

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E  
INGENIERÍA DE ALIMENTOS**



**“SIMULACIÓN DE LA CINÉTICA DE OXIDACIÓN DE MANTECA  
MANPAN POR PRUEBAS ACELERADAS”**

**Tesis**

**Para optar el título de:**

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**CAROLINA BEATRIZ OSORIO IBARRA**

**Tingo María – Perú**

**Año 2013**



**Q04**

**O81**

**Osorio Ibarra, Carolina Beatriz**

Simulación de la cinética de oxidación de manteca MANPAN por pruebas aceleradas Tingo María, 2013

71 páginas; 16 cuadros; 15 figuras; 24 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero en Industrias Alimentarias) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

- |                    |                      |                            |
|--------------------|----------------------|----------------------------|
| <b>1. CINÉTICA</b> | <b>2. SIMULACIÓN</b> | <b>3. OXIDACIÓN</b>        |
| <b>4. MANTECA</b>  | <b>5. PERÓXIDO</b>   | <b>6. DIENOS Y TRIENOS</b> |



# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

Tingo María

## FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Av. Universitaria s/n. Teléfono (062) 561385 – Fax (062) 561156

Apart. Postal 156 Tingo María E.mail: [fiia@unas.edu.pe](mailto:fiia@unas.edu.pe)

---


### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 04 de Noviembre de 2013, a horas 6:40 p.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentada por la Bach. **OSORIO IBARRA, Carolina Beatriz**, titulada:

#### **“SIMULACION DE LA CINETICA DE OXIDACION DE MANTECA MANPAN POR PRUEBAS ACELERADAS”**

Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **EXCELENTE**; en consecuencia la Bachiller, queda apta para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51° y 52° del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 11 de noviembre de 2013

  
.....  
Ing. José A. Blas Matienzo  
Presidente

  
.....  
Ing. Alipio A. Ortega Rodriguez  
Miembro

  
.....  
Ing. Jaime Basilio Atencio  
Asesor

## DEDICATORIA

Dedico a mis padres que me enseñaron el camino de la educación a mi mamá Tereza que me enseñó a leer y contar.

A mis maestros que tuve desde la infancia hasta la juventud que un poquito de todos ellos hicieron en mí, cambios para bien.

## AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la vida, los alimentos y un techo donde dormir, que siempre sentí que no estoy sola que eres mi amigo inseparable que cuidas de cada paso que doy en la vida y en las oportunidades en la cual permites que suceda, porque de ti viene la sabiduría y la inteligencia que vale más que la plata y el oro preciado. Gracias a Dios por permitir que en estos momentos escriba estas palabras aunque sé que son pocas porque palabras faltan por lo mucho que haces.

A mis dos madrecitas a quien las amo mucho Nelly y Tereza que desde niña me cuidaron, me brindaron su amor, cariño y paciencia que en todo momento me dieron palabras alentadoras, consejos que me hicieron tomar buenas decisiones, que por su ejemplo de mujer trabajadora me hicieron ver que no hay dificultad para el trabajo y que solo se necesita de esfuerzo, voluntad y muchas ganas, me hicieron ver que todo se alcanza con perseverancia. Ellas son mis dos ejemplos por seguir.

A mi padre que por tan solo verlo ya me sentía contenta porque contaba con un padre y siempre declaraba hijita tu eres ingeniera y cada vez que escuchaba esa palabra de aliento me sentía como si ya lo fuese y en este momento que escribo estas palabras ya no es solo mi papa que me dice ingeniera si no otras personas más que me da gusto de escuchar, y sabes papa yo te amo porque sé que en tu interior eres un hombre valiente esforzado y perseverante que hicieron de mí una hija agradecida.

A toda mi familia, mi hermano, abuelito, tías, tíos, primas, primos, que tan solo verme rodeado por ellos sentía un acompañamiento voluminoso que cada uno de ellos me dieron palabras de consejo y esperanza, aun cuando me sentía sin fuerzas levantaban mis alas y me decían para ti hay mucho por adelante y por descubrir. Gracias a todos ellos los amo mucho.

A una persona muy especial Richard que es mi amigo, consejero y sé que más adelante será algo más representativo para mí, él es un ejemplo a seguir que por su humildad, generosidad, trabajo, paciencia y respeto que muestra con esa cara de niño pero con pensamiento de un hombre realizado, me lleno de su cariño estuvo conmigo en momentos de alegría y tristeza. Mi compañero especial.

A mis compañeros de la universidad a mis maestros que con cada enseñanza supieron construir las bases del edificio en mí y fortalecido en cada examen que nos tomaban, estoy muy agradecida con ellos y mil gracias. Ingeniera Lupita gracias por esa ayuda que me brindaste en momentos que me sentía sola, diste tu tiempo y te introducías en mis preocupaciones y me ayudabas a resolverlo, muchas gracias.

Al ingeniero Jaime Basilio Atencio, que le escogí como asesor por su humildad y veracidad que refleja, por su infinita paciencia, generosidad, y sus palabras de aliento que me hicieron pensar que todo es claro cuando uno practica la verdad y es una de las virtudes que quedaron como un sello en mí. Estoy muy agradecida con él porque es parte de esta tesis.

## INDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	MARCO TEORICO .....	3
	2.1. Palma y semilla de la palma .....	3
	2.1.1. Descripción botánica .....	5
	2.2. Lípidos .....	6
	2.2.1. Grasas de origen vegetal .....	7
	2.2.2. Propiedades físicas .....	8
	2.2.3. Propiedades químicas .....	9
	2.3. Autooxidación .....	10
	2.3.1. Compuestos de oxidación primaria .....	11
	2.3.2. Compuestos no volátiles de oxidación secundaria .....	12
	2.3.3. Compuestos volátiles de oxidación secundaria .....	13
	2.4. Oxidación .....	13
	2.5. Tóxicos derivados de la oxidación de grasas y aceites .....	15
	2.6. Vida útil de un alimento .....	17
	2.7. Cinética .....	18
	2.7.1. Aplicación de cinética química en la oxidación de aceites .....	19
	2.7.2. Cinética de reacciones básicas para predecir la pérdida de la calidad en los alimentos .....	21
III.	MATERIALES Y METODOS .....	27
	3.1. Lugar de ejecución .....	27
	3.2. Materiales .....	27
	3.2.1. Materia prima .....	27

3.2.2. Materiales de laboratorio.....	27
3.2.3. Equipos .....	28
3.2.4. Reactivos.....	28
3.3. Métodos de análisis.....	29
3.3.1. Índice de peróxido por el método de la AOAC (1995).....	29
3.3.2. Pruebas espectrofotométrica ultravioleta a 233 y 268 nm .....	30
3.4. Metodología experimental .....	31
3.4.1 Evaluación durante el almacenamiento de la manteca vegetal.	
31	
3.4.2 Determinación de los parámetros de cinética. ....	32
3.4.3. Simulación de la oxidación de la manteca MANPAN a	
diferentes temperaturas de almacenamiento.....	33
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	34
4.1. Evaluación del índice de peróxido durante el almacenamiento.....	34
4.2. Determinación de la influencia de la temperatura y tiempo de	
almacenamiento en la formación de peróxidos. ....	36
4.3. Determinación de los parámetros de cinética para la formación de	
peróxidos.....	37
4.3.1. Determinación del orden de reacción (n) y constante de	
velocidad de reacción (K) para índice de peróxido (IP) .....	40
4.3.2. Determinación de la energía de activación con el método de	
Arrhenius, para el índice de peróxido (IP).....	45
4.4. Simulación de la cinética de oxidación de la manteca vegetal	
MANPAN, en función de índice de peróxidos.....	50



4.4.1. Simulación de la constante de velocidad de reacción (K), de peróxido a diferentes temperaturas. ....	50
4.4.2. Simulación de la formación de peróxidos en almacenamiento a diferentes temperaturas. ....	52
4.5. Evaluación de dienos y trienos (Espectrofotométrico 233 y 268 nm). ....	55
4.5.1 Determinación de parámetros cinéticos de evaluación espectrofotométrica a 233 nm. ....	55
4.5.2. Determinación de parámetros cinéticos de evaluación espectrofotométrica a 268 nm. ....	59
4.5.3. Resumen de los Parámetros cinéticos de evaluación espectrofotométrica a 233nm (dienes) y 268nm (trienos). ....	62
V. CONCLUSIONES .....	63
VI. RECOMENDACIONES .....	65
VII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA .....	66
ANEXO .....	71

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Titulo	Página
1	Producción nacional de aceite y manteca vegetal refinados.....	4
2	Ácidos grasos constituyentes de los glicéridos.....	6
3	Porcentaje de ácidos grasos encontrados en los aceites vegetales..	8
4	Variación del índice de peróxidos en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca vegetal marca MANPAN.....	34
5	Efecto de la temperatura, en el índice de peróxido en almacenamiento de la manteca MANPAN.....	37
6	Variación del índice de peróxido en almacenamiento durante 792 horas (33 días) a diferentes temperaturas, para la manteca vegetal de la marca MANPAN.....	39
7	Constante de velocidad de reacción (K) de la formación de peróxido de la manteca de palma MANPAN.....	44
8	Constante de velocidad de reacción (K) de formación de peróxido, acondicionadas para el ajuste al modelos de Arrhenius..	45
9	Parámetros de Arrhenius para la formación de peróxidos en la manteca vegetal almacenadas a diferentes temperaturas.....	49

10	Valores simulados de la constante de velocidad de reacción (K), de formación de peróxido a diferentes temperaturas.....	51
11	Simulación de la formación de peróxidos a posibles temperaturas reales de almacenamiento.....	53
12	Absorbancia a 233 nm ( $\lambda_{233}$ ) en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca MANPAN.....	56
13	Constante de velocidad de reacción (K) de la evaluación espectrofotométrica a 233 nm, de la manteca de palma MANPAN..	57
14	Absorbancia a 268 nm ( $\lambda_{268}$ ) en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca MANPAN.....	59
15	Constante de velocidad de reacción (K) de la evaluación espectrofotométrica a 268 nm, de la manteca de palma MANPAN...	60
16	Parámetro de Arrhenius para la formación de dienos y trienos en la manteca vegetal almacenadas a diferentes temperaturas.....	62

## INDICE DE FIGURAS

Figura N°	Titulo	Página
1	Producción nacional de aceite y manteca vegetal refinados.....	4
2	Reacción de hidrolisis.....	10
3	Compuestos no volátiles de oxidación secundaria.....	12
4	Reacción de oxidación.....	13
5	Efecto de la temperatura, en el índice de peróxido en almacenamiento de la manteca MANPAN.....	35
6	Variación del índice de peróxido en almacenamiento durante 33 días a diferentes temperaturas. (Orden de reacción cero).....	41
7	Variación del Ln (Índice de peróxido) en almacenamiento durante 33 días a diferentes temperaturas. (Orden de reacción 1).....	42
8	Variación de 1/ Índice de peróxido, en almacenamiento (792 horas) a diferentes temperaturas. (Orden de reacción 2).....	43
9	Constante de velocidad de reacción (K) de formación de peróxido de orden cero con la temperatura, ajustada a la ecuación de Arrhenius....	46
10	Constante de velocidad de reacción (K) formación de peróxido de primer orden con la temperatura, ajustada a ecuación de Arrhenius....	47

11	Constante de velocidad reacción (K) de formación de peróxido de segundo orden con la temperatura, ajustada a ecuación de Arrhenius..	48
12	Absorbancia a 233 nm ( $\lambda_{233}$ ) en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca vegetal.....	55
13	Constante de velocidad de reacción (K) de formación de dienos (Absorbancia 233nm), ajustada a la ecuación de Arrhenius.....	58
14	Absorbancia a 268 nm ( $\lambda_{268}$ ) en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca vegetal.....	60
15	Constante de velocidad de reacción (K) de formación de dienos (Absorbancia 268nm), ajustada a la ecuación de Arrhenius.....	61

## ABSTRACT

The present research was conducted in the laboratories of the Faculty of Food Engineering of the National Agricultural University of the Jungle

The research work consisted to evaluate the oxidation of butter of Palma make MANPAN by accelerated testing at 30, 40, 60 and 80 °C, determine the kinetic parameters ( reaction order, reaction rate constant and activation energy ) index peroxide value, conjugated dienes and trienes, and oxidation kinetics simulate at true storage temperatures .

Found that there is a highly significant influence of temperature on the formation of peroxides (  $P_{valor} = 0,00$  ). Oxidation kinetics for the formation of peroxides is zero order with  $R^2 = 0,9813$ , the activation energy  $E_a = 8,4037$  Kcal / mol.

Simulated formation of peroxides at temperatures of 10 °C to 40 °C at intervals of 5 °C, yielding for example 20 ° C the reaction rate constant  $K_{20^{\circ}C} = 0,0004524563$  meq  $O_2$ /hora, and time to reach the maximum allowed peroxide (10 meq  $O_2$  ) is about 902 days .

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

El trabajo de investigación consistió en evaluar la oxidación de la manteca de Palma de marca MANPAN por pruebas aceleradas a 30, 40, 60 y 80°C, determinar los parámetros de cinética (Orden de reacción, Constante de velocidad de reacción y Energía de activación) de formación de índice de peróxidos, dienos y trienos conjugados, y simular la cinética de oxidación a temperaturas reales de almacenamiento.

Se encontró que existe una influencia altamente significativa de la temperatura en la formación de peróxidos ( $P_{\text{valor}} = 0,00$ ). La cinética de oxidación para la formación de peróxidos es de orden cero con  $R^2 = 0,9813$ , la energía de activación  $E_a = 8,4037$  Kcal/mol.

Se simuló la formación de peróxidos a temperaturas de 10°C a 40°C con intervalos de 5°C, obteniéndose por ejemplo para 20°C la constante de velocidad de reacción  $K_{20^\circ\text{C}} = 0,0004524563$  meq O<sub>2</sub>/hora, y el tiempo para llegar al índice de peróxido máximo permitido (10 meq O<sub>2</sub>) es de aproximadamente 902 días.

## I. INTRODUCCIÓN

La manteca tropical MANPAN es muy consumida en el alto Huallaga y en diferentes ciudades del país, usado como insumo para la elaboración de diferentes productos como panes, pasteles, bocaditos, etc. Pero no se tiene conocimiento de la pérdida de su calidad durante el tiempo que transcurre desde su producción hasta su uso.

La principal forma de deterioro de las grasas es la oxidación, que lleva consigo la pérdida de vitaminas, ácidos grasos esenciales, pardeamiento no enzimático del producto y se forman los peróxidos reconocidos por el sabor a rancio que confiere a la manteca perdiendo su calidad sensorial y no es recomendable para el consumo humano.

La cinética de oxidación de los lípidos depende de la temperatura a la que están almacenadas, considerando que la manteca MANPAN es comercializado en diferentes partes del país que tienen diferentes climas, por lo que es necesario conocer la cinética de oxidación a las temperaturas de almacenamiento que permitirán a la empresa INDUSTRIAS DEL ESPINO S.A. organizar mejor su sistema de distribución.

Se realizó el estudio de la cinética de oxidación por pruebas aceleradas considerando la temperatura como factor de aceleramiento de deterioro, planteándose los siguientes objetivos.



- Determinar los parámetros de cinética como: orden de reacción, constante de velocidad de reacción ( $K$ ) y energía de activación ( $E_a$ ), para el índice de peróxido, y prueba espectrofotométrica en la región ultravioleta.
- Evaluar durante el almacenamiento acelerado, la variación de índice de peróxido y prueba espectrofotométrica en la región ultravioleta (dienos y trienos).
- Simular la cinética de oxidación de la manteca marca MANPAN a las diferentes posibles temperaturas de almacenamiento.

## II. MARCO TEORICO

### 2.1. Palma y semilla de la palma

La palma aceitera (*Elaeis guineensis*) es originaria de la costa de Guinea en el oeste de África, desde donde fue introducida a otras partes de África, sudeste de Asia y Latinoamérica (VELAZQUES y GOMEZ, 2010).

