.1. Iniciación ( $LH \rightarrow L^*$ )	57
2.10.4.2. Propagación y Ramificación	58
A) Reacciones Básicas	58
B) Los sitios de la extracción de hidrógeno y $L^*/LOOH$ Formación en ácidos grasos insaturados	64
2.10.4.3. Terminación del Proceso	68
A) Recombinaciones radicales	69
B) Las reacciones de escisión de $LO^*$	71
C) Co-oxidación de las moléculas no lipídicas	75
D) Eliminaciones de grupo	81
2.10.5. Mecanismos de los Antioxidantes	82
2.10.5.1. Mecanismo por transferencia de un hidrógeno (MTP)	83
2.10.5.2. Mecanismo por transferencia simple de un electrón (MTE)	84
2.10.6. Estabilidad Oxidativa	85
2.10.7. Relación empírica entre el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y la Temperatura	86
2.10.8. Relación del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y Energía de Activación de oxidación	87
2.11. Métodos para Determinar el Progreso de la Oxidación y Estabilidad Oxidativa de un Aceite Vegetal	89



2.11.1. Valor del Peróxido (VP)	90
2.11.2. Valor de la Anisidina (AOCS CD 18-90)	90
2.11.3. Absorbancias de Radiaciones en el Ultravioleta (K 232 Y K 270)	91
2.11.4. Método de Oxígeno Activo (AOM)	91
2.11.5. Método Rancimat	92
2.11.6. Ensayo de Almacenamiento a Temperatura Ambiente	92
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>93</b>
3.1. Materiales y Equipos	93
3.1.1. Materia prima	93
3.1.2. Reactivos	93
3.1.3. Materiales de vidrio	93
3.1.4. Otros materiales	93
3.1.5. Equipos	94
3.2. Metodología de Análisis	94
3.2.1. Análisis Físicos y químicos de las semillas y aceite de Sesamum Indicum L.	94
3.2.1.1. Humedad	94
3.2.1.2. Densidad	95
3.2.1.3. Índice de Refracción	95
3.2.1.4. Índice de Acidez - Método Oficial de la AOAC	95
3.2.1.5. Índice de Peróxidos - Método Oficial de la AOAS	96
3.2.1.6. Índice de Estabilidad Oxidativa	98
A) Preparacion de muestra	98
B) Celda Conductimétrica Integrada	98
C) Analisis Rancimat	98
3.2.1.7. Vida Útil	99
3.2.1.8. Energía de Activación	99
3.2.2. Extracción del Aceite Virgen por Prensado en Frio	100
3.2.2.1. Materia prima	100
3.2.2.2. Limpieza	100
3.2.2.3. Pesado	100
3.2.2.4. Prensado	100
3.2.2.5. Centrifugación del Aceite Virgen Extraído	101
3.2.2.6. Almacenamiento del Aceite Clarificado	101

3.2.3. Procedimiento Experimental	102
3.2.4. Diseño Estadístico	103
3.2.5. Análisis Estadístico	103
IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	105
4.1. De los Análisis Fisicoquímicos del aceite de Sesamum Indicum	105
4.2. Comportamiento del Aceite de Sesamum Indicum L. en la Prueba Rancimat	106
4.3. Tendencia de la Estabilidad Oxidativa en Función de la Temperatura y del Flujo de Aire	111
4.4. Determinación de la Vida Útil Mediante Extrapolación del Índice de Estabilidad Oxidativa	112
4.5. Determinación de la Energía de Activación	116
V. CONCLUSIÓN	122
VI.RECOMENDACIONES	123
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	124
VIII.ANEXOS	132

## Índice de Figuras

Figura 1. Semillas de sésamo o ajonjolí.	19
Figura 2. TAG = triacilglicérido.	22
Figura 3. Estructura molecular de un ácido graso.	23
Figura 4. Estructura molecular del ácido oleico.	24
Figura 5. Ácido linoleico y linolénico.	25
Figura 6. Estructura molecular de los tocoferoles. a) $\alpha$ -Tocoferol b) $\beta$ -Tocoferol c) $\gamma$ -Tocoferol d) $\delta$ -Tocoferol.	27
Figura 7. Estructura molecular de los tocotrienoles.	27
Figura 8. Estructura química de algunos fitoesteroles y fitoestanoles. a) Campesterol b) Campestanol c) $\beta$ -Sitosterol d) Sitostanol.	29
Figura 9. Estructura del isopreno.	30
Figura 10. Estructura básica de una molécula de flavonoides.	32
Figura 11. Biosíntesis de flavonoides.	33
Figura 12. Esquema de un proceso típico para la extracción de aceites por prensado.	40
Figura 13. Esquema de un proceso típico para la extracción con disolventes.	41
Figura 14. Oxidación de Lípidos Limitada.	57
Figura 15. Reacción Clásica en cadena de los radicales libres de la oxidación de lípidos como tradicionalmente se entiende.	60
Figura 16. Expansión de la reacción en cadena de la oxidación de lípidos por ramificación de cadena.	61
Figura 17. Hidrólisis Concertada del Enlace de Hidrógeno de los Hidroperóxidos.	63
Figura 18. Reacción de un Radical y un Hidroperóxido.	63
Figura 19. Enlaces de C-H y -CH <sub>2</sub> -.	64
Figura 20. Sistema de Resonancia Estabilizado de Doble Enlace.	65
Figura 21. Distribuciones de electrones de resonancia y ubicaciones correspondientes de hidroperóxidos formados.	66
Figura 22. Extracción de Hidrógeno.	67
Figura 23. Recombinaciones más importantes responsables de los principales productos de la oxidación de lípidos.	69

Figura 24. Reacciones de escisión de LO*.	71
Figura 25. Efectos de oxígeno y la temperatura en los procesos de terminación en la oxidación de lípidos.	72
Figura 26. Escisión que se produce con las mezclas complejas de productos en la oxidación de ácido linolénico y mayores.	74
Figura 27. Vías de escisión para el ácido oleico.	77
Figura 28. Escisión que se produce con las mezclas complejas de productos en la oxidación de ácido oleico.	77
Figura 29. Escisión que se produce con las mezclas complejas de productos en la oxidación con enlaces dobles conjugados.	77
Figura 30. Vías de escisión para el ácido linoleico.	78
Figura 31. Hidrógenos extraíbles de los grupos amino de la cadena lateral.	79
Figura 32. Hidrógenos extraíbles de los grupos tiol.	79
Figura 33. Vías de escisión para el ácido linolénico.	80
Figura 34. Producto desaturado con un doble enlace adicional.	81
Figura 35. Mecanismo por transferencia de un hidrógeno.	83
Figura 36. Mecanismo por transferencia simple de un electrón.	84
Figura 37. Diagrama de flujo del proceso experimental para la determinación del Índice de Estabilidad Oxidativa de Aceite de Sesamum Indicum L.	102
Figura 38. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C y a flujo de aire de: 15, 20 y 25 L/H.	107
Figura 39. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 130°C y a flujo de aire de: 15,20 y 25 L/H.	108
Figura 40. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 150°C y a flujo de aire de: 15,20 y 25 L/H.	109
Figura 41. Gráfico de OSI vs Temperatura - Flujo de aire.	111
Figura 42. Gráficos de regresión lineal logaritmo OSI y Temperatura a) 15L/H, b) 20L/H y c) 25L/H.	113
Figura 43. Gráfico de extrapolación Rancimat para un flujo de 15L/H.	115
Figura 44. Gráficos de extrapolación Rancimat para un flujo de 20L/H.	116
Figura 45. Gráficos de extrapolación Rancimat para un flujo de 25L/H.	117
Figura 46. Gráficos de regresión lineal para el logaritmo del índice de estabilidad oxidativa: a) 15 L/H, b) 20 L/H y c) 25 L/H.	121

## Índice de Cuadros

Cuadro 1. Composición Química de la Semilla de Sesamum Indicum L. en 100 g. de porción comestible.	20
Cuadro 2. La composición de ácidos grasos (g/100g) de aceite de semillas de sésamo.	20
Cuadro 3. La composición de Tocoferoles y Tocotrienoles (g/100g) de aceite de semillas de sésamo.	21
Cuadro 4. Reacciones de pérdida de calidad que siguen cinéticas de orden cero y primer orden.	44
Cuadro 5. Experimento factorial DCA.	103
Cuadro 6. Experimento factorial DCA.	104
Cuadro 7. Análisis Fisicoquímico del Aceite de Sesamum Indicum L.	105
Cuadro 8. Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) de Aceite de Sesamum Indicum L.	106
Cuadro 9. Valores de regresión lineal A y B, sometidos al test Rancimat.	112
Cuadro 10. Valores de extrapolación de OSI a 25°C.	114
Cuadro 11. Análisis de Varianza (ANOVA).	118
Cuadro 12. Determinación de la energía de activación.	119

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar el índice de estabilidad oxidativa (OSI) en aceite virgen de semillas de *Sesamum Indicum L.* (Sésamo), previamente extraído por presión en frío, clarificado por centrifugación y almacenado bajo atmósfera de nitrógeno, y en refrigeración. El OSI se determinó mediante la prueba acelerada de Rancimat, para ello se utilizaron  $3.0 \pm 0.1$  g de muestra, parámetros de temperatura (110, 130 y 150°C) y flujo de aire (15, 20 y 25 L/h). Al aplicar el test de Rancimat, se pudo comprobar mediante el ANOVA ( $p < 0.05$ ) que la influencia de la temperatura en el OSI fue altamente significativa, mientras que el flujo de aire solo fue significativo.

Mediante el método de extrapolación, se calcularon los valores de OSI a temperaturas usuales de almacenamiento de aceites (25°C) obteniéndose tiempos de estabilidad de 214, 242 y 222 días; además la energía de activación de la reacción de oxidación del aceite de sésamo a distintos flujos de aire, es de 97.28, 98.79 y 96.86 kJ/mol para 15, 20 y 25 L/h respectivamente.

## ABSTRACT

The objective of this research was to determine the oxidative stability index (OSI) in virgin oil seed *Sesamum indicum* L. (Sesame) previously extracted by cold pressing, clarified by centrifugation and stored under nitrogen atmosphere and cooling on. The OSI was determined by accelerated Rancimat test, it was used for  $3.0 \pm 0.1$  g of sample temperature parameters (110, 130 and 150 ° C) and air flow (15, 20 and 25 L / h). Applying the Rancimat test, it was found by ANOVA ( $p < 0.05$ ) that the influence of temperature on the OSI was highly significant, whereas the only air flow was significant.

By extrapolation method, values were calculated at usual temperatures OSI oil storage (25 ° C) to give stability times 214, 242 and 222 days, also the activation energy of the oxidation reaction of sesame oil for different air flows, is 97.28, 98.79 and 96.86 kJ / mol for 15, 20 and 25 L / h respectively.

## I. INTRODUCCIÓN

Los aceites vegetales provenientes de semillas son muy susceptibles al deterioro por oxidación debido a que la mayoría de ellos presentan una composición en ácidos grasos insaturados, por lo que su vida útil en anaquel se reduce. La principal causa de oxidación en las semillas es la oxidación enzimática. En las semillas oleaginosas crudas existe una notable cantidad de lipasas activas, cuya misión fisiológica es la digestión de las grasas durante de germinación. **(Frankel N., 1998)**

El aceite de las semillas son utilizadas en la cocina y en aceites para ensaladas y margarinas, este contiene aproximadamente 47% ácido oleico y 39% ácido linoleico. El aceite de sésamo y comidas fritas en aceite de sésamo tienen una vida de estante bastante larga porque este aceite contiene un antioxidante llamado sésamol. **(Suja et al., 2005)**

La determinación de la estabilidad oxidativa de estos aceites vírgenes es de mucha importancia, debido a que la autooxidación es la principal causa de deterioro por rancidez, con la consecuente aparición de olores y sabores desagradables. La evaluación de la estabilidad bajo condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente permite obtener de manera exacta la estabilidad de un aceite; sin embargo, es un procedimiento que requiere de mucho tiempo ya que las reacciones de oxidación pueden tener periodos de inducción muy largos. Por esta razón, se han desarrollado pruebas de oxidación acelerada, siendo el método del Rancimat uno de los más utilizados. **(Navas P, 2010)**

La rancidez oxidativa es sin duda la principal causa del deterioro de aceites y grasas y define la vida de almacenamiento de este tipo de productos. Por lo tanto, la estabilidad (resistencia a la oxidación) viene a ser uno de los factores que más preocupan a los productores, así como también es uno de los principales criterios de calidad en aceites y grasas. Innumerables factores determinan la estabilidad de aceites y grasas, destacando la composición química y las condiciones de procesamiento. **(Barrera D., 1998)**



De acuerdo a lo expuesto, los objetivos de este estudio fueron:

- Determinar el índice de estabilidad oxidativa (OSI) en aceite de semillas de *Sesamum Indicum L.* (Sésamo).
- Evaluar las características fisicoquímicas del aceite de semillas de *Sesamum Indicum L.* (Sésamo).
- Determinar el tiempo de inducción de aceite de *Sesamum Indicum L.* a temperatura de: 110°, 130° y 150°C; y a flujo de aire de: 15, 20 y 25 L/H.
- Calcular los valores de OSI de aceite de *Sesamum Indicum L.* a temperaturas usuales de almacenamiento de aceites (25°C)
- Calcular el error de extrapolación del índice de estabilidad oxidativa de aceite de *Sesamum Indicum L.* a temperaturas usuales de almacenamiento (25°C)
- Determinar la energía de activación ( $E_a$ ) de la reacción de oxidación de aceite de *Sesamum Indicum L.*

## II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

### 2.1. Lípidos

Los lípidos son un grupo de compuestos de estructura heterogénea muy abundantes en la naturaleza, del que las grasas y los aceites son los representantes más importantes. Están formados por carbono, oxígeno e hidrogeno y en ciertos casos también pueden contener fósforo y nitrógeno. Dentro de los compuestos clasificados como lípidos existe una gran variedad de sustancias que presentan poca similitud en su estructura química, pero todas tienen la particularidad de que son solubles en disolventes orgánicos, e insolubles en agua; de hecho, es la misma definición de lípidos: compuestos solubles en éter, cloroformo y otros disolventes no polares, pero insolubles en agua. (**Badui D., 1984**)

### 2.2. Aceites

La distinción genérica que existe entre un aceite y una grasa es que los aceites son líquidos a temperatura ambiente, mientras que las grasas son sólidas. Normalmente los aceites son de origen vegetal (soya, algodón, cacahuate, ajonjolí, etc.) mientras que las grasas son de origen animal (cerdo, oveja, etc.). Las principales fuentes de aceites y grasas son los tejidos animales y las semillas oleaginosas, ya que los frutos y los vegetales contienen en general muy bajas concentraciones. (**Belitz et al., 1997**)

### **2.3. Aceites Comestibles de Semillas Oleaginosas**

El principal uso del aceite en la cocina es la fritura, donde funciona como medio transmisor de calor y aporta sabor y textura a los alimentos. Uno de los requisitos del aceite de cocina es que sea estable en las condiciones verdaderamente extremas de fritura por inmersión, esto es, altas temperaturas y humedad. En general, en la fritura el aceite debe mantenerse a una temperatura máxima de 180 °C. Si se fríen los alimentos a una temperatura demasiado baja, éstos atrapan más grasa. El agua, que es aportada por los alimentos que se fríen en el aceite, aumenta la disociación de los ácidos grasos que se produce durante el calentamiento. La hidrólisis genera un aceite de baja calidad con un punto de humo más bajo, un color más oscuro y un sabor alterado. Durante el calentamiento, los aceites también polimerizan, generando un aceite viscoso que se absorbe fácilmente por los alimentos y que genera un producto grasiento. Cuanto más saturados (sólidos) sean los aceites, más estables son frente a la disociación oxidativa e hidrolítica, y menos fácil es que polimericen. (FAO, 1997)

Los aceites ricos en ácido linolénico, como el de soja y el de canola, son particularmente susceptibles de sufrir estos cambios indeseables. Cuando el aceite de soja se hidrogena parcialmente a fin de reducir el ácido linolénico desde aproximadamente un 8 por ciento hasta valores inferiores al 3 por ciento, se genera un aceite de freír relativamente estable, que se utiliza en alimentos fritos elaborados, frituras en sartén y a la parrilla, y en salsas. La estabilidad puede aumentarse utilizando aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de palma o palmoleína, o con un aceite de soja más hidrogenado. (FAO, 1997)

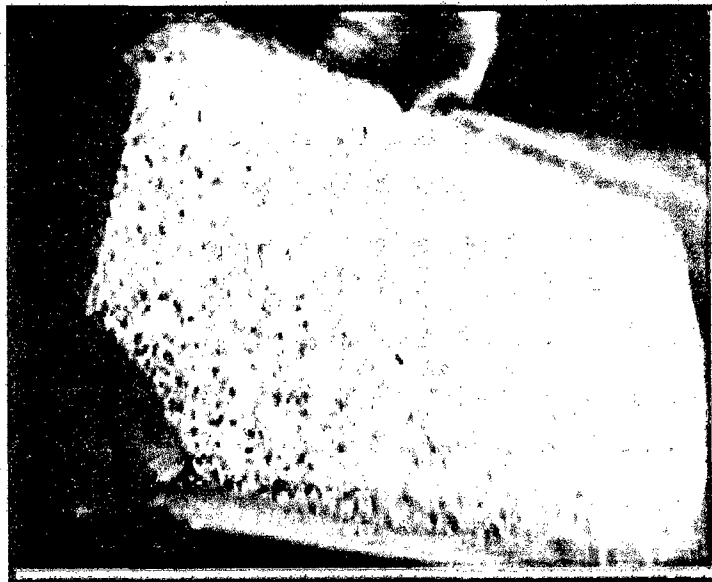
Los alimentos que se frien y almacenan antes de comerlos, como por ejemplo los aperitivos, requieren un aceite aún más estable. Los aceites más saturados mejoran la estabilidad, pero si la grasa de freír es sólida a temperatura ambiente se generará una desagradable superficie dura, indeseable en algunos productos fritos. Cuando los aceites se usan continuamente, como en los restaurantes, se necesita una grasa de freír que sea muy resistente. En estos casos se emplean mantecas más sólidas que maximicen la estabilidad de la grasa durante muchas horas de fritura. Los aceites de fritura obtenidos a partir del girasol y de cártamo presentan menor estabilidad dado su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados y su bajo contenido de  $\beta$ -tocoferol; sin embargo, los aceites de cártamo y de girasol de plantas mejoradas genéticamente, con un alto contenido de ácido oleico, son aceites adecuados para freír. (FAO, 1997)

### **2.3.1. Aceite de Sésamo**

El consumo de aceite de sésamo es promovido por el beneficio que representa para la salud el elevado contenido en ácido oleico (MUFA) baja cantidades en grasas saturadas (SFA) además de la presencia de componentes bioactivos como tocoferoles y fitoesteroles y otros fotoquímicos considerados como alimentos nutraceuticos, de gran interés hoy en día en la búsqueda de alternativas para mantener una buena salud y prevenir enfermedades a través de una dieta saludable. (Fregapane G., 2013)

Las semillas de sésamo (Figura 1), constituyen los granos oleaginosos más antiguos del mundo cultivados por el hombre, dependiendo de la región de producción recibe distintos nombres, así por ejemplo en la China, México y Centro América es conocido como sésamo, mientras que en algunos países de Sur América como ajonjolí. (Fregapane G., 2013)

Es una planta de ciclo corto, con un período vegetativo de 3 a 4 meses, es erecta de crecimiento anual, que puede alcanzar hasta 2 m. de altura, sus hojas son enteras, opuestas, de 8 a 10 cm. de largo, oblongas o lanceoladas, tanto tallos como hojas presentan vellosidades mucilaginosas que le dan una sensación fangosa o húmeda, aunque según la variedad pueden existir tallos y hojas glabros. Las flores son blancas o ligeramente lila, de forma de campana de 2 a 4 cm de longitud. El fruto es una capsula que posee cuatro celdas donde se encuentran las semillas, la longitud de los frutos es de hasta 8 cm y su grosor puede llegar a 1 cm. Las semillas son pequeñas de 2 a 4 mm de longitud, de color variable entre el blanco cremoso y el negro, con un contenido elevado de proteína, además de ser rico en metionina, un aminoácido esencial y un elevado porcentaje de grasa con un contenido equivalente a la mitad del peso de la semilla. (López, 2003)



**Figura 1.** Semillas de sésamo o ajonjolí.

### 2.3.1.1. Composición Química de la Semilla de Sesamum Indicum L.

**Cuadro 1.** Composición Química de la Semilla de Sesamum Indicum L. en 100 g. de porción comestible.

Componentes	Cantidad	Unidades
Calorías	520.4	Kcal.
Carbohidratos	23.5	g.
Proteínas	17.7	g.
Grasas	52	g.
Fibra	49.7	g.
Calcio	1.1	mg.
Fosforo	2.7	mg.
Hierro	10.4	mg.

Fuente: Mydearbody C., 1990 citado por Gómez L. et al., 2012

### 2.3.1.2. Composición de Ácidos Grasos del Aceite de Semillas de Sesamum Indicum L.

**Cuadro 2.** La composición de ácidos grasos (g/100g) de aceite de semillas de sésamo.

Componentes	Cantidad	Unidades
C <sub>14:0</sub>	0.12 ± 0.01	g.
C <sub>16:0</sub>	9.51 ± 0.21	g.
C <sub>18:0</sub>	5.54 ± 0.14	g.
C <sub>18:1</sub>	38.42 ± 0.48	g.
C <sub>18:2</sub>	44.78 ± 0.85	g.
C <sub>18:3</sub>	0.85 ± 0.03	g.
C <sub>20:0</sub>	0.41 ± 0.02	g.
C <sub>22:0</sub>	0.23 ± 0.02	g.

Fuente: Latif S. et al., 2010

### 2.3.1.3. Comparación de los Tocoferoles y Tocotrienoles en los Aceites de Semillas de Sesamum Indicum L.

**Cuadro 3.** La composición de Tocoferoles y Tocotrienoles (g/100g) de aceite de semillas de sésamo.

Compuesto	Cantidad	Unidades
$\alpha$ -tocoferol	2698.35 $\pm$ 0.8	mg.Kg <sup>-1</sup>
$\gamma$ -tocoferol	6297.38 $\pm$ 1.2	mg.Kg <sup>-1</sup>
$\gamma$ -tocotrienol	429.52 $\pm$ 0.4	mg.Kg <sup>-1</sup>
Total	66102.25	mg.Kg <sup>-1</sup>

Fuente: Fregapane G. et al., 2013

## 2.4. Composición de los Aceites Vegetales

Los componentes de las grasas y aceites se clasifican en mayoritarios y minoritarios. Entre los primeros se encuentran los acilglicerol, exclusivamente, y todos los restantes podrían agruparse en el segundo grupo. (Graciani E., 2006)

### 2.4.1. Componentes Mayoritarios

Los acilglicéridos o acilglicerol son ésteres de ácidos grasos con glicerol, formados mediante una reacción de condensación llamada esterificación. Una molécula de glicerol (glicerina) puede reaccionar con hasta tres moléculas de ácidos grasos, puesto que tiene tres grupos hidroxilo. (Navas P., 2010)

Las cadenas carbonadas de los ácidos que reaccionan con el glicerol, pueden ser saturados o insaturados. Si son saturadas, no hay ningún doble enlace carbono-carbono, y se dice que está "saturada". (Navas P., 2010)

Según el número de ácidos grasos que se unan a la molécula de glicerina, existen tres tipos de acilgliceroles (Navas P., 2010):

- **Monoacilglicéridos.** Sólo existe un ácido graso unido a la molécula de glicerina y son los precursores de los siguientes.
- **Diacilglicéridos.** La molécula de glicerina se une a dos ácidos grasos; son los precursores de los triglicéridos.
- **Triacilglicéridos.** También se llaman triglicéridos, puesto que la glicerina está unida a tres ácidos grasos (figura 2). Su principal función es la reserva energética. Existen una gran variedad de ácidos grasos y, en consecuencia, de triglicéridos.

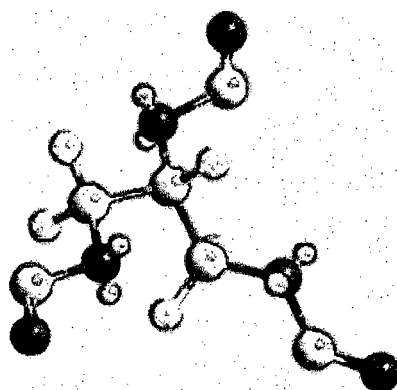


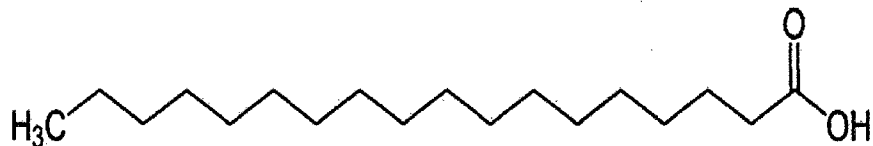
Figura 2. TAG = triacilglicérido. (Navas P., 2010)

#### 2.4.1.1. Ácidos Grasos

Los ácidos grasos son los componentes más importantes de los aceites y las grasas, son moléculas lineales, químicamente formadas por una larga cadena de átomos de carbono y de hidrógeno y en un extremo un grupo carboxilo (figura 3). Generalmente, suelen tener un número par de átomos de carbono pero existen ácidos grasos con número impar, el ácido margárico de 17 átomos de carbonos es uno de ellos. (Graciani, 2006)



Cada átomo de carbono se une al siguiente y al precedente por medio de un enlace covalente sencillo o doble. Su fórmula química es  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ , (n indica la cantidad de átomos de carbono que forman la cadena hidrocarbonada). Los ácidos grasos difieren entre sí por su longitud y por el número y posiciones de enlaces doble entre carbonos consecutivos ( $\text{C}=\text{C}$ ). Esto permite clasificarlos en saturado, monoinsaturados y poliinsaturados. (Navas P., 2010)



**Figura 3.** Estructura molecular de un ácido graso. (Navas P., 2010)

#### **A) Ácidos Grasos Saturados**

Los ácidos grasos saturados poseen un enlace simple entre cada par de átomos de carbonos ( $\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}$ ), y todos los átomos de carbono (menos el terminal) están unidos a dos átomos de hidrógeno, es decir, que están "saturados" de hidrógeno. Son ejemplos el esteárico, butírico, palmítico, entre otros. Están presentes en las grasas animales, y en aceites vegetales de cacao, palma, coco y otros. (Navas P., 2010)

Dentro de éstos ácidos grasos se pueden agrupar en (Navas P., 2010):

##### **Ácidos grasos de cadena corta (volátiles):**

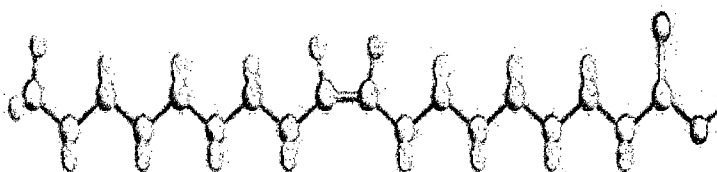
- Ácido butírico (ácido butanoico)
- Ácido isobutírico (ácido 2-metilpropiónico)
- Ácido valérico (ácido pentanoico)
- Ácido isovalérico (ácido 3-metilbutanoico)

### Ácidos grasos de cadena larga:

- Ácido mirístico, 14:0 (ácido tetradecanoico)
- Ácido palmítico, 16:0 (ácido hexadecanoico)
- Ácido esteárico, 18:0 (ácido octadecanoico)

### B) Ácidos Grasos Monoinsaturados

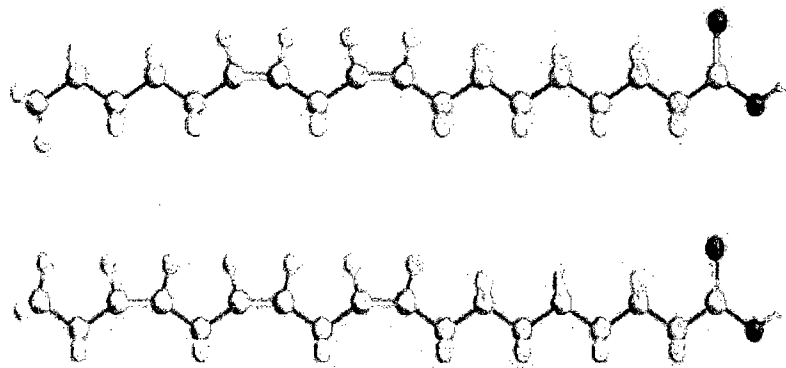
Los ácidos grasos monoinsaturados son aquellos ácidos grasos de cadena carbonada par que poseen una sola insaturación en su estructura, es decir, poseen un solo doble enlace carbono-carbono ( $-\text{CH}=\text{CH}-$ ). Un ejemplo de este tipo de ácidos es el ácido oleico (figura 4) presente en casi todas las grasas naturales, llamado comúnmente omega 9. (Navas P., 2010)



**Figura 4.** Estructura molecular del ácido oleico. (Navas P., 2010)

### C) Ácidos Grasos Poliinsaturados

Los ácidos grasos poliinsaturados (polyunsaturated fatty acids, PUFA), poseen un grupo polar carboxilo unido a una cadena hidrocarbonada de 16 a 20 carbonos con doble enlaces en dos o más pares de carbonos ( $\text{C}=\text{C}$ ). Al ser "insaturados" son capaces de fijar más hidrógeno. Los ácidos grasos octadecanoídeos (18 carbonos) como el ácido linoleico y el  $\alpha$ -linolénico son los miembros básicos de los PUFA de la serie n-3 y n-6, respectivamente (figura 5). (Navas P., 2010)



**Figura 5.** Ácido linoleico y linolénico. (Navas P., 2010)

#### **2.4.2. Componentes Minoritarios**

Un aceite virgen conserva una serie de componentes minoritarios, de gran beneficio para la salud por su actividad antioxidante como son los polifenoles, tocoferoles y los fitoesteroles. (Fernández et al., 2007)

##### **2.4.2.1. Isoprenoides**

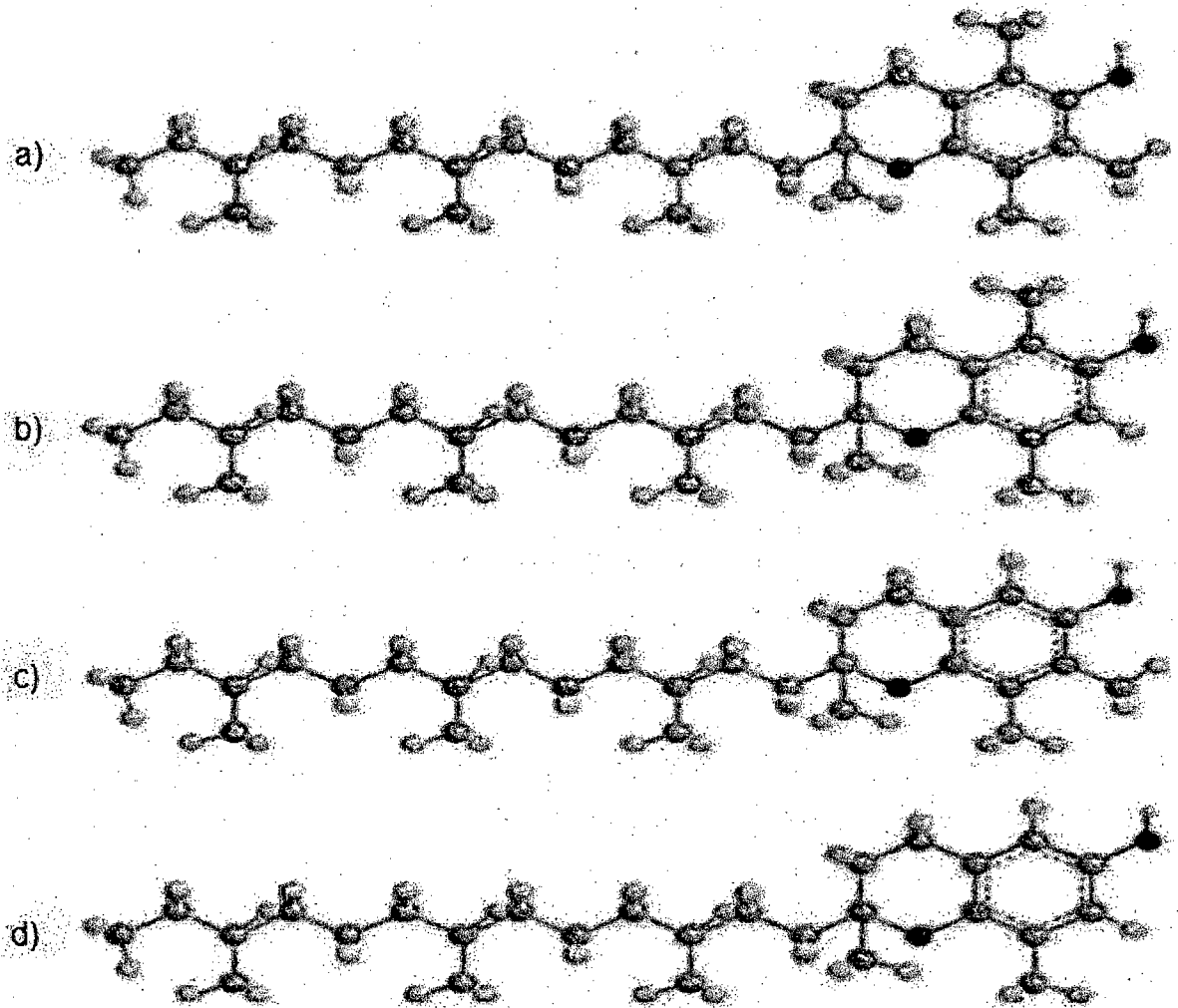
Diversas clases de lípidos que pertenecen a este grupo se caracterizan por estar formados por unidades respectivas de isopropeno. (Stuchlí et al., 2002 citado por Navas, 2010)  
Clasifica a los isoprenoides en: isoprenoides mixtos, esteroides y terpenos.

##### **A) Isoprenoides Mixtos**

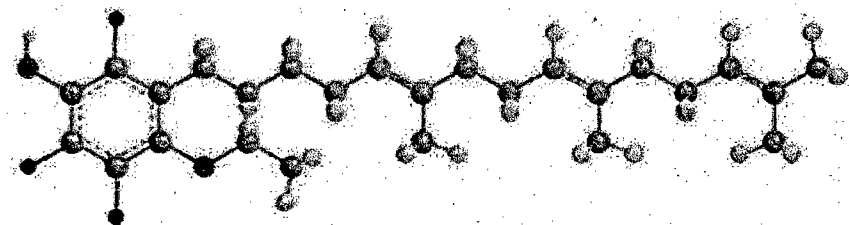
Los isoprenoides mixtos contienen una cadena lateral formada de unidades de isopreno unida a un anillo cromanol no terpenoide denominada fitil. A este grupo pertenecen los submiembros de la vitamina E, como los tocoferoles y tocotrienoles. (Navas P., 2010)

Los tocoferoles derivados de la vitamina E, son antioxidantes naturales solubles en lípidos que solo son producidos por las plantas. El termino general "Vitamina E" se utiliza para designar a un grupo de ocho especies naturales de tocoferoles y tocotrienoles ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ ). Junto con las vitaminas A, D y K constituyen el grupo de las vitaminas liposolubles, caracterizadas por ser derivados del núcleo isoprenoide, solubles en lípidos y disolventes orgánicos. Son compuestos esenciales, puesto que el organismo no puede sintetizarlas, por lo que su aporte se realiza a través de la dieta en pequeñas cantidades. Para una eficiente absorción por el organismo requieren de la presencia de ácidos grasos, de la bilis y de enzimas lipolíticas del páncreas y mucosa intestinal (Sayago et al., 2007).

