

Efecto de la adición de antioxidantes sobre la estabilidad oxidativa del aceite de Sacha Inchi

Diana Marleiby Parra Mecón, Hellen Laudith Pava Romero

Trabajo de grado para optar el título de Ingeniero Químico

Director

Luis Javier López Giraldo

Ph.D Química, Bioquímica y Ciencia de Alimentos

Codirector

Arley René Villamizar Jaimes

Mg. Ciencias y Tecnologías Ambientales

Universidad Industrial de Santander
Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas
Escuela de Ingeniería Química
Bucaramanga

2020

Agradecimientos

Agradezco a Dios todopoderoso por permitirme tener y disfrutar una vida llena de aprendizaje, por su infinito amor y misericordia.

A mis padres Rosalbina Mecón Ramirez y Libardo Parra Sanabria, por ser los principales promotores de mis sueños, por su confianza, consejos y amor incondicional.

A mi hermana Mayerly Parra por creer siempre en mí, y brindarme sus consejos de fortaleza.

A mi amiga Hellen Pava Romero por compartir conmigo esta etapa de la vida.

A Rubén Guerrero por ser mi apoyo emocional, por brindarme su amor y alegría.

A Luis Javier López y Arley Villamizar por su paciencia, conocimiento y dedicación para cumplir a cabalidad este proyecto. También a todo el personal del Grupo CICTA por su apoyo a lo largo de la ejecución de este trabajo y a la empresa SACHACOL S.A.S por proveernos el aceite de Sacha Inchi.

DIANA MARLEIBY PARRA MECÓN

Agradecimientos

Agradezco a Dios por regalarme una vida llena de aprendizajes y experiencias, mi fortaleza en mis momentos de debilidad.

A mis padres, Yaneth Laudith Romero Aguas, Pablo Eduardo Gómez Rueda y Fernando Pava Martínez quienes me apoyaron en todo momento, me dieron siempre palabras de aliento en los obstáculos, y me brindaron la oportunidad de tener educación en el transcurso de mi vida.

A mi familia, quienes siempre fueron mi motivo de seguir adelante, por haberme apoyado siempre, sobre todo por su paciencia y amor incondicional.

A mi compañera y amiga, Diana Parra Mecón, quién tengo la oportunidad de conocer hace 9 años, con quien trabajé en este proyecto de grado con mucha empatía.

A la Universidad Industrial de Santander por brindarme una formación integral. A nuestro director, Luis Javier López y codirector, Arley Villamizar por sus instrucciones, aportes y sugerencias a lo largo del proyecto de investigación.

A los miembros del Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos por poner todo su conocimiento y experiencia al servicio de nuestro proyecto. Al señor Sergio Torres, por su colaboración al suministrarnos el aceite Sacha Inchi.

Finalmente, a todos mis compañeros y amigos, en especial a Angie, Andreita, Brayan, Ingrid, Joel y Natalia con los que tuve la posibilidad de aprender y compartir.

HELLEN LAUDITH PAVA ROMERO

Resumen

Título: Efecto de la adición de antioxidantes sobre la estabilidad oxidativa del aceite de Sacha Inchi*

Autor: Diana Marleiby Parra Mecón, Hellen Laudith Pava Romero**

Palabras Clave: Sacha Inchi, porcentaje de inhibición, antioxidantes, estabilidad oxidativa.

Descripción:

El aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis Linneo*) es reconocido por su alto contenido de omegas 3, 6 y 9; sin embargo, la presencia de estos lo hace propenso al deterioro oxidativo debido a la formación de productos de oxidación (aldehídos y cetonas) indeseables y perjudiciales, lo que provoca una disminución de la vida anaquel del mismo. Para evaluar el efecto de la adición de antioxidantes de origen natural y sintético en el aceite se siguieron las siguientes etapas: en primera instancia, se evaluó si existían diferencias significativas, desde el punto de vista fisicoquímico, de aceites de Sacha Inchi provenientes de diferentes regiones de Santander. Los resultados mostraron, con un nivel de significancia del 5%, que existían diferencias significativas entre las características fisicoquímicas y la procedencia de las cuatro muestras de aceites analizadas. Por lo tanto, el aceite seleccionado fue el aceite El Playón el cual cumplió con más criterios de la NTP 150.400.

Seguidamente se evaluó la capacidad antioxidante del aceite sin y con la adición de 200 mg/kg de BHT y extracto polifenólico de grano de cacao. Los resultados mostraron que el aceite posee una capacidad protectora debido a antioxidantes naturales presentes, y que al añadirle el antioxidante sintético y natural aumenta en un $9,042 \pm 0,01$ y $59,774 \pm 0,01$ su porcentaje de inhibición, respectivamente.

Por último, se realizó un estudio cinético con el fin de determinar los parámetros propios que permitieran estimar la vida útil del aceite bajo diferentes condiciones de temperatura. Los resultados muestran que el aceite suplementado con antioxidante sintético BHT le aporta mayor estabilidad oxidativa, obteniendo un tiempo de vida útil de 52 días a 25°C.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Director: Luis Javier López Giraldo. Ingeniero Químico, PhD. Codirector: Arley René Villamizar Jaimés. Químico, M.Sc.

Abstract

Title: Effect of the addition of antioxidants on oxidative stability of Sacha Inchi oil*

Authors: Diana Marleiby Parra Mecón, Hellen Laudith Pava Romero**

Key Words: Sacha Inchi, percent inhibition, antioxidants, oxidative stability.

Description:

Sacha Inchi Oil (*Plukenetia volubilis* Linnaeus) is well known for its high content of omega 3, 6 and 9; however, the presence of these makes it prone to oxidative deterioration due to the formation of oxidation products (aldehydes and ketones) undesirable and harmful, which (refers to the products) cause a decrease in the shelf life of the same. To evaluate the effect of the addition of antioxidants of natural and synthetic origin in the oil the next steps were followed: in the first instance, it was assessed whether there were significant differences from the physicochemical point of view, of Sacha Inchi oils from different regions of Santander. The results showed, with a significance level of 5% that there were significant differences between the physicochemical characteristics and the origin of the four oil samples which were analyzed. Therefore, the selected oil was the one from El Playón which met more criteria NTP 150.400.

Then the antioxidant capacity of the oil was evaluated with and without addition of 200 mg / kg of BHT and polyphenolic extract of cacao bean. The results showed that the oil has a protective capacity due to natural antioxidants present, and when the the synthetic and natural antioxidant are added, its inhibition percentage increases by 9.042 ± 0.01 and 59.774 ± 0.01 , respectively.

Lastly, a kinetic study was performed in order to determine the proper parameters that allow estimating the useful life of the oil under various temperature conditions. Results show that the oil supplemented with synthetic antioxidant BHT provides greater oxidative stability, obtaining a lifetime of 52 days at 25 ° C.

* Bachelor thesis.

** Physicochemical Engineering Faculty. Chemical Engineering School. Research Center in Food Science and Technology. Director: Luis Javier López Giraldo. Chemical Engineer, PhD. Codirector: Arley René Villamizar Jaimes. Chemical, M.Sc.

Tabla de contenido

Introducción	13
1. Objetivos	15
1.1 Objetivo general	15
1.2 Objetivos específicos	15
2. Cuerpo del trabajo	16
2.1 Marco teórico y estado del arte	16
2.1.1 Sacha Inchi	16
2.1.2 Oxidación lipídica en aceites vegetales	17
2.1.3 Antioxidantes sintéticos	18
2.1.4 Antioxidantes naturales	19
2.1.4.1 Extractos naturales antioxidantes del cacao	20
2.1.5 Capacidad antioxidante	20
2.1.5.1 Método DPPH•	21
2.1.6 Estabilidad oxidativa	21
2.2 Metodología	23
2.2.1 Caracterización fisicoquímica del aceite de Sacha Inchi	24
2.2.2 Evaluación de la capacidad antioxidante	25
2.2.2.1 Obtención del extracto polifenólico a partir del grano de cacao	25
2.2.2.2 Contenido de polifenoles totales	25
2.2.2.3 Método de decoloración del radical DPPH•	26

2.2.3	Estudio cinético de la degradación oxidativa del aceite de Sacha Inchi suplementado con antioxidantes	27
2.2.3.1	Índice de blanqueamiento (DOBI) antes y después del estudio cinético	28
2.2.4	Determinación del valor IC50 mediante el efecto de dosificación del antioxidante natural en el aceite de Sacha Inchi	28
2.3	Resultados	29
2.3.1	Caracterización fisicoquímica del aceite de Sacha Inchi	29
2.3.2	Evaluación de la capacidad antioxidante	30
2.3.2.1	Contenido total de polifenoles	30
2.3.2.2	Método de decoloración del radical DPPH•.....	31
2.3.3	Estudio cinético de la degradación oxidativa del aceite de Sacha Inchi suplementado con antioxidantes	32
2.3.3.1	Índice de blanqueamiento (DOBI) antes y después del estudio cinético	37
2.3.4	Determinación del valor IC50 mediante el efecto de dosificación del antioxidante natural en el aceite de Sacha Inchi	38
3.	Conclusiones	39
4.	Recomendaciones	40
	Referencias bibliográficas	41
	Apéndices	48

Lista de tablas

Tabla 1. Índices de los cuatro lotes analizados	29
Tabla 2. Perfil Lipídico de los cuatro lotes analizados	30
Tabla 3. Porcentaje de inhibición obtenido por el método DPPH•	31
Tabla 4. Valores de constante de velocidad en el Índice de Peróxidos.....	35
Tabla 5. Valores de Energías de activación obtenidos en el estudio cinético	36
Tabla 6. Tiempo de vida útil del aceite Sacha Inchi	37
Tabla 7. Determinación del índice DOBI (ID) antes del estudio cinético.	37
Tabla 8. Determinación del índice DOBI (ID) después del estudio cinético.....	38

Lista de figuras

Figura 1. Estructura de antioxidantes sintéticos.....	19
Figura 2. Proceso de disminución del color del DPPH• en presencia del antioxidante.....	21
Figura 3. Diagrama de flujo de la metodología.....	24
Figura 4. Comportamiento del Índice de Peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C	33
Figura 5. Comportamiento del Índice de Peróxidos vs tiempo a una temperatura de 40°C	34
Figura 6. Porcentaje de captación DPPH• en función de la concentración antioxidante.....	39

Lista de apéndices

Apéndice A. Evaluación de la capacidad antioxidante	48
Apéndice B. Estudio cinético de la degradación oxidativa del aceite de sachá inchi suplementado con antioxidantes	50
Apéndice C. Determinación del valor IC50 mediante el efecto de dosificación del antioxidante en el aceite de sachá inchi	64

Introducción

El aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo) se caracteriza porque la estructura de los triglicéridos que lo componen está constituida por ácidos grasos altamente insaturados en configuraciones de omega 3, 6 y 9; así mismo, en este aceite están presentes vitaminas liposolubles como la A y E (Zapata Acosta et al., 2015). Sin embargo, la presencia en él de ácidos grasos poliinsaturados hace que sea altamente propenso al deterioro oxidativo provocando pérdida del valor nutricional (Santos Agualongo & Paredes Escobar, 2018).

Con el fin de retardar las reacciones de peroxidación lipídica, tradicionalmente se han empleado antioxidantes de origen sintético como butil hidroxitolueno (BHT), terbutil hidroxiquinona (TBHQ) y butil hidroxianisol (BHA); no obstante, se ha encontrado que éstos tienen efectos negativos sobre la salud, contribuyendo al aumento del colesterol, hepatomegalia e inducción de cáncer hepático, entre otras (Piedrahita Correa, 2015).

Por tal motivo, se ha dirigido el interés hacia la búsqueda y empleo de antioxidantes naturales, como carotenoides, antocianinas, flavonoides y compuestos fenólicos ya que se consideran más seguros e inocuos (Zapata Acosta et al., 2015), (Piedrahita Correa, 2015). Este tipo de antioxidantes pueden ser extraídos desde residuos agroindustriales tales como cáscaras de uva (Molina Quijada et al., 2010), hojas de olivo (Reales et al., 2010), semilla de moringa (Fernández et al., 2018), y grano de cacao (Godoy Chivata, 2015). Donde este último ha sido objeto de estudio por diversos autores en los últimos años reportándose una concentración de polifenoles que oscila entre el 15-20% (p/p); distribuida de la siguiente forma: 37% de catequinas, 4% de antocianinas y 58% de proantocianidinas (Perea Villamil et al., 2009).

A pesar del potencial de estos extractos de grano de cacao, a lo mejor de nuestro conocimiento, no hay reportes en los que se hayan usado para inhibir la oxidación lipídica de aceites con un alto nivel de ácidos grasos insaturados. Así mismo, no se han desarrollado estudios en los que se evalúen las concentraciones a emplear con el fin de retardar los procesos de oxidación; y tampoco se ha determinado si este tipo de extractos pueda ser correctamente formulado en matrices lipídicas.

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Evaluar la adición de antioxidantes de origen sintético y natural sobre la estabilidad oxidativa en el aceite de Sacha Inchi.

1.2 Objetivos específicos

Seleccionar el aceite de Sacha Inchi de estudio que cumpla con los criterios de calidad asociados con la estabilidad oxidativa.

Valorar el potencial antioxidante que tiene el extracto polifenólico de grano de cacao y el antioxidante sintético (BHT) usando el método de DPPH•.

Proveer información cinética sobre el efecto que produce la adición de antioxidantes.

