

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

TITULO:

**“INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS DEL RANCIMAT EN EL TIEMPO DE
INDUCCIÓN Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DEL ACEITE DE CHÍA (*Salvia
Hispánica L.*) CULTIVADA EN EL DISTRITO DE ANDAHUAYLAS”**

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE INGENIERO

AGROINDUSTRIAL

AUTORES:

- **Bach. ESTRADA TALEXI WILLIAM RONALD**
- **Bach. ESTRADA TALEXCIO JULISSA NOEMI**

ASESOR:

- **DR. GILBERT RODRÍGUEZ PAUCAR**

NUEVO CHIMBOTE – PERU

2016

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso, por su guía y su gran misericordia para con nosotros, por la fortaleza que nos da cada día para poder superar todo los obstáculos que se presentan, y porque su gran amor está con nosotros siempre.

A toda mi familia por su incondicional apoyo y amor no hay precio, ni con todo el dinero del mundo podré pagarles lo que hicieron hasta llegar a esta la meta, eternamente agradecido a cada uno de los miembros de mi hogar.

A nuestros padres Vicente y Noemí, por su incomparable cariño, por sus esfuerzos en darnos la mejor educación tanto moral como profesional, por sus apoyo inagotable y por ser vuestros más grandes animadores

A mi compañero, Jesús, por su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida y a mis amigas, Jessica, Esther, Ana y Solansh por todos estos años compartidos en la universidad, por ser como hermanas en los momentos de dificultad.

AGRADECIMIENTOS

- ❖ A Dios, Por su infinita gracia y de permitir que pueda concluir una de las metas que nos hemos trazado.
- ❖ A nuestra familia, por la fuerza y el ánimo que nos brindan por salir adelante, sin ellos presentes no hubiese sido fácil este caminar, ello son nuestra más grande motivación de seguir adelante.
- ❖ A nuestro Asesor Dr. Gilbert Rodríguez Paucar quien confió en nosotros y nos dio la oportunidad de poder transitar este camino. Gracias por guiarnos, acompañarnos, y por brindarnos todos sus conocimientos y experiencia.
- ❖ Al Ing. Eudes Villanueva y Ing. Diana Cortéz, por su contribución en el apoyo de elaboración de este proyecto.
- ❖ Al Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial, porque nos brindaron sus laboratorios para poder ser realizable este proyecto de investigación
- ❖ A Jesús, mi compañero y amigo, por su apoyo tanto moral como académico y por los momentos de alegría siempre compartidos.
- ❖ A mis amigas Jessica, Esther, Ana y Solansh, por los momentos de alegría, tristeza, ayuda mutua y enseñanza con ustedes aprendí lo que significa una verdadera amistad
- ❖ A cada uno los docentes de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por haberme brindado parte de sus conocimiento al transcurso de mi estadía en esta prestigiosa casa de estudios.
- ❖ A la Srta. Silvia, por su gran paciencia en estos años de estudio de universidad y por ser nuestra más grande concedora de libros, sin ella no hubiese sido fácil todos esos años de estudio.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.	15
II.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	17
2.1.	La chía.	17
2.1.1.	Origen y antecedentes históricos.	17
2.1.2.	Composición química y aspectos nutricionales de la semilla de chía.	19
2.1.2.1.	Contenido de aceites y composición de ácidos grasos.	20
2.1.2.2.	Contenido de proteínas y composición de aminoácidos.	21
2.1.2.3.	Vitaminas y minerales.	22
2.1.2.4.	Fibra dietaria.	25
2.1.2.5.	Antioxidantes.	25
2.2.	Aceites vegetales comestibles.	27
2.2.1.	Composición y estructura de las grasas, aceites y sus derivados.	28
2.2.1.1.	Ácidos grasos.	28
2.2.1.1.1.	Ácidos grasos saturados no ramificados.	29
2.2.1.1.2.	Ácidos grasos insaturados no ramificados.	30
2.2.1.1.3.	Otros ácidos grasos.	31
2.2.1.2.	Acilglicerol.	32
2.2.1.3.	Isoprenoides.	33
2.2.1.3.1.	Isoprenoides mixtos.	33
2.2.1.3.2.	Esterol.	35

2.2.1.3.3. Terpenos.	36
2.2.1.4. Ceras.	37
2.2.1.5. Fosfoacilgliceroles (fosfolípidos)	37
2.2.1.6. Glicerolípidos.	38
2.2.1.7. Lipocromos.	38
2.2.1.8. Lipovitaminas.	39
2.2.1.9. Hidrocarburos.	39
2.2.1.10. Compuesto fenólicos.	40
2.2.1.10.1. Flavonoides.	41
2.2.1.10.2. Pigmentos.	42
2.2.1.11. Componentes volátiles.	43
2.2.2. Propiedades organolépticas de aceites vegetales.	44
2.2.3. Propiedades Antioxidantes de los Componentes Menores de Aceites Vegetales Vírgenes.	45
2.2.4. Aceites Vegetales Vírgenes VS Aceites Vegetales Refinados.	47
2.2.5. Procesamiento de aceites vegetales mediante procesos convencionales.	48
2.2.5.1. Extracción de aceite por prensado.	49
2.2.5.2. Extracción de aceites Solvente.	51
2.3. Cinética de deterioro de los alimentos y predicción de la vida útil.	52
2.3.1. Reacción de orden cero.	55
2.3.2. Reacción de primer orden.	56

2.3.3.	Efecto de la temperatura. -----	56
2.4.	Cinética de deterioro de los aceites de semillas oleaginosas. -----	60
2.4.1.	Radicales libres. -----	62
2.4.1.1.	Fuente de radicales libres. -----	63
2.4.1.2.	Toxicidad de los radicales libres. -----	64
2.4.2.	Oxidación de aceites vegetales vírgenes. -----	65
2.4.3.	Proceso de Oxidación de lípidos. -----	67
2.4.4.	Mecanismos de Oxidación de lípidos: Tradicional cadena de los radicales libres. 68	
2.4.4.1.	Iniciación. -----	69
2.4.4.2.	Propagación y ramificación. -----	70
A.	Reacciones básicas. -----	70
B.	Los sitios de la extracción de hidrógeno y L*/ LOOH Formación en ácidos grasos insaturados. -----	76
2.4.4.3.	Terminación del proceso. -----	80
A.	Recombinación de radicales. -----	81
B.	Las reacciones de escisión de LO* -----	81
C.	Co-oxidación de las moléculas no lipídicas. -----	85
D.	Eliminación de grupos. -----	86
2.4.5.	Mecanismos de los antioxidantes. -----	87
2.4.5.1.	Mecanismos por transferencia de un hidrógeno (MTP). -----	88

2.4.5.2.	Mecanismo por transferencia simple de un electrón.	89
2.4.6.	Estabilidad oxidativa.	90
2.4.7.	Relación empírica entre el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y la temperatura	90
2.4.8.	Relación del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y Energía de Activación de oxidación	92
2.5.	Métodos para Determinar el Progreso de la Oxidación y Estabilidad Oxidativa de un Aceite Vegetal	94
2.5.1.	Valor peróxido (VP)	95
2.5.2.	Valor de la anisidina.	96
2.5.3.	Absorbancias de Radiaciones en el Ultravioleta (K 232 Y K 270)	96
2.5.4.	Método de Oxígeno Activo. (AOM)	97
2.5.5.	Método de Rancimat.	97
2.5.6.	Ensayo de Almacenamiento a Temperatura ambiente.	98
2.6.	Método para determinar el perfil lipídico de un Aceite Vegetal.	98
2.6.1.	Cromatografía de gases.	98
III.	MATERIALES Y METODOS.	100
3.1.	Materiales y Equipos.	100
3.1.1.	Materia prima.	100
3.1.2.	Reactivos.	100
3.1.3.	Materiales de vidrio	101

3.1.4.	Otros materiales.	101
3.1.5.	Equipos.	102
3.2.	Metodología de análisis.	103
3.2.1.	Análisis fisicoquímicos de la semilla y aceite de <i>Salvia hispánica</i> L.	103
3.2.1.1.	Humedad.	103
3.2.1.2.	Índice de Refracción.	103
3.2.1.3.	Índice de acidez.	103
3.2.1.4.	Índice de peróxido – Método Oficial de la AOAS	105
3.2.1.5.	Índice de estabilidad Oxidativa (OSI)	107
A)	Preparación de la muestra.	107
B)	Celda Conductimétrica Integrada.	107
C)	Análisis Rancimat.	108
3.2.1.6.	Vida útil.	108
3.2.1.7.	Energía de activación.	109
3.2.2.	Extracción del aceite virgen por prensado en frío.	109
3.2.2.1.	Materia prima.	109
3.2.2.2.	Limpieza.	110
3.2.2.3.	Pesado	110
3.2.2.4.	Prensado	110
3.2.2.5.	Centrifugación del aceite virgen extraído.	111

3.2.2.6.	Almacenamiento del aceite clarificado. -----	111
3.2.3.	Procedimiento experimental -----	112
3.2.4.	Diseño estadístico. -----	113
3.2.5.	Análisis Estadístico. -----	114
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES. -----	116
4.1.	De los análisis fisicoquímicos del aceite de Chía (Salvia Hispánica L.)-----	116
4.2.	Comportamiento del Aceite de Chía (Salvia Hispánica L.) en la Prueba Rancimat. 118	
4.3.	Comportamiento del perfil lipídico (Alfa Ácido Linolénico) del aceite de chía (Salvia Hispánica L.) Después de la prueba de test Rancimat. -----	121
4.4.	Tendencia de la Estabilidad Oxidativa en Función de la Temperatura y del Flujo de Aire-----	128
4.5.	Determinación de la Vida Útil.-----	130
4.6.	Determinación de la energía de activación. -----	139
V.	CONCLUSIONES. -----	142
VI.	RECOMENDACIONES. -----	144
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. -----	145
VIII.	ANEXOS -----	154

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Perfil de ácidos grasos de la semilla de chía.....	20
Tabla 2: Contenido de aminoácidos correspondientes a hidrolizados de proteínas de semilla de chía.....	22
Tabla 3: Contenido de vitaminas y elementos esenciales en semillas y harinas desengrasada de chía	24
Tabla 4: Experimento Factorial DCA.....	113
Tabla 5: Experimento factorial DCA.....	114
Tabla 6: Experimento factorial DCA.....	115
Tabla 7: Análisis Físicoquímicos del Aceite de Salvia hispánica L.	117
Tabla 8: Comportamiento del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) de.....	118
Tabla 9: Porcentaje del Ácido Alfa Linolénico	121
Tabla 10: Análisis de Varianza ANOVA del % ALA	127
Tabla 11: Valores de regresión lineal A y B,.....	130
Tabla 12: Valores de extrapolación de OSI a 25°C	133
Tabla 13: Análisis de Varianza (ANOVA).....	138
Tabla 14: Determinación de la energía de activación.....	139
Tabla 15: Índices de Estabilidad Oxidativa del aceite de Salvia Hispánica L.....	158

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de los antioxidantes presentes en la chía (Garcés ,2013).....	27
Figura 2: Estructura molecular de un ácido graso. (Navas P., 2010)	29
Figura 3: Estructura de los ácidos grasos poliinsaturados más importantes en aceites vegetales (ácidos linoleico y α -linolénico) (Navas P., 2010).....	31
Figura 4: Estructura de la molécula de un glicerol, de un ácido graso libre y de un triacilglicerol (Ixtaina, 2010)	33
Figura 5: Estructura del isopreno. (Ávalos A. et al., 2009).....	37
Figura 6: Estructura de carotenos (Bockisch, 1998).....	39
Figura 7: Esquema de un proceso típico para la extracción de aceites por prensado (Ixtaina,2010).....	51
Figura 8: Esquema general del proceso de autooxidación lipídica (Frankel, 2005).....	68
Figura 9: Reacción Clásica en cadena de los radicales libres de la oxidación de lípidos como tradicionalmente se entiende. (Schaich K, 2005).....	73
Figura 10: Hidrólisis Concertada del Enlace de Hidrógeno de los Hidroperóxidos. (Schaich et. al., 2013).....	74
Figura 11: Reacción de un Radical y un Hidroperóxido. (Schaich et. Al., 2013).....	75
Figura 12: Enlaces de C–H y –CH ₂ –. (Schaich et. al., 2013)	76
Figura 13: Sistema de Resonancia Estabilizado de Doble Enlace. (Schaich et. al., 2013).....	77
Figura 14: 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, 2005)	78
Figura 15: Extracción de Hidrógeno. (Porter N. et al, 1995).	79

Figura 16: Reacciones de escisión de LO*. (Schaich et. al.,2013).....	82
Figura 17: 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, 2005).....	82
Figura 18: Escisión que se produce con las mezclas complejas de productos en la oxidación de ácido linolénico y mayores (Ixtaina, 2010).....	84
Figura 19: Mecanismo por transferencia de un hidrógeno. (Prior et al., 2005)	
.....	88
Figura 20: Mecanismo por Transferencia simple de un electrón. (Prior et al., 2005).....	89
Figura 21: Esquema general de un cromatógrafo de gases. (Vargas y Bottia, 2008).....	99
Figura 22: Flujo del proceso experimental para la determinación del Tiempo de Inducción y perfil de ácidos grasos del Aceite de Salvia Hispánica L.	112
Figura 23: Comportamiento del Aceite de Chía sin ningún tratamiento.	126
Figura 24: Gráfico de OSI vs Temperatura - Flujo de aire.....	128
Figura 26: Gráficos de regresión lineal logaritmo OSI y Temperatura a) 15L/H, b) 20L/H y c) 25L/H.	132
Figura 27: Gráfico de extrapolación Rancimat para un flujo de 15L/H.	135
Figura 28: Gráficos de extrapolación Rancimat para un flujo de 20L/H	136
Figura 29: Gráficos de extrapolación Rancimat para un flujo de 25L/H	137
Figura 30: 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	141

RESUMEN

Las semillas de chía (*Salvia hispanica* L) son el recurso natural de origen vegetal con mayor contenido de ácidos grasos ω -3 (60% de ácidos grasos totales del aceite) conocido hasta el momento, además de ser una buena fuente de proteínas, fibra, minerales, vitaminas y antioxidantes. Estas características nutricionales han conducido a un creciente interés por este cultivo y por los productos obtenidos a partir del mismo, así como sobre su potencial aplicación en la industria alimentaria es por este motivo que se realizará la investigación de este aceite. El presente trabajo de investigación se trazó como objetivo evaluar el tiempo de inducción de aceite de *Salvia Hispanica* L. a flujo de aire de 15 , 20 y 25 L/h y a temperaturas de 100°, 110° y 120°C; evaluar el comportamiento del perfil de ácidos grasos en relación al alfa ácido linolénico, evaluar las características fisicoquímicas del aceite de semillas de Chía (*Salvia Hispanica* L), calcular los valores de OSI a temperaturas usuales de almacenamiento de aceites (25°C), y determinar la energía de activación (E_a) de la reacción de oxidación de aceite de *Salvia Hispanica* L.

Palabras Claves: *Salvia Hispanica* L. Estabilidad Oxidativa, Ácidos Grasos, Ácido Alfa Linolénico, Antioxidantes.

ABSTRACT

Chia seeds (*Salvia hispanica* L) are the natural resource of plant origin with higher content of ω -3 (60% of total oil fatty acids) known so far, fatty acids as well as being a good source of protein, fiber, minerals, vitamins and antioxidants. These nutritional characteristics have led to a growing interest in this culture and products obtained therefrom, as well as their potential application in the food industry is for this reason that the investigation of this oil is made, Evaluate induction time oil *Salvia hispanica* L. airflow to 15, 20 and 25 L / H and 100 °, 110 ° and 120 ° C; behavior profile of fatty acids alpha linolenic acid, evaluate the physicochemical characteristics of oil Chia seeds (*Salvia Hispanica* L), calculate the values of OSI to usual storage temperatures oil (25 ° C) Determine the activation energy (E_a) of the oxidation reaction *Salvia hispanica* oil L.

Key words: *Salvia Hispanica* L. Oxidative Stability, Fatty Acid, Alpha Linolenic Acid, Antioxidants.

I. INTRODUCCIÓN.

Los aceites vegetales comestibles constituyen un componente importante en nuestra alimentación, cuya variedad y consumo depende de la disponibilidad de la materia prima en cada país y región. Ahora bien, no obstante la variedad de especies oleaginosas, el mayor consumo está representado por los aceites de palma, soja, colza y girasol con 40,2; 37,5; 18,4 y 9,0 millones de toneladas al año, respectivamente, lo que representa aproximadamente el 83% del total de aceites consumidos mundialmente (American Soybean, 2010).

Por otra parte, es reconocido el aporte de los lípidos en nuestra salud y bienestar, el cual está determinado fundamentalmente por su composición. Así, se ha demostrado que tanto el perfil de ácidos grasos -especialmente los niveles relativos de ácidos grasos ω -9, ω -6 y ω -3- como algunos componentes minoritarios ejercen una influencia positiva a nivel fisiológico en el organismo humano (Moreau y An, 2009).

En este sentido, las semillas de chía (*Salvia hispánica L.*) son el recurso natural de origen vegetal con mayor contenido de ácidos grasos ω -3 (60% de ácidos grasos totales del aceite) conocido hasta el momento, además de ser una buena fuente de proteínas, fibra, minerales, vitaminas y antioxidantes (Ayerza y Coates, 2005). Estas características nutricionales han conducido a un creciente interés por este cultivo y por los productos obtenidos a partir del mismo, así como sobre su potencial aplicación en la industria alimentaria.

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, 2010)

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

- Evaluar las características fisicoquímicas del aceite de semillas de. Chía (*Salvia Hispánica L.*).
- Determinar el tiempo de inducción de aceite de *Salvia Hispánica L.* a temperatura de: 100°, 110° y 120°C; y a flujo de aire de: 15, 20 y 25 L/H.
- Determinar el efecto de los parámetros Rancimat con temperaturas 100°, 110° y 120°C; y a flujo de aire de: 15, 20 y 25 L/H sobre el Alfa Ácido Linolénico.
- Calcular los valores de OSI a temperaturas usuales de almacenamiento de aceites (25°C)
- Determinar la energía de activación (E_a) de la reacción de oxidación de aceite de *Salvia Hispánica L.*

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. La chía.

2.1.1. Origen y antecedentes históricos.

Salvia hispánica L. es una especie originaria de Mesoamérica cuya mayor diversidad genética se presenta en la vertiente del Océano Pacífico (Miranda, 1978; Cahill, 2004; Beltrán-Orozco y Romero, (2003) específicamente indican que la misma es originaria de las áreas montañosas del oeste y centro de México. Las fuentes indígenas disponibles previas a 1519, fecha de la llegada de los españoles a territorio mexicano, muestran una fuerte relación etnobotánica entre la chía y varias culturas mesoamericanas. Si bien ninguna fuente afirma de manera categórica que la chía sea originaria de un lugar específico, existe una alta probabilidad que la semilla sea originaria de los territorios que actualmente ocupan la República Mexicana y Guatemala (Tecante, 2010).

Existen evidencias que demuestran que la semilla de chía fue utilizada como alimento hacia el año 3500 a.C. siendo cultivada en el Valle de México entre los años 2600 y 900 a.C. por las civilizaciones teotihuacanas y toltecas. Asimismo, fue uno de los principales componentes de la dieta de los Aztecas junto con la quinua, el amaranto, el maíz y alguna variedad de porotos (Rodríguez, 1992). La importancia de estos cuatro cultivos en la dieta azteca está bien fundamentada en el Codex Florentino escrito en tiempos de la conquista de América entre 1548 y 1585.

Durante muchos años las semillas de chía fueron comercializadas solamente en los mercados mexicanos y utilizada como materia prima para la elaboración de la bebida denominada “chía fresca”, la cual era consumida por razones étnicas o religiosas. En 1965 la chía comenzó a estar disponible en comercios dietéticos del sudeste de California y Arizona (Hicks, 1966) y hacia finales de los años 1980s se comenzó a comercializar en los Estados Unidos un alimento para mascotas (Chía Pets), incrementándose la demanda de las semillas y posibilitando la venta mayoritaria de su producción.

En 1991 se inició el Proyecto Regional del Noroeste de Argentina con el fin de identificar y llevar a producción comercial nuevos cultivos industriales que pudieran ayudar a diversificar la producción agrícola e incrementar las ganancias de los agricultores de dicha región. Desde su comienzo, organizaciones privadas y gubernamentales tanto de los Estados Unidos como de Argentina han trabajado en este proyecto en forma cooperativa. En virtud de ello se identificaron seis especies con un potencial significativo para la región: chía, lesquerella (*Lesquerella fendleri* (Gray) S. Wats), vernonia (*Vernonia galamensis* (Cass.) Less), y chan (*Hyptis suaveolens* L.), todas fuentes de aceites industriales; guayule (*Parthenium Argentatum* Gray), fuente de caucho, resinas y látex; y kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), materia prima para papeles y diarios. Durante el curso del proyecto, la chía fue identificada como la especie más promisoría, siendo sólo esta última y la lesquerella cultivadas comercialmente (Ayerza y Coates, 2005)

Paralelamente, los resultados de las investigaciones científicas acerca de los efectos negativos de las grasas saturadas, los ácidos grasos trans y el desbalance entre los ácidos grasos ω -6 y ω -3 en la dieta occidental así como los beneficios del consumo de ω -3 para prevenir enfermedades cardiovasculares, depresión, cáncer y otras patologías, comenzó a ser cada vez de mayor interés. Asimismo, la información sobre la chía describiéndola como una fuente natural de este tipo de ácidos grasos, antioxidantes y fibra dietaria acrecentó las expectativas en torno a su cultivo. En virtud de ello, su uso como alimento comenzó a expandirse fuera de México (Ayerza y Coates, 2005)

2.1.2. Composición química y aspectos nutricionales de la semilla de chía.

La chía es una semilla oleaginosa que además de su alto contenido de Omega-3 presenta en su composición otros componentes de gran interés para la nutrición humana, como la fibra, las proteínas, los antioxidantes, las vitaminas y algunos minerales. A continuación se describirá de manera detallada la composición de la semilla de chía.

2.1.2.1. Contenido de aceites y composición de ácidos grasos.

El contenido de aceite presente en la semilla de chía es de alrededor de 33%, el cual presenta el mayor porcentaje de ácido α -linolénico conocido hasta el momento (62 - 64%) (Ayerza, 1995) así como el tenor más elevado (82,3%) de ácidos grasos esenciales (ácidos α -linolénico y linoleico), seguido por el cártamo, el lino y el girasol con 75, 72 y 67%, respectivamente. Los aceites de colza y de oliva son altamente insaturados (67 y 82%, respectivamente) debido al gran contenido de ácido oleico pero con un bajo tenor de ácidos grasos poliinsaturados (27 y 11%, respectivamente). (Ixtaina, 2010)

Tabla 1: *Perfil de ácidos grasos de la semilla de chía.*

Ácido Graso	Contenido (g/100g de aceite)
Palmítico	6.9
Esteárico	2.8
Oleico	6.65
Linoleico	19
Linolénico	63.8

Fuente: (Ayerza y Coates, 2005)

2.1.2.2. Contenido de proteínas y composición de aminoácidos.

La chía posee un contenido de proteínas que oscila entre 19 y 23%), el cual es mayor que el asociado a los cereales tradicionales, presentando como ventaja adicional el no contener gluten, motivo por el cual ha sido aprobada por la Asociación Celíaca Argentina como apta para su uso en pacientes celíacos.

Los aminoácidos de las proteínas de la chía se muestran en la Tabla 2.

Como puede observarse, las proteínas de chía presentan un buen balance de aminoácidos esenciales. Entre ellos, puede destacarse el contenido de lisina, así como porcentajes de metionina y cistina mayores que los presentes en las proteínas de otras semillas oleaginosas (Ting y col., 1990 en Ixtaina, 2010)

Tabla 2: *Contenido de aminoácidos correspondientes a hidrolizados de proteínas de semilla de chía.*

	g/16 g N	Aminoácido	g/16 g N
Ácido aspártico	7,64	Isoleucina	3,21
Treonina	3,43	Leucina	5,89
Serina	4,86	Triptófano	-
Ácido Glutámico	12,40	Tirosina	2,75
Glicina	4,22	Fenilalanina	4,73
Alanina	4,31	Lisina	4,44
Valina	5,10	Histidina	2,57
Cistina	1,47	Arginina	8,90
Metionina	0,36	Prolina	4,40
Total			80,64

Fuente: (Ayerza y Coates, 2005)

2.1.2.3. Vitaminas y minerales.

La semilla de chía se ha caracterizado por ser una buena fuente de vitaminas y minerales del complejo B como la Niacina, tiamina y ácido fólico, así como Vitamina A. Además la semilla de chía es una fuente excelente de calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro, zinc y cobre, como se muestra en la Tabla 7. Otra de las grandes ventajas de esta semilla es su bajo contenido en sodio (Ayerza y Coates, 2005)

Los niveles de hierro encontrados en las semillas de chía y en la harina remanente después de extraer el aceite son muy elevados y representan una cantidad inusual para la semilla que, comparada con otros productos tradicionales conocidos como fuentes ricas de hierro (Ayerza y Coates, 2005).

La comparación del contenido de vitaminas de la chía con respecto a la de otros cultivos tradicionales muestra que el nivel de niacina es mayor que el presente en maíz, soja, arroz y cártamo, mientras que su tenor de vitamina A es inferior al de maíz. Las concentraciones de tiamina y riboflavina son similares a las del arroz y el maíz, aunque menores que las de soja y de cártamo (Ayerza y Coates, 2005).