Según HARRY (1999), el aceite de palma es un aceite de fruto parecido a la oliva, en comparación con los aceites de semillas es uno de los más importantes aceites de frutos en el comercio mundial y su uso creció a gran velocidad en un corto periodo de tiempo. El aceite de palma es un aceite semisólido extraído a partir de la porción pulposa del fruto y los frutos crecen en amplios manojos o racimos, pesando el racimo típico alrededor de 18,14kg. Cada fruto individual tiene el tamaño similar a un dátil, y el mesocarpio del fruto generalmente tiene un color anaranjado cuando está convenientemente maduro. El interior de la semilla contiene la harina de semilla de palma y el aceite de pepita de palma, la palma contiene alrededor del 50% de ácidos saturados.

Cuadro 1. Producción nacional de aceite y manteca vegetal refinados

Periodo 2004-2011								
(aceite en miles de litros y manteca en miles de libras)								
Producto	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Aceite V.	61,153	53,519	48,449	55,809	57,523	43,927	21,703	25,171
Manteca V.	109,902	107,428	109,059	115,718	155,836	155,09	171,791	190,441
<b>Total</b>	<b>171,055</b>	<b>160,947</b>	<b>157,508</b>	<b>171,527</b>	<b>213,359</b>	<b>199,017</b>	<b>193,494</b>	<b>215,612</b>

Fuente: ESMAM, 2013.

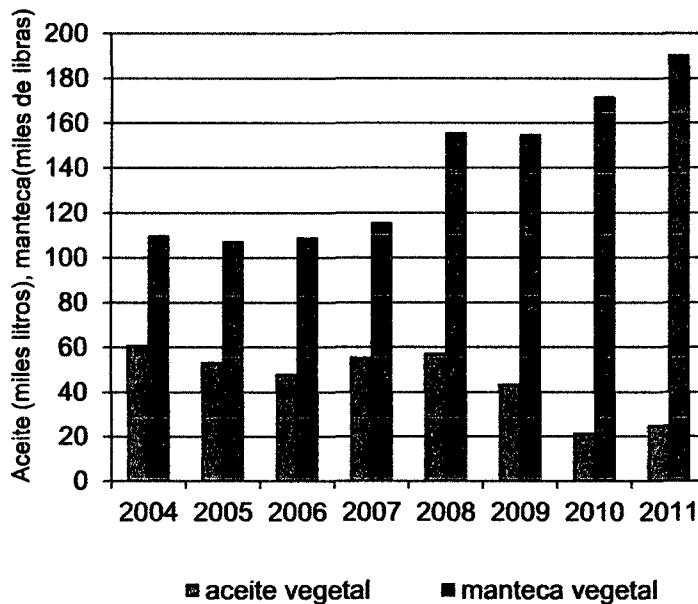


Figura 1. Producción nacional de aceite y manteca vegetal refinados.

Indica que la manteca vegetal tiene una composición de mínimo 82% de grasa vegetal y como máximo 16% de agua. Presenta un punto de fusión de

45°C y la fase grasa de la manteca está compuesta mayoritariamente por ácidos grasos saturados (GUSTONE, 2004).

### **2.1.1. Descripción botánica**

La palma africana o palma de aceite es una planta monoica, que posee un tallo robusto no ramificado que puede alcanzar de 20 a 30m de altura, marcado anualmente por las cicatrizaciones de las bases de las hojas desprendidas y, en condiciones naturales, puede llegar a tener una longevidad de hasta 200 años (VELAZQUES y GOMEZ, 2010).

Según BARAONA y SANCHO (2000), el científico Hutchinson ha clasificado la palma aceitera de la siguiente manera:

División: Fanerógamas.

Tipo : Angiosperma.

Clase : Monocotiledóneas.

Orden : Palmales

Familia : Palmaceae

Tribu : Coccoinea

Género : *Elaeis*

Especie : *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleífera*.

La palma inicia la producción de racimos entre el segundo y el tercer año de estar sembrada en campo y alcanza su madurez hacia el año octavo, que es cuando expresa todo su potencial productivo.

## 2.2. Lípidos

Según AYAR *et al.* (2001), por definición los lípidos son componentes biológicos que son solubles en solventes no polares como benceno, cloroformo y éter, y son prácticamente insolubles en agua. Consecuentemente, estas moléculas son diversas tanto en lo referente a su estructura química como a su función biológica. Se distinguen en ellos los ácidos grasos, las grasas y aceites, los jabones, los ácidos grasos son presentados en el cuadro 2.

Cuadro 2. Ácidos grasos constituyentes de los glicéridos

Ácido graso	N° de C	Enlaces dobles	Abundancia
<b>Saturados</b>			
Laurico	12	0	*
Mirístico	14	0	**
Palmítico	16	0	***
Esteárico	18	0	***
Araquídico	20	0	*
<b>Insaturados</b>			
Palmitoleico	16	1	*
Oleico	18	1	****
Linoleico	18	2	***
Linolenico	18	3	**
Araquidónico	20	4	*
Erucico	22	1	*

Fuente: AYAR, A. *et al.* (2001)

La denominación de “grasas y aceites” se refieren únicamente al estado físico sólido o líquido de este tipo de lípidos y no tienen ninguna relación con cualquier otra propiedad; la estructura y la química no varía. Las grasas y aceites son esteres formados por la condensación (unión) de ácidos grasos con glicerol. En general, las grasas y aceites comestibles o alimenticias están formadas básicamente por triacilglicéridos (TAG), que consisten en mono, di o triésteres; ya que el glicerol es un trialcohol que puede dar origen a los compuestos mencionados. En la molécula del triacilglicéridos se crea un centro quirálico si los dos grupos OH primarios del glicerol están esterificados con dos ácidos grasos diferentes. El número de TAG posible se deduce del número “n” de ácidos grasos existentes de la grasa.

### **2.2.1. Grasas de origen vegetal**

La mayor parte de las grasas de origen vegetal proceden de frutos o semillas tropicales. Su obtención puede ser mediante procedimientos técnicos muy diversos. A diferencia de los aceites, se caracterizan por presentar un alto grado de saturación en sus ácidos grasos, hecho que desde el punto de vista nutricional las convierte en menos atractivas. Pueden servir como base para la elaboración de margarinas. En el cuadro 3 se puede ver la composición de algunas de ellas.

Cuadro 3: Porcentaje de ácidos grasos encontrados en los aceites vegetales.

Descripción	C14:0	C16:0	C18:0	C16:1	C18:1	C18:2	C18:3
Girasol	0,1	6,2	4,3	0,1	20,2	63,2	0,1
Soja	0,1	10,7	3,8	0,1	20,11	52,99	7,51
Colza	Tr	4,2	1,5	0,2	57,6	19,7	9,6
Cacahuete	Tr	10,9	3,2	Tr	43,3	28,5	0
Maíz	0,09	9,9	1,84	0,16	23,8	57,67	1,03
Algodón	0,8	22,4	2,5	0,78	16,92	50,1	0,1
Palma	1	41,8	4,6	Tr	37	9,03	0,27
Cártamo	0,1	6,6	2,3	0,1	11,4	73,9	0,1

Fuente: (AYAR *et al.*, 2001).

Tr: trazas

### 2.2.2. Propiedades físicas

Para las propiedades físicas más relevantes se tiene:

#### - Solubilidad

Las grasas y aceites se caracterizan principalmente por su virtual inmiscibilidad en agua, sin embargo son miscibles en muchos solventes orgánicos no polares, la solubilidad depende de las propiedades termodinámicas del soluto y disolvente, y las fuerzas relativas de atracción entre las moléculas. La solubilidad ideal se puede calcular a partir de las propiedades termodinámicas, en todo caso la solubilidad real generalmente presenta desviaciones positivas.

#### - Tensión superficial e interfacial

En este aspecto las grasas, aceites y ácidos grasos están separados. Los aceites comerciales tienden a tener más baja tensión superficial e interfacial

debido a la presencia de componentes polares de superficie activa, tales como monoglicéridos, fosfolípidos y jabones. Los monoglicéridos y jabones pueden reducir la tensión interfacial entre agua y aceite.

#### - Densidad

Los valores de densidad para aceites están, generalmente, en el rango comprendido entre 0,92 a 0,964 g/L. la densidad se incrementa cuando decrece el peso molecular e incrementa con la instauración. La densidad se incrementa aproximadamente en forma lineal con el incremento de la temperatura. Las densidades de grasas en estado sólido son mucho más altas, aproximadamente el valor de 1g/L (AYAR *et al.*, 2001).

### 2.2.3. Propiedades químicas

AYAR *et al.* (2001), menciona que muchas de las grasas y aceites tienen solo dos grupos funcionales reactivos: el éster que enlaza el ácido graso al glicerol vertebral y el doble enlace en la cadena del alquil lateral. El doble enlace influye en la reactividad del átomo de carbono alílico, particularmente cuando hay dobles enlaces múltiples presentes, la hidrólisis, metanolisis e interesterificación son las principales reacciones químicas de los triacilgliceridos.

#### Hidrólisis

Por acción de los álcalis como KOH / CH<sub>3</sub>OH, se escinde la grasa, resultando como productos glicerol y una sal de ácido graso (jabón), como se señala en la reacción.



A partir de la sal resultante se obtienen los ácidos grasos libres al ser acidificada, esta reacción es relevante desde el punto de vista analítico.

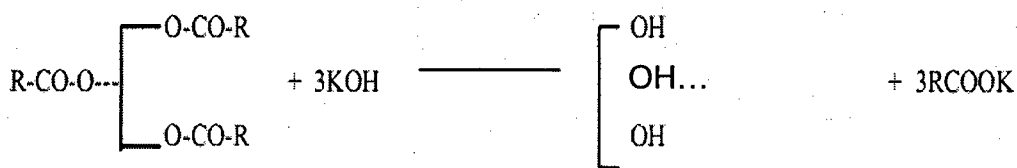


Figura 2: Reacción de hidrolisis (AYAR *et al.*, 2001).

### 2.3. Autooxidación

Según BOSKU (2002), la reacción química que es provocada por un agente oxidante, como el oxígeno, el cual ataca a los ácidos grasos insaturados en sus dobles enlaces produciendo compuestos que generan la llamada rancidez oxidativa. Existen varios factores que propician y aceleran la reacción de oxidación, tales como la luz, concentración de oxígeno, tipo de ácido graso en especial en lo referente a la calidad de insaturación es o la presencia de metales que actúan como catalizadores de reacción. Se tienen pruebas de que la reacción de oxidación lipídica se realiza vía radicales libres, iniciada por la excitación de la molécula de oxígeno para que pase del estado triplete al singulete pudiéndose generar por la presencia de luz o algún otro tipo de energía radiante, pudiendo en esta forma excitada el oxígeno atacar al carbono vecino a la doble ligadura produciendo un radical lipoperoxido dándose así la primera reacción, conocida como reacción de iniciación del mecanismo vía radicales libres; en las reacciones de propagación se generan, como es conocido, más radicales libres producto de que reaccione un radical libre con

alguna otra molécula que no es un radical, además de generar diferentes compuestos que propician olores y sabores característicos de este proceso; como última parte de estas reacciones de radicales libres se dan las de terminación acaecidas, cuando reaccionan entre si dos radicales produciendo un compuesto estable.

### **2.3.1. Compuestos de oxidación primaria**

Un primer tipo de compuestos derivados de la oxidación de los ácidos grasos insaturados (AGI) y de otras moléculas insaturadas son los hidroperóxidos (HP) que son los compuestos de oxidación primaria más característico y abundantes, y que su estructura vendrá determinada por la mezcla de ácidos grasos (especialmente los poliinsaturados). La oxidación transcurre a través de reacciones en cadena, mediadas por radicales libres en un proceso complejo en el cual intervienen los radicales libres y el oxígeno.

Los dos mecanismos que han sido postulados para la oxidación a altas temperaturas de las grasas insaturadas son:

- Descomposición térmica por interacción entre radicales libres, cuando los ácidos grasos insaturados son continuamente calentados a elevadas temperaturas.
- Descomposición inducida a través de la formación de hidroperóxidos a partir de ácidos grasos insaturados cuando son sujetos a calentamiento intermitente (BOSKU, 2002).

### 2.3.2. Compuestos no volátiles de oxidación secundaria

BOSKU (2002), los compuestos no volátiles de oxidación secundaria son productos formados durante el proceso de temperaturas mayores de 30°C como consecuencia de diversas reacciones sufridas por los peróxidos lipídicos

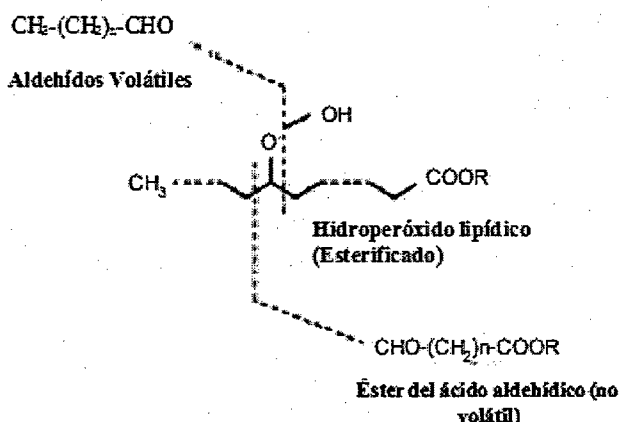


Figura 3: Compuestos no volátiles de oxidación secundaria

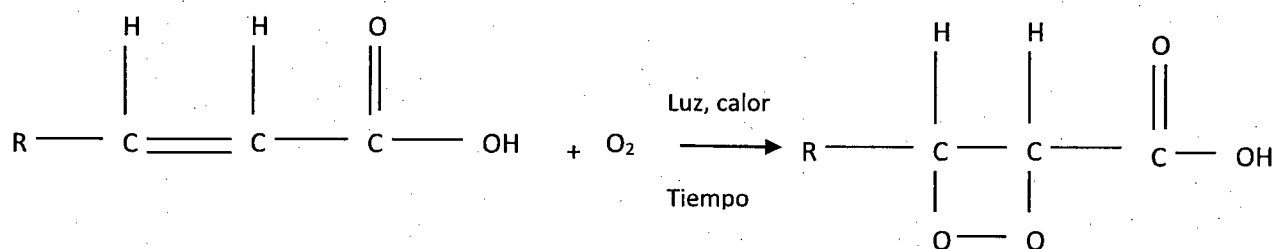
Los peróxidos pueden sufrir reacciones de fisión, formando alcoholes, aldehídos, ácidos e hidrocarburos, o bien reacciones de deshidratación que forman cetonas, mientras los radicales piróxilo pueden también dar lugar a la formación de dímeros, trímeros, epóxidos, éteres, etc., compuestos de elevado peso molecular indicadores fiables de la alteración de la grasa debido a su acumulación. Muchos de ellos son productos no volátiles, que permanecen por tanto en la manteca y aceite y cuya concentración determina el cambio de numerosas propiedades físicas, como el color, la viscosidad, la constante dieléctrica, la capacidad de formar espuma.

### 2.3.3. Compuestos volátiles de oxidación secundaria

Los compuestos volátiles de oxidación tienen una gran repercusión desde el punto de vista sensorial y son los responsables del aroma propio (a bajas concentraciones), así como del olor a rancio y de posibles aromas y gustos no deseables de las grasas (manteca y aceite) llevadas a temperaturas elevadas. por otra parte algunos compuestos volátiles de oxidación forman parte del aroma característico de los alimentos sometidos a fritura y el conocimiento del mismo puede permitir el desarrollo de aroma de fritura en productos no sometidos a la misma. Entre ellos destacan algunos hidrocarburos, alcoholes, aldehídos y cetonas y, en menor proporción, los furanos y ácidos carboxílicos (BOSKU, 2002).

### 2.4. Oxidación

Según HARRY (1999), al igual que la hidrogenación, esta reacción tiene lugar en los dobles enlaces o puntos de insaturación.