2. Cuerpo del trabajo

2.1 Marco teórico y estado del arte

2.1.1 Sacha Inchi. Sacha Inchi también llamado "maní Inca" o "maní silvestre", es una planta que crece a altitudes comprendidas entre 100 y 2000 msnm, son plantas oleaginosas de la familia *Euphorbiaceae*, las cuales se encuentran distribuidas de forma silvestre en la región comprendida entre América Central y la Amazonia (Ayala Martínez, 2016; Molano Sterling *et al.*, 2016).

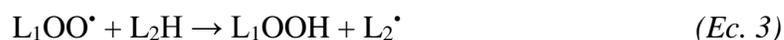
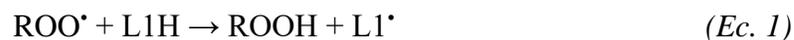
El fruto posee un alto contenido en proteínas entre 25 y 27 %p/p, entre sus derivados se destaca el aceite de Sacha Inchi obtenido de la semilla el cual representa el 54% p/p de la misma (Ayala Martínez, 2016). De este fruto se extrae un aceite con un perfil lipídico alto en grasas insaturadas (93,68%) que lo hace altamente deseado por industrias del tipo nutracéutico y cosmético. Desde el punto de vista nutracéutico su consumo habitual puede estar asociado con la reducción del colesterol en sangre y la reducción de la probabilidad a padecer enfermedades cardiovasculares (Ramirez Galindez *et al.*, 2019).

Este tipo de aplicaciones hacen que el aceite de Sacha Inchi sea apreciado a nivel mundial a tal punto que 250 ml sea valorado en 32,72 USD (Rosero Riaño, 2015) en Estados Unidos y en Colombia aproximadamente \$30.000 COP; valor que está 1,5 y 15 veces por encima del valor de los aceites de oliva y palma, respectivamente. Por tal motivo en Colombia ha crecido el interés en este cultivo, en los departamentos del Chocó, Santander, Putumayo, Caquetá, Tolima, Cundinamarca y Amazonas (Ayala Martínez, 2016), sin embargo, no existen normativas para el aceite, a diferencia de Perú, principal productor del aceite de Sacha Inchi que cuenta con la Norma Técnica Peruana (NTP) 151.400 de 2014.

Pese a las ventajas mencionadas en los párrafos anteriores, la corta estabilidad oxidativa que tiene el aceite Sacha Inchi limita su aplicabilidad en las industrias nutracéutica y cosmética. La baja estabilidad del aceite se debe a su alto nivel en ácidos grasos insaturados, entre los que se encuentran: alfa linolénico (omega 3) con un 48,60%, el linoleico (omega 6) con un 36,80% y el oleico (omega 9) con un 8,28%; el porcentaje restante corresponde a ácidos grasos saturados (Ayala Martínez, 2016; Frankel, 1999).

Por ende, se han llevado a cabo estudios de la estabilidad oxidativa del aceite añadiendo antioxidantes naturales como suspensiones de mortiño (Zapata Acosta *et al.*, 2015), extracto de cáscara de papa andina (Chasquibol Silva *et al.*, 2015) y alfa-tocoferoles (Santos Agualongo & Paredes Escobar, 2018) los cuales muestran efecto positivo, disminuyendo la formación de peróxidos y aumentando la vida útil.

2.1.2 Oxidación lipídica en aceites vegetales. La oxidación lipídica es una reacción química que involucra la ruptura de ácidos grasos insaturados por acción de especies reactivas de oxígeno u otros catalizadores, dando lugar a la formación de radicales libres e hidroperóxidos que acaban por descomponerse con el tiempo. Las reacciones de oxidación siguen el mecanismo en cadena que se muestra a continuación:



En la fase de iniciación (*Ec.1*) se forman los radicales libres (L_1^\bullet) a partir de las moléculas lipídicas (L_1H). En la etapa de propagación (*Ec.2 y 3*) el radical formado (L_1^\bullet) reacciona con el

oxígeno atmosférico para formar un radical peroxilo ($L_1OO\cdot$) (compuesto primario de oxidación). La formación de radicales peroxilo conduce a la producción de hidroperóxidos orgánicos, los cuales a su vez pueden abstraer hidrógenos de otra cadena lipídica, de la misma manera que ocurre en la reacción de iniciación.

La cadena de reacciones generada se concluye en la etapa de terminación (*Ec.4*) cuando dos especies antiradicalarias se combinan para dar productos no radicalarios, que no pueden formar parte en las reacciones de propagación. Estas reacciones son catalizadas por la temperatura, enzimas, radiaciones ionizantes y metales pesados; como resultado de la oxidación lipídica aparecen aromas y gustos desagradables que ocasionan una importante disminución del valor nutricional del alimento, de la calidad sensorial del mismo y producción de elementos nocivos para la salud, provocando el potencial rechazo del consumidor (Losada Barreiro, 2013).

Como consecuencia, la minimización de estos procesos se ha convertido en el principal objetivo para la industria alimentaria con el fin de conseguir alimentos más sanos y duraderos. Entre las diferentes aproximaciones usadas para retardar la oxidación se encuentran el uso de atmósferas inertes, bajas temperaturas y adición de antioxidantes. Este último es considerado el método de protección más eficaz desde un punto de vista técnico y económico. Además, el uso de antioxidantes naturales en las formulaciones alimenticias puede representar ciertas ventajas para la salud del consumidor como se ha mencionado anteriormente (García Cubides, 2015; Losada Barreiro, 2013).

2.1.3 Antioxidantes sintéticos. Los antioxidantes sintéticos son mono o dihidrofenoles que reaccionan con un radical peroxilo originando un radical fenoxi, el cual es estable debido a una amplia delocalización de un electrón impar en el sistema aromático. Los antioxidantes sintéticos

más empleados en la industria de alimentos se pueden observar en la Figura 1, estos son compuestos sólidos y se emplean en soluciones de propilenglicol, monoacilgliceroles o aceites vegetales (Ortiz Rojas, 2016).

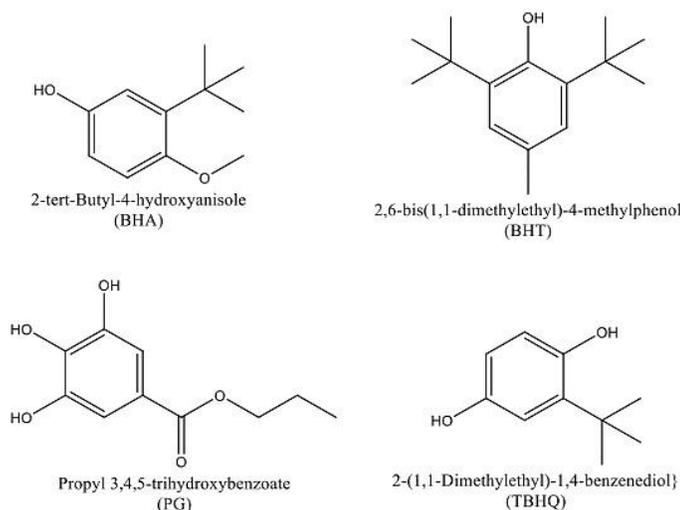


Figura 1. Estructura de antioxidantes sintéticos. Adaptado de Ortiz Rojas (2016).

El BHT es soluble en aceites e insoluble en agua, se usa para preservar aceites vegetales y grasas animales, actúa como un agente para suprimir la autooxidación, además es considerado como el antioxidante más ampliamente usado en lubricantes de origen vegetal y productos alimenticios, tales como cereales, grasas comestibles, arroz y productos de confitería (Santos Agualongo & Paredes Escobar, 2018; Tuner & Korkmaz, 2007).

2.1.4 Antioxidantes naturales. La mayoría de antioxidantes naturales son compuestos polifenólicos. Éstos se caracterizan por presentar en su estructura un anillo aromático, unido a uno o más grupos hidroxilo (OH). En este grupo de compuestos existe un gran número de metabolitos secundarios de las plantas, que difieren entre sí por la complejidad de su estructura y

reactividad; que van desde estructuras simples, cómo ácido fenólicos, hasta complejas como los flavonoides (Eskin & Robinson, 2001). Los mecanismos de acción antioxidante de los compuestos fenólicos han sido ampliamente discutidos en la literatura; entre ellos se destacan la capacidad de atrapar radicales libres y quelantes de iones metálicos, así como otros mecanismos que involucran la inhibición de enzimas como las lipooxigenasas involucradas en el proceso de peroxidación lipídica, y la NADPH oxidasa y xantina oxidasa implicadas en la formación de especies reactivas de oxígeno (Guardado Yordi et al., 2012).

2.1.4.1 Extractos naturales antioxidantes del cacao. Los extractos naturales antioxidantes del cacao se caracterizan por un alto contenido de catequinas (epicatequina, epigalocatequina, galocatequina y catequina), además de otros flavonoides como las procianidinas, antocianinas, flavononas y flavonol glicosídicos (Dreosti, 2000; Wollgast & Anklam, 2000), de todos los compuestos presentes; la epicatequina representa cerca del 30% del contenido de polifenoles del grano (Othman et al., 2010; Perea Villamil et al., 2009). Estos compuestos hacen que los extractos tengan una gran capacidad antioxidante (Havsteen, 1983; Martínez Flórez et al., 2002). Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, diabetes mellitus, la aterosclerosis o el cáncer (Jang et al., 1997; Pace Asciak et al., 1995).

2.1.5 Capacidad antioxidante. La actividad antioxidante de los alimentos es importante para determinar la protección a la oxidación y deterioro del alimento que disminuye su calidad y valor nutricional, y por otra parte ayuda a predecir el potencial antioxidante del alimento antes de

ser ingerido (Samaniego Sanchez, 2006), dicho parámetro no se puede medir directamente, pero sí el efecto antioxidante.

La mayoría de los métodos se basan en el uso de una gran variedad de sistemas generadores de radicales, son métodos de inhibición donde se emplea una especie generadora de radicales libres y una sustancia detecta estas especies, la muestra a analizar por su capacidad antioxidante es capaz de inhibir la generación de dichos radicales (Pineda Alonso et al., 1999; Samaniego Sanchez, 2006).

2.1.5.1 Método DPPH. El método DPPH• es uno de los métodos espectrofotométrico más comunes para medir la actividad antirradicalaria debido a que el procedimiento requerido en esta metodología es simple, rápida, sensible y reproducible según varios estudios científicos; que consiste en un radical nitrogenado orgánico (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) y estable de un intenso color púrpura, el cual al estar en contacto con (antioxidantes) sustancias atraparoras de radicales libres (donadores de H) presenta disminución de absorbancia proporcional a la concentración y actividad de dicho antioxidante medido a 517 nm (Blois, 1958; Mosquera et al., 2005).

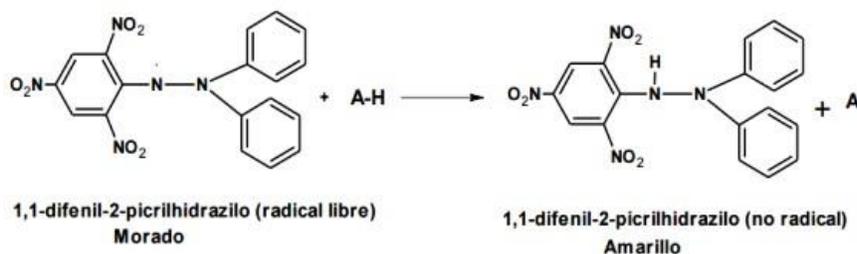


Figura 2. Proceso de disminución del color del DPPH• en presencia del antioxidante. Adaptado de García Cubides (2015).

2.1.6 Estabilidad oxidativa. La estabilidad oxidativa hace referencia a la resistencia de los lípidos a la oxidación, puede ser expresada como el período de tiempo requerido para alcanzar un punto crítico de oxidación. Este parámetro sirve como indicador del comportamiento y vida útil

de los lípidos, y depende de la composición del aceite, de las condiciones de procesamiento y almacenamiento, la temperatura, la concentración y la presencia de metales y de antioxidantes, entre otros (Guillén & Cabo, 2002).

Existen diversas maneras de realizar un estudio de estabilidad, los más empleados son los estudios acelerados, permitiendo predecir la vida útil en corto tiempo y bajo condiciones de almacenamiento extremas (Piedrahita Correa, 2015).

El seguimiento se puede realizar usando el índice de peróxidos, el cual es una medida cuantificable de pérdida de calidad, ya que en él se miden los productos primarios de oxidación, los hidroperóxidos y peróxidos (Villacrés Gallardo, 2016). Así las cosas, la velocidad de aparición de ellos puede ser representada por la ecuación 5, conocida también como ecuación de velocidad.

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} [IP]^m \quad (Ec.5)$$

Donde k_{IP} representa la constante de velocidad de la formación de hidroperóxidos y m es el orden de la reacción. La mayoría de las reacciones de pérdida de calidad en alimentos son clasificadas como reacciones de cero o de primer orden, de manera general, los resultados experimentales se ajustan bien a la ecuación 5.

Entre los factores ambientales que pueden tenerse en cuenta a la hora de realizar un estudio de vida útil, se encuentra la temperatura. Por lo tanto, la constante de proporcionalidad, k_{IP} , puede aproximarse a una ecuación tipo Arrhenius (Ec.6) para describir el efecto de la temperatura sobre la velocidad de degradación.

$$k_{IP} = k_A e^{(-E_a/RT)} \quad (Ec.6)$$

Donde k_{IP} es la constante de velocidad de formación de hidroperóxidos, k_A es la constante de la ecuación de Arrhenius, E_a es la energía de activación, R es la constante universal de los gases (8,314 J/mol K), y T es la temperatura empleada en grados Kelvin (Piedrahita Correa, 2015).