Tabla 3: *Contenido de vitaminas y elementos esenciales en semillas y harinas desengrasada de chía*

Semilla de Chía		
	Entera	Harina desengrasada
Macro elementos (mg/100g)		
Calcio	714	1180
Potasio	700	1100
Magnesio	390	500
Fósforo	1067	1170
Microelementos (mg/100g)		
Aluminio	2	4,3
Boro	-	1,4
Cobre	0,2	2,6
Hierro	16,4	20,4
Manganeso	2,3	6,8
Molibdeno	0,2	
Sodio	-	2,9
Zinc	3,7	8,5
Vitaminas (mg/100g)		
Niacina	6,13	11,30
Tiamina	0,18	0,79
Rivoflavina	0,04	0,46
Vitamina A	44 IU	-

Fuente: 1 Instituto Nacional de Alimentos (2003); 2 Brown (2003)

2.1.2.4. Fibra dietaria.

El contenido de fibra en la harina residual (luego de la extracción de aceite) de chía representa alrededor de un 40%, de la cual un 5% corresponde a fibra soluble, denominada mucílago. Las semillas de chía al ser sumergidas en agua, quedan envueltas por un material de aspecto gelatinoso conocido como mucílago, el cual es de interés no sólo desde el punto de vista nutricional sino de importancia como agente espesante en la industria alimentaria.

Dicho mucílago es un tetrapolisacárido lineal compuesto por D-xilosa, D- glucosa, 4-o-metil-D-ácido glucurónico en proporciones de 2:1:1, cuyo peso molecular varía entre 0,8 a 2×10^6 Da, presentando una elevada viscosidad en agua con posibles y benéficos efectos metabólicos con respecto a fuentes de fibra dietaria de menor viscosidad tales como la goma guar o β - glucano (Lin et al., 1994 citado por Ixtaina, 2010)

2.1.2.5. Antioxidantes.

El análisis de la torta obtenida después extracción del aceite en las semillas de chía ha demostrado que poseen una fuerte actividad antioxidante (Taga et al., 1984 citado por Ixtaina, 2010) Estos antioxidantes hacen que la chía sea una fuente de ácidos grasos Omega-3 estable.

El ácido clorogénico y el ácido cafeico son los antioxidantes más importantes en la semilla chía, aunque también se ha encontrado que contiene miricetina, quercetina y kaempferol flavonoles. Estos compuestos son tanto primaria y sinérgicos antioxidantes, y contribuyen a la fuerte actividad antioxidante de la chía (Castro, Pratt y Miller, 1986). Algunas investigaciones han demostrado que el quercetin es un potente antioxidante que puede impedir la oxidación de los lípidos, proteínas y DNA y sus propiedades son significativamente más efectivas que los flavonoles no-ortohidroxi. (Korhonen, 2009 ; Makris y Re, 2001). El ácido cafeico y el ácido clorogénico, contenidos en la semilla de chía, han demostrado tener una fuerte actividad contra los radicales libres y los procesos oxidativos en general, inhibiendo la peroxidación de los lípidos. Estas propiedades antioxidantes son significativamente más fuertes que las del ácido ferúlico y las de los antioxidantes comunes como la vitamina C (ácido ascórbico) y la vitamina E (α -tocoferol).

La chía cuya oxidación es mínima o no existe, ofrece un significativo potencial dentro de la industria alimentaria, dado que las otras fuentes de EPA y DHA como los productos marinos y de ácido alfa linolénico como el lino, exhiben una descomposición rápida debido a la ausencia de antioxidantes adecuados (Ayerza y Coates, 2005 citado en Jaramillo Garcés, 2013).

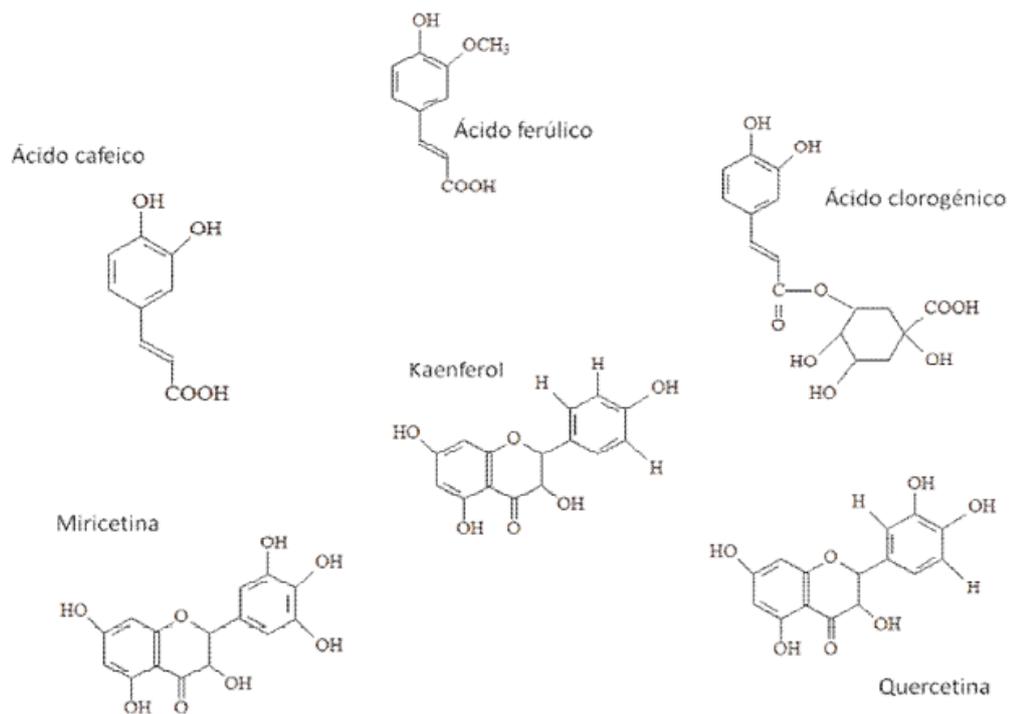


Figura 1: Estructura química de los antioxidantes presentes en la chía (Garcés ,2013)

2.2. Aceites vegetales comestibles.

El CODEX STAN 210-1999, en la nueva reglamentación técnico sanitaria (2008) y en la normalización de los aceites vegetales comestibles, define a los aceites de semillas oleaginosas como aquellos que proceden de frutos o semillas, en condiciones tales que permitan obtener un producto bromatológico aceptable, ya sea por procedimientos físicos mediante la acción mecánica o por disolución en disolventes.

2.2.1. Composición y estructura de las grasas, aceites y sus derivados.

A fin de comprender las reacciones que involucran a las grasas y aceites y las tecnologías aplicadas, así como para poder influir sobre sus características y comportamiento durante el procesamiento, es importante conocer las propiedades de los mismos. Los aceites y grasas más comunes están compuestos por un número pequeño de unidades constitutivas principales, motivo por el cual la mayoría de las diferentes características puede atribuirse a la presencia de componentes menores y a la inmensa cantidad de posibles combinaciones de estas unidades de construcción (Bockisch, 1998 citado en Ixtaina, 2010).

2.2.1.1. 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. Generalmente, suelen tener un número par de átomos de carbono pero existen ácidos grasos con número impar, el ácido margárico de 17 átomos es uno de ellos (Navas, 2010). Cada átomo de carbono se une al siguiente y al precedente por medio de un enlace covalente sencillo o doble. Su fórmula química es $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_n \text{COOH}$, (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. (C=C).

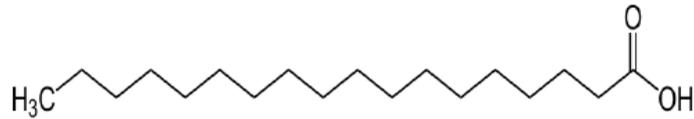


Figura 2: Estructura molecular de un ácido graso. (Navas P., 2010)

Actualmente, si bien se conocen más de 200 ácidos grasos, son pocos los que participan con un porcentaje > 3% en la conformación de los triacilglicerolos de los aceites y grasas alimenticias. El resto, generalmente se presentan a nivel de trazas o en mayores cantidades en ciertas especies (Ixtaina, 2010).

2.2.1.1.1. Ácidos grasos saturados no ramificados.

Los ácidos grasos saturados hasta C8 son líquidos a temperatura ambiente y se encuentran presentes principalmente en la grasa de la leche. Los ácidos cáprico, mirístico y láurico son característicos del aceite de coco y la semilla de palma, mientras que los ácidos palmítico y esteárico son los ácidos grasos saturados más comunes (Ixtaina, 2010).

2.2.1.1.2. Ácidos grasos insaturados no ramificados.

Estos ácidos grasos son muy especiales debido a que algunos de ellos son esenciales para los mamíferos y en especial para el hombre. Esto significa que el organismo no puede sintetizarlos y por lo tanto depende de su incorporación a través de la dieta. (Ixtaina, 2010).

Con respecto a los ácidos grasos **monoinsaturados**, la cadena más corta que ha sido detectada hasta el momento en las grasas naturales es la del ácido caproleico (C10:1), del cual se han encontrado trazas en la grasa de la leche. El único ácido graso monoinsaturado presente en cantidades significativas es el ácido oleico, mientras que los demás existen en cantidades promedio mucho menores. Sin embargo, esto no significa que su contribución dentro del espectro de los ácidos grasos de fuentes específicas sea baja. Las crucíferas, por ejemplo contienen altas cantidades de ácido erúxico (las variedades antiguas de colza contenían hasta 70%). Generalmente, los ácidos monoenoicos se encuentran distribuidos tal como se detalla a continuación: C10:1 - C18:1, en la grasa de la leche; < C30:1, en aceites de semillas; C16:1 - C24:1, en aceites marinos. (Ixtaina, 2010).

Los ácidos grasos **poliinsaturados** (PUFAs) (Figura 2) poseen dos o más pares de átomos de carbono con dobles enlaces. Los PUFAs de mayor importancia son los ácidos linoleico y α -linolénico, los cuales son esenciales ya que no pueden ser sintetizados en el organismo y deben por lo tanto, ser obtenidos a partir de la dieta. Los PUFAs constituyen un sustrato fácilmente oxidable, presentando una mayor susceptibilidad al deterioro oxidativo a medida que aumenta el número de dobles enlaces (Ixtaina, 2010).

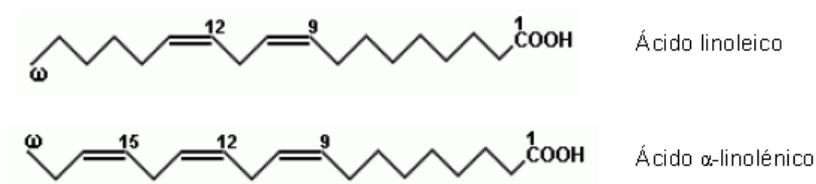


Figura 3: Estructura de los ácidos grasos poliinsaturados más importantes en aceites vegetales (ácidos linoleico y α -linolénico) (Navas 2P., 2010)

ros ácidos grasos.

Además de los ácidos grasos insaturados mencionados, se conoce la presencia de ácidos grasos con triples enlaces, ácidos grasos ramificados, alicíclicos y sustituidos. Estos subgrupos son de menor importancia ya que no se encuentran presentes en la mayoría de las grasas alimenticias. Los ácidos grasos con triples enlaces

son especialmente raros, mientras que los ramificados se encuentran a nivel de trazas en muchas grasas, predominantemente de origen animal. Los ácidos grasos sustituidos son poco frecuentes si bien son igualmente importantes. Los hidroxilados existen en un 53% en los cerebrósidos (Chibnall, Pipers y William, 1953) y son muy importantes en la función cerebral.

2.2.1.2.Acilgliceroles.

Los ácidos grasos pueden ser esterificados sobre los grupos hidroxilos primarios o secundarios del glicerol. Si bien el glicerol por sí solo no tiene un centro quiral, se convierte en quiral si se esterifican diferentes ácidos grasos a los hidroxilos primarios o si uno de los hidroxilos primarios es esterificado. Así, la terminología debe diferenciar entre las dos posibles configuraciones. La convención más común para diferenciar estos estereoisómeros es la convención *sn* de Hirshmann (1960). En la numeración que describe los grupos hidroxilos sobre la molécula de glicerol en la proyección Fisher, las designaciones *sn*-1, *sn*-2, *sn*-3 son utilizadas para los grupos OH superior (C1), medio (C2) e inferior (C3). (Ixtaina, 2010).

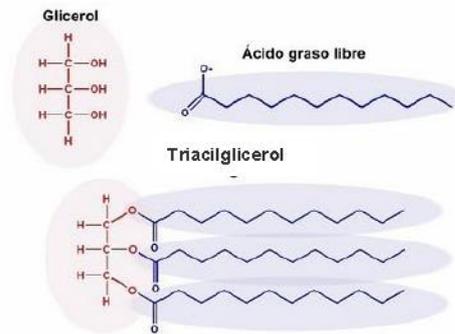


Figura 4: Estructura de la molécula de un glicerol, de un ácido graso libre y de un triacilglicerol (Ixtaina, 2010)

2.2.1.3. Isoprenoides.

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

2.2.1.3.1. 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., 2010)

Los tocoferoles derivados de la vitamina E, son antioxidantes naturales solubles en lípidos que solo son producidos por las plantas. El término general “Vitamina E” se utiliza para designar a un grupo de ocho especies naturales de tocoferoles y tocotrienoles (α , β y δ). 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, Marin, Aparicio y Morales, 2007).

La estructura química de la vitamina E consta de dos partes primarias: un anillo complejo cromano y una larga cadena lateral. Estos ocho cromóforos se dividen en dos grupos fundamentales: cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles 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 α , β , γ y δ . (Navas ., 2010).

2.2.1.3.2. Esteroles.

Los esteroles son alcoholes policíclicos derivados del esteareno (ciclopentanoperhidrofenantreno) como base de su estructura. Los esteroles se encuentran principalmente en la fracción insaponificable de las grasas y aceites. Según su origen, se pueden distinguir los zooesteroles de origen animal, fitoesteroles provenientes de las plantas y micoesteroles a partir de organismos menores como los hongos. (Ixtaina, 2010).

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 fitoesteroles son triterpenos insaturados con uno o dos dobles enlaces entre carbono y carbono; más de 100 tipos diferentes de fitoesteroles han sido encontrados en las plantas, siendo los más abundantes el β -sitosterol, estigmasterol y campesterol (figura 7), mientras que en menor proporción está el brasicasterol, campestanol y el Avenasterol. (Fernandez y Cabral, 2007).

2.2.1.3.3. 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, López y Sain, 2006).

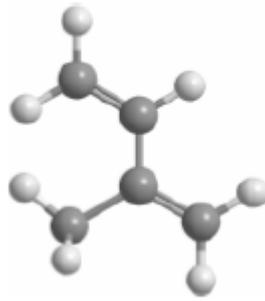


Figura 5: Estructura del isopreno. (Ávalos A. et al., 2009)

2.2.1.4.Ceras.

Las ceras son compuestos complejos que actúan como barrera a la pérdida de agua producida por la evaporación y transpiración de los tejidos vegetales. El análisis de este parámetro se utiliza para detectar la presencia de adulteración de aceites obtenidos por prensado con aquéllos extraídos con disolventes orgánicos. (Ixtaina, 2010).

2.2.1.5.Fosfoacilgliceroles (fosfolípidos)

Los fosfolípidos poseen un rol esencial en el metabolismo de los diferentes organismos vivos. Estas macromoléculas son un componente estructural de las membranas celulares y actúan como agentes activos en diversos procesos metabólicos (activación de enzimas, surfactantes a nivel pulmonar, componentes detergente de la bilis, intervienen en la síntesis de sustancias de señalización celular) (Devlin, 2004). Los glicerofosfolípidos o fosfolípidos son anfipáticos, es decir, contienen a la vez una región polar o grupo de la cabeza, constituido por el fosfato cargado y las sustituciones del

mismo y una cola no polar, constituida por las cadenas hidrocarbonadas hidrofóbicas. Los ácidos grasos esterifican al glicerol en las posiciones sn-1 y sn-2 y el grupo fosfato, en la posición sn-3. Por lo general, el C-1 del glicerol se encuentra esterificado por un ácido graso saturado y el C-2 por un ácido graso insaturado (Berg, Tymoczko y Stryer, 2002 en Ixtaina, 2010).

2.2.1.6. Glicerolípidos.

Los glicerolípidos o glicolípidos se forman cuando un 1,2-diacil-sn-3-glicerol se une vía sn-3 a una molécula de carbohidrato, el cual generalmente es un mono o disacárido (Ixtaina, 2010).

2.2.1.7. Lipocromos.

Los carotenoides son derivados de una molécula base que consiste en una cadena C₄₀, la cual está compuesta por 8 unidades isoprénicas. Debido a los dobles enlaces conjugados y a la dependencia de las clases de sustituyentes, son coloreados desde el amarillo oscuro al rojo. Su máxima absorción varía entre 425 y 525 nm. Los carotenoides son sensibles al oxígeno y a la luz constituyendo los colorantes naturales de los alimentos. Así, se puede distinguir entre α -, β - y γ - caroteno (Figura 6) siendo la principal fuente de α -caroteno el aceite de palma.

Los carotenos funcionan como provitamina A (Bockisch, 1998 en Ixtaina, 2010).

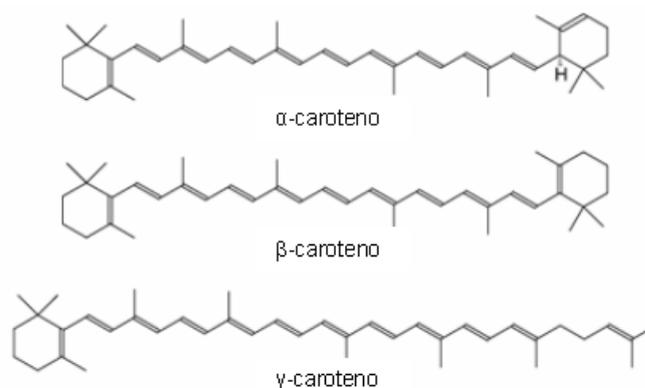


Figura 6: Estructura de carotenos (Bockisch, 1998)

2.2.1.8.Lipovitaminas.

Tal como se describió previamente, los carotenoides pueden ser transformados en vitamina A. La vitamina A se encuentra en las especies marinas a nivel del hígado. La deficiencia de vitamina A puede producir ceguera nocturna o permanente, crecimiento anormal de los huesos, aumento de la presión cerebrospinal y disminución del crecimiento, mientras que la hipervitaminosis A puede causar dolor de cabeza y vómitos (Ixtaina, 2010).

2.2.1.9.Hidrocarburos.

Los hidrocarburos alifáticos y terpenoides se encuentran distribuidos en grasas y aceites, los cuales pueden ser removidos durante el proceso de refinación (Bockisch, 1998). De la familia de

los terpenoides, el escualeno se encuentra presente en el aceite de oliva en cantidades relativamente elevadas comparado con otros aceites vegetales, constituyendo una sustancia utilizada para la detección de adulteraciones en dicho aceite (Bockisch, 1998 en Ixtaina, 2010).

2.2.1.10. Compuesto 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 y Kumpulainen, 2002 en Navas, 2010).

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 et al., 2009)

2.2.1.10.1. Flavonoides.

Los flavonoides son compuestos fenólicos de la familia de los fotoquímicos, 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 et al., 2006 en Navas Hernández, 2010)

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. (Martinez et al., 2002 en Navas Hernández, 2010).

2.2.1.10.2. 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 en Navas , 2010).

2.2.1.11. 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 , 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 , 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, 2000).

2.2.2. 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 , 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 (Angerosa F., 2000 en Navas , 2010).

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, 1993 en Navas, 2010)

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. (Bruhl y Matthauss, 2008 en Navas, 2010)

2.2.3. 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 , 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, 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 y Woodside, 2001 en Navas , 2010)

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 , 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 , 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 et al., 2007 en Navas Hernández, 2010)

2.2.4. Aceites Vegetales Vírgenes VS 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. (Navas, 2010)

La importancia de los aceites vegetales comestibles radica en su alto valor energético, el cual permite el máximo almacenamiento en la menor cantidad posible de sustancia alimenticia. Además, las grasas pueden ser vehículo de las vitaminas liposolubles y fuente de ácidos grasos esenciales, los cuales son indispensables para el organismo.

Además, son excelentes portadores de sabor incidiendo en la palatabilidad de los alimentos (Bockisch, 1998).

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, 2010)

2.2.5. Procesamiento de aceites vegetales mediante procesos convencionales.

Para la extracción de aceites vegetales a nivel industrial se utilizan básicamente dos métodos: prensado mecánico y extracción con solvente.

El prensado mecánico se realiza a través del uso de las denominadas prensas continuas, las cuales comprimen la masa de la semilla preparada a presión elevada, logrando de esta manera liberar el aceite contenido en la masa, el cual escurre a través del barril de la prensa. El

material que sale de las prensas con un bajo contenido de aceite residual (6-7%) se denomina “torta o expeller”, mientras que el aceite separado, el cual arrastra impurezas, deberá ser clarificado a través del uso de decantadoras y separadoras centrífugas antes de ser derivado a los tanques de almacenamiento (Autino , 2009b)

Por su parte, la extracción por solvente se basa en la separación del aceite de la masa previamente preparada y acondicionada, utilizando un solvente orgánico (generalmente hexano) el cual se hace pasar a través del material en proceso en cantidad y temperatura adecuadas para asegurar una correcta extracción del aceite. A fin de que el proceso de extracción se lleve a cabo de manera correcta, el material a extraer debe ser convenientemente preparado, mientras que el disolvente debe ser puro, sin contaminantes y calentado hasta la temperatura adecuada de modo tal que el proceso extractivo se lleve a cabo con la mayor eficiencia posible (Autino , 2009b en Ixtaina, 2010).

2.2.5.1. Extracción de aceite por prensado.

En la mayoría de los molinos aceiteros la extracción se realiza con prensas de tornillo, como paso previo a la extracción con solventes o directamente como proceso en sí. Si bien hasta los años 1990s la extracción directa mediante prensado era raramente llevada a cabo debido a sus bajos rendimientos, actualmente, bajo consideraciones de protección ambiental, este proceso está cobrando nuevamente interés (Bockisch, 1998).

Las prensas abiertas son comúnmente utilizadas en la actualidad para la extracción de aceite de oliva; para las semillas oleaginosas, se usan casi exclusivamente las prensas de tornillo sinfín (Ixtaina,2010).

Una prensa consta de una jaula que posee un diámetro constante desde el comienzo al final, la cual aloja al tornillo sinfín cuyo eje aumenta en esta dirección, con el fin de mantener la presión como compensación de la reducción de volumen causada por la pérdida del aceite extraído. El diámetro de la salida de la torta, y el diseño del tornillo determina la presión dentro de la prensa. Se pueden alcanzar presiones de hasta 3000 bar provocando temperaturas de hasta 170°C dependiendo del tipo de prensa. En condiciones normales, para pre-prensado se alcanzan 30-40 bar en combinación con una temperatura de aproximadamente 95°C; para prensado directo el objetivo es alcanzar 400 bar en combinación con 115-125°C y por lo tanto, no puede ser denominado “prensado en frío”. El proceso de extracción por prensado es influenciado por varios parámetros tales como el contenido de humedad de la semilla, la capacidad de la prensa y la potencia aplicada. El aceite obtenido por prensado debe ser posteriormente purificado mediante el uso de separadores, filtros y decantadores (Bockisch, 1998 en Ixtaina, 2010).

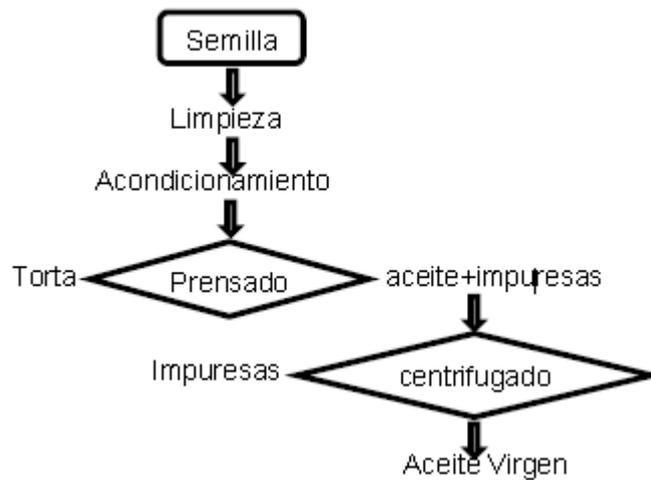


Figura 7: Esquema de un proceso típico para la extracción de aceites por prensado (Ixtaina,2010)

2.2.5.2. Extracción de aceites Solvente.

La extracción por solvente es la etapa de obtención del aceite crudo a partir de semillas oleaginosas previamente tratadas mediante una preparación adecuada.

Varias operaciones unitarias se utilizan en cada una de las secciones de la extracción siendo la de transferencia de masa, la más trascendente. La parte más importante de una extracción por solvente es el extractor ya que es allí donde se produce el desaceitado del material entrante previamente preparado. El otro equipamiento u operación inseparable -en los métodos utilizados industrialmente- de la extracción es la desolventización. En ambos casos, la operación de transferencia de masa es fundamental, aunque no es la única. (Ixtaina, 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, 2010)

2.3. Cinética de 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 citado en Villanueva y Castillo, 2013).

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 , 1997)

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 , 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 citado en Villanueva y Castillo, 2013)

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 citado en Villanueva y Castillo, 2013):

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

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 citado en Villanueva y Castillo, 2013)

2.3.1. 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 , 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 citado en Villanueva y Castillo, 2013)

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). (Villanueva y Castillo 2013)

2.3.2. 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; Heldmann & 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 citado en Villanueva y Castillo, 2013)

2.3.3. 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. (Heldmann y Lund, 1992) Generalmente la constante de velocidad de reacción acrecienta con un incremento de la temperatura. (Villanueva y Castillo, 2013) 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 citado en Villanueva y Castillo, 2013).

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 citado en Villanueva y Castillo, 2013):

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

Donde, k_0 es el factor pre exponencial o factor de colisión (s^{-1}), E_a es la energía de activación ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), R es la constante de los gases ideales ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) 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:

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

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 citado en Villanueva y Castillo, 2013)

Para describir la relación entre la temperatura y la constante de velocidad de reacción se emplea un parámetro llamado: valor Q10, el cual se define como el número de tiempos que cambia la velocidad de reacción con un cambio en temperatura de 10°C . (Villanueva y Castillo, 2013) Si la velocidad de reacción se duplica con un cambio de 10°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) citado en Villanueva y Castillo, (2013); 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, citado en Villanueva y Castillo, 2013):

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

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

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} (°C) y t_u = vida útil a T (°C). En este caso:

$$T - T_{ref} = 10 \text{ °C.}$$

Sustituyendo en (5):

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

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 citado en Villanueva y Castillo, 2013).