Radical ácido graso + Oxígeno  $\longrightarrow$  Peróxido

Reacción de oxidación

Figura 4. Reacción de oxidación

Es la reacción de un aceite o grasa con el oxígeno del aire, y según el alimento es indeseable ya que la reacción afectara negativamente el sabor de la grasa y del alimento en el cual se usa esta. De hecho, se guarda un cuidado considerable durante la fabricación, almacenamiento y utilización para detener esta reacción una vez iniciada o inhibirla tanto como sea posible.

A la oxidación inducida por el aire a temperatura ambiente se le denomina autooxidación. Generalmente es un proceso lento; se necesita un tiempo considerable para producir una cantidad suficiente de peróxidos (los principales productos de la autooxidación) para desarrollar sabores y olores desagradables.

Los productos que contienen una proporción más elevada de ácidos grasos insaturados son más propensos a la oxidación que los que contienen cantidades más bajas.

La velocidad de oxidación crece con un incremento en la temperatura, con la exposición al oxígeno del aire, presencia de luz y contacto con materiales que son considerados como prooxidantes. Un ejemplo excelente de prooxidante es el cobre metálico. Por lo tanto, se tendrá cuidado en eliminar el cobre, latón, bronce u otras aleaciones que contengan cobre de los sistemas de procesado de aceites y grasas, de sus envases y de las plantas elaboradoras de alimentos que utilicen aceites o grasas.

Los aceites o grasas naturales de origen vegetal contienen pequeñas cantidades de sustancias capaces de inhibir la oxidación en cierto grado. El alfa tocoferol es el antioxidante natural más importante y su distribución es casi universal.

## 2.5. Tóxicos derivados de la oxidación de grasas y aceites.

En el calentamiento sobre todo repetido, de aceites y grasas se produce una serie de modificaciones de interés toxicológico. En primer lugar se hidrolizan los triglicéridos dando lugar a ácidos grasos y glicerol; después, a partir del glicerol se origina la acroleína (en el proceso de la rancidez hidrolítica) y, a partir de los ácidos grasos, principalmente insaturados, se forman diferentes productos potencialmente tóxicos, como monómeros cíclicos, dímeros, polímeros, epóxidos, hidroperóxidos y peróxidos. De todos ellos, los que revisten mayor interés son los hidroperóxidos y peróxidos formados, así como los radicales libres implicados en su formación y propagación.

La peroxidación lipídica puede ocurrir también sin necesidad de calentamiento de grasas, actuando como catalizadores tanto la luz como ciertos metales de transición a nivel traza (hierro, cobre), o simplemente la acción del oxígeno del aire (cuando las grasas no contienen ningún tipo de antioxidante, como vitamina E). Las principales consecuencias de la peroxidación lipídica son: necrosis celular por afectación de los fosfolípidos de la membrana, déficit metabólico de sustancias defensivas, mutagénesis y carcinogénesis, alteración de la reproducción, etc.

En el proceso de la rancidez oxidativa se pueden originar las siguientes sustancias tóxicas:

Productos aromáticos (cetonas y esteres): producidos durante la degradación de los hidroperóxidos. Son fuente de malos olores y de efectos anti nutritivos, ya que favorecen la oxidación de vitaminas y ácidos grasos esenciales.

Epóxidos: se forman a partir de las grasas peroxidadas y de ácidos grasos insaturados. Pueden unirse de forma covalente a macromoléculas (DNA, RNA y proteínas) formando aductos con actividad citotóxica y cancerígena.

Aldehído malónico: se produce como consecuencia de la autooxidación de los ácidos grasos poliinsaturados que ocurre durante el calentamiento. El aldehído malónico produce los siguientes efectos: alteración en el DNA (por unión a la citosina y guanina), insolubilización de proteínas, pérdida de aminoácidos esenciales y actividad mutagénica.

Monómeros cíclicos: se generan a partir del linoleato de metilo y, en general, de esteres de ácidos grasos. Se trata de productos muy tóxicos, con un alto poder mutagénica y cancerígeno. Una vez que aparecen, polimerizan, siendo entonces menor la toxicidad de los polímeros. Si la calefacción elevada de las grasas se prolonga durante más tiempo se forman polímeros de alto peso molecular que, al tener mayor dificultad para absorberse, resultan menos tóxicos. Por otro lado, el calentamiento intermitente de las grasas con enfriamiento sucesivos provoca la formación de polímeros con mayor rapidez que el calor prolongado.

El consumo de aceites y grasas calentadas representa un peligro potencial. No constante, el riesgo toxico derivado de las grasas sobrecalentadas o calentadas en repetidas ocasiones es relativamente pequeño, ya que, tras la manipulación de la grasa, solo prevalece una pequeña cantidad de epóxidos, peróxidos y otros productos de degradación. Además, no es frecuente que la dieta se componga únicamente de alimentos fritos.

Los peróxidos son, en general compuestos tóxicos. Los hidroperóxidos del ácido linoleico son de los más tóxicos que se producen en la alteración de las grasas, alterándose las vitaminas y la hemoglobina, inhibiéndose algunas enzimas, oxidan los grupos-SH y pueden ejercer una acción mutagénica (PRIMO, 1997).

## **2.6. Vida útil de un alimento**

Para determinar la vida útil de un alimento o producto, primero deben identificarse las reacciones químicas o biológicas que influyen en la calidad y seguridad del mismo, considerando la composición del alimento y el proceso a que es sometido y se procede a establecer las reacciones más críticas en la calidad (CASP, 1999 y RONDON *et al.*, 2004).

El tiempo de vida útil se puede estimar mediante varios métodos: pueden tomarse valores reportados en la literatura especializada de alimentos similares y bajo condiciones similares al producto de nuestro interés; se pueden monitorear las quejas de los consumidores para orientar los posibles valores de vida útil; se pueden evaluar atributos de calidad del alimento que varían durante la vida útil en anaquel o mediante pruebas aceleradas (CITA, 2005).

La vida útil de un producto depende de factores ambientales, de la humedad, de la temperatura de exposición, del proceso térmico al que se somete y de la calidad de las materias primas, entre otros. El efecto de estos factores se manifiesta como el cambio en las cualidades del alimento que evitan su venta: cambios de sabor, color, textura o pérdida de nutrientes (POTTER, 1978). Se refiere a que el final de la vida útil de un producto se



alcanza cuando ya no mantiene las cualidades requeridas para que el consumidor final lo utilice (KUNTZ, 1991).

Existe un tiempo determinado, después de haber sido producido, en que el producto mantiene un nivel requerido de sus propiedades sensoriales y de seguridad, bajo ciertas condiciones de almacenamiento. Este constituye el período de vida útil o de anaquel del alimento (CASP, 1999 y KUNTZ, 1991). Por ello, en la industria de alimentos es importante determinar la vida útil de los productos para suplirlos y mantenerlos en el mercado sin ningún problema de seguridad o de rechazo por los consumidores.

## **2.7. Cinética**

Para los estudios acelerados se debe planear cuidadosamente el diseño experimental que contemple las variables por evaluar y controlar las variables que no se desean evaluar para evitar que interfieran en las mediciones, y por ende, en los resultados. Es esencial establecer aquellas variables críticas y disponer de métodos de cuantificación de respuesta rápida, pero confiable (LABUZA, 1985).

Los estudios de vida útil acelerados, consisten en incubar el alimento bajo condiciones controladas y a diferentes temperaturas. Estas temperaturas deben ser mayores a las de almacenamiento y las de comercialización para permitir que las reacciones de deterioro se aceleren y se obtengan valores en períodos más cortos (RODRÍGUEZ, 2004).

Las pruebas de laboratorio simulan las condiciones reales, pero existen variables como las condiciones de transporte, cambios de presión, fluctuaciones de temperatura, entre otras, que son difíciles de duplicar. Por lo tanto, los resultados obtenidos son estimaciones de la vida útil del alimento.

### **2.7.1. Aplicación de cinética química en la oxidación de aceites**

Muchos alimentos poseen grasas insaturadas, las cuales son importantes para la nutrición de los humanos. Lamentablemente estas grasas están sujetas al ataque directo del oxígeno, a través de un mecanismo auto catalítico que provoca la rancidez oxidativa, (auto oxidación de ácidos grasos insaturados), en presencia de oxígeno y con la ayuda de catalizadores metálicos. Como resultado, aparecen olores rancios que hacen que el producto sea desagradable, y que puede ser detectados por los consumidores.

En muy pequeñas cantidades. Los radicales libres y peróxidos pueden reaccionar y blanquear pigmentos en vegetales secos; destruyen las vitaminas C; E y A; degradan proteínas, y disminuyen la calidad, pueden producir compuestos tóxicos potencialmente causantes de cáncer. (Alvarado, 1996), explico los cambios químicos asociados con la rancidez, señalo que son el resultado de reacciones con el oxígeno del aire que corresponde a la rancidez oxidativa, o de reacciones hidrolíticas catalizadas por lipasas provenientes del alimento, o de microorganismos.

Para el caso de la autooxidación o rancidez oxidativa indicó que existen dos etapas: en la primera, el valor de la energía de activación es bajo, entre 17 a 21 kJ/mol; en la segunda existe un ligero incremento, hasta valores

de 25 a 29 kJ/mol. Esta reacción es compleja; los mecanismos y los factores que afectan la autooxidación. Entre ellos: el número total de enlaces insaturados en la muestra, en especial el grado de insaturación de cada molécula; la presencia de oxígeno; la presencia de radiación luminosa desde la región ultravioleta hasta la infrarroja. En especial la luz ultravioleta favorece la reacción, al igual que la temperatura; la humedad parece prevenir o inhibir la reacción, trazas de varios metales, en especial cobre y hierro, actúan como prooxidantes.

Teóricamente se requiere una sola molécula como radical libre para iniciar la autooxidación en cadena. Esto explicara el hecho de que la cinética de orden cero o de medio orden permita describir la reacción de oxidación de lípidos.

La velocidad de reacción es la variación por unidad de tiempo de la concentración de un reactante o de un producto. La velocidad de reacción depende de la concentración de los reactantes y, en algunos casos especiales, también el de los productos; es de esperar entonces que, al avanzar la reacción y modificarse las concentraciones, varíe la velocidad. Por tanto, conviene referirse a velocidades instantáneas, es decir, en intervalos de tiempo infinitamente pequeño. Esto refiere definir la velocidad de reacción como derivan de la concentración respecto al tiempo, dada una transformación química.

Los aceites y grasas comienzan a descomponerse desde el momento que se aíslan de su medio natural. La presencia de ácidos grasos libres indica actividad de la lipasa o actividad hidrolítica de otro tipo. Se

efectúan cambios durante el almacenamiento que dan como resultados sabores y olores desagradables. (ALVARADO, 1996).

### 2.7.2. Cinética de reacciones básicas para predecir la pérdida de la calidad en los alimentos

La cinética química es la parte de la química-física que estudia la velocidad de las reacciones químicas, los factores que la afectan y el mecanismo por el cual transcurren. Los cambios que llegan a ocurrir en los alimentos son resultados de numerosas y complejas reacciones químicas y bioquímicas, acompañadas de diversos efectos físicos (ALVARADO, 1996).

Por lo tanto, conviene referirse a la velocidad instantánea, es decir en intervalos de tiempo infinitamente pequeños. Esto requiere definir la velocidad de reacción como derivada de la concentración respecto al tiempo. Dado una transformación química:



La velocidad de reacción será:

$$V = -d\{A\} / dt = -d\{B\} / dt = d\{C\} / dt \quad (2)$$

El signo negativo indica que la concentración de los reactantes {A} y {B} decrece al transcurrir el tiempo; por el contrario, el signo de la velocidad será positivo respecto al producto de la reacción {C}, pues su concentración aumenta con el incremento del tiempo.

Por otro lado en muchos casos se ha determinado en forma experimental que la velocidad de reacción se ajusta a una expresión matemática del tipo:

$$V = k \{A\}^i \{B\}^j \quad (3)$$

En el caso de expresiones cinéticas de este tipo, se define como orden de reacción respecto a una de las sustancias el exponente al cual esta elevada la concentración de dicha sustancia en la expresión cinética.

La constante k de la expresión representa la velocidad específica, también llamada constante de velocidad de reacción. Salvo en casos especiales, la velocidad de reacción es independiente de la concentración de los reactivos y productos, y por lo tanto del grado de avance de la reacción.

Para el caso de reacciones de un solo reactivo y de orden n, la expresión de la velocidad de reacción puede ser escrita:

$$(- d \{A\} / dt ) = k \{A\}^n \quad (4)$$

Según LABUZA y RIBOH (1982), indicaron que el concepto de reacción puede ser extendida a la pérdida de calidad para muchos alimentos, y también puede ser representada por una ecuación matemática en la forma siguiente:

$$\pm dA / d\theta = kA^n \quad (5)$$

Dónde:

A : Factor de calidad a medir

$\theta$  : Tiempo

$k$  : Constante de velocidad de reacción, que depende de la temperatura.

$n$  : Factor de potencia llamado “orden de reacción”, el cual define si la velocidad es dependiente de la cantidad presente de A.

$\pm dA / d\theta$  : Velocidad de cambio de A con respecto al tiempo.

El signo negativo es utilizado si el deterioro es una pérdida o destrucción de A (por ejemplo, un nutriente o un aroma característico) y un signo positivo señala si por la producción de un producto final indeseable (por ejemplo, pérdida de aroma o de coloración).

Usualmente los resultados de estos estudios para predecir la pérdida de calidad no son obtenidos como una velocidad sino más bien como la cantidad de A como una función del tiempo. Así para obtener la velocidad de deterioro, uno debe transformar los datos mediante un gráfico cinético.

#### **2.7.2.1. Efecto de la temperatura en velocidad de deterioro ( $k$ )**

Los análisis matemáticos anteriores de pérdida de calidad asumen una temperatura constante. La influencia de la temperatura a partir de las ecuaciones de cero o primer orden es la constante de velocidad  $k$  (LABUZA y RIBOH, 1982).

LABUZA (2000), menciona la importancia de la temperatura en las velocidades de reacción y que esto es reconocido por mucho tiempo. Generalmente la velocidad de reacción se incrementa conforme la temperatura aumenta. El más prevalente y ampliamente usado es la ecuación de Arrhenius, derivado de las leyes termodinámicas así como los

principios de la estadística mecánica. También se ha mostrado la reacción de pérdida de calidad de un alimento descritas por modelos cinéticos mencionados para seguir un comportamiento de Arrhenius con la temperatura.

- **La ecuación de Arrhenius**

La influencia de la temperatura en la velocidad de reacción ha sido derivada empíricamente así como también a partir de mecanismos termodinámicos, estadísticos y otros medios. Básicamente, el logaritmo de la constante de velocidad es proporcional a la inversa de la temperatura absoluta (LABUZA y RIBOH, 1982).

$$K = K_0 e^{-[E_a / RT]}$$

Dónde:

K : Constante de velocidad de reacción

K<sub>0</sub> : Factor pre-exponencial

E<sub>a</sub> : Energía de activación (cal / mol)

R : Constante de gases ideales (1.987 cal / mol °K)

La ecuación de Arrhenius enuncia que un ploteo del logaritmo neperiano de la constante de velocidad de reacción (Ln K) versus la reciproca de la temperatura absoluta (1/T) genera una línea recta cuya pendiente es la energía de activación dividida entre las constante de las gases R y al conocer el valor de la pendiente podemos obtener el valor de la energía de activación para dicha recta y mediante la regresión lineal se podrá obtener el valor de la constante pre-exponencial. Además una pendiente excesiva se

significa que la reacción es más dependiente de la temperatura; es decir, a medida que la temperatura se incrementa, la constante de la velocidad de reacción aumenta. (LABUZA y RIBOH, 1982).

Cuando se aplican técnica de regresión, se utiliza el análisis estadístico para determinar el 95% de los límites de confianza de los parámetros de Arrhenius. Si sólo se dispone de tres valores  $k$ , el rango de confianza normalmente es grande. Para obtener límites de confianza estrecha y significativa en  $E_a$  y  $K_a$ , se necesita velocidad a más temperaturas. Se ha propuesto que cinco o seis temperaturas experimentales dan el cociente óptimo práctico de exactitud, frente a la cantidad de trabajo experimental. Limitándose a tres temperaturas experimentales debido al coste y/o dificultad de disponer incubadoras a seis temperaturas constantes, pueden utilizarse diversos métodos estadísticos para aumentar la exactitud, uno de los cuales es considerar cada par de datos (punto) como una estimación independiente de  $k$  (FENNEMA, 2000).

