

Efecto de la dosificación de antioxidantes naturales sobre la estabilidad oxidativa del aceite de palma.

Cesar Andrés Montañez González y Diego Alejandro Pinzón Pérez

Trabajo de grado para optar por el título de ingeniero Químico
Trabajo de investigación

Director

Arley René Villamizar Jaimes

Químico, Mg. Ciencias y Tecnologías Ambientales

Codirector

Luis Javier López Giraldo

Ing. Químico, PhD. Química Bioquímica y ciencia de Alimentos

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de ingeniería Química

Bucaramanga

2022

Agradecimientos

Agradezco a Dios Todopoderoso por permitirme culminar esta etapa maravillosa en mi vida llena de recuerdos agradables, experiencias enriquecedoras y conocimientos aprendidos.

A mi padre Víctor Julio Pinzón Castro por acompañarme y apoyarme en cada instante de mi vida, con su consejo, guía y amor incondicional.

A mi hermano Víctor Alexis Pinzón Pérez por estar presente brindando su apoyo y fortaleza cuando fue necesario.

A mi compañero Cesar Andrés Montañez González por hacer parte de esta etapa de mi vida, brindando su apoyo y compromiso a lo largo de estos años.

A mi alma mater la Universidad Industrial de Santander por brindarme una formación integral de calidad.

A nuestro director, Arley Villamizar y codirector Luis Javier López, por sus conocimientos, aportes y paciencia a lo largo del proyecto de investigación. A los miembros del Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos CICTA por brindar sus conocimiento y experiencia en ayuda de nuestro proyecto.

DIEGO ALEJANDRO PINZÓN PÉREZ

Agradecimientos

Agradezco primeramente a Dios por cada una de las oportunidades que me ha regalado y donde he podido aprender y formarme como persona.

A mis padres Ana Cecilia González y Jaime Montañez que siempre me dieron apoyo en los momentos difíciles con sus consejos para seguir adelante y me brindaron la oportunidad de educarme profesionalmente.

A mis hermanos Fernando, Lorena, Miguel y Alejandro por creer en mis capacidades y darme apoyo incondicional en los momentos más difíciles.

A mi abuelita Rosalbina por ser siempre tan hermosa conmigo por aconsejarme y apoyarme, en cada una de las decisiones que he tomado a lo largo de mi vida. A mi abuelito Ramon por ser mi ejemplo a seguir y enseñarme el valor del trabajo duro.

A mi compañero Diego Alejandro Pinzón por ser parte de esta experiencia y tener el máximo compromiso y apoyo a lo largo de toda la carrera.

A nuestro director, Arley Villamizar y codirector Luis Javier López, por sus instrucciones y conocimiento brindado para terminar con éxito este proyecto de investigación.

Finalmente, a todos mis amigos que me ha dejado la Universidad con los que pude compartir y vivir esta gran etapa, por siempre brindarme apoyo, consejos y estar en esos momentos difíciles.

CÉSAR ANDRÉS MONTAÑEZ GONZÁLEZ

Tabla de contenido

Introducción	11
1. Objetivos	13
1.1 Objetivo General	13
1.2 Objetivos Específicos	13
2 Marco conceptual	14
2.1 Aceite de Palma	14
2.2 Oxidación lipídica en aceites vegetales	15
2.3 Antioxidantes	17
2.3.1 Antioxidantes Sintéticos	17
2.3.2 Antioxidantes Naturales	18
2.3.2.1 Extractos Naturales Antioxidantes del Romero	19
2.3.2.2 Extractos Naturales Antioxidantes de Cacao	19
2.4 Estabilidad Oxidativa	20
2.4.1. Método Rancimat	20
2.5 Parámetros estandarizados con un 50 %	22
3 Estado del arte	23
4 Metodología	25
4.1 Caracterización de Aceite de Palma	26
4.2 Extracción de Polifenoles de Romero y Cacao	26
4.3 Dosificación de Polifenoles	26
4.3.1 Polifenoles Totales	27
4.4 Sistema de Oxidación a Condiciones Aceleradas	28
4.4.1 Desarrollo del Sistema de Oxidación	28
4.4.2 Ensayos de Oxidación Térmica	29
4.4.3 Determinación de punto de inducción	29
4.5 Estudio de la estabilidad oxidativa del aceite de palma suplementado con antioxidantes	30
4.5.1 Estimación de vida útil	31
4.5.2 Determinación de Energía de activación	31
5 Resultados	32
5.1 Caracterización del aceite de Palma	32
5.2 Contenido Total de Polifenoles	33
5.3 Sistema de Oxidación	34

5.3.1	Desarrollo del Sistema de Oxidación	34
5.3.2	Determinación del Punto de Inducción	35
5.4	Efecto de la dosificación de antioxidantes naturales en aceite de palma RBD.....	37
5.5	Determinación del valor DA ₅₀	41
5.6	Estimación de vida Útil.....	42
5.7	Determinación de Energía de activación.....	44
6	Conclusiones	46
7	Recomendaciones	47
8	Referencias bibliográficas	47

Lista de tablas

Tabla 1. Ácidos grasos del APC y Aceite de palma RBD	15
Tabla 2. Matriz de estado del arte	23
Tabla 3. Caracterización de aceite de palma	32
Tabla 4. Valores de dosificación de antioxidantes de romero y cacao en el aceite de palma.	33
Tabla 5. Valores del parámetro DA ₅₀ para los diferentes antioxidantes.....	42
Tabla 6. Tiempo de estabilidad oxidativa (OSI) a cuatro temperaturas diferentes (T) en la medición de la estabilidad oxidativa del aceite palma según el método Rancimat.....	43
Tabla 7. Relación entre log OSI vs. T y los datos estimados de vida útil para la oxidación lipídica en el aceite de palma RBD	44
Tabla 8. Parámetros estimados de Arrhenius para la oxidación lipídica del aceite de palma RBD	45

Lista de Figuras

Figura 1. Estructura de antioxidantes sintéticos.....	18
Figura 2. Sistema de medición método Rancimat.....	21
Figura 3. Curva de tiempo de inducción según el método Rancimat.....	21
Figura 4 Diagrama de flujo de metodología	25
Figura 5. Sistema de oxidación.	28
Figura 6. Cálculo del punto de Inducción en la curva conductividad vs tiempo por el método de la línea tangente.....	30
Figura 7. Interfaz gráfico de ejecución para el sistema de oxidación, con curva de respuesta ejemplo (Control)	35
Figura 8. Interfaz gráfico para determinación automatizada de punto de inducción	36
Figura 9. Curva de concentración extractos polifenólicos de romero y cacao.....	37
Figura 10. Estructura de micela invertida (Coloides de asociación).....	38
Figura 11. Componentes polifenólicos (extracto de cacao) en la matriz de aceite.	40
Figura 12. Componentes polifenólicos (extracto de romero) en la matriz de aceite.....	41

Lista de apéndices

Apéndice A. Determinación de polifenoles totales.	52
Apéndice B. Estructura sistema de oxidación con sus respectivas secciones.	53
Apéndice C. Evaluación de punto de inducción e inflexión	54
Apéndice D. Coeficiente de reparto determinados en ChemDraw Ultra	59
Apéndice E. Determinación de vida Útil.....	61
Apéndice F. Determinación de energía de activación y factor preexponencial.	66

Resumen

Título: Efecto de la dosificación de antioxidantes naturales sobre la estabilidad oxidativa del aceite de palma. *

Autor: Cesar Andrés Montañez González, Diego Alejandro Pinzón Pérez. **

Palabras Clave: Aceite de Palma RBD, Rancimat, Estabilidad Oxidativa, Antioxidantes.

Descripción:

El aceite de palma es utilizado ampliamente por la industria alimentaria en procesos que involucran elevadas temperaturas y humedad. Factores que favorecen el deterioro oxidativo del aceite, haciendo indispensable la adición de antioxidantes sintéticos para aumentar su vida útil, sin embargo, se ha demostrado que estos pueden presentar efectos nocivos sobre la salud humana. Por ello, usar alternativas de origen natural ha tenido interés en los últimos años, destacando como opciones los extractos polifenólicos del romero y cacao, por su elevada capacidad para inhibir la oxidación y sus beneficios positivos para la salud.

En este estudio, se empleó un sistema de oxidación acelerada basado en el principio del método Rancimat, que permitió determinar el tiempo de estabilidad oxidativa a diferentes concentraciones para cada antioxidante. En el análisis comparativo se hizo necesario plantear un nuevo parámetro (DA_{50}) que permitiera estandarizar la dosis de antioxidante (extracto o sintético) con la que se logra aumentar en un 50% el tiempo de estabilidad oxidativo del aceite de palma, obteniéndose para los extractos de romero y cacao valores de 20 mg/kg y 70 mg/kg respectivamente y para el antioxidante sintético BHT 30 mg/kg. De esta forma se logró llevar a cabo la estimación del tiempo de vida útil y la energía de activación. Los resultados mostraron que a temperaturas de almacenamiento (25°C) el extracto de romero a pesar de reportar el valor de DA_{50} más bajo logró aumento el tiempo de estabilidad oxidativa respecto a la muestra de control un 48,06% (10,69 meses) comparado con un 39,89% (10,10 meses) y un 31,44% (9,49 meses) del antioxidante sintético BHT y el extracto de cacao respectivamente. Los valores obtenidos para la energía de activación en el estudio cinético de los extractos de romero y cacao fueron de 98,47 kJ/mol y 98,34 kJ/mol respectivamente y para el antioxidante sintético BHT 95,92 kJ/mol.

*Trabajo de grado

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

Abstract

Title: Effect of the dosage of natural antioxidants on the oxidative stability of palm oil *

Author: Cesar Andrés Montañez González, Diego Alejandro Pinzón Pérez. **

Keywords: RBD Palm Oil, Rancimat, Oxidative Stability, Antioxidants.

Description:

Palm oil is widely used by the food industry in processes involving high temperatures and humidity. Factors that favor the oxidative deterioration of the oil, making the addition of synthetic antioxidants indispensable to increase its shelf life; however, it has been shown that these can have harmful effects on human health. Therefore, the use of alternatives of natural origin has been of interest in recent years, highlighting as options the polyphenolic extracts of rosemary and cocoa, due to their high capacity to inhibit oxidation and their positive health benefits.

In this study, an accelerated oxidation system based on the principle of the Rancimat method was used to determine the oxidative stability time at different concentrations for each antioxidant. In the comparative analysis, it was necessary to propose a new parameter (DA50) to standardize the dose of antioxidant (extract or synthetic) with which the oxidative stability time of palm oil can be increased by 50%, obtaining values of 20 mg/kg and 70 mg/kg for the rosemary and cocoa extracts, respectively, and 30 mg/kg for the synthetic antioxidant BHT. In this way, it was possible to estimate the shelf life and activation energy. The results showed that at storage temperatures (25°C) the rosemary extract, despite reporting the lowest DA50 value, increased the oxidative stability time with respect to the control sample by 48.06% (10.69 months) compared to 39.89% (10.10 months) and 31.44% (9.49 months) for the synthetic antioxidant BHT and the cocoa extract, respectively. The values obtained for the activation energy in the kinetic study for rosemary and cocoa extracts were 98.47 kJ/mol and 98.34 kJ/mol respectively and for the synthetic antioxidant BHT 95.92 kJ/mol.

*Bachelor thesis.

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

Introducción

El aceite de palma se usa ampliamente en la industria alimentaria (Pillai et al., 2016) y es uno de los productos de mayor crecimiento en Colombia, tanto así que, en el ranking mundial de producción de aceite de palma, ocupa el cuarto puesto, y el primero en Latinoamérica (Ministerio de agricultura, 2019). Su contenido de ácidos grasos saturados e insaturados proporcionan una estabilidad a temperaturas elevadas y reducen la incidencia de diversas enfermedades provocadas por el estrés oxidativo (Guo et al., 2016). En todo el mundo, el 90 % del aceite de palma se utiliza con fines comestibles, principalmente en procesos de fritura, mientras que el 10% restante se emplea en las industrias jabonera y oleoquímica (Mba et al., 2015).