2.2 Metodología.

El esquema metodológico mostrado en la Figura 2. representa el desarrollo experimental del presente trabajo que consta de tres etapas. En todo el desarrollo experimental las muestras sin adición de antioxidantes se denominaron control; mientras que las muestras con adición de BHT y extracto de granos de cacao fueron llamadas B200 y E200, respectivamente; la cifra 200 corresponde a la concentración de adición, 200 mg/kg; y concuerda con el límite de concentración establecido por el CODEX ALIMENTARIUS (2015)

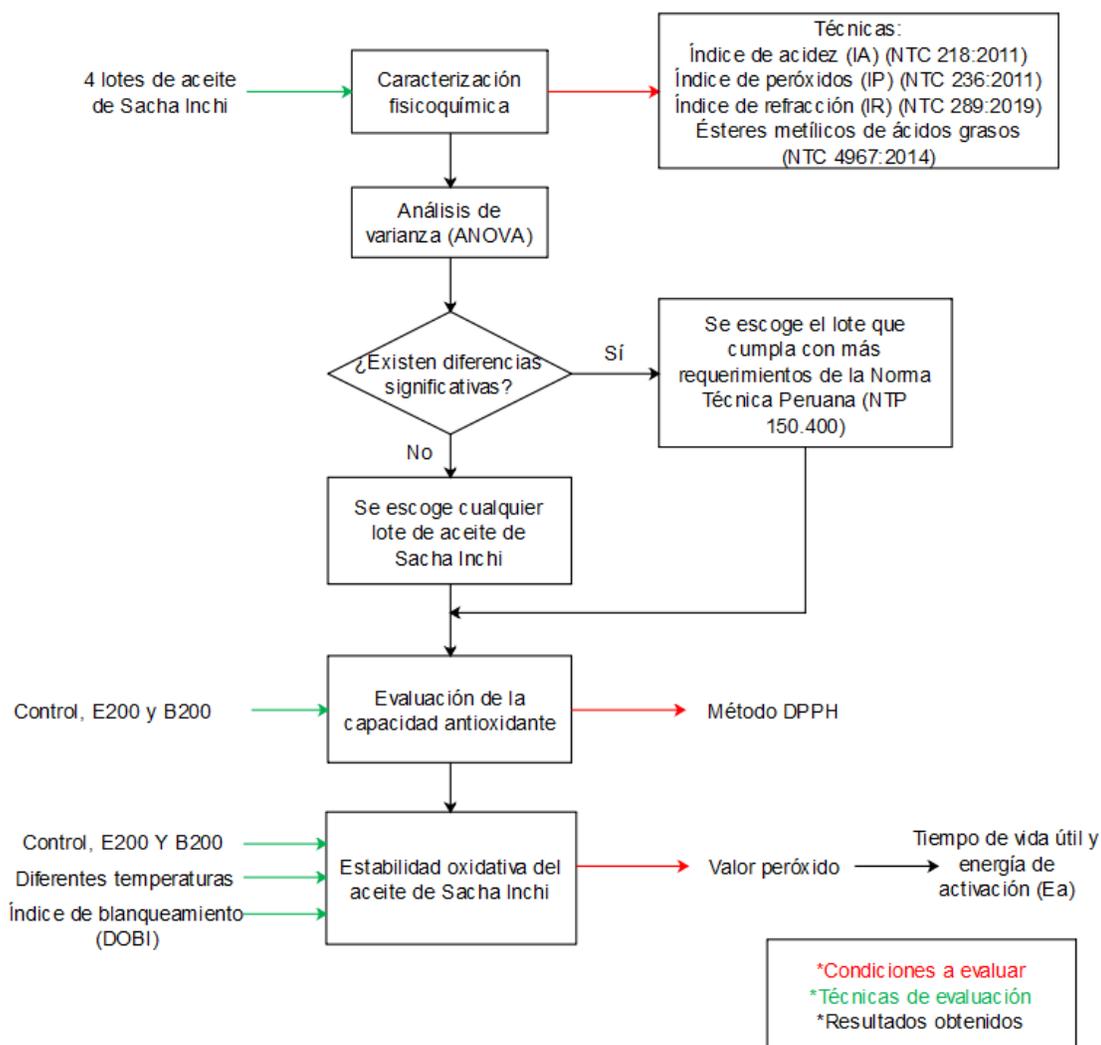


Figura 3. Diagrama de flujo de la metodología

2.2.1 Caracterización fisicoquímica del aceite de Sacha Inchi. Se caracterizaron cuatro lotes de aceite de Sacha Inchi provenientes de diferentes regiones de Santander (San Alberto, Piedecuesta, El Playón y Lebrija) teniendo en cuenta las siguientes características fisicoquímicas: índice de acidez (IA), índice de peróxidos (IP) e índice de refracción (IR) los cuales se evaluaron por los métodos establecidos NTC 218:2011, NTC 236:2011, y NTC 289:2019, respectivamente. Adicionalmente, se determinó el perfil lipídico por GC-FID a través de la identificación de los

ésteres metílicos de ácidos grasos siguiendo la norma NTC 4967:2014 mediante un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890^a con columna HP-88. Los análisis se realizaron por duplicado y los resultados fueron expresados como valores promedios \pm la desviación estándar. Se analizaron los datos experimentales estadísticamente, con un nivel de significancia del 5% por medio de análisis de varianza de un factor (ANOVA) usando el programa Microsoft Excel. Teniendo en cuenta los resultados del análisis estadístico se selecciona el aceite a emplear en el presente trabajo: si no existe diferencia significativa se escoge cualquier lote de aceite; en el caso contrario, se escoge el lote de aceite que cumpla con más criterios de la NTP 150.400.

2.2.2 Evaluación de la capacidad antioxidante.

2.2.2.1 Obtención del extracto polifenólico a partir del grano de cacao. Los granos de cacao fueron lavados y despulpados manualmente, cortados y tratados térmicamente para inhibir la enzima polifenol oxidasa, siguiendo la metodología por Godoy (Godoy Chivata, 2015) que garantiza la preservación del contenido inicial de polifenoles presentes en la semilla (Pasamar et al., 2006). Los granos fueron secados a 50°C y el material fue molido hasta obtener la harina del grano de cacao. La extracción de los polifenoles se realizó a 60°C, con una relación etanol:agua 80:20 v/v, y grano:solvente 1:60 p/v. Luego, se evaporó la solución etanólica; finalmente, la muestra concentrada fue liofilizada hasta obtener los extractos polifenólicos.

2.2.2.2 Contenido de polifenoles totales. Los polifenoles totales fueron determinados siguiendo el método colorimétrico propuesto por Fernández *et al.* (2018) con leves modificaciones. A continuación, se describe brevemente: se pesaron 10 g del aceite a analizar (Control y E200) y se disolvieron en 20 ml de hexano. Se realizaron tres extracciones consecutivas con metanol:agua 60:40 (v/v), agitando vigorosamente durante 2 minutos.

Seguidamente, se permitió la separación de fases y se recogió en un matraz el extracto metanólico; luego se aforó a 50 ml con agua destilada. Después se tomaron 50 µl de la solución aforada, y se le agregaron 1,5 ml del reactivo Follin-Ciocalteu 1/10 p/v; se dejó reaccionar en ausencia de luz durante 5 minutos. Transcurrido el tiempo se adicionaron 1,5 ml de carbonato de sodio 7,5% p/v y se homogenizó. La absorbancia fue medida a 765 nm luego de 60 minutos usando un espectrofotómetro (MULTISKAN GO ThermoScientific). Las muestras fueron analizadas por triplicado y los resultados fueron calculados usando la ecuación 7 y expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico por kilogramos de aceite (mg EAG/kg). En la ecuación 7 la pendiente e intercepto representan los valores ajustados para la respuesta usando como compuesto de referencia el ácido gálico.

$$PT \left(\frac{\text{mg EAG}}{\text{kg}} \right) = \frac{(\text{absorbancia muestra-intercepto})}{\text{pendiente}} \quad (\text{Ec. 7})$$

2.2.2.3 Método de decoloración del radical DPPH•. El método se realizó siguiendo la metodología descrita por Samaniego Sánchez (2006) con leves modificaciones donde se realizó la curva patrón de Trolox® en metanol. Se tomaron 10 ml de aceite a evaluar (Control, E200 y B200), se mezclaron en 10 ml de metanol para el ensayo E200, y en 10 ml de una solución 1:1 v/v de isopropanol:acetonitrilo para el ensayo B200. Después, las muestras se agitaron y centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos a 15 °C, se extrajo la fase superior la cual será objeto de medición. Para el control se realizaron las extracciones con ambos solventes mencionados.

Se mezclaron 3,9 ml del radical DPPH (60 μ M) y 100 μ l de la muestra, se dejaron en la oscuridad por media hora y se procedió a medir la absorbancia. Todas las medidas se realizaron por triplicado. El porcentaje de inhibición se obtuvo a través de la siguiente ecuación:

$$\% \text{Inhibición} = \left[1 - \left(\frac{A_f}{A_0} \right) \right] \times 100 \quad (\text{Ec. 8})$$

A_f =Absorbancia de la muestra

A_0 =Absorbancia del radical DPPH

2.2.3 Estudio cinético de la degradación oxidativa del aceite de Sacha Inchi suplementado con antioxidantes. Se evaluó la cinética de degradación oxidativa del aceite de Sacha Inchi sin y con adición de antioxidantes. Las muestras fueron preparadas en frascos ámbar, luego estos fueron introducidos en una cámara climática Mermmet en donde se llevó a cabo una prueba acelerada de oxidación a temperaturas de 25 ± 1 y $40 \pm 1^\circ\text{C}$.

Como variable respuesta se usó el índice de peróxidos (IP), tomando 20 meq oxígeno/kg de aceite como valor máximo de hidroperóxidos, ya que generalmente a este valor se obtiene los productos secundarios de oxidación (Piedrahita Correa, 2015). El análisis para cada muestra se realizó por duplicado (n=2) mediante un análisis estadístico ANOVA con un nivel de significancia del 5%.

Después de haber obtenido los índices de peróxidos a las condiciones mencionadas, se realizaron los respectivos ajustes para obtener k_{IP} (Ec.5). El ajuste se realizó graficando el IP vs el tiempo (orden de reacción cero) y el logaritmo natural del IP vs el tiempo (orden de reacción uno).

Con la ecuación 6 se calcularon el factor pre-exponencial de Arrhenius y la energía de activación, graficando el logaritmo natural de k_{IP} vs el inverso de la temperatura ($1/T$).

Usando los valores ajustados de k_{IP} se determinó el tiempo de vida útil, a diferentes temperaturas. Para tal fin, se procedió a integrar la ecuación 5 usando como límites el valor inicial de IP (2,40 meq O₂/kg de aceite) y el final (20 meq O₂/kg de aceite).

2.2.3.1 Índice de blanqueamiento (DOBI) antes y después del estudio cinético. El índice DOBI (ID) provee información del estado de oxidación que presenta la muestra, la determinación del ID de los ensayos Control, E200 y B200 se realizó siguiendo la metodología descrita en la NTC 5835:2011 usando un espectrofotómetro (Thermo Scientific Multiskan GO). La cuantificación de índice de blanqueamiento (DOBI) se lleva a cabo mediante la siguiente ecuación:

$$\text{DOBI (ID)} = \frac{A_{446}}{A_{269}} \quad (\text{Ec. 9})$$

En donde A_{446} es la absorbancia a 446 nm la cual mide principalmente carotenos y A_{269} es la absorbancia a 269 nm el cual mide principalmente productos de oxidación secundarios. Por lo tanto, una disminución del ID está asociada con la formación de productos de oxidación.

2.2.4 Determinación del valor IC50 mediante el efecto de dosificación del antioxidante natural en el aceite de Sacha Inchi. Hasta este punto, las comparaciones propuestas para evaluar la capacidad del extracto polifenólico y el antioxidante sintético fueron hechas a una dosificación de 200 mg/kg. No obstante, en la práctica es importante conocer el efecto dosis-respuesta que tienen los extractos u otra sustancia para inhibir un proceso de oxidación. En

estudios de dosis-respuesta se determina la concentración de sustancia de prueba requerida para reducir la absorbancia de la solución blanco DPPH a un 50% (IC50).

Por lo tanto, se decidió evaluar dicho efecto en el porcentaje de inhibición (Ec. 8) conforme la concentración de extracto se modificó entre 0 y 200 mg/kg. El valor IC50 obtenido servirá a futuro como punto de partida para mejorar la dosificación que reduzca o retarde los procesos de oxidación en el aceite de Sacha Inchi.

2.3 Resultados.

2.3.1 Caracterización fisicoquímica del aceite de Sacha Inchi. A partir de los resultados mostrados en la Tabla 1 se aprecia que todas las muestras analizadas tienen valores de índice de peróxidos por debajo del límite máximo (10 meq O₂/kg muestra) establecido por la NTP 151.400. De igual manera, los valores de índice de acidez cumplen con la normativa impuesta por el CODEX ALIMENTARIUS (2015) que reporta como límite permitido para grasas y aceites prensados en frío y vírgenes el valor de 4,0 mg KOH/g de grasa.

En el caso de los valores del índice de refracción de las muestras se evidencia que la muestra del lote de Piedecuesta sobrepasa el valor máximo permitido (1,4817) según por la NTP 151.400.

Tabla 1.
Índices de los cuatro lotes analizados. ^a

Lote	Índice de peróxidos (meq O ₂ /kg muestra)	Índice de acidez (mg KOH/g muestra)	Índice de refracción
San Alberto	0,90 ± 0,02 ^B	0,21 ± 0,01 ^B	1,481 ± 0,00 ^B
Lebrija	0,72 ± 0,02 ^B	0,30 ± 0,01 ^B	1,481 ± 0,00 ^B
El Playón	1,22 ± 0,00 ^B	0,96 ± 0,04 ^B	1,481 ± 0,00 ^B
Piedecuesta	0,76 ± 0,06 ^B	0,18 ± 0,01 ^B	1,481 ± 0,00 ^B

*Datos expresados como ^a son las medias de triplicas ± desviación estándar.