#### **2.7.2.2. Determinación de los parámetros cinéticos**

SINGH (1996); citado por TORRES (2003) aclara que para describir la influencia de la temperatura en la velocidad de reacción, como por el uso de la expresión de Arrhenius, es necesario saber los valores de los parámetros cinéticos como la constante de velocidad y energía de activación. Dos procedimientos son normalmente empleados para determinar estos parámetros cinéticos:



- El método de regresión lineal involucra plotear el logaritmo de la constante de velocidad contra el recíproco de la temperatura (absoluta). Es necesario obtener las constantes de velocidad para lo menos tres temperaturas diferentes. Puesto que este ploteo debe ser una línea recta, el procedimiento de la regresión es para determinar la pendiente y el intercepto, y se llega a obtener valores para el factor pre exponencial y la energía de activación.

- Un método de regresión no lineal sugerido por SAGUY y KAREL (1985) es usado para determinar la energía de activación directamente desde la concentración o del nivel de un atributo de calidad. Este método evita la determinación de las constantes de velocidad. La ventaja de este método es el uso de puntos de los datos originales relacionado a variación de atributos de calidad calculado los parámetros cinéticos deseados.

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

#### **3.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de: Análisis de alimentos, Ingeniería de alimentos y Procesamiento mínimo, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, en la ciudad de Tingo María, ubicado a 660 msnm, a 09° 18' 09" de Latitud Sur, a 75° 59' 56" de Longitud Oeste, con una temperatura y humedad relativa promedio de 27°C y 84.5 % respectivamente, en el Distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Región de Huánuco.

#### **3.2. Materiales**

##### **3.2.1. Materia prima**

Como materia prima se utilizó la manteca MANPAN, adquirida de Industrias del Espino S.A.

##### **3.2.2. Materiales de laboratorio**

- Matraz Erlenmeyer de vidrio con tapa de 25, 50 y 250 mL.
- Vaso de precipitación de 25 mL .
- Probeta de 100 mL.
- Bureta de 10 mL.
- pastilla magnética.

- Varilla de metal y de vidrio.
- Pipetas de 1, 2, 5, 10 mL.
- Frascos color ámbar (50, 500 y 1000 mL).
- Papel aluminio
- Cubeta de cuarzo
- Bombilla

### **3.2.3. Equipos**

- Espectrofotómetro de marca espectral, Modelo Genesys 6
- Tres estufas con control de temperatura
- Termómetro 0 - 100°C
- Balanza analítica, marca ADAM, modelo pw 254, de 0 – 250 g de capacidad. exactitud 0,0001g.
- Agitador (Marca VWR; Stir. 60-1600 rpm).
- Termómetro digital, de 0 a 100°C.

### **3.2.4. Reactivos**

- Tiosulfato de sodio 0,02 N.
- Yoduro de potasio
- Ácido acético glacial
- Cloroformo
- Almidón soluble 1%
- Agua destilada
- Alcohol 96%
- Isooctano (2.2.4 trimetilpentano)

### 3.3. Métodos de análisis

#### 3.3.1. Índice de peróxido por el método de la AOAC (1995).

- Se pesa con exactitud  $5,00 \pm 0,05$  g de manteca o extracto lipídico de la muestra en un matraz de 250 mL
- Añadir 30mL de la mezcla de 3:2 ácido acético / cloroformo en el matraz en previo movimiento hasta que la manteca se disuelva.
- Utilizar una pipeta de 2mL para añadir 0,5mL de solución saturada de yoduro de potasio en el matraz.
- Utilizar un agitador magnético por uno a dos minutos, luego añadir 30ml de agua destilada en el matraz.
- Utilizar una pipeta de 1 mL para añadir 0,5mL de solución de almidón al 1% indicador.
- Utilizar una bureta de vidrio de 10mL de capacidad para titular, añadir poco a poco tiosulfato de sodio 0,02N
- Continuar la titulación, agitando enérgicamente el matraz cerca del punto final para liberar todo el yodo de la capa de cloroformo. Añadir gota a gota la solución de tiosulfato de sodio hasta que el color violeta desaparece. Registrar el volumen total de tiosulfato de sodio añadido.
- Llevar a cabo una determinación en blanco de los reactivos siguiendo los pasos(es decir sin la adición de la muestra de manteca o extracto lipídico).
- La medición de un blanco sólo necesita ser llevado a cabo una sola vez por día experimental.

- Calcular el valor actual utilizando la siguiente ecuación:

$$PV = ((S - B) * N * 1000) / W$$

Donde: S es volumen (mL) de tiosulfato de sodio requerido para valorar la muestra, B es volumen (mL) de tiosulfato de sodio requerida para el blanco, N es la normalidad calculada de la solución de tiosulfato de sódico normalizado y W es el peso de la muestra (g).

De esta ecuación el PV se expresa como meq. de oxígeno activo / kg de la muestra y es igual a oxígeno activo mmol / kg de muestra.

### **3.3.2. Pruebas espectrofotométrica ultravioleta a 233 y 268 nm**

Se realizó por el método ISO (2002). El cual se describe a continuación.

- Se pesa con exactitud (y registrar el peso de) 0,01g de manteca o extracto lipídico de la muestra en un matraz aforado de 25 mL.
- Disolver muestra en 2,2,4-trimetilpentano (Isooctano) y llevar enrasar.
- Utilizar un agitador magnético por uno a dos minutos para ayudar a la disolución de la muestra.
- Encienda el espectrofotómetro y ajustar la longitud de onda de 233nm para la medición de dienos conjugados (CD). Deje calentar el instrumento  $\geq 30$  minutos antes de tomar cualquier lectura.

- Poner a cero el espectrofotómetro con blanco de disolvente (es decir, 2,2,4-trimetilpentano) utilizando una cubeta de cuarzo.
- Medir la absorbancia de la muestra de manteca disuelta utilizando una cubeta de cuarzo.
- Repita las mediciones de absorbancia a 268nm para la determinación de trienos conjugados (TC).

### **3.4. Metodología experimental**

#### **3.4.1 Evaluación durante el almacenamiento de la manteca vegetal.**

Las muestras de manteca fueron envasadas en envases PET de 250 mL, y almacenadas a temperatura ambiente 30, 40, 60 y 80°C, se evaluó el índice de peróxido y prueba espectrofotométrica en la región ultravioleta, las temperaturas y tiempos están apoyados en trabajos de investigación realizados por (TORRES, 2003).

##### **•Evaluación del índice de peróxido.**

Se evaluó cada 72 horas durante 40 días el índice de peróxido en las muestras de manteca almacenadas a diferentes temperaturas.

##### **•Evaluación espectrofotométrica en región ultravioleta.**

Se evaluó el coeficiente de extinción específica a dos longitudes de onda  $\lambda_{233\text{nm}}$  y  $\lambda_{268\text{nm}}$ , durante 40 días en las muestras de manteca almacenadas a diferentes temperaturas.

### 3.4.2 Determinación de los parámetros de cinética.

#### •Determinación del orden de reacción (n), y constante de velocidad de reacción (K)

Se empleó el modelo de integración, planteado por LABUZA (1979), y aplicado por ALVARADO (1996), para determinar el orden de reacción de deterioro de las muestras de aceite según los factores de calidad evaluados. Este método consiste en elegir un orden de reacción (n) igual a cero, uno y dos e integrar la ecuación:  $\frac{dA}{dt} = kA^n$

Para n=0 se tiene:  $A = A_0 + Kt$

Para n=1 se tiene:  $\ln A = \ln A_0 + Kt$

Para n=2 se tiene:  $\frac{1}{A} = \frac{1}{A_0} + Kt$

En las ecuaciones obtenidas se remplazara los valores experimentales de A y t, se regresiona linealmente, para luego poder escoger el modelo que mejor ajuste a lo planteado en base al coeficiente de correlación (R<sup>2</sup>) obtenido del análisis de regresión lineal aplicado.

Determinando el orden de reacción para cada grupo de valores mediante la regresión lineal, se determina el valor de la constante de velocidad de reacción (k) que es igual al valor de la pendiente de dicha regresión.

- **Determinación la energía de activación (Ea), usando el modelo Arrhenius.**

La ecuación de Arrhenius relaciona la constante de velocidad de reacción (k) con la temperatura.

$$K = K_0 e^{\frac{E_a}{RT}} \quad \text{Ln } K = \text{Ln}K_0 - \frac{E_a}{R(T)}$$

Los valores de la constante de velocidad de reacción obtenidos experimentalmente a sus respectivos temperaturas en grados Kelvin (°K), se ajustan al modelo de Arrhenius por regresión, luego en esta ecuación reemplazamos en el valor de  $R = 1,98717 \text{ cal.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ , y se despeja la energía de activación Ea.

### **3.4.3. Simulación de la oxidación de la manteca MANPAN a diferentes temperaturas de almacenamiento.**

Con la ecuación de Arrhenius obtenido, se predice el valor de K a las posibles temperaturas de almacenamiento.

El valor obtenido de k es reemplazado en la ecuación de pérdida de calidad ya determinada anteriormente, según el orden de reacción que más se ajustan a los valores experimentales, con los valores iniciales de los parámetros de calidad evaluadas ( $A_0$ ), se simulo cada 240 horas (10 días), en el caso de índice de peróxido hasta alcanzar los valores límites de calidad establecidos por normas nacionales e internacionales, para el índice de peróxido que es 10meq  $O_2$ /Kg de grasa según Codex Alimentarius (1992).



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. Evaluación del índice de peróxido durante el almacenamiento.

Los resultados obtenidos de la evaluación de Índice de Peróxido se muestran en el cuadro 4 y figura 5.

Cuadro 4. Variación del índice de peróxidos en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca vegetal marca MANPAN.

Tiempo (horas)	Índice de peróxido (mg O <sub>2</sub> / Kg grasa)			
	30°C	40°C	60°C	80°C
0	0,2000	0,1999	0,2000	0,1993
72	0,1994	0,3449	0,3105	0,4791
144	0,2121	0,3983	0,5181	0,7050
216	0,2931	0,4250	0,5832	0,7990
288	0,3282	0,4887	0,7738	1,1554
360	0,3999	0,5994	0,9448	1,4303
432	0,4800	0,7198	1,1553	1,8044
504	0,4981	0,7997	1,4658	2,3985
576	0,5431	0,8797	1,5995	2,8534
648	0,5881	0,9171	1,9992	3,1278
720	0,6331	1,0176	2,2420	3,5022
792	0,7249	1,1563	2,6081	3,7991
864	0,7646	1,0912	3,3072	5,2000
936	0,7332	1,1331	4,2780	8,1307
1008	0,7996	1,2221	4,6336	9,6709
1080	0,7996	1,2690	4,9605	13,1656
1152	0,8219	1,4173	5,5623	13,7249
1224	0,8362	1,4728	6,0441	18,6075

Fuente: Evaluación propia

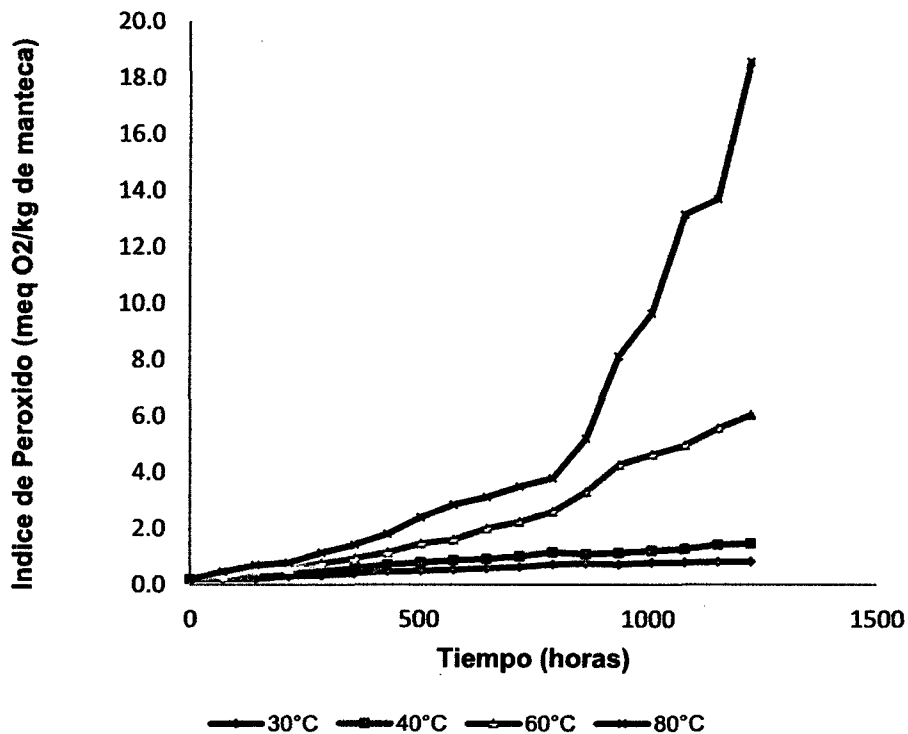


Figura 5. Variación del índice de peróxido de manteca MANPAN en almacenamiento a diferentes temperaturas.

Se observa que el desarrollo de los hidroperóxidos conocidos como peróxidos comienza de forma lenta y luego se incrementa con mayor velocidad. Los lípidos expuestos al aire reaccionan lentamente en un inicio, pero una vez que la rancidez se ha iniciado la velocidad de formación de peróxidos se incrementa resultando la formación de aldehídos y cetonas que dan a la grasa el sabor rancio seboso.

Según GUSTONE (2004), la manteca tiene un grado de resistencia frente a la oxidación lipídica durante los primeros días de elaborado un alimento, e incrementándose de manera progresiva a partir de la segunda semana de almacenamiento.

Así mismo cabe indicar que una grasa que al estar compuesta casi en su totalidad de ácidos grasos saturados tienda a oxidarse menos durante el transcurso del tiempo, (CALVO, 2010).

Un aumento de la temperatura es indeseable, dado su afecto de aceleración de cada una de las etapas del proceso de oxidación de los lípidos como lo manifestado por (POKORNY *et al.*, 2001).

#### **4.2. Determinación de la influencia de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la formación de peróxidos.**

Los resultados mostrados en el cuadro 4 de la formación de peróxidos en almacenamiento a diferentes temperaturas se analizaron estadísticamente para evaluar el grado de influencia de la temperatura y el tiempo de almacenamiento en el deterioro de la manteca. Para ello se usó un diseño completo al azar con arreglo factorial, el análisis de varianza (ANVA) se muestra en el anexo 1.

Se encontró un efecto altamente significativo de la temperatura ( $P_{\text{valor}} = 0,00$ ) y del tiempo de almacenamiento ( $P_{\text{valor}} = 0,00$ ) en la formación de peróxidos de la manteca MANPAN.

En el cuadro 5, se muestra la comparación de medias del índice de peróxido por efecto de la temperatura, por el método de Tukey.

Cuadro 5. Efecto de la temperatura, en el índice de peróxido en almacenamiento de la manteca MANPAN.

Temperatura de almacenamiento T(°C)	Cantidad	Promedio Índice de Peróxido(meq O <sub>2</sub> /kg de aceite)
30	54	0,547513 <sup>a</sup>
40	54	0,864011 <sup>b</sup>
60	54	2,39921 <sup>c</sup>
80	54	5.04185 <sup>d</sup>

Los valores representan el promedio, los datos provienen del experimento (n=54) valores con superíndices diferentes indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), por Tukey

Del cuadro 5, podemos afirmar que a medida que la temperatura se incrementa la formación de peróxidos es mayor, lo que indica que la temperatura acelera el proceso de oxidación de la grasa, como lo indicado por FENEMA 2000, y POKORNY *et al.* 2001.