2.4. Cinética de deterioro de los aceites de semillas oleaginosas.

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 & 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. (Salazar, Belén, Marín y Moreno, 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 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. (Salazar et al., 2007)

2.4.1. Radicales libres.

Los electrones ocupan regiones en los átomos o moléculas conocidas como orbitales. Cada orbital puede contener un máximo de dos electrones, cada uno de ellos con un spin (giro) en un sentido opuesto al otro. A los dos electrones de un orbital se les denomina electrones apareados. Un enlace químico (enlace covalente) consiste en un par de electrones de spin opuesto que comparten el mismo orbital molecular (electrones apareados). Contribuyendo con un electrón cada uno de los átomos que forman el enlace. (Korc, et al. 1995)

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 y 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. (Villanueva y Castillo, 2013).

2.4.1.1. Fuente de radicales libres.

Los oxidantes, aunque son químicamente muy inestables y altamente tóxicos para las células, se producen en condiciones normales en el interior de éstas. Se estima que el 5% de todo el oxígeno que consumimos en las etapas finales del metabolismo oxidativo sigue la llamada vía univalente. Varios de los metabolitos intermedios que se generan son radicales libres. Por tanto, el metabolismo normal es una fuente de radicales libres.

La xantina oxidasa (enzima responsable de la conversión de hipoxantina en ácido úrico) también genera radicales libres (radicales superóxido). La segunda fuente de radicales libres es también endógena y está constituida por el metabolismo de los fagocitos (neutrófilos y macrófagos). Éstos están dotados de diversas enzimas líticas (proteasas, lipasas, nucleasas), así como de vías metabólicas (mieloperoxidasa en el caso de neutrófilos) que generan diversas especies químicas agresivas (peróxido de hidrógeno, radicales superóxido e hidroxilo). Los oxidantes pueden proceder del exterior, ya sea directamente o como consecuencia del metabolismo de ciertas sustancias. (Paredes Roca, 2002)

2.4.1.2. 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. (Villanueva y Castillo, 2013)

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 y 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.). (Villanueva y Catillo, 2013)

Otra 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 y Moya, 2009 citado por Villanuevay Castillo, 2013)

2.4.2. 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, 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, 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. (Nawar, 1996; Frankel, 2005)

Los lípidos insaturados pueden sufrir procesos de deterioro durante el procesamiento, almacenamiento y/o manipulación de alimentos. Estos procesos pueden dar origen a compuestos tóxicos o indeseables desde el punto de vista de la calidad organoléptica del producto y afectar tanto las propiedades funcionales de sus componentes, como su valor nutricional (Tironi, 2005).

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 et al., 2007)

2.4.3. 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. (Schaich , 2005 citado en Villanueva et al., 2013)

La autooxidación de lípidos se produce a través de un mecanismo de radicales libres, el cual puede describirse mediante una serie de etapas que se detallan a continuación (Frankel, 2005)

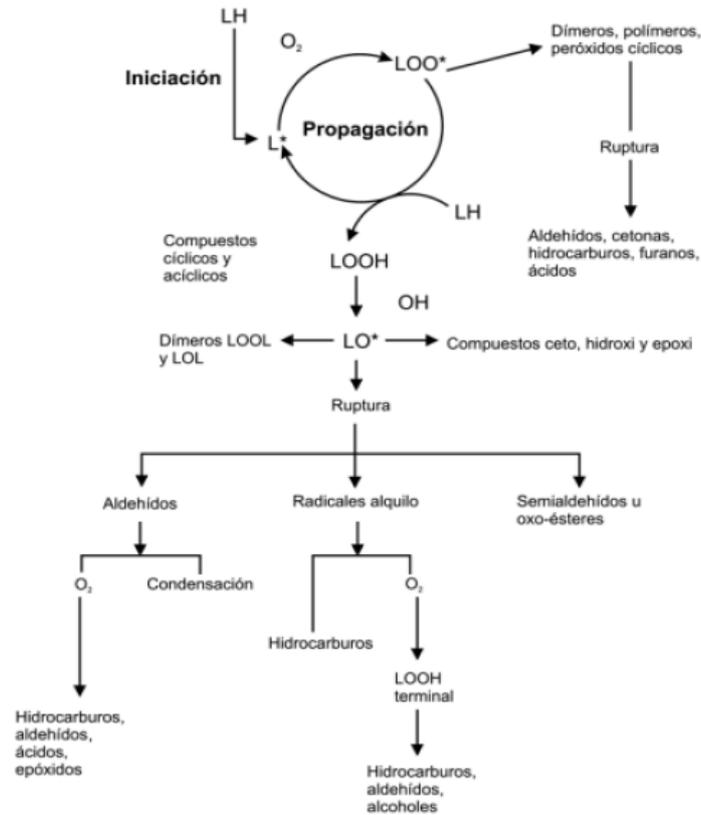


Figura 8: Esquema general del proceso de autooxidación lipídica (Frankel, 2005)

2.4.4. 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 9). (Swern, (1961)

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

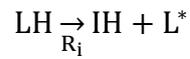
oxidación de los lípidos es un problema importante en la estabilidad de almacenamiento de los alimentos (Schaich, Shahidi, Zhong, y Eskin, 2013):

- 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.

2.4.4.1. Iniciación.

La oxidación directa de los lípidos insaturados por el oxígeno triplete (la forma más estable del oxígeno) es termodinámicamente desfavorable, dado que los dobles enlaces de los ácidos grasos se encuentran en estado singulete y tal reacción no cumpliría con la regla de la conservación del spin. En función de ello, la producción de los primeros radicales debe estar catalizada. En presencia de factores de iniciación o iniciadores (I), los lípidos insaturados (LH) pierden un radical hidrógeno (H^*) de la posición α con respecto a los

dobles enlaces del ácido graso para formar un radical libre lipídico (L*) según la reacción:



Los iniciadores pueden producir radicales por disociación térmica de hidroperóxidos presentes como impurezas o por descomposición de hidroperóxidos catalizada por metales o exposición a la luz.

Por otra parte, el oxígeno singulete puede reaccionar con los ácidos grasos insaturados con mucha mayor velocidad que el oxígeno triplete generando hidroperóxidos, los cuales pueden servir como iniciadores en las reacciones anteriores. La vía más común de generación del oxígeno singulete es la fotosensibilización de los pigmentos naturales presentes en los alimentos, tales como clorofila, hemoglobina y mioglobina (Frankel, 2005 citado por Ixtaina, 2010).

2.4.4.2. Propagación y ramificación.

A. Reacciones básicas.

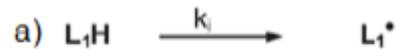
La propagación es el corazón del proceso de oxidación. En ella, el oxígeno se suma a las tasas de difusión controlada (casi instantáneamente) a radicales alquilo de lípidos relativamente no reactivos, L*, convirtiéndolos a radicales peroxilo reactivos, LOO* (Reacción b en la Figura 15), que establecen 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 9). El proceso continúa indefinidamente hasta que no hay ninguna fuente de hidrógeno disponible o la cadena es interceptada. (Schaich et al, 2013).

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 , 2005)

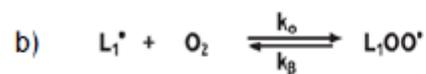
Reacción Clásica en Cadena de los Radicales Libres de la Oxidación de Lípidos

Iniciación (formación de radicales libres a partir de lípidos)

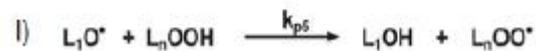
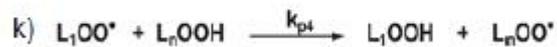
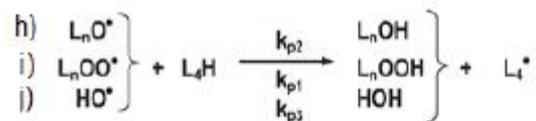
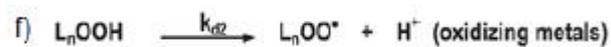
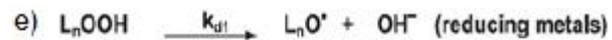


Propagación

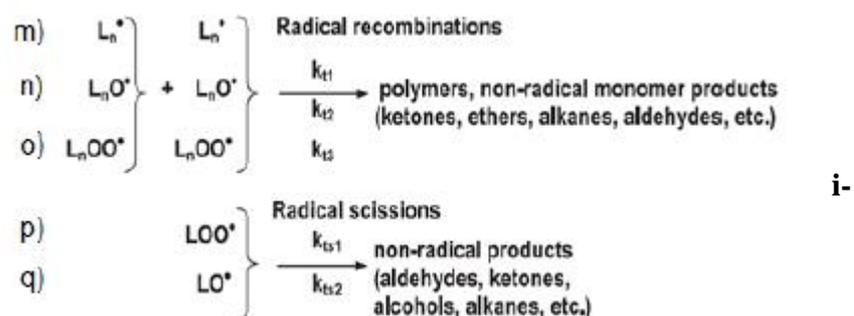
Reacción en cadena de los radicales libres establecida



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



Terminación (formación de productos no radicales)



**iniciación; o-oxigenación; β-O2 escisión; p-propagación; d-
disociación; t-terminación; ts-terminación/escisión**

Figura 9: Reacción Clásica en cadena de los radicales libres de la oxidación de lípidos como tradicionalmente se entiende. (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 10. La oxidación de lípidos reúne vapor, el aumento en la velocidad y el grado en el que LO^{\bullet} se convierte en el dominante, y el más rápido portador de cadena ($k = 106-107 \text{ l / mol / s}$) (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. (Villanueva y Castillo, 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.

La explicación tradicional propone que el enlace de hidrógeno de los hidroperóxidos se somete a hidrólisis concertada para producir dos radicales (Figura 10), los cuales van a iniciar reacciones de ramificación y aceleran la velocidad de oxidación general (Schaich et. al., 2013).



Figura 10: Hidrólisis Concertada del Enlace de Hidrógeno de los Hidroperóxidos. (Schaich 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 11) muy reactivos: LO*, epoxi-LO* y *OH (Schaich et. al., 2013).

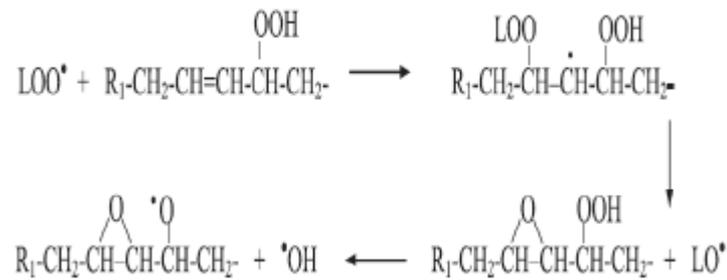


Figura 11: Reacción de un Radical y un Hidroperóxido.
(Schaich et. Al., 2013)

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 , 2005)

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 –CH₂– entre dos enlaces dobles en los lípidos (llamadas doblemente alílica) están doblemente activados de modo que las energías de los enlaces C–H caen enormemente (Figura 12). (Schaich et. al., 2013)

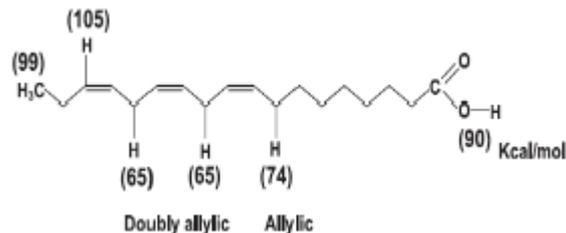


Figura 12: Enlaces de C–H y –CH₂–.
(Schaich et. al., 2013)

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 alílica junto a los dobles enlaces>> H adyacente al grupo –COOH> el H en grupos

metileno más abajo en las cadenas de acilo. (Schaich 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 13). 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 et. al., 2013)

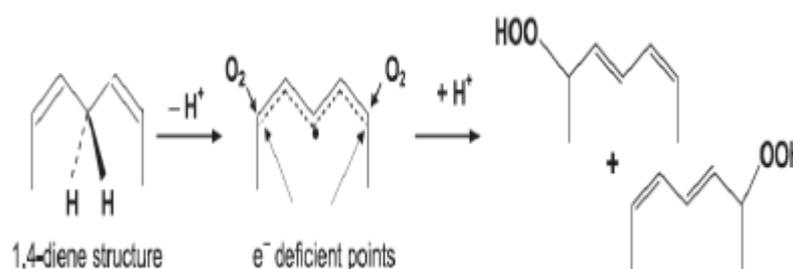


Figura 13: Sistema de Resonancia Estabilizado de Doble Enlace. (Schaich et. al., 2013)

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 14), independientemente del número de dobles enlaces. (Schaich 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 , 2005)

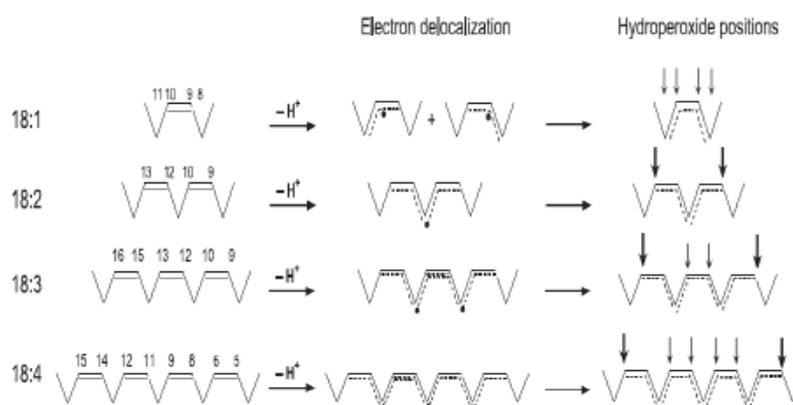


Figura 14: Distribuciones de electrones de resonancia y ubicaciones correspondientes de hidroperóxidos formados cuando los hidrógenos se extraen de los ácidos grasos insaturados. Las flechas gruesas indican las posiciones dominantes en la formación de hidroperóxidos. (Schaich, 2005)

Otro punto importante a reconocer sobre la oxidación lipídica es que en la extracción de hidrógeno no se rompe los enlaces dobles: cuando se forman los radicales, los dobles enlaces migran al siguiente carbono y se invierten a partir de CIS a TRANS, incluso en dobles enlaces aislados tales como el ácido oleico (Figura 22a). En los sistemas de 1,4-dieno de los ácidos grasos poliinsaturados, la migración del doble enlace

2.4.4.3. 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 lipídicos, 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. Recombinación de 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. (Schaich 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 **Las reacciones de escisión de LO***

La escisión de radicales alcoxilo (Figura 16) 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 (Schaich. et. al., 2013):

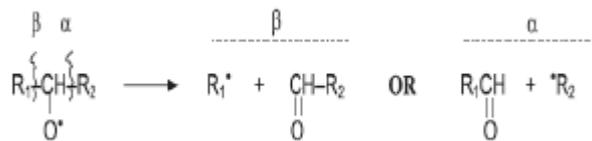


Figura 16: Reacciones de escisión de LO*. (Schaich et. al.,2013)

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, 2005)

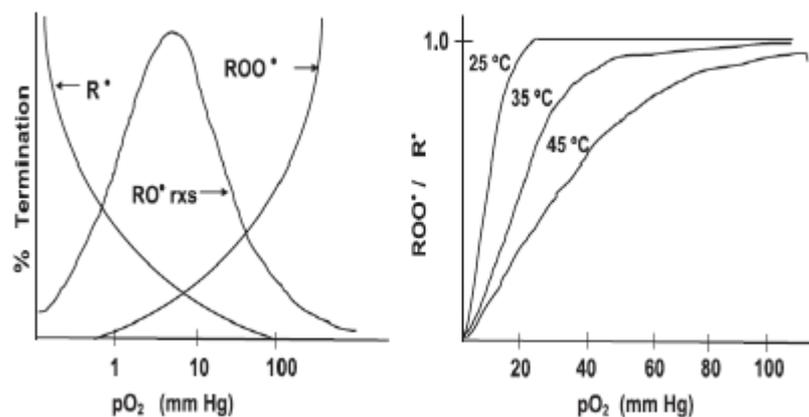


Figura 17: Efectos de oxígeno y la temperatura en los procesos de terminación en la oxidación de lípidos. Muchos productos oxigenados son favorecidos por los altos contenidos de oxígeno y las bajas temperaturas, las reacciones de alquilo y dimerizaciones son favorecidos por los bajos niveles de oxígeno y temperaturas elevadas. (Schaich, 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. (Schaich. 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 E_a y log A (factor de Arrhenius).

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. (Schaich. 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 18). (Schaich. et. al., 2013).

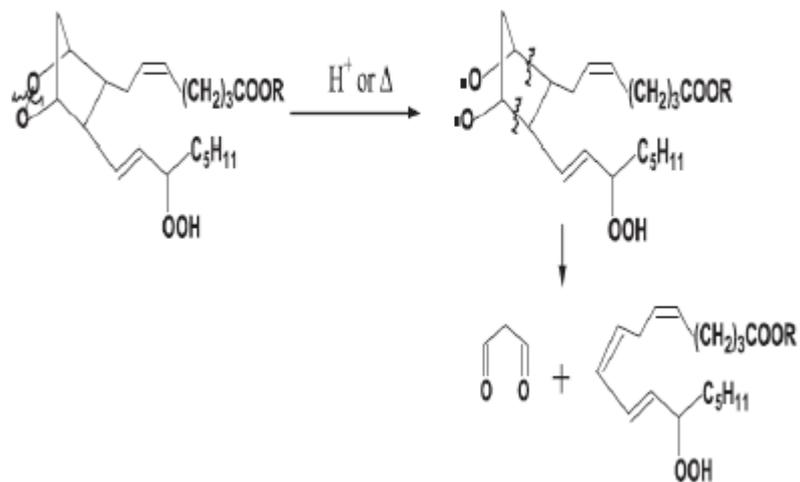


Figura 18: Escisión que se produce con las mezclas complejas de productos en la oxidación de ácido linolénico y mayores (Ixtaina, 2010)

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 (Porter et al, 1995); también requiere calor suave y ácido para la escisión en endoperóxido.

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. (Schaich. 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.

B. 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 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, 2005)

C. Eliminación de grupos.

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 hidroperóxido en la cadena de ácido graso.

La formación de la cetona, el producto dominante, evita la descomposición del hidroperóxido 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. (Schaich et. al., 2013)

2.4.5. 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, Wu y Schaich, 2005)

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

2.4.5.1. Mecanismos por transferencia de un hidrógeno (MTP).

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

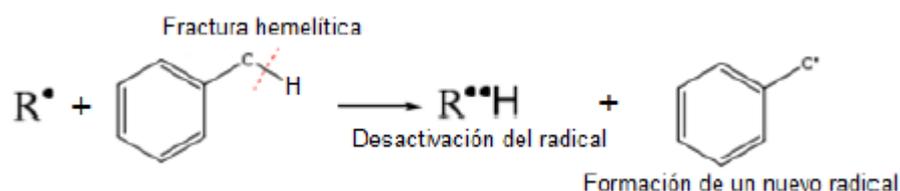


Figura 19: Mecanismo por transferencia de un hidrógeno.
(Prior et al., 2005)

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 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 et al., 2005)

2.4.5.2. Mecanismo por transferencia simple de un electrón.

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):

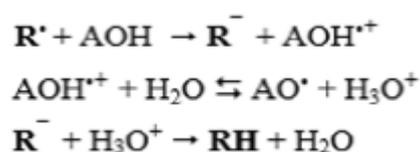


Figura 20: Mecanismo por Transferencia simple de un electrón. (Prior et al., 2005)

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)

2.4.6. 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 intermediarios 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, 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).

2.4.7. 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, Tachibana y Kikuzaki, 2001; Méndez, Sanhueza, Speisky y Valenzuela, 1996).

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; Méndez et al., 1996).

$$\mathbf{\text{Log (OSI) = AT + B}} \quad \mathbf{(14)}$$

La ecuación empírica (14) 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; Méndez et al., 1996).

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. (Méndez et al., 1996).

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 (14) para obtener la ecuación (15) (Nakatani et al., 2001):

$$\text{OSI} = 10^{\text{AT}+\text{B}} \quad (15)$$

Para obtener el error de la extrapolación se usó la ecuación diferencial (16) 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; Méndez et al., 1996):

$$\delta \text{OSI} = \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial \text{T}} \right)_{\text{A,B}} \delta \text{T} + \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial \text{A}} \right)_{\text{T,B}} \delta \text{A} + \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial \text{B}} \right)_{\text{T,A}} \delta \text{B} \quad (16)$$

2.4.8. 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; Garcia-Ochoa, 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; Garcia-Ochoa, 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:

$$\alpha = \frac{x}{a_0 - x} \quad (17)$$

Donde α , representa el grado de transformación de las moléculas, presencia de insaturaciones iniciales y x la formación de los productos secundarios de la oxidación. (Blaine y Savage, 1992; Garcia-Ochoa, 1989).

Integrando la ecuación (17)

$$\int_{\alpha=\alpha_0}^{\alpha=\alpha^*} \frac{d\alpha}{1-\alpha} = \int_{t=t_0}^{t=t^*} dt \quad (18)$$

Donde α^* representa el grado de transformación para un tiempo t^* o periodo de inducción, Resolviendo la integral (18) se obtiene la ecuación (19) (Blaine y Savage, 1992; Garcia-Ochoa, 1989)

$$-\ln(1 - \alpha^*) = Kt \quad (19)$$

Definiendo t^* como OSI y despejando se obtiene la ecuación (20):

$$OSI = \frac{-\ln(1-\alpha^*)}{K} \quad (20)$$

Se establece la relación entre la constante de velocidad y la temperatura termodinámica (T) haciendo uso de la ecuación de Arrhenius (21) (Blaine y Savage, 1992; Garcia-Ochoa, 1989).

$$K = Ze^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (21)$$

Sustituyendo (20) en (21) y aplicando logaritmo se obtiene la ecuación (22):

$$\ln(\text{OSI}) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (22)$$

2.5. 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, 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, 2007 citado en Villanueva y Castillo, 2013).

2.5.1. Valor peróxido (VP)

Los peróxidos son producto de la degradación lipídica provocada por el oxígeno frente a los ácidos grasos no saturados, en presencia de factores prooxidantes. Su determinación se realiza por titulación yodométrica, utilizando almidón como indicador. Un índice de peróxidos hasta 5 corresponde a un aceite fresco o dentro de su período de inducción y la rancidez organoléptica se inicia con un índice de peróxidos entre 10 y 20 (Parada Caro, 2005)

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, 2001 citado en Villanueva y Castillo, 2013).

2.5.2. Valor de la anisidina.

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, 2010)

2.5.3. 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. (Ixtaina, 2010)

2.5.4. 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, 2010)

2.5.5. Método de 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 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, 2010)

2.5.6. 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, 1998).

2.6. Método para determinar el perfil lipídico de un Aceite Vegetal.

2.6.1. Cromatografía de gases.

Es una técnica analítica utilizada en la separación, identificación y cuantificación de los componentes de una mezcla realizada en un equipo llamado cromatógrafo de gases. Se basa en la diferencia de velocidades de migración de sus componentes al ser arrastrado por un gas inerte a través de una columna (Stambuk, 1970 citado por López , 2010).

(Sharapin, 2000 citado por López, 2010), señala que la cromatografía en fase gaseosa, es una técnica que permite la separación de sustancias volatilizables. La separación tiene como base la distribución de las sustancias entre una fase estacionaria (sólida o líquida) y una fase móvil.

El mismo autor, señala que en el proceso de cromatografía gaseosa, FIGURA 21, la muestra es introducida en una columna que contiene la fase estacionaria, a través del sistema de inyección. Temperaturas apropiadas en el sitio de la inyección y en la columna, posibilitan la volatilización de los componentes de la muestra, los cuales, de acuerdo con sus propiedades y las de la fase estacionaria, son retenidos por tiempos variables y llegan al final de la columna en tiempos diferentes. Un detector adecuado, a la salida de la columna, permite la detección y cuantificación de las sustancias de la muestra.

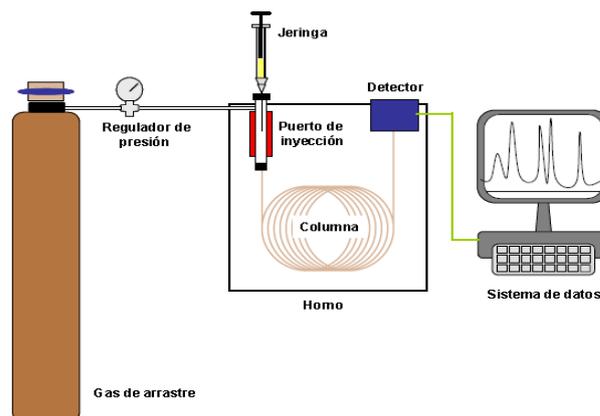


Figura 21: Esquema general de un cromatógrafo de gases.
(Vargas y Bottia, 2008)

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 Chía Negra (*Salvia Hispanica L.*)
procedente de Andahuaylas.

3.1.2. Reactivos.

- Nitrógeno (gas)
- Alcohol (98%)
- NaOH (3%)
- Fenolftaleína.
- Cloroformo.
- Agua Destilada.
- Ácido Acético.
- Isooctano.
- NaCl.
- BF₃
- P- anisidina.
- Wijs.

- KI (15%)
- Tiosulfato de Sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 N
- Almidón (1%)

3.1.3. Materiales de vidrio

- Probetas (50 y 60 ml)
- Vasos precipitados (500 y 1000 ml)
- Tubos de Reacción.
- Pipeta de (1, 2, 5 y 10) ml
- Matraz de 250 ml.
- Fiolas de (10, 50 y 100 ml)
- Fiolas Ámbar (1000 ml)

3.1.4. Otros materiales.

- Mesa de acero Inoxidable.
- Pinzas de madera.
- Gradilla de tubos de ensayo para (8).

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.
- Equipo: Cromatógrafo de gases, Marca: SHIMADZU, Modelo GC-2010 AF,23 OV

3.2. Metodología de análisis.

3.2.1. Análisis fisicoquímicos de la semilla y aceite de Salvia hispánica L.

3.2.1.1. Humedad.

La humedad de las semillas de Salvia Hispánica 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
- Pm: Peso de la muestra
- Pf: Peso final de la placa con la muestra
- Pi: Peso de la placa vacía

3.2.1.2. 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.