El supra índice ^A indica que el origen del lote no presenta diferencias significativas (p<0,05) entre los parámetros de calidad y el índice ^B indica la presencia de diferencias significativas entre sí.

Asimismo, en el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME's) muestra que los triglicéridos presentes en los aceites son ricos en ácidos grasos insaturados. De acuerdo con la Tabla 2, los principales ácidos grasos presentes son: ácido linolénico, linoleico, oleico, palmítico y esteárico. De los ácidos mencionados, el 92,5% corresponde a ácidos grasos poliinsaturados; por lo tanto, se confirma que el aceite de Sacha Inchi está constituido por ácidos grasos altamente susceptibles a la oxidación afectando directamente a su estabilidad oxidativa.

Por otro lado, se evidencia que existen discrepancias con los valores obtenidos en el perfil lipídico con el expuesto por la NTP en su valores máximos y mínimos (Tabla 2).

Tabla 2.
Perfil Lipídico de los cuatro lotes analizados. ^a

Lote	San Alberto	Lebrija	El Playón	Piedecuesta	NTP 151.400
Ácido Linolénico	46,69 ± 1,12 ^B	49,55 ± 0,11 ^B	49,18 ± 0,16 ^B	52,14 ± 0,07 ^B	42 - 48
Ácido Linoléico	36,5 ± 0,28 ^B	35,38 ± 0,06 ^B	34,44 ± 0,04 ^B	34,53 ± 0,00 ^B	32,8 - 38,4
Ácido Oleíco	8,49 ± 0,58 ^B	7,61 ± 0,12 ^B	8,96 ± 0,24 ^B	6,85 ± 0,01 ^B	9,4 - 14,4
Ácido Palmítico	4,55 ± 0,21 ^B	4,16 ± 0,04 ^B	4,39 ± 0,04 ^B	3,75 ± 0,04 ^B	3,7 - 4,4
Ácido Esteárico	3,77 ± 0,03 ^B	3,3 ± 0,02 ^B	3,03 ± 0,02 ^B	2,73 ± 0,04 ^B	2,57 - 3,2

*Datos expresados como ^a son las medias de duplicas ± desviación estándar.

El supra índice ^A indica que el origen del lote no presenta diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los ácidos grasos y el índice ^B indica la presencia de diferencias significativas entre sí.

De acuerdo a lo anterior, se establece que existe asociación significativa entre la procedencia del aceite y los parámetros evaluados: índice de peróxidos, índice de acidez, índice de refracción y perfil lipídico, el cual el aceite de El Playón cumple con más criterios de la normativa NTP 150.400.

2.3.2 Evaluación de la capacidad antioxidante.

2.3.2.1 Contenido total de polifenoles. Los resultados de polifenoles totales (PT) de las muestras de aceite de Sacha Inchi analizadas se evidencia un incremento de 3,8 veces en el aceite

dosificado a una concentración de 200 mg/kg de extracto polifenólico, comparado con el aceite sin dosificar ($25,064 \pm 1,21$ mg EAG/kg). En efecto el valor de PT en E200 fue de $125,384 \pm 0,55$ mg EAG/kg de aceite, evidenciándose que es posible aumentar el contenido de PT en el aceite, lo que finalmente puede conducir a mejorar la capacidad antioxidante del aceite.

El contenido de PT para el aceite de Sacha Inchi (Control) analizado en este trabajo fue superior al valor reportado por (Muñoz Jauregui et al., 2013), estos autores obtuvieron un valor de $2,79 \pm 0,14$ mg EAG/kg en el aceite de Sacha Inchi sin antioxidantes añadidos. La diferencia en estos resultados podría atribuirse a las diferencias en variedades genóticas grado de maduración y factores externos como condiciones agronómicas, climáticas y tipo de cepa, procesamiento, entre otros (Martinez Valvere & Periago, 2014; Muñoz Jauregui et al., 2013).

Por otro lado, el valor de PT para el aceite analizado en este trabajo fue inferior al obtenido para el aceite de oliva, cuyo valor está en el rango de 195-433 mg EAG/kg (Gómez Alonso et al., 2003), estos resultados sugieren que el aceite de Sacha Inchi comparado con el aceite de oliva, tendría una menor protección contra el ataque de radicales causantes de la oxidación lipídica.

2.3.2.2 Método de decoloración del radical DPPH•. Los resultados de la capacidad antioxidante de los ensayos E200 y B200 se encuentran en la Tabla 3, en el que se evidencia mayor porcentaje de inhibición en el aceite dosificado con el extracto polifenólico de grano de cacao.

Tabla 3.

Porcentaje de inhibición obtenido por el método DPPH•

Muestra	% de inhibición
B200	$9,0417 \pm 0,01$
E200	$59,774 \pm 0,01$

Se observó un efecto sinérgico por acción del antioxidante añadido y el natural presente en el aceite de Sacha Inchi, ya que al realizar la prueba de capacidad antirradicalaria con el método DPPH• al aceite sin añadirle previamente antioxidante sintético o natural (Control), se obtuvo una respuesta. Lo anterior se atribuye a las vitaminas liposolubles A y E que contiene el aceite (Hurtado Ordoñez, 2013; Promperu, n.d.), además de los polifenoles que él contiene.

Así mismo, la combinación de flavonoides (epicatequina y catequina) que posee el extracto de grano de cacao junto con alfa-tocoferoles (vitamina E) del aceite, podrían generar una interacción antirradicalaria que produce una inhibición más efectiva vis a vis a la prueba DPPH• (Pedrielli & Skibsted, 2002).

Estos resultados, a pesar de ser prometedores, deben ser analizados con cautela puesto que las características de la prueba permiten analizar la capacidad que tienen los antioxidantes para atrapar radicales libres; pero no analiza la velocidad a la cual se producen los productos de oxidación a medida que el aceite se oxida. Por lo tanto, se procedió a evaluar la capacidad de cada una de las formulaciones sobre la estabilidad oxidativa del aceite de Sacha Inchi.

2.3.3 Estudio cinético de la degradación oxidativa del aceite de Sacha Inchi suplementado con antioxidantes. En las figuras 4 y 5 se encuentran los comportamientos de la formación de hidroperóxidos en el aceite de Sacha Inchi sin y con adición de antioxidantes a 25 y 40°C, respectivamente. También se aprecia que, en todos los casos, el comportamiento de IP vs el tiempo sigue una tendencia lineal, con valores de R^2 que varían entre 0,977 y 0,991.

Este comportamiento sugiere que el valor de m en la ecuación 5 tienda a cero. Por lo tanto, la ecuación 5 se transforma en:

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} \quad (Ec. 10)$$

Integrando esta ecuación y separando términos se obtiene:

$$IP = k_{IP} * t - IP_0 \quad (Ec. 11)$$

Por lo tanto, la pendiente de dichas rectas corresponda al valor de k_{IP} .

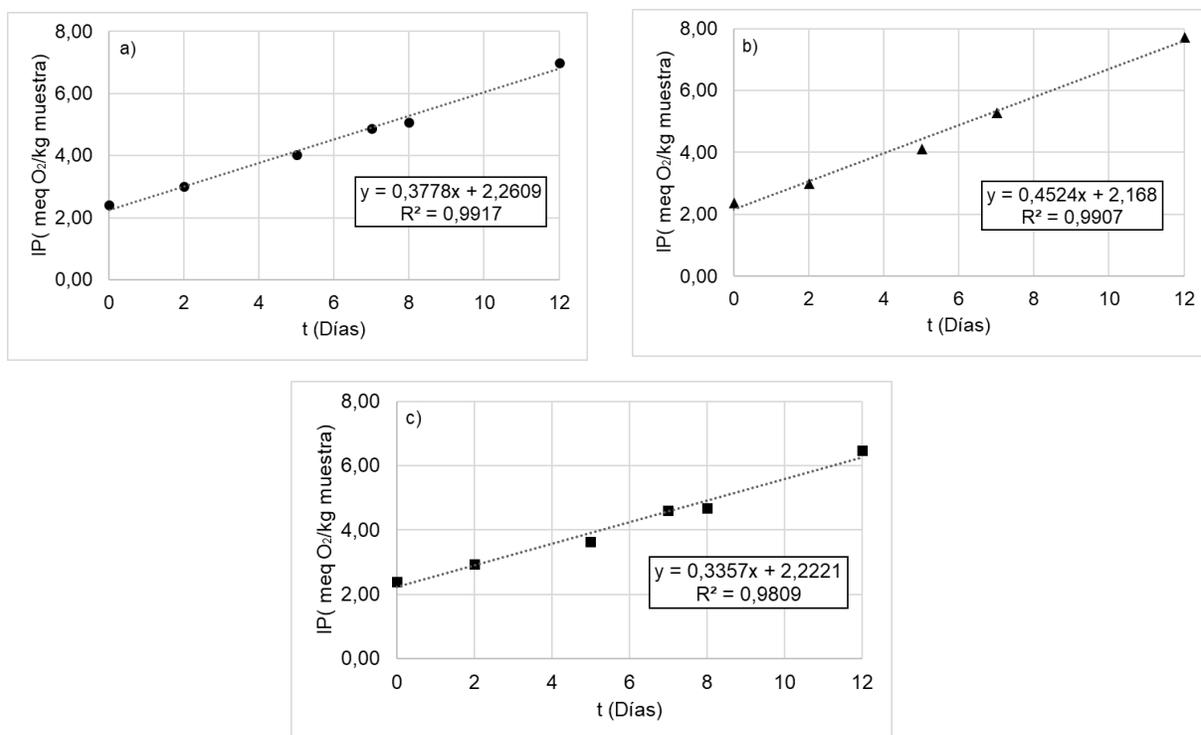


Figura 4. Comportamiento del Índice de Peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C. a) Sin adición de antioxidante (Control); b) con adición de 200 mg/kg de extracto (E200); c) con adición de 200 mg/kg de BHT (B200).

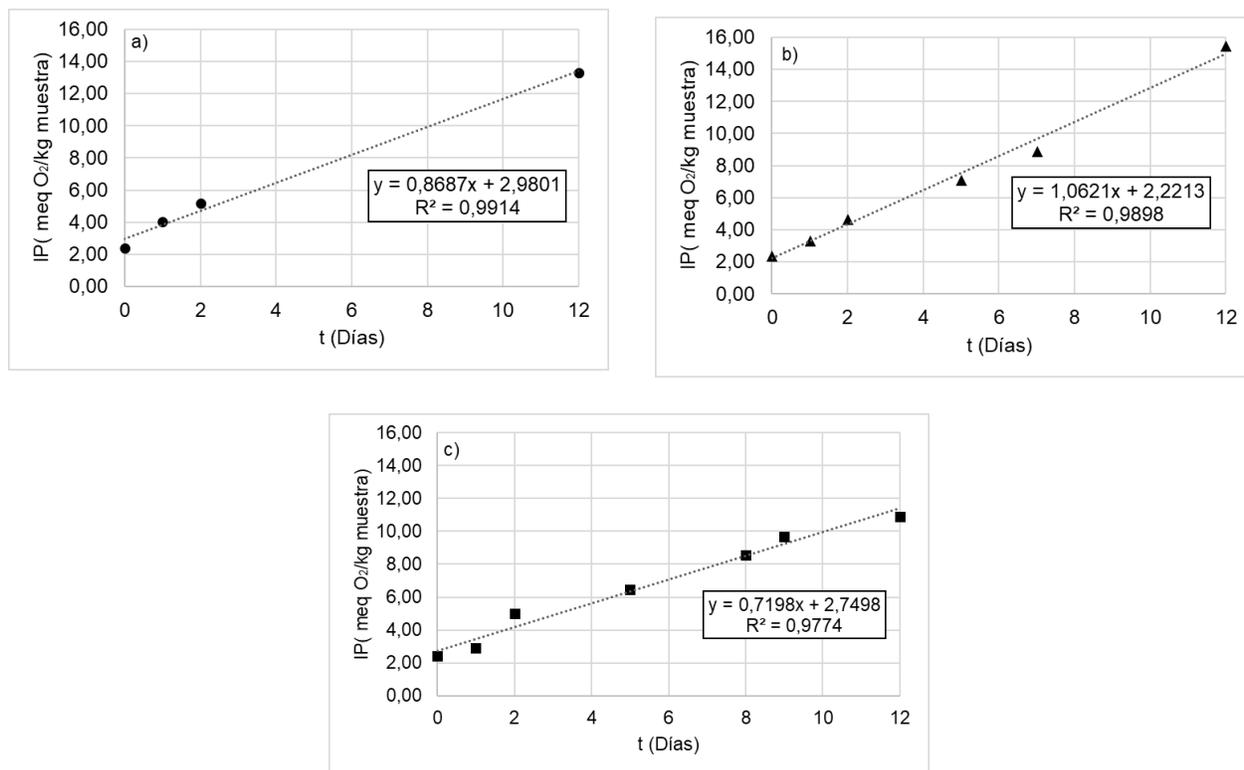


Figura 5. Comportamiento del Índice de Peróxidos vs tiempo a una temperatura de 40°C. a) Sin adición de antioxidante (Control); b) con adición de 200 mg/kg de extracto (E200); c) con adición de 200 mg/kg de BHT (B200).