#### 4.3. Determinación de los parámetros de cinética para la formación de peróxidos.

Según ADACHI *et al.* (1995), revisaron la cinética de las reacciones químicas incluidas en el desarrollo de la rancidez oxidativa e informaron que hasta entonces, por ser la autooxidación un proceso bastante complejo que tiene lugar a través de las etapas de iniciación, propagación y terminación, la cinética era analizada en cada una de las etapas en forma individual.

Generalmente los modelos cinéticos para la oxidación se basaron en sistemas modelos simples o lípidos puros y las diferencias de ajuste a los mismos comienzan a aparecer cuando estos modelos son extrapolados a sistemas cárnicos complejos, y a esto se le agrega el hecho de que a elevadas temperaturas la descomposición oxidativa de los mismos se desarrolla rápidamente, encontrándose ciertas diferencias entre temperaturas de oxidación altas y bajas (HENDERSON, 1980).

En la figura 5, se observa que la formación de peróxidos al inicio es lenta, luego se acelera rápidamente a 80°C, considerando lo manifestado por ADACHI *et al.* (1995), respecto a que el estudio se realizó por etapas, y lo manifestado por HENDERSON (1980), con respecto a las temperaturas altas.

Considerando que un estudio más allá del límite permitido no tiene una utilidad práctica, por lo que se consideró para los cálculos de cinética 33 días (792 horas) lo cual se reporta en el Cuadro 6 y figura 6.

Cuadro 6. Variación del índice de peróxido en almacenamiento durante 792 horas (33 días) a diferentes temperaturas, para la manteca vegetal de la marca MANPAN.

Tiempo (horas)	Índice de peróxido (mg O <sub>2</sub> / Kg grasa)			
	30°C	40°C	60°C	80°C
0	0,2000	0,1999	0,2000	0,1993
72	0,1994	0,3449	0,3105	0,4791
144	0,2121	0,3983	0,5181	0,7050
216	0,2931	0,4250	0,5832	0,7990
288	0,3282	0,4887	0,7738	1,1554
360	0,3999	0,5994	0,9448	1,4303
432	0,4800	0,7198	1,1553	1,8044
504	0,4981	0,7997	1,4658	2,3985
576	0,5431	0,8797	1,5995	2,8534
648	0,5881	0,9171	1,9992	3,1278
720	0,6331	1,0176	2,2420	3,5022
792	0,7249	1,1563	2,6081	3,7991

Fuente: Elaboración propia

Según ROMERO *et al.* (2000), reportaron que los peróxidos presentan una mayor inestabilidad bajo condiciones extremas de temperatura y estos forman productos de oxidación secundaria (compuestos polares, volátiles y polímeros) y al cuantificarlos, éste valor es bajo porque los peróxidos tienden a descomponerse a 180°C.

Según MATISSEK *et al.* (1999), proponen una clasificación de las grasas y aceites sometida a pruebas aceleradas (60°C a 48 h): aceites con un índice de peróxido de 8 a 12 meq kg<sup>-1</sup> se consideran estables. Por lo que la manteca MANPAN está por debajo de lo indicado que nos da una referencia de estabilidad.

La oxidación lipídica al cuarto día en alfajor elaborado con manteca tuvo el menor índice de peróxido con respecto a alfajores elaborados con otro tipo de grasa con un valor de 0,051 m moles de O<sub>2</sub> / Kg de grasa.

(SEVILLANO, 2012)

#### **4.3.1. Determinación del orden de reacción (n) y constante de velocidad de reacción (K) para índice de peróxido (IP)**

El orden de la reacción en un alimento se puede calcular en función de la concentración de los reactantes o de los productos. Se evalúa la velocidad o rapidez de las reacciones de deterioro, expresados como cambios de concentración por unidad de tiempo.

La determinación del índice de reacción (n) y constante de velocidad de reacción (K) se realizó por el método de integración propuesto por LABUZA (2000), para ello se ajustó los datos de peróxido a los diferentes modelos los cuales se muestran en las figuras 6, 7 y 8.

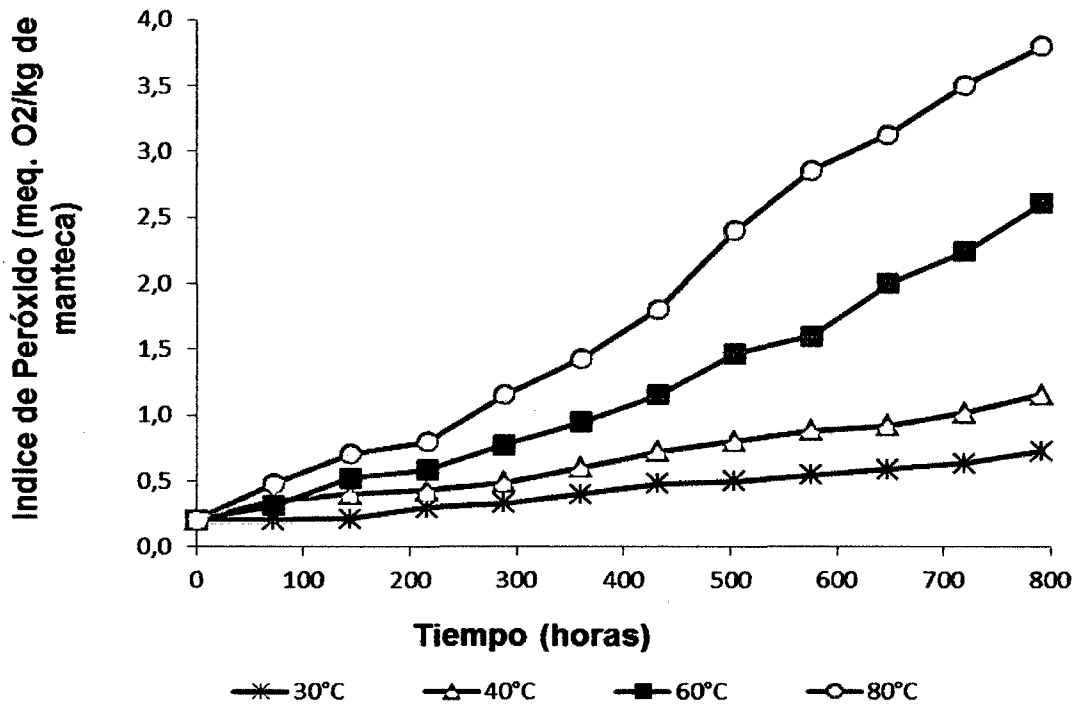


Figura 6. Variación del índice de peróxido en almacenamiento durante 33 días a diferentes temperaturas. (Orden de reacción cero).

Los valores de la figura 6, se ajustan a una ecuación de velocidad de reacción de orden cero:  $IP = IPo + K t$ , donde IP es índice de peróxido,  $IPo$  es Índice de peróxido inicial, K es constante de velocidad de reacción y t es tiempo en horas.



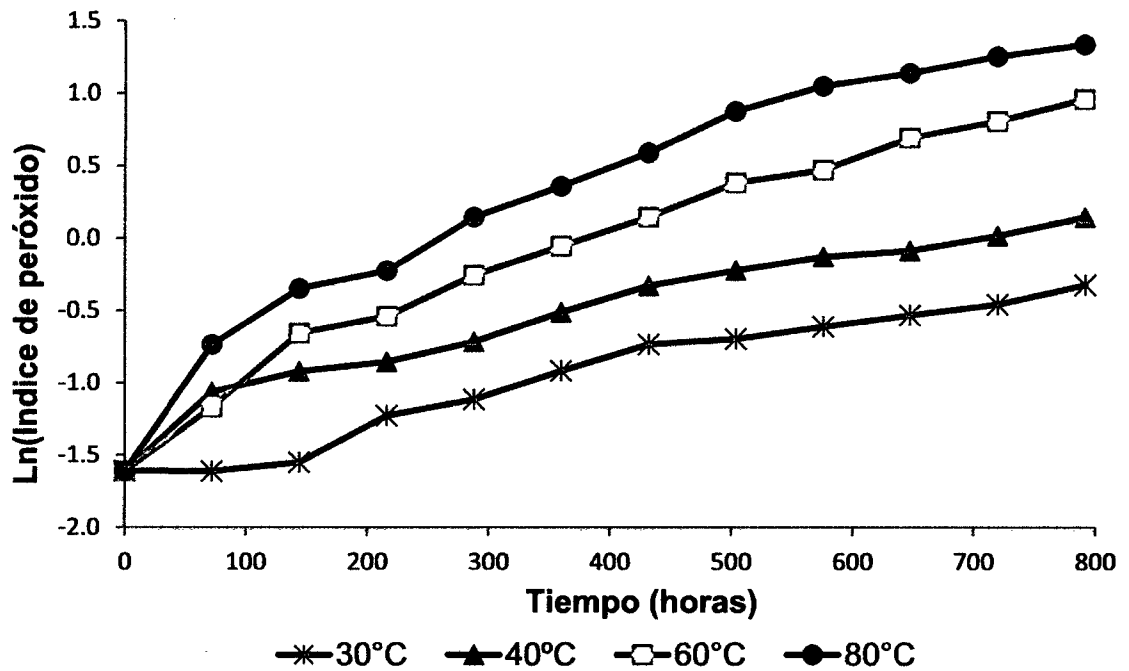


Figura 7. Variación del Ln (Índice de peróxido) en almacenamiento durante 33 días a diferentes temperaturas. (Orden de reacción 1).

Los valores de la figura 6, se ajustan a la ecuación de velocidad de reacción de orden uno:  $\text{Ln IP} = \text{Ln IPO} + K t$  donde Ln IP es Ln del índice de peróxido, Ln IPO es Ln del índice de peróxido inicial, K es constante de velocidad de reacción de orden uno y t es tiempo en horas.

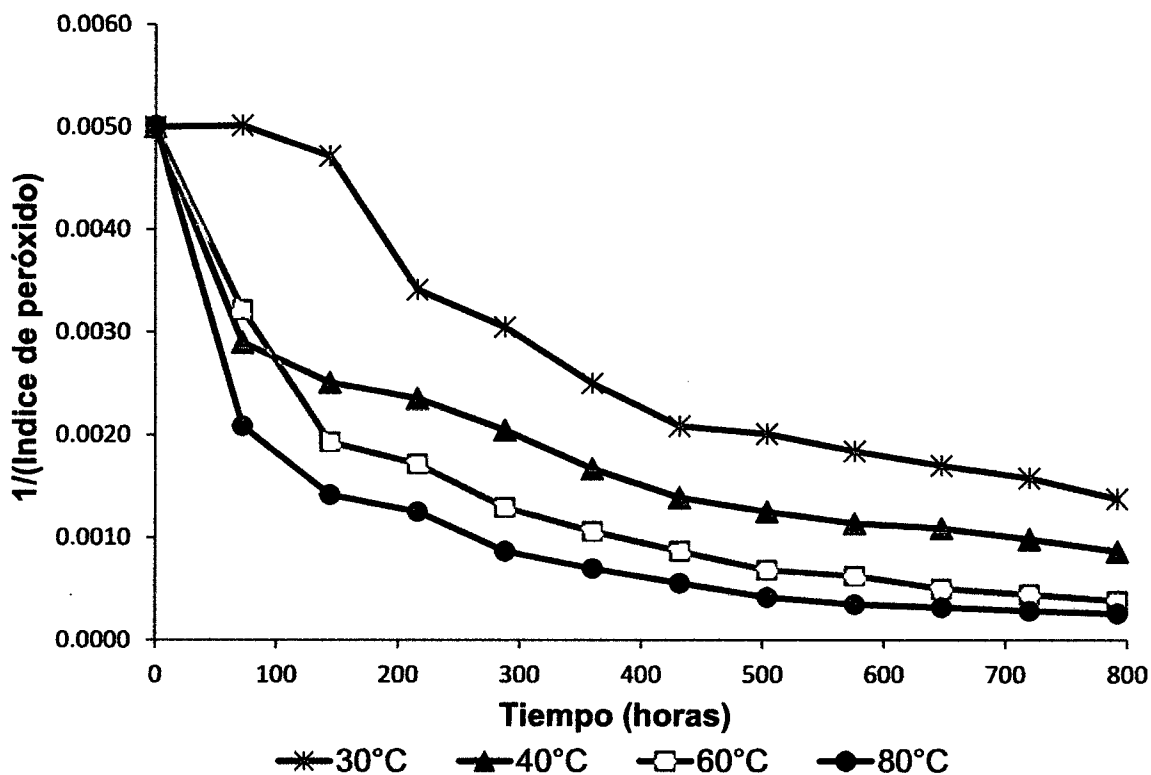


Figura 8. Variación de  $1/\text{Índice de peróxido}$ , en almacenamiento (792 horas) a diferentes temperaturas. (Orden de reacción 2).

Los valores de la figura 7, se ajustan en la ecuación de velocidad de reacción de orden dos:  $\frac{1}{IP} = \frac{1}{IP_0} - K \cdot t$ , donde  $\frac{1}{IP}$  es la inversa del índice de peróxido,  $\frac{1}{IP_0}$  es la inversa del índice de peróxido inicial, K es la constante de velocidad de reacción de orden dos y t es el tiempo en horas.

Los valores del cuadro 6, fueron ajustados a los modelos de la cinética de orden cero, primer orden y segundo orden, el resultado de estos ajustes se muestra en el cuadro 7.

Cuadro 7. Constante de velocidad de reacción (K) de la formación de peróxido de la manteca de palma MANPAN

Temp. T °C	Orden Cero		Orden Uno		Orden Dos	
	K	R <sup>2</sup>	K	R <sup>2</sup>	K	R <sup>2</sup>
30	0,00068707	0,9820	0,00175870	0,9642	0,00501220	0,9012
40	0,00114284	0,9887	0,00195124	0,9430	0,00395548	0,7682
60	0,00299187	0,9726	0,00304282	0,9624	0,00452825	0,7282
80	0,00476593	0,9819	0,00337718	0,9278	0,00399141	0,5921

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 7, se puede observar que el grado de ajuste de los datos experimentales a los diferentes modelos de órdenes de reacción medidos por el coeficiente de correlación R<sup>2</sup>, el modelo de reacción de orden cero tiene el mayor valor para todas las temperaturas, determinándose por lo tanto que la oxidación de la manteca de palma marca MANPAN corresponde a una cinética de orden cero.

Según LABUZA (1982), indica que teóricamente se requiere una sola molécula como radical libre para iniciar la reacción de autooxidación en cadena. Esto explica el hecho de que la cinética de orden cero o de medio orden permita describir la reacción de oxidación de lípidos.

Según SALAZAR *et al.* (2007), los valores de R<sup>2</sup> calculados indicaron que el orden de la reacción que más se adaptó al estudio de cinética de reacción de deterioro del aceite de la semilla de la palma coroba fue de orden cero.

Según GARCIA y MOLINA (2008), el índice de peróxidos en la mayonesa aumenta respecto al tiempo y su comportamiento es lineal, obtenido los resultados en este tiempo las líneas de tendencia tienden acercarse a la unidad.

Según AYALA (2012), el índice de peróxido obtenido en aceite de soya marca palma real almacenado a 30, 40, 50 y 60°C aumenta según el tiempo a las diferentes temperaturas con tendencia lineal.

#### 4.3.2. Determinación de la energía de activación con el método de Arrhenius, para el índice de peróxido (IP)

Las constantes de velocidad de reacción (K) a orden 0, 1 y 2 a diferentes temperaturas acondicionadas para el ajuste del modelo de Arrhenius se muestran en el cuadro 8, y los ajustes en las figuras 9, 10 y 11.

Cuadro 8. Constante de velocidad de reacción (K) de formación de peróxido, acondicionadas para el ajuste al modelos de Arrhenius.