A nivel industrial, el deterioro del aceite por su uso prolongado a elevadas temperaturas y humedad hace costosa la operación, pues, una vez el aceite alcance las condiciones de rancidez por las reacciones de peroxidación lipídica deberá ser reemplazado (L. E. Zapata, 2004). Para prolongar la vida útil y mantener la calidad del aceite, es importante preservar la estabilidad oxidativa. Una posibilidad de frenar el daño oxidativo es adicionar antioxidantes, sin embargo, los antioxidantes sintéticos utilizados en los aceites vegetales, como el hidroxianisol butilado (BHA) o el hidroxitolueno butilado (BHT), pueden llegar a tener un efecto nocivo y tóxico para la salud humana o no ser totalmente biodegradables (Kreivaitis et al., 2011). Además, teniendo en cuenta la creciente atención de los consumidores con respecto a la composición de los alimentos, y la cantidad limitada de antioxidantes permitida a los fabricantes para controlar la rancidez oxidativa, que normalmente se encuentra entre 100 mg/kg y 200 mg/kg para el caso de los sintéticos, (Herrero et al., 2010; Lara et al., 2011; Jiménez Santana, 2010); ha aumentado el interés en el hallazgo de nuevas fuentes de antioxidantes eficientes de origen natural (Acosta et al., 2015; Amarowicz & Pegg, 2019).

Los antioxidantes naturales provienen de plantas con alto contenido en sustancias fitoquímicas

capaces de ralentizar la lipoxidación (Guo et al., 2016). Los extractos polifenólicos de romero han tenido un amplio estudio en cuanto a su influencia para el mejoramiento de la estabilidad oxidativa en diversas matrices lipídicas como el aceite de oliva, girasol, palma y sésamo (Gamel & Kiritsakis, 1999; Guo et al., 2016; Villanueva López et al., 2013). De igual forma los antioxidantes naturales provenientes del grano de cacao presentan estudios similares en aceites de Sacha inchi y palma. (Marleiby Parra Mecón & Laudith Pava Romero, 2020; Misnawi et al., 2014). No obstante, estas investigaciones no indagan en el efecto de la dosificación de estos antioxidantes naturales sobre las matrices lipídicas de forma detallada, careciendo así de tendencias o bases matemáticas que permitan generar ideas referentes al mecanismo de acción de los antioxidantes para racionalizar su comportamiento.

La determinación de la estabilidad oxidativa en aceites se puede llevar a cabo mediante varios métodos, entre ellos los que involucran la medición en tiempo real de parámetros ligados a la rancidez de los aceites o grasa, como el índice de peróxidos o el índice de acidez (Manzocco et al., 2016). Sin embargo, estas pruebas solo brindan información sobre el estado actual del producto, sin proporcionar información referente al tiempo de vida útil restante, en contraste con las pruebas de oxidación aceleradas que poseen la capacidad de estimar el tiempo donde ocurre el deterioro de los productos lipídicos (Lüthi, 2020). El método Rancimat ha sido desarrollado como una variante automatizada del extremadamente costoso método AOM (*active oxygen method*) para la determinación del tiempo de inducción de grasas y aceites (Metrohm, 2001).

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la dosificación de extractos polifenólicos de romero y cacao sobre la estabilidad oxidativa del aceite de palma.

1.2 Objetivos Específicos

Elaborar un sistema que permita la evaluación de la actividad oxidativa del aceite de palma basado en el principio de funcionamiento del método Rancimat.

Determinar la concentración óptima a la cual los antioxidantes naturales inhiben el proceso de oxidación del aceite de palma

Comparar la efectividad de extractos antioxidantes naturales frente a uno sintético comercial (BHT), sobre la estabilidad oxidativa del aceite de palma

2 Marco conceptual

2.1 Aceite de Palma

El aceite de palma es derivado del mesocarpio del fruto de la palma aceitera (*Elaeis guineensis*), cultivo arbóreo monocotiledónea perenne que posee un ciclo de vida económico de 25 años aproximadamente (Rincón Sandra Milena & Martínez Daniel Mauricio, 2009). El aceite de palma crudo (APC) está constituido en menor medida por carotenos que le proporcionan su característico color rojizo, y otros componentes en pequeñas proporciones, como los tocoferoles, tocotrienoles, esteroides, fosfolípidos e hidrocarburos triterpénicos y alifáticos. Entre estos componentes menores, los carotenoides, los tocoferoles y los tocotrienoles son los más importantes. Juntos, contribuyen a la estabilidad y a las propiedades nutricionales del aceite de palma (Prasanth Kumar & Gopala Krishna, 2014). La naturaleza semisólida del APC a temperatura ambiente (25- 30°C) se debe a la presencia de un amplio espectro de triacilglicerol, que comprende triacilglicerol saturados y triacilglicerol con uno, dos, tres, cuatro o más dobles enlaces (Gee, 2007).

La mayoría de los productos de aceite de palma que se encuentran en el mercado se presentan en formas refinadas, blanqueadas y desodorizadas (RBD) (Cenipalma, 2013). La refinación es necesaria para remover las impurezas y los contaminantes que afectan la calidad de los productos finales. Sin embargo, es importante que el proceso de refinación retenga la mayor cantidad posible de antioxidantes naturales (tocopheroles y tocotrienoles) con el fin de mantener la estabilidad del aceite (Gibon et al., 2007).

En la refinería de aceite de palma, el APC se trata con ácido ortofosfórico para acondicionar las gomas, con tierra de blanqueo para blanquearlo y luego se filtra para eliminar las gomas y las impurezas adsorbidas. A continuación, el aceite blanqueado se desacidifica y desodoriza a 250-265

°C al vacío (<5 mmHg) con despojo de vapor. Obteniendo como producto el aceite de palma RBD (Gee, 2007).

Al igual que otros aceites y grasas, los principales componentes del aceite de palma son los triacilglicerol. Todos los ácidos grasos insaturados de los triacilglicerol del aceite de palma tienen una configuración cis (Prasanth Kumar & Gopala Krishna, 2014). La Tabla 1 resume la composición de ácidos grasos en el aceite de palma crudo y RBD.

Tabla 1.

Composición de ácidos grasos del APC y Aceite de palma RBD.

Composición de ácidos grasos (%)		
Ácidos grasos	APC	Aceite de palma RBD
Saturados		
Mirístico	0.93	0.92
Palmítico	45.48	46.30
Esteárico	3.49	3.52
Total	49.91	50.74
Insaturados		
Oleico	40.17	39.58
Linoleico	9.92	9.68
Total	50.09	49.26

Nota. Adaptado de (Che Man et al., 1999)

2.2 Oxidación lipídica en aceites vegetales.

La oxidación de los aceites son una serie de reacciones químicas indeseable que involucran oxígeno, y eventualmente producen ranciedad, olores, sabores desagradables y pérdida de calidad nutricional (Matt Miller, 2018), a esto también se le conoce como deterioro oxidativo lipídico por la formación de compuestos peróxidos generados por los ácidos grasos poliinsaturados presentes en el aceite (Juárez, 2007).

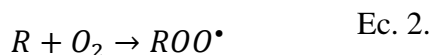
Entre los factores que tienen una mayor incidencia en el deterioro oxidativo del aceite de

palma se pueden mencionar (Delgado, 2003):

- El sobrecalentamiento en presencia de oxígeno.
- Exposición directa a la luz solar.
- La humedad.
- Un alto contenido de clorofila proveniente de frutos inmaduros o la contaminación con otro material.

La oxidación lipídica es un proceso de reacción en cadena que en su mayor parte se da por medio de los radicales libres, seccionándose por etapas (Talbot, 2016)

En la etapa de iniciación (Ec. 1 y 2) se produce el ataque de la especie radicalaria que es lo suficientemente reactiva para abstraer un radical hidrógeno de un grupo metileno de la cadena alquílica, formando así radicales lipídicos de los correspondientes ácidos grasos (A. Zapata, 2013), estos pueden reaccionar con oxígeno molecular originando radicales peróxidos ROO^{\bullet} , conocidos como compuestos primarios de oxidación (Talbot, 2016)



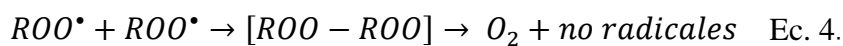
Como segunda etapa se encuentra la propagación (Ec. 3), en esta fase los radicales peróxidos (ROO^{\bullet}) pueden abstraer hidrógeno de otras moléculas de lípidos vecinos para formar hidroperóxidos ($ROOH$) y un nuevo radical de ácido graso (R^{\bullet}), que a su turno, también reacciona con oxígeno molecular y da origen a un nuevo radical peróxido (ROO^{\bullet}) para continuar la reacción en cadena. (A. Zapata, 2013).



La etapa de finalización (Ec. 4,5 y 6) se da con la reacción de radicales libres entre sí, formando productos no radicales o reacciones que eviten la fase de propagación. (Lázaro Vela,

2018).

Los hidroperóxidos (ROOH) formados en el proceso de oxidación en presencia de iones o complejos de metales de transición, originan los radicales alcoxis, estos radicales pueden abstraer una molécula de hidrógeno de otras moléculas para formar derivados hidroxilados, de igual forma pueden perder hidrógeno para formar cetonas, o pueden sufrir una ruptura en posición (beta) y así formar aldehídos (Talbot, 2016).

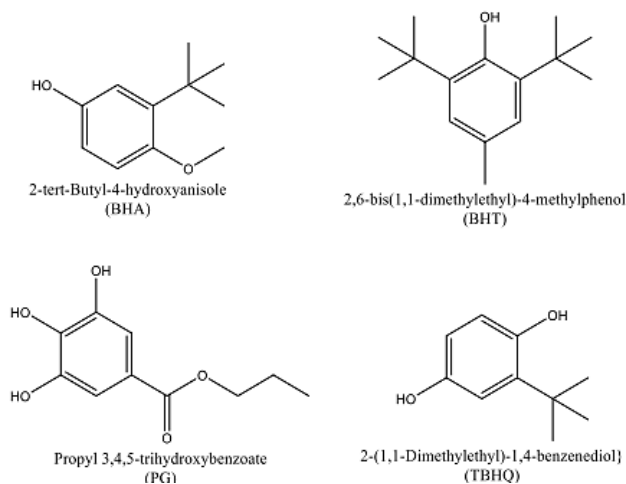


2.3 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias empleadas de forma tal que ayudan a prolongar la vida útil de los alimentos. En aceites y grasas, los antioxidantes retrasan los cambios ocasionados por la oxidación lipídica, siendo capaces de adherirse a los radicales libres generando distintos productos que son menos perjudiciales que los peróxidos, considerados compuestos primarios de oxidación. (Pacheco Tigsilema & González Villalva, 2013).

2.3.1 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 deslocalización 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 (Rojas, 2016).

Figura 1.*Estructura de antioxidantes sintéticos.**Nota.* Tomado de (Rojas, 2016.)

El BHT o butilhidroxitolueno (SIN 321) es un antioxidante sintético procedente de la industria petrolera, es liposoluble y utilizado en productos alimenticios como grasas comestibles, cereales y productos de confitería, también se encuentra en la fabricación de lubricantes de origen vegetal. Según el Codex Alimentarius la dosis máxima de aplicación es de 200 mg/kg y si va mezclado con TBHQ. BHA o galatos su dosis máxima es de 100 mg/ kg (Jiménez Santana, 2010).

2.3.2 Antioxidantes Naturales

Los compuestos polifenólicos naturales como los flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos, estilbenos y taninos que están presentes en las plantas son los responsables de la actividad antioxidante, lo que los hace aplicables como alternativas a los aditivos sintéticos (Amarowicz & Pegg, 2019; Guo et al., 2016). Los antioxidantes se pueden clasificar como "antioxidantes primarios" o "antioxidantes secundarios" (Craft et al., 2012). Los primarios inhiben activamente

las reacciones de oxidación según dos mecanismos: transferencia de átomos de hidrógeno o transferencia de un solo electrón; mientras que los antioxidantes secundarios actúan de forma indirecta; por ejemplo, reaccionan con prooxidantes o son capaces de capturar oxígeno (Amarowicz & Pegg, 2019).