En las figuras presentadas se observa que al final del estudio cinético (día 12), a las temperaturas de 25 y 40°C, el aceite con extracto polifenólico de grano de cacao (E200) presenta mayor cantidad de meq O₂/kg muestra, indicando mayor cantidad de productos primarios, seguido por aceite sin antioxidantes (Control) y con BHT (B200).

En la Tabla 4 se encuentran los resultados del modelo cinético de cada ensayo (CONTROL, E200 Y B200) a las temperaturas de 25 y 40°C.

Tabla 4.*Valores de constante de velocidad en el Índice de Peróxidos*

Condición 1: T= 25°C			Condición 2: T= 40°C		
ENSAYO	K_{IP}	R^2	ENSAYO	K_{IP}	R^2
CONTROL	0,3778	0,992	CONTROL	0,8687	0,991
E200	0,4524	0,991	E200	1,062	0,990
B200	0,3357	0,981	B200	0,74198	0,977

Además, se observa que la constante de velocidad de la formación de peróxidos k_{IP} se obtuvo en proporción descendente en ambas temperaturas: E200, B200 y CONTROL, indicando una mayor velocidad de reacción y formación de peróxidos en la muestra E200 a comparación a las otras. De manera general se aprecia que las muestras sin antioxidante adicionado conducen a mayores tiempos de estabilidad del aceite. Este comportamiento sugiere que la concentración de antioxidante empleada puede generar un efecto pro-oxidante y por lo tanto se deberá realizar a futuro un estudio de dosis-respuesta que permita identificar la concentración que conduzca a aumentar la vida útil del aceite de Sacha Inchi.

Los resultados anteriores también demuestran el efecto de la temperatura en la velocidad de reacción durante la peroxidación lipídica del aceite ya que a medida que aumentó la temperatura de ensayo, aumentó el valor de la constante de velocidad.

Para establecer la dependencia anteriormente mencionada se llevó a cabo el análisis del efecto de la temperatura sobre la velocidad de degradación, al fin de ejecutar este estudio se linealizó la ecuación de Arrhenius, donde se tomaron los valores mencionados en la Tabla 4 como k_{IP} .

Al graficar el logaritmo natural de los k_{IP} en función de la $1/T$ se obtuvieron los siguientes valores de E_a (Energía de activación) (Tabla 5).

Tabla 5.*Valores de Energías de activación obtenidos en el estudio cinético*

ENSAYO	ln k _A (factor pre-exponencial)	E _a (J/mol)
CONTROL	16,409	43.088,130
E200	17,022	44.159,811
B200	14,832	39.472,378

Los datos energía de activación se encuentran en orden descendente: E200, CONTROL y B200, respectivamente, observándose que la muestra E200 presenta mayor grado de sensibilidad a la temperatura.

Estos tres valores de energía de activación se consideran altos al compararse con el aceite de Choiba (E_a= 4.611,507 J/mol) (Piedrahita Correa, 2015) y bajos al compararse con el aceite de la semilla del fruto de la palma Coroba (E_a=51.750,000 J/mol) (Salazar de Marcano et al., 2007).

En la Tabla 7 se puede observar el tiempo de vida útil calculado con los valores ajustados para k_{IP} como una función de Arrhenius e integrando la ecuación (Ec. 12) entre el valor inicial y el final del índice de peróxido.

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} = k_A * e^{(-E_a/RT)} \quad (Ec. 12)$$

Reorganizando se obtiene:

$$t = \frac{IP_f - IP_0}{k_A e^{(-E_a/RT)}} \quad (Ec. 13)$$

IP_f corresponde al valor donde empiezan a producirse los productos secundarios de oxidación (20 meq oxígeno/kg aceite), IP₀ es el valor del índice de peróxido inicial (2,40 meq O₂/kg aceite); k_A es el factor pre-exponencial de Arrhenius y E_a es la energía de activación.

Tabla 6.*Tiempo de vida útil del aceite Sacha Inchi*

Muestra	T= 25°C	T= 40°C
	Tiempo vida útil (Días)	Tiempo vida útil (Días)
CONTROL	46,59	20,26
E200	38,89	16,57
B200	52,44	24,46

Se reporta que, al añadirle el antioxidante natural al aceite, su tiempo de vida útil disminuye aproximadamente 8 días a 25°C y 4 días a 40°C. Por lo tanto, podría pensarse que a la concentración usada ocurrió un efecto pro-oxidante.

En cambio, al incorporar al aceite el antioxidante sintético su vida útil aumenta aproximadamente 6 días a 25°C y 4 días a 40°C.

2.3.3.1 Índice de blanqueamiento (DOBI) antes y después del estudio cinético. Al evaluarse el índice de DOBI (ID) en los ensayos planteado anteriormente en el estudio cinético se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 7.*Determinación del índice DOBI (ID) antes del estudio cinético.*

Muestra	ID
Control	0,0166 ± 0,00
E200	0,0170 ± 0,00
B200	0,0187 ± 0,00

Los valores obtenidos son mayores al compararlos con los obtenidos para el Sacha Inchi en el estudio realizado por Santos (Santos Agualongo & Paredes Escobar, 2018), quien reporta un valor 0,012 para un aceite Sacha Inchi dosificado a una concentración de 200 mg de BHT/kg.

Los resultados presentados de la Tabla 8 indican el índice de DOBI después de 12 días de realizar el estudio cinético.

Tabla 8.

Determinación del índice DOBI (ID) después del estudio cinético

Muestra	ID (25°C)	ID(40°C)
Control	0,0165 ± 0,00	0,0161 ± 0,00
E200	0,0152 ± 0,00	0,0146 ± 0,00
B200	0,0176 ± 0,00	0,0167 ± 0,00

Observándose que al inicio del ensayo (Ver Tabla 7) los valores ID se presentan de orden descendente: B200, E200 y Control. Sin embargo, al final el estudio cinético el ensayo E200 es el que presenta menor valor del ID a ambas temperaturas.

Se evidencia que la muestra E200 presenta mayor velocidad de formación de peróxidos, los cuales afectan los carotenoides presentes en cada ensayo, teniendo relación directa con la absorbancia analizada en el análisis de índice de DOBI.

2.3.4 Determinación del valor IC50 mediante el efecto de dosificación del antioxidante natural en el aceite de Sacha Inchi. De acuerdo con la figura 6, el valor IC50 obtenido fue de 157,68 miligramos de antioxidante polifenólico por kilogramo de aceite de Sacha Inchi. Este valor fue obtenido del ajuste de la curva a una función polinómica de segundo grado $y=0,0008x^2-0,4412x+99,678$ con un R^2 de 0,9967.

El valor obtenido está por debajo del valor usado en este trabajo (200 mg/kg); por lo tanto, sería interesante usar este valor en nuevas formulaciones con el fin de determinar si se elimina el efecto pro-oxidante que se sugiere ocurrió en las pruebas realizadas en el presente trabajo.

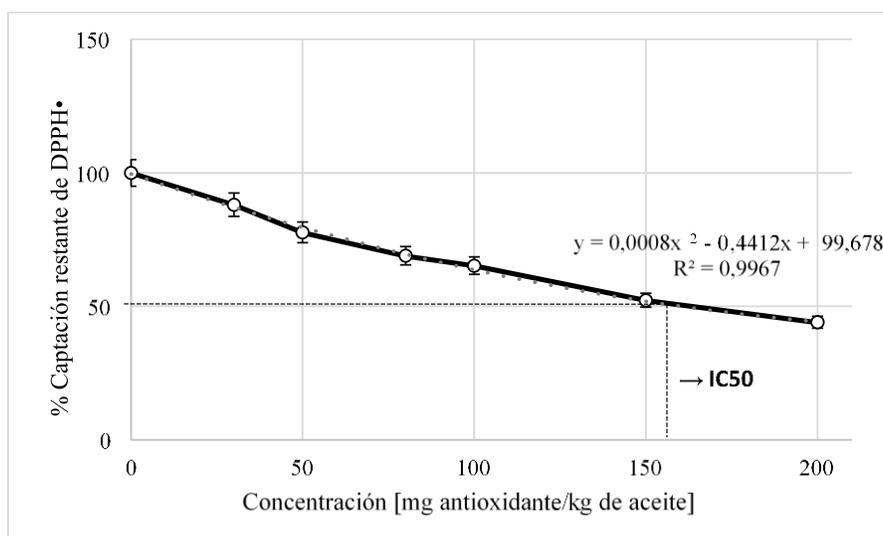


Figura 6. Porcentaje de captación DPPH• en función de la concentración antioxidante

3. Conclusiones

Se seleccionó el aceite Sacha Inchi de la región de El Playón ya que al realizarse la caracterización fisicoquímica y el respectivo análisis de ANOVA de la misma, se evidenció que existen diferencias significativas entre la procedencia de los lotes de aceites y los parámetros de calidad. Además, este lote cumplió con mayores criterios de la Norma Técnica Peruana (NTP) de la calidad de índices y perfil lipídico.

Con respecto a la determinación de la capacidad antirradicalaria usando el método DPPH•, se evidenció que, en el aceite de Sacha Inchi, el extracto de grano de cacao obtuvo mejor respuesta de porcentaje de inhibición ($59,774 \pm 0,01$) con respecto al antioxidante BHT ($9,0417 \pm 0,01$); indicando que el extracto tiene mayor capacidad a atrapar el radical DPPH•.

En el estudio de la estabilidad oxidativa los resultados permitieron establecer que la reacción de formación de hidroperóxidos (IP) sigue un modelo cinético de orden cero y que la velocidad de formación de dichos compuestos es dependiente de la temperatura según la ecuación de

Arrhenius ya que al aumentar la temperatura aumenta el valor de la energía de activación. Los valores de energía de activación para el control, antioxidante natural (E200) y antioxidante sintético (B200) fueron 43.088,130 J/mol, 44.159,811 J/mol y 39.472,378 J/mol, respectivamente.

El tiempo estimado de vida útil del Aceite Sacha Inchi a 25 °C fue de aproximadamente 47 días para el control (aceite sin antioxidantes), 38 y 52 días para el tratamiento E200 y B200 respectivamente, y a 40 °C se estima un tiempo de 20, 17 y 24 días para los tratamientos Control, E200 y B200, respectivamente.

El tratamiento B200 a lo largo del estudio cinético presenta menor grado de oxidación comparándolo con el Control y E200, siendo este la mejor opción a implementar para prolongar la vida anaquel del aceite de Sacha Inchi.

4. Recomendaciones

Se recomienda realizar un seguimiento de la solubilidad del extracto de grano de cacao en el aceite de Sacha Inchi.

También ejecutar el estudio cinético de la degradación oxidativa del aceite de Sacha Inchi a más temperaturas y suplementado con el antioxidante natural (extracto poli fenólico de grano de cacao) a la concentración del IC50 (157,68 mg/kg) hallado en el presente trabajo.

Adicionalmente llevar a cabo un análisis colorimétrico del aceite de Sacha Inchi para así evidenciar el cambio del mismo al adicionarle extracto polifenólico de cacao y someterlo a diferentes temperaturas.

Referencias bibliográficas

- Ayala Martínez, G. A. (2016). *Análisis de crecimiento y producción de 3 variedades de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) en el municipio de Tena Cundinamarca*. Universidad de Ciencias aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Bogotá, Colombia
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*(4617), 1199–1200. Recuperado de <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Chasquibol Silva, N., Yácono Llanos, J. C., Pérez Camino, M. C., & Wenceslao, M. (2015). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de papas andinas sobre la estabilidad oxidativa del aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia huayllabambana*). In *Repositorio Institucional Ulima*. Universidad de Lima, Lima Perú.
- Comité del Codex Alimentarius. Norma para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales, (2015). Recuperado de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/gsfa/es/>
- Dreosti, I. E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, *16*(7–8), 692–694. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(00\)00304-X](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00304-X)
- Eskin, M., & Robinson, D. S. (2001). *Food shelf life stability: chemical, biochemical, and microbiological changes* (M. Eskin & D. S. Robinson (Eds.)). CRC Press.
- Fernández, J., Pascual, G., Silva Jaimes, M., Salvá, B., Guevara, A., & Encina, C. (2018). Efecto del tratamiento enzimático de la semilla de moringa (*Moringa oleífera*) sobre las características físico-químicas del aceite obtenido por extracción con prensa expeller. *Ciencia Agropecuaria*, *9*(3), 371–380. Recuperado de <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.03.08>

- Frankel, E. N. (1999). Food antioxidants and phytochemicals: present and future perspectives. *Lipid / Fett*, 101(12), 450–455. Recuperado de [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4133\(199912\)101:12<450::AID-LIPI450>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4133(199912)101:12<450::AID-LIPI450>3.0.CO;2-8)
- García Cubides, J. L. (2015). *Determinación de la capacidad antioxidante de aquil ésteres del ácido 3-4 dihidroxihidrocinámico por el método ORAC lipofílico y efecto de su dosificación en aceite de palma comercial*. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Godoy Chivata, J. E. (2015). *Obtención de antioxidantes a partir de grano de cacao: condiciones favorables de inactivación de la enzima polifenol oxidasa, extracción de polifenoles y ajuste de parámetros cinéticos*. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia
- Gómez Alonso, S., Fregapane, G., & Gordon, M. H. (2003). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of virgin olive oil during frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 667–672. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/jf025932w>
- Guardado Yordi, E., Molina Pérez, E., Matos Joao, M., & Uriarte Villares, E. (2012). Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. In *Nutrition, Well-Being and Health*. InTech. Recuperado de <https://doi.org/10.5772/29471>
- Guillén, M. D., & Cabo, N. (2002). Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry*, 77(4), 503–510. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00371-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00371-5)
- Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, 32(7), 1141–1148. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90262-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90262-9)