3.2.1.3. Índice de acidez.

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

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

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).

3.2.1.4. Índice de peróxido – Método Oficial de la AOAC 2001.11.

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 oscuridad 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.

$$\text{Índice de Peróxido} = \frac{N \times V \times 1000}{P}$$

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).

3.2.1.5. Índice de estabilidad Oxidativa (OSI)

Se utilizó el método AOCS Cd 12b-92 en el Metrohm

Rancimat 743, el método se resume en las siguientes etapas:

A) Preparación de la muestra.

- Pesar aproximadamente (3.0 ± 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 destilada siendo ésta la posición correcta. Al mismo tiempo se produce el contacto con la parte electrónica del aparato.

C) Análisis Rancimat.

Se realizó con las siguientes condiciones:

- Temperatura del bloque calefactor 100°, 110° y 120°C.
- Flujo de Aire 15, 20 y 25 L/H.
- Volumen de Agua Destilada 60 ml.
- Conductividad de agua destilada 1.2 µs/cm.

3.2.1.6. Vida útil.

Se utilizó el método de extrapolación del Rancimat mediante la dependencia de los valores de OSI con respecto a la temperatura:

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

Donde:

OSI: Índice de Estabilidad Oxidativa (h)

T: Temperatura (°C)

A: Constante

B: Constante

3.2.1.7. 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: Índice de Estabilidad Oxidativa (h).

T: Temperatura (°C).

E_a: Energía de Activación (KJ/mol).

R: Constante ideal de los gases.

Z: Factor de Arrhenius.

α': grado de transformación de moléculas insaturadas

3.2.2. Extracción del aceite virgen por prensado en frío.

En la figura 9, se presenta el diagrama de flujo para obtener aceite virgen de Salvia Hispánica L.

3.2.2.1. Materia prima.

Se utilizó semillas adquiridas en el mercado la Perla Chimbote, provenientes de la ciudad de Andahuaylas – 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 1000 ± 10 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 Salvia Hispánica L. se llevó en una sola etapa a 25°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, en 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 15°C , 2500 rpm por un tiempo de 20 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 *Salvia Hispánica L.* obtenido a través de extracción mecánica por prensado y clarificado por centrifugación fue almacenado en recipientes de vidrio color ambar, bajo atmósfera de nitrógeno a $4\pm 1^\circ\text{C}$, no se añadieron antioxidantes hasta su posterior utilización.

3.2.3. Procedimiento experimental

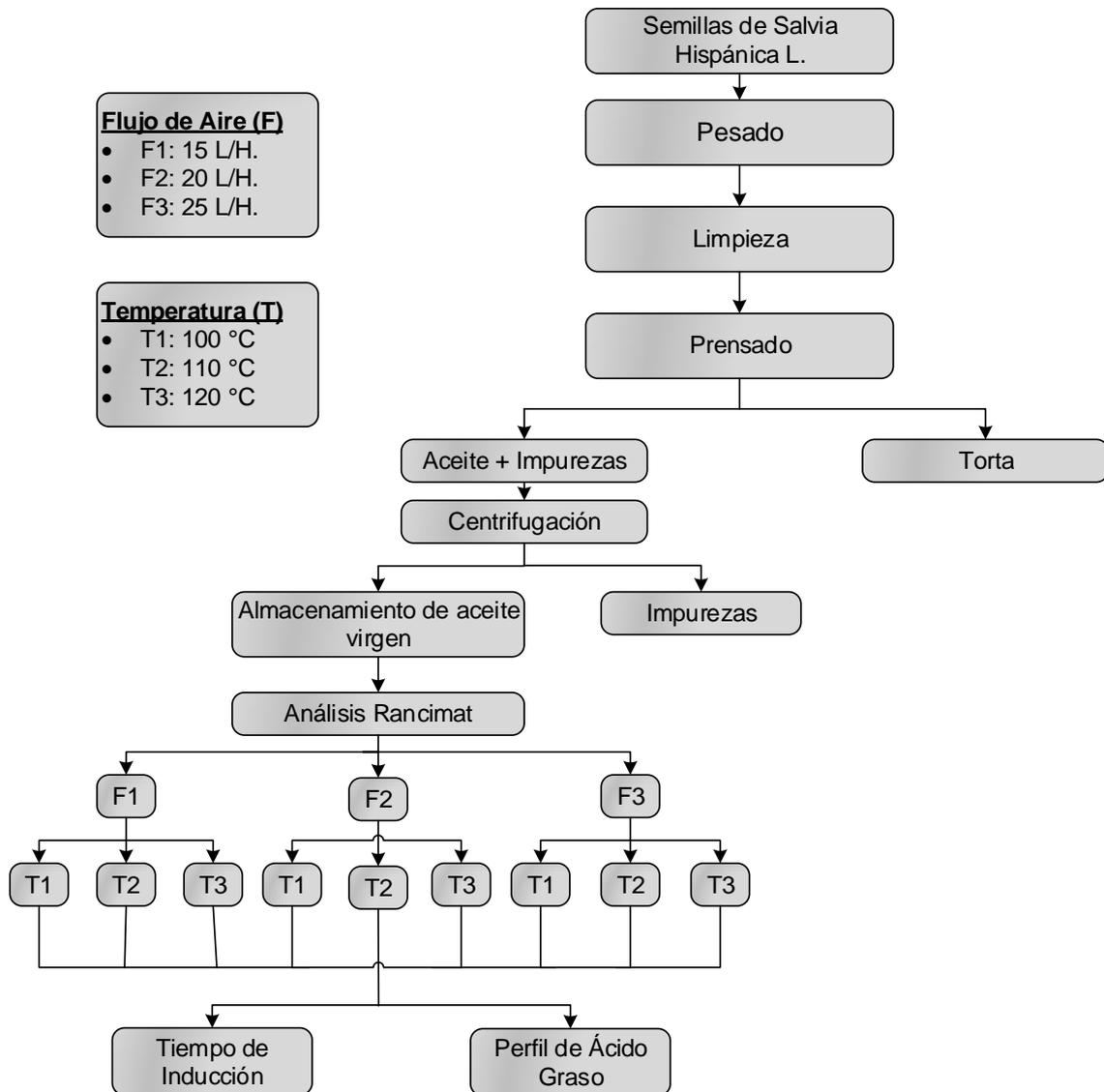


Figura 22: Flujo del proceso experimental para la determinación del Tiempo de Inducción y perfil de ácidos grasos del Aceite de Salvia Hispanica L.

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 (100°, 110° y 120 °C). El índice de estabilidad oxidativa se evaluó para un total de 27 determinaciones.

Tabla 4: *Experimento Factorial DCA*

FLUJJO (L/h)	TEMPERATURA (°C)		
	110	110	120
	TI ± SD	TI ±SD	TI ± SD
15			
20			
25			

SD: Desviación estándar.

TI: Tiempo de Inducción.

Tabla 5: *Experimento factorial DCA*

FLUJJO (L/h)	Alfa Ácido Linolénico		
	110	110	120
	ALA ± SD	ALA ±SD	ALA ± SD
15			
20			
25			

SD: Desviación estándar.

ALA: Alfa Ácido Linolénico.

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:

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

Donde:

- Y_{ijk} : Es el tiempo de estabilidad de aceite y perfil lipídico del ácido alfa linolénico de Salvia Hispánica L., obtenido con el i-ésimo flujo de aire y el j-ésima temperatura.
- μ : Es el efecto medio general.
- τ_i : Es el efecto del i-ésimo nivel del factor flujo de aire.
- β_j : Es el efecto del j-ésimo nivel del factor temperatura.
- $(\tau\beta)_{ij}$: Es el efecto de la interacción entre τ_i y β_j , y ϵ_{ijk} es el componente del error aleatorio.

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

Tabla 6: *Experimento factorial DCA*

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Razón F	Valor P
Flujo de Aire					
Temperatura					
Residuos					
Error					
Total					
(Corregido)					

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

4.1. De los análisis fisicoquímicos del aceite de Chía (*Salvia Hispánica L.*)

Según los resultados que se muestran en tabla 7, referente al análisis fisicoquímico del aceite de *Salvia Hispánica L.* extraído de las semillas por prensado en frío, empleado en el presente trabajo presentó antes de iniciar la prueba de oxidación acelerada (Test Rancimat); valores de índice de acidez y Iodo de 0,26 % y 163.4 respectivamente, estos resultados coincidieron con lo reportado por (INTERFAT, 2012), de >2 % en el índice de acidez y (152-205) para el índice de Iodo ; los mismos que nos indican que el aceite estuvo en buenas condiciones.

Por otro lado el índice de peróxido presentó un valor de 0,40 meqO₂/kg, este resultado fue menor que los parámetros de calidad para aceites vegetales reportado por el Codex Alimentarius CODEX- STAN 2010-1999 (CODEX STAN 210-1999, 2013), de 15 meqO₂/kg para aceites prensados en frío, lo que quiere decir que el aceite fue obtenido en buenas condiciones y tuvo un buen almacenamiento, con respecto al índice de refracción el valor fue de 1.34, resultado menor comparado por Ixtaina (2010), de 1.4813 (20°C) hasta 1.4818, lo que indica nuevamente que el aceite obtenido fue de buena calidad; finalmente la densidad del aceite se encontró en 0.926 g/ml, cuyo valor coincide con lo reportado por (INTERFAT, 2012), de 0.920 – 0.940 g/ml, encontrándose en el rango y demostrando una vez más la calidad del aceite.

Tabla 7: Análisis Físicoquímicos del Aceite de *Salvia hispánica L.*

Análisis	Valor	Unidad
Índice de Peróxido	$0.40 \pm 0,0023$	meqO ₂ /kg
Índice de Acidez	$0.26 \pm 0,25$	%
Índice de Iodo	$163.4 \pm 0,25$	
Índice de Refracción	$1.34 \pm 0,003$	--
Densidad	0.926 ± 0.847	g/ml

4.2. Comportamiento del Aceite de Chía (*Salvia Hispánica L.*) en la Prueba Rancimat.

En las figuras 34,35 y 36 (ANEXO) muestran la variación de la conductividad del agua destilada durante el tiempo que transcurre el análisis Rancimat para temperaturas de: 100°, 110° y 120°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 (Tabla 8).

Tabla 8: Comportamiento del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) de Aceite de *Salvia Hispánica L.*

TEMPERATURA (°C)			
FLUJO (L/h)	100	110	120
	OSI ± SD	OSI ± SD	OSI ± SD
15	3.60 ± 0.0115	1.83 ± 0.0058	0.51 ± 0.0153
20	3.64 ± 0.0321	1.84 ± 0.0058	0.5 ± 0.0058
25	3.76 ± 0.0057	1.89 ± 0.0231	0.48 ± 0.0058

SD: Desviación Estándar

OSI: (Horas)

La Tabla 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 (2007^a).

En un estudio similar Farhoosh (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.

Ixtaina, 2010. Nos informa que la estabilidad oxidativa determinada mediante el ensayo acelerado (Rancimat), se caracterizó por los bajos tiempos de inducción obtenidos (2,4 - 2,8 h) indicando que los aceites de chía son inestables en relación a los procesos de termo-oxidación, en comparación con otros aceites vegetales (Arranz y col., 2008).

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, 2010)

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. (Villanueva y Castillo, 2013).

Pro otro Lado Villanueva & Morales, 2013., señalan 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.

Mientras que Ixtaína (2010) afirma que el alto tenor de PUFAs determina que los tiempos de inducción registrados para este tipo de aceite sean muy bajos, aún en presencia de un interesante contenido de tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos.

4.3. Comportamiento del perfil lipídico (Alfa Ácido Linolénico) del aceite de chía (Salvia Hispánica L.) Después de la prueba de test Rancimat.

En la figura 23 y Anexo 03 se muestra el comportamiento en porcentajes del alfa Ácido Linolénico antes de ser sometido a los tratamientos correspondientes y durante el tiempo que transcurre el análisis Rancimat para temperaturas de: 100°, 110° y 120°C; y flujos de aire de: 15, 20 y 25 L/H.

Los resultados de las gráficas muestran que el porcentaje de alfa Ácido Linolénico (% ALA) tiende a mantenerse en equilibrio con respecto al aumento de la temperatura y flujo (Tabla 9).

Tabla 9: Porcentaje del Ácido Alfa Linolénico del Aceite de Salvia Hispanica L.

		Temperatura		
		100	110	120
Flujos	% ALA ± SD	% ALA ± SD	% ALA ± SD	% ALA ± SD
15	70.035 ± 0.995	69.623 ± 0.501	69.648 ± 0.501	
20	70.008 ± 0.863	69.570 ± 0.520	71.217 ± 0.605	
25	70.404 ± 0.751	69.990 ± 0.894	70.016 ± 0.967	

SD= Desviación Estándar

%ALA= Alfa Ácido Linolénico

En la tabla 9, Se observa que %ALA no es afectado por la temperatura y flujo de aire, esto debe suceder debido a que en aceites homogéneos en cuanto a su perfil de ácidos grasos, los antioxidantes naturales pudieran ejercer algún efecto sobre la estabilidad de los mismos. (Navas, 2010)

Otra forma de comparar el comportamiento del perfil lipídico de un aceite es sometiendo a temperatura elevadas a través de un proceso de fritura un proceso altamente utilizado a nivel industrial y casero, el que considera someter a las grasas a temperaturas cercanas a los 200°C, con lo cual se producen complicados cambios físicos y químicos. (Zamorano, Martínez y Medel, 2013)

La susceptibilidad de semilla de chía proveniente de anahuaylas a la oxidación está estrechamente relacionado con el perfil de ácidos grasos presentes en estos, ya que es conocido que los ácidos grasos poliinsaturados pueden oxidarse relativamente más fácil que los monoinsaturados, se conoce que el aceite de chía tiene un alto contenido de ácido linolénico, al analizar este ácido graso poliinsaturado, esta produciendo hidroperóxidos mediante reacciones de oxigenación catalizadas por enzimas, por autooxidación química, (Navas.m 2010). Estos hidroperóxidos dan lugar a la formación de aldehídos, cetonas, alcoholes y ácidos grasos de cadena cortas, que son los compuestos responsables del desarrollo de sabores y aromas desagradables por enranciamiento oxidativo.

Se han realizado investigaciones que sugieren que la formación de ácidos grasos trans es más probable a temperaturas mayores a 200°C (Liu, Stephen y Chen, 2007), realizando los experimentos con aceite de soya sometido a calentamiento a 160, 180 y 200°C en un período de 4 a 20 horas, obteniendo que el contenido de ácidos grasos insaturados resultó mayoritario, demostrando que después de las 24 horas en ninguno de los tratamientos se reportó formación de ácidos grasos trans, debido a que se requieren temperaturas por encima de los 240°C para ello. Asimismo, se observaron pérdidas importantes en los principales ácidos grasos produciendo entonces moléculas oxidadas como peróxidos, cetonas, aldehídos y alcoholes que son tóxicos para las células, la concentración de éstas varió dependiendo del tratamiento aplicado. También se ha comprobado los aceites de oliva extra virgen, oliva, girasol, maíz y cacahuete son estables, con la adición de antioxidantes, a 180°C en tiempos de calentamiento de hasta 60 minutos. (Barajas et al., 2013)

El aceite de soya se compone mayoritariamente por ácidos grasos poliinsaturados ($\approx 65\%$), ácidos grasos monoinsaturados ($\approx 25\%$) y cerca del 10% de ácidos grasos saturados. Predomina la presencia de ácido linoleico y oleico (Wang, 2002), en comparación con el aceite de chía este también se compone en su mayoría de ácidos poliinsaturados.

Por otro lado, se sabe que durante el calentamiento los ácidos grasos más insaturados son los primeros en sufrir cambios; por lo que, se observó que el ácido linoleico suele perder las insaturaciones y adquirir forma de ácido oleico. El resultado de dicho proceso hace más resistente al aceite debido a que la transformación es lenta; de esta forma, la pérdida de ácidos grasos es

menor cuando el contenido de ácidos grasos poliinsaturados es mayor (Karpinska et al., 2011).

(Barajas et al., 2013) Dice que el aceite de soya mantiene los niveles iniciales de ácidos grasos durante todo el proceso de calentamiento, presentando las mayores pérdidas en el intervalo de 15 a 60 minutos. Esto sugiere que la mayor oxidación comienza a partir de los 15 minutos de calentamiento y exposición al oxígeno, dicho comportamiento puede ser retrasado a causa de la notable concentración de ácido palmítico, el cual es un ácido graso saturado que puede actuar como protector.

Silva et al., (2010) comprobaron la estabilidad de diferentes tipos de aceite (oliva extra-virgen, oliva, girasol, maíz y cacahuete) utilizados para la cocción de papas a 180°C en tiempos variables de aproximadamente 60 minutos, suficientes para la cocción, y con la adición de tocoferol como antioxidante. En dichos experimentos, se observó que el tocoferol tiene un papel importante para la prevención de la oxidación de los ácidos grasos; no obstante, una vez que se termina, la oxidación es inevitable, pero menor a la de los aceites que no contienen antioxidantes, lo que comprueba la eficiencia de esta molécula. Los resultados obtenidos indican que el aceite más resistente y con menos pérdidas es el de oliva extra-virgen, ya que mantiene una concentración alta en ácido oleico (monoinsaturado); el más susceptible fue el de girasol, con concentraciones mayores de ácidos grasos insaturados (Silva et al., 2010)

Hay reportes que aseguran que los ácidos grasos trans pueden afectar negativamente el proceso inflamatorio en la aterosclerosis, mediante el

aumento de la producción de células mononucleares de sangre periférica de las citoquinas inflamatorias (Liu et al., 2007 en Esquivel et al., 2013).

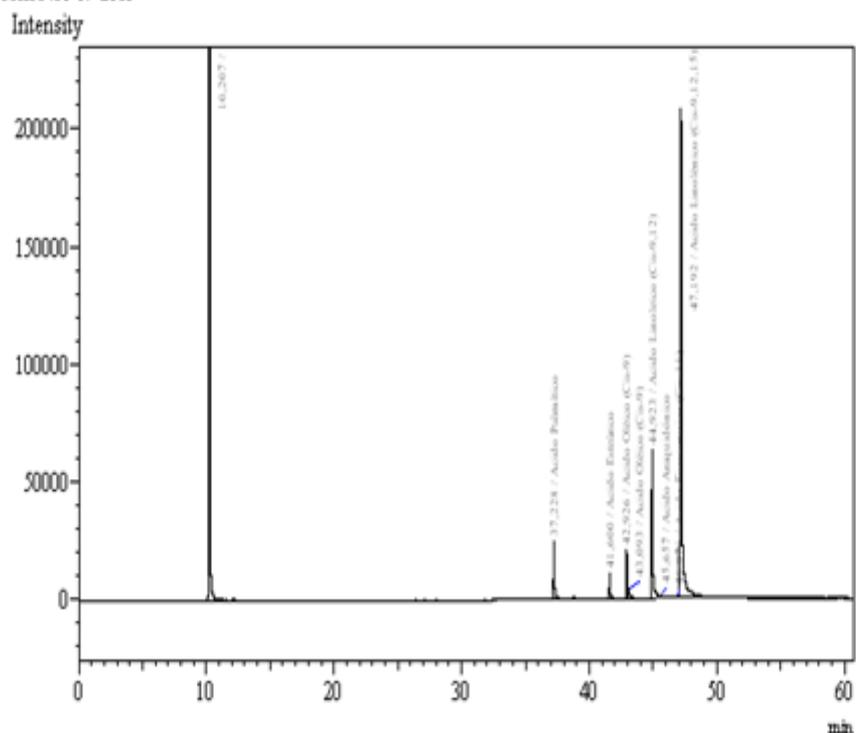
Liu et al (2007) sugieren que la formación de ácidos grasos trans es más probable a temperaturas mayores a 200°C. Los experimentos que realizaron fueron con aceite de soya sometido a calentamiento a 160, 180 y 200°C en un período de 4 a 20 horas, obteniendo un contenido mayoritario de ácidos grasos insaturados.

Los resultados demostraron que el aceite de chia al estar sometido a los distintos tratamientos de temperatura y flujo de aire no se reportó formación de ácidos grasos trans, por el contrario hubo un equilibrio en el contenido de Alfa Ácido Linolénico, lo que se puede concluir que para que ello ocurra se requieren temperaturas por encima de los 240°C.

A continuación el cromatograma del perfil lipídico del aceite de *Salvia Hispánica L.*:

Analysis Date & Time : 16/07/2015 13:46:18
 User Name : Admin
 Via# : 4
 Sample Name : CHIA 16-07-2015
 Sample ID : CHIA 16-07-2015
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project\FAMES\CHIA 16-07-2015.gcd
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt.2560).gcm
 [Description]
 CHIA 16-07-2015



Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	ID#	Compd Name
1	10.207	158929578	63798988	0,000		SV		
2	37.228	173039	24473	5,775 %		SV	11	Acido Palmítico
3	41.600	74462	10950	2,449 %		S	14	Acido Estéarico
4	42.926	106430	20701	3,476 %		V	16	Acido Oléico (Cis-9)
5	43.093	49406	4690	1,613 %		V	16	Acido Oléico (Cis-9)
6	44.923	393053	62614	14,738 %			18	Acido Linoleico (Cis)
7	45.657	3097	754	0,107 %			19	Acido Araquidónico
8	46.876	1867	394	0,063 %			20	Acido Eicosanoico (Cis)
9	47.192	1690176	207338	71,777 %		S	21	Acido Linoléico (Cis)
Total		161423128	64130902					

Figura 23: Comportamiento del Aceite de Chía sin ningún tratamiento.

En la tabla 10 , muestra el ANOVA realizado para el % AL, para el cuál se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 2 x 3; flujo y temperaturas , con 3 repeticiones, siendo un total 27 experimentos, los cuales fueron evaluados estadísticamente para determinar si existen diferencias significativas entre ellas y de los cuales obtuvimos resultados en cuanto al porcentaje de Alfa Ácido Linolénico, donde la temperatura y flujo no tiene un efecto estadísticamente significativo sobre %ALA con un 95.0% de nivel de confianza, Puesto que ningún valor-P es menor que 0.05, y mayores a 0.01 ($p < 0.01$).

Tabla 10: *Análisis de Varianza ANOVA del % ALA*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS					
PRINCIPALES					
Flujo de aire	1.19498	2	0.597489	0.95	0.4011
Temperatura	1.55558	2	0.777788	1.24	0.3088
RESIDUOS	13.7977	22	0.627167		
Total (Corregido)	16.5482	26			

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

El gráfico tridimensional de la figura 37, 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.

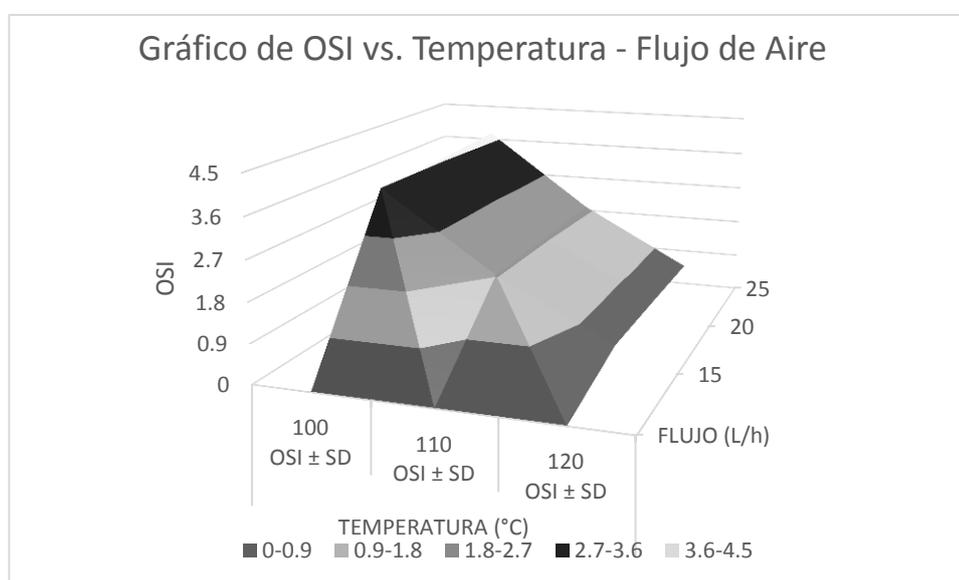


Figura 24: Gráfico de OSI vs Temperatura - Flujo de aire

Navas (2010), revela la misma tendencia de estabilidad oxidativa para el caso del aceite de *Sesamum Indicum L.* Reportando valores de OSI de 21.4 ± 0.6 h a una temperatura de 100°C , 4.7 ± 0.1 h para 120°C , 1.0 ± 0.1 h para 140°C y 0.3 ± 0.1 h para 160°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°C el OSI reportado es 60.0 ± 0.9 h y una temperatura máxima

de 160° C el OSI es 0.7 ± 0.2 h. bajo un flujo de 15 L/h. Sin embargo, naturalmente los OSI son distintos debido a los diversos factores intrínsecos de cada aceite al ofrecer resistencia a la oxidación, en el caso del aceite de semilla de uva fue el menos estable, ya que sus valores de OSI, con $7,5 \pm 0,1$ h a 15 L/h durante el ensayo de aceleración de oxidación acelerada a 100 °C y de $2,0 \pm 0,1$ h a 120°C y 25 L/h, lo que significa que esta susceptibilidad está asociada a la alta proporción de ácido Linoleico.

4.5.Determinación de la Vida Útil.

En la figura 26 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 tabla 9, los resultados muestran valores de A ubicados entre -0.0423 a -0.0449°C y B entre 4.8272 a 5.1082; los coeficientes de regresión situados entre 0.9637 a 0.9753.

Tabla 11: *Valores de regresión lineal A y B, sometidos al test Rancimat*

FLUJO (L/h)	A ± SE (°C⁻¹)	B ± SE	R²
15	-0.0423 ± 0.0007	4.8272 ± 0.0739	0.9753
20	-0.0429 ± 0.0005	4.897 ± 0.0487	0.9682
25	-0.0449 ± 0.0003	5.1082 ± 0.0280	0.9637

SE: Error Estándar.