2.3.2.1 Extractos Naturales Antioxidantes del Romero.

El extracto de romero (*Rosmarinus officinalis L.*) ha ganado considerable atención como especie con uno de los potenciales antioxidantes más poderosos (Chen et al., 2014; Zhang et al., 2010) y con una fuerte predisposición para su uso a nivel industrial (Chammem et al., 2015). Las propiedades antioxidantes del extracto de romero se le atribuyen principalmente a la presencia de compuestos fenólicos diterpénicos, como el ácido rosmarínico, ácido carnósico, el carnosol, el rosmanol, la rosmariquinona y el rosmaridifenol (Alizadeh et al., 2016) que rompen las reacciones en cadena de los radicales libres mediante la donación de átomos de hidrógeno y la quelación de iones metálicos (Erkan et al., 2008). Los componentes polifenólicos del extracto de romero alcanzan cerca de 166,82 mg/g de extracto acuoso (Ribeiro et al., 2016).

2.3.2.2 Extractos Naturales Antioxidantes de Cacao

Los extractos de cacao son apreciados en la industria alimentaria por su actividad antioxidante al inhabilitar o retrasar el daño en las matrices lipídicas (Oracz & Żyżelewicz, 2020), aumentando así la resistencia al estrés oxidativo (Andújar et al., 2012). Los compuestos que proporcionan tales cualidades a los extractos de cacao son los flavonoides, en su mayoría, catequinas, proantocianinas, y antocianinas (Urbańska & Kowalska, 2019). Su principio de funcionamiento es principalmente el atrapar radicales libres y quelar metales, impidiendo las reacciones catalizadoras de los radicales libres (Gulcin, 2020).

2.4 Estabilidad Oxidativa

La estabilidad oxidativa de los aceites hace referencia a la resistencia de los lípidos a la oxidación, expresado como el tiempo que tarda el aceite en alcanzar su punto crítico de degradación. Es un parámetro que indica el comportamiento de los lípidos en el tiempo según condiciones de almacenamiento, temperatura y presencia de metales (Piedrahita, 2015).

La determinación de la estabilidad oxidativa se puede realizar por diferentes tipos de análisis, ya sea por el seguimiento en el tiempo de compuestos relacionados con la oxidación primaria como el índice de peróxidos o acidez, la cuantificación de compuestos volátiles productos de la oxidación por GC-SPME (Toro-Uribe et al., 2018); o por pruebas aceleradas con el fin de predecir cómo se comporta el aceite bajo condiciones extremas de almacenamiento.

2.4.1. Método Rancimat

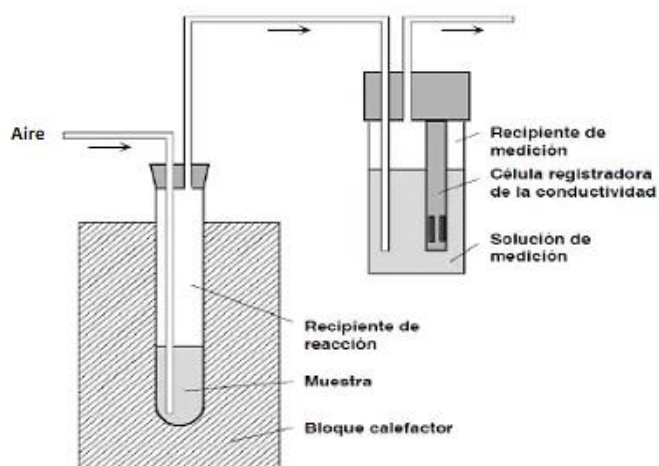
El método Rancimat cuantifica el tiempo de estabilidad oxidativa de aceites y grasas en condiciones aceleradas (Gilbert;2015). El método se basa en la determinación conductimétrica de los productos generados (ácidos grasos volátiles de cadena corta) por la degradación del aceite al exponerlo a altas temperaturas y un flujo constante de aire (Sahin,2019), de esta manera permite estimar el tiempo de inducción o tiempo de estabilidad oxidativa, siendo este el momento a partir del cual la muestra ha superado el periodo de estabilidad, indicando una pérdida de calidad y vida útil. (Paucar, 2013).

El principio de funcionamiento consiste en mantener una muestra a temperatura constante en un recipiente de reacción cerrado haciendo pasar un flujo continuo de aire (ver figura 2). Los peróxidos se forman como productos de oxidación primarios a través de la oxidación de los ácidos grasos en la muestra. Tiempo después, los ácidos grasos se destruyen por completo y se forman

ácidos orgánicos de bajo peso molecular (especialmente ácido fórmico y ácido acético) como productos secundarios de oxidación (Lüthi, 2020b), estos ácidos volátiles son arrastrados por la corriente de aire a un recipiente con agua destilada donde se absorben, incrementando la conductividad (ver figura 3).

Figura 2.

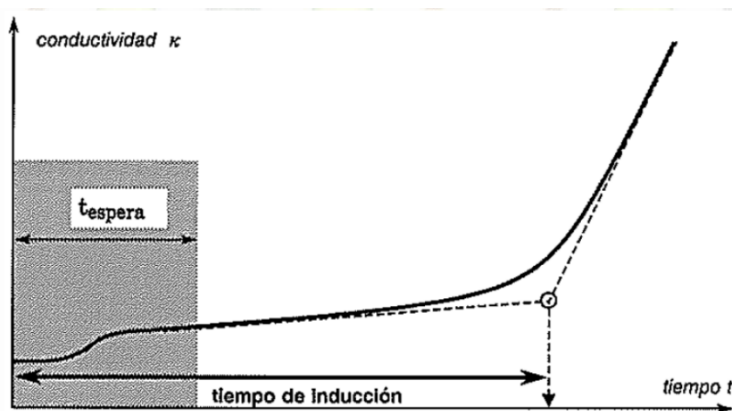
Sistema de medición método Rancimat



Nota. Tomado de (Lüthi, 2020b)

Figura 3.

Curva típica para el tiempo de inducción según el método Rancimat



Nota: tomado de (Escobedo et al., 2019)

2.5 Parámetros estandarizados con un 50 %

Existen parámetros en diversas áreas del conocimiento que establecen la normalización de algunas variables o estimaciones con una relación estrecha al 50% de su valor; esto se hace con el fin de permitir análisis comparativos con otros autores o establecer referencias matemáticas asimilables. Algunos ejemplos son; el IC_{50} , usado en la industria farmacológica como parámetro que inhibe un proceso biológico concreto en un 50 % (Rodríguez Aguirre et al., 2015), o en pruebas de DPPH para estudios dosis-repuesta de antioxidantes en aceites, donde se busca el valor que logre reducir el porcentaje de captación o atrapamiento del radical a un 50% (Marleiby Parra Mecón & Laudith Pava Romero, 2020). El CE_{50} es la concentración efectiva que afecta en un 50 % los organismos de ensayo presentes en el suelo o sedimentos (castro, 2009). El DL_{50} es conocido como la dosis única de una sustancia que causa la muerte a la mitad de un grupo de organismos en un tiempo determinado y el DE_{50} es la dosis que produce el efecto deseado de algún fármaco al 50 % de la población estudiada (Bastidas et al., 2016). Por lo tanto, en este trabajo se propondrá el valor DA_{50} como la dosis o concentración de antioxidante (natural o sintético) que debe usarse para aumentar en un 50% el tiempo de estabilidad oxidativa del aceite que se está evaluando.

3 Estado del arte

Tabla 2.

Matriz de estado del arte

Eje temático	Autores y año	Título	Aporte científico
Teoría Base	Talbot, G. (2016).	The Stability and Shelf Life of Fats and Oils	Recopilación y explicación de conceptos teóricos relacionados a los mecanismos de oxidación e hidrólisis, factores que influyen en la estabilidad oxidativa de aceites o grasas y métodos empleados para la evaluación de vida útil a compuestos de base lipídica; como los enfocados en la medición del estado oxidativo (PV, AV y Totox) y los diseñados para la medición de los periodos de inducción (Rancimat y OSI).
	S. K. Mishra, P. D. Belur, and R. Iyyaswami, 2021	Use of antioxidants for enhancing oxidative stability of bulk edible oils: a review,	Revisión bibliográfica de la eficiencia del uso de antioxidantes alternativos, tales como, los tocoferoles, carotenoides, ácido ascórbico, compuestos de lignanos, flavonoides, polifenoles y ácidos fenólicos; en contraste con los comerciales para mejorar la estabilidad oxidativa de los aceites comestibles.
	Gulcin, I. (2020).	Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview	Revisión conceptual relacionada al planteamiento de las diferentes tipologías (Químicamente hablando) de antioxidantes y la explicación de sus mecanismos de acción. De igual forma proporciona gran diversidad de métodos bioanalíticos para la determinación de la capacidad antioxidante.
Estabilidad oxidativa del aceite vegetal y Antioxidantes naturales	ALMEIDA, DT de, VIANA, TV, COSTA, MM, SILVA, C. De S., & FEITOSA, S. (2018).	Effects of different storage conditions on the oxidative stability of crude and refined palm oil, olein and stearin (Elaeis guineensis)	Estudio Basado en la comparación de diferentes condiciones de almacenamiento para los aceites de palma crudo (CPO), palma refinado (RPO), oleína de palma refinada (RPOL) y estearina de palma refinada (RPS), estimando el tiempo de vida útil mediante el método Rancimat, Obteniendo como resultado que de 20 a 25°C con ausencia de luz, representan la mejor condición de almacenamiento, reportando así un tiempo de estabilidad oxidativa para los aceites de 6,9,9 y 12 meses respectivamente.
	Focke, W. W., Westhuizen, I. van der, & Oosthuysen, X. (2016).	Biodiesel oxidative stability from Rancimat data	Propone un nuevo método automatizado utilizando software, que permite la evaluación global del tiempo de inducción, a partir de los parámetros de ajuste a la curva respuesta obtenida en el método Rancimat. Siendo una opción para remplazar los métodos manuales descritos en la norma EN 14112.