- Hurtado Ordoñez, Z. A. (2013). *Análisis composicional de la torta y aceite de semilla de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis) cultivada en Colombia*. Universidad Nacional de Colombia, Plamira, Colombia.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G., Slowing, K., Thomas, C., Beecher, C., Fong, H., Farnsworth, N., Kinghorn, D., Mehta, R., Moon, R., & Pezzuto, J. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275(5297), 218–220. Recuperado de <https://doi.org/10.1126/science.275.5297.218>
- Losada Barreiro, S. (2013). *Estabilidad oxidativa y distribución de antioxidantes en emulsiones formadas por aceites vegetales de uso culinario*. Universidad de Vigo, Vigo, España.
- Martínez Flórez, S., González Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes Correspondencia. *Nutr. Hosp*, 6, 271–278.
- Martinez Valvere, I., & Periago, M. J. (2014). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. In *Ohmic Heating in Food Processing* (Vol. 50, Issue 1). CRC Press. Recuperado de <https://doi.org/10.1201/b16605>
- Molano Sterling, A. B., Ramiro Vega, N., & López Martínez, J. G. (2016). *Producción y comercialización del aceite Sacha Inchi cultivado en Colombia con fines de exportación a Alemania*. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá, Colombia.
- Molina Quijada, D., Medina Juárez, L., González Aguilar, G., Robles Sánchez, R., & Gámez Meza, N. (2010). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis vinifera* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México. *CYTA - Journal of Food*, 8(1), 57–63. Recuperado de <https://doi.org/10.1080/19476330903146021>
- Mosquera, O., Niño, J., Correa, Y., & Buitrago Berajano, D. C. (2005). Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de

- extractos vegetales. *Scientia Et Technica*, 11(27), 231–234. Recuperado de <https://doi.org/10.22517/23447214.6941>
- Muñoz Jauregui, A. M., AlvaradoOrtíz Ureta, C. E., Ramos Escudero, D. F., Castañeda Castañeda, B., Barnett Mendoza, E. D., Cárdenas Lucero, L., Yáñez Farfán, J. A., Cajaleón Asencios, D. H., & Encina Zelada, C. (2013). Estudio de polifenoles, taninos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante de la semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Horiz. Méd. (Impresa)*, 13(1), 11–18.
- Ortiz Rojas, Y. (2016). *Aprovechamiento de la actividad antioxidante de extractos y aceites esenciales de romero (Rosmarinus officinalis L.), tomillo (Thymus vulgaris L.) y menta (Mentha spicata L.) como aditivo funcional en aceites comestibles*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- Othman, A., Maleyki, A., Jalil, M., Weng, K. K., Ismail, A., Ghani, N. A., & Adenan, I. (2010). Epicatechin content and antioxidant capacity of cocoa beans from four different countries. *African Journal of Biotechnology*, 9(7), 1052–1059. Recuperado de <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Pace Asciak, C., Hahn, S., Diamandis, E., Soleas, G., & Goldberg, D. (1995). The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implications for protection against coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta*, 235(2), 207–219. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(95\)06045-1](https://doi.org/10.1016/0009-8981(95)06045-1)
- Pasamar, M. A., Ibarra, A., Cienfuegos Jovellanos, E., & Laghi, S. (2006). *Proceso de obtención de extractos de cacao con elevado contenido de polifenoles* (Patent No. WO2007138118A1).
- Pedrielli, P., & Skibsted, L. H. (2002). Antioxidant synergy and regeneration effect of quercetin, (-)-epicatechin, and (+)-catechin on α -tocopherol in homogeneous solutions of peroxidating

- methyl linoleate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 7138–7144.
Recuperado de <https://doi.org/10.1021/jf0204371>
- Perea Villamil, J. A., Cadena Cala, T., & Herrera Ardila, J. (2009). El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Centro de Investigación En Ciencia y Tecnología de Alimentos-CICTA*, 41(2), 128–134.
- Piedrahita Correa, A. M. (2015). *Estabilidad oxidativa y vida útil del aceite de Choibá (Dipteryx oleifera Benth.) suplementado con extracto de romero (Rosmarinus officinalis L.)* [Universidad Nacional de Colombia]. Recuperado de <https://descubridor.minagricultura.gov.co/buscador/Record/ir-50114>
- Pineda Alonso, D., Salucci, M., Lázaro, R., Maiani, G., & Ferro Luzzi, A. (1999). Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Rev. Cuba. Aliment. Nutr*, 13(2), 104–111.
- Promperu. (n.d.). *Aceite Sacha Inchi*. Retrieved April 11, 2020, from www.promperu.gob.pe
- Ramirez Galindez, K. A., Alvarina Abril, D., & Betancur Cardenas, H. D. (2019). Diseño de un plan para la producción agrícola de Sacha Inchi en el municipio de Moniquirá. In *instname: Universidad Piloto de Colombia*. Universidad Piloto de Colombia, Bogotá, Colombia
- Reales, N., Gómez, P., Salim Rosales, C., Bravo, M., & Gómez, E. (2010). Actividad antioxidante de extractos hojas de olivo cultivar Coratina, del Valle Central de Catamarca. *Revista Del CIZAS*, 11(1), 18–30.
- Rosero Riaño, D. X. (2015). *Plan de exportación de aceite Sacha Inchi para la empresa Gen S.A.S*. Universidad ICESI, Cali, Colombia.

- Salazar de Marcano, E., Belén, D., Marín, G., & Moreno, H. (2007). Cinética de deterioro del aceite de la semilla de la palma Coroba (*Attalea maripa*). *Saber*, 19(2), 172–182. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739433008>
- Samaniego Sanchez, C. (2006). *Estudio y evaluación de la capacidad antioxidante de aceites de oliva virgen extra. Implicación en la salud* [Universidad de Granada]. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/46589633_Estudio_y_evaluacion_de_la_capacidad_antioxidante_de_aceites_de_oliva_virgen_extra_Implicacion_en_la_salud
- Santos Agualongo, S. E., & Paredes Escobar, M. L. (2018). *Estudio de la estabilidad del aceite de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) a diferentes condiciones de inhibición oxidativa*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.
- Tuner, H., & Korkmaz, M. (2007). Radiostability of butylated hydroxytoluene (BHT): An ESR study. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B Beam Interactions with Materials and Atoms*, 258(2), 388–394. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2007.02.098>
- Villacrés Gallardo, D. M. de A. (2016). *Determinación del índice de peróxidos en aceites usados en la preparación de papas fritas de ocho diferentes restaurantes con el objetivo de determinar posibles efectos en la salud*. Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador
- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423–447. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5)
- Zapata Acosta, K., Piedrahita, A. M., Alzate, A. F., Cortés, F. B., & Rojano, B. A. (2015). Estabilización oxidativa del aceite de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo) con

suspensiones de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). *Ciencia En Desarrollo*, 6(2), 141–153. Recuperado de <https://doi.org/10.19053/01217488.3784>

Apéndices

Apéndice A. Evaluación de la capacidad antioxidante

A.1 Contenido de polifenoles totales

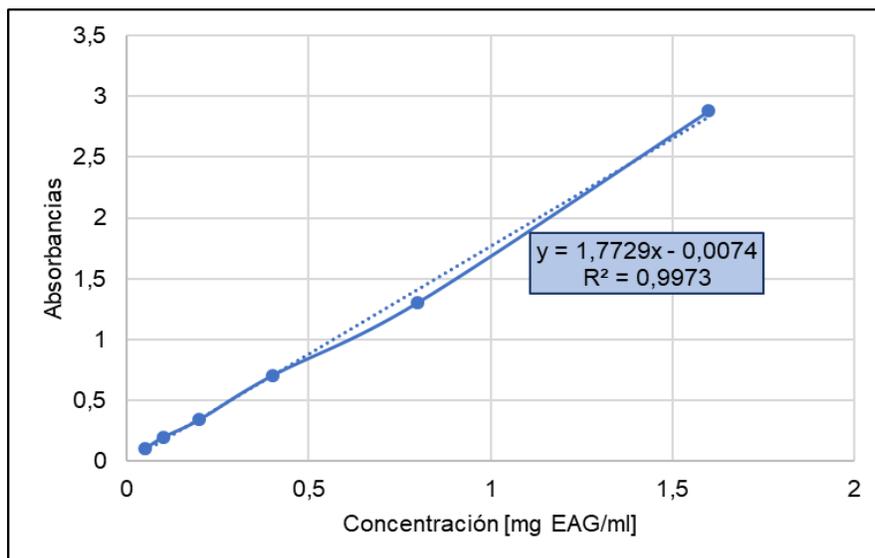


Figura A 1. Recta de calibración de Ácido Gálico

A.2 Método de decoloración del radical dpph•

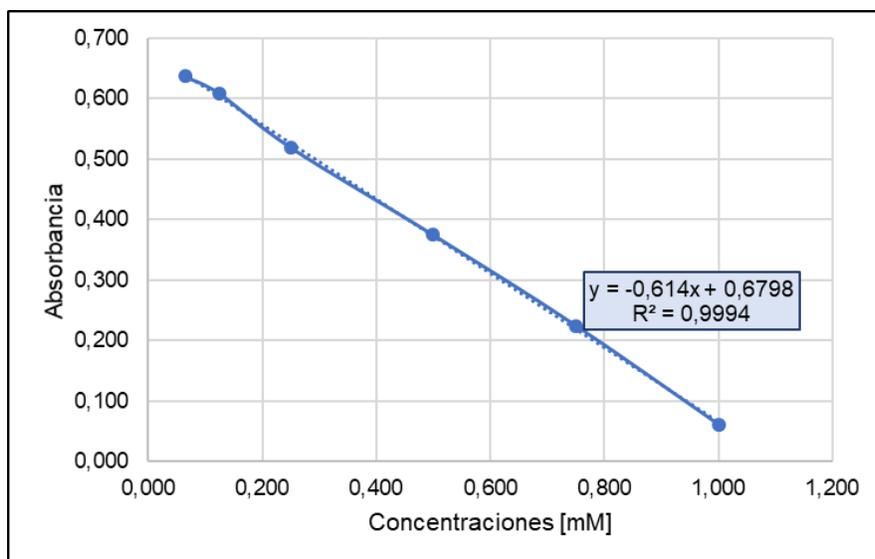


Figura A 2. Recta de calibración de Trolox® 1

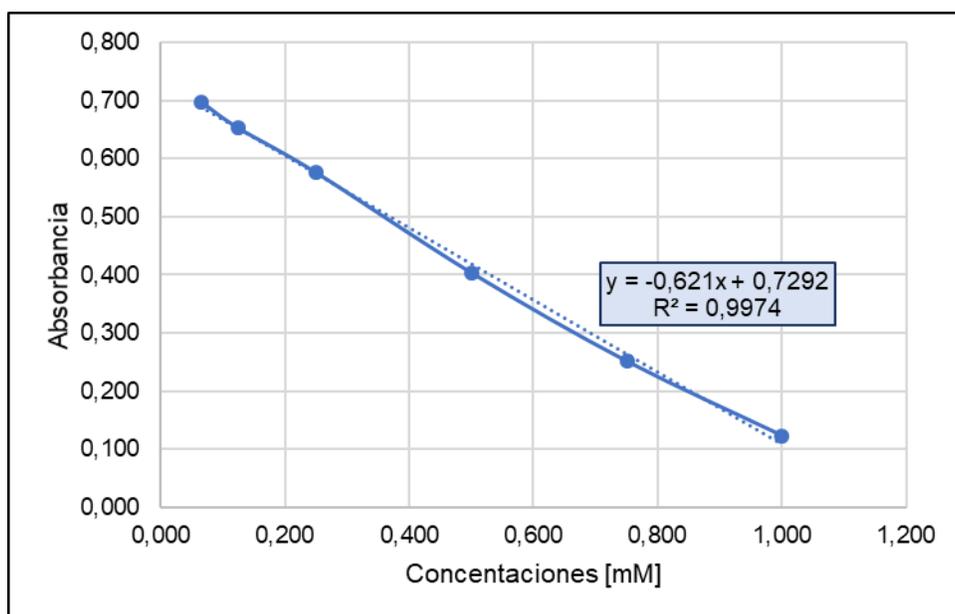


Figura A 3. Recta de calibración de Trolox® 2

Apéndice B. Estudio cinético de la degradación oxidativa del aceite de sachá inchi suplementado con antioxidantes

Análisis de regresión modelo cinético para valor de peróxido - CONTROL 25°C.