Navas P., (2010), muestra resultados con la misma tendencia 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°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°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°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.

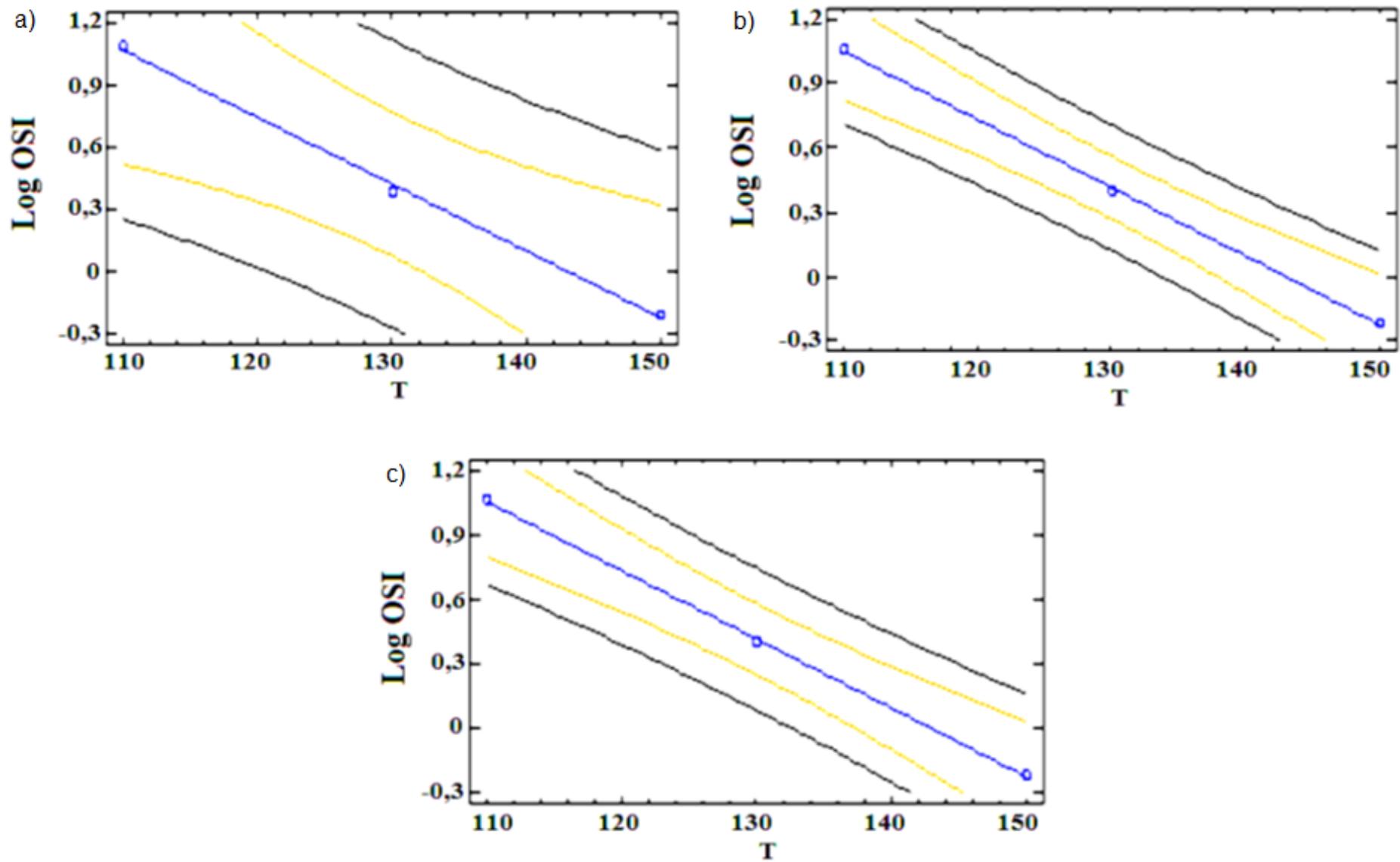


Figura 25: Gráficos de regresión lineal logaritmo OSI y Temperatura a) 15L/H, b) 20L/H y c) 25L/H.

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 chía a 25°C. Los OSI obtenidos para cada flujo de aire fueron de 245, 278 y 403 días respectivamente.

Tabla 12: *Valores de extrapolación de OSI a 25°C*

Flujo (L/h)	OSI $\pm\delta$ OSI (días)
15	245 \pm 52
20	278 \pm 39
25	403 \pm 33

Por otro lado el método de propagación de errores genera como resultados 52, 39 y 33 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,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 27, 28 y 29 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 245, 278, 403 días para flujos de 15, 20 y 25 L/h.

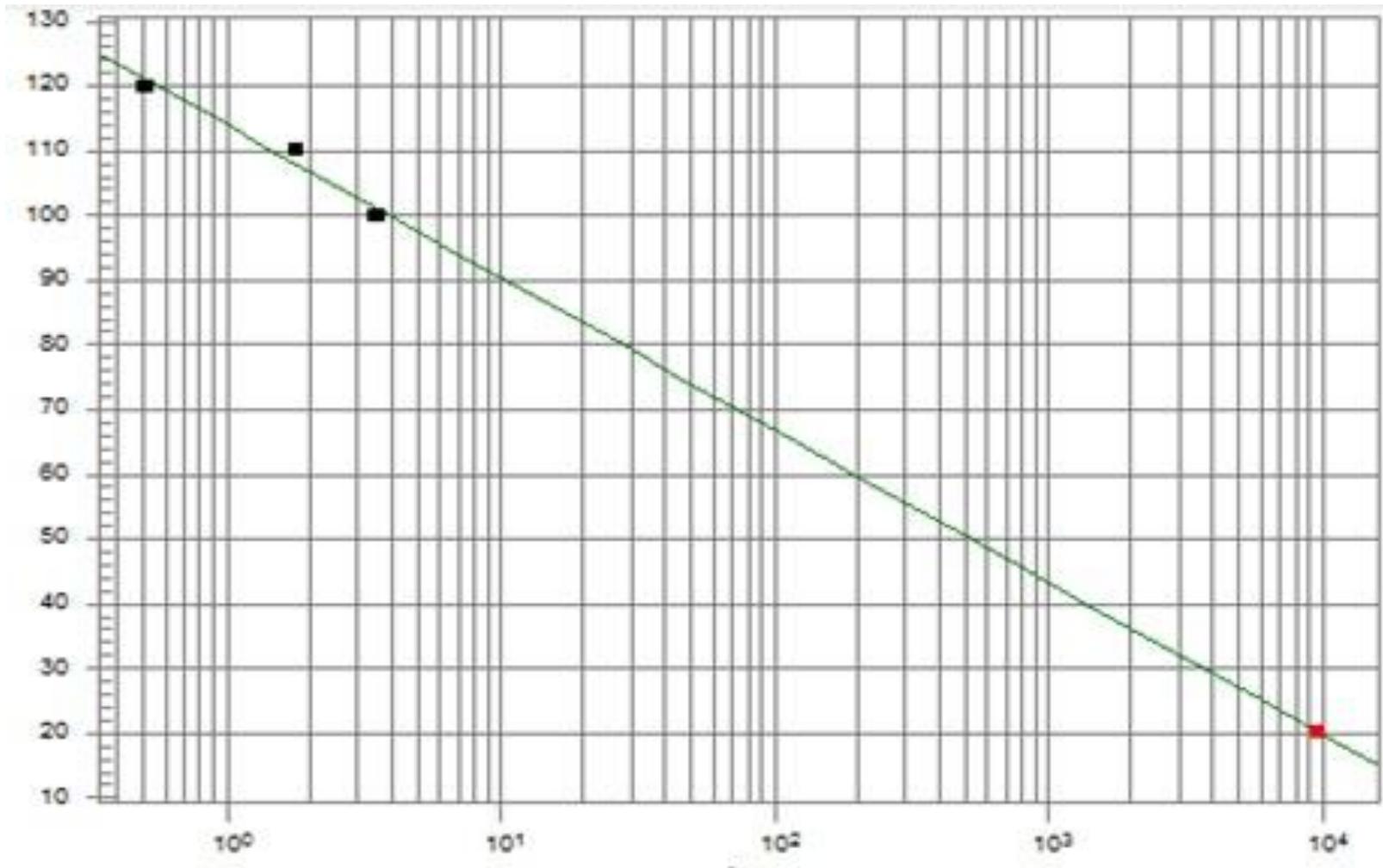


Figura 26: Gráfico de extrapolación Rancimat para un flujo de 15L/H.

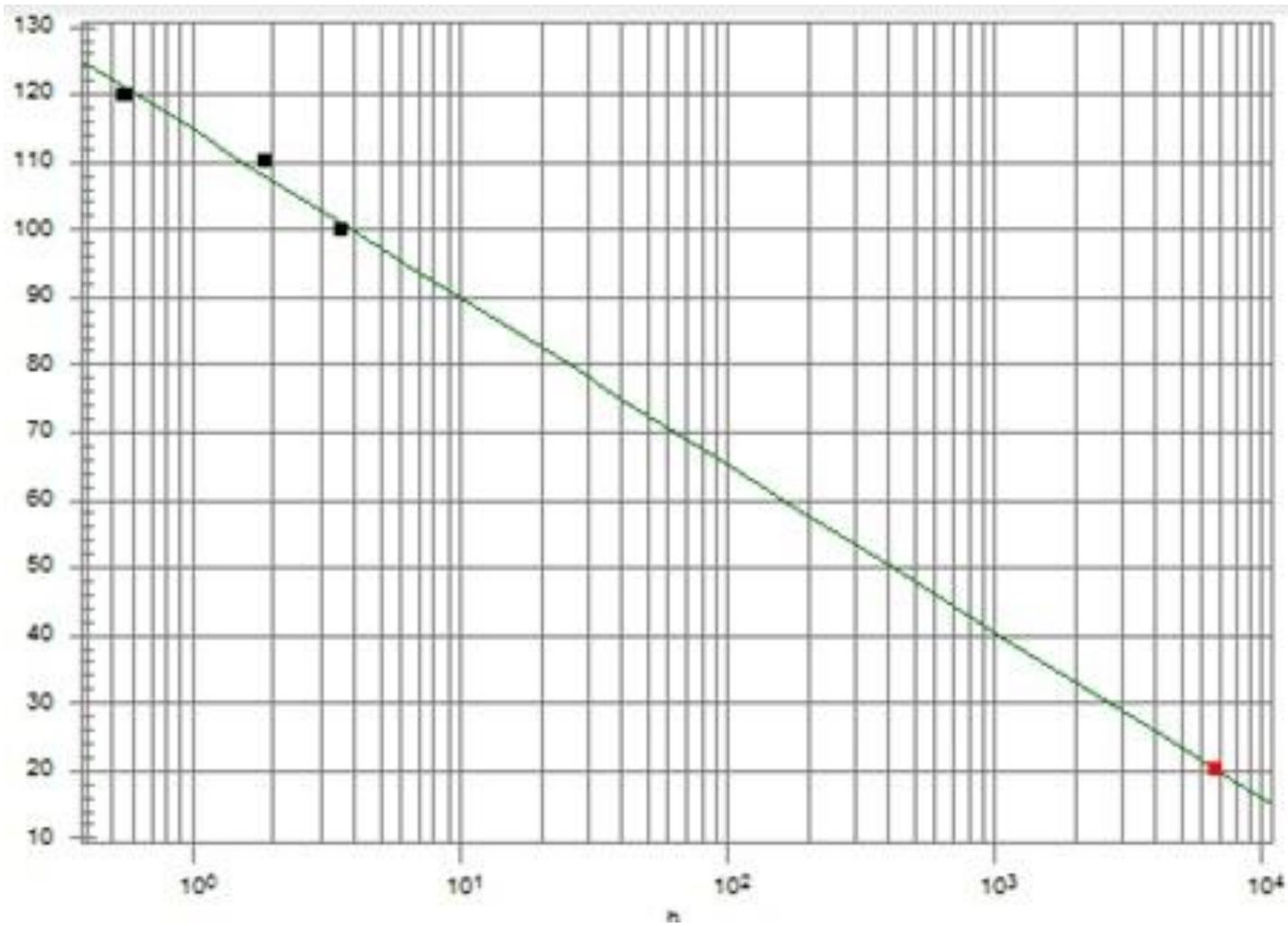


Figura 27: Gráficos de extrapolación Rancimat para un flujo de 20L/H

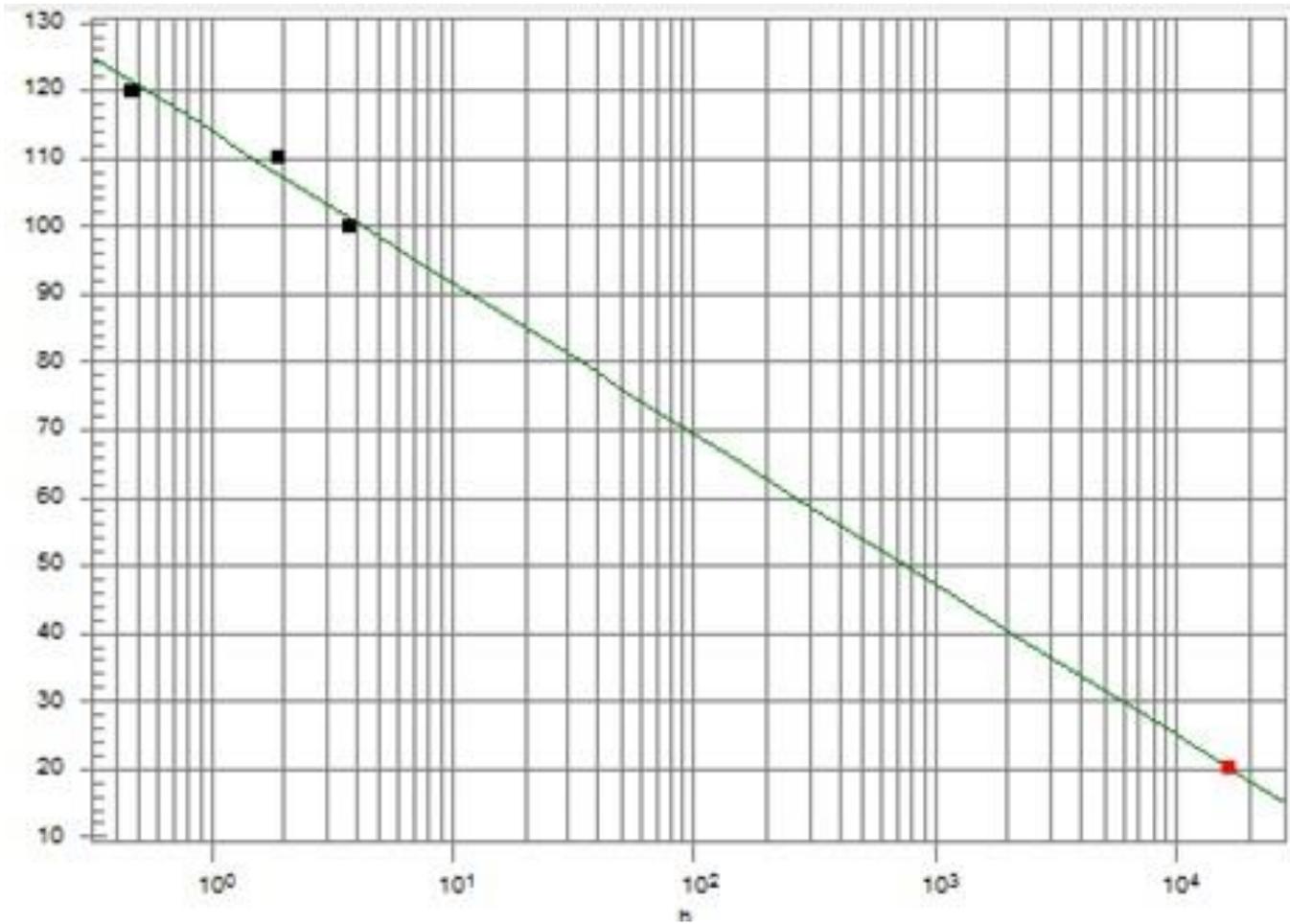


Figura 28: Gráficos de extrapolación Rancimat para un flujo de 25L/H

La tabla 13, muestra los resultados en cuanto al Tiempo de inducción, 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 ($p < 0.01$)

Tabla 13: *Análisis de Varianza (ANOVA)*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Flujo de Aire	0.0241556	2	0.0120778	5.50	0.0115
Temperatura	45.0634	2	22.5317	10265.24	0.0000
RESIDUOS	0.0482889	22	0.00219495		
Total	45.1358	26			

(Corregido)

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.

4.6. Determinación de la energía de activación.

En el aceite de chía se observan diferencias de energía de activación debido al flujo empleado, 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 tabla 14, muestra los resultados de la energía de activación para diferentes flujos de aire, situados entre 118.41 kJ/mol y 125.52 kJ/mol.

Tabla 14: *Determinación de la energía de activación*

Flujo (L/h)	Pendiente	R²	Ea (KJ/mol)
15	14241.7	0.9647	118.41
20	14463.3	0.9629	120.25
25	15096	0.9578	125.52

Se sabe que la energía de activación suele utilizarse para denominar la energía mínima necesaria para que se produzca una reacción química dada. Para que ocurra una reacción entre dos moléculas, éstas deben colisionar en la orientación correcta y poseer una cantidad de energía mínima.

La velocidad de casi todas las reacciones químicas aumenta, en general, con la temperatura (se duplica o triplica por cada 10 °C de aumento).

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 ($E_a = 90 \text{ kJ/mol}$) o los esteres provenientes de aceites utilizados en frituras con una energía de activación de $106,4 \text{ kJ/mol}$, 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.

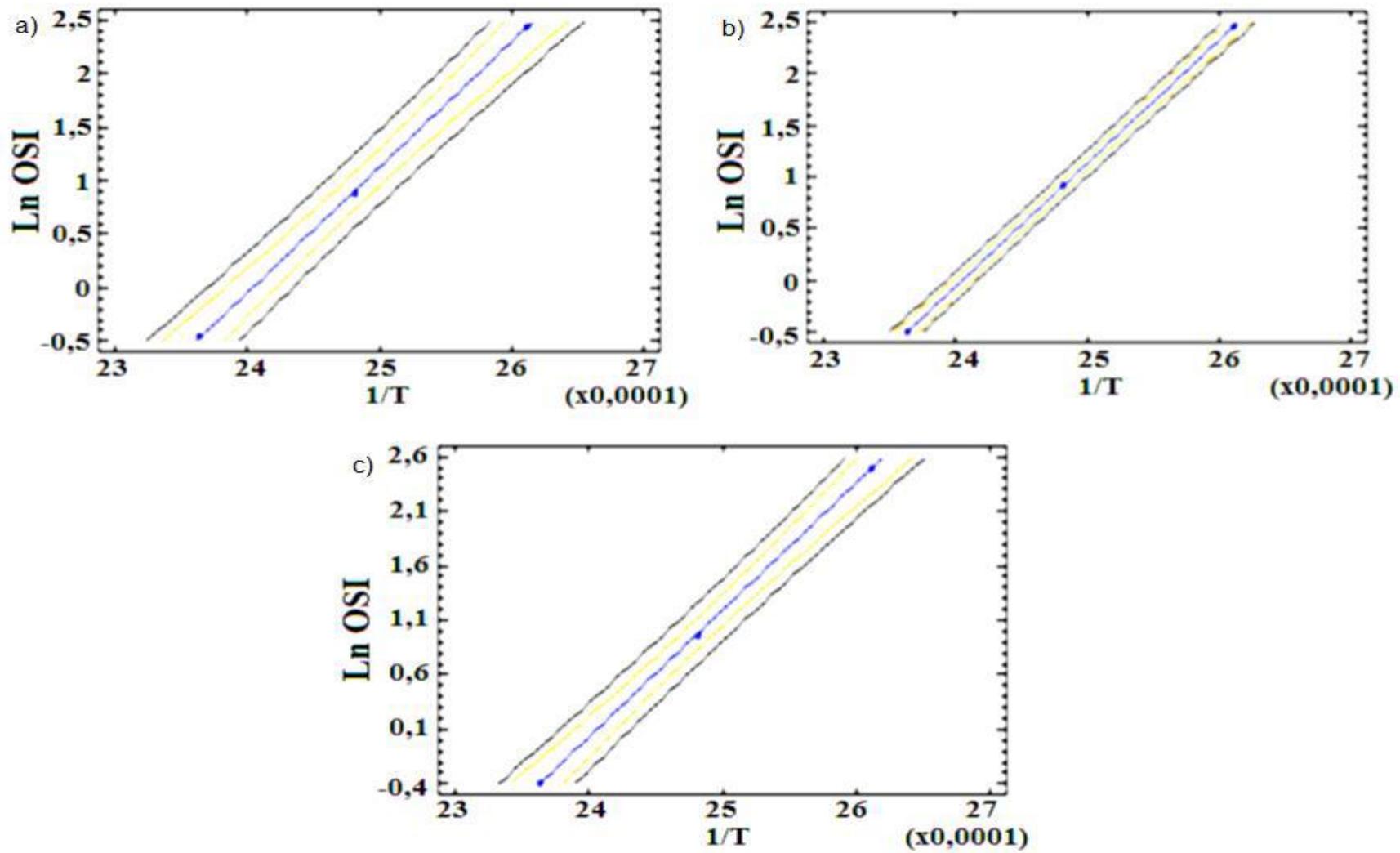


Figura 29: Gráficos de regresión lineal para el logaritmo del índice de estabilidad oxidativa: a) 15 l/h, b) 20 l/h y c) 25 l/h

V. CONCLUSIONES.

- ❖ El aceite de *Salvia Hispánica L.* fue obtenido por extracción mecánica utilizando una prensa SEW-EURODRIVE modelo FA57/G, a partir de una cantidad de 3 Kg. de semillas con una humedad de 8,95%, obteniendo un rendimiento del 20.98 %. La caracterización fisicoquímica del aceite de *Salvia Hispánica L.* dio como resultado: 0.4 meq O₂/Kg de aceite, 0.26% de acidez, 163,4 del índice de Iodo, 1.34 de índice de refracción, 926.16 Kg/m³ de Densidad y 25.9 mPaSeg.

- ❖ Después de evaluar la influencia de los parámetros Rancimat sobre la determinación del tiempo de Inducción del aceite *Salvia Hispánica L.*, se encontró que tanto la temperatura y la tasa de flujo de aire fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) sobre el tiempo de inducción del aceite de chía.

- ❖ Después de evaluar la influencia de los parámetros Rancimat sobre el efecto del perfil lipídico del alfa ácido linolénico (ω_3), se encontró que tanto la temperatura y la tasa de flujo de aire no fueron estadísticamente significativos puesto que ningún valor- P fue menor que 5.

- ❖ Se obtuvieron valores experimentales del TI con flujos de aire de 15, 20 y 25 L/H, y temperaturas de 100, 110 y 120°C; en base a estos valores se realizó una extrapolación a 25°C, y se obtuvieron valores de OSI de 245, 278 y 403 días respectivamente.

- ❖ 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 del aceite de chía a distintos flujos de aire, siendo 118.41, 120.25 y 125.52 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 Tiempo de Inducción 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 Salvia Hispánica L. en Rancimat y otros índices.
- ❖ Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de Salvia Hispánica L. por el método del radical DPPH.
- ❖ Caracterización de la torta de semillas de Salvia Hispánica L. obtenido por prensado en frío.
- ❖ Determinar la cantidad de componentes minoritarios (Ca, Cu, Fe) de la semilla de Salvia Hispánica L. por Espectrofotometría de Absorción Atómica.

VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ❖ Esquivel Ramírez, A., Castañeda Ovando, A., y Ramírez Godínez, J. (2013). Cambios químicos de los aceites comestibles durante el proceso de fritura. Riesgos en la salud. Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingeniería de la *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*.(3). Recuperado de <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icbi/n3/e3.html>
- ❖ American Soybean. (Julio de 2010). *Soy Stats*. Obtenido de A reference guide to important: <http://www.soystats.com/default.htm>
- ❖ Angerosa, F. (2000). *Analysis and properties*. En J. Harwoor, R. Aparicio, y A. Spen (Ed.). *Handbook of Olive Oil*. Maryland, USA. Gaitesburg Edit.
- ❖ Autino, H. (2009). *Capítulo 2: Preparación de semillas oleaginosas*. En Block,J., y Barrera Arellano, D (Eds), *Temas Selectos en aceites y grasas*.San Pablo, Brasil: Blücher.
- ❖ Ayerza, R. y Coates, W. (2005). *Chia: Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs*. Tucson, USA .The University of Arizona Press,: Primera Edición. (LIBRO)
- ❖ Ayerza, R. (1995). Oil Content and Fatty Acid Composition of Chia (*Salvia hispanica L.*) from Five Northwestern Locations in Argentina. *J Am Oil Chem Soc*, (72), 1079-1081.
- ❖ Ayerza, R., & Wayne Coates. (2006). *Chía, redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas. 1 ed.* Buenos Aires.

- ❖ Barajas Gomez, J., Castañeda Ovando, A., Contreras López, E., Martínez Torres, E., Añorve Morga , J., Gonzáles Olivares, L., y Jaime Ordaz, J. (2013). Estudio de la degradación de ácidos grasos contenidos en aceites comestibles sometidos a estrés térmico. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Recuperado de: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/1/3.pdf>.

- ❖ Barrera, D. (1998). Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas. *Grasas y Aceites*, (49), 1, 55-63.

- ❖ Beltrán-Orozco, M., y Romero, M. (2003). Chía, alimento milenario. *Rev. Industria Alimentaria*, 20-29.

- ❖ Berg, J., Tymoczko , J., y Stryer, L. (2002). *Biochemistry*. New York, USA: Ed. W.H. Freeman.

- ❖ Blaine, S., y Savage, P. (1992). Reaction Pathways in Lubricant Degradation. Reaction Model for n-Hexadecane autoxidation *Ind. Engineering Chemical Research*, 31, 69–75.