La estructura química de la vitamina E consta de dos partes primaria: un anillo complejo cromano y una larga cadena lateral. Estos ocho cromóforos se dividen en dos grupos fundamentales: cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles (figura 7) que se diferencian en la saturación de la cadena lateral; los tocoferoles tienen una cadena saturada y los tocotrienoles una insaturada con tres dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11. Dentro de cada grupo, los cromóforos difieren en el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromano, designándose como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  (figura 6). (Navas P., 2010)



**Figura 6.** Estructura molecular de los tocoferoles. a)  $\alpha$ -Tocoferol b)  $\beta$ -Tocoferol c)  $\gamma$ -Tocoferol d)  $\delta$ -Tocoferol (Navas P., 2010)



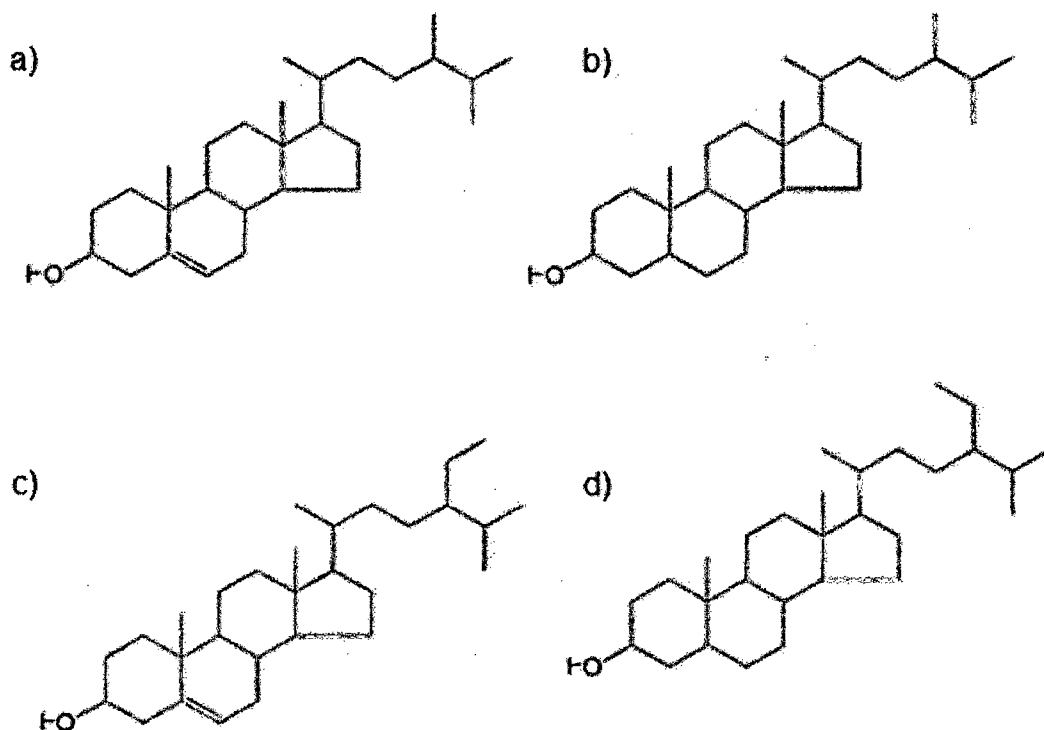
**Figura 7.** Estructura molecular de los tocotrienoles. (Navas P., 2010)

El  $\alpha$ -tocoferol que es la principal forma de la vitamina E actúa rompiendo las reacciones en cadena durante la peroxidación de los lípidos, también actúa en la neutralización de especies de oxígeno reactivo como por ejemplo el oxígeno singlete. Se considera que sirve como la primera línea de defensa de la peroxidación de los lípidos. Por otro lado, este compuesto también exhibe una acción antiinflamatoria por inhibición de la producción de radicales libre o superóxidos en los neutrófilos activados. (Liebler, 1993)

## **B) Esteroles**

Los fitoesteroles y fitoestanoles son los miembros más importantes de este grupo cuya estructura es semejante al colesterol de origen animal, pero este último presenta una cadena lateral de 8 átomos de carbono, mientras que en la mayoría de los fitoesteroles la cadena es de 9 o más átomos de carbono. Estas moléculas no son sintetizadas por el ser humano, derivan exclusivamente de productos de origen vegetal. Los fitoesteroles son particularmente abundantes en el reino vegetal: están presentes en los frutos, semillas, hojas y tallos de prácticamente todos los vegetales conocidos, así como también en aceite de germen de maíz y trigo, girasol, soja, nueces y otros. (Navas P., 2010)

Los fitoesteros son triterpenos insaturados con uno o dos dobles enlaces entre carbono y carbono; más de 100 tipos diferentes de fitoesteros han sido encontrados en las plantas, siendo los más abundantes el  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol y campesterol (figura 8), mientras que en menor proporción está el brasicasterol, campestanol y el Avenasterol. (Fernández et al., 2007)



**Figura 8.** Estructura química de algunos fitoesteros y fitoestanoles. a) Campesterol b) Campestanol c)  $\beta$ -Sitosterol d) Sitostanol (Fernández et al., 2007)

Los fitoesteros pueden formar ésteres con ácidos grasos, ácidos fenólicos o hexosas (glucosas). A diferencia de los fitoesteros, los fitoestanoles son triterpenos saturados ya que no contienen dobles enlaces C-C y son menos abundantes en la naturaleza. (Moreau et al., 2002)

### C) Terpenos

Son moléculas lineales formadas de unidades poliméricas de isopreno con propiedades antioxidantes que protegen a lípidos y compuestos celulares del ataque de agentes oxidantes como radicales libres de oxígeno, superóxido y grupos hidroxilo reactivos (Drago M. et al., 2006).

Se consideran, lípidos insaponificables e insolubles en agua, formados por dos o más unidades de isopreno o 2-metil-1,3-butadieno (figura 9), pudiendo ser moléculas lineales o cíclicas, y en algunos casos contienen estructuras de ambos tipos. Las sucesivas unidades de isopreno se hallan enlazadas por lo común mediante enlaces cabeza-cola, aunque también existen enlaces tipo cola-cola. Los terpenos que contienen dos unidades de isopreno, son denominados monoterpenos; aquellos que contienen tres unidades se conocen como sesquiterpenos y los que contienen cuatro, seis u ocho unidades reciben el nombre de diterpenos, triperpenos y tetraterpenos. (Ávalos A. et al., 2009)

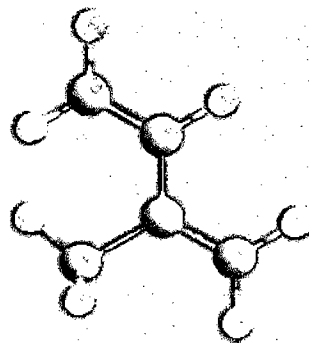


Figura 9. Estructura del isopreno. (Ávalos A. et al., 2009)



### 2.4.3. Compuestos Fenólicos

Los biofenoles son un grupo de sustancias químicas que se encuentran en las plantas y se caracterizan por la presencia de más de un grupo fenólico por molécula. Las investigaciones sugieren que los polifenoles son antioxidantes naturales que incluyen a los fenoles ácidos y flavonoides. En términos generales, los fenoles ácidos se caracterizan por tener un anillo aromático central como en el caso del ácido cinámico y otros derivados. (Mattila P. et al., 2002)

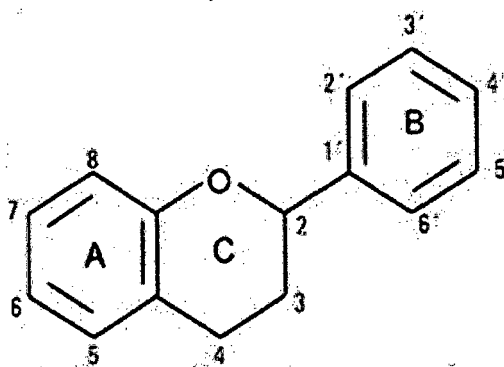
Existen muchas familias de polifenoles presentes en los aceites vírgenes, dentro de los más citados se encuentran los ácidos fenólicos como el ácido cafeico, el ácido clorogénico, el ácido ferulico, el ácido cumarico y ácido galico. (Slavin M. et al., 2009)

El daño por el estrés oxidativo es el desequilibrio entre los compuestos oxidantes y antioxidantes en el organismo. Los compuestos oxidantes, llamados “radicales libres” se compensan con los antioxidantes, y por eso tienen un papel fundamental aquellos que nos proporciona la dieta. Los polifenoles son sustancias de origen vegetal que están presentes en el aceite virgen de oliva y otras fuentes de semillas. Su estructura química les confiere extraordinarias características antioxidantes, atrapando a los radicales libres. Estos radicales libres son sustancias que tienen un electrón no apareado que busca el equilibrio atrapando el electrón que le falta de otras sustancias y así oxidándolas. Si hay más compuestos oxidantes que antioxidantes (estrés oxidativo), estos contribuyen al desarrollo de enfermedades como el cáncer, la arteriosclerosis, envejecimiento y proceso neurodegenerativos como la enfermedad del alzheimer. (Valente T. et al., 2009)

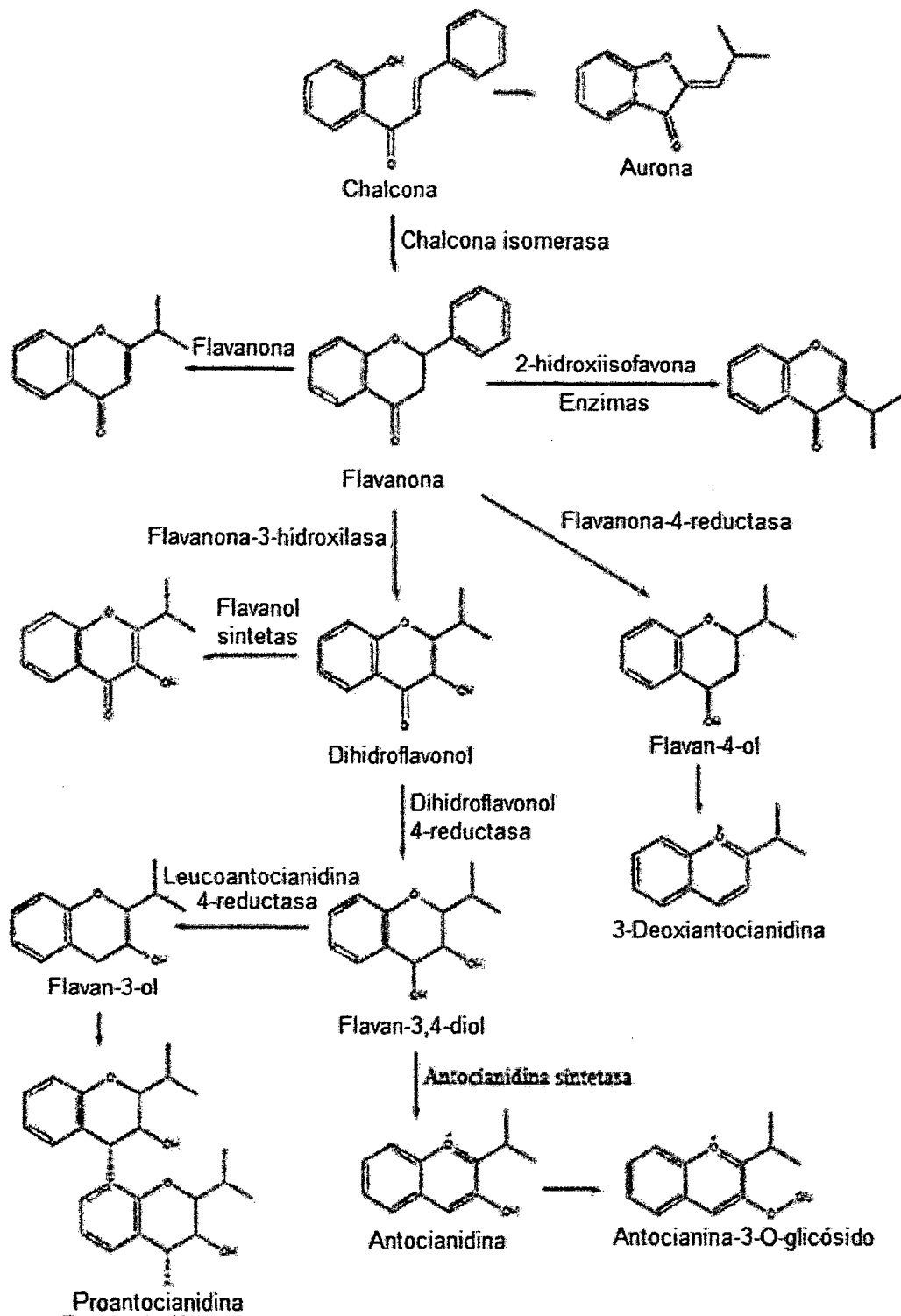
### 2.4.3.1. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos de la familia de los fitoquímicos, derivados de los vegetales y con potencial beneficioso sobre la salud, se encuentran tanto en estado libre como en estado glicosidado, constituyen el grupo más amplio de los fenoles naturales. La amplia gama de efectos atribuidos a los flavonoides constituye la expresión de la funcionalidad de su grupo químico, incluyendo propiedades redox, mutagénicas, anticarcinogénicas, y citotóxicas. (Young J. et al., 2006)

Los flavonoides son metabolitos secundarios de origen biosintético mixto, son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico) (Figura 10). El anillo A (meta-oxigenado) proviene de la ruta de la malonilcoenzima A y el anillo B (orto-oxigenado) y la cadena C3 proviene de la ruta del ácido shikímico. Un tricétido se cicliza y se condensa con una molécula de ácido p-cumárico. La enolización del ciclo proveniente de la ruta de la malonilCoAdá origen al anillo aromático A: en las chalconas y flavanonas; estas a su vez son las precursoras de los demás clases de flavonoides (figura 11). (Amarowicz R. et al., 2009)



**Figura 10.** Estructura básica de una molécula de flavonoides. (Amarowicz R. et al., 2009)



**Figura 11.** Biosíntesis de flavonoides. (Amarowicz R. et al., 2009)

Los flavonoides se sintetizan en las plantas y participan en la fase dependiente de luz de la fotosíntesis, durante la cual catalizan el transporte de electrones. Su formación tiene lugar a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina y también de unidades de acetato. La fenilalanina y la tirosina dan lugar al ácido cinámico y al ácido parahidroxicinámico, que al condensarse con unidades de acetato, originan la estructura cinamol de los flavonoides. Posteriormente se forman los derivados glicosilados o sulfatados. (Martínez S. et al., 2002)

#### 2.4.3.2. Pigmentos

Los pigmentos vegetales se pueden clasificar en cuatro grandes grupos, dos liposolubles: clorofilas y carotenoides, y dos hidrosolubles: las betalaínas y los flavonoides. Las Clorofilas son compuestos del tipo tetrapirrol, al mismo grupo pertenecen las ficocianinas y las ficoeritrinas (pigmentos accesorios en algas azules y rojas). Constan de cuatro anillos de pirrol unidos por medio de puentes de metilo ( $--CH=$ ) lo que constituye una porfirina. El tetrapirrol es el cuerpo básico de las porfirinas, dentro de las cuales se incluyen además de las clorofilas, las hemoglobinas y los citocromos. La característica cromófora de la clorofila se debe justamente al sistema de dobles enlaces conjugados generados por la unión de los anillos de pirrol mediante los grupos metilo. En el centro del sistema de anillos se halla un átomo metálico, para las clorofilas es el magnesio, señal que las clorofilas son consideradas compuestos indispensables para la vida, fundamentalmente debido a las funciones que llevan a cabo en relación con la fotosíntesis (captación de luz, fotoprotección, disipación de excesos de energía, desactivación de oxígeno singlete. (Kishimoto S. et al., 2004)

Los carotenoides son compuestos con sistema de dobles enlaces conjugados, están formados exclusivamente por átomos de carbono, ocho unidades isoprenoides unidas de forma que la secuencia se invierte en el centro de la molécula, es decir la unidad de dichas unidades es cabeza-cola, excepto en el centro de la molécula donde es cabeza-cabeza. Debido a ello, los dos grupos metilo centrales de la cadena polienica están separadas por seis átomos de carbono mientras que el resto están separados por cinco. **(Melendez A. et al., 2007).**

#### **2.4.4. Componentes Volátiles**

El flavor y aroma de los aceites vegetales son generados por una serie de compuestos volátiles que presentan las características de poseer una masa molecular relativamente baja, moléculas de carácter polar, liposolubles y estar presente en concentraciones extremadamente baja. **(Navas P., 2010)**

El desarrollo de componentes volátiles está favorecido por la actividad enzimática y la calidad de la materia prima, por lo que es necesario proceder con cuidado durante y después de la cosecha de frutos y semillas oleaginosas. La humedad de las semillas durante el almacenamiento influyen en gran medida en la calidad del aceite extraído; semillas con contenidos elevados de humedad favorecen el desarrollo y crecimiento de microorganismos, lo que produce elevados niveles de ácidos grasos libres y características organolépticas pobres o desagradables. **(Navas P., 2010)**

En los aceites vírgenes de semillas se han detectado compuestos orgánicos saturados, insaturados, aromáticos e hidrocarburos terpénicos, así como también alcoholes, aldehídos, esterres y éteres. **(Cert A. et al., 2000)**

## **2.5. Propiedades Organolépticas de Aceites Vegetales**

En la producción de alimentos cada día se tiene más en cuenta la satisfacción del cliente; así el concepto de calidad ha evolucionado desde ser "una adaptación a las especificaciones internas" a "la capacidad de una organización de satisfacer las necesidades, explícitas e implícitas, que el cliente demande". (Ferratto J., 2003)

Los atributos sensoriales que se perciben en un alimento que son determinantes de la calidad y preferencia de los consumidores son el color, la apariencia, textura forma, viscosidad, sensaciones táctiles y kinestésicas, el olor y el sabor, además de sensaciones quimioestésicas como una respuesta combinada de la sensación cutánea, térmica y de los estímulos dolorosos producidos por determinadas sustancias químicas irritantes. (Angesroa F., 2000)

El conjunto de sensaciones olfativas y gustativas de un alimento, complementadas por las sensaciones táctiles y kinestésicas percibidas por los receptores táctiles y olfativos alojados en la boca, recibe la denominación de "flavor". (Reineccius G., 1993)

En estudios de consumidores y usos de aceites comestibles se desprende que dos tipos de aceite son usados, el primero es el aceite refinado, que es muy versátil y con muchas aplicaciones en la cocina debido a su sabor neutro y estabilidad a altas temperaturas. Al contrario los aceites vírgenes que por sus sabores típicos y colores intensos son usados para aderezos de alimentos y ensaladas. Las características del flavor están directamente relacionadas con el valor del aceite para el consumidor y determinan el éxito o fracaso del producto sobre el mercado, por lo que es necesario evaluar las cualidades sensoriales de aceites vírgenes. (Brühl L. et al., 2008)

## **2.6. Propiedades Antioxidantes de los Componentes Menores de Aceites Vegetales Vírgenes.**

La actividad antioxidante de los tocoferoles, polifenoles y otros compuestos de los aceites vegetales, presenta un creciente interés desde que fueron relacionados con su carácter protector frente a enfermedades degenerativas crónicas como enfermedades coronarias, complicaciones cardiovasculares, algunos tipos de cáncer y estrés oxidativo. (Varela G., 2009)

Los radicales libres son especies químicas que poseen uno o más electrones desapareados, por lo que son muy inestables y reaccionan rápidamente con otras moléculas. Los radicales libres se pueden formar por la acción del ozono, los pesticidas, las reacciones fotoquímicas, las radiaciones ionizantes o el estrés. (Tur J., 2004)

Los antioxidantes son moléculas capaces de bloquear el inicio de la cadena de reacciones de oxidación causadas por los radicales libres inhibiendo su capacidad oxidante. (Young S. et al., 2001)

La teoría de envejecimiento por radicales libres sostiene que la causa del envejecimiento celular es debida a la producción de radicales libres cerca de las mitocondrias, con la consecuente lesión del ADN mitocondrial y la pérdida de la capacidad de regeneración. (Mayne T., 2003)

En cuanto a los aceites vegetales; entre los principales compuestos antioxidantes se encuentran los tocoferoles y tocotrienoles, los carotenoides y los compuestos fenólicos. Los polifenoles presentes en los aceite vírgenes, específicamente los contenidos en el aceite de oliva son los co-responsables de la reducción de riesgo de enfermedades cardiovasculares, asociado a la composición y efecto antioxidante del perfil lipídico, lo que constituye una fuente de protección contra el daño oxidativo. (Varela G., 2009)

Los tocoferoles y tocotrienoles, actúan coordinados con otras moléculas y enzimas para la defensa de las células (especialmente glóbulos rojos, células musculares y células nerviosas) frente a los efectos nocivos producidos por los radicales libres, considerados hoy día importantes antioxidantes con potenciales beneficiosos a la salud. (**Sayago A. et al., 2007**)

## **2.7. Aceites Vegetales Vírgenes y Aceites Vegetales Refinados**

Pueden distinguirse dos tipos de aceite: los vírgenes y los refinados. Los primeros son los extraídos mediante "prensado en frío", a temperaturas no mayores a 27 °C, presentan la característica que conservan el sabor de la fruta o semilla de la que son extraídos. Otro método consiste en la "extracción en frío", mediante un proceso de centrifugación y filtración a no más de 27 °C. Posteriormente por medios físicos, como la decantación (durante días) se separan los residuos más finos. Por ambos métodos se obtiene un aceite virgen, de sabor intenso y colores variables dependiendo de la materia prima de donde son extraídos, con valores de acidez entre 1° y 1,5° por la presencia de ácidos grasos libres. (**Ziller, 1996**)

El prensado de semillas y nueces para extraer aceites se remota a épocas de miles de años atrás. La civilización egipcia utilizó aceites comestibles para la cocina, extraídos de semillas y frutos, de igual forma los romanos, los griegos y los incas. Los aceites no refinados han sido siempre la piedra angular de dietas de pueblos ancestrales. Estos aceites eran ricos en nutrientes y tenían un sabor propio particular, color, viscosidad y por supuesto aromas singulares. Todas estas características se han perdido por la refinación industrial, que han reducido las características de los aceites a la suavidad, produciendo aceites sin color, insípidos y de una calidad nutricional inferior. Sin embargo, en muchos lugares alrededor del mundo, se han mantenido métodos tradicionales que producen aceites no refinados ricos en nutrientes, de alta calidad, con un sabor particular, son los llamados "aceites vírgenes". (**Navas P., 2010**)



Los aceites refinados son aquéllos que se someten a procesos químicos (clarificación y desodorización) que permite obtener un aceite que responde a ciertos criterios: organolépticamente son de un sabor neutro, visualmente limpios y con un color adecuado, y además permite una mejor conservación. Los aceites vírgenes se distinguen de los refinados por sus especificidades en características y cualidades nutricionales. Cada uno tiene un color, un sabor y un aroma distinto dependiendo de la materia prima del que proviene, contrariamente, los refinados parecen iguales. Un aceite virgen prensado conserva la integridad estructural en cuanto a su composición, mientras que durante el refinado, la matriz lipídica puede sufrir una isomerización CIS-TRAS con la consecuencia de pérdida de la integridad química y valor nutricional. (Navas P., 2010)

## **2.8. Extracción de Aceite de Semillas Oleaginosas**

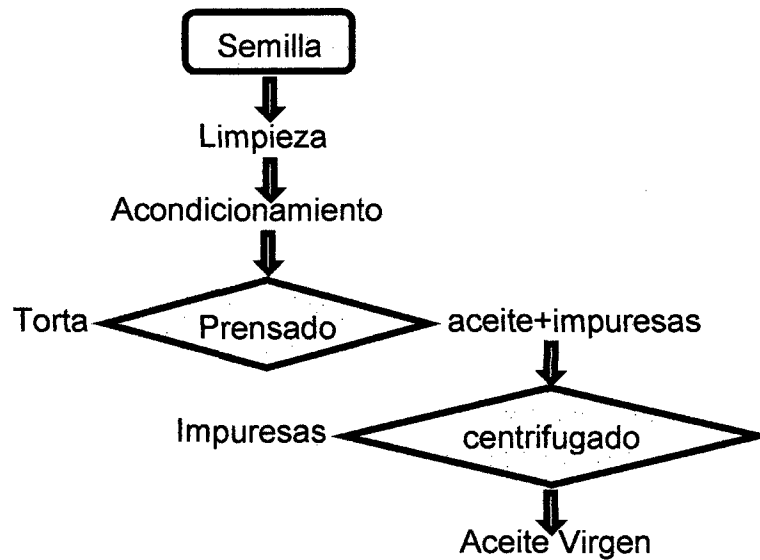
En principio se distinguen dos sistemas de extracción del aceite de semillas oleaginosas (Navas P., 2010):

- **Extracción mecánica o por prensado**
- **Extracción con disolventes**

En ambas metodologías, las semillas oleaginosas deben ser limpiadas y descascarilladas previamente. Después son troceadas y molidas antes de la extracción de su aceite por cualquiera de los dos sistemas citados. (Navas P., 2010)

### 2.8.1. Extracción Mecánica o por Prensado

En la extracción mecánica o por prensado (figura 12), las semillas molidas o no, pasan a un acondicionador para obtener un producto homogéneo que luego va a la prensa donde a elevadas presiones y en un solo paso se procede a la separación del aceite de la torta proteínica residual, denominada generalmente turto, pellets o torta residual. (Navas P., 2010)



**Figura 12.** Esquema de un proceso típico para la extracción de aceites por prensado.

En esta extracción es necesaria una fase previa de acondicionamiento en la cual se establecen las condiciones óptimas de humedad inicial de las semillas, de manera de favorecer la ruptura de las células ricas en aceite, facilitando la expulsión para alcanzar los mejores rendimientos. (Navas P., 2010)

## 2.8.2. Extracción con Disolvente

En este tipo de extracción (figura 13), se requiere moler las semillas con el propósito de incrementar el área superficial de contacto entre el solvente y el material sólido, así como también para provocar la ruptura de las células donde el aceite se almacena. Entre los solventes más utilizados está el hexano. Entre las ventajas de este procedimiento se puede mencionar por un lado, un gran poder de extracción, con rendimientos elevados y la obtención de un aceite libre de impurezas sólidas por lo que la fase de limpieza del aceite crudo no es necesaria. Mientras que por otra parte, al separar el disolvente por destilación, éste es recuperado para ser nuevamente utilizado. Sin embargo, el uso de un disolvente inflamable y la acumulación de trazas del mismo en el aceite final, constituyen las principales limitaciones de este proceso tecnológico. Los aceites obtenidos directamente de la extracción se denominan aceites crudos o brutos, contienen pequeñas cantidades de compuestos naturales que no son glicéridos y que son eliminados posteriormente a lo largo de una serie de fases de procesado, obteniéndose un aceite refinado totalmente cristalino. (Ziller, 1996)

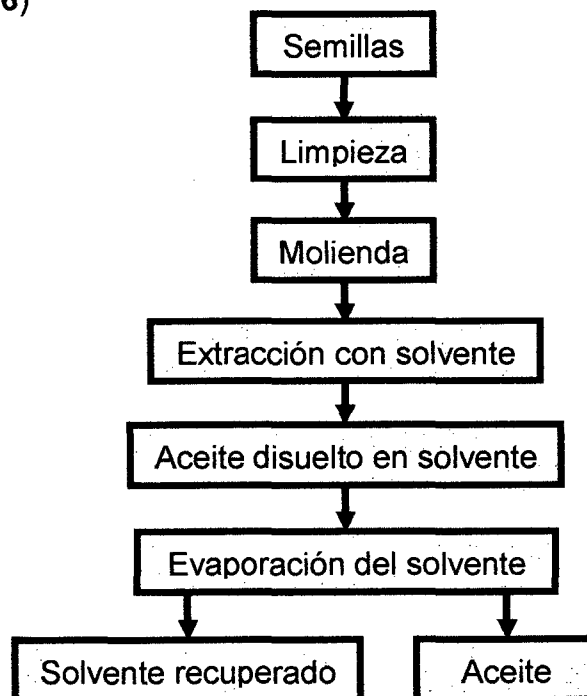


Figura 13. Esquema de un proceso típico para la extracción con disolventes. (Navas P., 2010)

En cuanto a los aditivos y coadyuvantes tecnológicos, en concreto los disolventes utilizados para la extracción de aceites deberán cumplir, junto con las especificaciones fijadas para cada uno de ellos, una serie de condiciones generales, tales como el que sean productos de características químicas definidas, en las que no exista la posibilidad de que contengan impurezas que provoquen una acción nociva sobre el organismo o residuos que puedan quedar retenidos en el aceite. **(Navas P., 2010)**

## **2.9. Cinética del Deterioro de los Alimentos y Predicción de la Vida Útil**

Los alimentos son sistemas fisicoquímicos y biológicamente activos, por lo tanto la calidad de los alimentos es un estado dinámico que se mueve continuamente hacia niveles más bajos. Así pues, para cada alimento particular, hay un periodo de tiempo determinado, después de su producción, durante el cual mantiene el nivel requerido de sus cualidades organolépticas y de seguridad, bajo determinadas condiciones de conservación. Este periodo se define como vida útil del alimento. **(Casp y Abril, 1999)**

La vida útil de un producto no debe ser considerado sólo en términos legales acerca de su durabilidad mínima sino que también la define como el periodo de tiempo durante el cual el alimento puede: (1) permanecer seguro; (2) mantener las características físicas, químicas, sensoriales y microbiológicas deseadas; (3) cumplir con cualquier reglamento nutricional. **(Wilbey R., 1997)**

Además es importante considerar que la vida útil de un producto es función de la calidad microbiológica de las materias primas, empaque y condiciones en que fue almacenado. **(Tortorello M. et al., 1991)** Igualmente importantes son la higiene de la planta y el personal, el tiempo y la temperatura de mantención, distribución y la composición del alimento. **(Campbell-Platt G., 1989)**

La estabilidad de los productos alimenticios depende tanto de factores intrínsecos y extrínsecos, entre los primeros se cuentan calidad del material crudo, características físicas, pH y actividad de agua, mientras que las condiciones de procesamiento, higiene, empaque y condiciones de almacenamiento, especialmente temperatura son factores extrínsecos. Estos factores pueden interactuar aditiva o antagónicamente y algunas veces sinérgicamente, un efecto es cuando dos o más factores son usados para inhibir el crecimiento microbiano. Finalmente, se debe considerar que el análisis sensorial es de suma importancia por cuanto, junto a los métodos instrumentales, contribuye a minimizar el riesgo a la salud pública. Las técnicas generalmente usadas en la evaluación sensorial son: i) test de discriminación, ii) test de aceptación, iii) análisis descriptivo. **(Wilbey R., 1997)**

Durante el almacenamiento y distribución, los alimentos están expuestos a un amplio rango de condiciones ambientales, factores tales como temperatura, humedad, oxígeno y luz, los cuales pueden desencadenar mecanismos de reacción que conducen a su degradación. Como consecuencia de estos mecanismos los alimentos se alteran hasta ser rechazados por el consumidor. Es necesario por tanto, conocer las diferentes reacciones que causan esta degradación de los alimentos para desarrollar procedimientos específicos para su vida útil. **(Casp y Abril, 1999)**

La cinética de deterioro de los alimentos se puede expresar matemáticamente por medio de ecuaciones de relación. Aplicando los principios fundamentales de la cinética química, los cambios en la calidad de los alimentos pueden, en general, expresarse como una función de la composición de los mismos y de los factores ambientales **(Casp y Abril, 1999)**:

$$\frac{dQ}{dt} = F(C_i, E_j) \quad (1)$$

Donde  $C_i$ , son factores de composición, tales como composición de algunos compuestos de reacción, enzimas, pH, actividad de agua, así como población microbiana y  $E_j$  son factores ambientales tales como temperatura, humedad relativa, presión total y parcial de diferentes gases, luz, etc. La mayoría de las reacciones estudiadas en los alimentos, se han caracterizado como de orden cero o de primer orden. (Casp y Abril, 1999)

En el cuadro 4 se indican algunos ejemplos significativos de reacciones de pérdida de calidad en alimentos.

**Cuadro 4.** Reacciones de pérdida de calidad que siguen cinéticas de orden cero y primer orden.

<b>Orden Cero</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Calidad global de alimentos congelados.</li> <li>• Pardeamiento no enzimático.</li> </ul>
<b>Primer orden</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pérdida de vitaminas.</li> <li>• Muerte / desarrollo microbiano.</li> <li>• Pérdida de color por oxidación.</li> <li>• Pérdida de textura en tratamientos térmicos.</li> </ul>

Fuente: Cas y Abril, (1999).

### 2.9.1. Reacción de Orden Cero

Una característica de las reacciones de orden cero es la relación lineal entre el atributo de calidad,  $Q$  y el tiempo de la reacción,  $t$ . (Toledo R., 1991)

Una disminución lineal del atributo implica que su variación con respecto al tiempo es constante, y que, por lo tanto, la pérdida de dicho atributo no depende de su concentración. El empleo de una ecuación de orden cero es útil en la descripción de procesos tales como la degradación enzimática, el pardeamiento no enzimático y la oxidación de lípidos que lleva al desarrollo de olores rancios. (Casp y Abril, 1999)

Técnicamente, el mayor problema en pruebas de vida de anaquel es para verificar que realmente  $n = 0$ . Basado en un trabajo anterior, algunas de las formas de deterioro son aplicables directamente para las cinéticas de orden cero. Estos incluyen: (1) Degradación enzimática (Frutas y Vegetales frescos, algunos alimentos congelados, algunas pastas refrigeradas); (2) Pardeamiento no enzimático (Cereales secos, productos lácteos deshidratados, alimentos secos para mascotas, pérdidas del valor nutricional proteico); (3) oxidación de lípidos (Desarrollo de rancidez en partes, alimentos secos, alimentos para mascotas, alimentos congelados). (Nuñez y Chumbiray, 1991 citado por Monje M., 2003)

### **2.9.2. Reacción de Primer Orden**

La reacción es caracterizada por la disminución en forma exponencial del atributo de calidad,  $Q$ , durante el periodo de almacenamiento. (Casp y Abril, 1999; Heldman y Lund, 1992) El ritmo de pérdidas del atributo de calidad depende de la cantidad que queda del mismo, y esto implica que a medida que el tiempo avanza y el atributo de calidad disminuye la velocidad de reacción es cada vez menor. (Casp y Abril, 1999)

### 2.9.3. Efecto de la Temperatura

Las reacciones químicas son acompañadas por efectos de calor y si éstos son bastante grandes, pueden causar un cambio significativo en la temperatura de la reacción, por lo tanto estos efectos deben ser también tomados en cuenta. (Heldman y Lund, 1992) Generalmente la constante de velocidad de reacción acrecienta con un incremento de la temperatura. (Labuza T., 2000 citado por Monje M., 2003) La temperatura, aparte de afectar fuertemente a las constantes de velocidad de las reacciones, es el único factor que, la mayoría de las veces, le es impuesto externamente al alimento y no puede ser controlado por un envase apropiado. (Casp y Abril, 1999)

La influencia de la temperatura sobre la constante de velocidad de reacción en un proceso elemental, se puede describir utilizando la ecuación desarrollada por Svante Arrhenius, en 1889 (Casp y Abril, 1999):

$$k = k_0 e^{-\frac{Ea}{RT}} \quad (2)$$

Donde,  $k_0$  es el factor pre exponencial o factor de colisión ( $s^{-1}$ ),  $Ea$  es la energía de activación ( $kJ.mol^{-1}$ ),  $R$  es la constante de los gases ideales ( $kJ.mol^{-1}.K^{-1}$ ) y  $T$  es la temperatura absoluta (K) (Casp y Abril, 1999; Heldman y Lund, 1992, Toledo R., 1991)

Si se aplica logaritmo a la ecuación anterior se obtiene:

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{Ea}{R} \frac{1}{T} \quad (3)$$



Donde existe una relación lineal entre el logaritmo de la constante de velocidad y la inversa de la temperatura absoluta. La pendiente será el cociente de la energía de activación y la constante de los gases perfectos. (Casp y Abril, 1999)

Para describir la relación entre la temperatura y la constante de velocidad de reacción se emplea un parámetro llamado: valor  $Q_{10}$ , el cual se define como el número de tiempos que cambia la velocidad de reacción con un cambio en temperatura de  $10^{\circ}\text{C}$ . (Labuza T., 2000 citado por Monje M., 2003) Si la velocidad de reacción se duplica con un cambio de  $10^{\circ}\text{C}$  en la temperatura, entonces el valor de  $Q_{10}$  será de 2. Para reacciones tales como color inducido enzimáticamente o cambio de sabor en alimentos, degradación natural de pigmentos, oscurecimiento no enzimático, y la velocidad de crecimiento microbiano, el  $Q_{10}$  normalmente estará alrededor de 2 (Toledo R., 1991). Matemáticamente Casp y Abril, (1999); lo demuestran de la siguiente manera:

$$Q_{10} = \frac{k_{T+10}}{k_T} \quad (4)$$

Donde:

$k_T$  = constante de velocidad de reacción a la temperatura T

$k_{T+10}$  = constante de velocidad de reacción a la temperatura T+10

Entre el valor  $Q_{10}$  y la energía de activación EA existe una relación, como se demuestra a continuación:

$$k_{T+10} = k_0 e^{-\left[\frac{Ea}{R(T+10)}\right]} \quad (5)$$

$$k_T = k_0 e^{-\left[\frac{Ea}{RT}\right]} \quad (6)$$

Por lo tanto:

$$Q_{10} = \frac{K_{T+10}}{K_T} = \frac{k_0 e^{-\left[\frac{Ea}{R(T+10)}\right]}}{k_0 e^{-\left[\frac{Ea}{RT}\right]}} = e^{\left[\frac{Ea}{RT}\right] - \left[\frac{Ea}{R(T+10)}\right]} \quad (7)$$

$$\ln Q_{10} = \left[\frac{Ea}{RT}\right] - \left[\frac{Ea}{R(T+10)}\right] = \frac{Ea}{R} \left[\frac{1}{T} - \frac{1}{T+10}\right] \quad (8)$$

$$\ln Q_{10} = \frac{Ea}{R} \left[\frac{1}{T} - \frac{1}{T+10}\right] \quad (9)$$

Para una reacción de orden cero, la vida útil y la constante de velocidad de reacción son inversamente proporcionales, por lo tanto la ecuación (3) se puede escribir (Casp y Abril, 1999):

$$Q_{10} = \frac{\text{Vida útil a } T \text{ (}^\circ\text{C)}}{\text{Vida útil a } T_{ref} \text{ (}^\circ\text{C)}} = \frac{t_0}{t_u} \quad (10)$$

Cuando  $T = T_{ref} + 10^\circ\text{C}$

Como se ha observado anteriormente:

$$t_u = t_0 e^{-a(T - T_{ref})} \quad (11)$$

$$\frac{t_0}{t_u} = e^{a(T - T_{ref})} \quad (12)$$

Siendo  $t_0 =$  vida útil a  $T_{ref}$  ( $^\circ\text{C}$ ) y  $t_u =$  vida útil a  $T$  ( $^\circ\text{C}$ ). En este caso:  $T - T_{ref} = 10^\circ\text{C}$ .