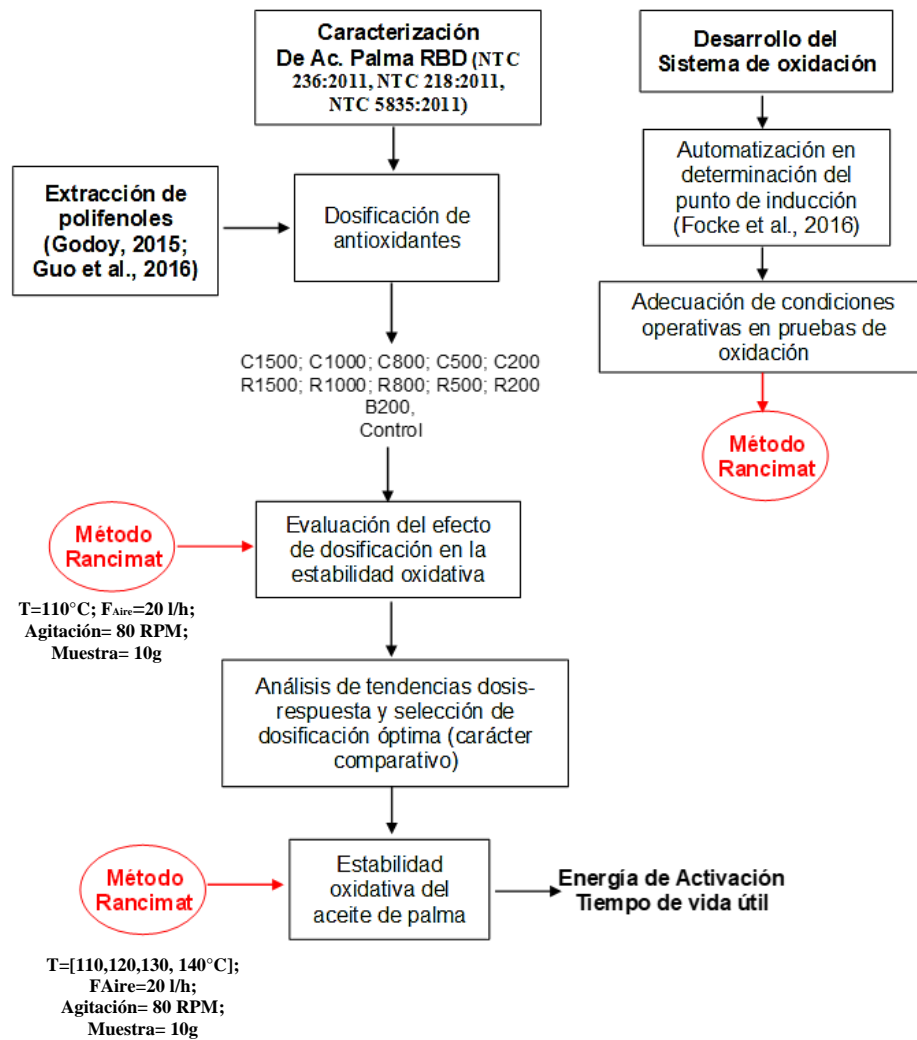
Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., & Sarabi, M. (2008).	Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions	Investigación basada en la recopilación de datos cinéticos para estimar el tiempo de vida útil y parámetros termodinámicos (ΔH y ΔS) de cinco aceites vegetales a cuatro temperaturas (373, 383, 393 y 403 K) empleando el método Rancimat. Los valores de la energía de activación oscilaron entre 86,86 y 92,42 kJ/mol, los delta de entalpías reportaron valores entre 83,64 y 89,20 kJ/mol, y las entropías entre -116,66 a -104,35 J/mol K. estos resultados fueron mayores en los aceites altamente insaturados reflejando una oxidación a un ritmo más lento.
ALMEIDA-ORIA, R.F. D'Arce, Marisa. (2000)	Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation	Comparación entre los antioxidantes sintéticos (BHT, BHA, TBHQ) y los extractos etanólicos de romero a concentraciones de 500 y 1000 mg/kg en pruebas aceleradas, dando como resultado que el mejor antioxidante fue el TBHQ a 200 mg/ kg, sin embargo, se considera que los extractos de romero pueden ser una alternativa para la conservación de los aceites.
J. K. Peñaloza, B. A. Rojano, and A. M. Piedrahita 2017.	Selection and role of a mix rosemary palmitate ascorbyl as antioxidant in a frying process.	Estudio que demuestra el efecto protector del extracto de romero a una concentración de 2000 ppm (concentración optima seleccionada entre 1000 ppm, 1500 ppm y 2000 ppm empleando el método AOM) contra los fenómenos de peroxidación lipídica, inhibiendo en un 30 % la concentración de hidroperóxido y en un 60% los compuestos polares totales
Damanik, M. y Murkovic, M. (2018)	The stability of palm oils during heating in a Rancimat	El aceite de palma crudo y refinado presentan un alto contenido en vitamina E y α -carotenos comparados con otros aceites vegetales, que le aportan estabilidad oxidativa, ayudando a mantener la calidad del aceite. En esta investigación el aceite se sometió a una temperatura de 120 °C, presentando una disminución de los α -carotenos de 2,34 mg/g a 0,33 mg/g en 7,5 horas, y la vitamina E a 0,49 mg/g en 11 horas.
Misnawi, Teguh, W., Susijahadi, Eka, N. y Noor, AF (2014).	The utilization of cocoa polyphenol extract to improve the shelf life of bulk frying oil used in open and deep frying	Estudio sobre el efecto del polifenol extraído del grano de cacao sin fermentar para extender la vida útil y la reutilización del aceite para freír a granel como sustituto de los antioxidantes sintéticos BHA, BHT, TBHQ. Obteniéndose que los extractos de polifenoles al 0,04% podría prolongar el uso del aceite hasta ocho veces cuando se utiliza en fritura abierta.

4 Metodología

La metodología esquematizada en la figura 4 plantea sistemáticamente el desarrollo del presente estudio. Para el cual las abreviaturas C, R, B corresponden al antioxidante empleado (Cacao, Romero y BHT) y la numeración adherida hace referencia a la concentración de este en mg/kg.

Figura 4

Diagrama de flujo de la metodología.



4.1 Caracterización de Aceite de Palma

Al aceite de palma RBD suministrado por la empresa AAK ubicada Villavicencio-Meta, se le efectuaron análisis para la determinación de índice de peróxidos (IP) y acidez (AGL), según las normas técnicas colombianas establecidas para aceite NTC 236:2011 y NTC 218:2011 respectivamente. De igual forma se determinó el contenido de vitamina E según la norma BS 684-2.20:1977. Los ensayos se realizaron por duplicado y los resultados se expresaron en valor promedio.

4.2 Extracción de Polifenoles de Romero y Cacao

Las hojas de romero se cortaron y secaron a 70°C; seguido de una reducción de tamaño mediante molienda fría (20°C) asegurando una dimensión de partícula <180 µm (malla 80); con el material seco y pasante del tamiz N°80 se procedió a realizar una extracción sólido-líquido con una solución etanol: agua 50% v/v y relación soluto: solvente 1/120 p/v en baño ultrasónico. La muestra se filtró para; finalmente, ser concentrada por roto-evaporación y liofilizada obteniendo el polvo polifenólico. (Pico-Hernández et al., 2020)

Para la extracción de los polifenoles del grano de cacao, este fue lavado, despulpado y cortado. Los granos se secaron a 50°C y fueron molidos hasta obtener la harina de cacao. En la extracción de polifenoles se empleó una solución etanólica al 80% v:v, con una relación grano: solvente 1/60 p/v. Finalmente se recuperó la fase continúa empleando filtración al vacío, se concentró y liofilizó (Godoy, 2015; Marleiby Parra Mecón & Laudith Pava Romero, 2020).

4.3 Dosificación de Polifenoles

Para la dosificación de los extractos polifenólicos de romero y cacao, se pesó la cantidad necesaria de cada uno para alcanzar una concentración de 2000 mg de extracto/kg de aceite. El aceite dosificado se sometió a ultrasonido y agitación en plancha de calentamiento durante 20

minutos a 60° C para cada etapa. Finalmente, el aceite fue filtrado por acción de la gravedad a través de papel filtro N°8 y almacenado en atmósfera de nitrógeno a -20°C. A partir de estas soluciones se prepararon las diferentes concentraciones empleadas en el estudio: C1500, C1000, C800, C500, C200; R1500, R1000, R800, R500, R200.

4.3.1 Polifenoles Totales

Se pesaron 10 g de aceite filtrado y se disolvieron en 50 ml de hexano. En un embudo decantador se realizó la extracción líquido-líquido por contacto repetido utilizando tres volúmenes de 20 ml de una solución metanol: agua 60% v/v. En cada contacto se agitó la mezcla vigorosamente durante 2 minutos (Antonia, 2013).

En un matraz aforado de 50 ml se adicionaron 5 ml del extracto metanólico, 35 ml de agua destilada y 2,5 ml de reactivo Folin-Ciocalteu 1/10 p/v, se agitó y se dejó reposar 3 minutos; posteriormente, se adicionaron 5 ml de una disolución de carbonato de sodio al 7,5% p/v. Se aforó y agitó nuevamente para homogenizar. Luego de 60 min en reposo a completa oscuridad, se midió la absorbancia de la disolución a 725 nm usando espectrofotómetro (MULTISKAN GO ThermoScientific), empleando como blanco una disolución preparada de forma idéntica sin adición de polifenoles. Las muestras fueron analizadas por duplicado y su cuantificación se realizó con base en una curva patrón, trazada siguiendo la misma metodología descrita, sustituyendo el extracto polifenólico por disoluciones de ácido cafeico (AC) de concentraciones conocidas. Se utilizó AC porque los polifenoles presentes en los extractos de romero (principalmente ácido rosmarínico) son derivados del ácido cinámico al igual que el ácido cafeico (Gulcin, 2020). Los resultados se reportan, por tanto, en mg de ácido cafeico por kg de aceite (Antonia, 2013; Marleiby Parra Mecón & Laudith Pava Romero, 2020).

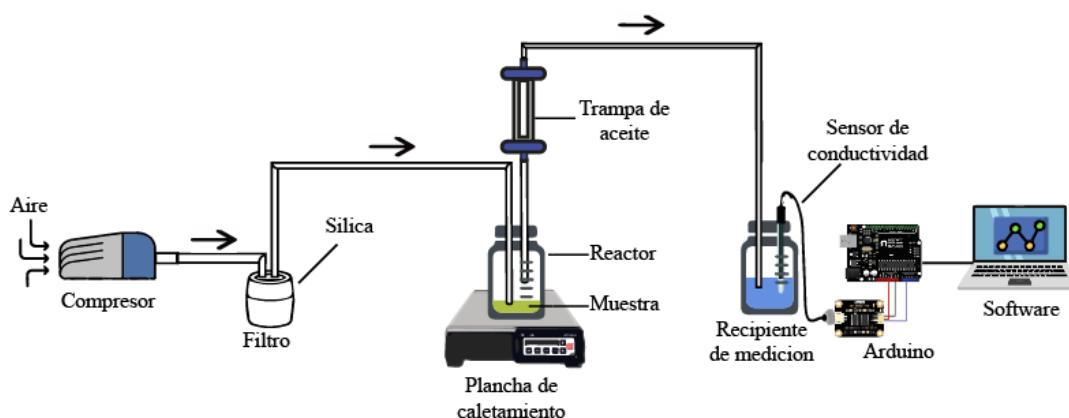
4.4 Sistema de Oxidación a Condiciones Aceleradas

4.4.1 Desarrollo del Sistema de Oxidación

El sistema de oxidación se estructuró basado en el principio de funcionamiento del método Rancimat, donde la muestra lipídica fue sometida a altas temperaturas con un flujo constante de aire (Sahin,2019). El montaje del sistema, ver figura 5, se realizó empleando un compresor de aire (Surpass Air -500); un filtro de sílice para reducir la humedad atmosférica, evitando una oxidación lipídica sin control (Delgado, 2003); un frasco Schott de 100 ml (borosilicato) graduado con tapa resistente a altas temperaturas como reactor; una plancha de calentamiento con agitación (WiseStir MSH-20D) como sistema de calefacción; una trampa de aceite para evitar el paso de muestra por los ductos; un segundo frasco Schott de 100 ml (borosilicato) donde se dispuso agua destilada con baja conductividad inicial; un sensor de conductividad (TDS Meter V 1.0) que permite la interpretación de señales eléctricas a análogas y un Arduino (Uno Rev3) como transductor de dicha señal análoga dada por el sensor a una digital interpretada en el software Matlab R2021b.

Figura 5.

Sistema de oxidación.



4.4.2 Ensayos de Oxidación Térmica

Para los ensayos en el sistema de oxidación se emplearon 10 gramos de muestra (Villanueva López et al., 2013) con agitación continua de 80 RPM, un flujo de aire constante, limpio y seco de 20 l/min y 50 ml de agua destilada con conductividad inferior a 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para la absorción de ácidos volátiles provenientes del reactor. La temperatura se ajustó según la etapa experimental del estudio, de forma tal que, para la selección de la dosificación idónea de cada antioxidante natural, se mantuvo a 110°C y una vez halladas dichas concentraciones se llevaron a cabo estudios repetitivos variando la temperatura (110°C, 120°C, 130°C y 140°C).

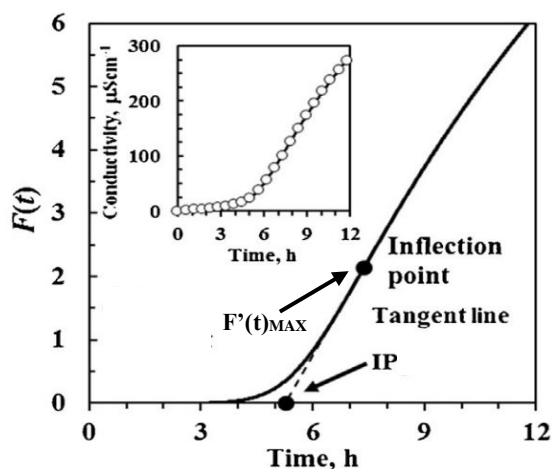
4.4.3 Determinación de punto de inducción

El tiempo que tarda el aceite en pasar de la etapa de iniciación a la etapa de propagación se le conoce como "periodo de inducción (PI)", "tiempo de inducción (TI)" o "índice de estabilidad oxidativa (OSI)" (Talbot, 2016). Dado que los métodos tradicionales para la determinación del tiempo de inducción presentan ciertas inconsistencias matemáticas o pueden estar ligados a subjetividad, se optó por calcular este punto empleando la automatización mediante un enfoque de ajuste de curvas basado en una nueva función paramétrica (Focke et al., 2016a; Lapuerta et al., 2012; Xu & Liu, 2009).