Temperatura			Constante de velocidad de reacción (K)		
T °C	°K	1/°K	Orden cero	1 <sup>er</sup> orden	2 <sup>do</sup> orden
30	300	0,003300	0,00068707	0,00175870	0,00501220
40	313	0,003195	0,00114284	0,00195124	0,00395548
60	333	0,003003	0,00299187	0,00304282	0,00452825
80	353	0,002833	0,00476593	0,00337718	0,00399141

Fuente: Evaluación propia

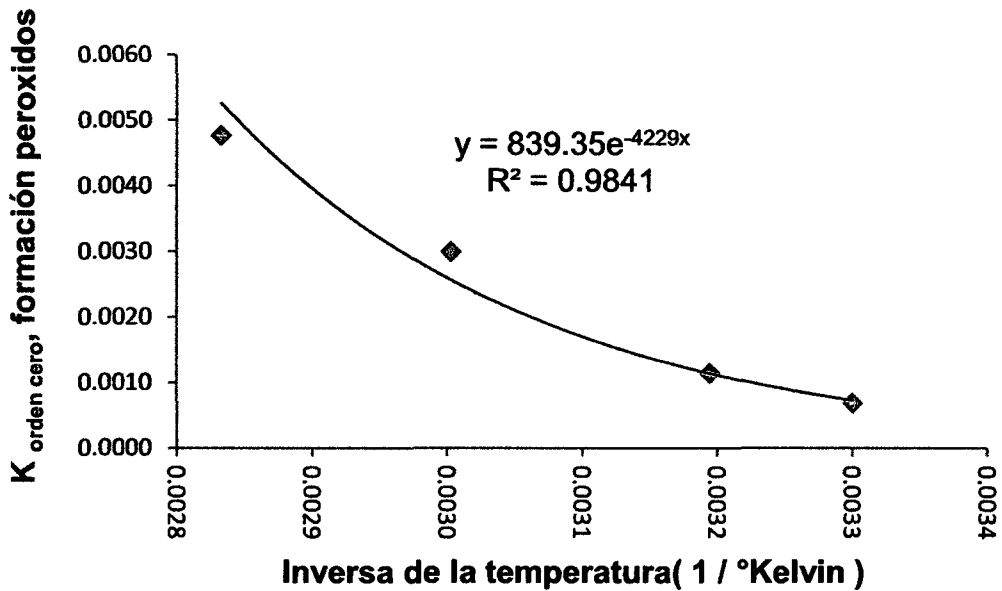


Figura 9. Constante de velocidad de reacción (K) de formación de peróxido de orden cero con la temperatura, ajustada a la ecuación de Arrhenius.

Con los valores de regresión al modelo de Arrhenius se determinó la energía de activación (Ea) el cual se detalla a continuación:

$$\text{Modelo de Arrhenius} \quad : K = K_0 \cdot e^{-Ea/RT}$$

$$\text{Ecuación regresionada: } Y = 839,35 e^{-4229x}$$

$$\text{Entonces: } \frac{Ea}{R} = \frac{Ea}{1,98717 \text{ cal.mol}^{-1} \text{ K}^{-1}} = 4229$$

$$Ea = 4229 \times 1,98717 = 8403,74 \text{ cal/mol}$$

Finalmente:  $Ea_{\text{orden cero}} = 8,4037 \text{ Kcal/mol}$  y  $K_0 (\text{orden cero}) = 839,35 \text{ meq O}_2/\text{h}$

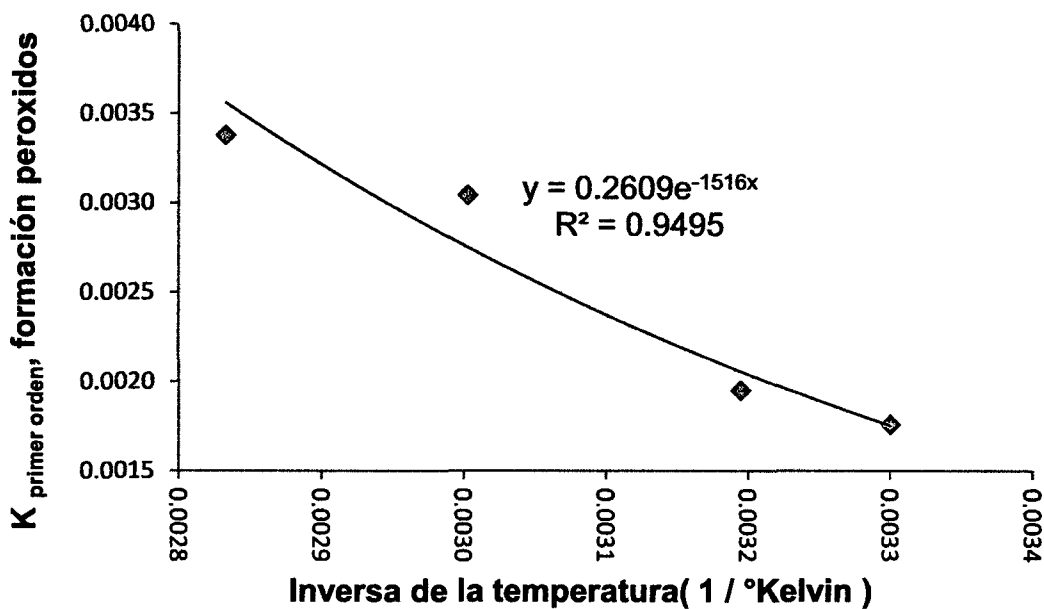


Figura 10. Constante de velocidad de reacción (K) de formación de peróxido de primer orden con la temperatura, ajustada a la ecuación de Arrhenius.

De la figura 10 se obtiene:

$$E_{a \text{ primer orden}} = 3,01255 \text{ Kcal/mol} \quad \text{y} \quad K_0 (\text{primer orden}) = 0,2609$$

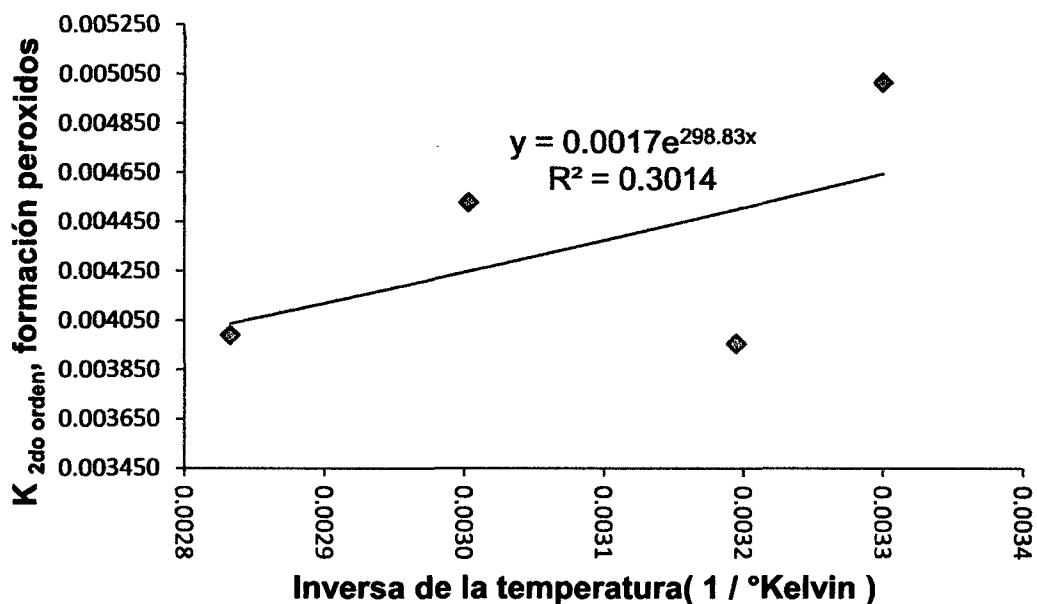


Figura 11. Constante de velocidad reacción (K) de formación de peróxido de segundo orden con la temperatura, ajustada a Arrhenius.

De la figura 11 se obtiene:

$$E_{a \text{ segundo orden}} = 0,5937 \text{ Kcal/mol} \quad \text{y} \quad K_0 (\text{segundo orden}) = 0,0017$$

El ajuste de los valores de velocidad de reacción (K) de diferentes órdenes de reacción al modelo de Arrhenius y la energía de activación se muestra en el cuadro 9.

Cuadro 9. Parámetros de Arrhenius para la formación de peróxidos en la manteca vegetal almacenadas a diferentes temperaturas.

Orden de reacción(n)	Ko	Ea(Kcal/mol)	R <sup>2</sup>
Orden Cero	839,35	8,4037	0,984
Orden Uno	0,2609	3,0125	0,949
Orden Dos	0,0017	0,5937	0,301

Del cuadro 9, podemos afirmar que los valores de K que mejor se ajusta al modelo de Arrhenius es de orden cero, el cual coincide con los ajustes del orden de reacción.

Para la simulación de la formación de peróxidos, se debe usar la energía de activación de orden cero.

LABUZA *et al.* (1982) Indican que a pesar de la variabilidad de los datos de ensayo, estos permiten en la mayoría de los casos predecir con bastante exactitud el valor correcto de la vida útil de un alimento y reporta que para variaciones de temperatura entre 30 y 40°C puede existir desviación de la Ea de hasta 4 Kcal/mol entre valores obtenidos.

TORRES *et al* (2001) indican que la energía de activación para reacciones de oxidación de lípidos se encuentra en el ámbito de 41 842 J/mol a 104 605 J/mol.



#### 4.4. Simulación de la cinética de oxidación de la manteca vegetal MANPAN, en función de índice de peróxidos.

##### 4.4.1. Simulación de la constante de velocidad de reacción (K), de peróxido a diferentes temperaturas.

Con la ecuación de Arrhenius, correspondiente a los valores K de orden cero, se simuló las constantes de velocidad de reacción a diferentes temperaturas.

Por ejemplo para 40°C (313 °K)

Modelo Arrhenius  $K = K_0 \cdot e^{-E_a/RT}$  ; obtenido:  $K = 839,35e^{-4229/T}$

Reemplazando la temperatura:

$$K_{40^\circ C} = 839,35e^{-4229/313} \rightarrow K_{40^\circ C} = 0,001138$$

De esta forma, se obtiene los valores a diferentes temperaturas de 10°C a 80°C con intervalo de 5°C, el cual se muestra en el cuadro 10.

Cuadro 10. Valores simulados de la constante de velocidad de reacción (K), de formación de peróxido a diferentes temperaturas.

Temperatura °C	Temperatura °K	K <sub>orden cero</sub> (Simulado)
10	283	0,0002716937
15	288	0,0003521688
20	293	0,0004524563
25	298	0,0005764353
30	303	0,0007285401
35	308	0,0009138065
40	313	0,0011379188
45	318	0,0014072549
50	323	0,0017289319
55	328	0,0021108493
60	333	0,0025617314
65	338	0,0030911672
70	343	0,0037096480
75	348	0,0044286031
80	353	0,0052604317

Fuente: Elaboración propia

Se observa en el cuadro 10 que la constante de velocidad de reacción (K) aumenta de acuerdo al incremento de la temperatura, lo cual corrobora el resultado del análisis estadístico.

#### **4.4.2. Simulación de la formación de peróxidos en almacenamiento a diferentes temperaturas.**

La finalidad de las pruebas aceleradas es obtener información respecto al deterioro del alimento en menos tiempo en que habitualmente ocurriría, en el caso de los aceites y grasas los factores de deterioro de mayor incidencia son la luz y la temperatura, en este estudio se evaluó el efecto de la temperatura, manteniéndose todas las muestra dentro del empaque que lo protege de la luz, manteniendo por lo tanto el nivel de luz constante para todas las muestras.

La simulación del deterioro por oxidación de la manteca MANPAN en función del índice de peróxidos a las posibles temperaturas reales de almacenamiento se muestra en el cuadro 11.

Cuadro 11. Simulación de la formación de peróxidos a posibles temperaturas reales de almacenamiento.

Días	Horas	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
0	0	0,2000	0,2000	0,2000	0,2000	0,2000	0,2000	0,2000
10	240	0,2652	0,2845	0,3086	0,3383	0,3748	0,4193	0,4731
20	480	0,3304	0,3690	0,4172	0,4767	0,5497	0,6386	0,7462
30	720	0,3956	0,4536	0,5258	0,6150	0,7245	0,8579	1,0193
40	960	0,4608	0,5381	0,6344	0,7534	0,8994	1,0773	1,2924
50	1200	0,5260	0,6226	0,7429	0,8917	1,0742	1,2966	1,5655
60	1440	0,5912	0,7071	0,8515	1,0301	1,2491	1,5159	1,8386
70	1680	0,6564	0,7916	0,9601	1,1684	1,4239	1,7352	2,1117
80	1920	0,7217	0,8762	1,0687	1,3068	1,5988	1,9545	2,3848
90	2160	0,7869	0,9607	1,1773	1,4451	1,7736	2,1738	2,6579
100	2400	0,8521	1,0452	1,2859	1,5834	1,9485	2,3931	2,9310
110	2640	0,9173	1,1297	1,3945	1,7218	2,1233	2,6124	3,2041
120	2880	0,9825	1,2142	1,5031	1,8601	2,2982	2,8318	3,4772
130	3120	1,0477	1,2988	1,6117	1,9985	2,4730	3,0511	3,7503
140	3360	1,1129	1,3833	1,7203	2,1368	2,6479	3,2704	4,0234
150	3600	1,1781	1,4678	1,8288	2,2752	2,8227	3,4897	4,2965
160	3840	1,2433	1,5523	1,9374	2,4135	2,9976	3,7090	4,5696
170	4080	1,3085	1,6368	2,0460	2,5519	3,1724	3,9283	4,8427
180	4320	1,3737	1,7214	2,1546	2,6902	3,3473	4,1476	5,1158
190	4560	1,4389	1,8059	2,2632	2,8285	3,5221	4,3670	5,3889
200	4800	1,5041	1,8904	2,3718	2,9669	3,6970	4,5863	5,6620
210	5040	1,5693	1,9749	2,4804	3,1052	3,8718	4,8056	5,9351
220	5280	1,6345	2,0595	2,5890	3,2436	4,0467	5,0249	6,2082
230	5520	1,6997	2,1440	2,6976	3,3819	4,2215	5,2442	6,4813
240	5760	1,7650	2,2285	2,8061	3,5203	4,3964	5,4635	6,7544
250	6000	1,8302	2,3130	2,9147	3,6586	4,5712	5,6828	7,0275
260	6240	1,8954	2,3975	3,0233	3,7970	4,7461	5,9022	7,3006
270	6480	1,9606	2,4821	3,1319	3,9353	4,9209	6,1215	7,5737
280	6720	2,0258	2,5666	3,2405	4,0736	5,0958	6,3408	7,8468
290	6960	2,0910	2,6511	3,3491	4,2120	5,2706	6,5601	8,1199
300	7200	2,1562	2,7356	3,4577	4,3503	5,4455	6,7794	8,3930
310	7440	2,2214	2,8201	3,5663	4,4887	5,6203	6,9987	8,6661
320	7680	2,2866	2,9047	3,6749	4,6270	5,7952	7,2180	8,9392
330	7920	2,3518	2,9892	3,7835	4,7654	5,9700	7,4373	9,2123
340	8160	2,4170	3,0737	3,8920	4,9037	6,1449	7,6567	9,4854
350	8400	2,4822	3,1582	4,0006	5,0421	6,3197	7,8760	9,7585
360	8640	2,5474	3,2427	4,1092	5,1804	6,4946	8,0953	10,0316