*Variable dependiente: Índice de peróxidos; (IP; meqO₂/kg muestra)

*Variable independiente: Tiempo (t; Días)

*Modelo cinético de orden cero:

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} * [IP]^m$$

$$m = \text{orden de la reacción} = 0$$

$$dIP = k_{IP} * dt$$

$$IP = IP_0 + k_{IP} * t$$

$$IP = 2,2609 + 0,3778 * t$$

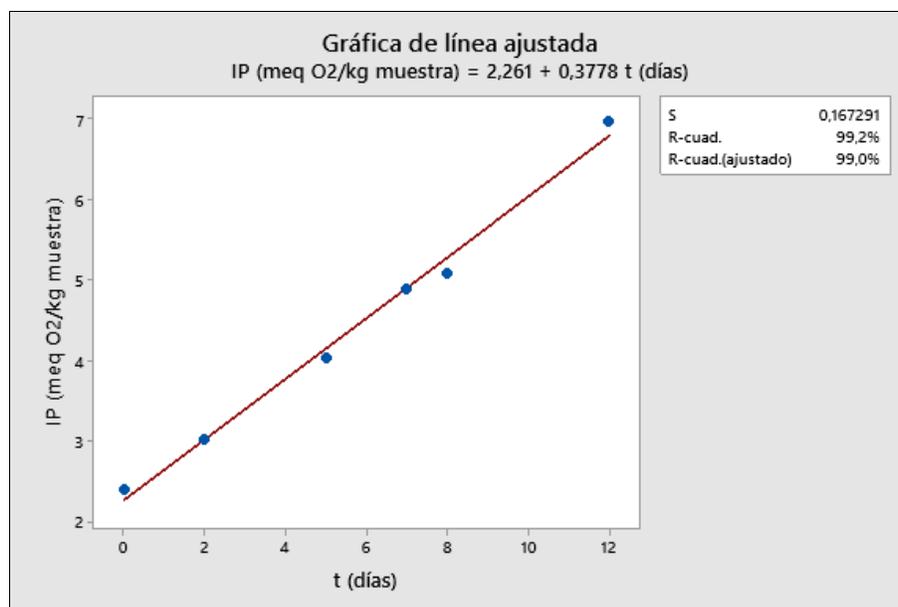


Figura B 1. Comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C sin adición de antioxidante (CONTROL)

Estadísticas	IP	DÍAS
N	6	6
Media	4,4018	5,6667
Desv.Est.	1,6391	4,3205
Mínimo	2,4028	0
Máximo	6,9888	12

Figura B 2. Estadísticas del comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C sin adición de antioxidante (CONTROL)

Tabla B 1.

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)
0,167291	99,17%	98,96%

Tabla B 2.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	13,3210	13,3210	475,98	0,000
Error	4	0,1119	0,0280		
Total	5	13,4330			

Dado que el coeficiente de correlación R- cuadrado fue de 99.17%, es posible concluir que el modelo cinético de orden cero ajusta correctamente los datos experimentales.

Análisis de regresión modelo cinético para valor de peróxido - CONTROL 40°C.

*Variable dependiente: Índice de peróxidos; (IP; meqO₂/kg muestra)

*Variable independiente: Tiempo (t; Días)

*Modelo cinético de orden cero:

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} * [IP]^m$$

$$m = \text{orden de la reacción} = 0$$

$$dIP = k_{IP} * dt$$

$$IP = IP_0 + k_{IP} * t$$

$$IP = 2,980 + 0,8687 * t$$

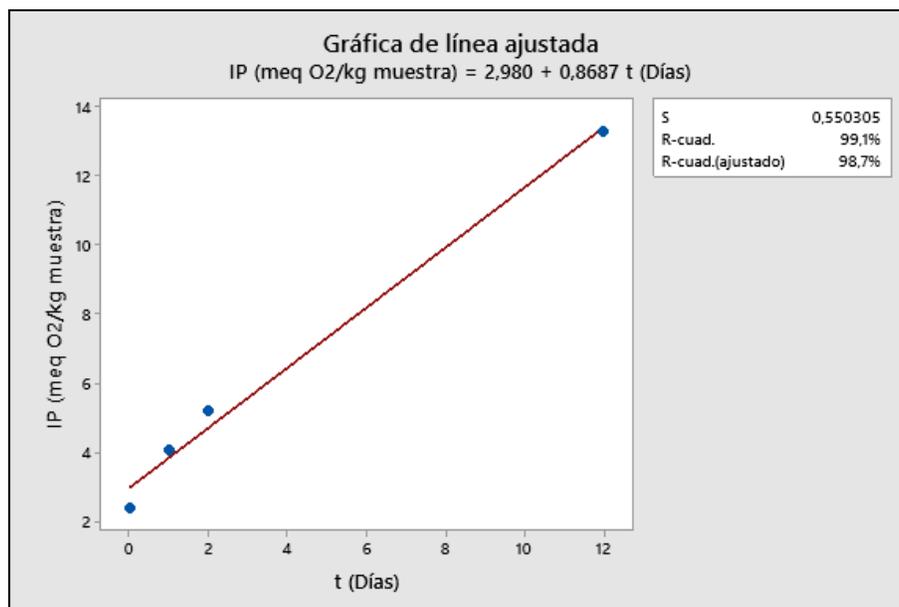


Figura B 3. Comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 40°C sin adición de antioxidante (CONTROL)

Estadísticas	IP (meq O ₂)	t (Días)
N	4	4
Media	6,2378	3,75
Desv.Est.	4,8512	5,5603
Mínimo	2,4028	0
Máximo	13,309	12

Figura B 4. Estadísticas del comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 40°C sin adición de antioxidante (CONTROL)

Tabla B 3.

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)
0,550305	99,14%	98,71%

Tabla B 4.
Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	69,9966	69,9966	231,14	0,004
Error	2	0,6057	0,3028		
Total	3	70,6023			

Modelo Arrhenius para valor de peróxido ensayo CONTROL

*Variable dependiente: Ln(Kip)

*Variable independiente: 1/T

$$\ln(Kip) = \ln(K_A) - \frac{E_a}{RT}$$

$$\ln(Kip) = 16,409 - 5182,6 \frac{1}{T}$$

*Constante universal de los gases ideales: R (8,314 J/mol K)

$$E_a = 43088,136 \frac{J}{mol}$$

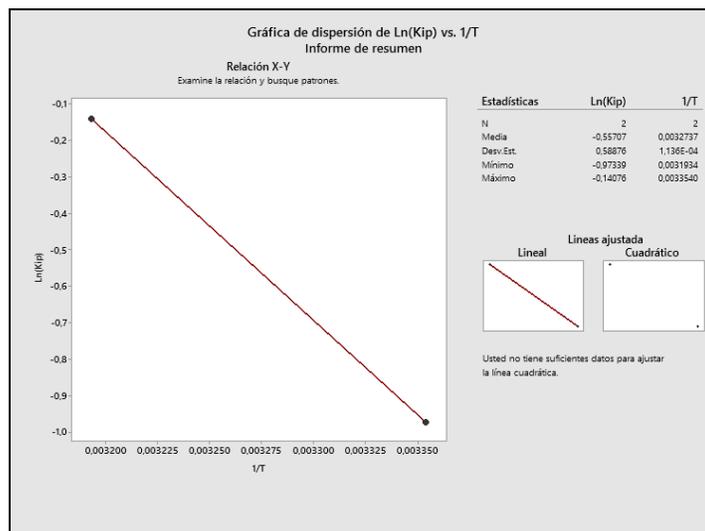


Figura B 5. *Figura del Logaritmo natural de los Kip en función de la 1/T en el aceite sin adición de antioxidante (CONTROL)*

Predicción de la vida útil del ensayo CONTROL

A partir de la ecuación Arrhenius se calcularon los siguientes datos:

Tabla B 5.

Datos obtenidos a partir de la ecuación Arrhenius en el aceite sin adición de antioxidante (CONTROL)

Ln(Kip) RE CALCULADO	Kip RE CALCULADO	TIEMPO DE VIDA ÚTIL (Días)
-0,97352557	0,37774891	46,59
-0,14089622	0,86857945	20,26

Análisis de regresión modelo cinético para valor de peróxido - E200 25°C.

*Variable dependiente: Índice de peróxidos; (IP; meqO₂/kg muestra)

*Variable independiente: Tiempo (t; Días)

*Modelo cinético de orden cero:

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} * [IP]^m$$

$$m = \text{orden de la reacción} = 0$$

$$dIP = k_{IP} * dt$$

$$IP = IP_0 + k_{IP} * t$$

$$IP = 2,168 + 0,4524 * t$$

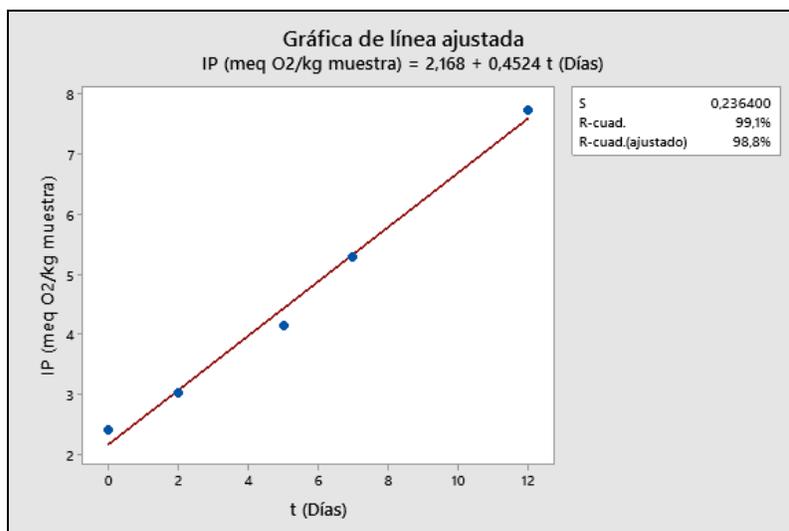


Figura B 6. Comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C con adición de 200 mg/kg de extracto

Estadísticas	IP (meq O ₂)	t (Días)
N	7	7
Media	4,7728	6,1429
Desv.Est.	1,7828	4,1404
Mínimo	2,4028	0
Máximo	7,7505	12

Figura B 7. Estadística del comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C con adición de 200 mg/kg de extracto (E200)

Tabla B 6. Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)
0,236400	99,07%	98,75%

Tabla B 7. Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	17,7686	17,7686	317,95	0,000
Error	3	0,1677	0,0559		
Total	4	17,9363			

Dado que el coeficiente de correlación R- cuadrado fue de 99.07%, es posible concluir que el modelo cinético de orden cero ajusta correctamente los datos experimentales.

Análisis de regresión modelo cinético para valor de peróxido - E200 40°C.

*Variable dependiente: Índice de peróxidos; (IP; meqO₂/kg muestra)

*Variable independiente: Tiempo (t; Días)

*Modelo cinético de orden cero:

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} * [IP]^m$$

$$m = \text{orden de la reacción} = 0$$

$$dIP = k_{IP} * dt$$

$$IP = IP_0 + k_{IP} * t$$

$$IP = 2,221 + 1,062 * t$$

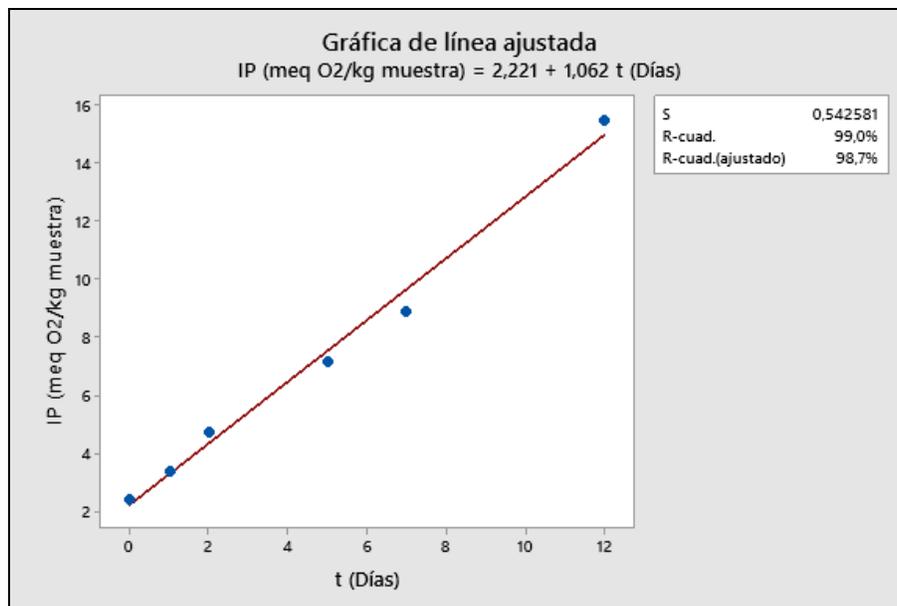


Figura B 8. Comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 40°C con adición de 200 mg/kg de extracto (E200)

Estadísticas	IP (meq O2)	t (Días)
N	6	6
Media	7,0006	4,5
Desv.Est.	4,8098	4,5056
Mínimo	2,4028	0
Máximo	15,504	12

Figura B 9. Estadísticas del comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 40°C con adición de 200 mg/kg de extracto (E200)

Tabla B 8.

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)
0,542581	98,98%	98,73%

Tabla B 9.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	114,493	114,493	388,91	0,000
Error	4	1,178	0,294		
Total	5	115,670			

Dado que el coeficiente de correlación R- cuadrado fue de 98.98%, es posible concluir que el modelo cinético de orden cero ajusta correctamente los datos experimentales

Modelo arrhenius para valor de peróxido ensayo E200

*Variable dependiente: Ln(Kip)

*Variable independiente: 1/T

$$\ln(Kip) = \ln(K_A) - \frac{E_a}{RT}$$

$$\ln(Kip) = 17,022 - 5311,5 \frac{1}{T}$$

*Constante universal de los gases ideales: R (8,314 J/mol K)

$$Ea = 44159,811 \frac{J}{mol}$$

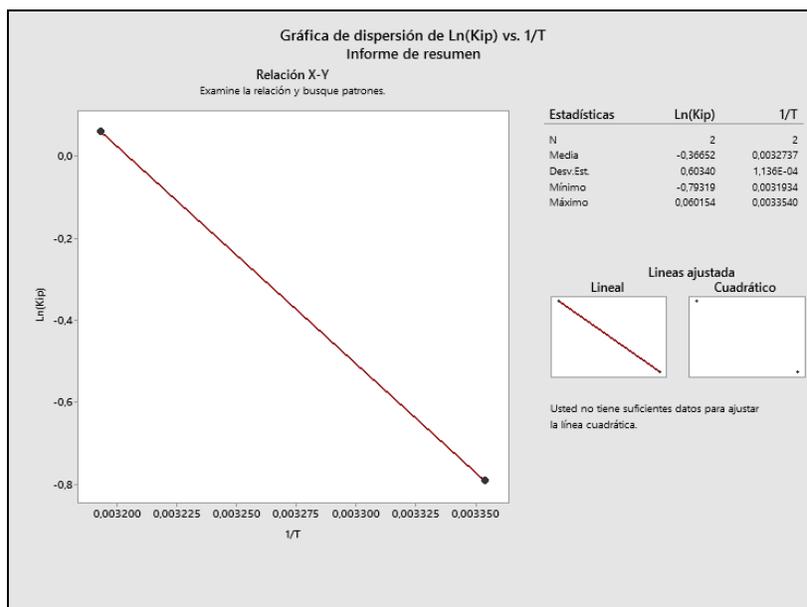


Figura B 10. Figura del Logaritmo natural de los Kip en función de la 1/T en el aceite con adición de 200 mg/kg de extracto (E200)

Predicción de la vida útil del ensayo E200

A partir de la ecuación Arrhenius se calcularon los siguientes datos:

Tabla B 10.