Sustituyendo en (5):

$$Q_{10} = e^{10a} \quad \text{o} \quad a = \frac{\ln Q_{10}}{10} \quad (13)$$

Por lo tanto, si se conoce el valor  $Q_{10}$  de la reacción que se está considerando, se podrá calcular la pendiente de la recta y así establecer cuál será la vida útil a cualquier temperatura. Este sistema es interesante cuando se emplean test de vida útil acelerada, trabajando a temperaturas altas para que los tiempos de las experiencias sean más cortos. Una vez obtenidos los valores de vida útil a temperaturas altas, se podrá conocer la vida media a cualquier temperatura. (Casp y Abril, 1999)

## **2.10. Cinética del Deterioro de los Aceites de Semillas Oleaginosas**

Los aceites son susceptibles a diferentes reacciones de deterioro que reducen el valor nutritivo del alimento, y además, producen compuestos volátiles que imparten olor y sabor desagradable, esto generalmente se debe a que el enlace ester de los acilglicéridos es susceptible a la hidrólisis química o enzimática (rancidez hidrolítica), y a que los ácidos grasos insaturados son sensibles a reacciones de oxidación (rancidez oxidativa). (Ziller y Campbell, 1996 citado por Salazar E. et al., 2007)

Generalmente el estudio de la estabilidad de un aceite comestible, o resistencia al deterioro debido a cualquiera de los tipos de rancidez, se realiza en función de variables o índices que permitan determinar si ha ocurrido reacciones con los grupos funcionales de las grasas o aceites que pudieran provocar degradación de los mismos o de sus componentes. Entre ellos destacan el índice de acidez (IA), que es una medida de los ácidos libres presentes en grasas y aceites, y el índice de peróxido (IPO), que es una medida del oxígeno unido a las insaturaciones presentes en los ácidos grasos en forma de peróxidos. (Ramos y Tarazona, 2001)

Luego, se evalúa la velocidad o rapidez de dichas reacciones de deterioro, expresados como cambios de concentración por unidad de tiempo. El orden de la reacción en un alimento se puede calcular en función de la concentración de los reactantes o de los productos. La mayor parte de los datos de vida útil para el cambio de una característica de calidad, basado en una reacción química o crecimiento bacteriano, sigue un modelo de orden cero ( $n = 0$ ) o de primer orden ( $n = 1$ ) y hasta fraccionados. **(Sithole et al, 2005 citado por Salazar E. et al., 2007)** Al conocer el orden de la reacción, se puede extrapolar basándose en pocas medidas, mediante representaciones gráficas correctas, a los valores máximos permitidos de los índices ensayados al término fijado de su vida útil. **(Fennema, 1993 citado por Salazar E. et al., 2007)**

Uno de los factores que afectan la rapidez de deterioro de las grasas y aceites es la temperatura, observándose que un incremento de la misma aumenta la velocidad de estas reacciones de deterioro. **(Ziller y Campbell, 1996 citado por Salazar E. et al., 2007)**

#### **2.10.1. Radicales Libres**

Se consideran radicales libres (RL) a aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo. Esta configuración espacial les hace muy inestable, extraordinariamente reactivos y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse con la mayoría de las biomoléculas celulares (carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos) provocando un gran daño en ellas y en las membranas celulares. **(Criado & Moya, 2009)**

El metabolismo normal de cada célula es una fuente importante de RL (cuando se metaboliza el alimento para producir energía), pero además también se producen por influencias externas cuando nuestro organismo recibe el impacto de diversos contaminantes tales como los gases provenientes de los escapes de los automóviles, la contaminación ambiental y el humo del cigarrillo, algunos productos de limpieza, pesticidas, algunos fármacos, el ejercicio físico excesivo o los rayos ultravioleta de sol. (Criado & Moya, 2009)

Los RL cumplen numerosas funciones útiles en el organismo (de hecho, nuestro propio cuerpo los fabrica en cantidades moderadas para luchar, por ejemplo, contra las infecciones), pero en cantidades excesivas tienen el potencial de dañar nuestras células y el material genético allí contenido. La mayor parte del oxígeno utilizado por el organismo humano durante la respiración celular es reducido a agua por acción del complejo citocromo-oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial. (Criado & Moya, 2009)

#### **2.10.1.1. Fuente de los Radicales Libres**

La mitocondria constituye la fuente principal de RL. Otras fuentes son las peroxisomas, y también los leucocitos polimorfonucleares que constituyen una fuente importante, cuando en los procesos inflamatorios se activan por diversas proteínas que actúan específicamente sobre ellos. Los leucocitos poseen en sus membranas la enzima NADPH oxidasa generadora de  $O_2^-$  que en presencia de hierro se transforma en el altamente tóxico  $OH^-$ . (Criado & Moya, 2009)

### 2.10.1.2. Toxicidad de los Radicales Libres

Por la alta inestabilidad atómica de los RL colisionan con una biomolécula y le sustraen un electrón, oxidándola, perdiendo de esta manera su función específica en la célula. En el caso de los lípidos (ácidos grasos poliinsaturados), los RL dañan las estructuras ricas en ellos como las membranas celulares y las lipoproteínas. En las primeras se altera la permeabilidad conduciendo al edema y la muerte celular y en la segunda, la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), génesis de la placa ateromatosa. **(Criado & Moya, 2009)**

Durante la oxidación lipídica por los RL, el ácido graso, al oxidarse, se convierte en radical libre de ácido graso con capacidad de oxidar a otra molécula vecina, con lo que se propaga y perpetúa el proceso oxidativo. Este proceso es conocido como peroxidación lipídica, y genera numerosos subproductos, entre ellos el malondialdehído (MDA), cuya determinación en tejidos, plasma u orina es uno de los métodos de evaluar el estrés oxidativo. **(Criado & Moya, 2009)**

En caso de las proteínas se oxidan preferentemente los aminoácidos (fenilalanina, tirosina, triptófano, histidina y metionina) y como consecuencia se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, fragmentación de la proteína y formación de grupos carbonilos e impiden el normal desarrollo de sus funciones (transportadores iónicos de membranas, receptores y mensajeros celulares, enzimas que regulan el metabolismo celular, etc.). **(Criado & Moya, 2009)**

Orta molécula que es dañada por los RL es el ADN; el daño a los ácidos nucleicos produce bases modificadas, lo que tiene serias consecuencias en el desarrollo de mutaciones y carcinogénesis por una parte o la pérdida de expresión por daño al gen específico. **(Criado & Moya, 2009)**

### **2.10.2. Oxidación de Aceites Vegetales Vírgenes**

La reacción de oxidación es una reacción en cadena, es decir, que una vez iniciada, continúa acelerándose hasta la oxidación de las sustancias sensibles. Con la oxidación, aparecen olores y sabores a rancio, se altera el color y la textura, y desciende el valor nutritivo al perderse algunas vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados. Además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud. **(Navas P., 2010)**

Los ácidos grasos poliinsaturado, presentes en los alimentos, pueden oxidarse a hidroperóxidos mediante reacciones de oxigenación catalizadas por una lipoxigenasa, por fotooxidación o por autooxidación química. La lipoxidasa, cataliza la oxidación de los lípidos principalmente insaturados. Las peroxidasas transfieren de los peróxidos a un sustrato oxidable. Los peróxidos formados por las lipoxidasas son muy buenos suministradores de oxígeno en reacciones catalizadas por peroxidasas y pueden servir incluso para oxidar nuevas moléculas de ácidos grasos insaturados, siendo, por lo tanto, una nueva fuente de oxidación. **(Navas P., 2010)**

La oxidación de los lípidos, en alimentos, se debe a la reacción del oxígeno con los lípidos insaturados por dos vías: la autooxidación y la oxidación fotosensibilizada. **(Navas P., 2010)**

La autooxidación es una reacción en cadena de radicales libres que consta de 3 etapas: (a) la reacción de iniciación da lugar a la formación de radicales libres a partir de los ácidos grasos poliinsaturados o peróxidos lipídicos, (b) las reacciones de propagación que se caracterizan por acumulación de peróxidos lipídicos, por la acción de oxígeno gaseoso y la presencia de los radicales libres, y (c) las reacciones de paralización y terminación en la que los radicales libres se asocian en productos y componentes no radicales, dando origen a la descomposición de peróxidos en aldehídos, cetonas, alcohol, éter, hidrocarburos, ácidos grasos más cortos, epóxidos etc., estos compuestos son llamados productos secundarios de oxidación y son los responsables del desarrollo de sabores y aromas desagradables, conocido como enranciamiento oxidativo. (Navas P., 2010)

Algunos aceites y alimentos grasos resisten esta modificación en un amplio grado mientras que otras son más susceptibles dependiendo del grado de insaturación, de la presencia de agentes antioxidantes y otros factores como la presencia de luz por ejemplo que acelera la oxidación. (Sayago A. et al., 2007)

Los peróxidos son en general compuestos tóxicos. Los hidroperóxidos del ácido linoleico son de los peróxidos más tóxicos que se producen en las alteraciones de las grasas, en general, alteran las vitaminas y la hemoglobina, inhiben algunas enzimas, oxidan los grupos -SH y pueden ejercer una acción mutagénica, también pueden producir lesiones patológicas en el aparato digestivo y se creen que sensibilizan la acción de ciertos agentes cancerígenos. (Sayago A. et al., 2007)



### 2.10.3. Proceso de Oxidación de Lípidos

La oxidación de lípidos implica sobre todo la reacción del oxígeno con los ácidos grasos insaturados (ácidos grasos con dobles enlaces), aunque las reacciones secundarias con ácidos grasos saturados (sin dobles enlaces) no se pueden descartar. La oxidación de lípidos en los alimentos es más comúnmente asociado con las grasas y aceites a granel; en fase oleosa o de emulsiones, y desde luego que es donde la reacción es más evidente para los consumidores. Sin embargo, es importante reconocer que la oxidación se produce allí donde se encuentran los ácidos grasos insaturados, y que significa en **(Schaich K. et. al., 2013)**:

- Triacilgliceroles: en tejidos adiposos y grasas **(Ladikos y Lougovois, 1990)**, aceites de semillas, aceites esenciales de frutas, el chocolate **(Rossi-Olson, 2011)**, los aceites a granel **(Schaich K., 2005)**, y las fases de aceite de emulsiones **(Sun et al., 2011)**
- Fosfolípidos: en las membranas (en especial alimentos musculares, órganos, verduras), las capas de salvado, yema de huevo, y emulsionantes naturales y sintéticos **(Porter y Wagner, (1986) citado por Schaich K. et. al., (2013))**
- Los ácidos grasos libres: productos de hidrólisis de los triacilgliceroles y fosfolípidos derivados de ácidos, bases, calor con y sin agua, y acción de la lipasa **(Miyashita y Takagi, (1986) citado por Schaich K. et. al., (2013))**, se encuentran sobre todo en los alimentos que se calientan, tienen contaminación microbiana, productos lácteos o lípidos tropicales.
- Ácidos grasos esterificados a otras moléculas tales como esteroides y alcoholes (como en ceras).

Esto significa que la oxidación de lípidos puede ser bastante generalizada en los alimentos, incluso en formulaciones de bajas en lípidos. **(Schaich K. et. al., 2013)**

#### **2.10.4. Mecanismos de Oxidación de Lípidos: Tradicional Cadena de los Radicales Libres**

La oxidación de lípidos durante mucho tiempo ha sido reconocido como una reacción en cadena de radicales libres que se produce en tres etapas: Iniciación, propagación y terminación (Figura 15). **(Swern, (1961) citado por Schaich K. et. al., (2013))**

La reacción en cadena de radicales es responsable de varias características cinéticas únicas que presentan desafíos diferentes en la medición y el control de la oxidación de lípidos, y son parte de la razón por la que la oxidación de los lípidos es un problema importante en la estabilidad de almacenamiento de los alimentos **(Cosgrove J. et al, (1987) citado por Schaich K. et. al., (2013))**:

- La oxidación lipídica es auto-catalítica: una vez iniciada, la reacción se auto-propaga y auto-acelerada.
- Cuántas más moléculas de lípido se oxidan más de un LOOH se forma por la iniciación. Longitudes de cadena de varios cientos de moléculas de lípidos se han medido.
- Cantidades muy pequeñas de pro-oxidantes y antioxidantes provocan grandes tipos de variaciones.
- La reacción produce múltiples productos intermedios y productos que cambian con las condiciones de reacción y el tiempo.

### 2.10.4.1. Iniciación (LH→L\*)

Debido a que la oxidación de lípidos ocurre tan fácilmente y se encuentra de manera ubicua, se refiere a menudo como un proceso espontáneo. Sin embargo, la oxidación de lípidos no es termodinámicamente espontánea, es decir, que no puede suceder por sí sola. El oxígeno normal es un estado de espín triplete (electrones impares paralelo), mientras que los dobles enlaces están en estados de espín singlete (electrones con espín opuesto), por lo que el oxígeno atmosférico no puede reaccionar directamente con enlaces dobles de lípidos. (Figura 14) (Anonymous, (1981) citado por Schaich K. et. al., (2013))



**Figura 14.** Oxidación de Lípidos Limitada. (Anonymous, (1981) citado por Schaich K. et. al., (2013))

Por lo tanto, la oxidación de lípidos siempre requiere de un iniciador o catalizador para quitar un electrón ya sea del lípido o del oxígeno, para la creación de radicales, o para cambiar el espín del electrón del oxígeno de manera que se puede añadir directamente al doble enlace para formar hidroperóxidos que se descomponen a radicales. Cualquiera que sea el iniciador, el resultado final es la formación de radicales alquilo de lípidos iniciales que reaccionan con el oxígeno para iniciar el proceso de oxidación. (Schaich K. et. al., 2013)

## 2.10.4.2. Propagación y Ramificación

### A) Reacciones Básicas

La propagación es el corazón del proceso de oxidación. En ella, el oxígeno se suma a las tasas de difusión controlada (casi instantáneamente) a radicales alquilo de lípidos relativamente no reactivos,  $L^*$ , convirtiéndolos a radicales peroxilo reactivos,  $LOO^*$  (Reacción b en la Figura 15), que establecen la cadena de los radicales libres y mantienen el funcionamiento. Los radicales peroxilo extraen hidrógenos a partir de moléculas de lípidos adyacentes para formar hidroperóxidos,  $LOOH$ , y generan nuevos radicales  $L^*$  en el proceso (Reacción c, figura 15). Cada nuevo  $L^*$  radical a su vez agrega oxígeno, forma un radical peroxilo, extrae un hidrógeno de otro lípido, forma otro hidroperóxido, y genera un nuevo radical  $L^*$  para proporcionar la fuerza motriz de la reacción en cadena (Reacción d, Figura 15). El proceso continúa indefinidamente hasta que no hay ninguna fuente de hidrógeno disponible o la cadena es interceptada. (Schaich K., 2005)

Los radicales peroxilo son los principales portadores de la cadena en la oxidación temprana. Sus extracciones son bastante lentas y específicas ( $k = 36 - 62 \text{ l / mol / s}$ ) (Gebicki y Bielski, (1981) citado por Schaich K. et. al., (2013)), lo que contribuye a un período inicial lento en el que la oxidación de lípidos puede o no pueden ser detectados.

La cadena continúa una extracción cada vez desde el punto de iniciación. Sin fuerzas que descomponen los hidroperóxidos, este proceso puede continuar indefinidamente a una velocidad lenta. Sin embargo, las reacciones se aceleran cuando los hidroperóxidos se acumulan y luego se descomponen a radicales alcoxi, radicales peroxilo, radicales hidroxilo por metales, el calor y la radiación ultravioleta (UV) (reacciones e, f, y g en la Figura 15). Una distinción importante en descomposiciones de hidroperóxido es que las reacciones de metal son heterolíticas, produciendo un radical y un ion, mientras que el calor y la luz UV induce la escisión homolítica que genera dos radicales, alcoxilo ( $LO^*$ ) y hidroxilo ( $HO^*$ ), los cuales reaccionan mucho más rápidamente y más generalmente que el  $LOO^*$ . Una vez formados, estos radicales aumentan en gran medida la tasa de reciclaje en la reacción en cadena, y atacan a más sitios sobre los lípidos. (Schaich K., 2005)

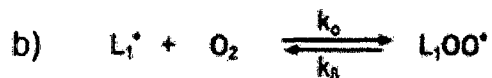
## Reacción Clásica en Cadena de los Radicales Libres de la Oxidación de Lípidos

**Iniciación** (formación de radicales libres a partir de lípidos)

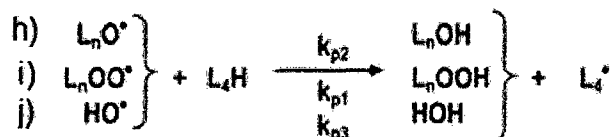


**Propagación**

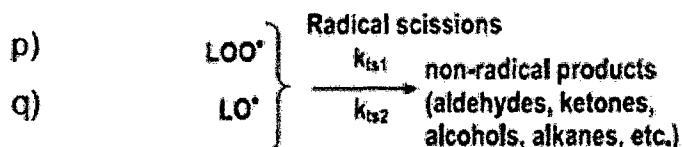
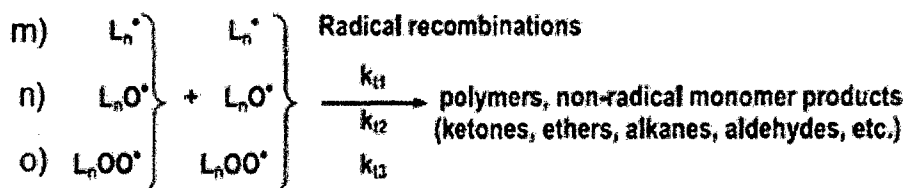
Reacción en cadena de los radicales libres establecida



La ramificación de cadena de los radicales libres (inicio de nuevas cadenas)



**Terminación** (formación de productos no radicales)

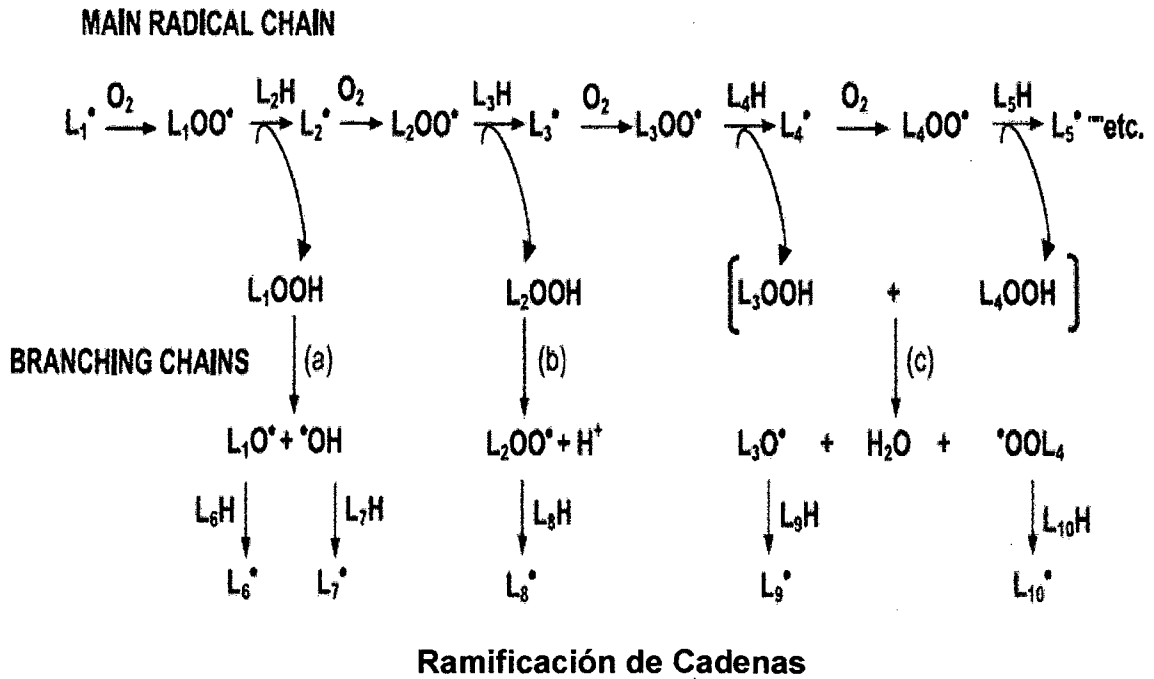


**i**-iniciación; **o**-oxigenación; **β-O<sub>2</sub>** escisión; **p**-propagación; **d**-disociación;

**t**-terminación; **ts**-terminación/escisión

**Figura 15.** Reacción Clásica en cadena de los radicales libres de la oxidación de lípidos como tradicionalmente se entiende. (Schaich K., 2005)

### Cadena de Radicales Principal



**Figura 16.** Expansión de la reacción en cadena de la oxidación de lípidos por ramificación de cadena.

La propagación extiende la cadena original del primer radical por extracción de hidrógeno (cadena arriba). La ramificación de cadena se produce cuando los productos de hidroperóxido de la cadena original, se descomponen por (a) la reducción, (b) la oxidación, o (c) dismutación bimolecular a múltiples radical y todos inician nuevas cadenas. Las tasas de propagación son más rápidas en las cadenas con  $LO^\bullet$  como el portador de la cadena. (Schaich K., 2005)

El cambio en la velocidad de propagación y la extracción específica clasifica la progresión en una segunda etapa de propagación llamada ramificación, en el que la reacción en cadena de radicales se expande, estableciendo nuevas cadenas a velocidades más rápidas. El efecto de la ramificación se muestra esquemáticamente en la figura 16. La oxidación de lípidos reúne vapor, el aumento en la velocidad y el grado en el que LO\* se convierte en el dominante, y el más rápido portador de cadena ( $k = 10^6\text{-}10^7$  l / mol / s) (Erben-Russ et al, (1987) citado por Schaich K. et. al., (2013)); las cadenas secundarias se amplifican y la difusión de la oxidación de lípidos es manera espectacular más allá de la cadena de radicales inicial. De esta manera, un solo suceso iniciador puede conducir a la oxidación secuencial de, literalmente, cientos de moléculas en la cadena principal y en las cadenas de ramificación secundaria. (Cosgrove et al, (1987) citado por Schaich K. et. al., (2013))

Un punto final acerca de la propagación se debe hacer antes de continuar. En las primeras etapas de la oxidación de lípidos cuando los hidroperóxidos están en bajas concentraciones, las descomposiciones de los hidroperóxidos se producen monomolecularmente (de uno en uno) como se muestra en las reacciones de e, f, y g de la Figura 15. Sin embargo, como la oxidación progresa y los hidroperóxidos se acumulan, la descomposición se desplaza a mecanismos bimoleculares en los que dos hidroperóxidos interactúan para inducir la descomposición. (Hiatt y McCarrick, (1975) citado por Schaich K. et. al., (2013))

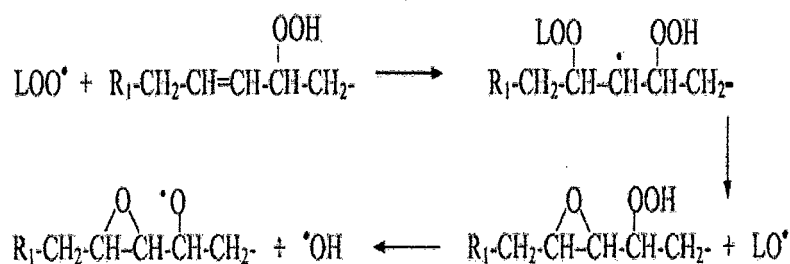


La explicación tradicional propone que el enlace de hidrógeno de los hidroperóxidos se somete a hidrólisis concertada para producir dos radicales (Figura 17), los cuales van a iniciar reacciones de ramificación y aceleran la velocidad de oxidación general (Hiatt y McCarrick, (1975) citado por Schaich K. et. al., (2013)):



**Figura 17.** Hidrólisis Concertada del Enlace de Hidrógeno de los Hidroperóxidos. (Hiatt y McCarrick, (1975) citado por Schaich K. et. al., (2013))

Una explicación alternativa sugiere que el dramático aumento de la oxidación es cinéticamente más probable cuando un radical reacciona lentamente con un hidroperóxido y no se propaga para generar una poderosa cascada de tres radicales (Figura 18) muy reactivos:  $\text{LO}^\bullet$ , epoxi- $\text{LO}^\bullet$  y  $^\bullet\text{OH}$  (Elson et al., (1975) citado por Schaich K. et. al., (2013)):

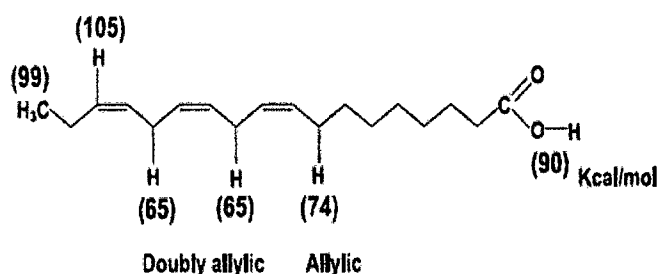


**Figura 18.** Reacción de un Radical y un Hidroperóxido. (Elson et al., (1975) citado por Schaich K. et. al., (2013))

Cualquiera que sea el mecanismo es operativo, el efecto inicial de la descomposición bimolecular es acelerar drásticamente la oxidación de lípidos. Sin embargo, como la oxidación avanza, con el tiempo los desgloses de hidroperóxidos y las reacciones de terminación, tales como la recombinación radical alcoxilo o la escisión radical, se vuelven más rápidas que el inicio de nuevas cadenas. La oxidación continúa y luego desacelera formando productos secundarios estables, malos sabores y olores que se hacen detectables. (Schaich K. et. al., 2013)

### B) Los sitios de la extracción de hidrógeno y L\*/ LOOH Formación en ácidos grasos insaturados

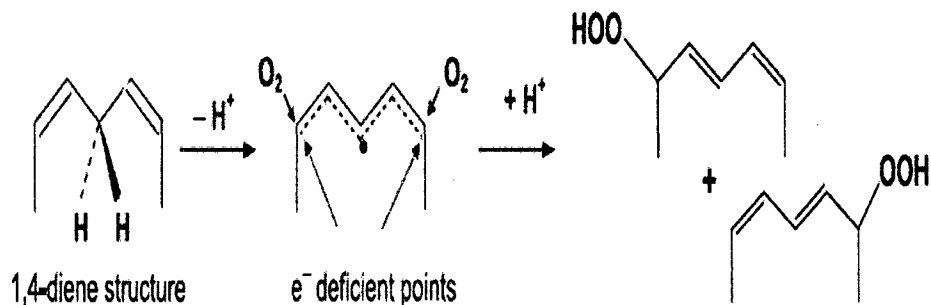
Durante la propagación, los radicales libres oxilo de lípidos extraen hidrógenos a partir de las posiciones de carbono con la unión más débil. Las energías más bajas de los enlaces de C–H en los ácidos grasos insaturados son los hidrógenos alílicos (al lado de enlaces dobles) por lo que estos se convierten en los sitios preferidos para el retiro H y la formación de un radical libre. Los grupos –CH<sub>2</sub>– entre dos enlaces dobles en los lípidos (llamadas doblemente alílico) están doblemente activados de modo que las energías de los enlaces C–H caen enormemente (Figura 19). (Kerr, (1966) citado por Schaich K. et. al., (2013))



**Figura 19.** Enlaces de C–H y –CH<sub>2</sub>–. (Kerr, (1966) citado por Schaich K. et. al., (2013))

Por lo tanto, el orden de preferencia por las extracciones de hidrógeno en ácidos grasos es H entre dos dobles enlaces (lo que explica en parte por qué oxidabilidad de ácidos grasos aumenta con el número de enlaces dobles)> solo los H alílico junto a los dobles enlaces>> H adyacente al grupo –COOH> el H en grupos metileno más abajo en las cadenas de acilo. (Patterson y Hasegawa, (1978) citado por Schaich K. et. al., (2013))

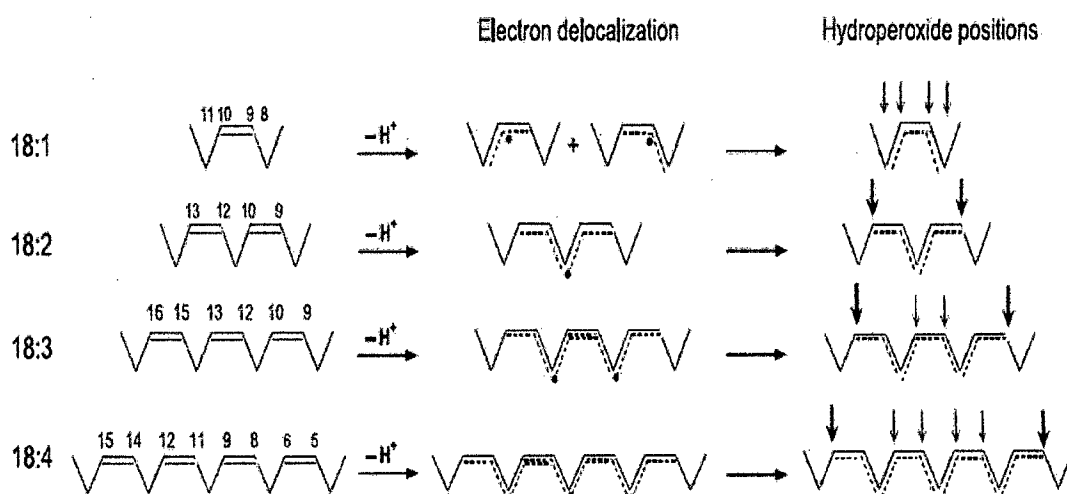
Cuando un hidrógeno se extrae entre dos enlaces dobles, el electrón libre restante (es decir, el radical) se distribuye a través de un sistema de resonancia estabilizado de doble enlace (Figura 20). La mayor densidad de electrones se concentra en el centro (el enlace más débil C–H), por lo que las posiciones externas se vuelven relativamente deficiente en electrones, proporcionando objetivos mejorados para la adición de oxígeno y la formación de hidroperóxido. (Schaich K. et. al., 2013)



**Figura 20.** Sistema de Resonancia Estabilizado de Doble Enlace. (Schaich K. et. al., 2013)

Por tanto, el ácido linoleico forma hidroperóxidos casi exclusivamente en las posiciones externas carbonos 9 y 13 durante la autooxidación. En los ácidos grasos poliinsaturados con más de dos enlaces dobles y múltiples estructuras 1,4-dieno, los hidroperóxidos dominantes de la autooxidación de ácidos grasos también se encuentran en las posiciones externas (Figura 21), independientemente del número de dobles enlaces. (Schaich K. et. al., 2013)

Dos excepciones notables a esta regla son los siguientes: (1) los hidrógenos se extraen (y se forman hidroperóxidos) igualmente en ambos carbonos de doble enlace y dos carbonos vecinos de enlaces dobles aislados, como en el ácido oleico, y (2) hidroperóxidos internos, por ejemplo, carbonos 10 y 12 en el ácido linoleico, se forman durante la oxidación fotosensibilizada por oxígeno singlete. (Schaich K., 2005)



**Figura 21.** Distribuciones de electrones de resonancia y ubicaciones correspondientes de hidroperóxidos formados cuando los hidrógenos se extraen de los ácidos grasos insaturados. Las flechas gruesas indican las posiciones dominantes en la formación de hidroperóxidos. (Schaich K., 2005)



### 2.10.4.3. Terminación del Proceso

En la oxidación de lípidos, la «interrupción» es casi un nombre inapropiado ya que la oxidación de lípidos no se detiene por completo. Un radical específico puede cerrarse y forman algún producto, pero por lo general no es otro radical dejado atrás, por lo que la reacción en cadena continúa. La oxidación neta se retrasa cuando los procesos de inactivación de radicales exceden la tarifa de la nueva producción de la cadena, y el impulso de oxidación cambia de propagación de radicales y expansión de la cadena a generación de productos estables. Por lo tanto, la «interrupción» en el análisis siguiente se refiere a la conversión individual de un radical lipídico a un producto, y no a detener la reacción global. El efecto acumulativo en un sistema alimentario se determina por el número de cadenas de radicales cuando el proceso ha terminado. (Schaich K., 2005)

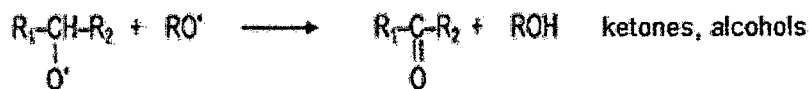
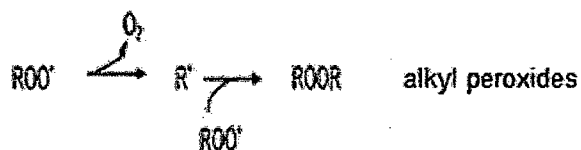
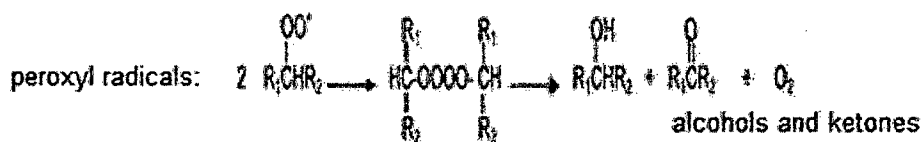
Los radicales libres de lípidos terminan formando productos no radicales por cuatro mecanismos principales (Schaich K., 2005):

- Recombinaciones radicales.
- Reacciones de escisión A y B de radicales alcoxilo cuando las fuentes de protones (por ejemplo, agua) están presentes para estabilizar los productos.
- Co-oxidación de moléculas no lipídicas, tales como proteínas.
- Eliminaciones de grupo o dismutación.

Los mecanismos dominantes en un determinado alimento son influenciados por la naturaleza y concentración de los radicales, la temperatura y la presión de oxígeno, y el disolvente. (Schaich K., 2005)

## A) Recombinaciones radicales

Radicales formados a partir de lípidos oxidantes pueden recombinarse en combinaciones ilimitadas para generar una amplia gama de productos de oxidación. No obstante, las recombinaciones no son al azar, y distintos patrones de recombinaciones favorecidas se han identificado. Algunas de las recombinaciones más importantes responsables de los principales productos de la oxidación de lípidos son (Figura 23) (Schaich K. et. al., 2013):



**Figura 23.** Recombinaciones más importantes responsables de los principales productos de la oxidación de lípidos. (Schaich K. et. al., 2013)

La temperatura y la presión de oxígeno son determinantes en las vías de recombinación de radicales. Recombinaciones de L\* dominan a bajas presiones de oxígeno ( $pO_2 = 1$  a aproximadamente 80-100 mmHg) y las altas temperaturas (reducida solubilidad del oxígeno) (Figura 25). (Labuza, (1971) citado por Schaich K. et. al., (2013)) Alto contenido de oxígeno favorece reacciones LOO\*, pero entonces, los dobles enlaces compiten con la combinación. Las contribuciones de LO\* a la mezcla de productos dominan en las etapas secundarias de oxidación a temperaturas y presiones de oxígeno moderadas, cuando LOOH o LOO\* se descomponen son más rápidos que cuando se forman. (Bolland, (1949) citado por Schaich K. et. al., (2013))

Las recombinaciones de radicales aumentan su importancia en relación con otros productos a medida que aumenta la oxidación y los productos intermedios se acumulan. Por ejemplo, radicales alcoxilo de hydroperoxyepidioxides se calentaron a 40°C y generaron > 90% de dímeros. (Neff W. et al., (1988) citado por Schaich K. et. al., (2013))

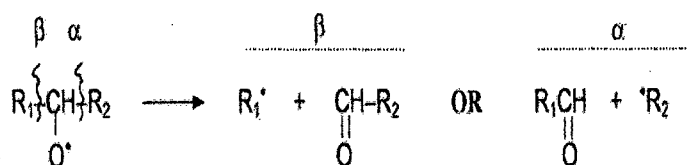
Las recombinaciones de radicales son responsables de muchas de las características de los aceites o lípidos oxidados. Las recombinaciones son la difusión y la concentración controlada (Tsentalovich Y. et al, 1998), por lo que se producen más fácilmente cuando la viscosidad y las concentraciones de radicales son ambas altas, es decir, en aceites puros después de oxidación extensa; las recombinaciones disminuyen con la dilución de lípidos y son probablemente poco importantes en disolventes polares. (Grosch W., (1987) citado por Schaich K. et. al., (2013))



Las recombinaciones de radicales Alquilo primario generan los dímeros y polímeros que dan cuenta del aumento de la viscosidad en los aceites oxidados. Tal vez lo más importante, de las recombinaciones de radicales alcoxilo y sus productos de fragmentación (véase más adelante) es que generan bajos niveles de compuestos volátiles y componentes de sabor que aumentan los producidos en las reacciones de escisión y proporcionan los matices y completan los sabores secundarios. (Grosch W., (1987) citado por Schaich K. et. al., (2013)) Las cetonas y peróxidos de dialquilo, en particular, dan como resultado únicamente las reacciones de recombinación.