Continuación del Cuadro 11

Días	Horas	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
370	8880	2,6126	3,3273	4,2178	5,3187	6,6694	8,3146	10,3047
380	9120	2,6778	3,4118	4,3264	5,4571	6,8443	8,5339	10,5778
390	9360	2,7431	3,4963	4,4350	5,5954	7,0191	8,7532	10,8509
400	9600	2,8083	3,5808	4,5436	5,7338	7,1940	8,9725	11,1240
410	9840	2,8735	3,6653	4,6522	5,8721	7,3688	9,1919	11,3971
420	10080	2,9387	3,7499	4,7608	6,0105	7,5437	9,4112	11,6702
430	10320	3,0039	3,8344	4,8693	6,1488	7,7185	9,6305	11,9433
440	10560	3,0691	3,9189	4,9779	6,2872	7,8934	9,8498	12,2164
450	10800	3,1343	4,0034	5,0865	6,4255	8,0682	10,0691	12,4895
460	11040	3,1995	4,0879	5,1951	6,5638	8,2431	10,2884	12,7626
470	11280	3,2647	4,1725	5,3037	6,7022	8,4179	10,5077	13,0357
480	11520	3,3299	4,2570	5,4123	6,8405	8,5928	10,7271	13,3088
490	11760	3,3951	4,3415	5,5209	6,9789	8,7676	10,9464	13,5819
500	12000	3,4603	4,4260	5,6295	7,1172	8,9425	11,1657	13,8550
510	12240	3,5255	4,5105	5,7381	7,2556	9,1173	11,3850	14,1281
520	12480	3,5907	4,5951	5,8467	7,3939	9,2922	11,6043	14,4012
530	12720	3,6559	4,6796	5,9552	7,5323	9,4670	11,8236	14,6743
540	12960	3,7212	4,7641	6,0638	7,6706	9,6419	12,0429	14,9474
550	13200	3,7864	4,8486	6,1724	7,8089	9,8167	12,2622	15,2205
560	13440	3,8516	4,9331	6,2810	7,9473	9,9916	12,4816	15,4936
570	13680	3,9168	5,0177	6,3896	8,0856	10,1664	12,7009	15,7667
580	13920	3,9820	5,1022	6,4982	8,2240	10,3413	12,9202	16,0398
590	14160	4,0472	5,1867	6,6068	8,3623	10,5161	13,1395	16,3129
600	14400	4,1124	5,2712	6,7154	8,5007	10,6910	13,3588	16,5860
610	14640	4,1776	5,3558	6,8240	8,6390	10,8658	13,5781	16,8591
620	14880	4,2428	5,4403	6,9326	8,7774	11,0407	13,7974	17,1322
630	15120	4,3080	5,5248	7,0411	8,9157	11,2155	14,0168	17,4053
640	15360	4,3732	5,6093	7,1497	9,0540	11,3904	14,2361	17,6784
650	15600	4,4384	5,6938	7,2583	9,1924	11,5652	14,4554	17,9515
660	15840	4,5036	5,7784	7,3669	9,3307	11,7401	14,6747	18,2246
670	16080	4,5688	5,8629	7,4755	9,4691	11,9149	14,8940	18,4977
680	16320	4,6340	5,9474	7,5841	9,6074	12,0898	15,1133	18,7708
690	16560	4,6992	6,0319	7,6927	9,7458	12,2646	15,3326	19,0439
700	16800	4,7645	6,1164	7,8013	9,8841	12,4395	15,5519	19,3170
710	17040	4,8297	6,2010	7,9099	10,0225	12,6143	15,7713	19,5901
720	17280	4,8949	6,2855	8,0184	10,1608	12,7892	15,9906	19,8632
730	17520	4,9601	6,3700	8,1270	10,2991	12,9640	16,2099	20,1363

Según SALAZAR *et al.* (2007) el aceite de palma coroba almacenado a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  por 150 días alcanza 15 meq  $\text{O}_2/\text{Kg}$  de muestra y  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$  a los 150 días sobrepasa 15 meq  $\text{O}_2/\text{Kg}$  de muestra. De acuerdo a lo obtenido en la simulación, a 150 días a  $25^{\circ}\text{C}$  tenemos 2,27 IP y a  $35^{\circ}\text{C}$  3,48 IP, lo que indica que la manteca de palma es mucho más estable.

#### 4.5. Evaluación de dienos y trienos (Espectrofotométrico 233 y 268 nm).

##### 4.5.1 Determinación de parámetros cinéticos de evaluación espectrofotométrica a 233 nm

El resultado de la evaluación espectrofotométrica a 233 nm muestra en el cuadro 12, y figura 12.

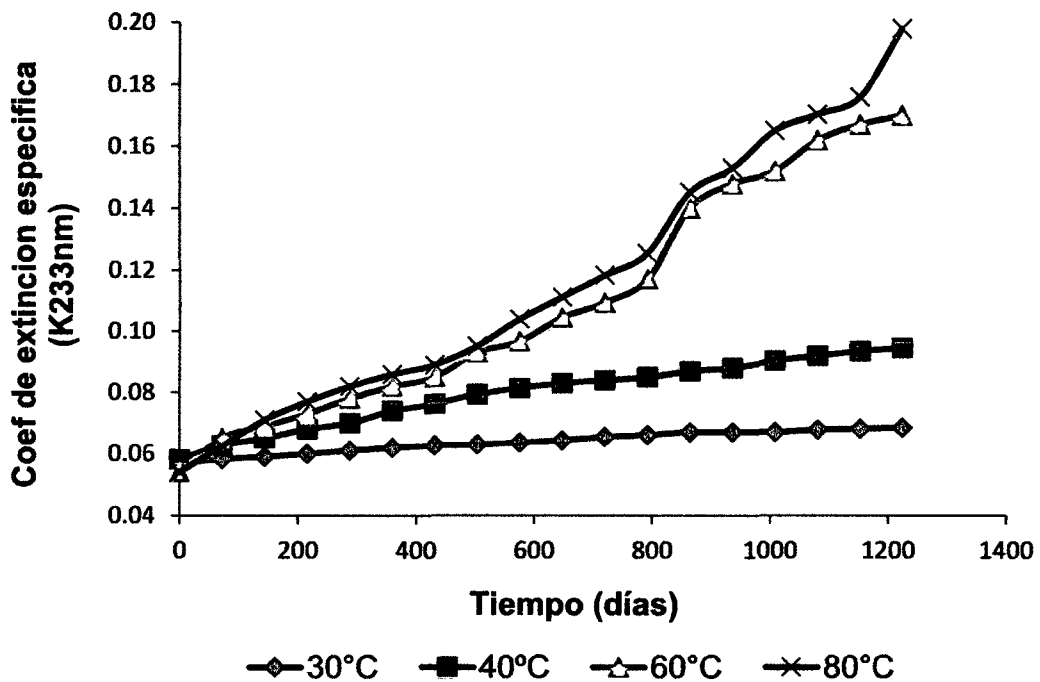


Figura 12. Absorbancia a 233 nm ( $\lambda_{233}$ ) en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca vegetal.

Cuadro 12. Absorbancia a 233 nm ( $\lambda_{233}$ ) en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca MANPAN.

Tiempo Horas	Absorbancia de la prueba espectrofotométrica a 233 nm ( $\lambda_{233}$ )			
	30 °C	40°C	60°C	80°C
0	0,0568	0,0581	0,0540	0,0540
72	0,0582	0,0627	0,0650	0,0625
144	0,0590	0,0650	0,0690	0,0710
216	0,0600	0,0680	0,0730	0,0770
288	0,0610	0,0700	0,0780	0,0820
360	0,0620	0,0740	0,0820	0,0860
432	0,0627	0,0763	0,0850	0,0890
504	0,0629	0,0794	0,0931	0,0951
576	0,0636	0,0814	0,0967	0,1040
648	0,0643	0,0830	0,1045	0,1112
720	0,0654	0,0840	0,1093	0,1184
792	0,0661	0,0850	0,1171	0,1256
864	0,0670	0,0870	0,1400	0,1453
936	0,0670	0,0880	0,1480	0,1531
1008	0,0670	0,0904	0,1520	0,1651
1080	0,0678	0,0920	0,1620	0,1704
1152	0,0681	0,0935	0,1670	0,1760
1224	0,0685	0,0946	0,1700	0,1980

Fuente: Evaluación propia

Los datos del cuadro 12, se ajustó a los modelos de cinética de orden 0, 1 y 2, el resultado de los valores de velocidad de reacción (k) para las diferentes temperaturas y orden de reacción se muestra en el cuadro 13.

Cuadro 13. Constante de velocidad de reacción (K) de la evaluación espectrofotométrica a 233 nm, de la manteca de palma MANPAN

Temperatur						
a.	Orden Cero		Orden Uno		Orden Dos	
T °C	K	R <sup>2</sup>	K	R <sup>2</sup>	K	R <sup>2</sup>
	0,0000093		0,0001480		0,0023490	
30	5	0,9718	6	0,9643	7	0,9557
	0,0000285		0,0003703		0,0048705	
40	3	0,9712	2	0,9469	6	0,9148
	0,0000979		0,0009242		0,0093722	
60	4	0,9700	9	0,9864	9	0,9539
	0,0001107		0,0009905		0,0096611	
80	1	0,9728	4	0,9908	6	0,9437

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo al valor de R<sup>2</sup> la formación de dienos conjugados (233 nm) para los diferentes órdenes de reacción, la formación de dienos corresponde a un orden de reacción de orden cero, con los valores de constante de velocidad



de reacción, se determine al el valor de energía de activación, el cual se muestra en la figura 13.

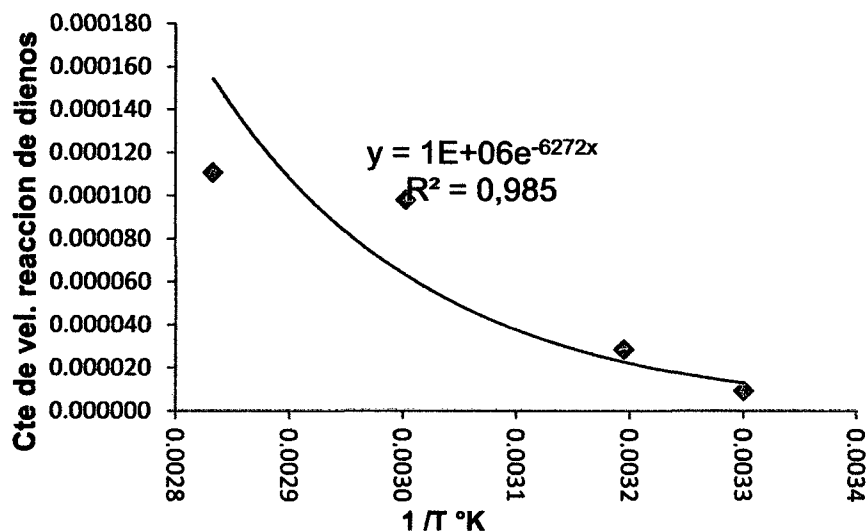


Figura 13. Constante de velocidad de reacción (K) de formación de dienos (Absorbancia 233nm), ajustada a la ecuación de Arrhenius.

Con el valor del ajuste al modelos de Arrhenius se determinó la energía de activación  $E_a = 12,4635.\text{Kcal/mol}$

Los valores encontrados a (233nm) por AYALA (2012), es  $E_a = 12,46 \text{ Kcal/mol}$  por lo que es similar a los valores obtenidos en los resultados, y encontrando diferencia en los valores de  $E_a = 9,5364 \text{ kcal/mol}$  por VERGARA (2006).

#### 4.5.2. Determinación de parámetros cinéticos de evaluación espectrofotométrica a 268 nm.

El resultado de la evaluación espectrofotométrica a 268 nm de la manteca MANPAN durante el almacenamiento a diferentes temperaturas se muestra en el cuadro 14 y figura 14.

Cuadro 14. Absorbancia a 268 nm ( $\lambda_{268}$ ) en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca MANPAN.

Tiempo horas	Absorbancia de la prueba espectrofotométrica a 268 nm ( $\lambda_{268}$ )			
	30 °C	40°C	60°C	80°C
0	0,010000	0,010000	0,010000	0,010000
72	0,010408	0,012000	0,011947	0,011860
144	0,011000	0,012464	0,012760	0,013153
216	0,011174	0,012963	0,013573	0,014910
288	0,011560	0,013328	0,014290	0,017000
360	0,011813	0,013730	0,015150	0,017000
432	0,011996	0,014192	0,016010	0,018000
504	0,012112	0,014424	0,016870	0,019000
576	0,012545	0,014856	0,018000	0,020053
648	0,012946	0,015244	0,018580	0,021493
720	0,013000	0,015647	0,018600	0,022933
792	0,013371	0,016026	0,018920	0,024373
864	0,013649	0,016484	0,022000	0,026590
936	0,014000	0,016916	0,022730	0,030000
1008	0,014000	0,017348	0,023340	0,032000
1080	0,014167	0,018000	0,024750	0,033250
1152	0,014407	0,018308	0,025610	0,036470
1224	0,014647	0,018596	0,029000	0,038690

Fuente: Evaluación propia

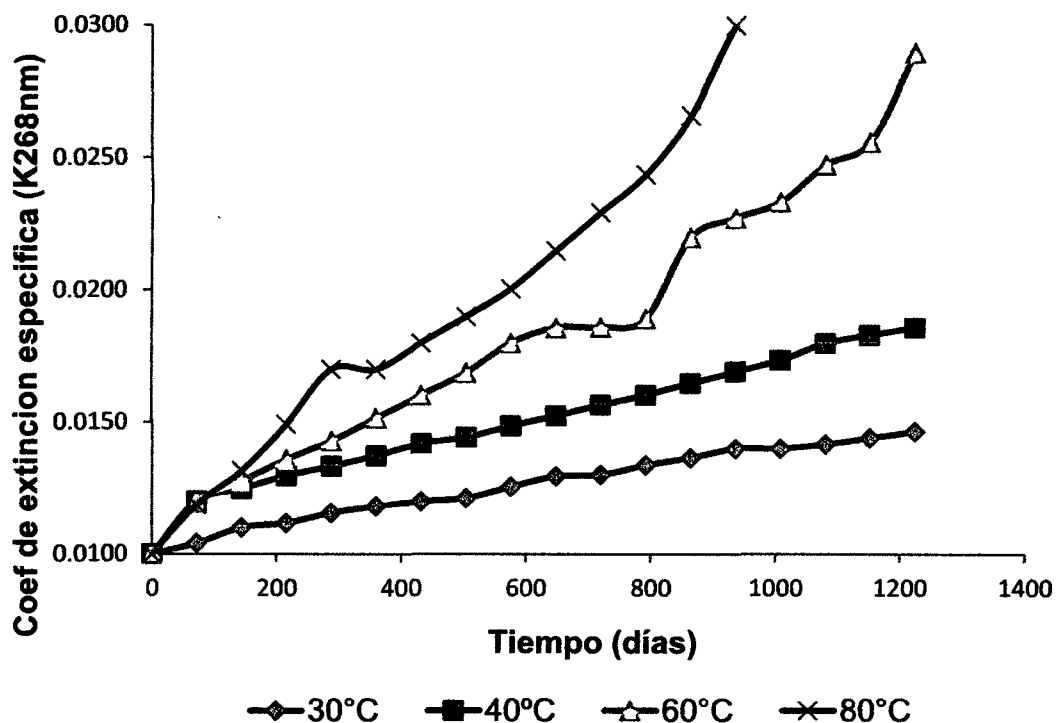


Figura 14. Absorbancia a 268 nm ( $\lambda_{268}$ ) en almacenamiento a diferentes temperaturas, para la manteca vegetal.

Cuadro 15. Constante de velocidad de reacción (K) de la evaluación espectrofotométrica a 268 nm, de la manteca de palma MANPAN

Temperatura. T °C	Orden Cero		Orden Uno		Orden Dos	
	K	R <sup>2</sup>	K	R <sup>2</sup>	K	R <sup>2</sup>
30	0,00000367	0,9867	0,00029604	0,9746	0,02407779	0,9568
40	0,00000610	0,9766	0,00041808	0,9454	0,02921821	0,8926
60	0,00001341	0,9731	0,00074621	0,9788	0,04386497	0,9330
80	0,00002201	0,9700	0,00101336	0,9851	0,05140495	0,9186

Fuente: Elaboración propia

Los valores del coeficiente de correlación  $R^2$  mayor es el orden cero  $R^2 = 0,990$ , por lo que el orden de reacción para la evaluación espectrofotométrica a 268nm es de orden cero.

Con los valores de  $K$  corresponden al orden cero se ajusta a la ecuación de Arrhenius, el cual se muestra en la figura.