- ❖ Bockisch, M. (1998). *Extraction of vegetable oils*. Champaign, USA: AOCS Press.

- ❖ Bruhl, L., y Matthaus, B. (2008). Sensory assessment of virgin rapeseed oils. Review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 110, 606-610.

- ❖ Cahill, J. (2004). Genetic diversity among varieties of chia (*Salvia hispanica L.*). *Gen Res Crop Evol*, 51, 773-773.

- ❖ Casp, A., y Abril , J. (1999). *Procesos de Conservación de Alimentos*. Madrid,España: Mundi-Prensa.

- ❖ Castro Martínez, R., Pratt , D., y Miller, E. (1986). Natural antioxidants of chia seeds. En, Proceedings of the World Conference on Emerging Technologies,
- ❖ Cert, A. (2000). Review: Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *Journal of Chromatography A.*, 881, 131-148.
- ❖ Chibnall, A., Piper, S., y Williams, E. (1953). Further observations on phrenosinic acid. *Biochem Journal*, 55, 707-711.
- ❖ CODEX STAN 210-1999. (2013). NORMA DEL CODEX PARA ACEITES VEGETALES ESPECIFICADOS. Codex Alimentarius.
- ❖ Criado, D., & Moya, M. (2009). Vitaminas y Antioxidantes . En, Servicio de Medicina Interna y Urgencias Hospital Puerta de Hierro (Ed), Actualizaciones El Medico (04-19). Madrid, España.
- ❖ Devlin, T. (2004). Bioquímica: Libro de texto con aplicaciones clínicas. Barcelona, España: Ed. Reverte.
- ❖ Drago, M., López, M., y Sainz, T. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Rev. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37, 4, 58-68.
- ❖ Farhoosh, R. (2007). Shelf-life prediction of edible fats and oils using Rancimat. *Lipid Technology*, 19 (10), 232-234.
- ❖ Fernandez, P., y Cabral, J. (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. En, Feria Internacional de la Alimentación, Rosario, Argentina.
- ❖ Frankel, E. (2005). *Lipid Oxidation*. Bridgewater,UK. *The Oily Press*
- ❖ Frankel , N. (1998). *Lipid Oxidation*. Bridgewater, UK. *The Oily Press*.
- ❖ Garcia-Ochoa F. (1989). Modeling of the Thermal n-Octane Oxidation in the Liquid Phase. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 28, 43–48.
- ❖ Gordon, M. (2001). Measuring antioxidant activity. En, Pokorny J., Yanishlieva N., y Gordon M. (Eds), *Antioxidant in food*. Cambridge: Woodhead Publihing Ltd.
- ❖ Heldmann, D., y Lund , D. (1992). *Handbook of Food Engineering* (Primera edición). EEUU: Marcel Dekker.
- ❖ Hicks, S. (1966). *Desert plants and people*. Naylor Company. San Antonio, USA.
- ❖ INTERFAT. (2012). *INTERFAT- Natural Oils*. Recuperado de: www.interfat.com
- ❖ Ixtaina, V. Y. (2010). *Caracterización de la semilla y el aceite de chía (Salvia Hispánica L.) obtenido mediante distintos procesos y aplicación en tecnología de alimentos*. Buenos Aires.
- ❖ Jaramillo Garcés, Y. (2013). *La chía (Salvia hispanica L.), una fuente de nutrientes para el desarrollo de alimentos*. Caldas, Chile.
- ❖ Karpinska-Tymoszczyk, M., Danowska-Oziewicz, M., Borowski, J., y Bialobrzewski, I. (2011). The effect of different level of air steam saturation during cooking in the. *Food Science and Technology*, 17, 139-148.

- ❖ Kishimoto, S., Maoka, T., Nakayama, M., y Ohmiya, A. (2004). Carotenoid composition in petals of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*). *Phytochem*, 65, 2781-2787.
- ❖ Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 177 -187.
- ❖ Lin, K., Daniel, J., y Whistler, R. (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carbohydr Polym*, 13 -18.
- ❖ Liu, W., Stephen, I., y Chen, B. (2007). Analysis and formation of trans fatty acids in hydrogenated soybean oil during heating. *Food Chemistry*, 104, 1740-1749.
- ❖ López Lucero, L. (2010). Caracterización de distintas variedades de linaza (*Linum usitatissimum L.*) mediante la determinación del contenido de materia grasa y perfil lipídico (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile-Facultad de Ciencias Agrarias: Escuela de Ingeniería en Alimentos, Valdivia - Chile.
- ❖ Makris, D., y Re., J. (2001). Comparison of quercetin and a non-ortho-hydroxy flavonol as antioxidants by competing in vitro oxidation reactions. *Journal of agricultural and food*, 49(7), 3370 - 3377.
- ❖ Martínez-Flores, S., González-Gallego, J., Culebras, J., y Tunón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrition Hospitalaria*, (6), 271-278.
- ❖ Mattila, P., y 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. (2003). Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *Journal Nutrition*, 133, 933-940.
- ❖ Méndez, E., Sanhueza , J., Speisky , H., y 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.
- ❖ Miranda F. (1978). La vegetación de Chiapas. Primera parte. En, Departamento de Prensa y Turismo (Ed), 311 - 312. Tuxtla , México: Ediciones del Gobierno.
- ❖ Moreau, R., y An, K.-E. (2009). *Gourmet and Health-Promoting Specialty Oils*.
- ❖ Nakatani , N., Tachibana , Y., 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.
- ❖ 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* (Tesis Doctoral). Universidad de Castilla-La Mancha, Ciudad Real, España.
- ❖ Parada Caro, E. (2005). *Caracterización del Aceite y la Fibra Dietética Obtenidos a Partir de Semilla de Arándano (*Vaccinium corymbosum L.*)*. Valdivia, Chile.
- ❖ Porter, N., Caldwell, S., y Mills, K. (1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipid. *Lipids*, 30, 277-290.

- ❖ Prior, R., Wu , X., y Schaich, K. (2005). Standarized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290 - 4302.
- ❖ Ramos, C., y 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, 61-76.
- ❖ Rodríguez Vallejo, J. (1992). Historia de la agricultura y de la fitopatología, con referencia especial a México.Ciudad de México, México: Colegio de Post-graduados en Ciencias Agrícolas.
- ❖ Salazar, M., Belén , D., Marín , G., y Moreno , H. (2007). Oxidation Kinetics of the Oil of the Coroba Palm (*Attalea maripa*), 2: 172-182.
- ❖ Sayago, A., Marin, M., Aparicio, R., y Morales , M. (2007). Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites*,58 (1),74-86.
- ❖ Schaich, K. (2005). Lipid oxidation in fats and oils an integrated view. *In: Shahidi, F* (6th ed John Wiley ed.). New York: Bailey’s Industrial Fats and Oils.
- ❖ Schaich, K., Shahidi, F., Zhong, Y., y Eskin, M. (2013). Lipid Oxidation. *Biochemistry of Foods*, 419-478.
- ❖ Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Santa fe de Bogotá, Colombia: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, 247pp.

- ❖ Silva, L., Pinto, J., Carrola, J., y Paiva- Martins, F. (2010). Oxidative stability of olive oil after food processing and comparison with other vegetable oils. *Food Chemistry*, 121, 1177–1187.
- ❖ Stambuk, J. (1970). *Manual práctico de cromatografía de gases*. Norwalk., Estados Unidos: Perkin-Elmer Corporation, 40 p.
- ❖ Taga, M., Miller, E., y Pratt, D. (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal Am Oil Chem Soc*, 61, 928-931.
- ❖ Tecante, A. (2010). *Comunicación Personal*.
- ❖ Ting, I., Brown, J., Naqvi, J., Kumamoto, J., y matsumura, M. (1990). Chia: a potential oil crop for arid zones. HH Naqvi, A Estilai and IP Ting, *Proceedings of the First International Conference on New Industrial Crops and Products*. 197 - 202. Riverside, USA:
- ❖ Tironi, V. (2005). Rancidez oxidativa en salmón de mar (*Pseudopercis semifasciata*). Interacción lípidos oxidados – proteínas (Tesis Doctoral). Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP), La Plata, Argentina.
- ❖ Toledo, R. (1991). *Fundamentals of Food Process Engineering* (Segunda edición ed.). New York, USA: AV.
- ❖ Tur, J. (2004). Los antioxidantes en la dieta mediterránea. *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria*, 10(4), 1987-207.

- ❖ Valente, T., Hidalgo , J., Bolea , I., Ramirez, B., Angles , N., Reguant , J. y 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)*, 1 -12, Madrid.
- ❖ Vargas, A., y Bottia, E. (2008). Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolívar y El Peñón – Santander, Colombia.
- ❖ Villanueva, E., y Castillo, D. (2013). Influencia de los parámetros Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa del aceite de *Sesamum indicum L.* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Santa, Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Chimbote, Perú.
- ❖ Wilbey, R. (1997). Estimating shelf life. *International Journal of Dairy Technology*, 50 (2), 64 - 67.
- ❖ Young , I., y Woodside , J. (2001). Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.*, 54, 176 – 186.
- ❖ Young , J., Wang , X., y Morris , M. (2006). Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolismo. *Toxicology in Vitro*, 20, 187–210.
- ❖ Zamorano, M., Martínez, S., y Medel, J. (2013). Comportamiento del perfil de ácidos grasos de aceites y materias grasas hidrogenadas sometidos a calentamiento prolongado. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo.*

VIII. ANEXOS

ANEXOS

ANEXO 01:

Procedimiento Experimental

- Acondicionamiento (Pesado y limpieza) de semillas de Salvia Hispánica L.



- Extracción por prensado

en frío



Prensa SEW-
EURODRIVE Modelo
FA57/G



Torta residual



Aceite + impurezas

- Centrifugación



3600rpm /20 minutos



Aceite Virgen

- Almacenamiento:

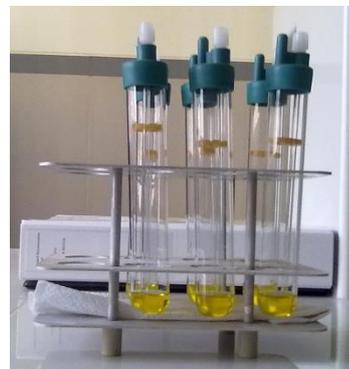
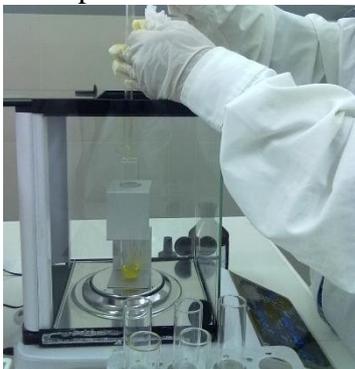


Atmósfera de Nitrógeno

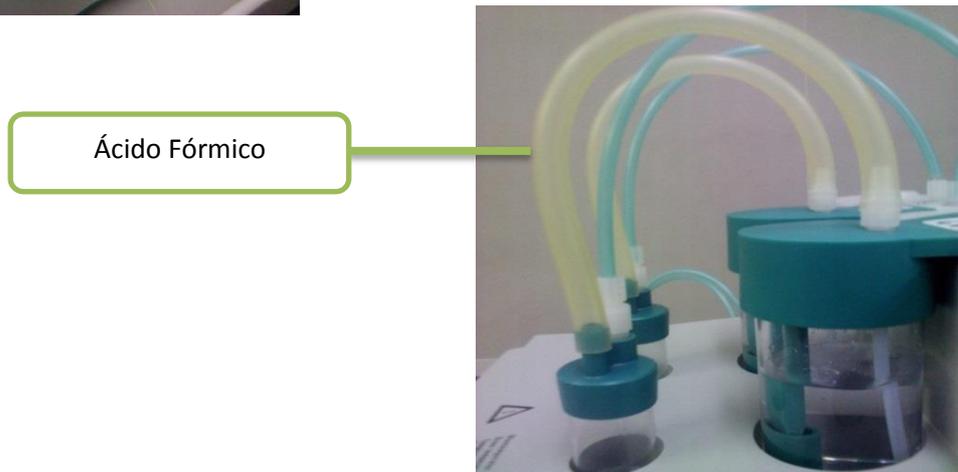
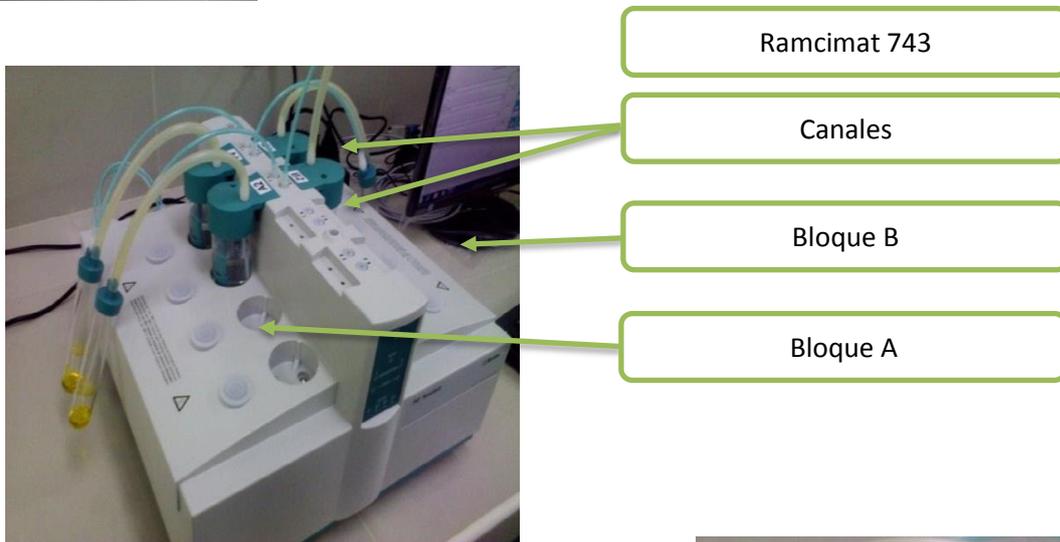
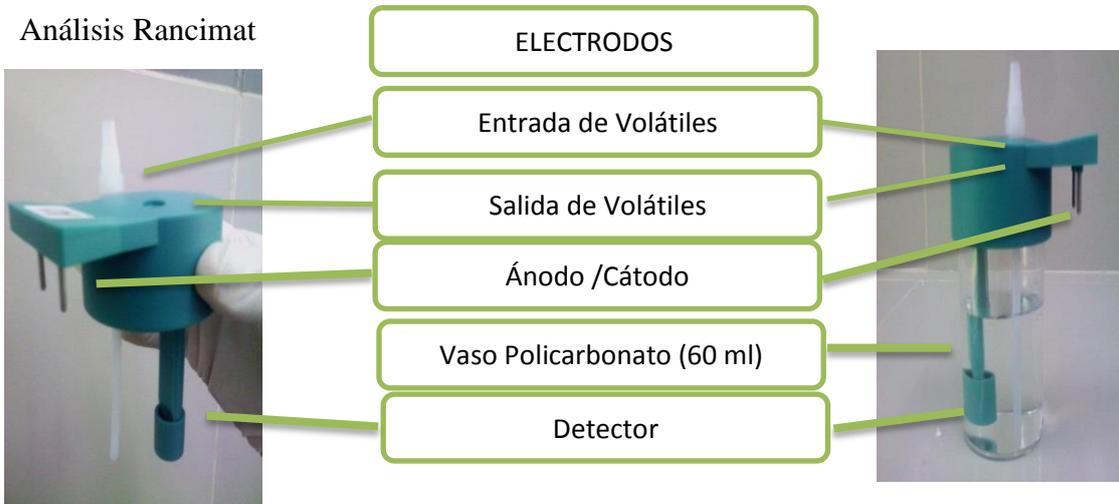
Frasco Oscuro

Refrigeración 4°C

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



- Análisis Rancimat



ANEXO N 02

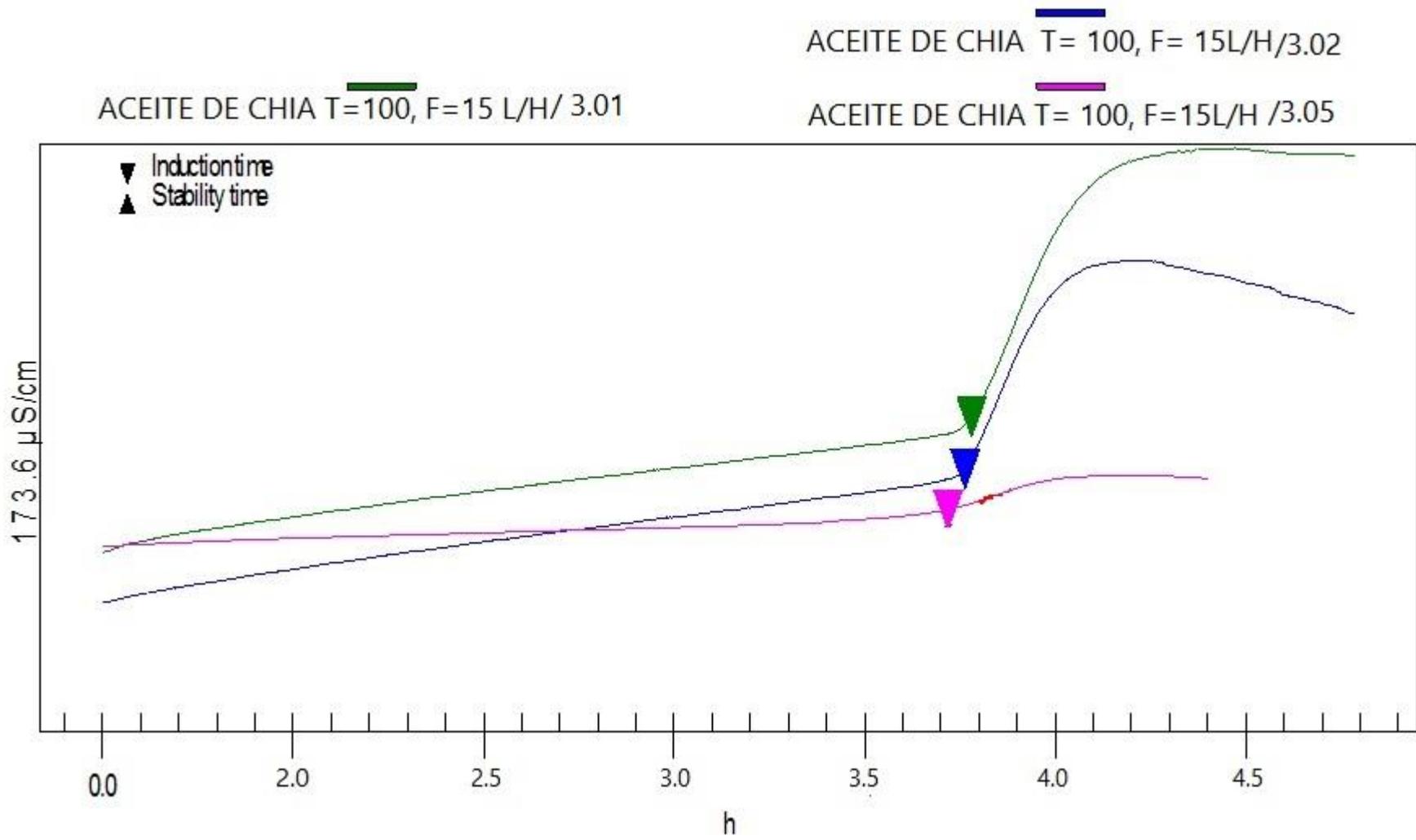
Índice de Estabilidad Oxidativa en Aceite de Salvia Hispánica L.

Los resultados del cuadro 4 muestra que todos los tratamientos tienden a un ligero aumento de los valores de OSI como respuesta al incremento en el flujo de aire.

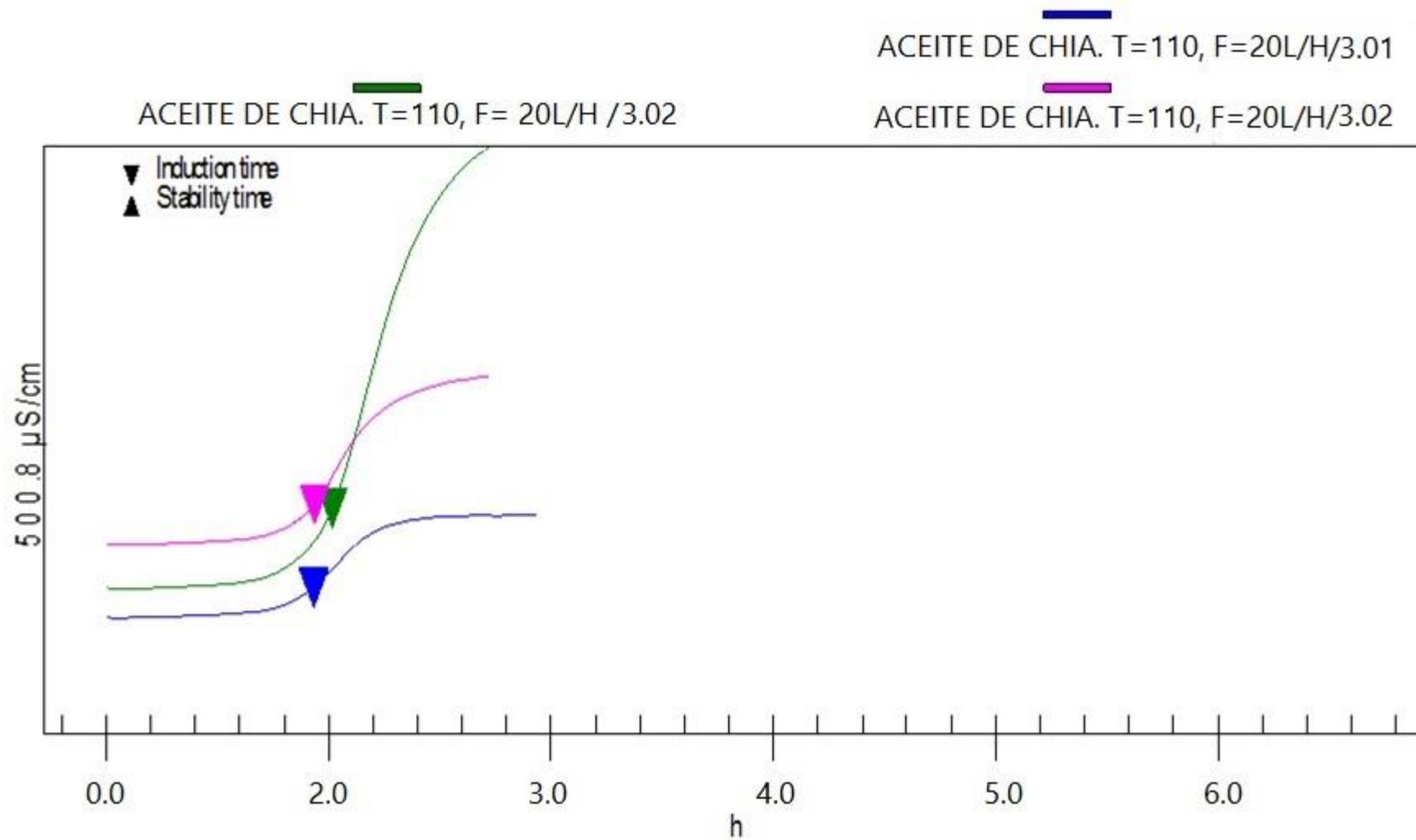
Tabla 15: *Índices de Estabilidad Oxidativa del aceite de Salvia Hispánica L.*

Flujo de Aire	Temperatura		
	T= 100°C	T= 110°C	T=120°C
F=15L/H	3.59 h.	1.83 h.	0.51 h.
	3.61 h.	1.83 h.	0.5 h.
	3.59 h.	1.82 h.	0.53 h.
F=20L/H	3.65 h.	1.85 h.	0.5 h.
	3.6 h.	1.84 h.	0.51 h.
	3.66 h.	1.84 h.	0.5 h.
F=25L/H	3.75 h.	1.88 h.	0.48 h.
	3.76 h.	1.92 h.	0.48 h.
	3.76 h.	1.88 h.	0.47 h.

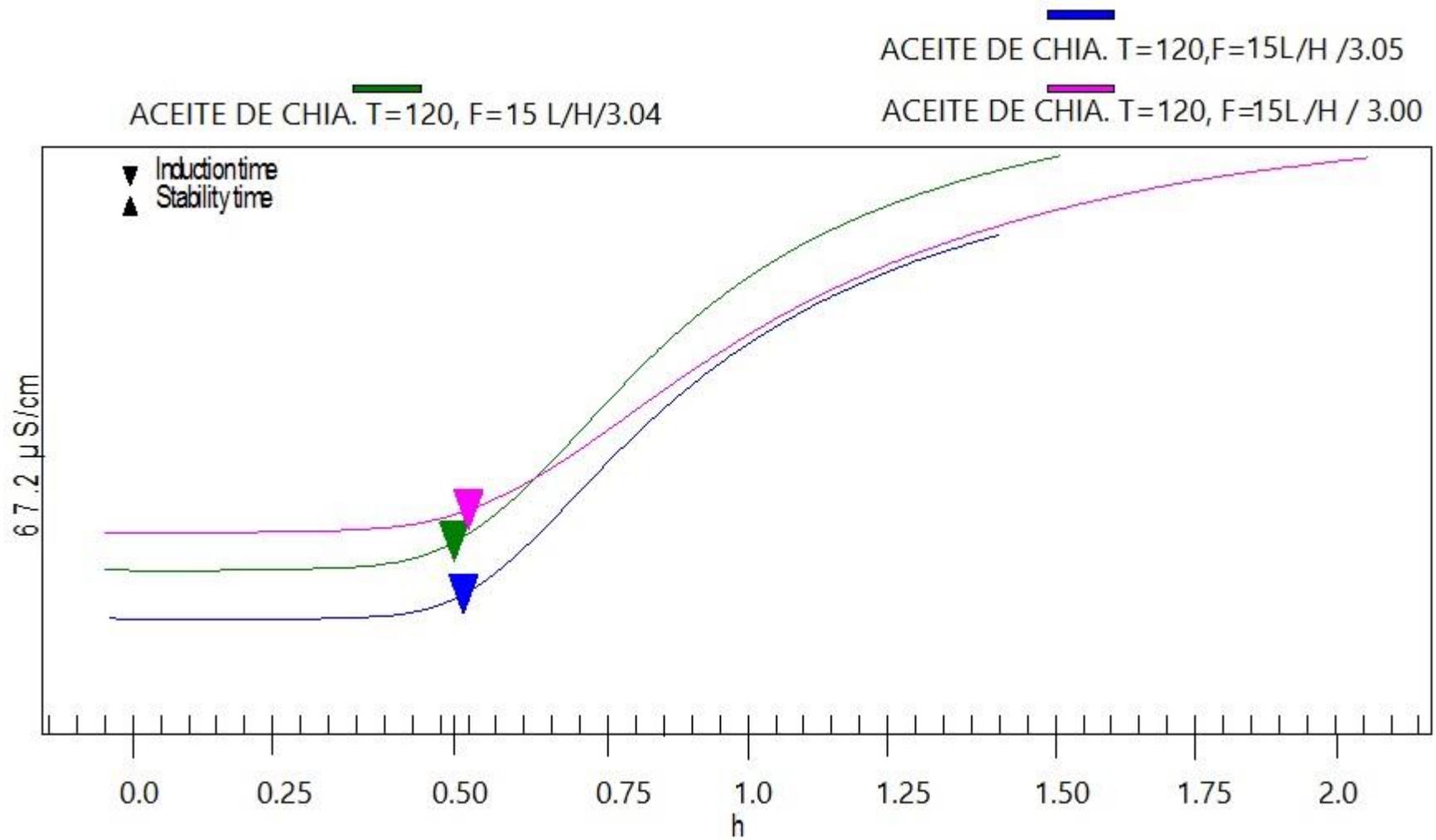
A continuación se muestran las curvas Rancimat, conductividad ($\mu\text{s/cm}$) vs tiempo (h), que evidencian el efecto de las condiciones experimentales de temperatura y flujo de aire sobre los valores de OSI para el aceite virgen de la semilla de chía.