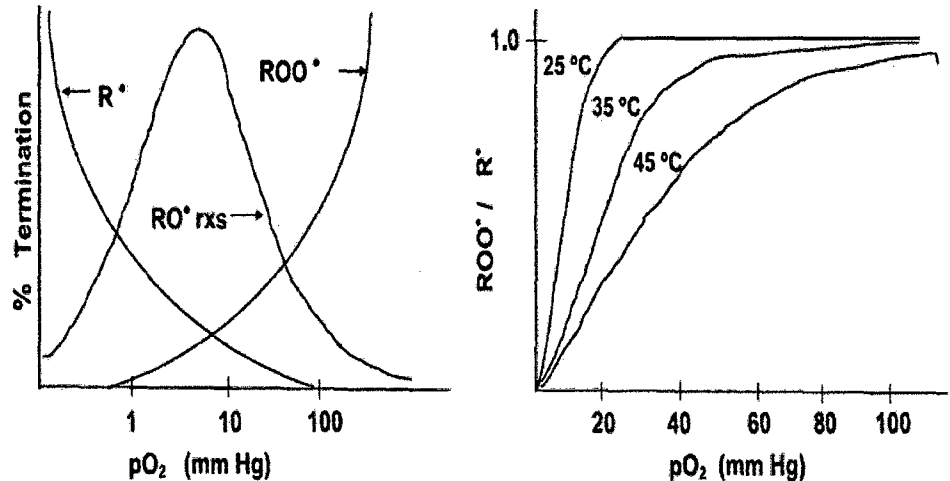
#### B) Las reacciones de escisión de LO\*

La escisión de radicales alcoxilo (Figura 24) probablemente tiene las mayores consecuencias prácticas en la oxidación de lípidos debido a que los productos generados son responsables del distintivo volátil, malos olores y malos sabores que son fuertes marcadores de la rancidez. Los radicales alcoxilo de los lípidos se someten a escisión del enlace del C–C sobre cada lado del grupo alcoxilo para dar una mezcla de productos finales de carbonilo (aldehídos y típicamente oxo-ésteres de los radicales alcoxilo iniciales) y libre de radicales alquilo que pueden continuar la reacción en cadena (Grosch W., (1987) citado por Schaich K. et. al., (2013)):



**Figura 24.** Reacciones de escisión de LO\*. (Grosch W., (1987) citado por Schaich K. et. al., (2013))

Fragmentos radicales insaturados se oxidan más y luego se someten a escisiones secundarias para producir carbonilos y alcanos de cadena más corta. En consecuencia, las mezclas de productos que se acumulan en los lípidos oxidados pueden llegar a ser bastante complejo. (Schaich K., 2005)



**Figura 25.** Efectos de oxígeno y la temperatura en los procesos de terminación en la oxidación de lípidos.

Muchos productos oxigenados son favorecidos por los altos contenidos de oxígeno y las bajas temperaturas, las reacciones de alquilo y dimerizaciones son favorecidos por los bajos niveles de oxígeno y temperaturas elevadas. (Schaich K., 2005)

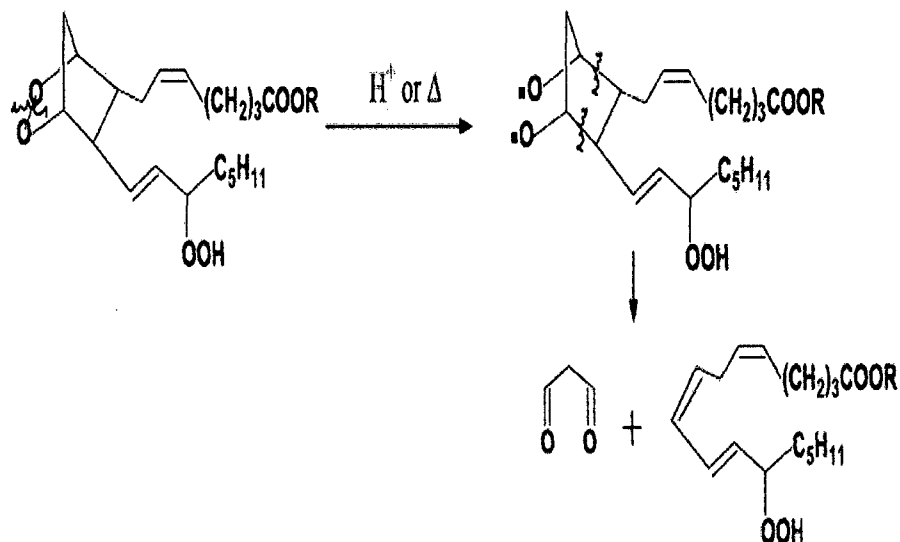
La escisión de radicales alcoxilo requiere un fuerte donador de protones. Los átomos de hidrógeno y los enlaces de hidrógeno en ambos estados de transición intermedios y productos polares finales de escisión, reducen la energía de activación para la ruptura del enlace; luego el  $H^+$  del disolvente, lo añade inmediatamente a los radicales de escisión para proporcionar la fuerza impulsora para la reacción. (Tsentalovich et al., 1998)

Por lo tanto, las escisiones de los radicales alcoxilo son muy rápidas en presencia de agua (por ejemplo, en emulsiones) y, de hecho representan alrededor de la mitad de las reacciones de radicales alcoxilo en medios polares, especialmente en soluciones diluidas de lípidos donde se reduce la competencia de extracción de hidrógeno. **(Bors et al., (1984) citado por Schaich K. et. al., (2013))**

Sin embargo, la mayor contribución de esta terminación (y propagación) de reacción es a temperaturas elevadas porque la escisión de LO\* tiene una gran Ea y log A (factor de Arrhenius). **(Horner J. et al., 2000)**

El calor acelera las escisiones de los radicales alcoxilo en todos los disolventes, aunque el patrón de escisión puede cambiar a medida que la temperatura aumenta. La escisión es un proceso de menor importancia en lípidos puros a temperatura ambiente. **(Pryor et al, (1976) citado por Schaich K. et. al., (2013))**

La discusión de las reacciones de escisión estaría incompleta sin la mención de malondialdehído (MDA), uno de los productos más conocidos de la oxidación de los lípidos. MDA surge de múltiples escisiones de hidroperóxidos cíclicos internos formados en ácidos grasos con tres o más enlaces dobles (linolénico y mayores) (Figura 26). **(Pryor et al, (1976) citado por Schaich K. et. al., (2013))**



**Figura 26.** Escisión que se produce con las mezclas complejas de productos en la oxidación de ácido linolénico y mayores. (Grosch W., (1987) citado por Schaich K. et. al., (2013))

El MDA es muy utilizado - y mal utilizado - en ensayos de oxidación de lípidos debido a que puede ser detectado sin la extracción de lípidos. Sin embargo, no es un producto universal y no es apropiado para el ensayo de oxidación de ácidos grasos con menos de tres enlaces dobles. La formación de MDA se facilita en fases lipídicas puras, con lípidos y oxígeno escasos, y por oxidación fotosensibilizada; también requiere calor suave y ácido para la escisión en endoperóxido. (Porter N. et al, (1984) citado por Schaich K. et. al., (2013))

En lípidos autooxidados, los rendimientos de la auténtica MDA son por lo general menos de 0,1%, aunque en ácidos grasos fotosensibilizados donde los hidroperóxidos internos se forman en concentraciones altas las concentraciones de MDA pueden llegar a 5% o más. **(Frankel y Neff, (1983) citado por Schaich K. et. al., (2013))** Por lo tanto, este ensayo no es la mejor opción para el análisis de la oxidación de lípidos en la mayoría de los sistemas alimentarios.

### **C) Co-oxidación de las moléculas no lipídicas**

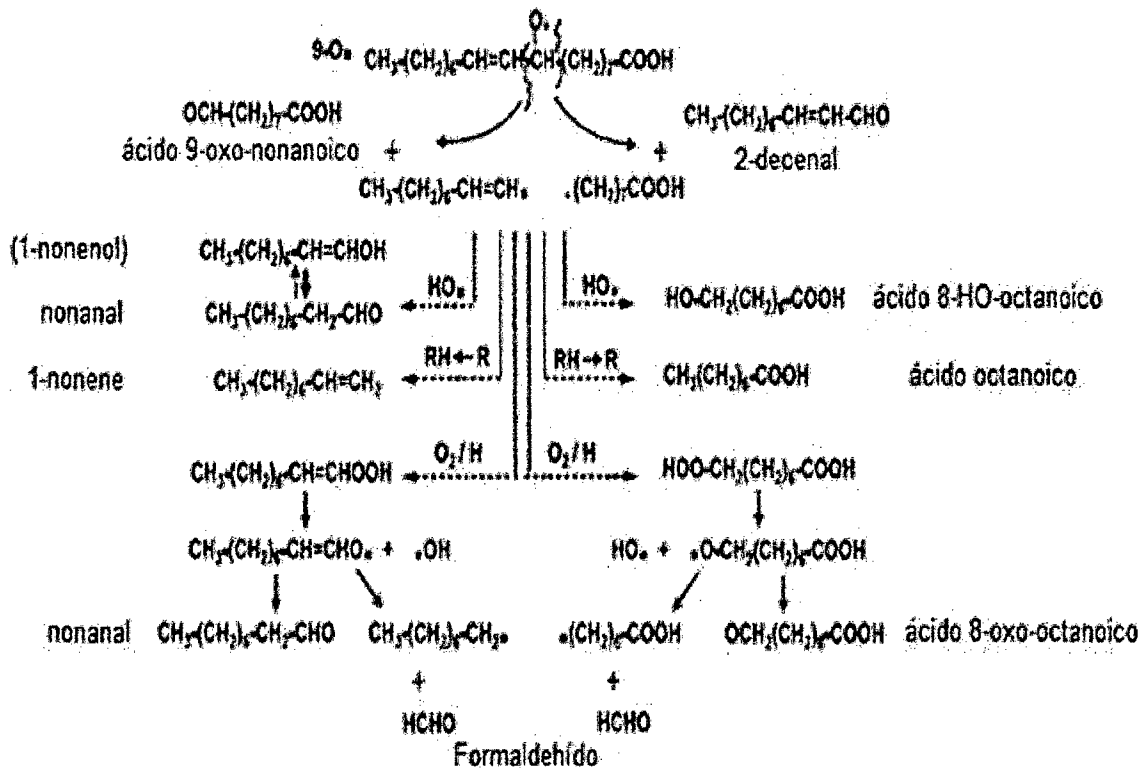
Si bien se necesita transferencia de hidrógeno para saciar un radical lipídico particular, el átomo de hidrógeno puede venir de cualquier molécula que tenga (mal adheridas) hidrógenos extraíbles y esté situada cerca de los lípidos. En los alimentos y en las células, los lípidos están estrechamente relacionados con las proteínas, carotenoides y otros pigmentos, almidones, antioxidantes y vitaminas, y la transferencia radical a cualquiera de estas moléculas a través de la extracción de hidrógeno o adición de LOO\* o LO\* a los enlaces dobles que pueden conducir a la co-oxidación de estas moléculas. **(Schaich K. et. al., 2013)**

Las Co-oxidaciones son un proceso en el que la interceptación de los radicales libres de lípidos por moléculas de no lipídicas que detienen la propagación y forman productos de lípidos en un lado, durante la transferencia de radicales y la potencial oxidación de proteínas y otras biomoléculas. (Schaich K., 2008)

Esta reacción es similar a la de los antioxidantes pero difiere críticamente en que los radicales formados no son estables. La mayor parte de estos radicales no lipídicos añaden oxígeno para formar radicales peroxilo que también extraen H de otras moléculas y conducen a la degradación oxidativa del objetivo molecular. De esta manera, los lípidos sirven para 'difundir' daños de oxidación a otras moléculas que luego proporcionan huellas de la oxidación de lípidos en los alimentos y los sistemas biológicos. (Schaich K., 2008)

Las reacciones de co-oxidación son genéricas de moléculas objetivo y se muestran en las figuras 28 y 29. TH es cualquier molécula objetivo y RH es cualquier molécula con un hidrógeno extraíble, ya sea de lípidos o no lípido. Los enlaces dobles conjugados en la figura 29 pueden estar en cualquier molécula, pero son particularmente numerosos en carotenoides. (Schaich K., 2005)

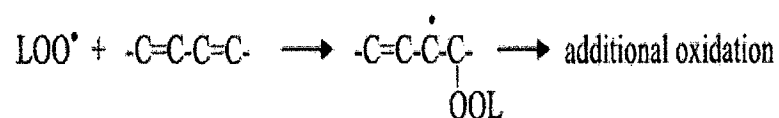
## ÁCIDO OLEICO



**Figura 27.** Vías de escisión para el ácido oleico. (Schaich K., 2005)



**Figura 28.** Escisión que se produce con las mezclas complejas de productos en la oxidación de ácido oleico (Schaich K., 2005)



**Figura 29.** Escisión que se produce con las mezclas complejas de productos en la oxidación con enlaces dobles conjugados (Schaich K., 2005)

Tal vez las co-oxidaciones más notables implican proteínas. Los hidrógenos extraíbles están disponibles en los grupos amino de la cadena lateral (Figura 31) y los grupos tior (Figura 32), tanto la histidina, lisina, arginina y la cisteína son los principales objetivos para la extracción de hidrógeno a partir de proteínas. (Yong y Karel, (1979) citado por Schaich K. et. al., (2013)) Las reacciones de adición de radicales también han sido reportados (figuras 31b y 32b) (Gardner et al, (1985) citado por Schaich K. et. al., (2013))

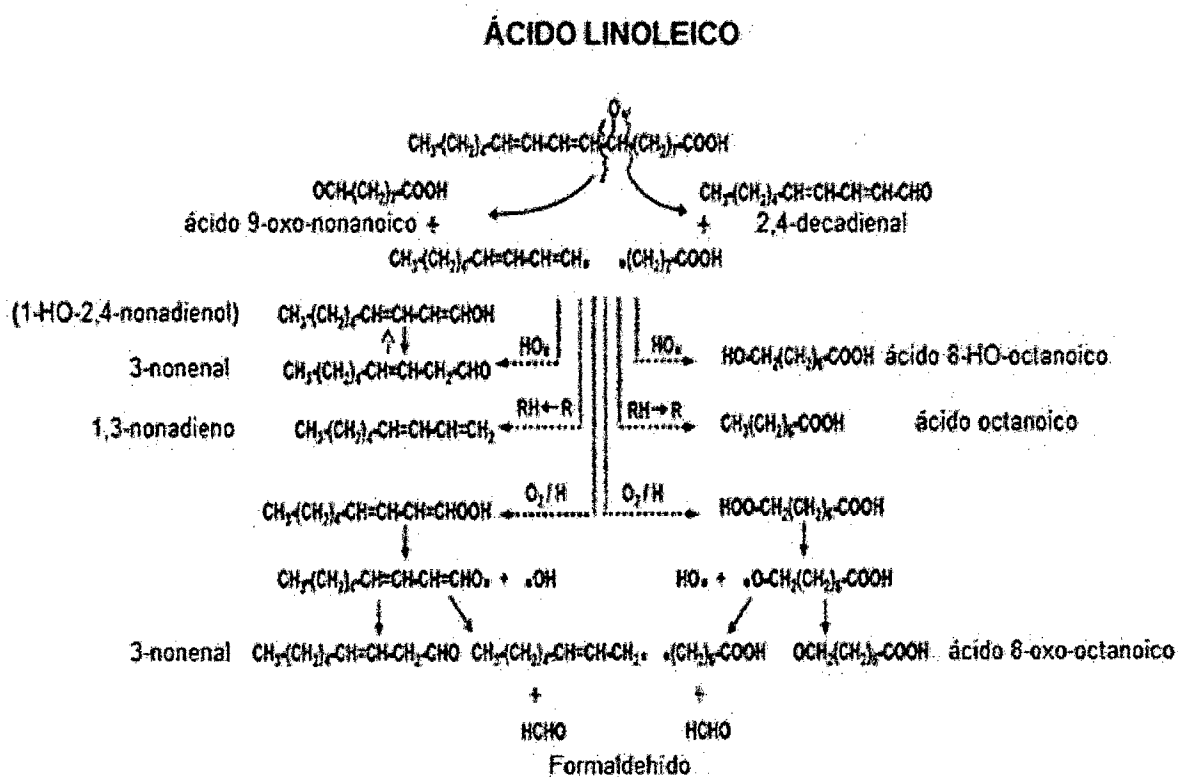
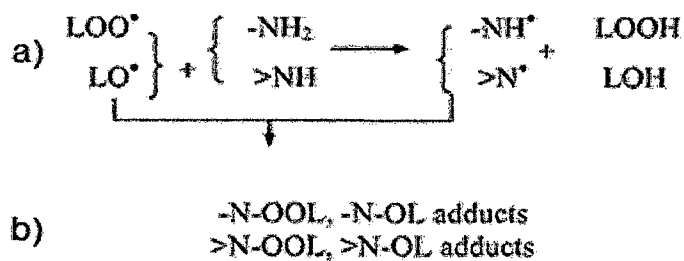
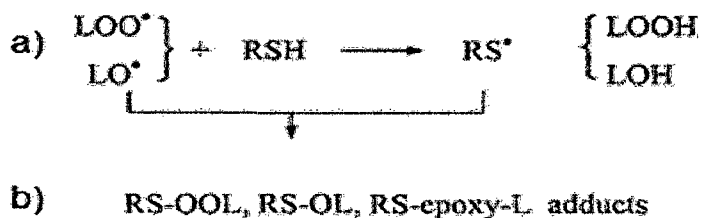


Figura 30. Vías de escisión para el ácido linoleico. (Schaich K., 2005)





**Figura 31.** Hidrógenos extraíbles de los grupos amino de la cadena lateral. (Gardner et al, (1985) citado por Schaich K. et. al., (2013))



**Figura 32.** Hidrógenos extraíbles de los grupos tiol. (Gardner et al, (1985) citado por Schaich K. et. al., (2013))

Las reacciones de Co-oxidación no deben ser ignoradas en la consideración de la cinética de oxidación de lípidos, los mecanismos y en los efectos globales en los alimentos y los sistemas biológicos. Un problema crítico es que mientras que las reacciones de co-oxidación terminan en las cadenas de oxidación de lípidos estas actúan como antioxidantes, al mismo tiempo, y la oxidación de lípidos por medio de los hidroperóxidos o productos intermedios disminuye. (Schaich K. et. al., 2013)

Los productos de la Co-oxidación también limitan de extracción de lípidos para el análisis y, a menudo eliminan las corrientes de productos de los lípidos normalmente analizadas. Como resultado de ello, en la oxidación de lípidos en sistemas complejos es probable que siempre sea subestimada - a veces severamente - a menos que los productos de la co-oxidación también se midan. En los alimentos, por ejemplo, significa supervisar al menos la oxidación en las proteínas y el blanqueo de pigmentos. Las moléculas objetivo sensibles deben ser identificados para cada producto alimenticio para adaptar los análisis para considerar totalmente la oxidación de los lípidos. (Schaich K. et. al., 2013)

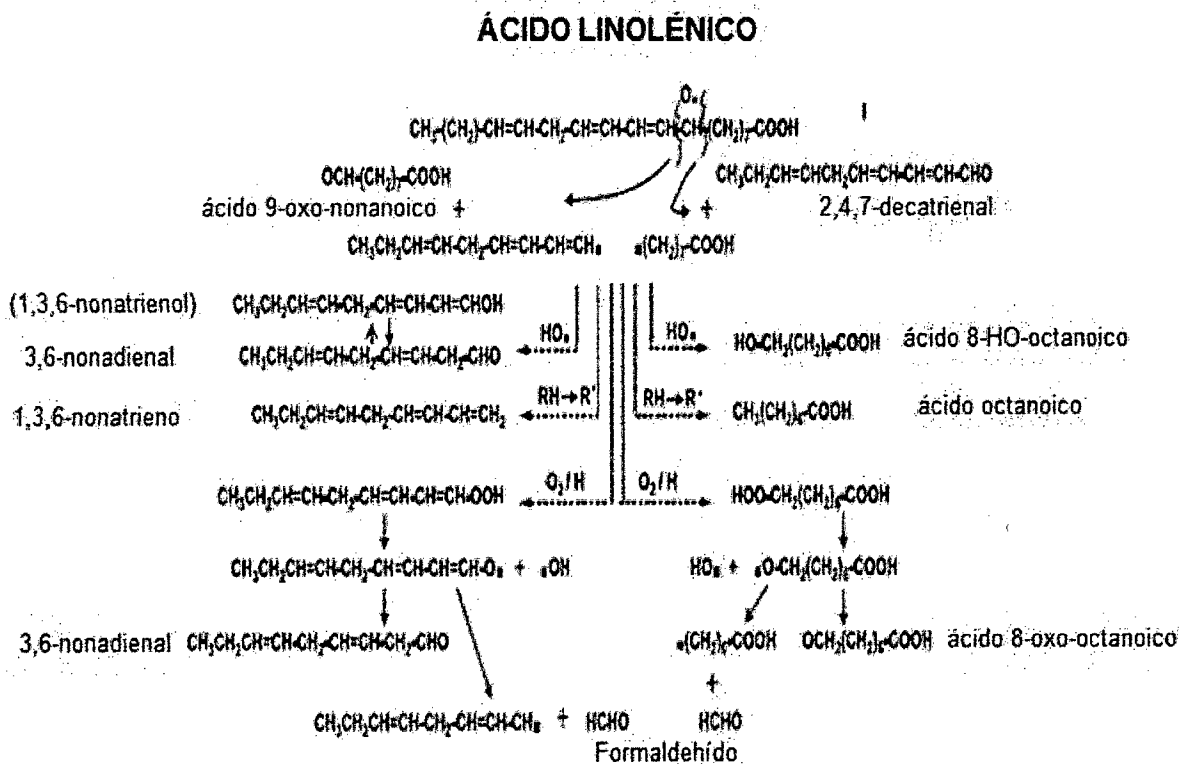
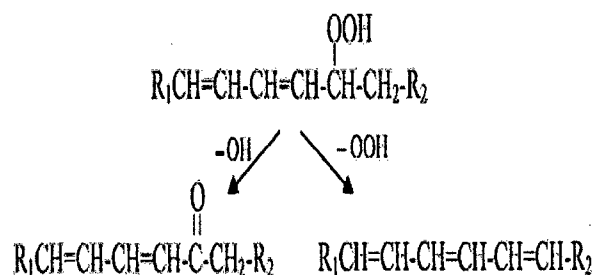


Figura 33. Vías de escisión para el ácido linolénico. (Schaich K., 2005)

## D) Eliminaciones de grupo

Las eliminaciones de grupo son una forma menor de la terminación, pero es importante reconocer la reacción, ya que representa algunos productos de la oxidación de lípidos, que no se forman fácilmente por otros mecanismos. Las eliminaciones más comunes son HO- y HOO-, (a) que pueden eliminar el LOOH, produciendo un carbonilo interno (cetona) y (b) un producto desaturado con un doble enlace adicional (Figura 34). (Bothe et al, (1978) citado por Schaich K. et. al., (2013)) El producto específico formado está determinado por la posición del hidropéroxido en la cadena de ácido graso.

La formación de la cetona, el producto dominante, evita la descomposición del hidropéroxido para reactivar los radicales alcoxilo. La adición de un doble enlace a un ácido graso poliinsaturado forma un trieno conjugado muy reactivo que es altamente susceptible a la adición de radicales y una variedad de otras oxidaciones secundarias. Por lo tanto, mientras se termina una única cadena de radicales, este producto puede aún contribuir a las cadenas adicionales, añadiendo la complejidad de la oxidación de lípidos. (Bothe et al, (1978) citado por Schaich K. et. al., (2013))



**Figura 34.** Producto desaturado con un doble enlace adicional. (Bothe et al, (1978) citado por Schaich K. et. al., (2013))

### **2.10.5. Mecanismos de los Antioxidantes**

Para prevenir o detener las reacciones de oxidación en aceites y grasas vegetales se hace uso de antioxidantes, los cuales pueden actuar por medio de diferentes mecanismos (**Prior L. et al., 2005**):

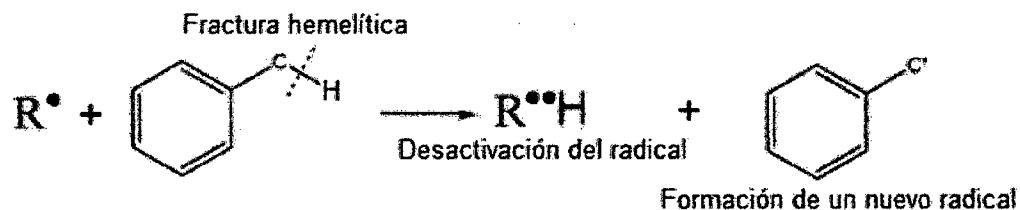
- 1) Deteniendo la reacción en cadena de oxidación de las grasas.
- 2) Eliminando el oxígeno atrapado o disuelto en el producto, o el presente en el espacio que queda sin llenar en los envases, el denominado espacio de cabeza.
- 3) Eliminando las trazas de ciertos metales, como el cobre o el hierro, que facilitan la oxidación.

Los que actúan por los dos primeros mecanismos son los antioxidantes propiamente dichos, mientras que los que actúan de la tercera forma se agrupan en la denominación legal de "sinérgicos de antioxidantes", o más propiamente de agentes quelante. Los antioxidantes frenan la reacción de oxidación, pero a costa de destruirse ellos mismos. El resultado es que la utilización de antioxidantes retrasa la alteración oxidativa del alimento, pero no la evita de una forma definitiva. (**Prior L. et al., 2005**)

Se han descritos dos mecanismos por medio de los cuales los antioxidantes pueden desactivar a los radicales libres (**Prior L. et al., 2005**):

### 2.10.5.1. Mecanismo por transferencia de un hidrógeno (MTP)

Este mecanismo (Figura 35) puede ser representado por medio de la siguiente reacción (Prior L. et al., 2005):

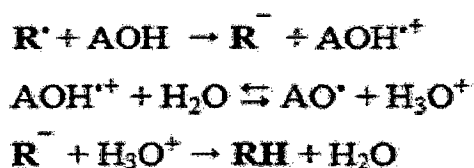


**Figura 35.** Mecanismo por transferencia de un hidrógeno. (Prior L. et al., 2005)

La presencia de un radical libre altamente reactivo induce la ruptura homolítica de un enlace en la molécula del antioxidante. Por lo general esta fractura se produce en una unión oxígeno – hidrógeno, como resultado ocurre la transferencia de un  $\text{H}^{\bullet}$  hacia el radical y la formación de un nuevo radical libre menos reactivo. Este mecanismo se ve en presencia de moléculas aromáticas y de otras moléculas que posean un elevado grado de conjugación, ya que los dobles enlaces alternos permiten la deslocalización del electrón no compartido y, como resultado el radical formado es más estable. En este caso, las medidas de capacidad antioxidante se basan en cinéticas competitivas, en las cuales se mide la rapidez con la cual diversas moléculas reaccionan con el radical libre. (Prior L. et al., 2005)

### 2.10.5.2. Mecanismo por transferencia simple de un electrón (MTE)

El mecanismo se fundamenta en la capacidad del antioxidante para ceder un electrón y con ello reducir sustancias tales como radicales libres, carbonilos, iones metálicos, etc. Una secuencia de reacciones característica de este tipo de mecanismo es la siguiente (Prior L. et al., 2005):



**Figura 36.** Mecanismo por transferencia simple de un electrón. (Prior L. et al., 2005)

En este caso, el antioxidante cede un electrón al radical libre, por lo que el potencial de ionización de la molécula es muy importante para establecer la factibilidad de que el proceso ocurra. Como resultado se neutraliza al radical y se forma una especie altamente inestable ( $\text{AOH}^{\bullet+}$ ) que cede un protón a la molécula de agua para producir un radical libre, que se estabilizará por los efectos inductivos o resonantes asociados a su estructura molecular. La medición de la capacidad antioxidante se basa por lo tanto, en el poder reductor que exhiba el compuesto. (Prior L. et al., 2005)

### **2.10.6. Estabilidad Oxidativa**

El estado oxidativo del producto, indica su situación oxidativa actual y que depende de las condiciones de manejo, almacenamiento y procesamiento de las materias primas y productos intermedios y finales, en suma de la historia del producto, más no proporciona ninguna información acerca de su posible estabilidad. Cuando se trata de estabilidad, en realidad estamos queriendo estimar su comportamiento futuro, donde no solamente la historia del producto está implicada, sino también su composición química, es decir la presencia o ausencia de antioxidantes o pro-oxidantes, la cantidad de ácidos grasos insaturados y su tipo, etc., factores de vital importancia en la estabilidad de un aceite o grasa. (**Barrera D., 1998**)

La estabilidad oxidativa se define como la resistencia de una matriz lipídica a la oxidación por efecto de la temperatura, luz, oxígeno, presencia de metales etc., lo que genera el deterioro de un aceite o grasa en un periodo de tiempo razonablemente corto. (**Frankel N., 1998**)

### **2.10.7. Relación empírica entre el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y la temperatura**

Se estableció una relación matemática entre los valores de OSI y la temperatura utilizada en el equipo Rancimat, tal como lo han señalado para aceites vegetales. (Nakatani et al., (2001) y Méndez et al.,(2006))

En la ecuación empírica (17), el término A representa el coeficiente de temperatura, que indica que tan susceptible es el aceite virgen al aumento de la temperatura durante el ensayo de oxidación acelerada, dicho valor es calculado a partir de la pendiente de las rectas que se obtienen al representar el logaritmo decimal de OSI en función a la temperatura. El término B corresponde a un valor empírico sin significación física. (Nakatani et al., (2001) y Méndez et al.,(2006))

$$\text{Log(OSI)} = AT + B \quad (17)$$

La ecuación empírica (17) puede utilizarse para calcular los valores de OSI a temperaturas distintas a aquellas utilizadas en la oxidación acelerada, para lo cual se aplican procedimientos matemáticos de interpolación o extrapolación; en este último caso se extrapolaría a las temperaturas usuales de almacenamiento de los aceites. (Nakatani et al., (2001) y Méndez et al.,(2006))

No obstante, con el propósito de evaluar la capacidad predictiva de la ecuación empírica, se calcularon los valores de OSI para una temperatura de 25°C. (Nakatani et al., (2001) y Méndez et al.,(2006))



También se aplicó el cálculo del error asociado al valor extrapolado aplicando el método de propagación de errores. En primer lugar se hizo la transformación de la ecuación empírica (17) para obtener la ecuación (18) (Nakatani et al., (2001) y Méndez et al.,(2006)):

$$OSI = 10^{AT+B} \quad (18)$$

Para obtener el error de la extrapolación se usó la ecuación diferencial (19) en la cual el diferencial total viene dado por la suma de las derivadas parciales de cada uno de los términos (Nakatani et al., (2001) y Méndez et al.,(2006)):

$$\delta OSI = \left(\frac{\partial OSI}{\partial T}\right)_{A,B} \delta T + \left(\frac{\partial OSI}{\partial A}\right)_{T,B} \delta A + \left(\frac{\partial OSI}{\partial B}\right)_{T,A} \delta B \quad (19)$$

En la ecuación (19),  $\delta OSI$  representa el error de la extrapolación,  $\delta A$  y  $\delta B$  son los errores estándar (SE) de los coeficientes A y B, los cuales se obtienen por el cálculo de los mínimos cuadrados. Obteniéndose por derivadas parciales la ecuación (20):

$$\delta OSI = \ln 10 \cdot (10^{AT+B}) \cdot (A\delta T + T\delta A + \delta B) \quad (20)$$

#### 2.10.8. Relación del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y Energía de Activación de oxidación

Se determinó a partir de la pendiente de la recta que resulta de representar el logaritmo natural de los valores de OSI contra el inverso de la temperatura absoluta. En este caso, R representa la constante universal de los gases y Z es el factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius. (Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989))

La dependencia de los valores de OSI con respecto a la temperatura termodinámica fue utilizada para la determinación de la energía de activación de las reacciones de oxidación en los aceites vegetales vírgenes estudiados. Según las consideraciones de Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989), la adición de los radicales de oxígeno a los ácidos grasos se produce preferentemente en los dobles enlaces entre los átomos de carbono, siguiendo cinéticas de primer orden.

Según estos autores se puede hacer uso de la ecuación:

$$\alpha = \frac{x}{a_0 - x} \quad (21)$$

Donde  $\alpha$ , representa el grado de transformación de las moléculas,  $a_0$  presencia de instauraciones iniciales y  $x$  la formación de los productos secundarios de la oxidación. (Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989))

Integrando la ecuación (21)

$$\int_{\alpha=\alpha_0}^{\alpha=\alpha^*} \frac{d\alpha}{1-\alpha} = \int_{t=t_0}^{t=t^*} dt \quad (22)$$

Donde  $\alpha^*$  representa el grado de transformación para un tiempo  $t^*$  o periodo de inducción, Resolviendo la integral (22) se obtiene la ecuación (23) (Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989)):

$$-\ln(1 - \alpha^*) = Kt \quad (23)$$

Definiendo  $t^*$  como OSI y despejando se obtiene la ecuación (24):

$$OSI = \frac{-\ln(1-\alpha^*)}{K} \quad (25)$$

Se establece la relación entre la constante de velocidad y la temperatura termodinámica (T) haciendo uso de la ecuación de Arrhenius (25). (Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al (1989))

$$K = Z e^{\frac{E_a}{RT}} \quad (25)$$

Sustituyendo (24) en (25) y aplicando logaritmo se obtiene la ecuación (26):

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (26)$$

## 2.11. Métodos para Determinar el Progreso de la Oxidación y Estabilidad Oxidativa de un Aceite Vegetal

Un aspecto importante a considerar para el uso de los aceites vírgenes se relaciona con su estabilidad frente a las reacciones lipídicas de oxidación, lo que puede deteriorar su calidad. La presencia de antioxidantes naturales puede contribuir a la estabilidad oxidativa; no obstante, también es posible la presencia de sustancias con efectos prooxidantes, por lo que se hace necesaria la estabilidad frente a procesos acelerados de oxidación, así como por medio de pruebas en las que se evalúe la capacidad para inactivar los radicales libres responsables de la iniciación de las reacciones de oxidación. (Navas P., 2010)

Las predicciones de vida útil en anaquel de aceites vegetales vírgenes o refinados que hayan sido sometidos a oxidación acelerada, han sido tema de estudio de muchas investigaciones (Farhoosh R. et al., 2007a).

#### **2.11.1. Valor del Peróxido (VP)**

Éste es el método clásico (PV, AOCS Cd 8b-90) para medir la oxidación de un aceite, tiene el inconveniente que solo permite apreciar compuestos peroxidados que se forman en las fases iniciales de la oxidación, motivo por el cual los valores tienden a disminuir bruscamente si la rancidez se encuentra en un estado muy avanzado por lo que también tiene poco valor para el aceite de fritura ya que esta prueba es altamente sensible a las temperaturas y el PV obtenido sería más una indicación del proceso de enfriamiento y almacenamiento después del calentamiento que de los productos formados por efecto de la temperatura. (Gordon M. et al., 2001)

#### **2.11.2. Valor de la Anisidina (AOCS CD 18-90)**

Los aldehídos son productos de la descomposición de los ácidos grasos peroxidados. Este valor mide los niveles de aldehídos utilizándolos como un indicador que determina la cantidad de material peroxidado que ha sido desdoblado dando lugar a diferentes tipos de compuestos carbonílicos. Conjuntamente con los niveles de peróxido presentes, el perfil de la degradación pasada y futura, un aceite puede ser mapeado o graficado especialmente en aceites procesados por segunda vez para reducir el nivel de los ácidos grasos libres. (Navas P., 2010)

### **2.11.3. Absorbancias de Radiaciones en el Ultravioleta (K 232 Y K 270)**

Durante la autooxidación de los ácidos grasos poliinsaturados se forman hidroperóxidos que en su estructura contienen dobles enlaces conjugados, los cuales absorben radiación en torno a una longitud de onda de 232 nm. Estos compuestos evolucionan con el tiempo dando lugar a otros como las diacetonas o, en el caso de los hidroperóxidos de ácidos grasos con tres o más dobles enlaces, a sistemas con tres dobles enlaces conjugados. Estos productos secundarios, procedentes de la degradación de los hidroperóxidos, tienen la característica de absorber radiación UV entorno a los 270 nm. (Navas P., 2010)

### **2.11.4. Método de Oxígeno Activo (AOM)**

Método del oxígeno activo (AOM, AOCS Cd 12-57). Mide la estabilidad de oxidación. Consiste en hacer burbujear aire a través del aceite que se encuentra a una temperatura de 97.8 °F. Se extraen muestras de aceite a intervalos regulares y se determina el valor de peróxido (VP). El AOM es expresado en horas y es el período de tiempo que necesita el VP para alcanzar cierto nivel. El AOM es utilizado como una característica específica de los aceites. Las horas del AOM tienden a aumentar juntamente con el grado de saturación o endurecimiento de la muestra. Aunque es un método popular, está siendo reemplazado por el "Índice de Estabilidad del Aceite". (Navas P., 2010)

#### **2.11.5. Método Rancimat**

El método rancimat incluido en los estándares nacionales e internacionales (OSI, AOCS Cd 12b-92). Es la prueba automatizada del AOM (Método de oxígeno activo), mide el grado en el que un aceite se oxida cuando se hace burbujear aire a través de él. Los productos de la oxidación, tales como el ácido fórmico, son conducidos hacia el agua destilada que se encuentra en una celda. El instrumento monitorea en forma continua la conductividad eléctrica del agua. En el momento en que la conductividad aumenta agudamente indica en forma inmediata el momento final de la prueba. En este método la estabilidad oxidativa se define como el tiempo (en horas) necesario para que la reacción de oxidación alcance el punto de inflexión en la representación gráfica de la conductividad vs. Tiempo. (Navas P., 2010)

#### **2.11.6. Ensayo de Almacenamiento a Temperatura Ambiente**

Las pruebas de ensayo de almacenamiento a temperatura ambiente permiten determinar la vida útil de un aceite en anaquel. Son pruebas que requieren de mucho tiempo para alcanzar el período de inducción, debido a la lentitud del proceso. El período de inducción es medido como el tiempo necesario para alcanzar un nivel de rancidez detectable. (Frankel N., 1998)

### **III. MATERIALES Y METODOS**

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad del Instituto de Investigación Tecnológico Agroindustrial de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Santa; Nuevo Chimbote.