El PI se determinó como el tiempo donde corta una recta tangente al punto de inflexión (máximo de la primera derivada) de la curva conductividad vs tiempo con el eje x, tal como se muestra en la figura 6.

Figura 6.

Representación gráfica del cálculo del punto de Inducción en la curva conductividad vs tiempo.



Nota. Adaptado de (Focke et al., 2016.)

El ajuste de la curva obtenida en el ensayo se modela bajo la siguiente función paramétrica:

$$\sigma(t) = \sigma_{\min} + mt + \beta F(t) \quad \text{Ec. 8.}$$

$$F(t) = \ln \left[1 + \left(\frac{t}{\tau} \right)^\theta \right] \quad \text{Ec. 7.}$$

Donde, $\sigma(t)$ corresponde a la curva experimental conductividad vs tiempo; σ_{\min} hace referencia a la conductividad en off-set, es decir, en $t=0$. m corresponde a la pendiente en la porción inicial de la curva; β es una constante de proporcionalidad; $F(t)$ corresponde a la función de respuesta y θ y τ son parámetros ajustables de $F(t)$ (Focke et al., 2016).

4.5 Estudio de la estabilidad oxidativa del aceite de palma suplementado con antioxidantes

Se pueden determinar varios parámetros cinéticos y termodinámicos bajo las

condiciones del método Rancimat. Estos datos son útiles para predecir la estabilidad oxidativa de los aceites vegetales bajo diversas condiciones de procesamiento térmico, almacenamiento y distribución (Farhoosh et al., 2008).

4.5.1 Estimación de vida útil

La relación matemática entre el OSI y la temperatura utilizada en el ensayo de oxidación acelerada se establece en la ecuación 9. Este modelamiento empírico puede emplearse para calcular los valores de OSI a temperaturas distintas a aquellas utilizadas en el estudio, aplicando procedimientos matemáticos de extrapolación a temperaturas usuales de almacenamiento.

$$OSI = 10^{AT+B} \quad \text{Ec. 9.}$$

$$\log(OSI) = AT + B \quad \text{Ec. 10.}$$

Siendo A la pendiente de la recta obtenida al representar el logaritmo decimal del OSI en función de la temperatura [°C], e indica la susceptibilidad del aceite al aumento de la temperatura, y el término B corresponde a un valor empírico sin significado físico (Villanueva López et al., 2013).

4.5.2 Determinación de Energía de activación

La energía de activación (E_a , kJ/mol) y el factor pre-exponencial (A , s^{-1}) se calcularon con base en la linealización de la ecuación de Arrhenius (ecuación 11) en la que se expresa la relación lineal del logaritmo natural de la velocidad de reacción en función del inverso de la temperatura absoluta.

$$\ln(k) = \ln(A) - \left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad \text{Ec. 11.}$$

Donde la constante de velocidad de reacción (k , s^{-1}) es equivalente al inverso del OSI, y R corresponde a la constante molar de los gases (8,143 J/mol K) (Farhoosh et al., 2008; Yahya et al., 2018).

5 Resultados

5.1 Caracterización del aceite de Palma

En la tabla 3 se muestran los valores de índice de peróxidos, acidez y contenido de vitamina E para el aceite de palma refinado (RBD); en todos los casos se aprecia que los valores de la muestra cumplen con los valores de referencia contemplados en el Codex Alimentarius para aceites vegetales (Codex Alimentarius, 1999) y los reportados por Hui Tan et al. (2021). El valor de 0 m-eq O₂/kg para el índice de peróxidos, de la muestra objeto de estudio, sugiere que fue refinada y almacenada sin causar procesos de oxidación significativos; además, el contenido de vitamina E (6,04 mg / 100 g muestra), conocido antioxidante lipofílico, también podría explicar dicho valor (Hui Tan et al., 2021). Con respecto al índice de acidez (0,14 mg KOH / g muestra) el valor de la muestra se encuentra por debajo del límite del Codex Alimentarius para aceites vegetales (Codex Alimentarius, 1999), de lo cual se infiere que no hubo procesos de hidrólisis importante que condujeran a una disminución de la calidad del aceite. Para limitar los posibles cambios de estos parámetros fisicoquímicos a lo largo de los ensayos, el aceite fue almacenado y refrigerado en una atmósfera nitrogenada a -20 °C.

Tabla 3.

Caracterización de aceite de palma RBD

Parámetro	Valor de la muestra	Valor de referencia	Unidades
Índice de peróxido	0,0	10*	m-eq O ₂ /kg muestra
Acidez	0,14	0,6*	mg KOH / g muestra
Vitamina E	6,04	5 – 7**	mg / 100 g muestra

* (Codex Alimentarius, 1999)

** Hui Tan et al. (2021)

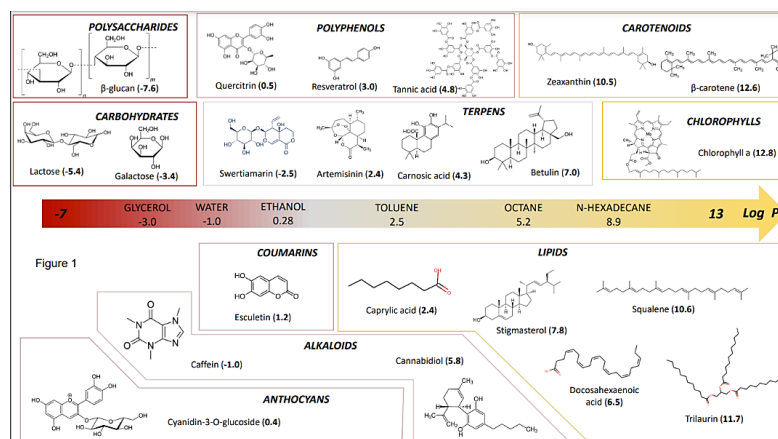
5.2 Contenido Total de Polifenoles

El contenido de polifenoles totales para las muestras de aceite dosificadas y filtradas inicialmente con un valor de 2000 mg/kg de aceite con extractos de romero y cacao, reportaron los valores de la tabla 4, evidenciando así una retención significativa de polifenoles en el proceso de filtrado. Estos valores se pueden expresar como un porcentaje de eficiencia en el proceso de dosificación que son muy similares y pueden explicarse si se considera que las polaridades de ambos extractos son cercanas; pues en efecto, los coeficientes de reparto (logP), del ácido rosmarínico y la catequina (componentes representativos de los extractos de romero y cacao) son respectivamente 1,9 y 1,5 según la determinación realizada en el programa ChemDraw Ultra; El coeficiente de reparto es un parámetro fisicoquímico que permite determinar de modo cuantitativo, el grado de hidrofobicidad de una molécula, y para este caso se aprecia que ambos compuestos se encuentran en una escala de polaridad intermedia como se evidencia en la figura 7 de acuerdo con lo propuesto por Lefebvre (Lefebvre et al., 2021).

Tabla 4.

Valores de dosificación de antioxidantes de romero y cacao en el aceite de palma.

Muestra	Valores de mg AC/kg aceite	Porcentaje de eficiencia
Aceite con polifenoles de romero	1608,66	80,45 %
Aceite con polifenoles de cacao	1704,29	85,21 %

Figura 7.*Espectro de polaridad con base en el parámetro de reparto Log P*

Nota. Tomado de (Lefebvre et al., 2021)

5.3 Sistema de Oxidación

5.3.1 Desarrollo del Sistema de Oxidación

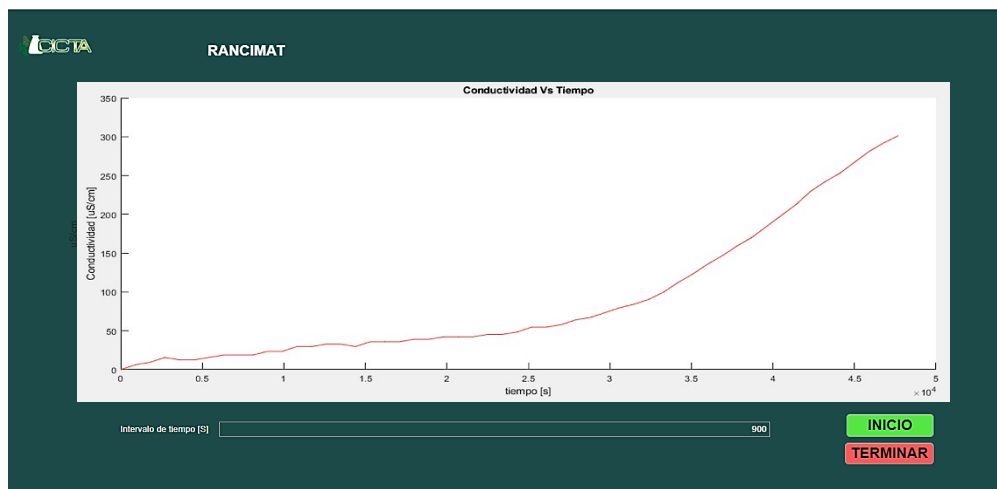
El sistema de oxidación propuesto cumple con las características esenciales del equipo estándar basado en el principio del método Rancimat. Como se evidencia en la figura 8 las condiciones a las que se diseñó el sistema permiten obtener gráficas con la misma tendencia de las curvas de inducción típicas (ver figura 3), con las cuales es posible determinar, matemáticamente, el punto de inducción.

Una de las limitaciones del equipo diseñado, corresponde a la capacidad de muestras tratadas simultáneamente, pues mientras su homólogo comercial es capaz de trabajar simultáneamente con 8 muestras (Metrohm, 2020), el sistema desarrollado solo tiene la posibilidad de tratar una a la vez. Las ventajas que trae consigo el equipo, yacen en el diseño de bajo costo, donde se contemplaron materiales económicos, pero resistentes al proceso y softwares especializados de fácil acceso; además, de la implementación de un método automatizado que permite la determinación del punto

de inducción sin incurrir en ambigüedades de observación o posibles inconsistencias matemáticas.

Figura 8.

Resultado final de la versión 1.0 de la interfaz gráfica de ejecución y representación del proceso de oxidación usando el sistema de oxidación acelerado CICTA, basado en el método Rancimat.



5.3.2 Determinación del Punto de Inducción

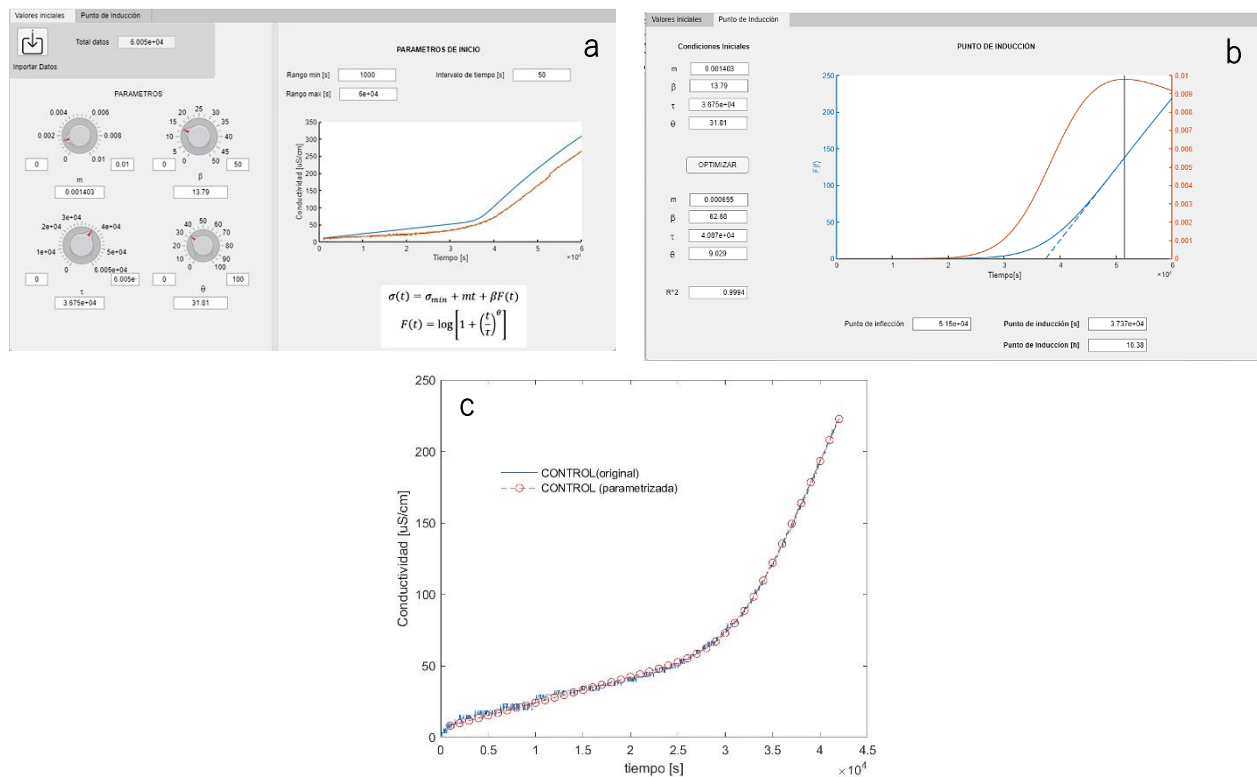
La automatización para el cálculo del punto de inducción basado en el método propuesto por Focke (Focke et al., 2016), se realizó empleando el software Matlab en su extensión para el diseño de interfaz graficas *App Designer*. Este proceso matemático de parametrización se dividió en dos ventanas con el fin de mantener un orden lógico a la hora de ejecutar el procedimiento.