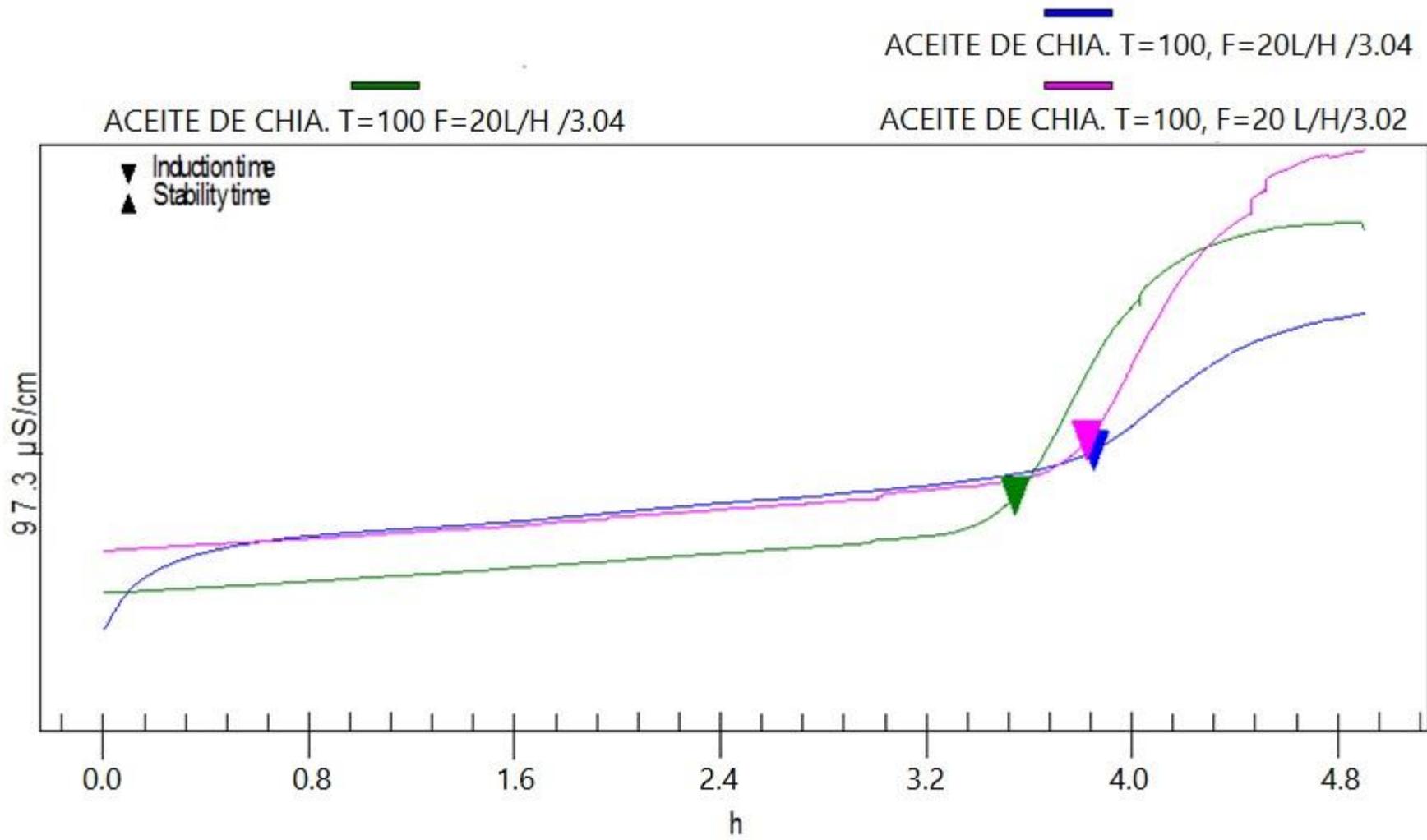
Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C y a flujo de aire de 15 L/H.



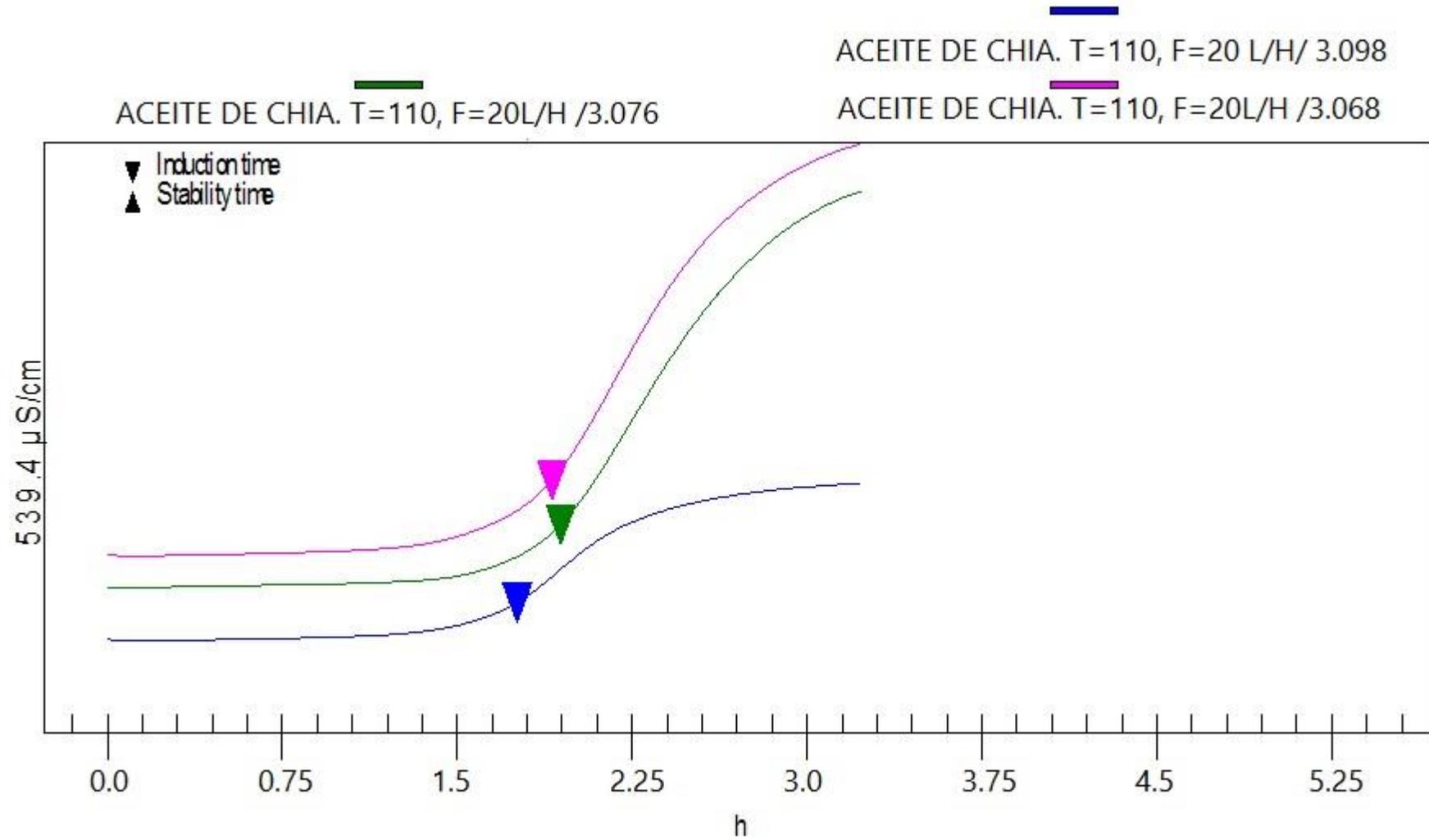
Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C y a flujo de aire de 15 L/H.



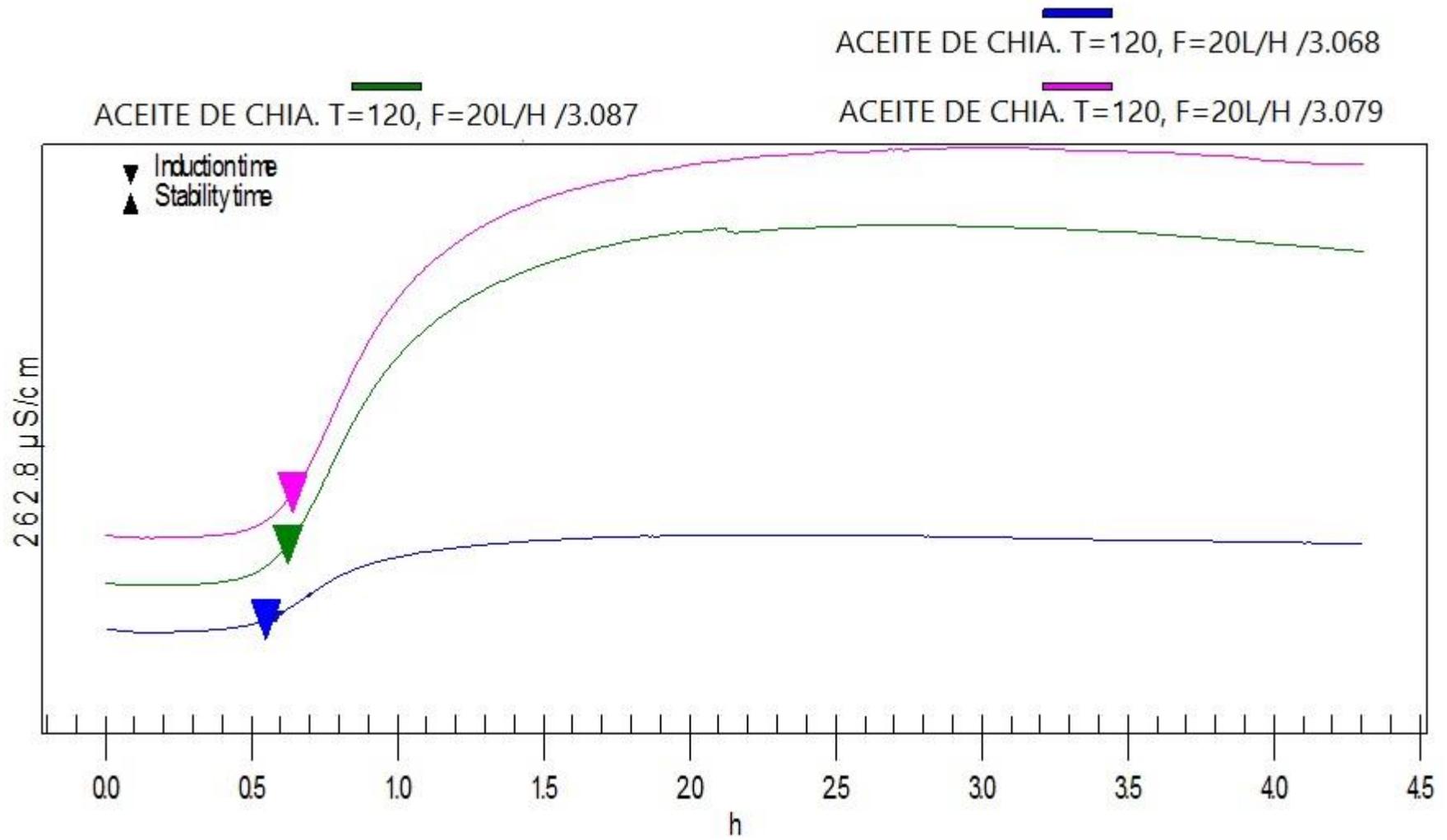
Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C y a flujo de aire de 15 L/H.



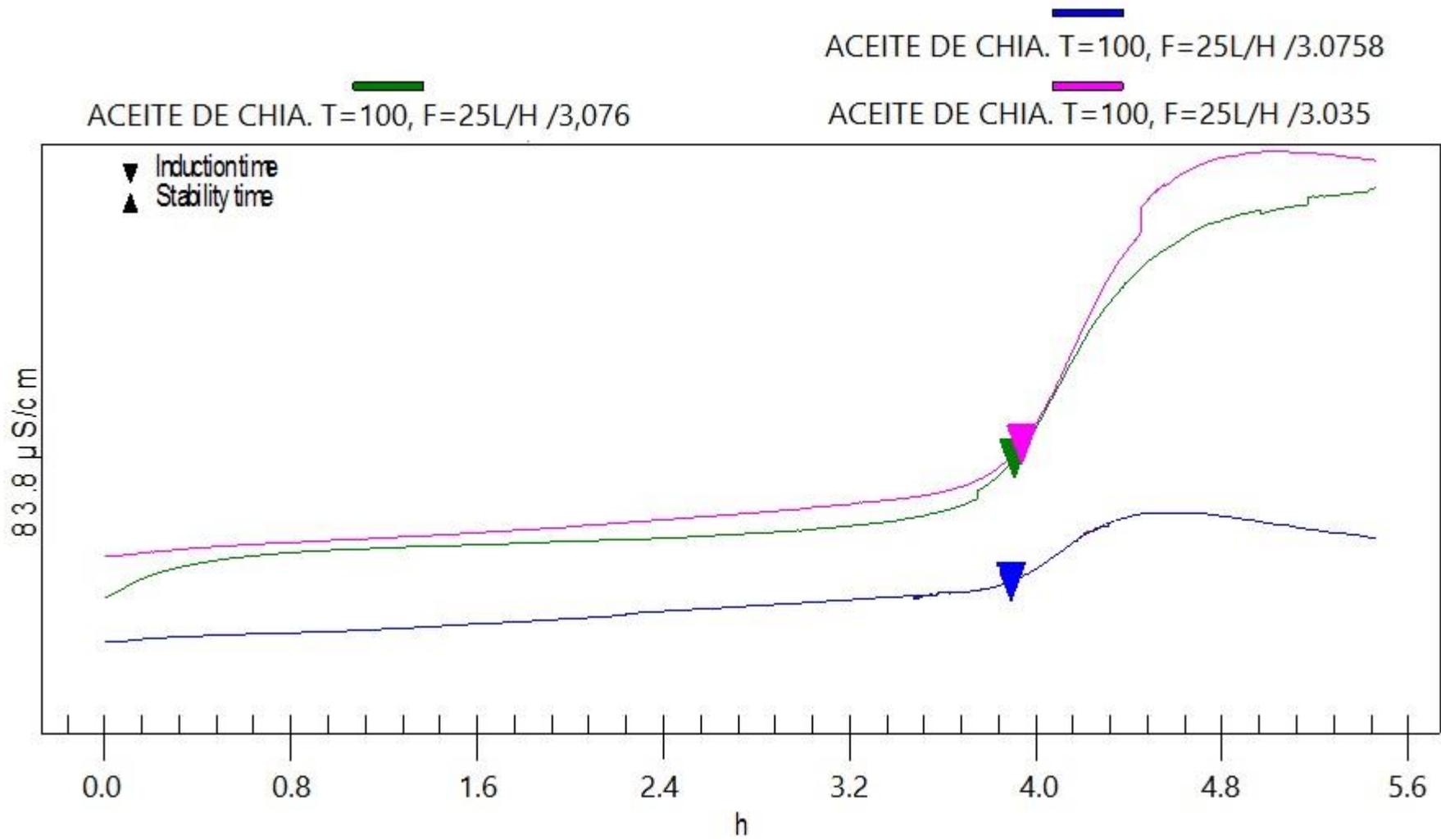
Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C y a flujo de aire de 20 L/H.



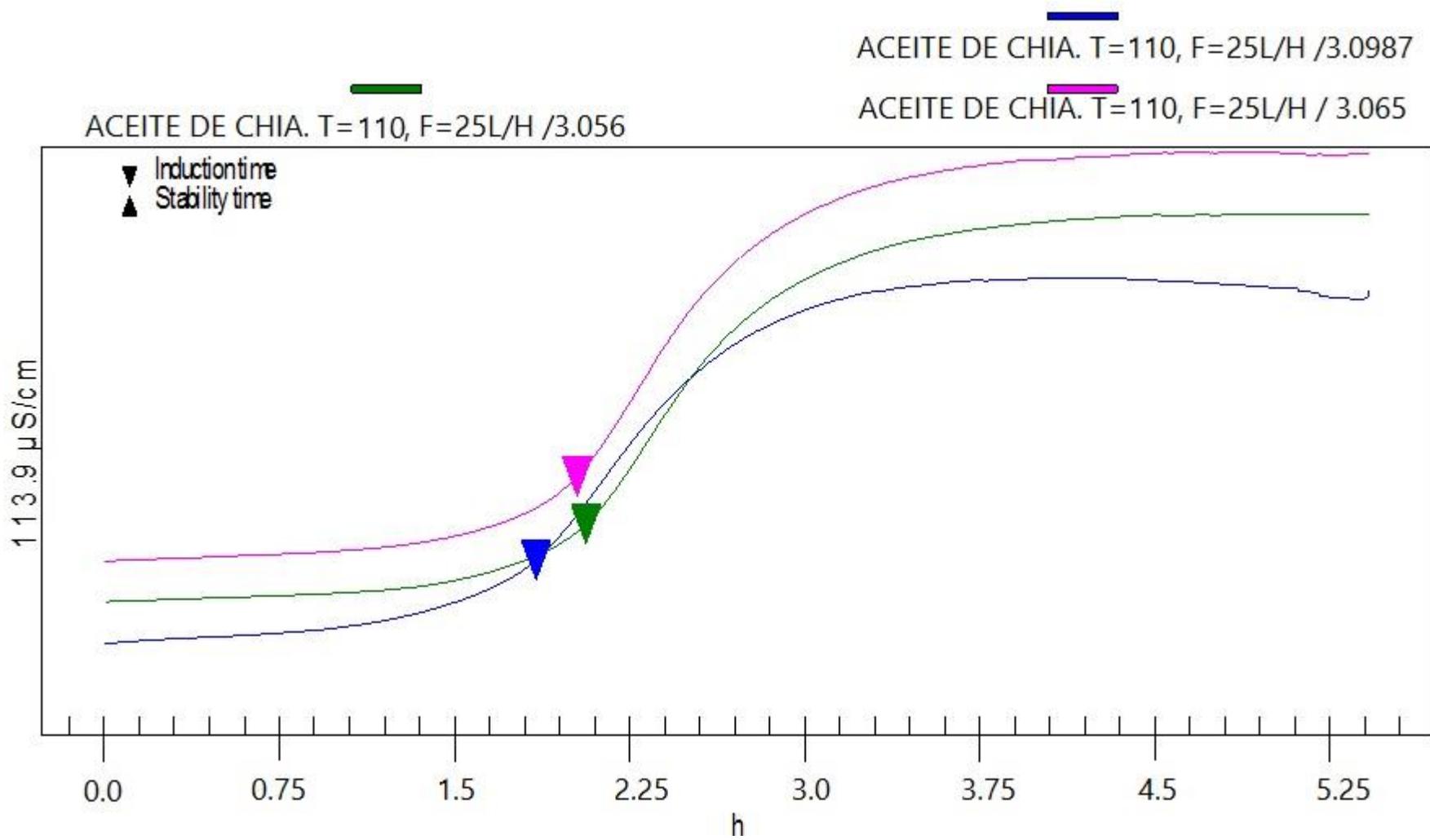
Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C y a flujo de aire de 20 L/H.



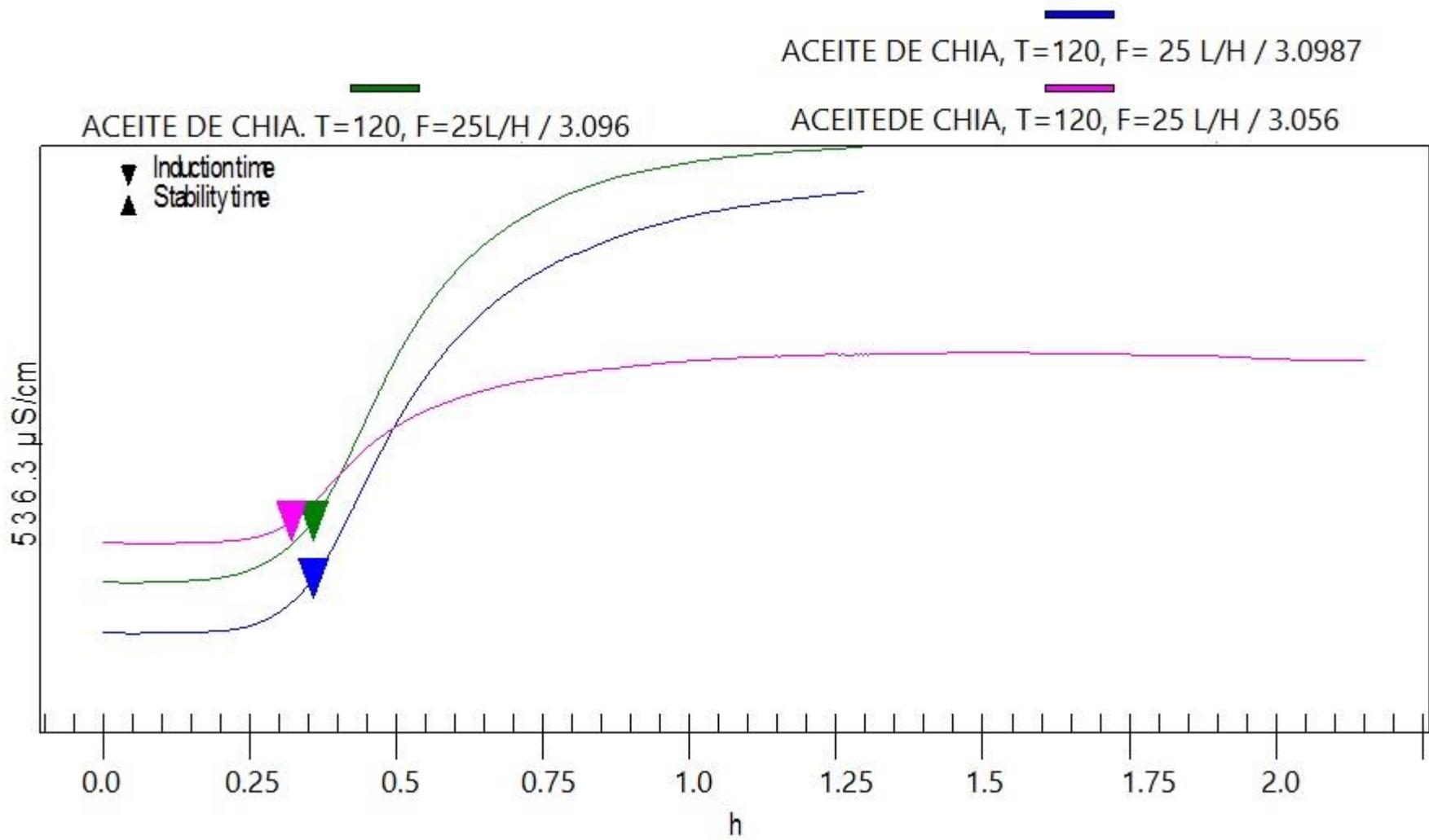
Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C y a flujo de aire de 20 L/H.



Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C y a flujo de aire de 25 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 120°C y a flujo de aire de 25 L/H.

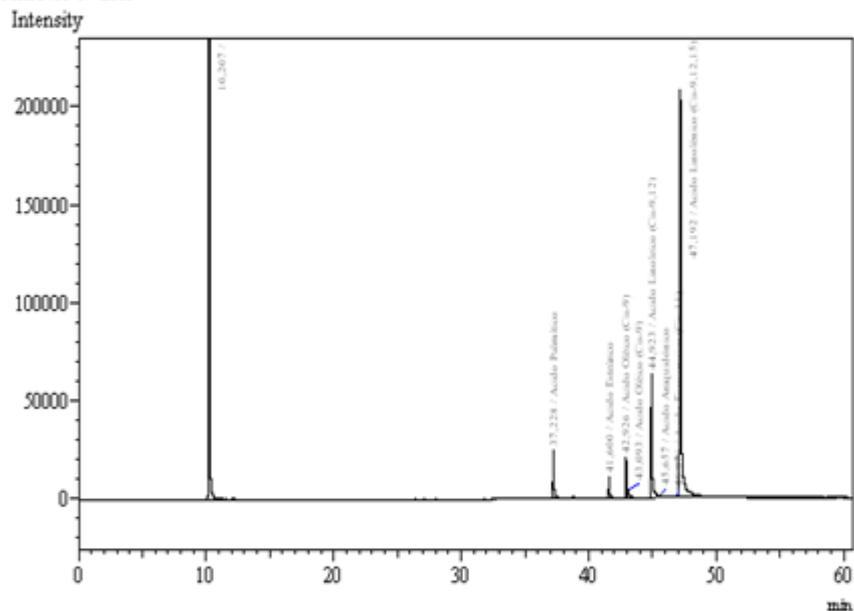
ANEXO N 03

Comportamiento del perfil lipídico

Los resultados de las imágenes muestran el comportamiento del perfil lipídico del aceite de chía con respecto a los tratamientos de temperatura y flujo de aire del Equipo Rancimat.