#### **3.1. Materiales y Equipos**

##### **3.1.1. Materia prima**

- Semilla de Sésamo.

##### **3.1.2. Reactivos**

- Nitrógeno (gas)
- Alcohol (98%)
- NaOH (3%).
- Fenolftaleína.
- Cloroformo.
- Agua destilada.

##### **3.1.3. Materiales de vidrio**

- Probetas (50 y 60ml)
- Vasos precipitados (500 y 1000ml)
- Tubos de reacción.
- Pipeta de (1, 2, 5, 10) ml

##### **3.1.4. Otros materiales**

- Picnómetro
- Mesa de acero inoxidable.
- Pinzas de metal.
- Gradilla de tubos de ensayo para (8) tubos.

### 3.1.5. Equipos

- Equipo: Rancimat, Marca: Metrohm, Modelo 743.
- Equipo: Prensa SEW-EURODRIVE, Marca: movimot SEW, Modelo: FA57/G, Velocidad de Giro: 280 - 1400 rpm, Motor: 2.2 Kw
- Equipo: Centrífuga, Marca: SIGMA, Modelo: 2 – 16, Velocidad: 15 000 rpm, Motor: 1 HP Eléctrico
- Equipo: Balanza, Marca: Precisa, Modelo: 4200 C, Serie: 321LX, Rango MAX. 4200 gr. MIN. 0,5 gr. e = 0,1 gr.
- Equipo: Balanza Analítica, Marca: Precisa, Modelo: 220 A, Serie: 321LX, Rango MÁX. 220 gr. MIN. 0,01 gr.e = 0,001 gr.
- Equipo: Estufa, Marca: POL - EKO APARATURA, Modelo: SLW115 TOPT.
- Equipo: Termobalanza, Marca: Precisa, Modelo XM50.

## 3.2. Metodología de Análisis

### 3.2.1. Análisis Físicos y químicos de las semillas y aceite de Sesamum Indicum L.

#### 3.2.1.1. Humedad

La humedad de las semillas de Sesamum Indicum L. se determinó por secado y diferencia de pesos de acuerdo al método 934.06 (37.1.10) del A.O.A.C (1996).

$$\% H = \frac{P_m - (P_f - P_i)}{P_m} \times 100\%$$

Donde:

- % H: Humedad en porcentaje de masa
- $P_m$ : Peso de la muestra
- $P_f$ : Peso final de la placa con la muestra
- $P_i$ : Peso de la placa vacía



#### **3.2.1.2. Densidad**

La densidad se determinó aplicando el método experimental de picnometría según la norma ASTM D-45.

#### **3.2.1.3. Índice de Refracción**

Se utilizó el método de la AOCS Cc 7-25, trabajando a 25 °C y utilizando para la determinación un refractómetro Abbé, el cual se calibro con agua destilada a 20 °C.

#### **3.2.1.4. Índice de Acidez - Método Oficial de la AOAC**

Este método mide la cantidad de ácidos grasos libres en la materia grasa, de acuerdo a esto se estima la cantidad de muestra a analizar. Existen diferentes procedimientos normalizados (AOCS Cd 3d-63, ISO 660:1996, UNE 55.001 y 55.063, AFNOR 60.221, IUPAC 2.201), que difieren únicamente en algunos detalles. La valoración debe realizarse siempre con una solución etanólica de hidróxido de potásico (KOH) o hidróxido de sodio (NaOH) de concentración exactamente conocida (0,1 o 0,5 N), utilizando fenolftaleína como indicador.

**Procedimiento:**

1. Pesar la muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.
2. Añadir 50 ml de alcohol neutralizado y caliente, más 2 gotas de solución de fenolftaleína alcohólica.
3. Titular con NaOH 0.1 N, agitando hasta la aparición de un color rosado ligero.
4. Anotar el gasto al álcali y calcular el índice de acidez.

$$\text{Índice de acidez} = \frac{G \times V \times 28.2}{P}$$

Donde V es el volumen de disolución de NaOH gastado en la valoración (ml), N es la normalidad exacta de la disolución de NaOH y P es el peso de la muestra de aceite (g).

**3.2.1.5. Índice de Peróxidos - Método Oficial de la AOAS**

El índice de peróxido, es el método químico más común para determinar el grado de deterioro oxidativa de las grasas y aceites, Los resultados se expresan como mili equivalentes de oxígeno activo por kilogramo de aceite que producen la oxidación del yoduro a yodo en unas condiciones determinadas. En la reacción, que tiene lugar en medio ácido, se libera un mol de yodo por cada mol de oxígeno peroxídico. El yodo liberado se valora con una disolución de tiosulfato sódico utilizando almidón como indicador.

### Procedimiento:

1. Pesar 5g de muestra grasa (o aceite) homogenizada en un Erlenmeyer de 250 ml con tapa de vidrio.
2. Añadir 30 ml de solución de ácido acético (HOAC-CHCL): cloroformo y agitar hasta que se disuelva.
3. Añadir 0.5 ml de solución saturada de KI, agitar vigorosamente.
4. Deja reposar en la obscuridad durante 2 minutos.
5. Añadir 30 ml de agua destilada.
6. Titular con tiosulfato de sodio 0.1 N, agitando vigorosamente hasta que el color amarillo casi desaparezca.
7. Adicionar 0.5 ml de solución de almidón al 1 %. Continuar titulado hasta desaparición del color azul. Si se gasta una cantidad menos a 0.5 ml de tiosulfato repetir la determinación con tiosulfato 0.01N.
8. Hacer un blanco con los reactivos utilizados.

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{N \times V \times 56.1}{P}$$

Donde, V es el volumen de disolución de tiosulfato empleado en la valoración (mL), N es la normalidad exacta de la disolución de tiosulfato sódico empleada y P es el peso de la muestra (g).

### **3.2.1.6. Índice de Estabilidad Oxidativa**

Se utilizó el método AOCS Cd 12b-92 en el Metrohm Rancimat 743, el cual consta de las siguientes etapas:

#### **A) Preparación de muestra**

- Pesar aproximadamente ( $3.0 \pm 0.1$  g) de aceite para cada tubo de reacción.

#### **B) Celda Conductimétrica Integrada**

- Colocar los electrodos (lavados rigurosamente con agua destilada, luego con alcohol 98° y rociados con nitrógeno). La celda de medida de la conductividad está integrada en la tapa del recipiente de medida. Al colocar la tapa sobre el recipiente, la celda se sumerge en el agua y está inmediatamente en la posición correcta. Al mismo tiempo se produce el contacto con la electrónica del aparato.

#### **C) Análisis Rancimat**

Se realizó bajo las siguientes condiciones:

- Temperatura del bloque calefactor 110°, 130° y 150°C
- Flujo de aire 15, 20 25 L/H.
- Volumen de agua destilada 60 ml.
- Conductividad de agua destilada 1.2  $\mu\text{s}/\text{cm}$ .

### 3.2.1.7. Vida Util

Se utilizo el metodo de extrapolacion del Rancimat mediante mediante la dependencia de los valores de OSI con respecto a la temperatura:

$$\text{Log(OSI)} = AT + B$$

Donde:

OSI: Indice de Estabilidad Oxidativa (h)

T: Temperatura (°C)

A: Constante

B: Constante

### 3.2.1.8. Energía de Activación

Se determinó mediante la dependencia de los valores de OSI con respecto a la temperatura.

$$\text{Ln(OSI)} = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha')}{Z}\right) + \frac{E_a}{R T}$$

Donde:

OSI: Indice de Estabilidad Oxidativa (h).

T: Temperatura (°C).

E<sub>a</sub>: Energía de Activación (KJ/mol).

R: Constante ideal de los gases.

Z: Factor de Arrhenius.

α': grado de transformacion de moleculas insaturadas.

### **3.2.2. Extracción del Aceite Virgen por Prensado en Frio**

En la figura 12, se presenta el diagrama de flujo para obtener aceite virgen de *Sesamum Indicum L.*

#### **3.2.2.1. Materia prima**

Se utilizó semillas adquiridas en el mercado la Perla Chimbote provenientes de la ciudad de Chamchamayo-Perú

#### **3.2.2.2. Limpieza**

Esta etapa consiste en despojar a los granos de partículas indeseables que aún permanezcan en los mismos, entre los cuales se incluyen metales, hojas, pequeñas ramas y otros materiales extraños.

#### **3.2.2.3. Pesado**

Se procedió a pesar  $5000 \pm 10\text{g}$  de materia prima, se determinó la humedad de las semillas en una Termobalanza el cual debe estar dentro de lo recomendado (10%).

#### **3.2.2.4. Prensado**

La extracción mecánica del aceite de semilla de *Sesamum Indicum L.* se llevó en una sola etapa a  $25^{\circ}\text{C}$  en una prensa de tornillo helicoidal. Esta prensa está localizada en el Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa-Ancash, Perú.

A través de la abertura de la boquilla sale expulsada la mayor parte del material sólido, bajo la forma de pellets, que pasan a constituir el turtó, tortum o torta residual. El aceite crudo se recogió en un vaso precipitado y sale acompañado de parte del material sólido (aceite bruto). La cantidad de aceite obtenido fue determinada gravimétricamente y expresada como porcentaje en peso (g aceite/100 g semilla).

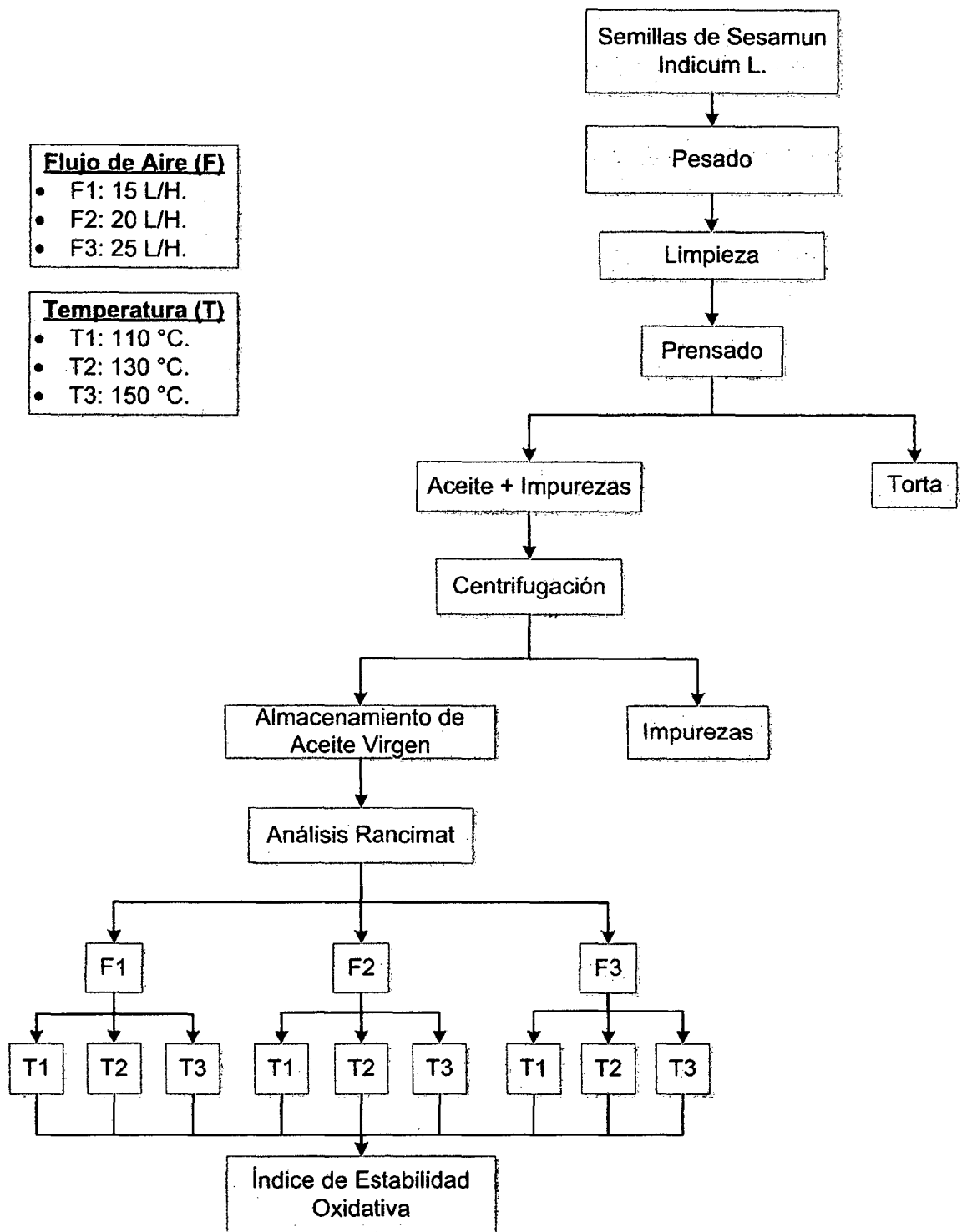
### **3.2.2.5. Centrifugación del Aceite Virgen Extraído**

Consistió en someter al aceite bruto a 3900 rpm por un tiempo de 10 minutos en una Centrifuga SIGMA modelo 2-16. Se eliminó el material sólido o impurezas (sedimento) y se almacena el aceite clarificado (sobrenadante).

### **3.2.2.6. Almacenamiento del Aceite Clarificado**

El aceite de *Sesamum Indicum* L. obtenido a través de extracción mecánica por prensado y clarificado por centrifugación fue almacenado en recipientes de vidrio oscuros cubiertos con papel aluminio, bajo atmósfera de nitrógeno a  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ , no se añadieron antioxidantes hasta su posterior utilización.

### 3.2.3. Procedimiento Experimental



**Figura 37.** Diagrama de flujo del proceso experimental para la determinación del Índice de Estabilidad Oxidativa de Aceite de Sesamum Indicum L.



### 3.2.4. Diseño Estadístico

Dos factores experimentales fueron considerados para este estudio: flujo de aire (F) y temperatura (T). Los que variaron de acuerdo con un diseño factorial de dos factores. Para lo cual, cada factor de entrada se fijó en tres niveles, de la siguiente manera: flujo de aire (15, 20 y 25 L/h) y temperatura (110°, 130° y 150 °C). El índice de estabilidad oxidativa se evaluó para un total de 36 determinaciones.

**Cuadro 5.** Experimento factorial DCA

FLUJO (L/h)	TEMPERATURA (°C)		
	110 OSI±SD	130 OSI±SD	150 OSI±SD
15			
20			
25			

SD: Desviación estandar

OSI: (Horas)

### 3.2.5. Análisis Estadístico

Se utilizó el software Statgraphics Centurion para el análisis estadístico y los modelos de regresión. En primer lugar, el OSI se relaciona con las variables de entrada (flujo de aire y la temperatura) de acuerdo con la ecuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

- $Y_{ijk}$ : Es el tiempo de estabilidad de aceite de Sesamun Indicum L., obtenido con el i-ésimo flujo de aire y el j-ésima temperatura.
- $\mu$ : Es el efecto medio general.
- $\tau_i$ : Es el efecto del i-ésimo nivel del factor flujo de aire.
- $\beta_j$ : Es el efecto del j-ésimo nivel del factor temperatura.
- $(\tau\beta)_{ij}$ : Es el efecto de la interacción entre  $\tau_i$  y  $\beta_j$ , y  $\epsilon_{ijk}$  es el componente del error aleatorio.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), con un valor de significancia de  $\alpha = 5 \%$ .

**Cuadro 6. Experimento factorial DCA**

<b>Fuente de Variacion</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Razon F</b>	<b>Valor P</b>
<b>FLUJO DE AIRE</b>					
<b>TEMPERATURA</b>					
<b>RESIDUOS</b>					
<b>Error</b>					
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>					

## IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. De los Análisis Físicoquímicos del aceite de *Sesamum Indicum* L.

Según los resultados que se muestran en el cuadro 7, referente al análisis físicoquímico del aceite de *Sesamum Indicum* L. extraído de las semillas con una humedad de  $9.87\% \pm 0.12\%$  por prensado en frío, obteniendo un rendimiento del 40 %; empleado en el presente trabajo presentó antes de iniciar la prueba de oxidación acelerada (Test Rancimat); densidad  $0.88 \pm 0.1 \text{ gr/cm}^3$ , valores de índice de acidez y de peróxido de  $0.22 \pm 0.02 \%$  y  $0.8 \pm 0.05 \text{ meqO}_2/\text{kg}$  respectivamente, estos resultados coincidieron con lo reportado por Navas P., (2010); los mismos que nos indican que el aceite estuvo en buenas condiciones, es decir, aceite de calidad; el mismo que se puede contrastar con respecto al índice de refracción cuyo valor fue de  $1.47 \pm 0.13$ , valor determinado en el aceite de *Sesamum Indicum* L. por el Instituto Ecuatoriano de Normalización, (2012).

**Cuadro 7.** Análisis Físicoquímico del Aceite de *Sesamum Indicum* L.

Análisis	Valor	Unidad
Densidad	$0.88 \pm 0.1$	$\text{gr/cm}^3$
Índice de Peróxido	$0.8 \pm 0.05$	$\text{meqO}_2/\text{kg}$
Índice de Acidez	$0.22 \pm 0.02$	%
Índice de Refracción	$1.47 \pm 0.13$	-

#### 4.2. Comportamiento del Aceite de Sesamum Indicum L. en la Prueba Rancimat

En las figuras 38,39 y 40 muestran la variación de la conductividad del agua destilada durante el tiempo que transcurre el análisis Rancimat para temperaturas de: 110°, 130° y 150°C; y flujos de aire de: 15, 20 y 25 L/H.

Los resultados de las gráficas muestran que el índice de estabilidad oxidativa (OSI) o tiempo de inducción tiende a disminuir con respecto al aumento de la temperatura (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) de Aceite de Sesamum Indicum L.

FLUJO (L/h)	TEMPERATURA (°C)		
	110 OSI ± SD	130 OSI ± SD	150 OSI ± SD
15	11.37±0.2393	2.42±0.1476	0.63±0.0171
20	11.53±0.5383	2.49±0.1081	0.61±0.0401
25	12.12±0.2395	2.61±0.1406	0.68±0.0461

SD: Desviación estándar  
OSI (Horas)

El cuadro 8, muestra que todos los tratamientos tienden a un ligero aumento de los valores de OSI como respuesta al incremento en el flujo de aire, esta tendencia ha sido señalada por Farhoosh R., (2007a) y Jebe et al., (1993).

En un estudio similar Farhoosh R., (2007a), lo explica basado en que a elevados flujos de aire se hace más difícil alcanzar una condición de saturación del oxígeno en la masa de aceite, por lo cual muchas moléculas de oxígeno no tienen el tiempo suficiente para disolverse en la matriz oleosa, reduciéndose por lo tanto la concentración efectiva de oxígeno que puede adicionarse a los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados, como resultado se extiende el tiempo de inducción.

A continuación se muestran los gráficos respectivos de conductividad ( $\mu\text{s/cm}$ ) vs. tiempo (h):

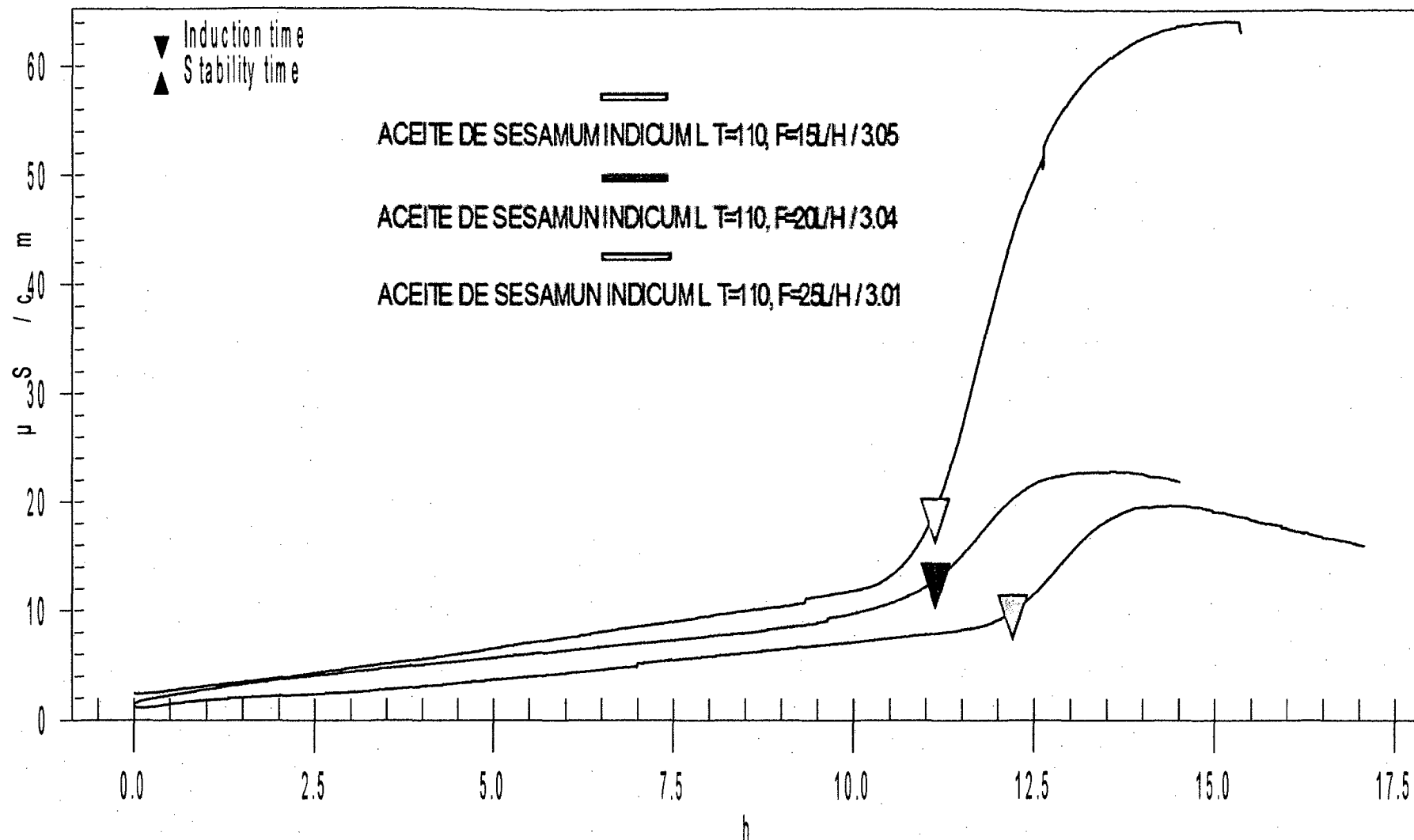


Figura 38. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C y a flujo de aire de: 15, 20 y 25 L/H.

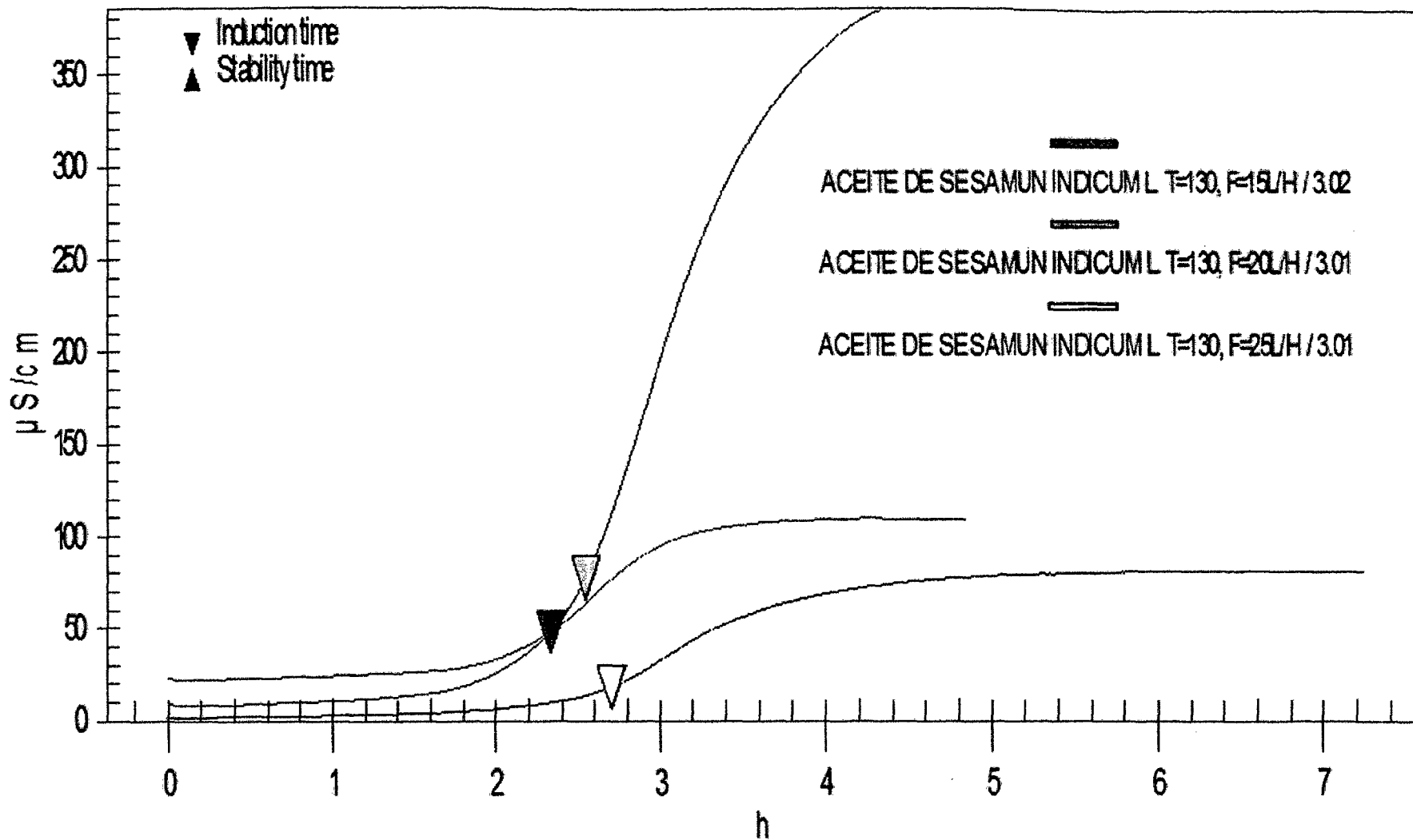


Figura 39. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 130°C y a flujo de aire de: 15, 20 y 25 L/H.

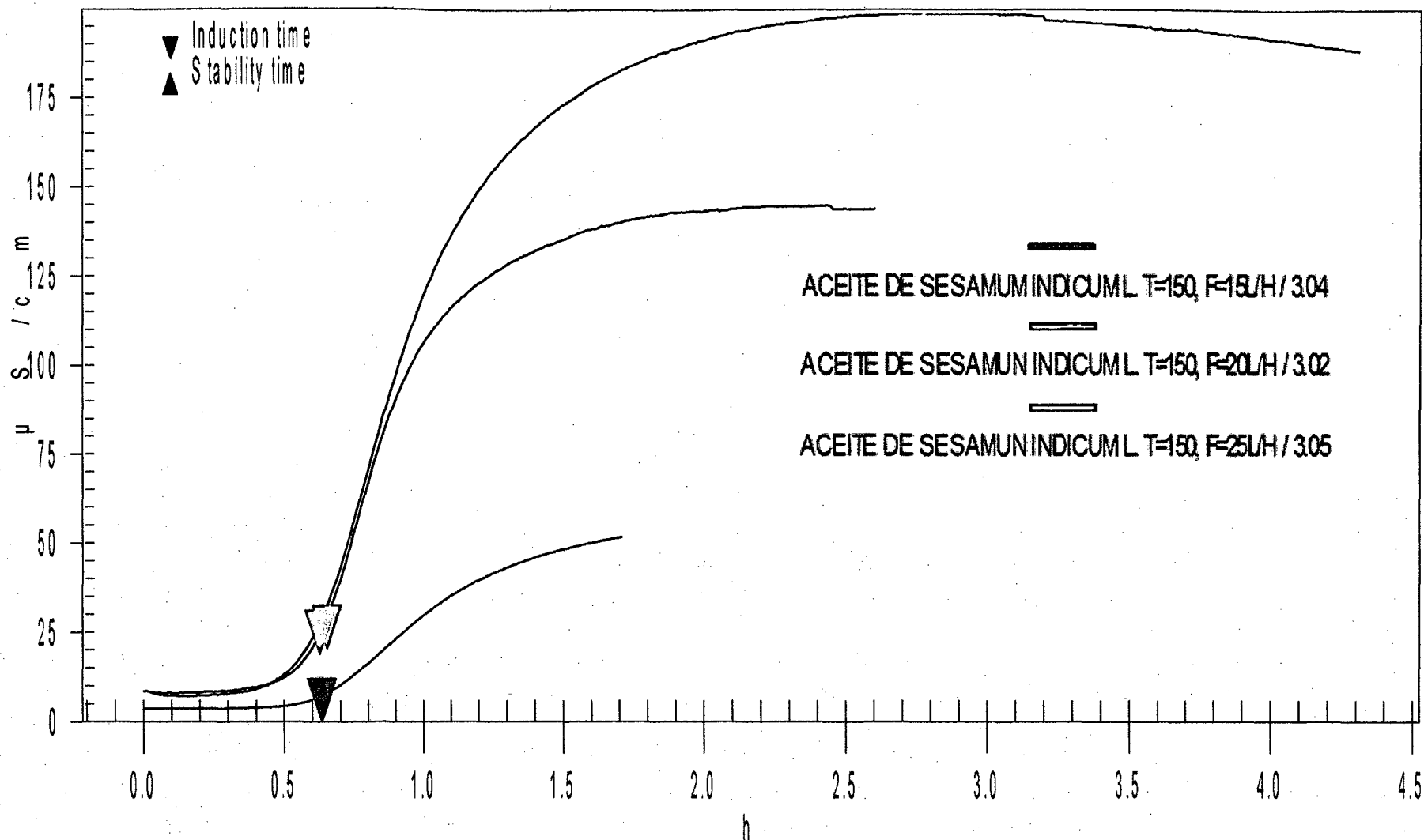


Figura 40. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 150°C y a flujo de aire de: 15, 20 y 25 L/H.

Evidentemente la temperatura ejerció el efecto más importante sobre los valores de OSI en el aceite evaluado, lo cual era de esperarse ya que es conocido que la velocidad de las reacciones químicas tiende a duplicarse por cada 10 °C de aumento de la temperatura a la cual ellas ocurren. **(Navas P., 2010)** Este comportamiento podría atribuirse a la aceleración producida en la descomposición de hidroperóxidos de lípidos. **(Frankel, 2005)**

Los cambios de conductividad experimentada por agua desionizada se debe al recoger los ácidos orgánicos volátiles producidos en las etapas finales del acelerado proceso de oxidación del aceite. **(Jebe et al., 1993; de Man, Tie y de Man, 1987; Méndez et al, 1996)**

El tiempo requerido para producir un aumento repentino de la conductividad debido a la formación de ácidos volátiles, principalmente ácido fórmico, determina el índice de estabilidad oxidativa (OSI), que se puede definir como una medida de la resistencia a la oxidación de una grasa o aceite. Además, estudios previos han demostrado la correlación existente entre los datos de estabilidad obtenidos por el test Rancimat y las determinadas por otros métodos sensoriales y/o analíticos. **(Anwar, Bhanger y Kazi, 2003; Coppin y Pike, 2001; Gordon y Mursi, 1994)**

Hay que señalar que la presencia de los isómeros del tocoferol no ejerce un efecto importante en la estabilidad oxidativa de estos aceites vírgenes, ya que el aceite de sésamo con su elevada concentración de tocoferoles es menos estable que el aceite de girasol, lo que sugiere que en las condiciones aceleradas del método de Rancimat, los antioxidantes naturales no son capaces de proteger al aceite ante el ataque de las especies de oxígeno reactivo y otros radicales que se forman por la acción de la temperatura y del flujo de aire.



#### 4.3. Tendencia de la Estabilidad Oxidativa en Función de la Temperatura y del Flujo de Aire

El gráfico tridimensional de la figura 41, muestra la tendencia de la estabilidad oxidativa en función de la temperatura y del flujo de aire, señalando claramente que los valores de OSI dependen en mayor grado de la temperatura que del flujo de aire utilizado.

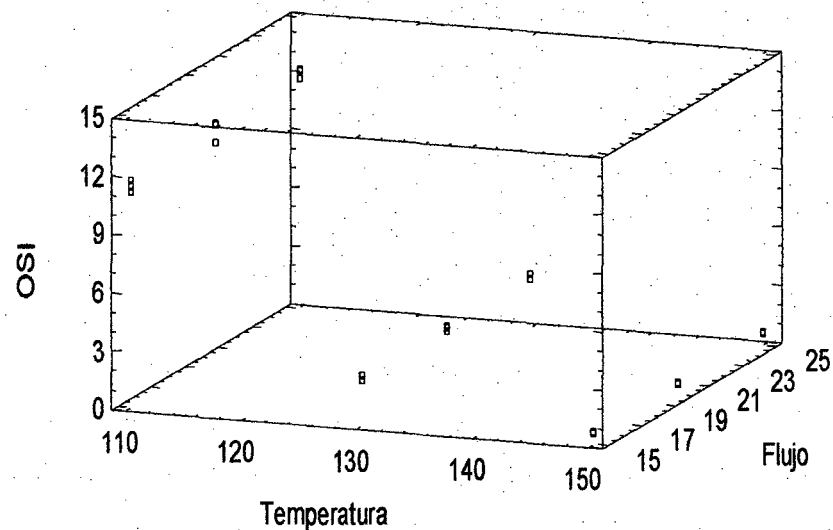


Figura 41. Gráfico de OSI vs Temperatura - Flujo de aire

Navas P., (2010), revela la misma tendencia de estabilidad oxidativa para el aceite de *Sesamum Indicum* L. Reportando valores de OSI de  $21.4 \pm 0.6$  h a una temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$ ,  $4.7 \pm 0.1$  h para  $120^{\circ}\text{C}$ ,  $1.0 \pm 0.1$  h para  $140^{\circ}\text{C}$  y  $0.3 \pm 0.1$  h para  $160^{\circ}\text{C}$ , a un flujo de 15 L/h. una misma tendencia experimentan los flujos de 20 y 25 L/h. En el caso de otros aceites vegetales como el girasol la tendencia expresada es la misma, para una temperatura mínima de  $100^{\circ}\text{C}$  el OSI reportado es  $60.0 \pm 0.9$  h y una temperatura máxima de  $160^{\circ}\text{C}$  el OSI es  $0.7 \pm 0.2$  h. bajo un flujo de 15 L/h. naturalmente los OSI son distintos debido a los diversos factores intrínsecos de cada aceite al ofrecer resistencia a la oxidación. La misma tendencia ocurre para el aceite de semilla de uva en la que se reportan OSI a temperaturas de 80, 90, 100, 110 y  $120^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.4. Determinación de la Vida Útil

En la figura 42 se muestra la relación lineal entre la temperatura y el Log (OSI) con su respectivo error estándar, cuyos valores de A (coeficiente de temperatura) y B (valor empírico) para cada flujo se presentan en el cuadro 9, los resultados muestran valores de A ubicados entre  $-0.0313$  a  $-0.0319^{\circ}\text{C}$  y B entre 4.4964 a 4.5631; los coeficientes de regresión situados entre 0.9984 a 0.9993.

**Cuadro 9.** Valores de regresión lineal A y B, sometidos al test Rancimat.

FLUJO (L/h)	A $\pm$ SE ( $^{\circ}\text{C}^{-1}$ )	B $\pm$ SE	R <sup>2</sup>
15	$-0.0314 \pm 0.0013$	$4.4964 \pm 0.1654$	0.9984
20	$-0.0319 \pm 0.0008$	$4.5631 \pm 0.1036$	0.9993
25	$-0.0313 \pm 0.0011$	$4.5096 \pm 0.1565$	0.9985

SE: Error estándar.

Navas P., (2010), muestra resultados similares para el aceite virgen de sésamo, bajo las mismas condiciones de flujos de aire, los valores de A están ubicados entre  $-0,0312$  a  $-0,0341^{\circ}\text{C}$  y B entre 4,421 a 4.772 con un coeficiente de regresión entre 0.9970 a 0.9999; para el caso de otros aceites vegetales como el de girasol el rango de A esta entre  $-0,0322$  a  $0.0325^{\circ}\text{C}$  y B entre 4.975 a 5.038 con un coeficiente de regresión entre 0.9995 a 0.9998; en el aceite de pepa de uva A se encuentra entre  $-0,0318$  a  $0,0324^{\circ}\text{C}$  y B entre 4.002 a 4.166 con un coeficiente de regresión entre 0.9967 a 0.9972.

Resultados similares han sido reportados por Farhoosh R., (2007a) y Hassenhuettl y Wan (1992), para los aceites vegetales comestibles, incluido el aceite refinado de soya.