La primera pestaña denominada “*Valores iniciales*” figura 9.a cuenta con la opción de importar los datos recolectados por el sistema de oxidación durante su ejecución almacenados en un archivo *.xlsx*; del mismo modo presenta la posibilidad de establecer los límites donde se observe una tendencia aceptable que permita determinar el punto de inducción en la gráfica y *sliders* con la capacidad de graficar en tiempo real una curva hipotética variando los parámetros de la función de respuesta $F(t)$; para establecer valores iniciales coherentes que permitan la optimización, la cual se ejecuta en la segunda pestaña denominada “Punto de Inducción” (figura 9.b). Dicho procedimiento

matemático se basa en la minimización del error por mínimos cuadrados de la curva parametrizada y la obtenida experimentalmente, haciendo uso del paquete especializado de optimización que proporciona Matlab. Esto permite obtener las curvas correspondientes a la función de respuesta $F(t)$ con los parámetros optimizados, su primera derivada $F'(t)$ y a partir de estas la determinación del tiempo de inducción mediante proyección lineal del punto de inflexión.

Figura 9.

Interfaz gráfico para determinación automatizada de punto de inducción. a. Pestaña Valores iniciales; b. Pestaña Punto de Inducción; c. curva paramétrica comparada con la original.



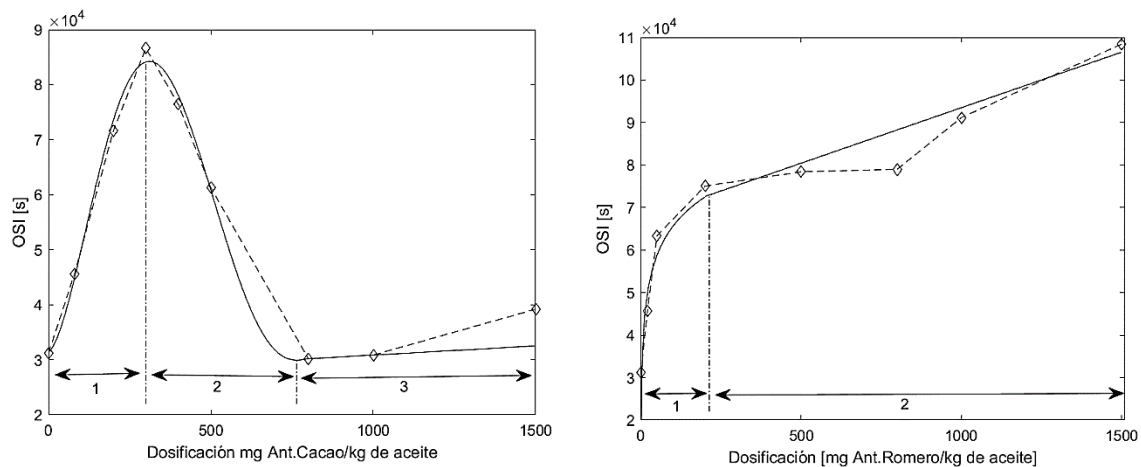
5.4 Efecto de la dosificación de antioxidantes naturales en aceite de palma RBD

En la figura 9 se presentan los resultados obtenidos del estudio dosis-respuesta de la concentración de los extractos polifenólicos de romero y cacao con respecto al tiempo de inducción determinado en el sistema de oxidación acelerada (Método Rancimat).

Para el caso del efecto de dosificación del extracto de cacao se logra apreciar un comportamiento con tres tendencias visibles a lo largo de la curva. En la zona 1 el incremento en el tiempo de estabilidad oxidativa del aceite de palma RBD es proporcional con el aumento de la concentración del extracto y para la zona 2 y 3 es notorio el progresivo decaimiento y la inactivación del efecto antioxidante del extracto de cacao conforme se aumenta su dosificación en el aceite.

Figura 10.

Curva de concentración extractos polifenólicos de romero y cacao



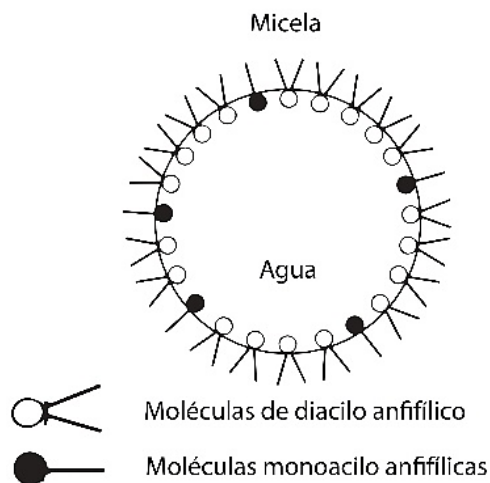
Para lograr explicar esta tendencia es necesario traer a colación diversas teorías e hipótesis que se han planteado en los últimos años con respecto al comportamiento de los antioxidantes polifenólicos en matrices de aceites a granel y emulsiones de aceite en agua.

Los aceites son sistemas multifásicos complejos; que contienen pequeñas cantidades de

agua y componentes anfílicos menores como mono y diacilgliceroles, fosfolípidos, esteroides y ácidos grasos libres que no se eliminan por completo en los procesos de refinación. Estos componentes menores son activos en la superficie y, por lo tanto, tienden a atrapar rastros de agua y a crear interfaces agua-aceite dentro del llamado aceite a granel. Estos “coloides de asociación” (Figura 11.) poseen la estructura equivalente a una micela invertida (Laguerre et al., 2014), y son considerados nano-reactores eficientes que permiten una mayor interacción entre los componentes solubles en agua y lípidos, que pueden alterar en gran medida las velocidades de reacción química, y ha sido demostrado que es en esta interfaz agua- aceite donde ocurre la oxidación lipídica y no en la formada por aire-aceite (Chaiyasit et al., 2007).

Figura 11.

Estructura de micela invertida (Coloides de asociación)



Nota: Tomado de (Laguerre et al., 2014)

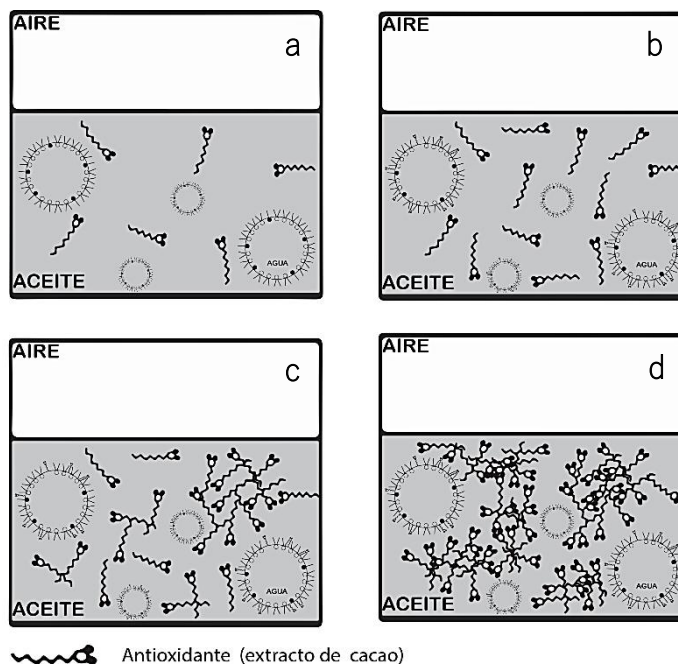
Los extractos polifenólicos de cacao presentan en su composición cadenas aromáticas de mediano y gran tamaño molecular, como; monómeros (catequinas y epicatequinas), dímeros (procianidina B1, procianidina B2) y Oligómeros (trímeros y tetrámeros) (Pico-Hernández et al., 2020) ,que cuentan con coeficientes de reparto mayores a 1 ($\text{Log}(P) > 0$) según la determinación

realizada el en programa ChemDraw Ultra (Apéndice D); indicando afinidad de estos compuestos a sistemas lipídicos. Considerando la distribución de los componentes polifenólicos se puede proponer que a concentraciones bajas se disponen en el aceite, con poca interacción entre ellos y con un potencial antioxidante disponible (ver figura 12.a). Conforme la concentración de los antioxidantes naturales aumenta, ocupan mayor volumen en el sistema lipídico, llegando a interactuar con los coloides de asociación hasta alcanzar la dosificación de su máxima capacidad antioxidante (ver figura 12. b).

Luego de este punto, la “*hipótesis de movilidad reducida*” propuesta por Laguerre (Laguerre 2014) en emulsiones de aceite en agua, toma validez para explicar el comportamiento del sistema en estudio. Esta hipótesis plantea que la movilidad de un antioxidante lipofílico disminuye conforme se alarga su cadena alquílica y en consecuencia se reduce su capacidad de desplazamiento hacia numerosos sitios donde ocurren los procesos de oxidación, resultando en una actividad antioxidante reducida. Aunque esta conjetura fue planteada exclusivamente en la longitud de las cadenas alquílicas de los antioxidantes, podemos asociar el aumento de la dosificación de los compuestos polifenólicos del antioxidante natural del cacao en el aceite, con el mismo efecto obstructivo a la movilidad, causado en este caso por su acumulación hasta el punto de una completa inactivación del potencial antioxidante. (figura 12 c y d). Además, la presencia de compuestos con diferentes grados de polimerización en los extractos de cacao, podrían favorecer el efecto de movilidad reducida.

Figura 12.

Componentes polifenólicos (extracto de cacao) en la matriz lipídica a diferentes concentraciones. a. Concentraciones bajas de antioxidante; b. Aumento de la concentración (punto con mayor capacidad antioxidante); c, d. Inicio del decaimiento e inactivación del potencial antioxidante (hipótesis de movilidad reducida).



Nota: Adaptado de (Laguerre et al., 2014)

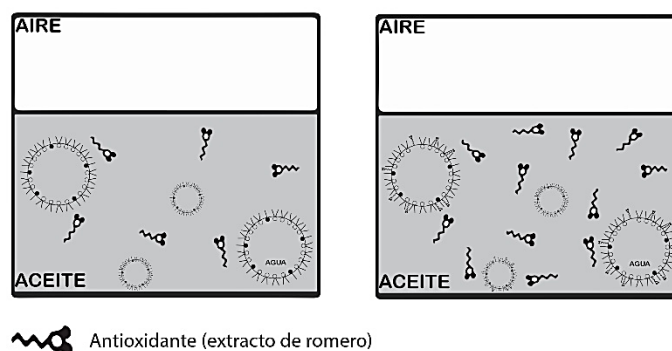
Con respecto a los resultados obtenidos en el estudio de dosificación para el extracto polifenólicos de romero, se aprecian dos secciones notables a lo largo de la curva (ver Figura 10.), ambas con un comportamiento creciente en el aumento del tiempo de estabilidad oxidativa con respecto al incremento de la concentración del antioxidante en el aceite de palma, no obstante, la tendencia de la zona 1 cuenta con una razón de incremento mayor en comparación con la presentada en la zona 2.