Analysis Date & Time : 16/07/2015 13:46:18
 User Name : Admin
 Vial# : 4
 Sample Name : CHIA 16-07-2015
 Sample ID : CHIA 16-07-2015
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\CHIA 16-07-2015.gcd
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm
 [Description]
 CHIA 16-07-2015

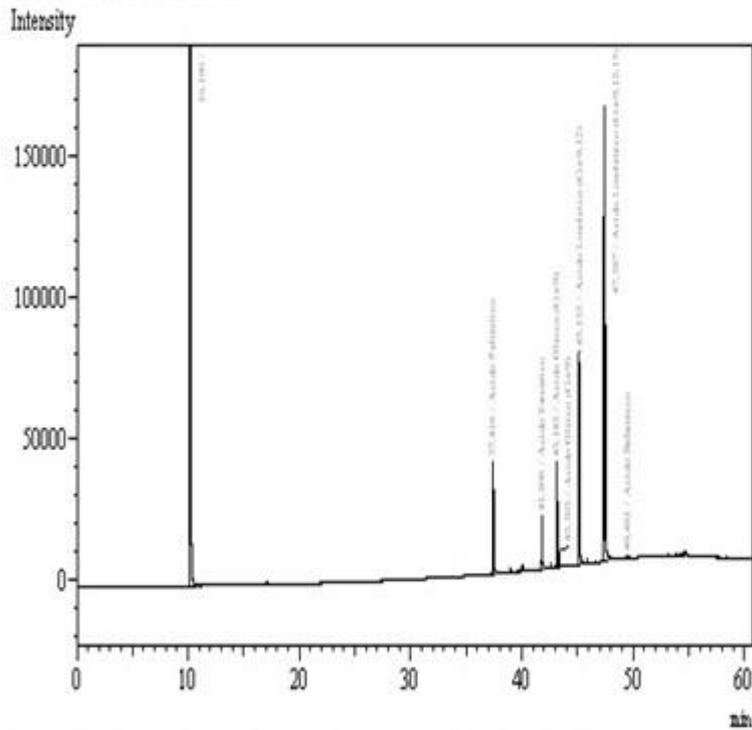


Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	ID#	Compd Name
1	10.207	158929578	63798988	0,000		SV		
2	37.228	173039	24473	5,775	%	SV	11	Acido Palmítico
3	41.600	74462	10950	2,449	%	S	14	Acido Estearico
4	42.926	106450	20701	3,476	%	V	16	Acido Oléico (Cis-9)
5	43.093	49406	4690	1,613	%	V	16	Acido Oléico (Cis-9)
6	44.923	395053	62614	14,738	%		18	Acido Linoleico (Cis)
7	45.657	3097	754	0,107	%		19	Acido Araquidónico
8	46.876	1867	394	0,063	%		20	Acido Eicosanoico (T)
9	47.192	1690176	207338	71,777	%	S	21	Acido Linoléico (Ci)
Total		161423128	64130902					

Comportamiento del Ácido Linoléico del Aceite de Salvia Hispánica L. sin ningún Tratamiento

Analysis Date & Time : 10/12/2014 11:27:41
 User Name : Admin
 Vial# : 2
 Sample Name : aceite de chia 100 C 15 L/h
 Sample ID : laceite de chia 100 C 15 L/h
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\CHIA-ESTRADA TALEXCIO\100C--15LH.gol
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm
 [Description]
 aceite de chia Tesis Estrada-Estrada

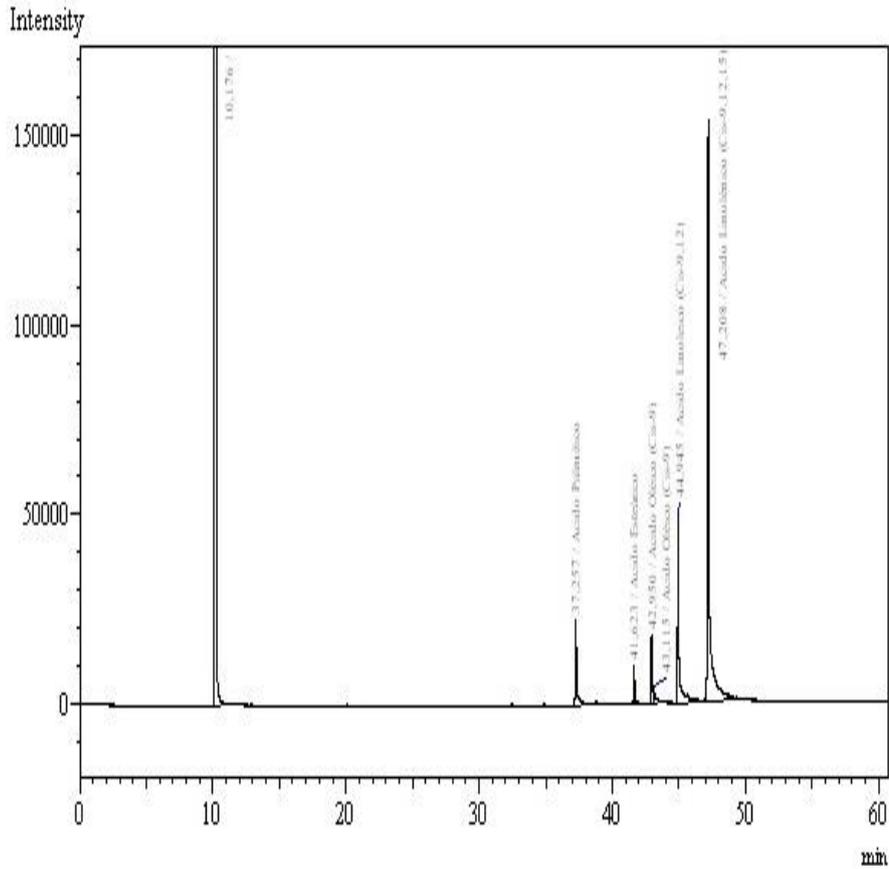


Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	ID#	Comod Name
1	10.190	158751455	64631062	0.000		S		
2	37.416	191353	39454	2.286	%		11	Acido Palmítico
3	41.806	89530	19183	2.282	%		14	Acido Estearico
4	43.143	169324	37373	6.040	%		16	Acido Oléico (Cis-9)
5	43.303	43179	5807	0.050	%	V	16	Acido Oléico (Cis-9)
6	45.135	375941	74199	20.395	%		18	Acido Linoleico (Cis)
7	47.387	897858	160373	70.055	%	SV	21	Acido Linolénico (Ci)
8	49.481	10282	1184	0.301	%		22	Acido Dodecanoico
Total		160529423	64968635					

Comportamiento del Ácido Linolénico a temperatura de 100°C y a flujo de aire de 15 L/H.

Analysis Date & Time : 27/03/2015 9:06:56
 User Name : Admin
 Vial# : 1
 Sample Name : 27-03-15 Ac. Chia F1T2.
 Sample ID : 27-03-15 Ac. Chia F1T2.
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\27-03-15 Ac. Chia F1T2.gcd
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm
 [Description]
 27-03-15 Ac. Chia F1T2.

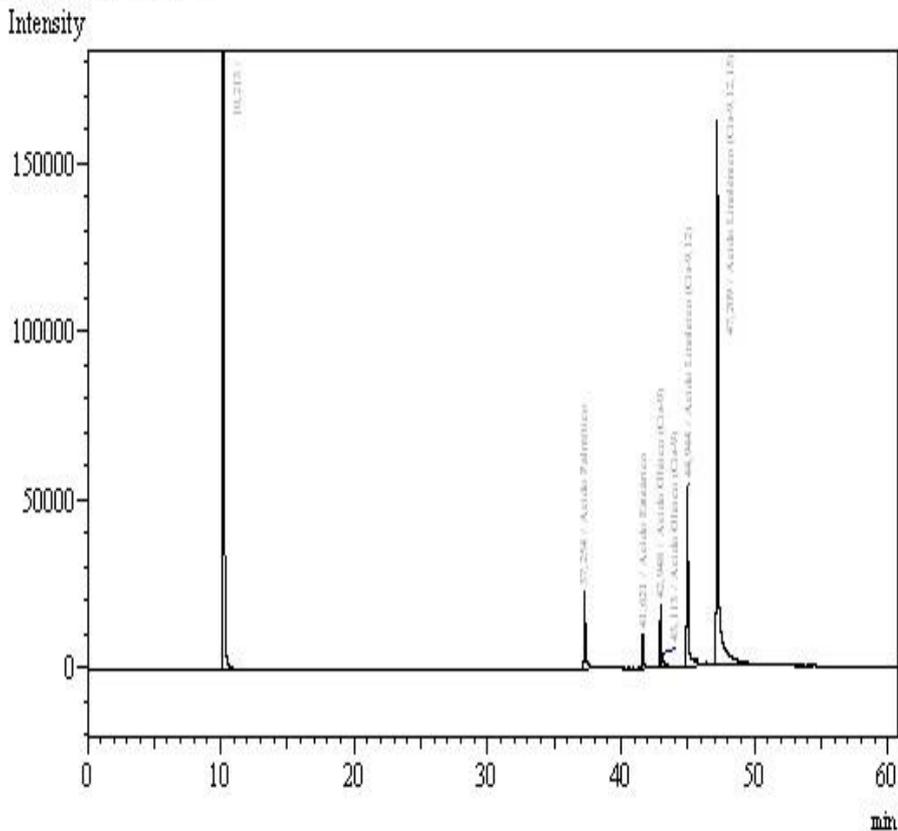


Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	ID#	Cmpd Name
1	10,176	130568604	52475787	0,000		S		
2	37,257	149221	22630	5,848	%		11	Acido Palmítico
3	41,623	63034	10030	2,435	%	S	14	Acido Estearico
4	42,950	91182	18091	3,497	%		16	Acido Oleico (Cis-9)
5	43,115	46810	4397	1,795	%	V	16	Acido Oleico (Cis-9)
6	44,945	396845	50817	17,386	%	S	18	Acido Linoleico (Cis-9)
7	47,208	1384411	152655	69,039	%	S	21	Acido Linoleico (Cis-9,12,15)
Total		132700107	52734407					

Comportamiento del Ácido Linolénico a temperatura de 110°C y a flujo de aire de 15 L/H.

Analysis Date & Time : 27/03/2015 10:19:37
 User Name : Admin
 Vial# : 1
 Sample Name : 27 -03-15 Ac. Chia F1T3.
 Sample ID : 27 -03-15 Ac. Chia F1T3.
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\27 -03-15 Ac. Chia F1T3.gcd
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm
 [Description]
 27 -03-15 Ac. Chia F1T3.

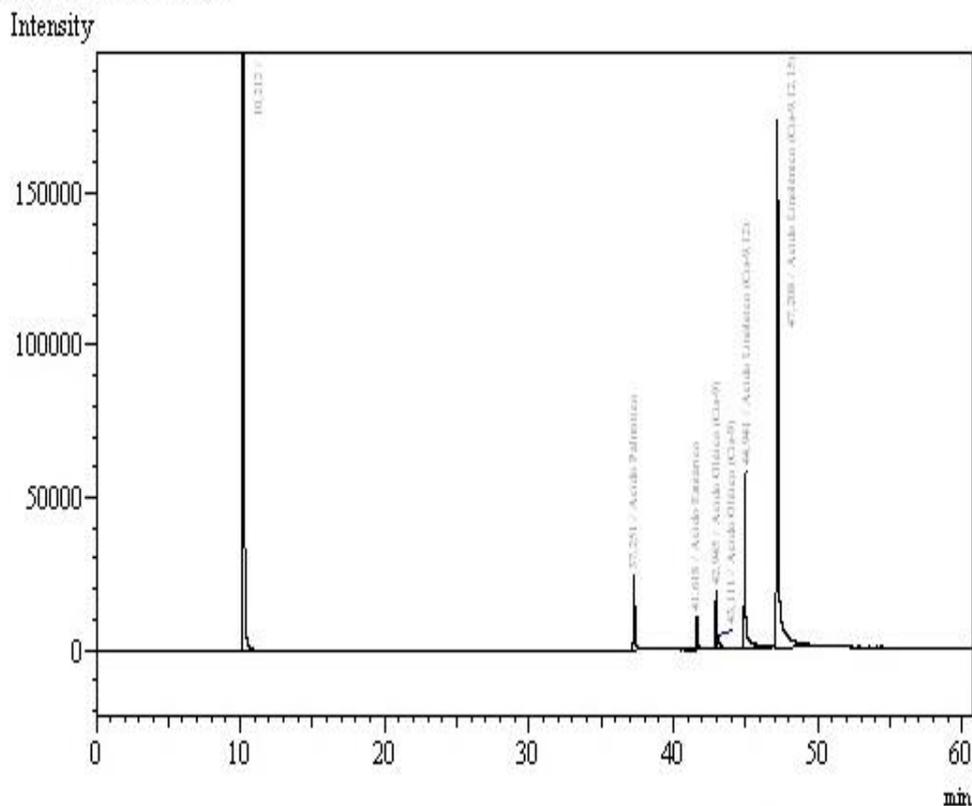


Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark ID#	Cmod Name
1	10.213	125320185	50578548	0.000		S	
2	37.254	150228	23067	5.689 %		S	11 Acido Palmítico
3	41.621	58393	10165	2.179 %			14 Acido Esteárico
4	42.948	91916	18310	3.406 %			16 Acido Oléico (Cis-9)
5	43.113	45994	4403	1.704 %		V	16 Acido Oléico (Cis-9)
6	44.944	406907	52707	17.224 %		S	18 Acido Linoleico (Cis)
7	47.209	1448657	161283	69.799 %		S	21 Acido Linolénico (Cis)
Total		127522280	50848483				

Comportamiento del Ácido Linolénico a temperatura de 120°C y a flujo de aire de 15 L/H.

Analysis Date & Time : 27/03/2015 13:40:38
 User Name : Admin
 Vial# : 1
 Sample Name : 27 -03-15 Ac. Chia F2T1.
 Sample ID : 27 -03-15 Ac. Chia F2T1.
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\27 -03-15 Ac. Chia F2T1.gcd
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm
 [Description]
 27 -03-15 Ac. Chia F2T1.

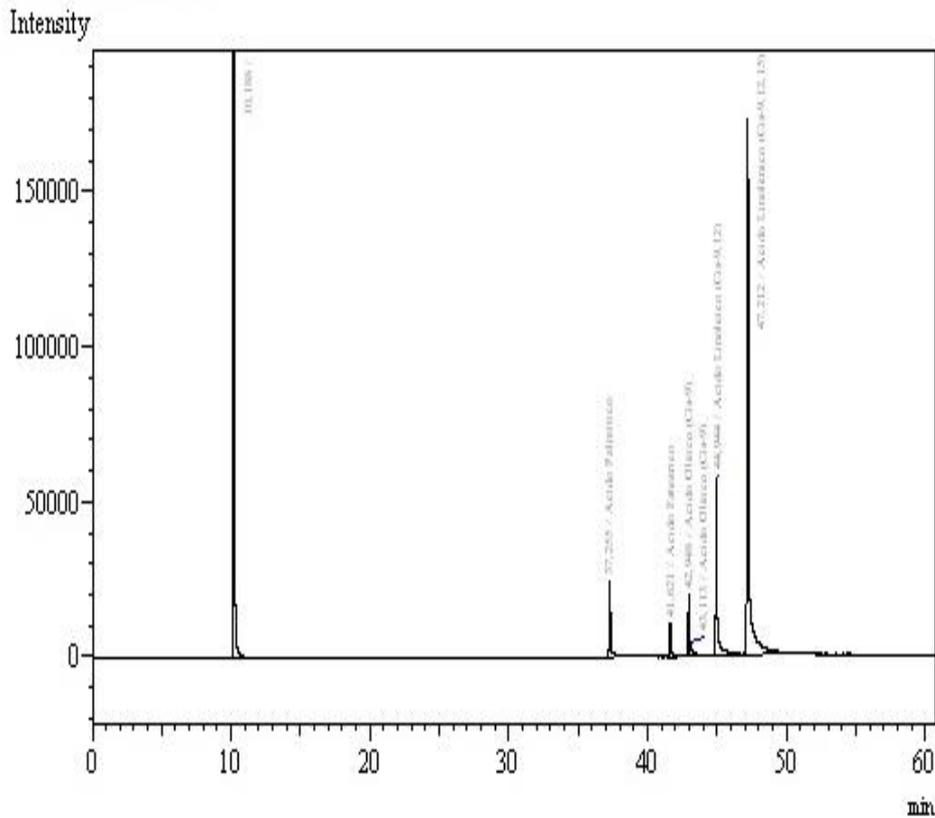


Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	ID#	Compd Name
1	10.212	124808871	50379011	0.000		S		
2	37.251	139749	24060	5.342 %			11	Acido Palmítico
3	41.618	58583	10570	2.207 %			14	Acido Esteárico
4	42.945	94707	19291	3.542 %			16	Acido Oléico (Cis-9)
5	43.111	39902	4243	1.492 %	V		16	Acido Oléico (Cis-9)
6	44.941	400320	55855	17.105 %	S		18	Acido Linoleico (Cis-9)
7	47.208	1445642	172514	70.312 %	S		21	Acido Linolénico (Ci
Total		126967774	50005344					

Comportamiento del Ácido Linolénico a temperatura de 100°C y a flujo de aire de 20 L/H.

Analysis Date & Time : 27/03/2015 11:25:03
 User Name : Admin
 Vial# : 1
 Sample Name : 27 -03-15 Ac. Chia F2T2.
 Sample ID : 27 -03-15 Ac. Chia F2T2.
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\27 -03-15 Ac. Chia F2T2. gcd
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm
 [Description]
 27 -03-15 Ac. Chia F2T2.

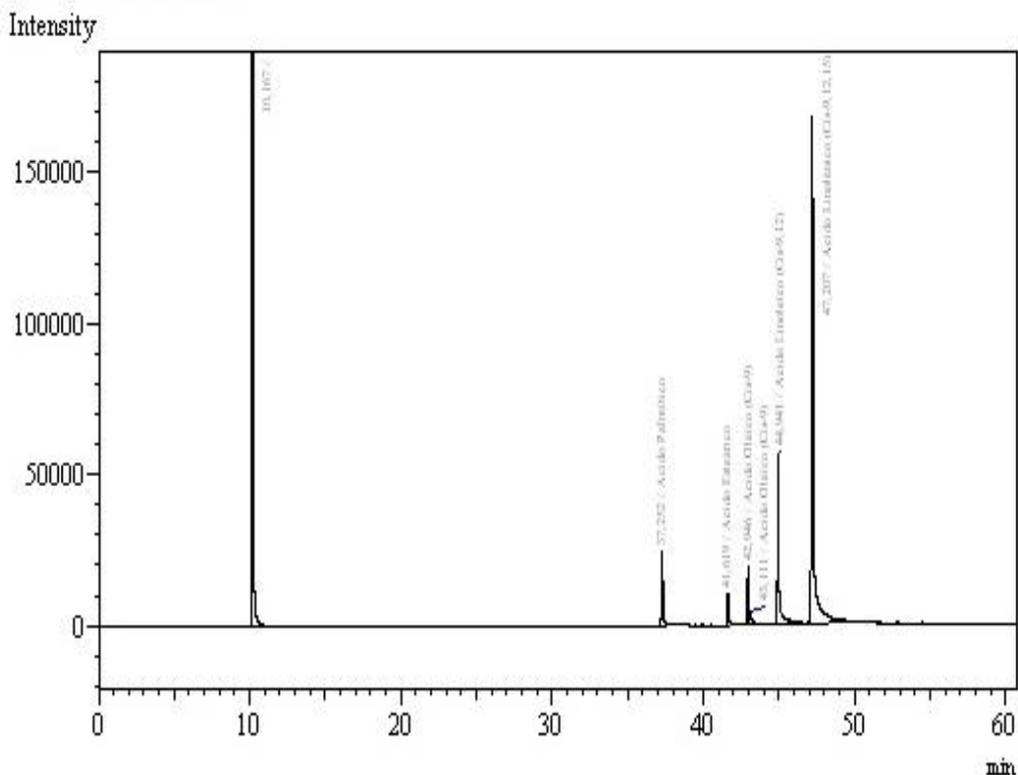


Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	ID#	Cmd Name
1	10.188	128522880	51428038	0.000		S		
2	37.255	154794	24495	5.594 %			11	Acido Palmítico
3	41.621	69889	10793	2.489 %	S		14	Acido Esteárico
4	42.948	97366	19521	3.443 %			16	Acido Oléico (Cis-9)
5	43.113	46616	4565	1.648 %	V		16	Acido Oléico (Cis-9)
6	44.944	424540	56264	17.149 %	S		18	Acido Linoleico (Cis-
7	47.212	1515310	172323	69.677 %	S		21	Acido Linolénico (Ci
Total		128821295	51715999					

Comportamiento del Ácido Linolénico a temperatura de 110°C y a flujo de aire de 20 L/H.

Analysis Date & Time : 27/03/2015 12:29:53
 User Name : Admin
 Vial# : 1
 Sample Name : 27-03-15 Ac. Chia F2T3.
 Sample ID : 27-03-15 Ac. Chia F2T3.
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\27-03-15 Ac. Chia F2T3.gcd
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm
 [Description]
 27-03-15 Ac. Chia F2T3.



Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	ID#	Comod Name
1	10.167	130898006	52824585	0.000		S		
2	37.252	150018	24280	5.730 %			11	Acido Palmítico
3	41.619	60089	10605	2.262 %			14	Acido Estearico
4	42.946	95127	19268	3.555 %			16	Acido Oléico (Cis-9)
5	43.111	41799	4332	1.562 %	V		16	Acido Oléico (Cis-9)
6	44.941	402454	55117	17.182 %	S		18	Acido Linoleico (Cis-18)
7	47.207	1434400	167548	69.709 %	S		21	Acido Linoléico (Cis-18)
Total		135081893	33103753					

Comportamiento del Ácido Linolénico a temperatura de 120°C y a flujo de aire de 20 L/H.

ANEXO N 04

Determinación del Índice de Estabilidad Oxidativa Extrapolado a 23°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:

- $\text{Log}(3.60) = A(100) + B \dots \dots \dots (3)$

- $\text{Log}(1.83) = A(110) + B \dots \dots \dots (4)$

- $\text{Log}(0.51) = A(120) + B \dots \dots \dots (5)$

✓ Para Flujo de 20 L/H:

- $\text{Log}(3.64) = A(100) + B \dots \dots \dots (6)$

- $\text{Log}(1.84) = A(110) + B \dots \dots \dots (7)$

- $\text{Log}(0.50) = A(120) + B \dots \dots \dots (8)$

✓ Para Flujo de 25 L/H:

- $\text{Log}(3.76) = A(100) + B \dots \dots \dots (9)$

- $\text{Log}(1.89) = A(110) + B \dots \dots \dots (10)$

- $\text{Log}(0.48) = A(120) + B \dots \dots \dots (11)$

Los valores de A y B para cada flujo de aire se encuentran en la tabla 9.

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

✓ Para Flujo de 15 L/H:

$$\blacksquare \text{Log(OSI)} = -0.0423T + 4.8272 \dots \dots \dots (12)$$

✓ Para Flujo de 20 L/H:

$$\blacksquare \text{Log(OSI)} = -0.0429T + 4.8970 \dots \dots \dots (13)$$

✓ Para Flujo de 25 L/H:

$$\blacksquare \text{Log(OSI)} = -0.0449T + 5.1082 \dots \dots \dots (14)$$

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 05

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:

$$\bullet \ln(3.60) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100} \quad (16)$$

$$\bullet \ln(1.83) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{110} \quad (17)$$

$$\bullet \ln(0.51) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{120} \quad (18)$$

✓ Para Flujo de 20 L/H:

$$\bullet \ln(3.64) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100} \quad (19)$$

$$\bullet \ln(1.84) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{110} \quad (20)$$

$$\bullet \ln(0.50) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{120} \quad (21)$$

✓ Para Flujo de 25 L/H:

$$\bullet \quad \text{Ln}(3.76) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100} \quad (22)$$

$$\bullet \quad \text{Ln}(1.89) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{110} \quad (23)$$

$$\bullet \quad \text{Ln}(0.48) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{120} \quad (24)$$

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

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

✓ Para Flujo de 15 L/H:

$$\ln(\text{OSI}) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + 14241.7 \frac{1}{T} \dots \dots \dots (25)$$

Entonces:

$$\frac{E_a}{Rg} = 14241.7$$

$$Rg = 8.3$$

$$E_a = (8.3 \times 14241.7)$$

$$E_a = 118206.11 \frac{J}{mol}$$

$$E_a = 118.41 \frac{KJ}{mol}$$

✓ Para Flujo de 20 L/H:

$$\ln(\text{OSI}) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + 14463.3 \frac{1}{T} \dots \dots \dots (26)$$

Entonces:

$$\frac{E_a}{Rg} = 14463.3$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 14463.3)$$

$$Ea = 120254.71 \frac{J}{mol}$$

$$Ea = 120.25 \frac{KJ}{mol}$$

✓ Para Flujo de 25 L/H:

$$\ln(\text{OSI}) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha^*)}{Z}\right) + 15096 \frac{1}{T} \dots \dots \dots (27)$$

Entonces:

$$\frac{E_a}{Rg} = 15096$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 15096)$$

$$Ea = 125515.27 \frac{J}{mol}$$

$$Ea = 125.52 \frac{KJ}{mol}$$