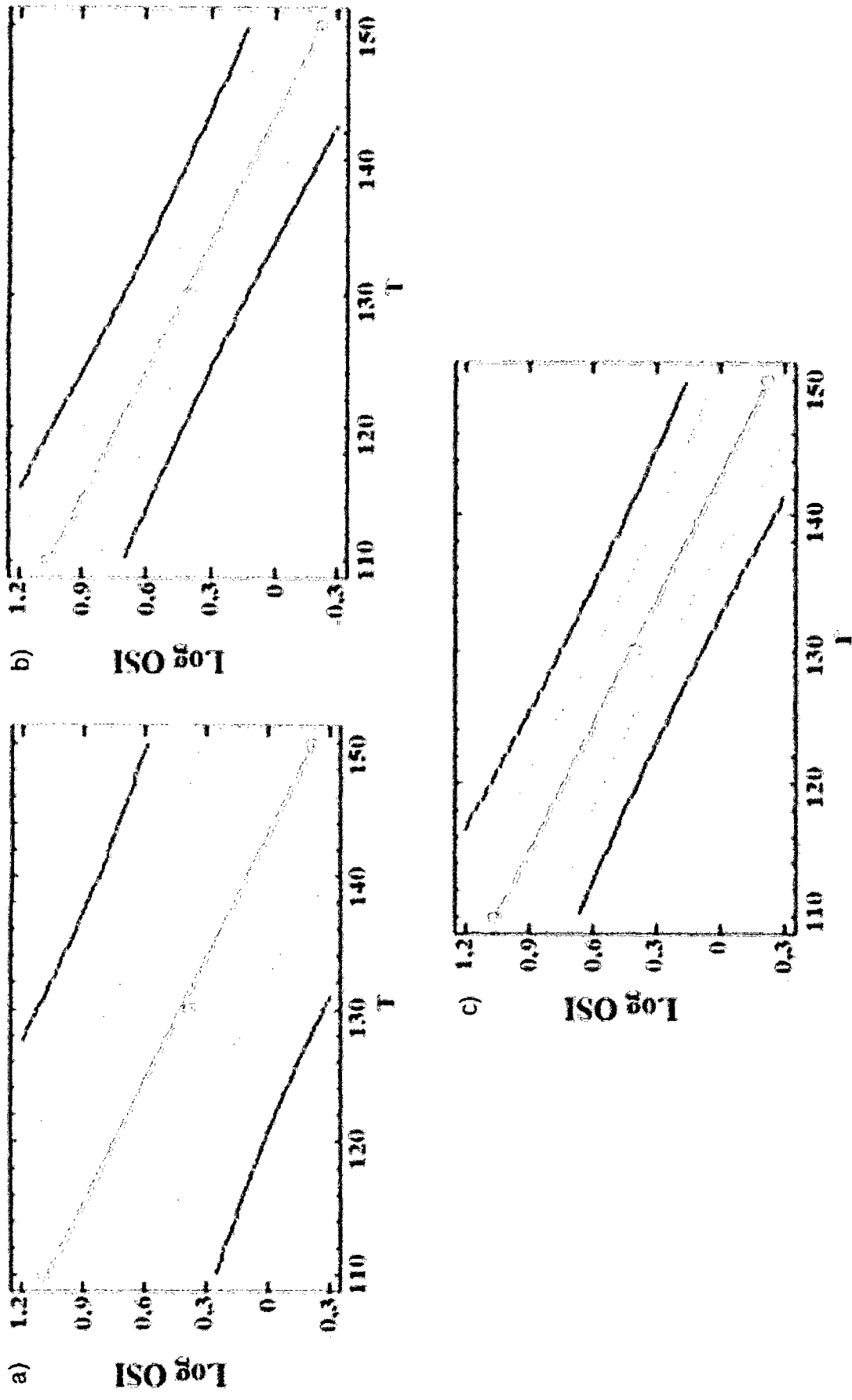


Figura 42. Gráficos de regresión lineal logaritmo OSI y Temperatura a) 15L/H, b) 20L/H y c) 25L/H.

El cuadro 10 muestra los valores de la extrapolación o vida útil a temperatura de 25°C (T ambiente) la cual señala una fuerte influencia de los flujos de aire sobre la extrapolación del OSI de aceite de sésamo a 25°C. Los OSI obtenidos para cada flujo de aire fueron de 214, 242 y 222 días respectivamente.

**Cuadro 10.** Valores de extrapolación de OSI a 25°C

Flujo (L/h)	OSI $\pm$ $\delta$ OSI (días)
15	214 $\pm$ 97
20	242 $\pm$ 68
25	222 $\pm$ 94

Por otro lado el método de propagación de errores genera como resultados 97, 68 y 94 días.

Estas desviaciones son elevadas ya que el método de extrapolación parte del supuesto de que se mantiene la dependencia lineal de OSI con la temperatura, lo cual no es necesariamente cierto cuando se trabaja con valores muy alejados del límite inferior o superior del intervalo de valores experimentales. (Navas P., 2010)

La vida útil de las grasas y aceites comestibles en condiciones ambientales se estima mediante el trazado del logaritmo de los resultados de la estabilidad a la oxidación frente a altas temperaturas y extrapolando a la temperatura ambiente. Se ha demostrado que la extrapolación de los valores Rancimat (índice de estabilidad oxidativa, OSI) a condiciones ambientales conducen a cualquiera de exceso o déficit de la predicción de la vida de anaquel real, dependiendo de la composición de ácidos grasos de los aceites. (Kaya et al., 1993)

Las figuras 43, 44 y 45 muestran a la temperatura en grados centígrados vs los tiempos de inducción en horas, ubicadas en un plano semilogarítmico, gráficamente se puede visualizar la extrapolación a 25°C utilizada por el equipo Rancimat, confirmando los tiempos de estabilidad de 214, 242, 222 días para flujos de 15, 20 y 25 L/h.

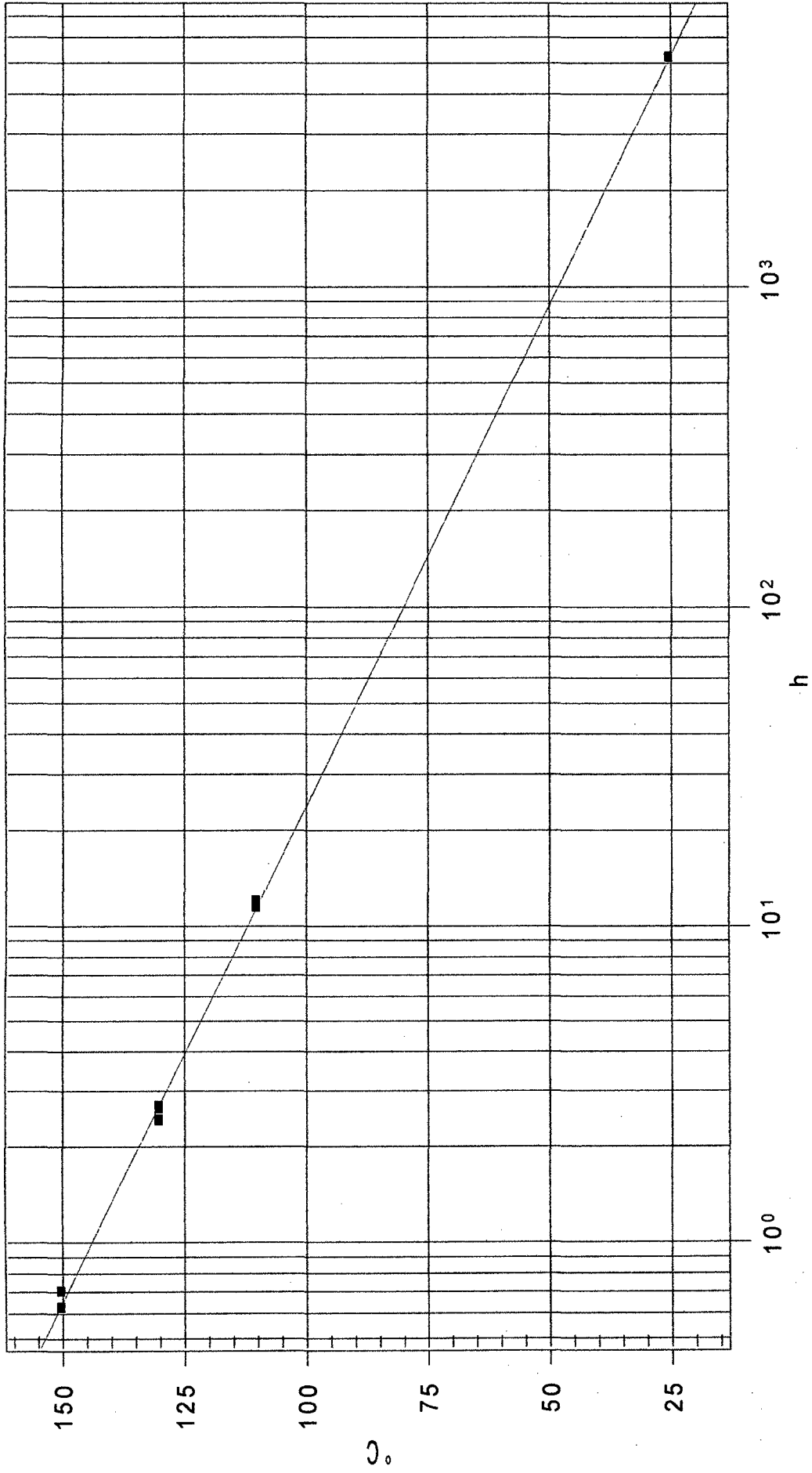
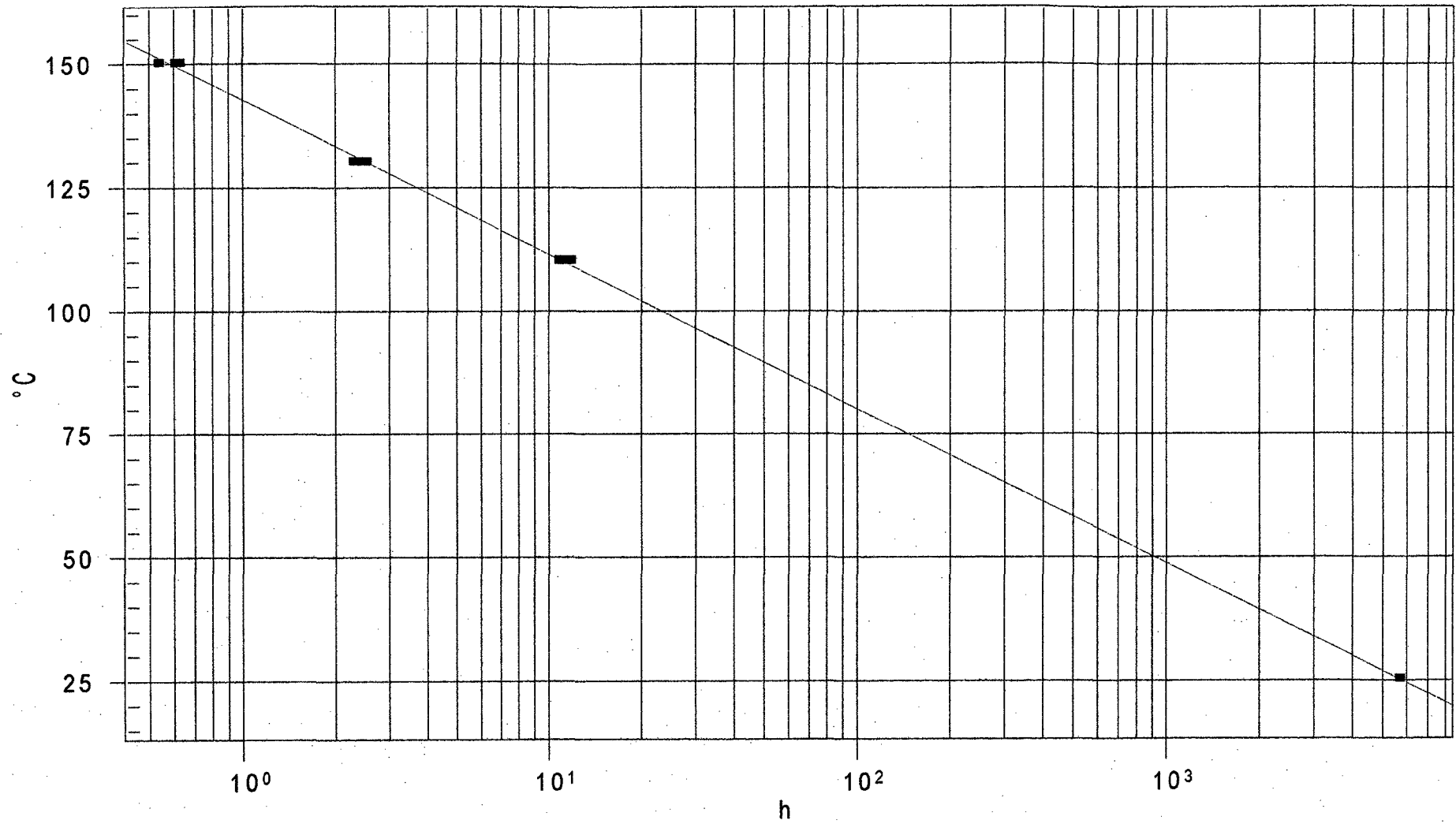
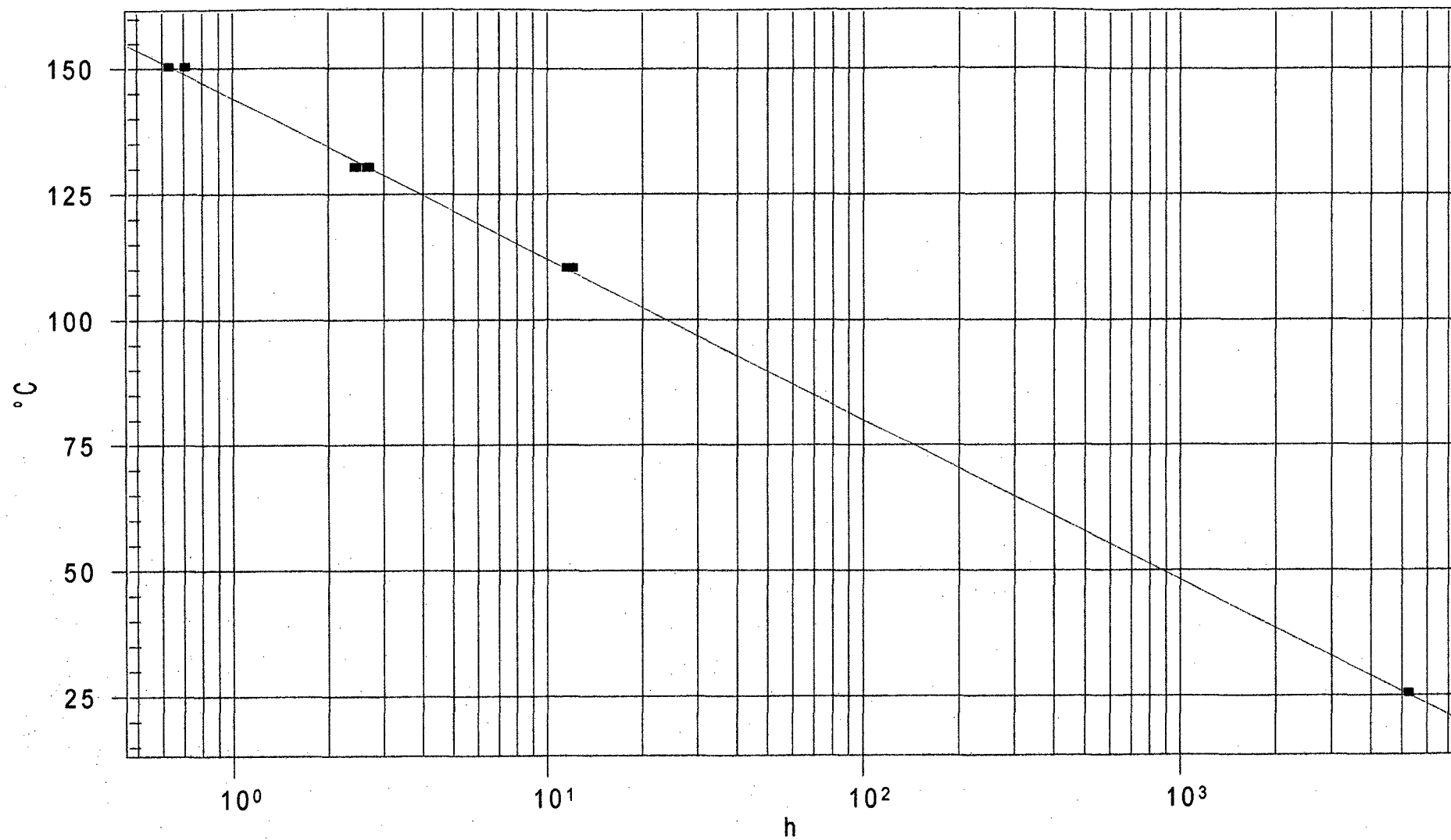


Figura 43. Gráfico de extrapolación Rancimat para un flujo de 15L/H.



**Figura 44.** Gráficos de extrapolación Rancimat para un flujo de 20L/H



**Figura 45.** Gráficos de extrapolación Rancimat para un flujo de 25L/H

El cuadro 11, muestra los resultados en cuanto al índice de estabilidad oxidativa, donde la temperatura y flujo tienen diferencia altamente significativa a un nivel de significancia del 5%, ya que los valores – P, resultaron ser menores a 0.05 ( $p < 0.05$ ) y también menores a 0.01 ( $p < 0.01$ ).

**Cuadro 11.** Análisis de Varianza (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	G.I	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Flujo de Aire	0.709956	2	0.3549	5.54	0.0087
Temperatura	836.815	2	418.40	6535.46	0.0000
Residuos	1.98465	31	0.0640		
<b>Total (Corregido)</b>	<b>839.509</b>	<b>35</b>			

**García et al., (2013)**, estudiaron la influencia de los parámetros del Test Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa de aceite de pescado, utilizando como parámetros el flujo de aire, temperatura y peso de la muestra, concluyendo mediante el análisis de la varianza (ANOVA) que el valor de OSI es altamente dependiente de los efectos lineales de temperatura y velocidad de flujo de aire, mas no del peso de la muestra, asociado con las probabilidades  $p < 0,001$  y  $p = 0,001$ , respectivamente.



#### 4.5. Determinación de la Energía de Activación

En el aceite de sésamo se observan diferencias de energía de activación debido al flujo empleado (Figura 46), sin embargo, estas diferencias pueden deberse a factores de tipo molecular, como por ejemplo la relación de ácidos grasos monoinsaturados/poliinsaturados, y no a consideraciones de tipo termodinámico.

En el cuadro 12, muestra los resultados de la energía de activación para diferentes flujos de aire, situados entre 96.86 kJ/mol y 98.79 kJ/mol.

**Cuadro 12.** Determinación de la energía de activación

Flujo (L/h)	Pendiente	R <sup>2</sup>	Ea (kJ/mol)
15	11721.2	0.9998	97.28
20	11903.3	0.9999	98.79
25	11669.9	0.9999	96.86

Resultados semejantes para valores de energía de activación han sido obtenidos por **Dunn R., (2008)**, en diferentes materiales oleaginosos destinados a la obtención de biodiesel; por ejemplo, los metil esteres del aceite de girasol ( $E_a = 90$  kJ/mol) o los esteres provenientes de aceites utilizados en frituras con una energía de activación de 106,4 kJ/mol, el oleato de metilo puro tuvo un valor de Energía de activación igual a 82 kJ/mol.

**Litwinienko et al., (1999)**, aplicaron la calorimetría diferencial al estudio de la cinética de la oxidación de los ácidos grasos laurino, mirística, palmítico y esteárico, obteniendo reacciones de primer orden y energías de activación entre 106 y 123 kJ/mol.

Por otro lado, **Márquez-Ruiz et al., (2008)**, determinaron las constantes de velocidad de reacciones de oxidación de aceite de oliva, midiendo la velocidad de desaparición de los monómeros de los triacilglicerolos oxidados a distintas temperaturas empleando la prueba de Rancimat. Estas constantes fueron usadas para el cálculo de las energías de activación de acuerdo a la ecuación de Arrhenius y se obtuvieron resultados del orden de 104.9 kJ/mol.

Con base en esos resultados se puede afirmar que el efecto de la temperatura en los valores de OSI obtenidos por el método de Rancimat puede ser estudiado aplicando tanto la ecuación empírica como el modelo cinético. Con este último pueden obtenerse la energía de activación de la reacción a fin de poder comprender un poco mejor el proceso de oxidación de los aceites vírgenes de semillas vegetales.

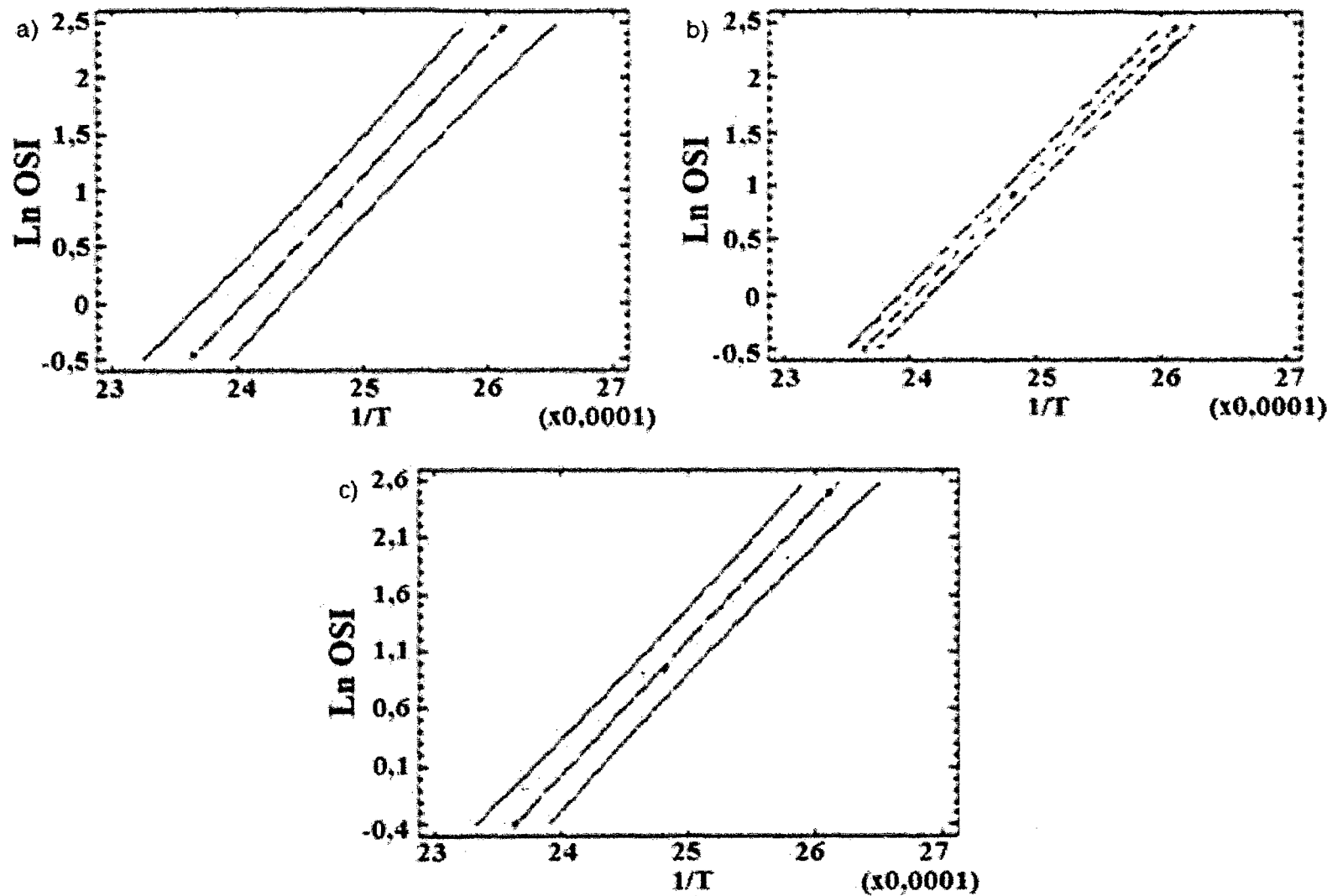


Figura 46. Gráficos de regresión lineal para el logaritmo del índice de estabilidad oxidativa: a) 15 L/H, b) 20 L/H y c) 25 L/H

## V. CONCLUSIÓN

- El aceite de Sésamo *Indicum L.* fue obtenido por extracción mecánica utilizando una prensa SEW-EURODRIVE modelo FA57/G, a partir de una cantidad de 5 Kg. de semillas con una humedad de  $9.87\% \pm 0.12\%$ , obteniendo un rendimiento del 40 %. La caracterización fisicoquímica de aceite de *Sésamo Indicum L.* dio como resultado: densidad  $0.88 \pm 0.1 \text{ gr/cm}^3$ , valor de peróxido  $0.8 \pm 0.05 \text{ meq O}_2/\text{Kg}$  de aceite, índice de acidez  $0.22\% \pm 0.02\%$  e índice de refracción  $1.47 \pm 0.13$ .
- Después de evaluar la influencia de los parámetros Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa del aceite de *Sesamum Indicum L.*, se encontró que tanto la temperatura y la tasa de flujo de aire fueron estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) sobre el índice estabilidad oxidativa del aceite de sésamo.
- Se obtuvieron valores experimentales del OSI con flujos de aire de 15, 20 y 25 L/H, y temperaturas de 110, 130 y 150°C; en base a estos valores se realizó una extrapolación a 25°C, y se obtuvieron valores de OSI de 214, 242 y 222 días con sus respectivos errores asociados ( $\delta\text{OSI}$ ).
- Al utilizar el modelo matemático propuestos por Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989) se ha determinado la energía de activación de la reacción de oxidación de aceite de *Sesamum Indicum L.* a distintos flujos de aire, siendo 97.28, 98.79 y 96.86 kJ/mol para 15, 20 y 25 L/h respectivamente.
- En base a estos resultados, se puede afirmar que la influencia de la temperatura en los valores de OSI obtenidos por el método de Rancimat puede ser estudiado aplicando tanto la ecuación empírica como el modelo cinético. Con este último pueden obtenerse la energía de activación de la reacción a fin de poder comprender mejor el proceso de oxidación de los aceites vírgenes de materias primas vegetales.

## VI. RECOMENDACIONES

El presente trabajo abre las puertas al planteamiento de nuevas investigaciones:

- Evaluación de la correlación del índice de estabilidad oxidativa de aceite de *Sesamum Indicum L.* en Rancimat y otros índices.
- Evaluación de la actividad antioxidante de aceite de *Sesamum Indicum L.* por el método del radical DPPH.
- Evaluación del perfil lipídico de aceite de *Sesamum Indicum L.* durante la prueba Rancimat por cromatografía de gases.
- Caracterización de la torta de semillas de *Sesamum Indicum L.* obtenido por prensado en frío.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

### LIBROS

- **Badui D.**, (1984): Química de los Alimentos.. Editorial Perrazo Educación. México
- **Belitz et al.**, (1997): Química de los Alimentos. 2da. Edición. Edit. Acribia. Zaragoza. España.
- **Casp, A.** y **Abril J.**, (1999): Procesos de Conservación de Alimentos. Ediciones Mundi-Prensa. Coedición. España. 493p.
- **Cheftel J.** y **Cheftel H.**, (1976): Introducción a la Bioquímica y tecnología de los alimentos. Vol. I Edit. Acribia. Zaragoza. España.
- **Graciani C. E.**, (2006): Los Aceites y grasas: Composición y propiedades. Editorial Mundi-Prensa. Madrid (España), 316p.
- **Heldmann D.** y **Lund D.**, (1992): Handbook of Food Engineering. Primera edición. Editorial Marcel Dekker, Inc. EEUU. 756p.
- **Lopez B. L.**, (2003): Cultivos Industriales. Ediciones Mundi-Prensa. 1071p.
- **Toledo R.**, (1991): Fundamentals of Food Process Engineering. Editorial AVI. Segunda edición. New York, USA. 602p.
- **Ziller S.**, (1996): Grasas y aceites alimentarios. Editorial Acribia, 7a. Edición. España. 71 pp.

## TESIS

- **Monje M.**, (2003): Elaboración y conservación de pasta de Ajo Blandino (*Allium ampeloprasum* L.)
- **Navas P.**, (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.

## REVISTAS Y PUNBLICACIONES

- **Amarowicz R.**, Carle R., Dongowski G., Durazzo A., Galensa R. Kammerer D., Maiani G., Piskula M., (2009): Influence of postharvest processing and storage on the content of phenolic acids and flavonoids in foods. *Mol. Nutr. Food Res. Rev.* 53: S151-S183.
- **Angerosa F.**, (2000): En *Handbook of Olive Oil: Analysis and properties* Eds. J. Harwoor y R. Aparicio, Aspen Publ. Inc. Gaithersburg. Maryland (USA), pp.355-392.
- **Anwar F.**, Bhangar M.I. & Kazi T.G., (2003): Relationship between Rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 80, 151-155.
- **Avalos A.**, Perez-Urria E., (2009): Mecanismo secundario de las plantas. *Reduca (Biologia) Serie Fisiologia Vegetal.* 2(3): 119-145.
- **Barrera D.**, (1998): Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas. *Grasas y Aceites*, 49. Fase. 1, 55-63
- **Blaine S.**, Savage P.E., (1992): Reaction Pathways in Lubricant Degradation. 3. Reaction Model for n-Hexadecane autoxidation *Ind. Engineering Chemical Research.* 31: 69–75.

- **Bruhl L., Matthaus B., (2008):** Sensory assessment of virgin rapeseed oils. Review. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 110: 606-610.
- **Campbell-Platt G., (1989):** Shelf life – who needs it?. Food Science and Technology Today. 3 (4): 244 -246.
- **Cert A., (2000):** Review: Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. Journal of Chromatography A. 881: 131-148.
- **Coppin E.A. & Pike O.A., (2001):** Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-exposed soybean oil. Journal of American Oil Chemists' Society, 78, 13-18.
- **Criado D. & Moya M., (2009):** Actualizaciones El Medico. Vitaminas y Antioxidantes. Servicio de Medicina Interna y Urgencias. Hospital Puerta de Hierro, Madrid. España. 04-19
- **Drago M.E., López M., Sainz T., (2006):** Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. Rev. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 37 (4), 58-68.
- **Dunn R., (2008):** Effect of Temperature on the Oil Stability Index (OSI) of Biodiesel. Energy and Fuels. 22: 657–662.
- **FAO, (1997):** Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos. (Estudio FAO Alimentación y Nutrición-57)
- **Farhoosh R., (2007a):** Shelf-life prediction of edible fats and oils using Rancimat. Lipid Technology 19(10): 232-234.
- **Fernandez P., Cabral J.M.S., (2007):** Phytosterols: Applications and recovery methods Bioresource Technology 98: 2335–2350.
- **Ferratto J., (2003):** Importancia de la gestión de la calidad en frutas y hortalizas, situación y perspectivas. Presentación Feria Internacional de la Alimentación. FIAR. Rosario.



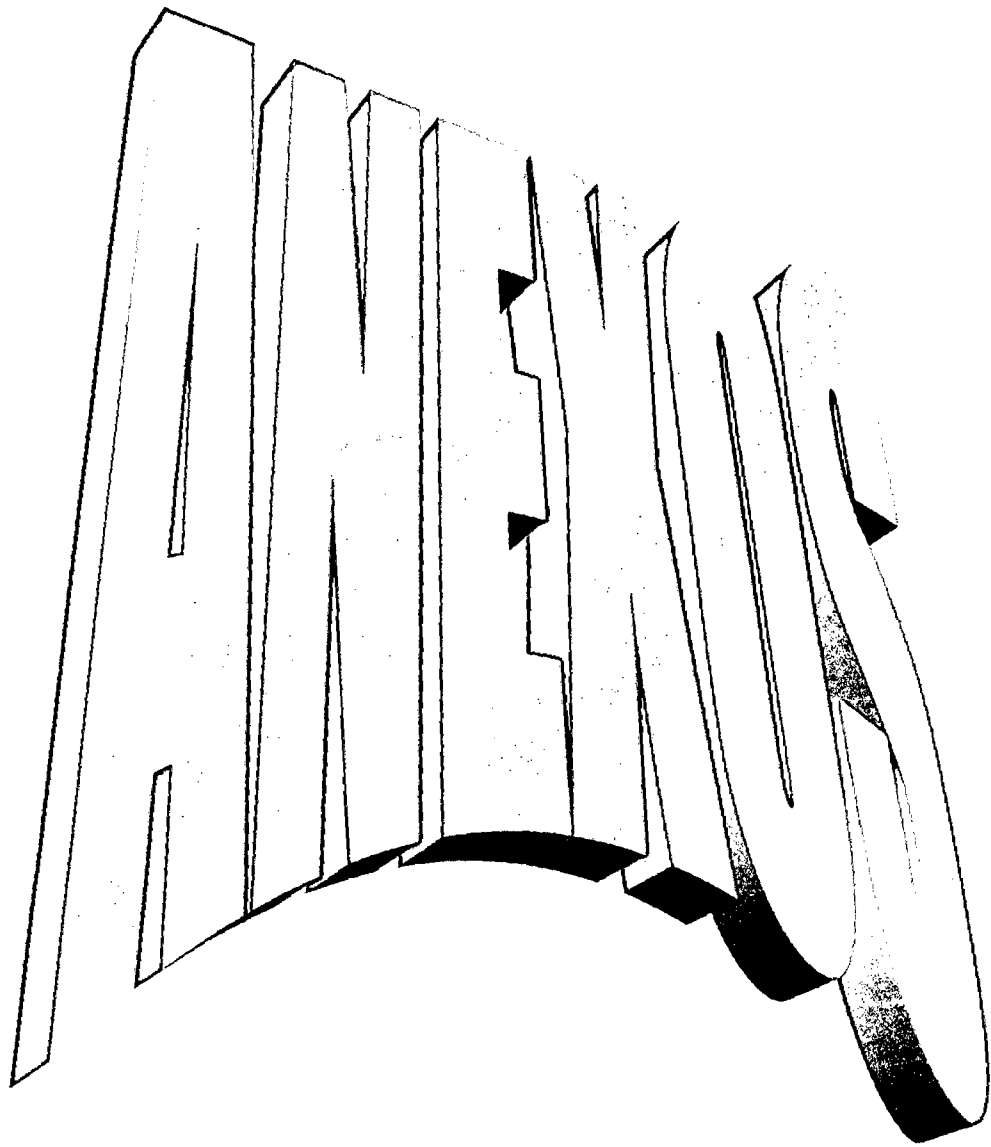
- **Frankel N.**, (1998): Lipid Oxidation. The Oily Press, Bridgewater, UK.
- **Fregapane G.**, Navas H.P.B. y Salvador A., (2013): Índices de calidad, componentes mayoritarios, minoritarios y estabilidad oxidativa de aceites vírgenes de soya y sésamo. Rev. Fac. Agron. (LUZ), 30: 284-303.
- **Garcia-Ochoa F.** et al., (1989): Modeling of the Thermal n-Octane Oxidation in the Liquid Phase. Industrial and Engineering Chemical Research. 28:43–48.
- **Gómez L.** et al., (2012): Products made from chia and sesame seeds: chemical composition, acceptability, satisfaction and knowledge on their nutritional properties. Actualización en Nutrición 13 - N° 4.
- **Gordon M.H.** & Mursi E., (1994): A comparison of oil stability based on the Metrohm Rancimat with storage at 20 °C. Journal of American Oil Chemists' Society, 71, 649-651.
- **Gordon M.** et al., (2001): Measuring antioxidant activity en: Antioxidant in food, Eds. Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M., Woodhead Publishing Ltd, Cambridge.
- **Horner J.H.**, Choi S.Y., Newcomb M., (2000): Laser flash photolysis studies of alkoxy radical kinetics using 4-nitrobenzenesulfonate esters as radical precursors. Org. Lett. 2, 3369-3372.
- **Instituto Ecuatoriano de Normalización**, (2012): Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 8:2012 Primera revisión.
- **Jebe T.A.**, Matlock M. G. & Sleeter R.T., (1993): Collaborative study of the oil stability index analysis. Journal of American Oil Chemists' Society, 70, 1055-1061.
- **Kaya A.**, Tekin A.R. & Oner M.D., (1993): Oxidative stability of sunflower and olive oils: Comparison between a modified active oxygen method and long term storage. Lebensmittel Wissenschaft und Technology, 26, 464–468.

- **Kishimoto S., Maoka T., Nakayama M., Ohmiya A., (2004):** Carotenoid composition in petals of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*). *Phytochem* 65: 2781-2787.
- **Ladikos D., Lougovois V., (1990):** Lipid oxidation in muscle foods: a review. *Food Chem.* 35, 295-314.
- **Latif S. et al., (2010):** Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. *Food Chemistry* 125, 679–684.
- **Liebler D.C., (1993):** The role of metabolism in the antioxidant functions of vitamin E. *Crit. Rev. Toxicol.* 23,147-169.
- **Litwinienko G., Daniluk A., Kasprzycka - Guttman T., (1999):** Study on Autoxidation Kinetics of Fats by Differential Scanning Calorimetry. 1. Saturated C12-C18 Fatty Acids and Their Esters. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 39, 7-12.
- **Man J.M., Tie F. & Man L., (1987):** Formation of short chain volatile organic acids in the automated AOM method. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 64, 993-996.
- **Marquez-Ruiz G., Martin-Polvillo M., Velasco J., Dobarganes C., (2008):** Formation of oxidation compounds in sunflower and olive oils under oxidative stability index conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 1-6.
- **Martinez-Flores S., Gonzalez-Gallego J., Culebras J., Tunon M., (2002):** Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrition Hospitalaria. Rev.* (6): 271-278.
- **Mattila P., Kumpulainen J., (2002):** Determination of free and total phenolic acids in plant-derived food by HPLC with Diode-array detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 50(13): 3660-3667.