Los compuestos del extracto de romero a diferencia de los del cacao que cuenta con sustancias de cadenas moleculares extensas, son considerados de mediano tamaño (Alizadeh et al., 2016). Estas características explicarían por qué no se aprecia una inactivación del potencial antioxidante del extracto, pues al no contar con formas poliméricas de diferentes grados de

polimerización (como si ocurre en el caso del extracto de cacao), la hipótesis de movilidad reducida no toma validez a las concentraciones trabajadas (ver figura 13.), sin embargo, no se puede afirmar que a concentraciones mayores este efecto obstaculizador no llegue a manifestarse.

Figura 13.

Componentes polifenólicos (extracto de romero) en la matriz lipídica a diferentes concentraciones.



Nota: Adaptado de (Laguerre et al., 2014)

5.5 Determinación del valor DA₅₀

Para llevar a cabo un estudio cinético comparativo entre los diferentes tipos de antioxidantes trabajados, fue necesario implementar un nuevo parámetro que permitiera obtener una respuesta equiparable para todos. El DA₅₀ hace referencia a la dosificación a la cual un antioxidante aumenta en un 50% el tiempo de estabilidad oxidativa (OSI) del aceite sin antioxidantes. En el estudio dosis respuesta, se obtuvo que el tiempo de estabilidad oxidativa para el aceite de control es de 31122 segundos. Y siguiendo la definición del DA₅₀ el valor de tiempo objetivo corresponde a 46683 segundos.

En la tabla 5 se presentan los valores obtenidos del DA₅₀ para los 3 diferentes antioxidantes empleados, donde el tiempo de estabilidad oxidativa no supera un error relativo del 4% con respecto al valor objetivo. Según estos resultados, es posible decir que el extracto de romero posee

el mismo efecto antioxidante con una dosificación más baja en comparación con el BHT y el extracto de cacao.

Tabla 5.

Valores del parámetro DA₅₀ para los diferentes antioxidantes

Antioxidante	DA₅₀ [mg ant /kg Act]	OSI [s]	Error relativo
BHT	30	46147	1,16%
Ext. de Romero	20	45658	2,24%
Ext. de Cacao	70	45039	3,65%

5.6 Estimación de vida Útil

La calidad de los alimentos es un estado dinámico que varía continuamente hasta alcanzar el nivel de calidad que discrimina los productos que aún son aceptables para el consumo de aquellos que ya no lo son. Este nivel de calidad se define generalmente como el límite de aceptabilidad más allá del cual el producto se vuelve inadecuado para el consumo debido a restricciones legales, nutricionales o sensoriales (Manzocco et al., 2016).

Para el presente trabajo se estimó el parámetro de vida útil del aceite de palma RBD, haciendo uso del estudio cinético en el sistema de oxidación acelerada, variando la temperatura a la que se expone el aceite en un rango de 110° C hasta 140°C con intervalo de 10°C. Los resultados obtenidos de este análisis se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6.

Tiempo de estabilidad oxidativa (OSI) a cuatro temperaturas diferentes (T) en la medición de la estabilidad oxidativa del aceite palma según el método Rancimat.

Muestra	Tiempo de estabilidad oxidativa a diferentes temperaturas, OSI [s]			
	110 °C	120 °C	130 °C	140 °C
Control	31122	16459	5516	3645
B30	46147	30432	12250	5465
R20	45659	22363	11833	4640
C70	45039	17707	10925	4382

Estudios realizados anteriormente han demostrado que el tiempo de vida útil del aceite de palma refinado a condiciones de temperatura entre los 20 y 25°C , se encuentra en 9 meses aproximadamente (de Almeida et al., 2019), sin embargo, este valor fue determinado mediante análisis cinéticos en tiempo real monitoreando parámetros de calidad (ácidos grasos libres e índice de peróxidos); mientras que el procedimiento que se llevó a cabo para este estudio consiste en una estimación mediante pruebas a condiciones aceleradas, en las que pueden no figurar una serie de condiciones ligadas a la estimación del tiempo de vida útil a temperaturas bajas. Pese a eso, la aproximación metodológica que se aplicó en este trabajo tiene la ventaja de que permite hacer una estimación en tiempos cortos; sin la necesidad de esperar 9 meses para medir los productos de oxidación que se obtienen después de que dicho tiempo ha pasado.

La oxidación de lípidos a bajas y a altas temperaturas pueden pasar por diferentes pasos o vías de reacción dependiendo de la reactividad de los iones metálicos y antioxidantes a diferentes temperaturas. Además, la temperatura del aceite afecta el grado de solubilidad del oxígeno en los aceites vegetales. La solubilidad del oxígeno disminuye casi un 25% por cada 10°C de aumento de

la temperatura (Tan et al., 2001).

En la Tabla 7. se presentan los valores obtenidos del tiempo de vida útil calculados mediante extrapolación lineal de las ecuaciones de regresión. El extracto polifenólico de romero aumentó el tiempo de vida útil comparado con el aceite de control en un 48,06% (3,47 meses) y para el extracto de cacao y BHT el tiempo incrementó en un 31,44% (2,27 meses) y 39,89% (2,88 meses) respectivamente. Como se explicó anteriormente los resultados presentados están abiertos a considerables incertidumbres y solo se podrían considerar como aproximaciones. No obstante, estos valores se encuentran un rango cercano al reportado en la literatura, dando validez al uso del sistema diseñado.

Tabla 7.

Relación entre log OSI vs. T y los datos estimados de vida útil para la oxidación lipídica en el aceite de palma RBD

Log OSI Vs. T [C]			
Muestra	Ecuación de Regresión	Coefficiente de determinación, R ²	Tiempo de vida útil a 25°C (meses)
Control	Log (OSI)= -0.0327 T+8.089	0,9736	7,22
B30	Log (OSI)= -0.0317 T+8.212	0,9795	10,10
R20	Log (OSI)= -0.0326 T+8.257	0,9931	10,69
C70	Log (OSI)= -0.0325 T+8.202	0,9862	9,49

5.7 Determinación de Energía de activación

La tabla 8 proporciona los parámetros de regresión obtenidos a partir de la ecuación de Arrhenius linealizada, donde se relaciona gráficamente la constante de velocidad de

reacción y la temperatura, permitiendo extraer los valores correspondientes a la energía de activación y el factor preexponencial.

Tabla 8.

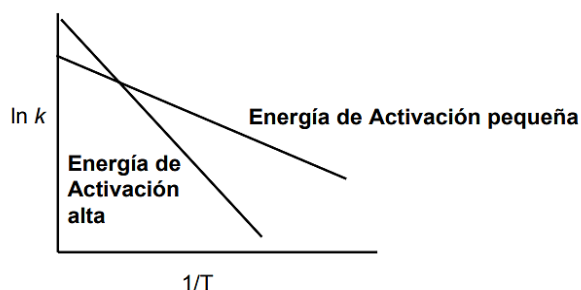
Parámetros estimados de Arrhenius para la oxidación lipídica del aceite de palma RBD (ln k Vs. 1/T)

Parámetros de regresión	Control	B30	R20	C70
N° de puntos	4	4	4	4
Pendiente	-11927,47	-11536,39	-11844,06	-11827,24
Intersección	20,76	19,23	20,13	20,18
R²	0,9759	0,9737	0,9897	0,9861
E_a [kJ/mol]	99,17	95,92	98,47	98,34
A x 10⁸ [s⁻¹]	10,41	2,24	5,52	5,83

Las energías de activación para las 4 muestras presentan valores cercanos entre sí y se encuentran en un orden de magnitud semejante a los resultados reportados por Farhoosh y colaboradores para diferentes aceites vegetales comprendidos entre 86,86 kJ/mol y 92,42 kJ/mol (Farhoosh et al., 2008), sin embargo, es apreciable una reducción en la energía para el aceite con presencia de antioxidantes, dejando al BHT como el antioxidante con el menor valor, seguido del extracto de cacao y el extracto de romero (B30<C70<R20<Control). Una energía de activación más alta implica que se necesita un cambio de temperatura menor para inducir una alteración a la tasa de oxidación (ver figura 14.) (Tan et al., 2001). Es decir, el aceite de control es más susceptible a la degradación oxidativa con el aumento de la temperatura que el dosificado con BHT. La alta correlación de determinación ($R^2 > 0,97$) indica un adecuado ajuste a este modelo cinético.

Figura 14.

Influencia de la temperatura en relación con la energía de activación



Nota: Tomado de (Morais Ezquerro & Atienza Boronat, 2016)

6 Conclusiones

Se desarrolló un sistema de oxidación acelerada con la capacidad determinar el tiempo de estabilidad oxidativa a muestras de composición lipídica, a partir de materiales y herramientas tecnológicas asequibles, emulando las condiciones de temperatura y flujo de aire, del método Rancimat. Adicionalmente, se implementó un procedimiento automatizado para la determinación del método Rancimat, sin incurrir en problemas presentados actualmente por el método, como las ambigüedades de observación o posibles inconsistencias matemáticas.

Las concentraciones que permitieron aumentar en un 50% el valor de OSI del aceite de control (DA_{50}) para los antioxidantes de cacao, romero y BHT fueron 70 mg/kg act, 20 mg/kg act y 30 mg/kg act, respectivamente. Obteniéndose así, que el extracto de romero requiere una concentración menor para alcanzar el mismo efecto antioxidante, respecto a los otros.

El tiempo de vida útil estimado para el aceite de palma RBD a 25° C sin antioxidantes, fue de 7,22 meses; mientras que fue de 9,49, 10,69 y 10,10 meses para las muestras dosificadas con

C70, R20 y B30 respectivamente. En el estudio para la determinación de la energía de activación se obtuvieron valores para el aceite de control y para las muestras C70, R20 y B30 de 99,17 kJ/mol, 98,34 kJ/mol, 98,47 kJ/mol y 95,92 kJ/mol, respectivamente. El extracto de romero presentó el tiempo más alto de vida útil a 25°C, y el BHT muestra una menor sensibilidad al aumento de la temperatura (energía de activación más baja) sobre la velocidad de oxidación.

7 Recomendaciones

Se sugiere indagar más en las metodologías de solubilización de los extractos polifenólicos en matrices lipídicas para optimizar el enriquecimiento del aceite con estos antioxidantes.

Se recomienda realizar una comparación del equipo desarrollado, con respecto a su homólogo comercial estándar.

Validar el efecto de los antioxidantes en procesos de fritura, para determinar una posible aplicabilidad del uso de estos en la industria alimenticia.