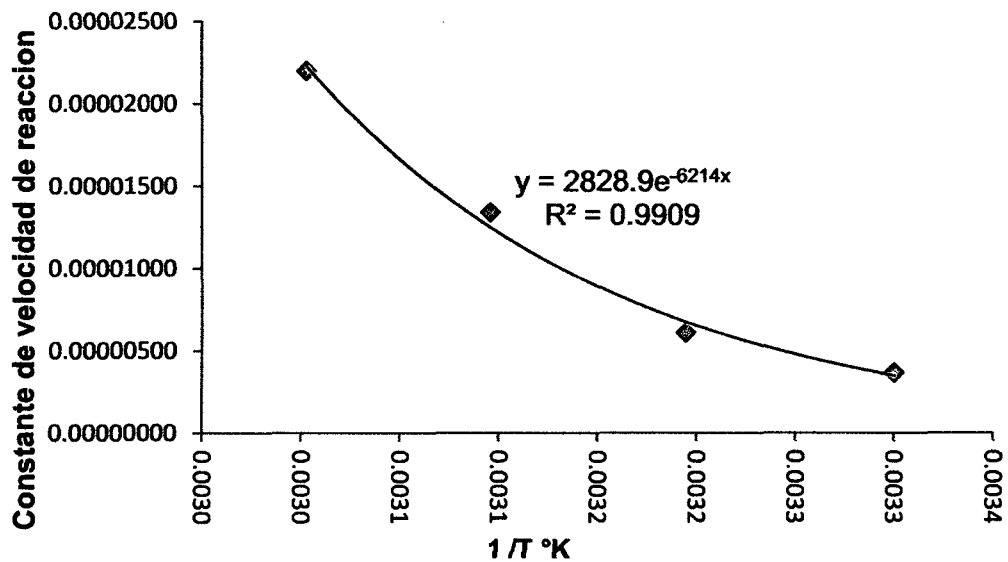


Figura 15. Constante de velocidad de reacción ( $K$ ) de formación de dienos (Absorbancia 268nm), ajustada a la ecuación de Arrhenius.

Con la ecuación regresionada de la figura 15, se determinó la Energía de activación  $E_a = 12,3483$  Kcal/mol.

Para las cuatro temperaturas de trabajos parte de los hidroperóxidos se descomponen en productos secundarios produciendo aldehído y cetonas durante el proceso de inducción en la cual encontramos valores cercanos a los de producto primario.

#### 4.5.3. Resumen de los Parámetros cinéticos de evaluación espectrofotométrica a 233nm (dienos) y 268nm (trienos).

De los ítems 4.5.1 y 4.5.2 se determinó los parámetros cinéticos para la formación de dienos y trienos en la manteca de palma marca MANPAN, resumen del cual se muestra en el cuadro 16.

Cuadro 16. Parámetro de Arrhenius para la formación de dienos y trienos en la manteca vegetal almacenadas a diferentes temperaturas.

Orden de reacción(n)	Ko	Ea(Kcal/mol)	R <sup>2</sup> (Arrhenius)
<b>Dienos (233nm)</b>			
Orden Cero	1000000	12,463	0,985
Orden Uno	17550	10,239	0,980
Orden Dos	36368	8,145	0,968
<b>Trienos (268nm)</b>			
Orden Cero	2828	12,348	0,990
Orden Uno	431,2	8,562	0,985
Orden Dos	178	5,377	0,971

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro 16. Se puede notar que el orden de reacción es igual que el de formación de peróxidos que es de orden cero.

## V. CONCLUSIONES

- La temperatura tiene efecto en el deterioro de la manteca MANPAN, medido por el índice de peróxido y prueba espectrofotométrica, siendo el efecto altamente significativo ( $P_{\text{valor}} = 0,00$ ) para la formación de peróxidos.
- La cinética de deterioro de la manteca MANPAN corresponde a orden de reacción cero, con  $R^2 = 0,9813$  (índice de peróxido),  $R^2 = 0,9714$  ( $\lambda_{233\text{nm}}$ ) y  $R^2 = 0,9766$  ( $\lambda_{268\text{nm}}$ ) en la región ultravioleta.
- Los valores de la constante de velocidad de reacción para la manteca marca MANPAN, simulados a  $20^\circ\text{C}$  son fueron:  $K_{20^\circ\text{C}} = 0,0004524563$  meq  $\text{O}_2/\text{hora}$ , para índice de peróxido,  $K_{20^\circ\text{C}} = 0,0005051612$  absorbancia para  $233 \text{ nm}$ ,  $K_{20^\circ\text{C}} = 0.00000174132$  absorbancia para  $268 \text{ nm}$ .
- La energía de activación obtenida son:  $E_a = 8,4037 \text{ Kcal/mol}$  (índice de peróxido),  $E_a = 12,463 \text{ Kcal/mol}$  (prueba espectrofotométrica a  $233\text{nm}$ ),  $E_a = 12,348 \text{ Kcal/mol}$  (prueba espectrofotométrica a  $268\text{nm}$ ).
- Con los parámetros de cinética obtenidos, se simulo la formación de peróxidos, siendo el tiempo necesario para llegar al límite de peróxidos ( $10 \text{ meqO}_2/\text{Kg}$  de muestra) los siguientes:  
  
 $10^\circ\text{C}$  el tiempo aproximado es  $1502$  días.

15°C el tiempo aproximado es 1159 días.

20°C el tiempo aproximado es 902 días.

25°C el tiempo aproximado es 708 días.

30°C el tiempo aproximado es 560 días.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Estudiar el efecto de oxidación de la manteca MANPAN con otros tipos de envase.
- Evaluar la viscosidad de la manteca MANPAN antes y después de someterlo a diferentes temperaturas.
- Evaluar el efecto de la luz en la manteca MANPAN con preservantes y sin preservantes.
- Se recomienda a la empresa Palma del espino, usar los parámetros de cinética para predecir la formación de peróxidos a las temperaturas distribución y comercialización.



## VII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- ADACHI, S.; ISHIGURO, T.; MATSUNO, R. 1995. Autoxidation kinetics for fatty acids and their esters. Journal of American Oil Chemistry Society., 72, 547-551
- ALVARADO, J. 1996. Principios de ingeniería a alimentos. Secretaria general de la OEA. Programa Regional de Desarrollo Científico y tecnológico. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.
- AYALA, G. 2012. Simulación del tiempo de vida útil del aceite de soya (glycine max), utilizando pruebas aceleradas. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Perú-Tingo María.
- AYAR, A. ET. AL (2001). Estabilidad de la grasa y efecto en los extractos de soya, Rosemary y oregano.
- BARAONA, M. y SANCHO, E. 2000. Fruticultura general. Editorial EUNDED, San José, Costa Rica.
- BOSKU, F. D., (2002) aceite vegetal en tecnología de alimento: composición propiedades, y usos. Florida.
- CALVO, Z. 2010. Fraccionamiento de estearina de palma a nivel de planta piloto en la empresa industrias del espino S.A. Tingo María – Perú. P. 75.

CASP, A. & APRIL, J. (1999). *Procesos de conservación de alimentos*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.

CITA, 2005. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. *Curso teórico práctico: Vida útil de alimentos aplicados a la industria*. San José Costa Rica.

CODEX ALIMENTARIUS. 1992. Norma del Codex para el aceite de sesame comestible. Codex Stan 26-1981(Rev. 1-1989). Vol8.

ESMAM, 2013. Estudio Sectorial Sobre El Mercado De Aceite Y Manteca Vegetal. Honduras.

FENNEMA, O. 2000. Química de los alimentos. Tercera edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. Impreso en España.

GARCIA, C. y MOLINA, M. 2008. Estimacion de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. Costa rica

GUSTONE, D. 2004. Química De Aceites Y Grasas. Ed. CRC. Madrid, España. P. 252.

HARRY, L. 1999. Aeiites y grasas alimentarios tecnología, utilización y nutrición. Editorial acribia S.A. Zaragoza. Impreso en España.

HENDERSON,S.K.;WITCHWOOT,A. and NAWAR,W.W.1980 The Autoxidation of Linoleates at Elevated Temperatures. JAOCS. December : 409-413

- ITINTEC.1986. Norma Técnica Nacional. Aceites y Grasas Comestibles. Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales.
- KUNTZ, L. (1991). Accelerated shelf life testing. Nueva York: Weeks Publishing Co.
- LABUZA, T. 2000a. Accelerated shelf life testing of foods technology. 39 (9): 57.
- LABUZA, T. y RIBOH, D. 1982. Theory and application of Arrhenius kinetics to prediction of nutrient losses in food. Food Technology. 36(10): 66.
- LABUZA, T. & SCHMIDT, M. (1985). Accelerated shelf-life dating of foods. *Food Technology*, 39 (9), 57-134.
- MATISSEK R, SCHNEPEL MF & STERNER G (1999) Análisis de los Alimentos. *En: Fundamentos, Métodos y Técnicas*. Bosch JM (ed). Acribia, España., pp. 297-302.
- POKORNY, J *et al.*, 2001. Antioxidantes de los alimentos. Primera Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. Impreso en España.
- POTTER, N. (1978). *La ciencia de los alimentos* (2a ed.). México D. F: Edutex, S. A.
- PRIMO, E. 1997. Química de los alimentos. Editorial Síntesis S.A. Impreso en España.
- RODRÍGUEZ, V. (2004). Estimación de la vida útil de la harina de pejibaye, obtenida por deshidratación. Tesis para optar por el grado de

Licenciatura en Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

- ROMERO A, CUESTA C & SÁNCHEZ-MUÑIZ FJ (2000) cyclic fatty acid monomers and thermoxidative alteration compounds formed during frying of frozen foods in extra virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77: 1169-1175.
- RONDON, E., PACHECO, E. & ORTEGA, F. (2004). Estimación de la vida útil de un análogo comercial de mayonesa utilizando el factor de aceleración Q10. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, 4(21), 68-83.
- SALAZAR, E., BELEN, D., MARIN, G., MORENO, H. 2007. Cinética de deterioro del aceite de la semilla de la palma coroba. Venezuela.
- TORRES, A., GUERRA, M. & ROSQUETE, Y. (2001). Estimación de la vida útil de una fórmula dietética en función de la disminución de lisina disponible. *Ciencia y Tecnología de Alimentos, Brasil*, 21(2).
- TORRES, J. 2003. Determinación de la estabilidad del aceite de girasol coloreado con achiote mediante pruebas aceleradas. Tesis para optar el título de ingeniero en industrias alimentarias. Lima – Perú.
- VELASQUEZ, J. y GOMEZ, A. 2010. Palma africana en tabasco. Villahermosa – Tabasco.
- VERGARA; G. 2006. Determinación del tiempo de vida en anaquel del aceite virgen de la semilla de ajonjolí (*Sesamum indicum L.*) a

temperatura ambiente y mediante pruebas aceleradas.

Universidad Nacional Agraria la Molina. Perú-Lima.

**ANEXO**

## ANEXO 1

Cuadro 17. Análisis de varianza del efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la formación de peróxidos, en la manteca de palma, marca MANPAN.

<b>Fuente</b>	<b>S.C</b>	<b>Gl</b>	<b>C.M</b>	<b>Razón-F</b>	<b>P<sub>valor</sub></b>
<b>Efectos Principales</b>					
A:Temperatura	682	3	227,352	9758,89	0,0000
B:Tiempo	780	17	45,8884	1969,72	0,0000
<b>Interacciones</b>					
AB	907	51	17,7755	763,00	0,0000
Residuos	3,35476	144	0,0232969		
<b>Total (corregido)</b>	<b>2 372,06</b>	<b>215</b>			

## ANEXO 2

### **Determinación del índice de peróxidos por el método de Oxidación de Hierro (FOX).**

Se pesará de 0,01 a 0,30 g de aceite o extracto lipídico de la muestra en un tubo de ensayo, se añadirá 9,9 ml de solución cloroformo / metanol (7:3). Agitar la muestra 2 a 4 seg. Se encenderá el espectrofotómetro y establecerá la longitud de onda de 560 nm. Se dejará que el instrumento se caliente  $\geq 30$  min antes de tomar cualquier lectura. Se realizará cero en el espectrofotómetro a con un solvente ( cloroformo / metanol solución) el blanco con una cubeta. Se añadirá 50  $\mu$ l de 10 mM xilenol muestra de solución de naranja y se agitará 2 a 4 segundos, y luego añadir 50  $\mu$ l de solución de cloruro de hierro (II) y agitar de nuevo. Se dejará reposar la solución exactamente 5 minutos a temperatura ambiente y después se determinará la absorbancia a 560 nm.

Previamente se construirá una curva estándar mediante la repetición de los pasos anteriores. No debe de existir un aceite de uso o extracto lipídico de la muestra. En lugar de la muestra, se agregan a una serie de tubos de vidrio, diferentes alícuotas de solución patrón (10 $\mu$ g/ml) cloruro de hierro (III), 50 $\mu$ l de solución al 10 mM de naranja xilenol, y lo restante de solución cloroformo / metanol (7:3) a un volumen final de 10 ml.



## ANEXO 3

### **Determinación cualitativa del índice de peróxido en aceites esenciales.**

#### **1. Alcance**

Esta Norma establece el método para determinar los peróxidos orgánicos en los aceites esenciales.

#### **2. Definición.**

Índice de Peróxido: Es la cantidad en microgramos de oxígeno activo, en un gramo de sustancia, que nos indica el grado de envejecimiento en los aceites esenciales.

#### **3. Fundamento**

Este método se basa en la reacción de los peróxidos orgánicos con el ácido vanádico, en medio ácido, produciendo una coloración rosa.

#### **4. Materiales y reactivos**

Los reactivos que a continuación se indican, deben ser grado analítico a menos que se indique otra cosa. Cuando se hable de agua se entiende agua destilada.

- Ácido sulfúrico concentrado.
- Acido vanádico.

Preparación del reactivo de Jorissen. En un matraz volumétrico de 100 ml se disuelven 0.4 g de ácido vanádico en 4 ml de ácido sulfúrico. Se lleva a un

baño de agua, hasta disolución. Cuando ya se ha disuelto el ácido vanádico, se saca del baño y se le agrega agua hasta el aforo. Este reactivo debe ser de color azul verdoso.

## **5. Procedimiento**

En un tubo de ensayo se coloca 1 ml de aceite, se le añade 1 ml de reactivo de Jorissen y se agita bien.

## **6. Interpretación de los resultados**

De acuerdo con el color al cual vira el reactivo, el resultado se interpreta en la forma siguiente:

El color no vira: ausencia de peróxidos.

El color vira a rosa: trazas de peróxidos.

El color vira a rojo: alto contenido de peróxidos.

## ANEXO 4

### **Fundamento del análisis espectrofotométrico en el deterioro de aceites y grasas.**

La prueba por espectrometría ultravioleta, es otro método de análisis para determinar peróxido, ha sido ampliamente usado como un índice de la peroxidación lipídica. Este método puede proporcionar indicaciones sobre la calidad de una materia grasa, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos. El aceite se disuelve en Isooctano, y el coeficiente de extinción de la disolución se determina usando disolvente como blanco, a las longitudes de onda especificadas ( $K^{1\%, 1\text{cm}} 232\text{nm}$  y  $K^{1\%, 1\text{cm}} 270\text{nm}$ ); el 1% indica la disolución del aceite en el disolvente indicado, y 1 cm es el espesor de la cubeta de cuarzo (Vergara 2006).

Fenemma (2000) menciona que a veces se utiliza la medida de la absorbancia a 234 nm (dienos conjugados) y a 268 nm (trienos conjugados) para seguir el proceso de oxidación. Sin embargo, la magnitud del cambio no puede relacionarse fácilmente con el grado de oxidación excepto en las primeras etapas.

Los ácidos grasos oxidados que contienen dobles enlaces conjugados absorben el ultravioleta fuertemente entre los 230 y 375 nm, los dienos absorben aproximadamente a 234 nm y los trienos a 268nm. Los trienos

conjugados se forman durante los procesos industriales, como la decoloración de con tierras para blanquear. En las primeras etapas de oxidación, la absorción el ultravioleta no se relaciona con facilidad con la cantidad de oxidación, de manera que el método es más aplicable a la detección de cambios relativos de la oxidación del aceite en experimentos de comparación o pruebas de estabilidad.