- **Mayne S.T.**, (2003): Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *Journal Nutrition*. 133: 933S-940S
- **Melendez-Martinez A.**, Vicario I., Heredia F., (2007): Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de Nutricion*. 57(2): 109-117.
- **Méndez E.**, Sanhueza J., Speisky H. & Valenzuela A., (1996): Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 73, 1033-1037.
- **Moure A.**, Cruz J.M., Franco D., Domínguez J.M., Sineiro J., Domínguez H., Nunez M.J., Parajo J.C., (2001): *Food Chemistry*. 72: 145–171.
- **Nakatani N.**, Tachibana Y., Kikuzaki H., (2001): Establishment of a model substrate oil for antioxidant activity assessment by oil stability index method. *Journal of the American Oil Chemists Society* 78: 19–23.
- **Pedro J.**, García-Moreno, Pérez - Gálvez R., Guadix A., Guadix E., (2013): Influence of the parameters of the Rancimat test on the determination of the oxidative stability index of cod liver oil. *LWT-Food Science and technology*, 51, 303-308.
- **Porter N.A.**, Caldwell S.E., Mills K.A., (1995): Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* 30, 277-290.
- **Prior R.L.**, Wu X., Schaich K., (2005): Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4290 - 4302.
- **Ramos C.**, Tarazona G., (2001): Estudio de la estabilidad de hojuelas fritas de papa durante el almacenamiento al medio ambiente. *Anales Científicos UNALM de la república de Perú*: 286 – 296.
- **Reineccius G.**, (1993): Biases in analytical flavor profiles introduced by isolation method. *Flavor measurement*, 8: 6176.

- **Rossi-Olson A.**, (2011): The impact of nut inclusions on properties and stability of dark chocolate. Dissertation, Food Science. Rutgers University, New Brunswick, NJ.
- **Salazar M.E.**, Belén D., Marín G., Moreno H., (2007): Oxidation Kinetics of the Oil of the Coroba Palm (*Attalea maripa*). Universidad de Oriente, Venezuela. 19 N° 2: 172-182.
- **Sayago A.**, Marin M.A., Aparicio R., Morales M.T., (2007): Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites*. 58 (1): 74-86.
- **Schaich K.M.**, (2005): Lipid oxidation in fats and oils: an integrated view. In: Shahidi, F. (Ed.), *Bailey's Industrial Fats and Oils*, 6th ed John Wiley, New York, 1, pp. 269-355.
- **Schaich K.M.**, (2008): Co-oxidations of oxidizing lipids: reactions with proteins. In: Kamal-Eldin, A., Min, D.B. (Eds.), *Lipid Oxidation Pathways*, 2. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 183-274.
- **Schaich K.M.**, Shahidi F., Zhong Y., Eskin M., (2013): Lipid Oxidation. *Biochemistry of Foods*, 419-478.
- **Slavin M.**, Cheng Z., Luther M., Kenworthy W., Yu L., (2009): Antioxidant properties and phenolic, isoflavone, tocopherol and carotenoid composition of Marylandgrown soybean lines with altered fatty acid profiles. *Food Chem*. 114, 20-27.
- **Suja K.P.**, Jayalekshmy A., Arumugan C., (2005): Antioxidant activity of sesame seed extract. *Food Chemistry*. 91: 213-219.
- **Sun Y.E.**, Wang W.D., Chen H.W., Li C., (2011): Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 51, 453-466.

- **Tan C.P.**, Che-Man Y.B., Selamat J., Yusoff M.S., (2001): Application of Arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78:1133-1138.
- **Tortorello M.**, Best S., Batt C., Woolf H. y Bender J., (1991): Extending the shelf life of Cottage chesse: Identification of spoilage flora and their control using food grade preservatives. *Cultured Dairy Products Journal* 26 (4): 8, 9, 11.
- **Tur J.A.**, (2004): Los antioxidantes en la dieta mediterránea. *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria* 10(4): 1987-207.
- **Tsentelovich Y.P.**, Kulik L.V., Gritsan N.P., Yurkovskaya A.V., (1998): Solvent effect on the rate of b-scission of the tert-butoxyl radical. *J. Phys. Chem. A.* 102, 7975-7980.
- **Valente T.**, Hidalgo J., Bolea I., Ramirez B., Angles N., Reguant J., Morello J.R., Gutierrez C., Boada M., Unzeta M., (2009): A diet enriched in polyphenols and polyunsaturated fatty acids, LMN diet, induces neurogenesis in the subventricular zone and hippocampus of adult mouse brain. *Journal of Alzheimer's Disease*, 18(4).849-865.
- **Varela G.**, (2009): Antioxidantes de las frutas en la dieta. Monografía 1era Edición Madrid pp. 1 -12.
- **Wilbey R.**, (1997): Estimating shelf life. *International Journal of Dairy Technology.* 50 (2) 64 - 67.
- **Young I.S.**, Woodside J. V., (2001): Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 54: 176 – 186.
- **Young J.M.**, Wang X., Morris M. E., (2006): Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolismo. *Toxicology in Vitro* 20: 187–210.



## ANEXO N 01

### Procedimiento Experimental

- Acondicionamiento (Pesado y limpieza) de semillas de *Sesamum Indicum* L.



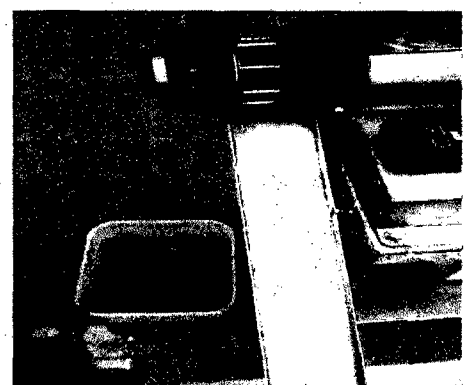
- Extracción por prensado en frío



Prensa SEW-  
EURODRIVE Modelo  
FA57/G

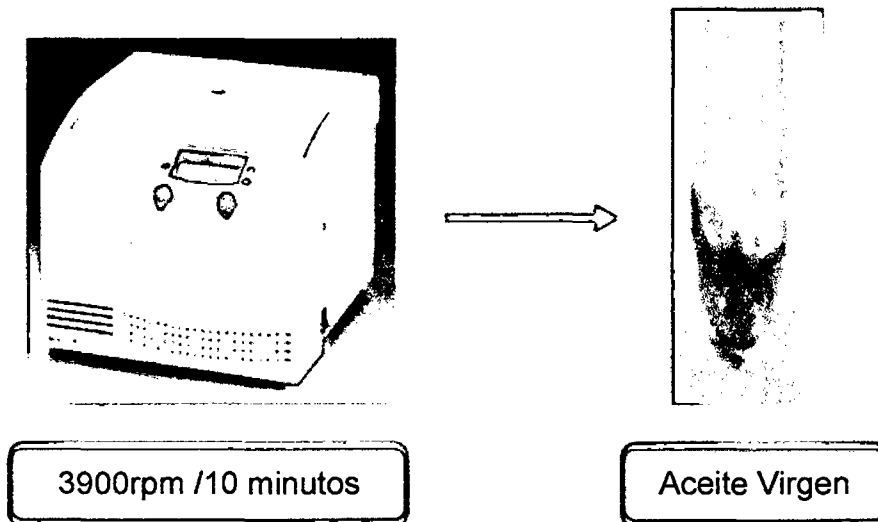


Aceite + impurezas

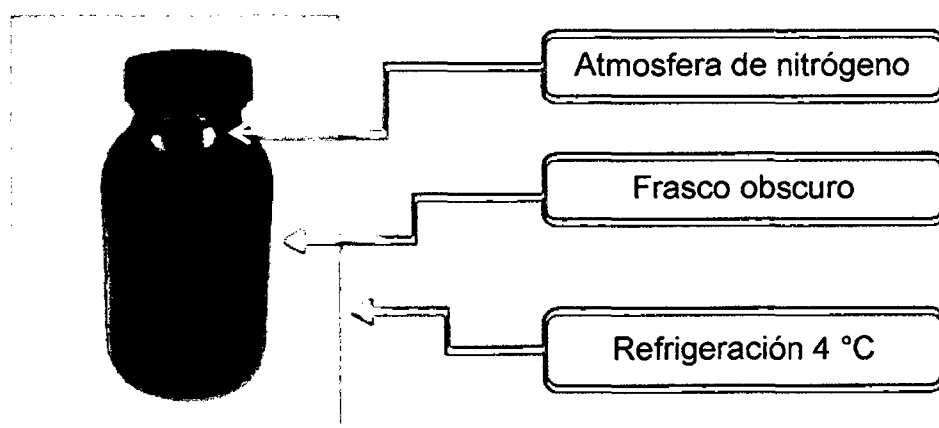


Torta residual

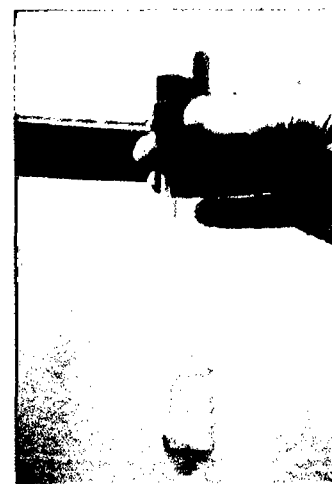
- Centrifugación



- Almacenamiento

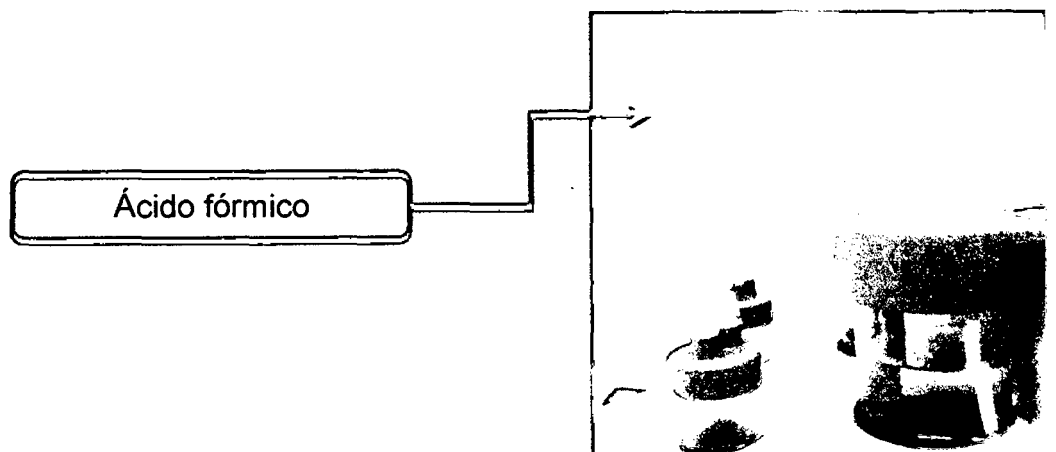
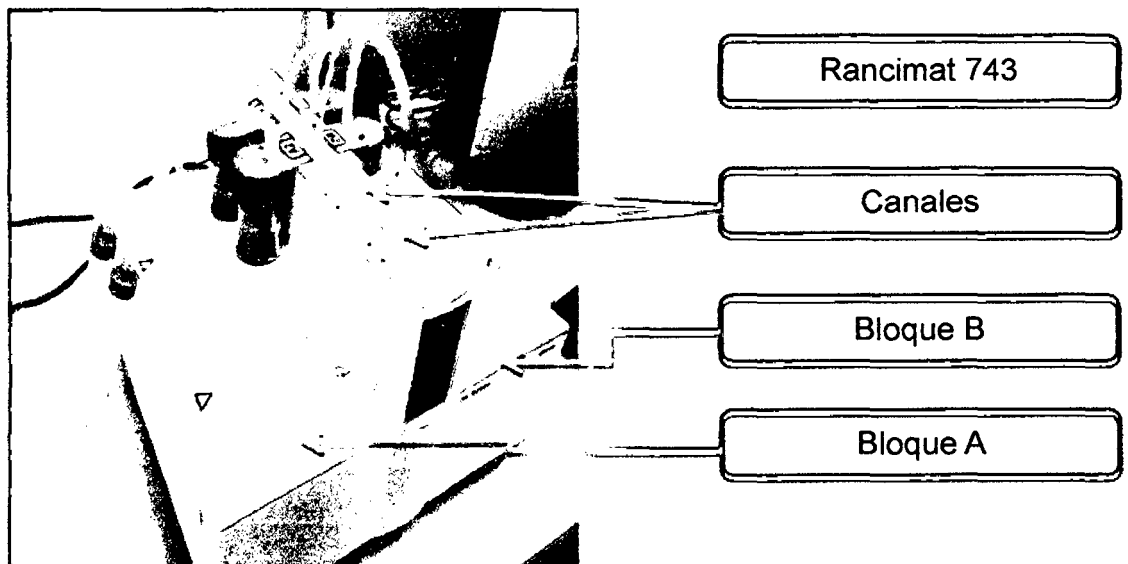
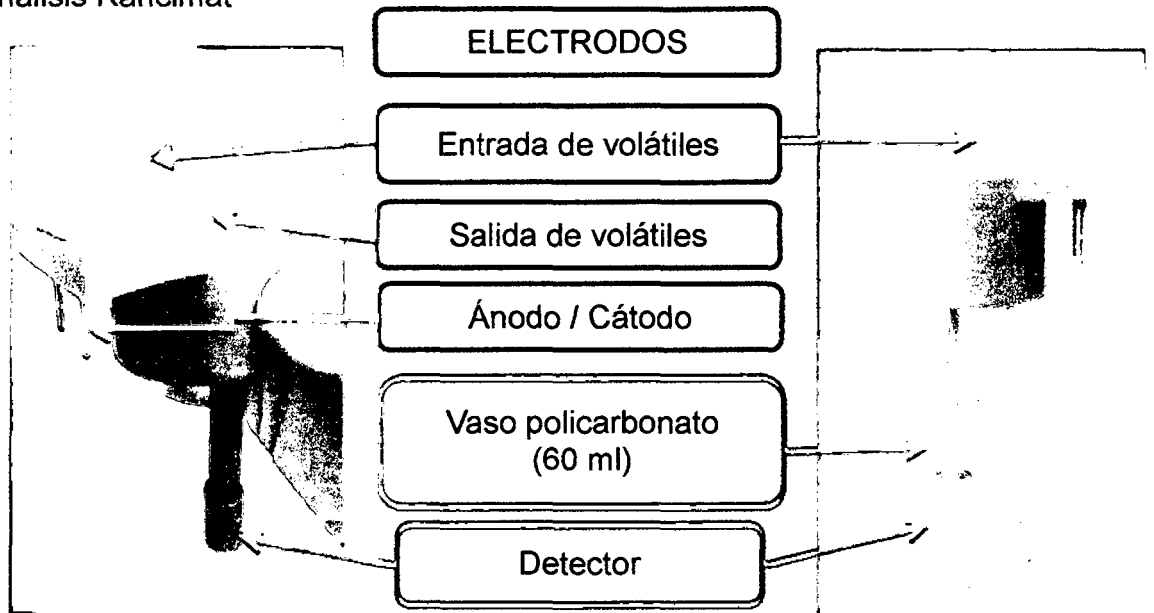


- Preparación de Muestras (Pesado  $3\pm 0.1g$ )





- Análisis Rancimat



## ANEXO N 02

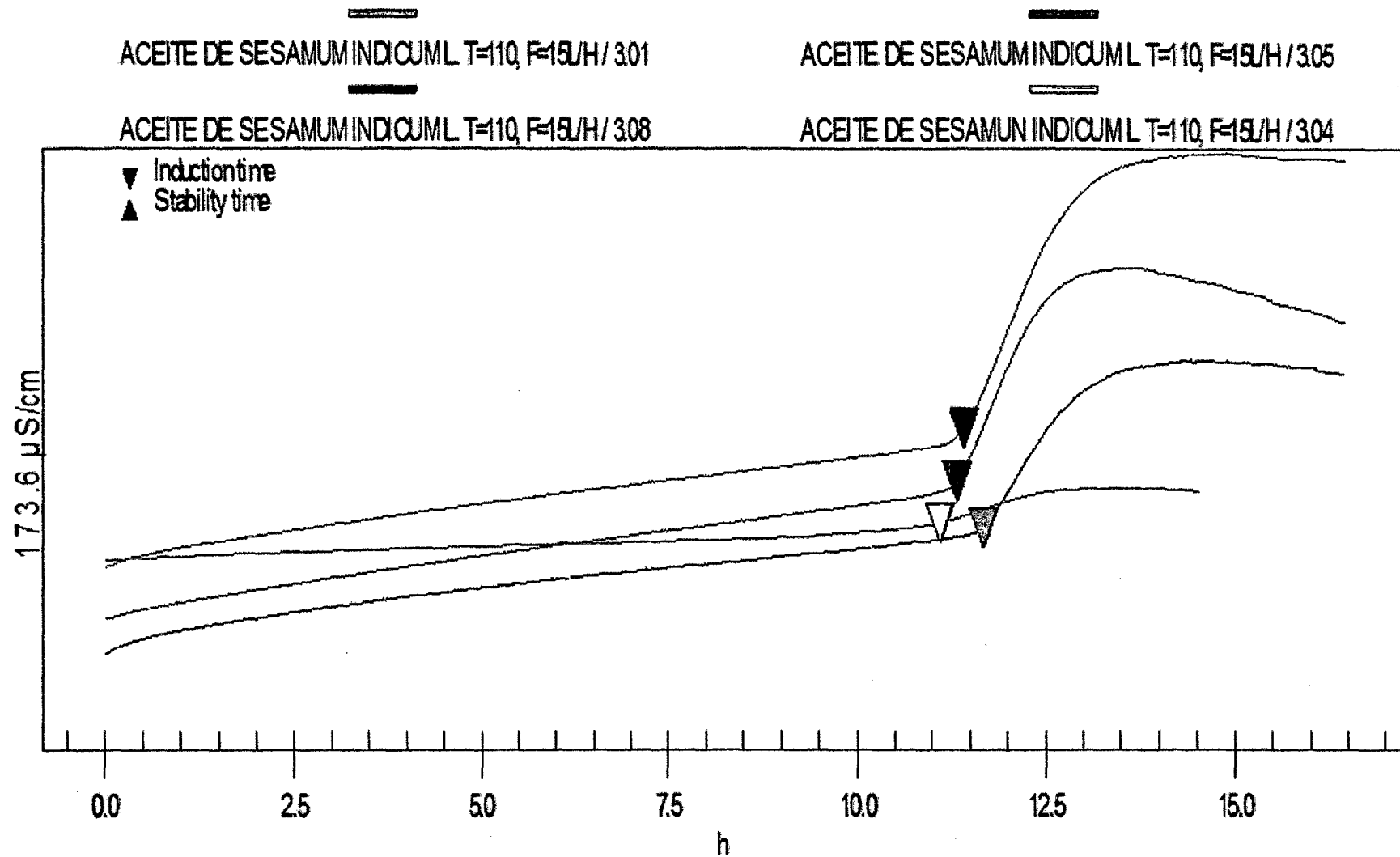
### Índice de Estabilidad Oxidativa en Aceite de Sesamum Indicum L.

Los resultados del cuadro 13 muestra que todos los tratamientos tienden a un ligero aumento de los valores de OSI como respuesta al incremento en el flujo de aire.

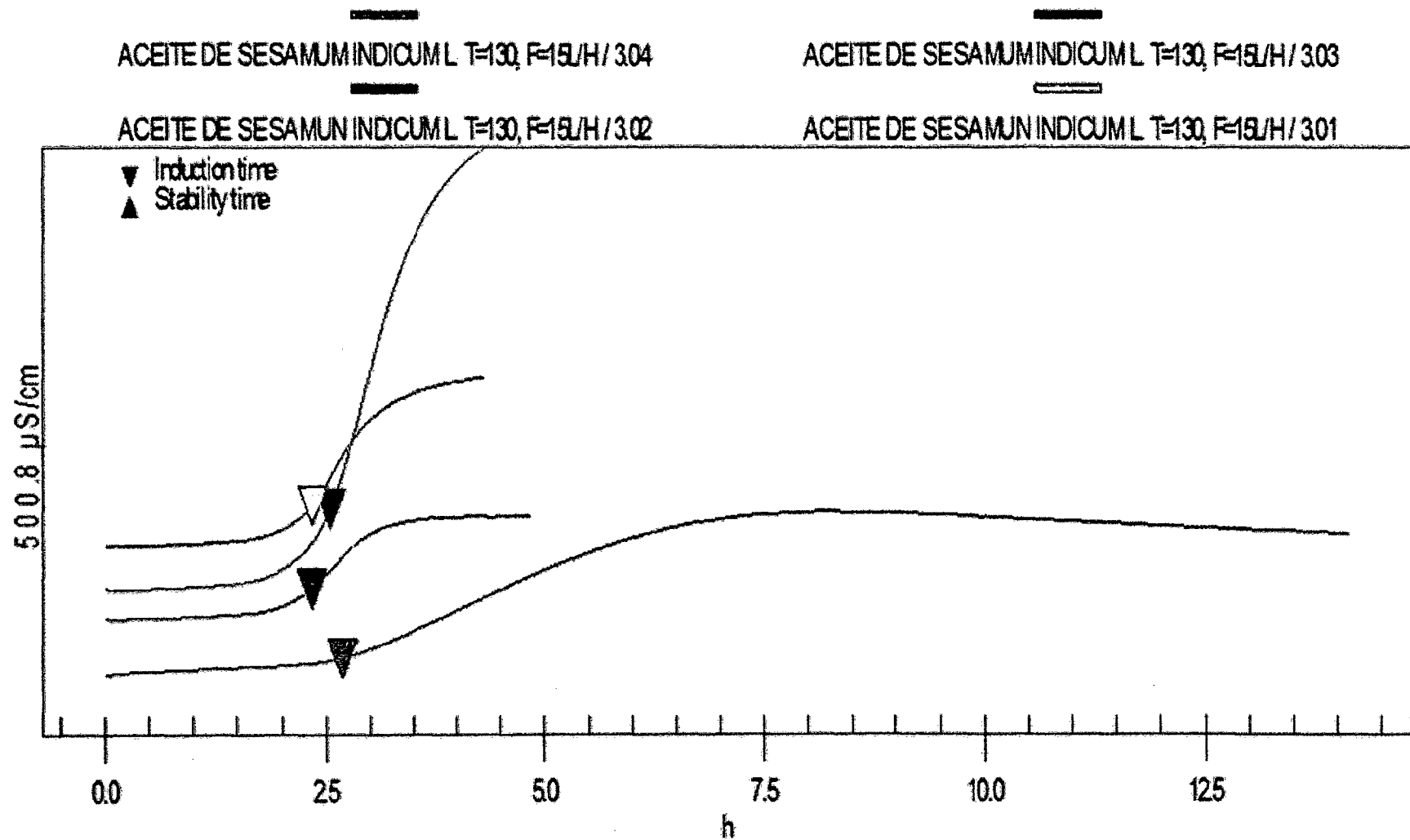
**Cuadro 13.** Índices de Estabilidad Oxidativa del aceite de Sesamum Indicum L.

Flujo de Aire	Temperatura		
	T= 110°C	T= 130°C	T= 150°C
F=15 L/H	11.09 h.	2.33 h.	0.61 h.
	11.32 h.	2.37 h.	0.65 h.
	11.40 h.	2.34 h.	0.64 h.
	11.67 h.	2.64 h.	0.63 h.
	11.08 h.	2.54 h.	0.55 h.
F=20 L/H	11.05 h.	2.34 h.	0.63 h.
	11.95 h.	2.59 h.	0.62 h.
	12.04 h.	2.50 h.	0.64 h.
	12.21 h.	2.70 h.	0.64 h.
F=25 L/H	12.31 h.	2.47 h.	0.72 h.
	12.17 h.	2.75 h.	0.72 h.
	11.78 h.	2.50 h.	0.64 h.

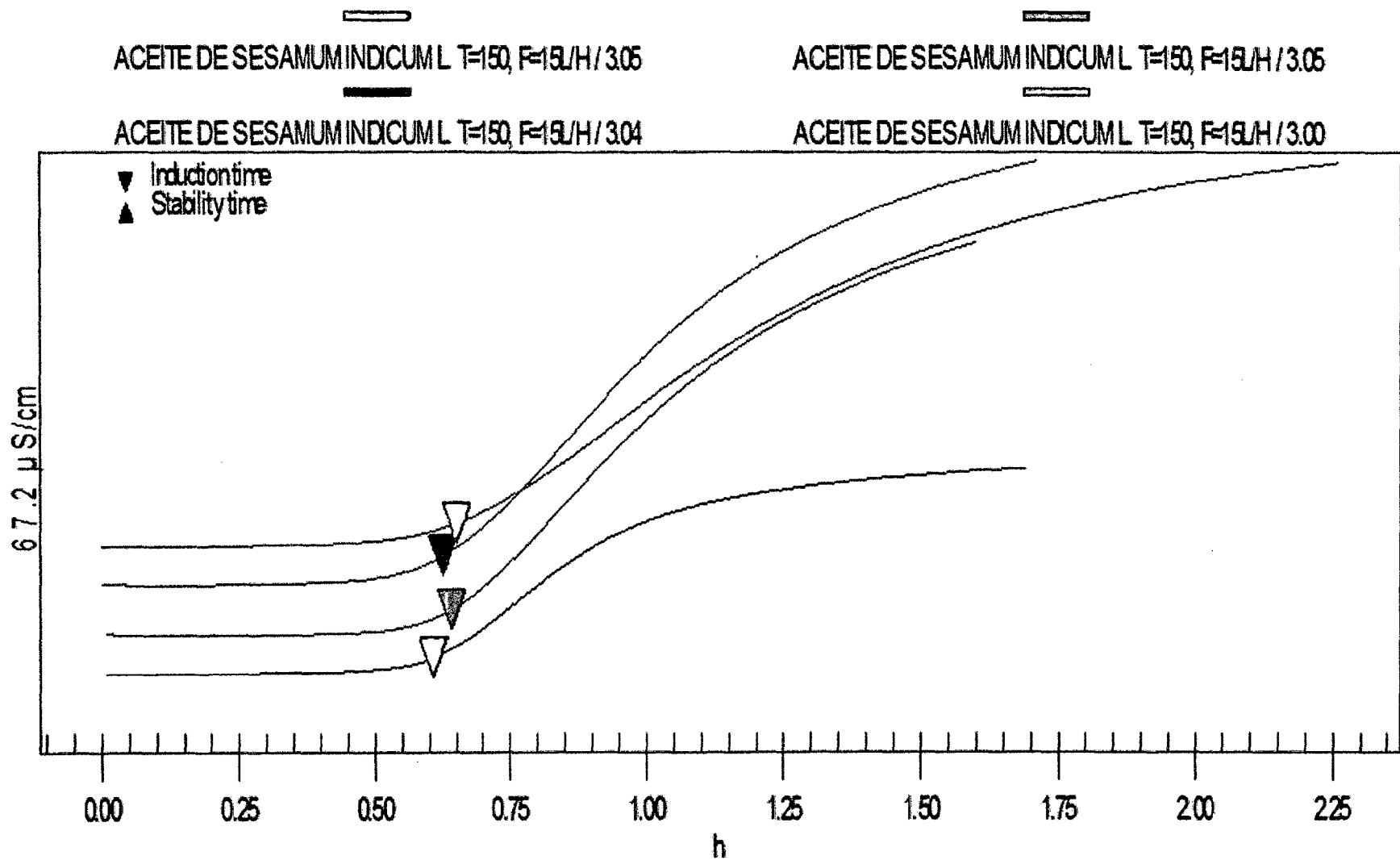
A continuación se muestran las curvas Rancimat, conductividad ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ ) vs tiempo (h), que evidencian el efecto de las condiciones experimentales de temperatura y flujo de aire sobre los valores de OSI para el aceite virgen de la semilla de sésamo.



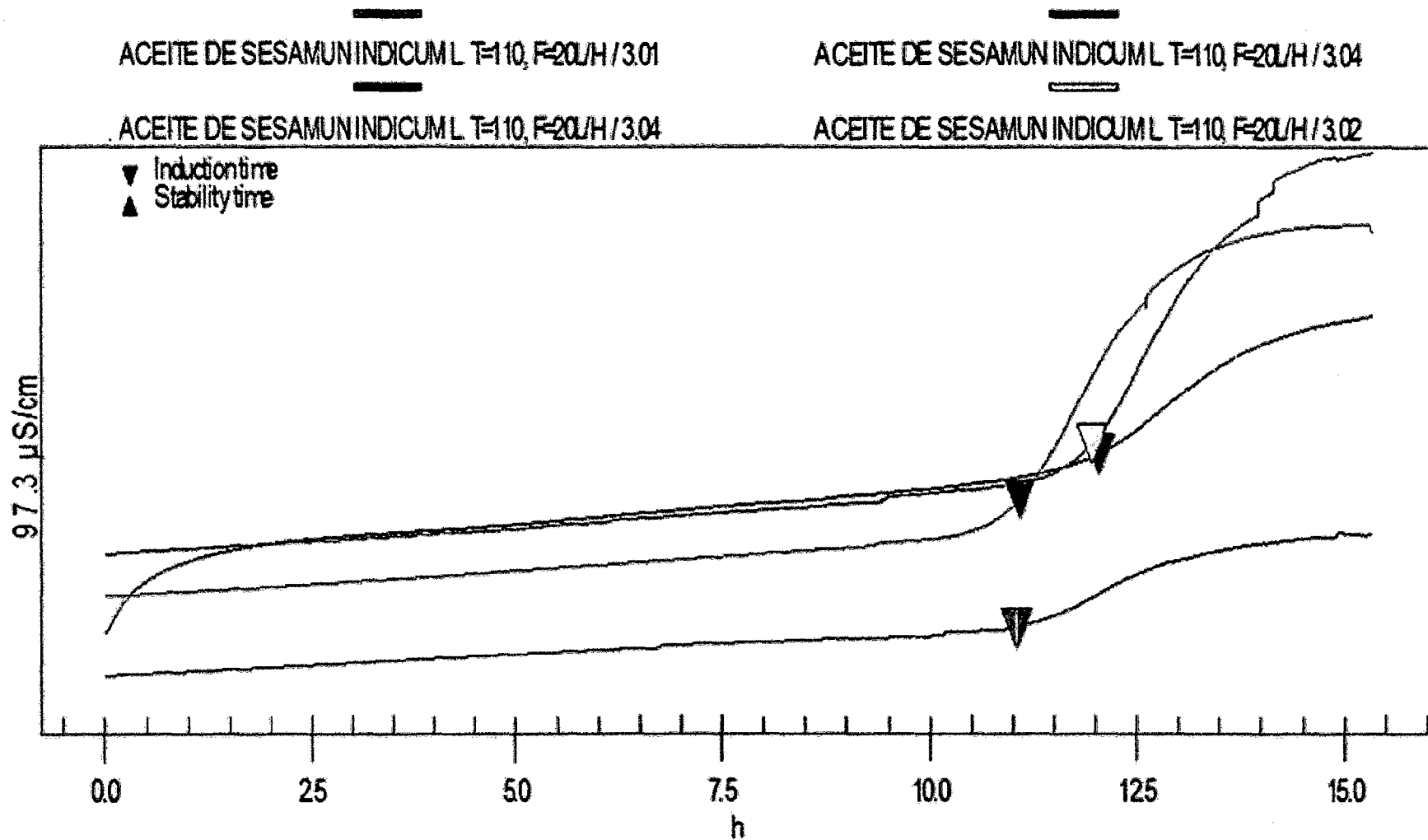
Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C y a flujo de aire de 15 L/H.



Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 130°C y a flujo de aire de 15 L/H.



Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 150°C y a flujo de aire de 15 L/H.



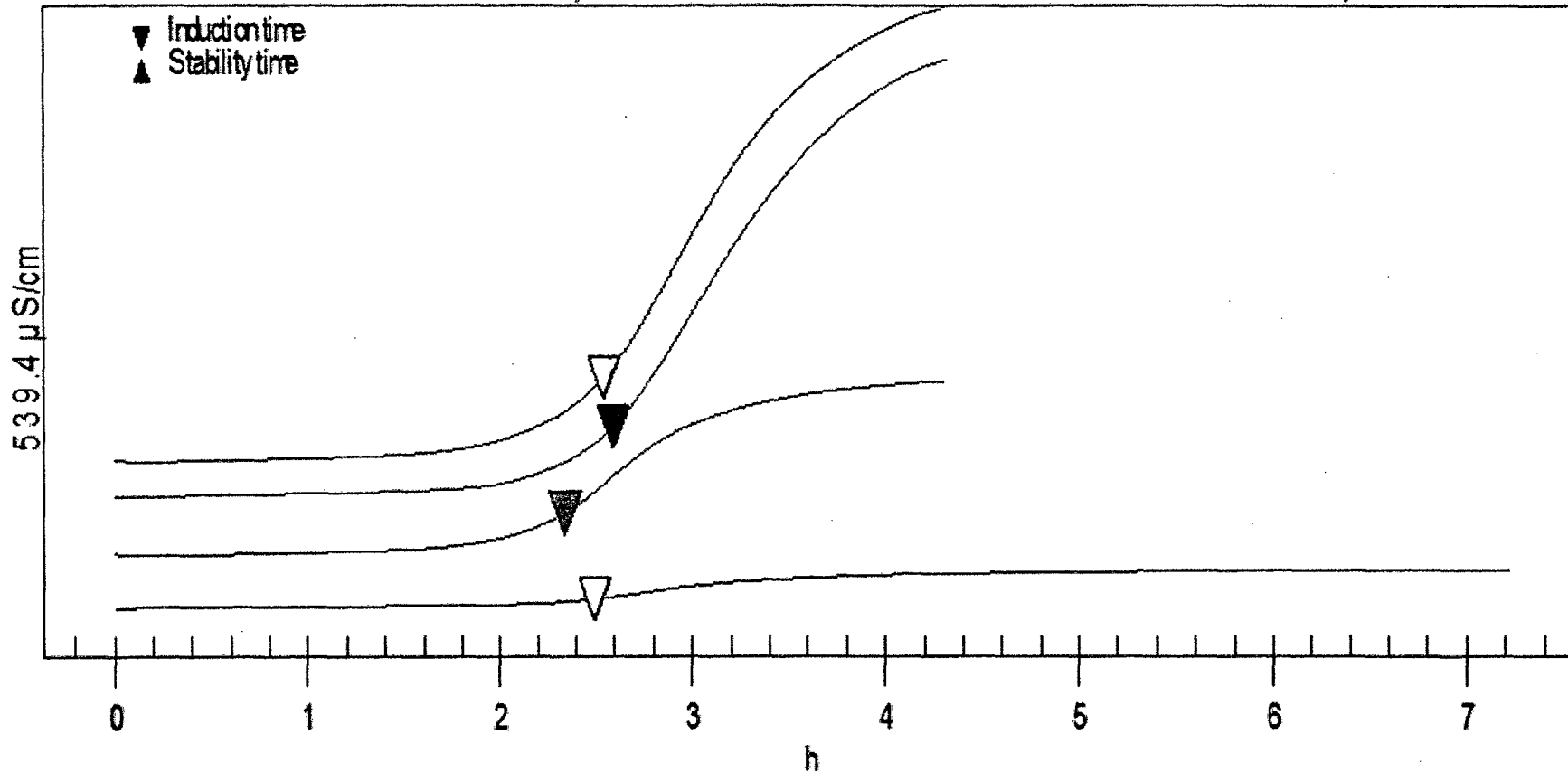
Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C y a flujo de aire de 20 L/H