Datos obtenidos a partir de la ecuación Arrhenius en el aceite con adición de 200 mg/kg de extracto (E200)

Ln(Kip) RE CALCULADO	Kip RE CALCULADO	TIEMPO DE VIDA ÚTIL (Días)
-0,79285829	0,45254943	38,89
0,06047996	1,06234631	16,57

Análisis de regresión modelo cinético para valor de peróxido - B200 25°C.

*Variable dependiente: Índice de peróxidos; (IP; meqO₂/kg muestra)

*Variable independiente: Tiempo (t; Días)

*Modelo cinético de orden cero:

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} * [IP]^m$$

$m = \text{orden de la reacción} = 0$

$$dIP = k_{IP} * dt$$

$$IP = IP_0 + k_{IP} * t$$

$$IP = 2,222 + 0,3357 * t$$

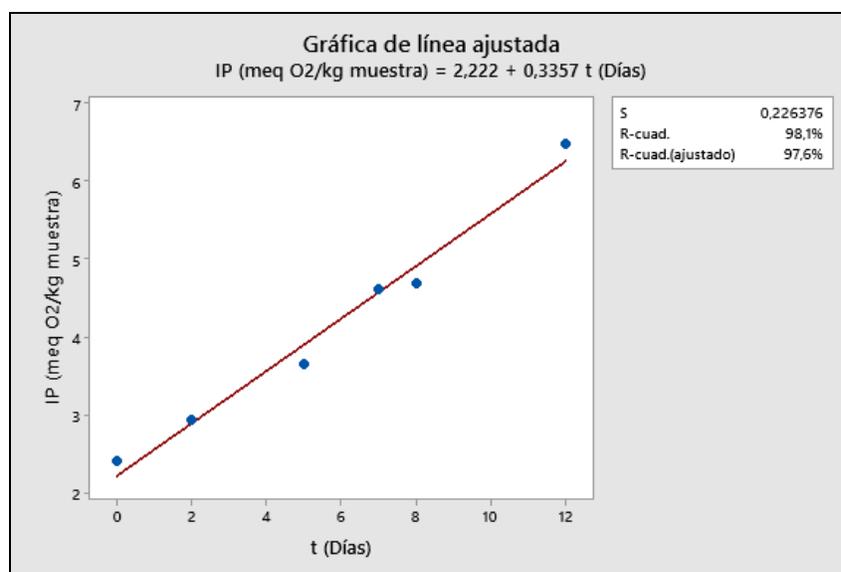


Figura B 11. Comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C con adición de 200 mg/kg de BHT (B200)

Estadísticas	IP (meq O ₂)	t (Días)
N	6	6
Media	4,1243	5,6667
Desv.Est.	1,4644	4,3205
Mínimo	2,4028	0
Máximo	6,4813	12

Figura B 12. Estadísticas del comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C con adición de 200 mg/kg de BHT (B200)

Tabla B 11.*Resumen del modelo*

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)
0,226376	98,09%	97,61%

Tabla C 12.*Análisis de Varianza*

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	10,5178	10,5178	205,24	0,000
Error	4	0,2050	0,0512		
Total	5	10,7228			

Dado que el coeficiente de correlación R- cuadrado fue de 98.09%, es posible concluir que el modelo cinético de orden cero ajusta correctamente los datos experimentales.

Análisis de regresión modelo cinético para valor de peróxido - B200 40°C.

*Variable dependiente: Índice de peróxidos; (IP; meqO₂/kg muestra)

*Variable independiente: Tiempo (t; Días)

*Modelo cinético de orden cero:

$$r_{IP} = \frac{dIP}{dt} = k_{IP} * [IP]^m$$

$$m = \text{orden de la reacción} = 0$$

$$dIP = k_{IP} * dt$$

$$IP = IP_0 + k_{IP} * t$$

$$IP = 2,750 + 0,7198 * t$$

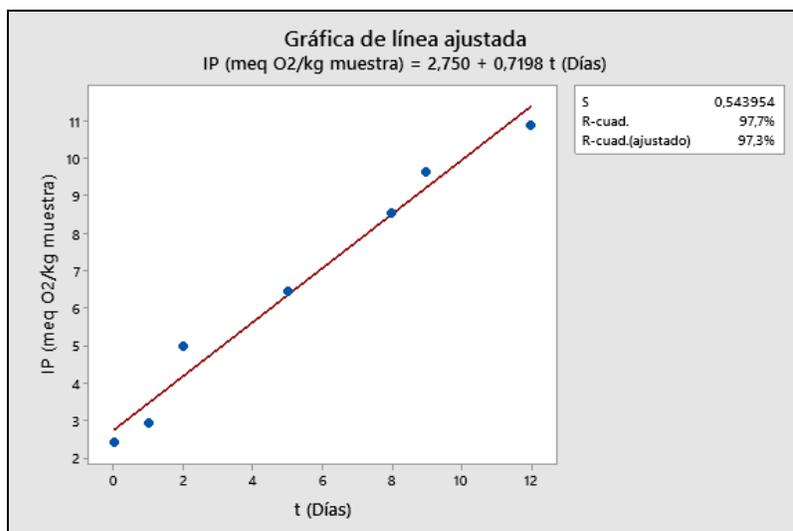


Figura B 13. Comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C con adición de 200 mg/kg de BHT (B200)

Estadísticas	IP (meq O ₂)	t (Días)
N	7	7
Media	6,5545	5,2857
Desv.Est.	3,3023	4,5356
Mínimo	2,4028	0
Máximo	10,902	12

Figura B 14. Estadísticas del comportamiento del índice de peróxidos vs tiempo a una temperatura de 25°C con adición de 200 mg/kg de BHT (B200)

Tabla C 13. Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)
0,543954	97,74%	97,29%

Tabla C 14. Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	63,9520	63,9520	216,14	0,000
Error	5	1,4794	0,2959		
Total	6	65,4314			

Dado que el coeficiente de correlación R- cuadrado fue de 97,74%, es posible concluir que el modelo cinético de orden cero ajusta correctamente los datos experimentales.

Modelo arrhenius para valor de peróxido ensayo B200.*Variable dependiente: Ln(Kip)*Variable independiente: 1/T

$$\ln(Kip) = \ln(K_A) - \frac{Ea}{RT}$$

$$\ln(Kip) = 14,832 - 4747,7 \frac{1}{T}$$

*Constante universal de los gases ideales: R (8,314 J/mol K)

$$Ea = 39472,378 \frac{J}{mol}$$

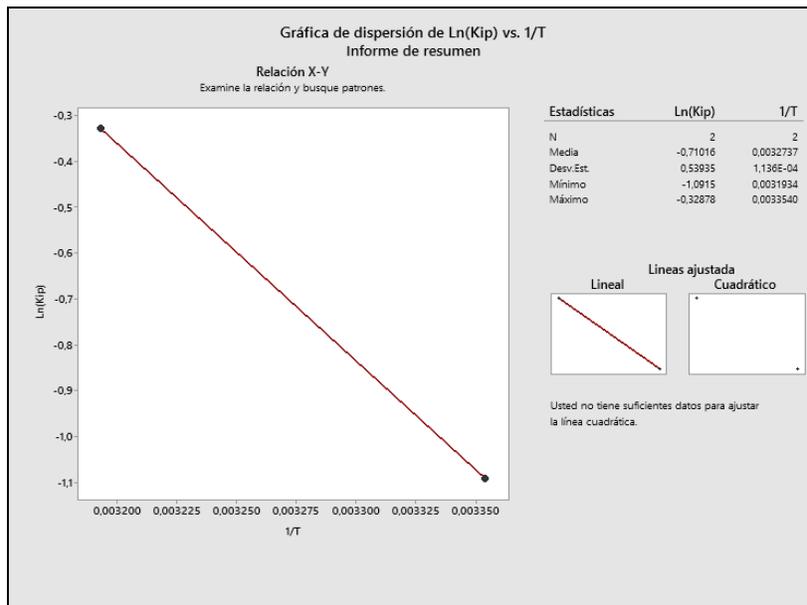


Figura B 15. Figura del Logaritmo natural de los Kip en función de la 1/T en el aceite con adición de 200 mg/kg de BHT (B200)

Predicción de la vida útil del ensayo B200

A partir de la ecuación Arrhenius se calcularon los siguientes datos:

Tabla C 15.

Datos obtenidos a partir de la ecuación Arrhenius en el aceite sin adición de antioxidante (B200)

Ln(Kip) RE CALCULADO	Kip RE CALCULADO	TIEMPO DE VIDA ÚTIL (Días)
-1,09186383	0,33559043	52,44
-0,3291049	0,71956753	24,46

Apéndice C. Determinación del valor IC50 mediante el efecto de dosificación del antioxidante en el aceite de sachá inchi

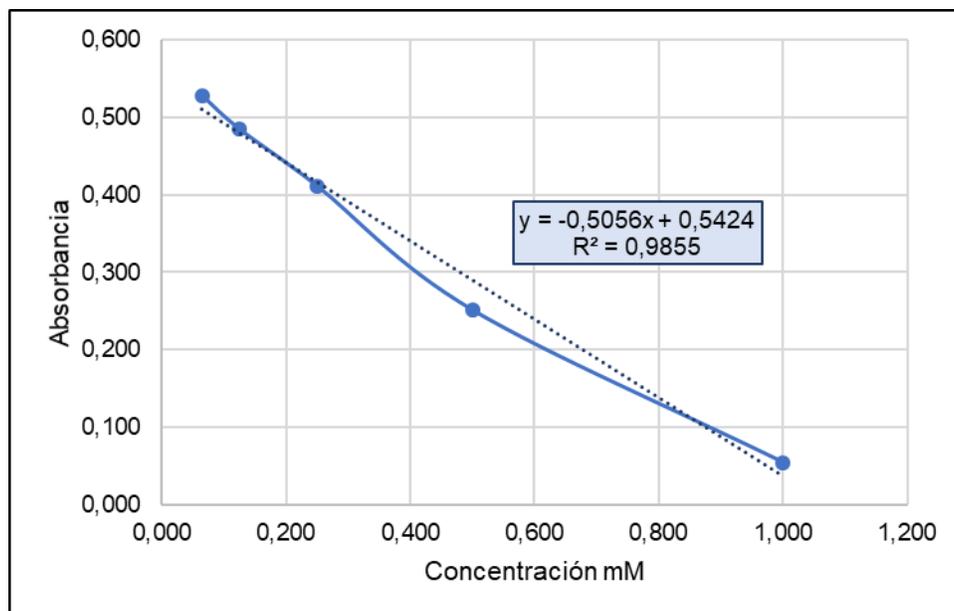


Figura C 1. Recta de la calibración de Trolox®

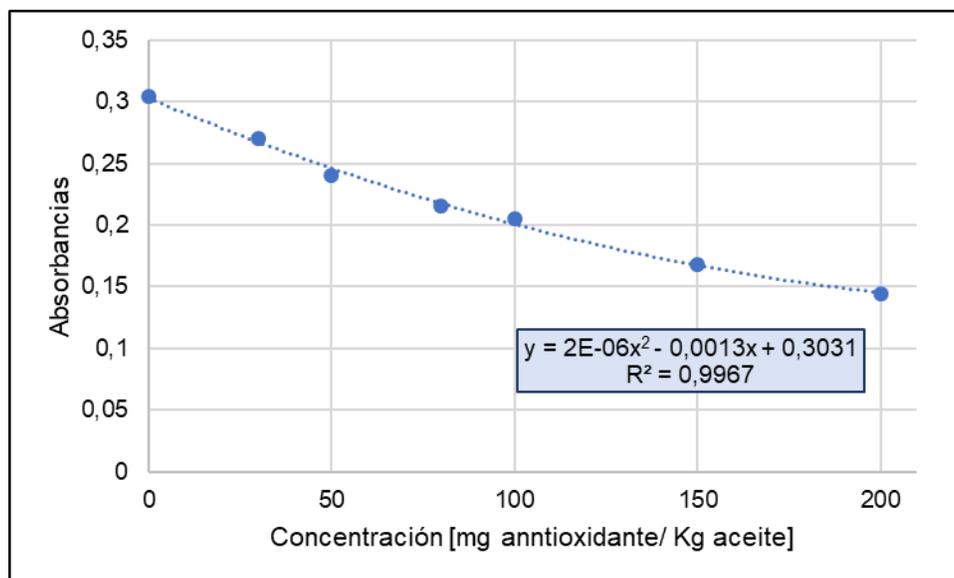


Figura C 2. Curva de absorbancia en función de la concentración en miligramos de antioxidante polifenólico de grano de cacao por kilogramo de aceite de Sacha Inchi