ACEITE DE SESAMUN INDICUM L T=130, F=20L/H / 3.01

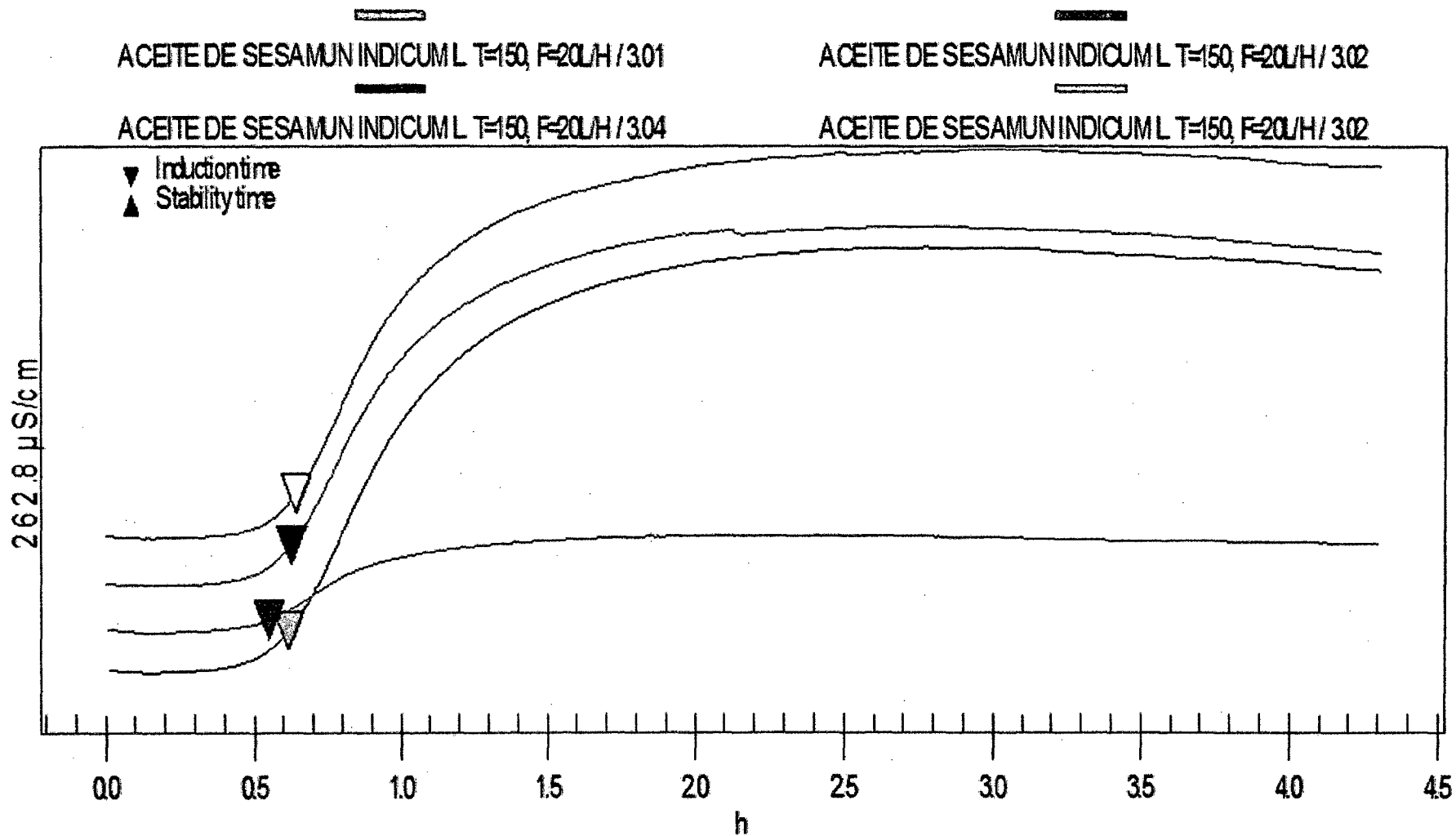
ACEITE DE SESAMUN INDICUM L T=130, F=20L/H / 3.01

ACEITE DE SESAMUN INDICUM L T=130, F=20L/H / 3.01

ACEITE DE SESAMUN INDICUM L T=130, F=20L/H / 3.02

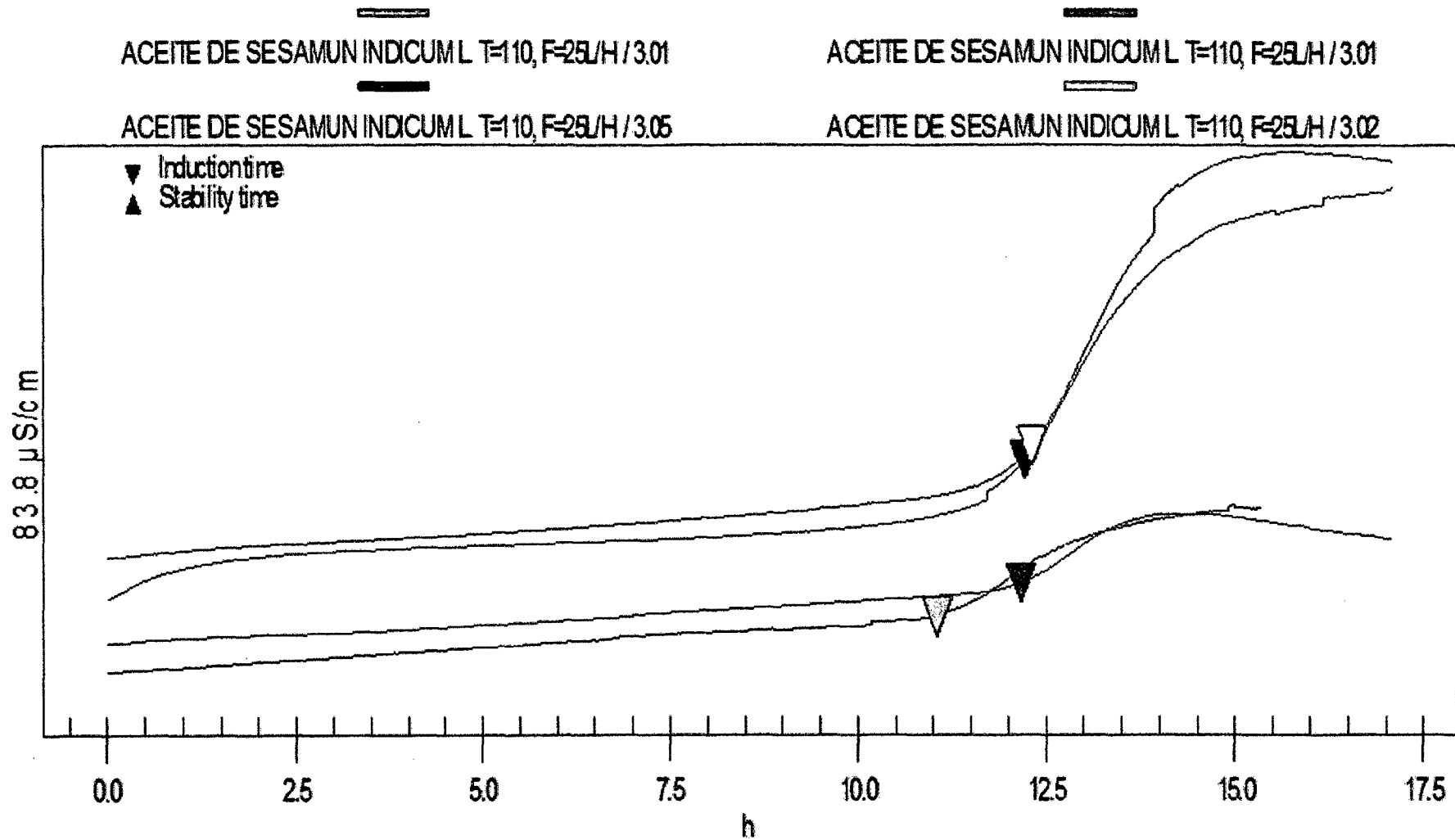


Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 130°C y a flujo de aire de 20 L/H

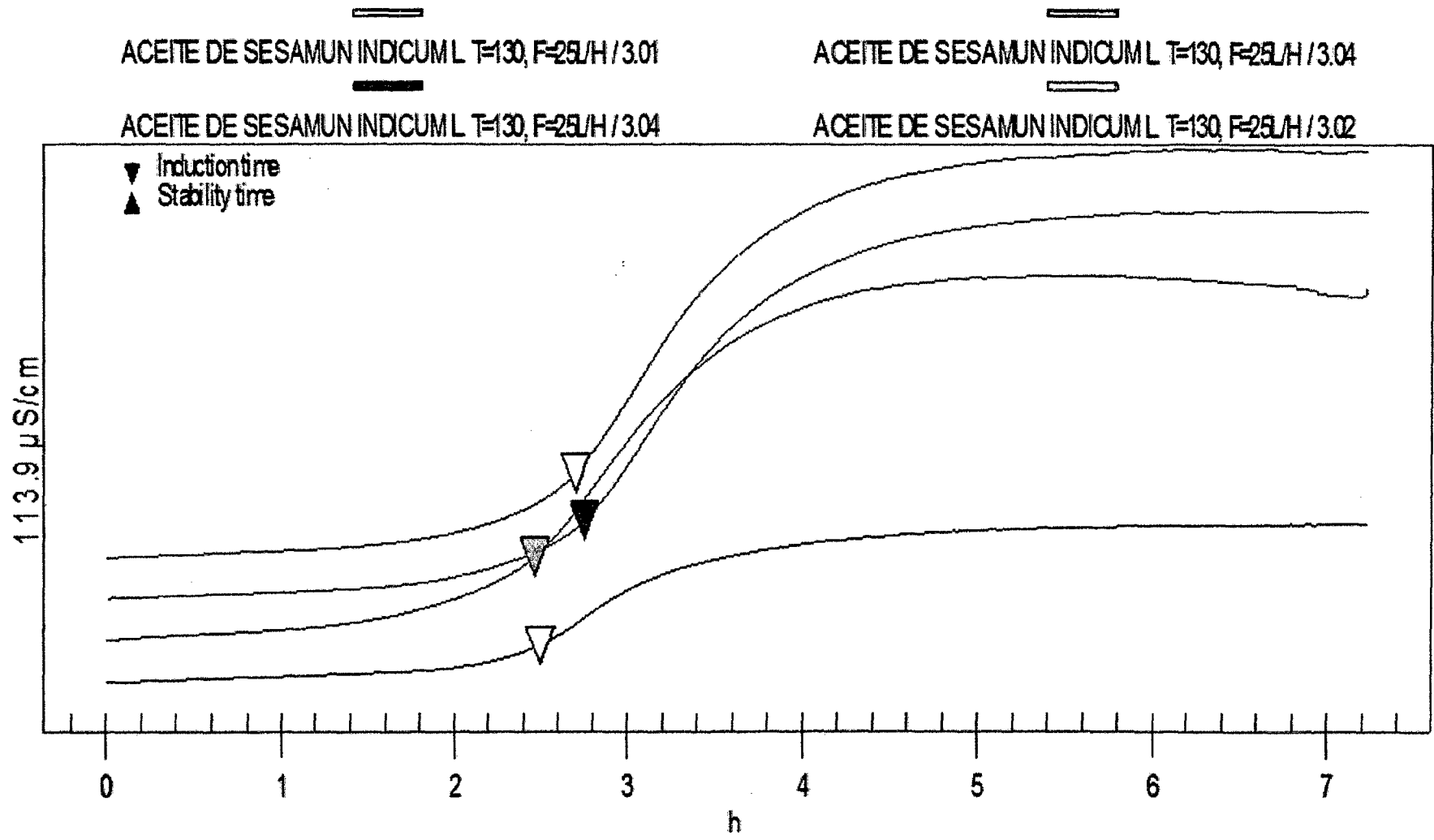


Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 150°C y a flujo de aire de 20 L/H

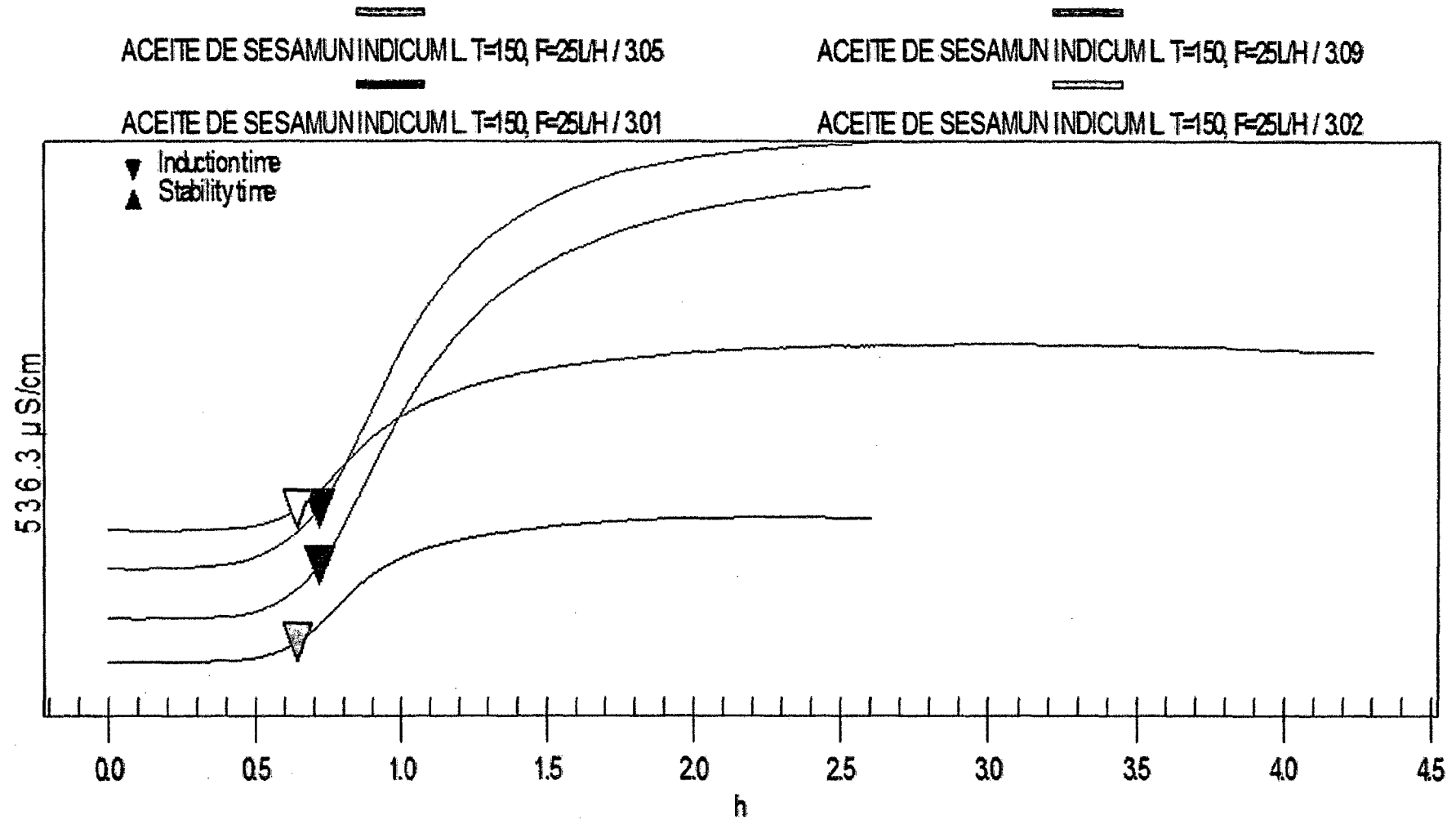




Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C y a flujo de aire de 25 L/H.



Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 130°C y a flujo de aire de 25 L/H.



Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 150°C y a flujo de aire de 25 L/H

## ANEXO N 03

### Determinación del Índice de Estabilidad Oxidativa Extrapolado a 25°C

A partir de la relación matemática entre los valores de OSI y la temperatura señalada por Nakatani et al., (2001) y Méndez et al.,(2006) para aceites vegetales:

$$OSI = 10^{AT+B} \dots \dots \dots (1)$$

$$\text{Log}(OSI) = AT + B \dots \dots \dots (2)$$

Donde:

OSI: Índice de Estabilidad Oxidativa (h.)

T: Temperatura (°C).

A y B: Constantes.

1. Reemplazando en la ecuación (2) para cada flujo de aire:

✓ Para Flujo de 15 L/H:

- $\text{Log}(11.37) = A(110) + B \dots \dots \dots (3)$

- $\text{Log}(2.42) = A(130) + B \dots \dots \dots (4)$

- $\text{Log}(0.63) = A(150) + B \dots \dots \dots (5)$

✓ Para Flujo de 20 L/H:

- $\text{Log}(11.53) = A(110) + B \dots \dots \dots (6)$

- $\text{Log}(2.49) = A(130) + B \dots \dots \dots (7)$

- $\text{Log}(0.61) = A(150) + B \dots \dots \dots (8)$

✓ Para Flujo de 25 L/H:

- $\text{Log}(12.12) = A(110) + B \dots \dots \dots (9)$

- $\text{Log}(2.61) = A(130) + B \dots \dots \dots (10)$

- $\text{Log}(0.68) = A(150) + B \dots \dots \dots (11)$

Los valores de A y B para cada flujo de aire se encuentran en el cuadro 9.

2. Reemplazando en la ecuación (2) los valores de A y B para cada flujo de aire:

✓ Para Flujo de 15 L/H:

- $\text{Log(OSI)} = -0.0314(T) + 4.4964 \dots \dots \dots (12)$

✓ Para Flujo de 20 L/H:

- $\text{Log(OSI)} = -0.0319(T) + 4.5631 \dots \dots \dots (13)$

✓ Para Flujo de 25 L/H:

- $\text{Log(OSI)} = -0.0313(T) + 4.5096 \dots \dots \dots (14)$

Las ecuaciones 12, 13 y 14 permiten calcular el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) a temperatura ambiente (25°C) para flujos de aire de: 15, 20 y 25 L/H respectivamente. Estas ecuaciones se utilizaron para obtener los valores que se muestran en el cuadro 10.

## ANEXO N 04

### Determinación de la Energía de Activación a partir de la Ecuación de Arrhenius

Según las consideraciones de Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989), se puede hacer uso de la ecuación:

$$\ln(\text{OSI}) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (15)$$

1. Reemplazando en la ecuación (16) para cada flujo de aire:

✓ Para Flujo de 15 L/H:

$$\bullet \ln(11.37) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{110} \quad (16)$$

$$\bullet \ln(2.42) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{130} \quad (17)$$

$$\bullet \ln(0.63) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{150} \quad (18)$$

✓ Para Flujo de 20 L/H:

$$\bullet \ln(11.53) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{110} \quad (19)$$

$$\bullet \ln(2.49) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{130} \quad (20)$$

$$\bullet \ln(0.61) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{150} \quad (21)$$

✓ Para Flujo de 25 L/H:

$$\bullet \ln(12.12) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{110} \quad (22)$$

$$\bullet \ln(2.61) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{130} \quad (23)$$

$$\bullet \ln(0.68) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{150} \quad (24)$$

Los valores de la pendiente para cada flujo de aire se encuentran en el cuadro 12.

2. Reemplazando en la ecuación (15) los valores de las pendientes para cada flujo de aire:

✓ Para Flujo de 15 L/H:

$$\ln(\text{OSI}) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + 11721.2\left(\frac{1}{T}\right) \quad (30)$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 11721.2$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 11721.2)$$

$$Ea = 97285.96 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$$

$$Ea = 97.29 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}$$

✓ Para Flujo de 20 L/H:

$$\ln(\text{OSI}) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + 11903.3\left(\frac{1}{T}\right) \quad (30)$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 11903.3$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 11903.3)$$

$$Ea = 98797.39 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$$

$$Ea = 98.79 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}$$

✓ Para Flujo de 25 L/H:

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + 11669.9\left(\frac{1}{T}\right) \quad (30)$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 11669.9$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 11669.9)$$

$$Ea = 96860.17 \frac{J}{mol}$$

$$Ea = 96.86 \frac{KJ}{mol}$$





**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



**I. DATOS GENERALES (PRE GRADO):**

**1.1. UNIVERSIDAD:**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

**1.2. ESCUELA O CARRERA PROFESIONAL:**

INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

**1.3. TITULO DE TRABAJO:**

“INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS RANCIMAT SOBRE LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA DE ACEITE DE *SESAMUM INDICUM L*”

**1.4. AREA DE INVESTIGACION:**

EXPERIMENTAL Y APLICADO

**1.5. AUTORES:**

DNI: 46926532, CASTILLO BENITES DARWIN RAFAEL

DNI: 46452702, VILLANUEVA LÓPEZ EUDES

**1.6. TITULO PROFESIONAL AL QUE CONDUCE:**

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

**1.7. AÑO DE APROBACION DE LA SUSTENTACION:**

2014



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

## FACULTAD DE INGENIERÍA

### ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



## II. CONTENIDO DEL RESUMEN:

### 2.1. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO:

#### 2.1.1. Objetivo de la Investigación:

El objetivo de esta investigación será determinar el índice de estabilidad oxidativa (OSI) en aceite virgen de semillas de *Sesamum Indicum L.* (Sésamo), previamente extraído por presión en frío, clarificado por centrifugación y almacenado bajo atmósfera de nitrógeno, y en refrigeración. El OSI se determinará mediante la prueba acelerada de Rancimat, bajo los parámetros de temperatura (110, 130 y 150° C) y flujo de aire (15, 20 y 25 L/h), además se calculará las energías de activación de la reacción de oxidación; finalmente mediante el método de extrapolación se obtendrán los valores de OSI a temperaturas usuales de almacenamiento (25°C) y errores asociados ( $\delta$ OSI) respectivamente.

#### 2.1.2. Formulación del Problema:

¿Cuál es la influencia de los Parámetros Rancimat sobre el Índice de Estabilidad Oxidativa de Aceite de *Sesamum Indicum L.*?

### 2.2. OBJETIVOS:

#### 2.2.1. Objetivo General:

- Determinar el índice de estabilidad oxidativa (OSI) en aceite de semillas de *Sesamum Indicum L.* (Sésamo).

#### 2.2.2. Objetivos Específicos:

- Evaluar las características fisicoquímicas del aceite de semillas de *Sesamum Indicum L.* (Sésamo).
- Determinar el tiempo de inducción de aceite de *Sesamum Indicum L.* a temperatura de: 110°, 130° y 150°C; y a flujo de aire de: 15, 20 y 25 L/H.



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

## FACULTAD DE INGENIERÍA

### ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



- Calcular los valores de OSI de aceite de Sesamum Indicum L. a temperaturas usuales de almacenamiento de aceites (25°C)
- Calcular el error de extrapolación del índice de estabilidad oxidativa de aceite de Sesamum Indicum L. a temperaturas usuales de almacenamiento (25°C)
- Determinar la energía de activación ( $E_a$ ) de la reacción de oxidación de aceite de Sesamum Indicum L.

#### 2.3. HIPOTESIS:

La influencia de los parámetros rancimat; flujo de aire de 15 L/H y a temperatura de 110°, 130° y 150°C, sobre el índice de estabilidad oxidativa de aceite de Sesamum Indicum L. será: 11.37, 2.42 y 0.63 horas respectivamente; que extrapolados a temperatura de 25 °C es 214 días.

#### 2.4. MARCO TEORICO:

La rancidez oxidativa, también llamada autooxidación, desde el punto de vista de calidad, es el factor más importante en aceites y grasas. En este caso, se trata de la reacción del oxígeno atmosférico con los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados. Esta reacción genera los productos primarios de la oxidación (peróxidos e hidroperóxidos), los cuales por una serie de reacciones paralelas producen los compuestos secundarios de la reacción, sean estos volátiles, como aldehídos, cetonas y ácidos, o no volátiles como dímeros, trímeros y polímeros, característicos de productos rancificados. La reacción de autooxidación es imposible de evitar, mas es posible retardarla. (Barrera D., 1998)



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

## FACULTAD DE INGENIERÍA

### ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



El método Rancimat incluido en los estándares nacionales e internacionales (OSI, AOCS Cd 12b-92). Es la prueba automatizada del AOM (Método de oxígeno activo), mide el grado en el que un aceite se oxida cuando se hace burbujear aire a través de él. Los productos de la oxidación, tales como el ácido fórmico, son conducidos hacia el agua destilada que se encuentra en una celda. El instrumento monitorea en forma continua la conductividad eléctrica del agua. En el momento en que la conductividad aumenta agudamente indica en forma inmediata el momento final de la prueba. En este método la estabilidad oxidativa se define como el tiempo (en horas) necesario para que la reacción de oxidación alcance el punto de inflexión en la representación grafica de la conductividad vs. Tiempo. (Navas, 2010)

#### 2.5. CONCLUSIONES:

- El aceite de Sésamo Indicum L. fue obtenido por extracción mecánica utilizando una prensa SEW-EURODRIVE modelo FA57-/G, a partir de una cantidad de 5 Kg. de semillas con una humedad de  $9.87\% \pm 0.12\%$ , obteniendo un rendimiento del 40 %. La caracterización fisicoquímica de aceite de Sésamo Indicum L. dio como resultado: densidad  $0.88 \pm 0.1$  gr/cm<sup>3</sup>, valor de peróxido  $0.8 \pm 0.05$  meq O<sub>2</sub>/Kg de aceite, índice de acidez  $0.22\% \pm 0.02\%$  e índice de refracción  $1.47 \pm 0.13$ .



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

## FACULTAD DE INGENIERÍA

### ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



- Después de evaluar la influencia de los parámetros Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa del aceite de *Sesamum Indicum* L., se encontró que tanto la temperatura y la tasa de flujo de aire fueron estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) sobre el índice estabilidad oxidativa del aceite de sésamo.
- Se obtuvieron valores experimentales del OSI con flujos de aire de 15, 20 y 25 L/H, y temperaturas de 110, 130 y 150°C; en base a estos valores se realizó una extrapolación a 25°C, y se obtuvieron valores de OSI de 214, 242 y 222 días con sus respectivos errores asociados ( $\delta$ OSI).
- Al utilizar el modelo matemático propuestos por Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989) se ha determinado la energía de activación de la reacción de oxidación de aceite de *Sesamum Indicum* L. a distintos flujos de aire, siendo 97.28, 98.79 y 96.86 kJ/mol para 15, 20 y 25 L/h respectivamente.
- En base a estos resultados, se puede afirmar que la influencia de la temperatura en los valores de OSI obtenidos por el método de Rancimat puede ser estudiado aplicando tanto la ecuación empírica como el modelo cinético. Con este último pueden obtenerse la energía de activación de la reacción a fin de poder comprender mejor el proceso de oxidación de los aceites vírgenes de materias primas vegetales.



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

## FACULTAD DE INGENIERÍA

### ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



#### 2.6. RECOMENDACIONES:

El presente trabajo abre las puertas al planteamiento de nuevas investigaciones:

- Evaluación de la correlación del índice de estabilidad oxidativa de aceite de *Sesamum Indicum* L. en Rancimat y otros índices.
- Evaluación de la actividad antioxidante de aceite de *Sesamum Indicum* L. por el método del radical DPPH.
- Evaluación del perfil lipídico de aceite de *Sesamum Indicum* L. durante la prueba Rancimat por cromatografía de gases.
- Caracterización de la torta de semillas de *Sesamum Indicum* L. obtenido por prensado en frío.

#### 2.7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Badui D., (1984): Química de los Alimentos.. Editorial Perrazo Educación. México
2. Belitz et al., (1997): Química de los Alimentos. 2da. Edición. Edit. Acibia. Zaragoza. España.
3. Casp, A. y Abril J., (1999): Procesos de Conservación de Alimentos. Ediciones Mundi-Prensa. Coedición. España. 493p.
4. Cheftel J. y Cheftel H., (1976): Introducción a la Bioquímica y tecnología de los alimentos. Vol. I Edit. Acibia. Zaragoza. España.
5. Graciani C. E., (2006): Los Aceites y grasas: Composición y propiedades. Editorial Mundi-Prensa. Madrid (España), 316p.
6. Heldmann D. y Lund D., (1992): Handbook of Food Engineering. Primera edición. Editorial Marcel Dekker, Inc. EEUU. 756p.
7. Lopez B. L., (2003): Cultivos Industriales. Ediciones Mundi-Prensa. 1071p.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



8. Toledo R., (1991): *Fundamentals of Food Process Engineering*. Editorial AVI. Segunda edición. New York, USA. 602p.
9. Ziller S., (1996): *Grasas y aceites alimentarios*. Editorial Acribia, 7a. Edición. España. 71 pp.
10. Monje M., (2003): *Elaboración y conservación de pasta de Ajo Blandino (Allium ampeloprasum L.)*
11. Navas P., (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*.
12. Amarowicz R., Carle R., Dongowski G., Durazzo A., Galensa R. Kammerer D., Maiani G., Piskula M., (2009): *Influence of postharvest processing and storage on the content of phenolic acids and flavonoids in foods*. *Mol. Nutr. Food Res. Rev.* 53: S151-S183.
13. Angerosa F., (2000): *En Handbook of Olive Oil: Analysis and properties* Eds. J. Harwoor y R. Aparicio, Aspen Publ. Inc. Gaitesburg. Maryland (USA), pp.355-392.
14. Anwar F., Bhangar M.I. & Kazi T.G., (2003): *Relationship between Rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats*. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 80, 151-155.
15. Avalos A., Perez-Urria E., (2009): *Mecanismo secundario de las plantas*. *Reduca (Biología) Serie Fisiología Vegetal*. 2(3): 119-145.
16. Barrera D., (1998): *Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas*. *Grasas y Aceites*, 49. Fase. 1, 55-63
17. Blaine S., Savage P.E., (1992): *Reaction Pathways in Lubricant Degradation*. 3. *Reaction Model for n-Hexadecane autoxidation* *Ind. Engineering Chemical Research*. 31: 69-75.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



18. Bruhl L., Matthaus B., (2008): Sensory assessment of virgin rapeseed oils. Review. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 110: 606-610.
19. Campbell-Platt G., (1989): Shelf life – who needs it?. Food Science and Technology Today. 3 (4): 244 -246.
20. Cert A., (2000): Review: Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. Journal of Chromatography A. 881: 131-148.
21. Coppin E.A. & Pike O.A., (2001): Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-exposed soybean oil. Journal of American Oil Chemists' Society, 78, 13-18.
22. Criado D. & Moya M., (2009): Actualizaciones El Medico. Vitaminas y Antioxidantes. Servicio de Medicina Interna y Urgencias. Hospital Puerta de Hierro, Madrid. España. 04-19
23. Drago M.E., López M., Sainz T., (2006): Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. Rev. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 37 (4), 58-68.
24. Dunn R., (2008): Effect of Temperature on the Oil Stability Index (OSI) of Biodiesel. Energy and Fuels. 22: 657–662.
25. FAO, (1997): Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos. (Estudio FAO Alimentación y Nutrición-57)
26. Farhoosh R., (2007a): Shelf-life prediction of edible fats and oils using Rancimat. Lipid Technology 19(10): 232-234.
27. Fernandez P., Cabral J.M.S., (2007): Phytosterols: Applications and recovery methods Bioresource Technology 98: 2335–2350.
28. Ferratto J., (2003): Importancia de la gestión de la calidad en frutas y hortalizas, situación y perspectivas. Presentación Feria Internacional de la Alimentación. FIAR. Rosario.
29. Frankel N., (1998): Lipid Oxidation. The Oily Press, Bridgewater, UK.





**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



30. Fregapane G., Navas H.P.B. y Salvador A., (2013): Índices de calidad, componentes mayoritarios, minoritarios y estabilidad oxidativa de aceites vírgenes de soya y sésamo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 30: 284-303.
31. Garcia-Ochoa F. et al., (1989): Modeling of the Thermal n-Octane Oxidation in the Liquid Phase. *Industrial and Engineering Chemical Research*. 28:43–48.
32. Gómez L. et al., (2012): Products made from chia and sesame seeds: chemical composition, acceptability, satisfaction and knowledge on their nutritional properties. *Actualización en Nutrición* 13 - N° 4.
33. Gordon M.H. & Mursi E., (1994): A comparison of oil stability based on the Metrohm Rancimat with storage at 20 °C. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 71, 649-651.
34. Gordon M. et al., (2001): Measuring antioxidant activity en: *Antioxidant in food*, Eds. Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M., Woodhead Publishing Ltd, Cambridge.
35. Horner J.H., Choi S.Y., Newcomb M., (2000): Laser flash photolysis studies of alkoxy radical kinetics using 4-nitrobenzenesulfonate esters as radical precursors. *Org. Lett.* 2, 3369-3372.
36. Instituto Ecuatoriano de Normalización, (2012): Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 8:2012 Primera revisión.
37. Jebe T.A., Matlock M. G. & Sleeter R.T., (1993): Collaborative study of the oil stability index analysis. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 70, 1055-1061.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



38. Kaya A., Tekin A.R. & Oner M.D., (1993): Oxidative stability of sunflower and olive oils: Comparison between a modified active oxygen method and long term storage. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology*, 26, 464–468.
39. Kishimoto S., Maoka T., Nakayama M., Ohmiya A., (2004): Carotenoid composition in petals of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*). *Phytochem* 65: 2781-2787.
40. Ladikos D., Lougovois V., (1990): Lipid oxidation in muscle foods: a review. *Food Chem.* 35, 295-314.
41. Latif S. et al., (2010): Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. *Food Chemistry* 125, 679–684.
42. Liebler D.C., (1993): The role of metabolism in the antioxidant functions of vitamin E. *Crit. Rev. Toxicol.* 23, 147-169.
43. Litwinienko G., Daniluk A., Kasprzycka - Guttman T., (1999): Study on Autoxidation Kinetics of Fats by Differential Scanning Calorimetry. 1. Saturated C12-C18 Fatty Acids and Their Esters. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 39, 7-12.
44. Man J.M., Tie F. & Man L., (1987): Formation of short chain volatile organic acids in the automated AOM method. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 64, 993-996.
45. Marquez-Ruiz G., Martin-Polvillo M., Velasco J., Dobarganes C., (2008): Formation of oxidation compounds in sunflower and olive oils under oxidative stability index conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 1-6.
46. Martinez-Flores S., Gonzalez-Gallego J., Culebras J., Tunon M., (2002): Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrition Hospitalaria. Rev.* (6): 271-278.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



47. Mattila P., Kumpulainen J., (2002): Determination of free and total phenolic acids in plant-derived food by HPLC with Diode-array detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50(13): 3660-3667.
48. Mayne S.T., (2003): Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *Journal Nutrition*. 133: 933S-940S
49. Melendez-Martinez A., Vicario I., Heredia F., (2007): Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de Nutricion*. 57(2): 109-117.
50. Méndez E., Sanhueza J., Speisky H. & Valenzuela A., (1996): Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 73, 1033-1037.
51. Moure A., Cruz J.M., Franco D., Domínguez J.M., Sineiro J., Domínguez H., Nunez M.J., Parajo J.C., (2001): *Food Chemistry*. 72: 145-171.
52. Nakatani N., Tachibana Y., Kikuzaki H., (2001): Establishment of a model substrate oil for antioxidant activity assessment by oil stability index method. *Journal of the American Oil Chemists Society* 78: 19-23.
53. Pedro J., García-Moreno, Pérez - Gálvez R., Guadix A., Guadix E., (2013): Influence of the parameters of the Rancimat test on the determination of the oxidative stability index of cod liver oil. *LWT-Food Science and technology*, 51, 303-308.
54. Porter N.A., Caldwell S.E., Mills K.A., (1995): Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* 30, 277-290.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



55. Prior R.L., Wu X., Schaich K., (2005): Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4290 - 4302.
56. Ramos C., Tarazona G., (2001): Estudio de la estabilidad de hojuelas fritas de papa durante el almacenamiento al medio ambiente. *Anales Científicos UNALM de la república de Perú*: 286 – 296.
57. Reineccius G., (1993): Biases in analytical flavor profiles introduced by isolation method. *Flavor measurement*, 8: 6176.
58. Rossi-Olson A., (2011): The impact of nut inclusions on properties and stability of dark chocolate. Dissertation, Food Science. Rutgers University, New Brunswick, NJ.
59. Salazar M.E., Belén D., Marín G., Moreno H., (2007): Oxidation Kinetics of the Oil of the Coroba Palm (*Attalea maripa*). *Universidad de Oriente, Venezuela*. 19 N° 2: 172-182.
60. Sayago A., Marin M.A., Aparicio R., Morales M.T., (2007): Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites*. 58 (1): 74-86.
61. Schaich K.M., (2005): Lipid oxidation in fats and oils: an integrated view. In: Shahidi, F. (Ed.), *Bailey's Industrial Fats and Oils*, 6th ed John Wiley, New York, 1, pp. 269-355.
62. Schaich K.M., (2008): Co-oxidations of oxidizing lipids: reactions with proteins. In: Kamal-Eldin, A., Min, D.B. (Eds.), *Lipid Oxidation Pathways*, 2. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 183-274.
63. Schaich K.M., Shahidi F., Zhong Y., Eskin M., (2013): Lipid Oxidation. *Biochemistry of Foods*, 419-478.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



64. Slavin M., Cheng Z., Luther M., Kenworthy W., Yu L., (2009): Antioxidant properties and phenolic, isoflavone, tocopherol and carotenoid composition of Marylandgrown soybean lines with altered fatty acid profiles. *Food Chem.* 114, 20-27.
65. Suja K.P., Jayalekshmy A., Arumughan C., (2005): Antioxidant activity of sesame seed extract. *Food Chemistry.* 91: 213-219.
66. Sun Y.E., Wang W.D., Chen H.W., Li C., (2011): Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51, 453-466.
67. Tan C.P., Che-Man Y.B., Selamat J., Yusoff M.S., (2001): Application of Arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78:1133-1138.
68. Tortorello M., Best S., Batt C., Woolf H. y Bender J., (1991): Extending the shelf life of Cottage chesse: Identification of spoilage flora and their control using food grade preservatives. *Cultured Dairy Products Journal* 26 (4): 8, 9, 11.
69. Tur J.A., (2004): Los antioxidantes en la dieta mediterránea. *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria* 10(4): 1987-207.
70. Tsentalovich Y.P., Kulik L.V., Gritsan N.P., Yurkovskaya A.V., (1998): Solvent effect on the rate of b-scission of the tert-butoxyl radical. *J. Phys. Chem. A.* 102, 7975-7980.
71. Valente T., Hidalgo J., Bolea I., Ramirez B., Angles N., Reguant J., Morello J.R., Gutierrez C., Boada M., Unzeta M., (2009): A diet enriched in polyphenols and polyunsaturated fatty acids, LMN diet, induces neurogenesis in the subventricular zone and hippocampus of adult mouse brain. *Journal of Alzheimer's Disease*, 18(4).849-865.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



72. Varela G., (2009): Antioxidantes de las frutas en la dieta. Monografía 1era Edición Madrid pp. 1 -12.
73. Wilbey R., (1997): Estimating shelf life. International Journal of Dairy Technology. 50 (2) 64 - 67.
74. Young I.S., Woodside J. V., (2001): Antioxidants in health and disease. J. Clin. Pathol. 54: 176 – 186.
75. Young J.M., Wang X., Morris M. E., (2006): Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolismo. Toxicology in Vitro 20: 187–210.