Referencias Bibliográficas

- Acosta, K. Z., 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]. (Oxidative Stabilization of Sacha Inchi [*Plukenetia Volubilis* Linneo] Oil with Mortiño [*Vaccinium Meridionale* SW] Suspensions Addition.). *Ciencia En Desarrollo*, 6(2), 141–154. <https://doi.org/10.19053/01217488.3784>
- Alizadeh, L., Nayebyzadeh, K., & Mohammadi, A. (2016). A comparative study on the in vitro antioxidant activity of tocopherol and extracts from rosemary and *Ferulago angulata* on oil oxidation during deep frying of potato slices. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 611–620. <https://doi.org/10.1007/S13197-015-2062-2/TABLES/5>
- Almeida, D. T., Viana, T. V., Costa, M. M., Silva, C. de S., & Feitosa, S. (2019). Effects of different storage conditions on the oxidative stability of crude and refined palm oil, olein and stearin (*Elaeis guineensis*). *Food Science and Technology (Brazil)*, 39, 211–217. <https://doi.org/10.1590/fst.43317>
- Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. *Advances in Food and Nutrition Research*, 90, 1–81. <https://doi.org/10.1016/BS.AFNR.2019.02.011>
- Antonia, S. T. (2013). *Influencia de los factores tecnológicos en la calidad y en el contenido en antioxidantes del aceite de oliva virgen*. Universidad de Jaén.
- Bastidas, J., Kattan, E., & Lacassie, H. J. (2016). Comentario “dosis efectiva 50% (DE50) y dosis efectiva 95% (DE95) de bupivacaína intratecal en pacientes obesas mórbidas en cesárea.” *Revista Colombiana de Anestesiología*, 44(3), 243–245. <https://doi.org/10.1016/J.RCA.2016.02.013>
- Castro, D. D. (2009). Determinación de la concentración de inhibición media (CE50) de cobre y níquel para la semilla lactuca sativa mediante ensayos de toxicidad. *Ingeniería Ambiental y Sanitaria*. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/701
- Cenipalma. (2013). Guía sobre el aceite de palma y sus aplicaciones. *Fedepalma*. www.fedepalma.org
- Chaiyasit, W., Elias, R. J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2007). Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3), 299–317. <https://doi.org/10.1080/10408390600754248>
- Chammem, N., Saoudi, S., Sifaoui, I., Sifi, S., de Person, M., Abderraba, M., Moussa, F., & Hamdi, M. (2015). Improvement of vegetable oils quality in frying conditions by adding rosemary extract. *Industrial Crops and Products*, 74, 592–599. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.05.054>
- Che Man, Y. B., Haryati, T., Ghazali, H. M., & Asbi, B. A. (1999). Composition and Thermal Profile of Crude Palm Oil and Its Products. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(2), 237–242. <https://doi.org/10.1007/S11746-999-0224-Y>
- Chen, X., Zhang, Y., Zu, Y., Yang, L., Lu, Q., & Wang, W. (2014). Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(2), 385–391. <https://doi.org/10.1111/IJFS.12311>
- Codex alimentarius. (1999). *NORMA DEL CODEX PARA ACEITES VEGETALES ESPECIFICADOS*. 210.
- Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2012). Phenol-Based Antioxidants and the In Vitro Methods Used for Their Assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 148–173. <https://doi.org/10.1111/J.1541->

4337.2011.00173.X

- Delgado, W. A. (2003). *Por qué se enrancian las grasas y aceites*.
- Erkan, N., Ayranci, G., & Ayranci, E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry*, *110*(1), 76–82.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.01.058>
- Escobedo, E., Lilia, P., & Ramos, M. M. (2019). *ÁCIDOS GRASOS Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DE ACEITE DE PALTA, VARIEDADES HASS Y FUERTE-MOQUEGUA, PERÚ*.
- Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., & Sarabi, M. (2008). Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *110*(6), 587–592. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800004>
- Focke, W. W., Westhuizen, I. van der, & Oosthuysen, X. (2016). Biodiesel oxidative stability from Rancimat data. *Thermochimica Acta*, *633*, 116–121.
<https://doi.org/10.1016/j.tca.2016.03.023>
- Gee, P. T. (2007). Analytical characteristics of crude and refined palm oil and fractions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *109*(4), 373–379.
<https://doi.org/10.1002/EJLT.200600264>
- Gibon, V., de Greyt, W., & Kellens, M. (2007). Palm oil refining. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *109*(4), 315–335. <https://doi.org/10.1002/EJLT.200600307>
- Godoy, C. (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*.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. In *Archives of Toxicology* (Vol. 94, Issue 3, pp. 651–715). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Guo, Q., Gao, S., Sun, Y., Gao, Y., Wang, X., & Zhang, Z. (2016). Antioxidant efficacy of rosemary ethanol extract in palm oil during frying and accelerated storage. *Industrial Crops and Products*, *94*, 82–88. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2016.08.032>
- Herrero, M., Plaza, M., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2010). Green processes for the extraction of bioactives from Rosemary: Chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and in-vitro assays. *Journal of Chromatography A*, *1217*(16), 2512–2520. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2009.11.032>
- Hui Tan, C., Jie Lee, C., Ning Tan, S., Tik Sang Poon, D., Yi Ern Chong, C., & Phing Pui, L. (2021). Red Palm Oil: A Review on Processing, Health Benefits and Its Application in Food. *Journal of Oleo Science*. <https://doi.org/10.5650/jos.ess21108>
- Jiménez Santana, D. (2010). Análisis del comportamiento de los antioxidantes BHT, BHA y vitamina E, por medio del estudio fisicoquímico y sensorial de un aroma de limón en polvo de la empresa Symrise Ltda. *Universidad de La Salle*.
https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/335
- Juárez, M. D. (2007). El deterioro de los aceites durante la fritura. *Dpto. de Bioquímica de La Nutrición, INSIBIO-CONICET*. <https://www.renc.es/imagenes/auxiliar/files/0032007.pdf>
- Kreivaitis, R., Padgurskas, J., Gumbyte, M., Makarevičiene, V., & Spruogis, B. (2011). The influence of oxidation on tribological properties of rapeseed oil. *Transport*, *26*(2), 121–127. <https://doi.org/10.3846/16484142.2011.586109>
- Laguerre, M., Bayrasy, C., Panya, A., Weiss, J., McClements, D. J., Lecomte, J., Decker, E. A., & Villeneuve, P. (2014). What makes good antioxidants in lipid-based systems? The next

- theories beyond the polar paradox. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2). <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.650335>
- Lapuerta, M., Rodríguez-Fernández, J., Ramos, A., & Álvarez, B. (2012). Effect of the test temperature and anti-oxidant addition on the oxidation stability of commercial biodiesel fuels. *Fuel*, 93, 391–396. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2011.09.011>
- Lara, M. S., Gutierrez, J. I., Timón, M., & Andrés, A. I. (2011). Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L.) as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP. *Meat Science*, 88(3), 481–488. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2011.01.030>
- Lázaro Vela, M. (2018). *Alteraciones de los aceites vegetales durante la fritura* [Universidad de Sevilla Facultad de Farmacia]. <https://idus.us.es/handle/11441/82324>
- Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A*, 1635, 461770. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2020.461770>
- Lüthi, S. (2020). *Stability-based value of natural oils: Easy to determine with the Rancimat test*.
- Manzocco, L., Calligaris, S., Anese, M., & Nicoli, M. C. (2016). Determination and Prediction of Shelf Life of Oils/Fats and Oil/Fat-Based Foods. In *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats* (pp. 133–156). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-056-6.00002-1>
- Marleiby Parra Mecón, D., & Laudith Pava Romero. (2020). *ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE SACHA INCHI Efecto de la adición de antioxidantes sobre la estabilidad oxidativa del aceite de Sacha Inchi*.
- Matt Miller. (2018). *Oxidation of food grade oils*.
- Mba, O. I., Dumont, M. J., & Ngadi, M. (2015). Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. *Food Bioscience*, 10, 26–41. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2015.01.003>
- Metrohm. (2001). *743 Rancimat 1.0 SRI*.
- metrohm. (2020). *Rancimat y Thermomat*. https://www.metrohm.com/es_es/products/stability-measurement/Stability-measurement-Rancimat-Thermomat.html
- Ministerio de agricultura. (2019). *CADENA DE PALMA DE ACEITE Indicadores e Instrumentos*.
- Morais Ezquerro, S. B., & Atienza Boronat, J. (2016). *Efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción*.
- Pacheco Tigsilema, M. T., & González Villalva, N. P. (2013). Extracción y caracterización de los antioxidantes secundarios del romero (*Rosmarinus officinalis* L.) para promover la obtención y la aplicación de antioxidantes naturales sobre grasas y aceites. In 2013. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/6565>
- Pico-Hernández, S. M., Murillo-Méndez, C. J., López-Giraldo, L. J., Pico-Hernández, S. M., Murillo-Méndez, C. J., & López-Giraldo, L. J. (2020). Extraction, separation, and evaluation of antioxidant effect of the different fractions of polyphenols from cocoa beans. *Revista Colombiana de Química*, 49(3), 19–27. <https://doi.org/10.15446/rcq.v49n3.84082>
- Piedrahita, A. maría. (2015). “*ESTABILIDAD OXIDATIVA Y VIDA ÚTIL DEL ACEITE DE CHOIBÁ (Dipteryx oleifera Benth.) SUPLEMENTADO CON EXTRACTO DE ROMERO (Rosmarinus officinalis L.)*”. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/54895/1128418679.2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pillai, P. K. S., Li, S., Bouzidi, L., & Narine, S. S. (2016). Metathesized palm oil & novel polyol

- derivatives: Structure, chemical composition and physical properties. *Industrial Crops and Products*, 84, 205–223. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2016.02.008>
- Prasanth Kumar, P. K., & Gopala Krishna, A. G. (2014). Physico-chemical characteristics and nutraceutical distribution of crude palm oil and its fractions. *Grasas y Aceites*, 65(2), e018–e018. <https://doi.org/10.3989/GYA.097413>
- Ribeiro, A., Caleja, C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Rosemary extracts in functional foods: Extraction, chemical characterization and incorporation of free and microencapsulated forms in cottage cheese. *Food and Function*, 7(5), 2185–2196. <https://doi.org/10.1039/C6FO00270F>
- Rincón Sandra Milena, & Martínez Daniel Mauricio. (2009). Vista de Análisis de las propiedades del aceite de palma en el desarrollo de su industria. *PALMAS*, 30, 11–24. <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1432/1432>
- Rodríguez Aguirre, O., Alejandro Andrade Barreiro, W., & Diaz López, F. (2015). *Actividad antioxidante de extractos de hojas de Bocconia frutescens L. (Papaveraceae)*.
- 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*. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/57914/yamidortizr.2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Talbot, G. (2016). The stability and shelf life of fats and oils. *The Stability and Shelf Life of Food*, 461–503. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100435-7.00016-2>
- Tan, C. P., Che Man, Y. B., Selamat, J., & Yusoff, M. S. A. (2001). Application of arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2001 78:11, 78(11), 1133–1138. <https://doi.org/10.1007/S11746-001-0401-1>
- Toro-Urbe, S., López-Giraldo, L. J., & Decker, E. A. (2018). Relationship between the Physiochemical Properties of Cocoa Procyanidins and Their Ability to Inhibit Lipid Oxidation in Liposomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(17). <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01074>
- Villanueva López, E., Castillo Benites, D., & Rodríguez Páucar, G. (2013). *Influencia de los parámetros Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa del aceite de Sesamum indicum L. Influence of the Rancimat parameters on the determination of oxidative stability index of Sesamum Indicum L. Oil*. www.sci-agropecu.unitru.edu.pe
- Xu, H., & Liu, J. (2009). Stable numerical differentiation for the second order derivatives. *Advances in Computational Mathematics* 2009 33:4, 33(4), 431–447. <https://doi.org/10.1007/S10444-009-9132-9>
- Yahya, N. Y., Ngadi, N., Wong, S., & Hassan, O. (2018). Transesterification of used cooking oil (UCO) catalyzed by mesoporous calcium titanate: Kinetic and thermodynamic studies. *Energy Conversion and Management*, 164, 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.03.011>
- Zapata, A. (2013). *Potencial nutracéutico del aceite de la almendra de choibá o almendro de montaña (Dipteryx oleifera Benth.)*. Revista Cubana de Plantas Medicinales. <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/67>
- Zapata, L. E. (2004). *Use of Oil Palm and other Vegetable Oils in the Food Industry*.
- Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F., & Liu, F. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118(3), 656–662.

Apéndices

Apéndice A. Determinación de polifenoles totales.

Figura A1.

Curva de calibración de ácido cafeico

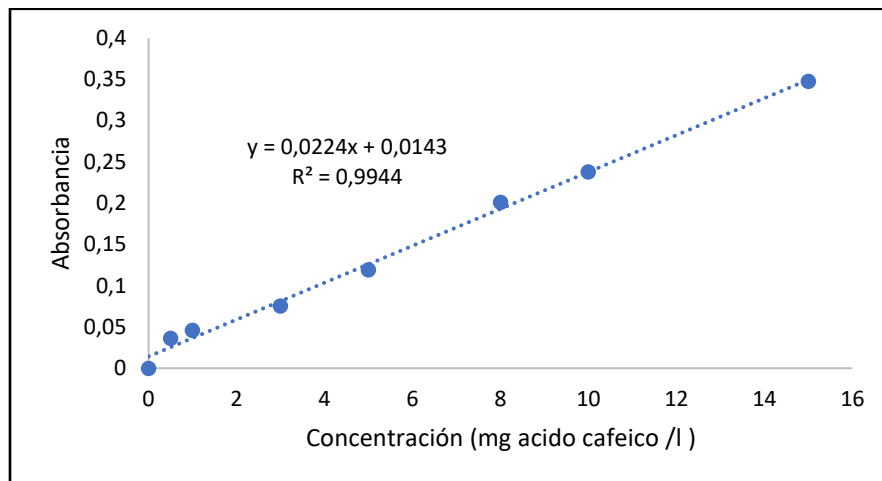
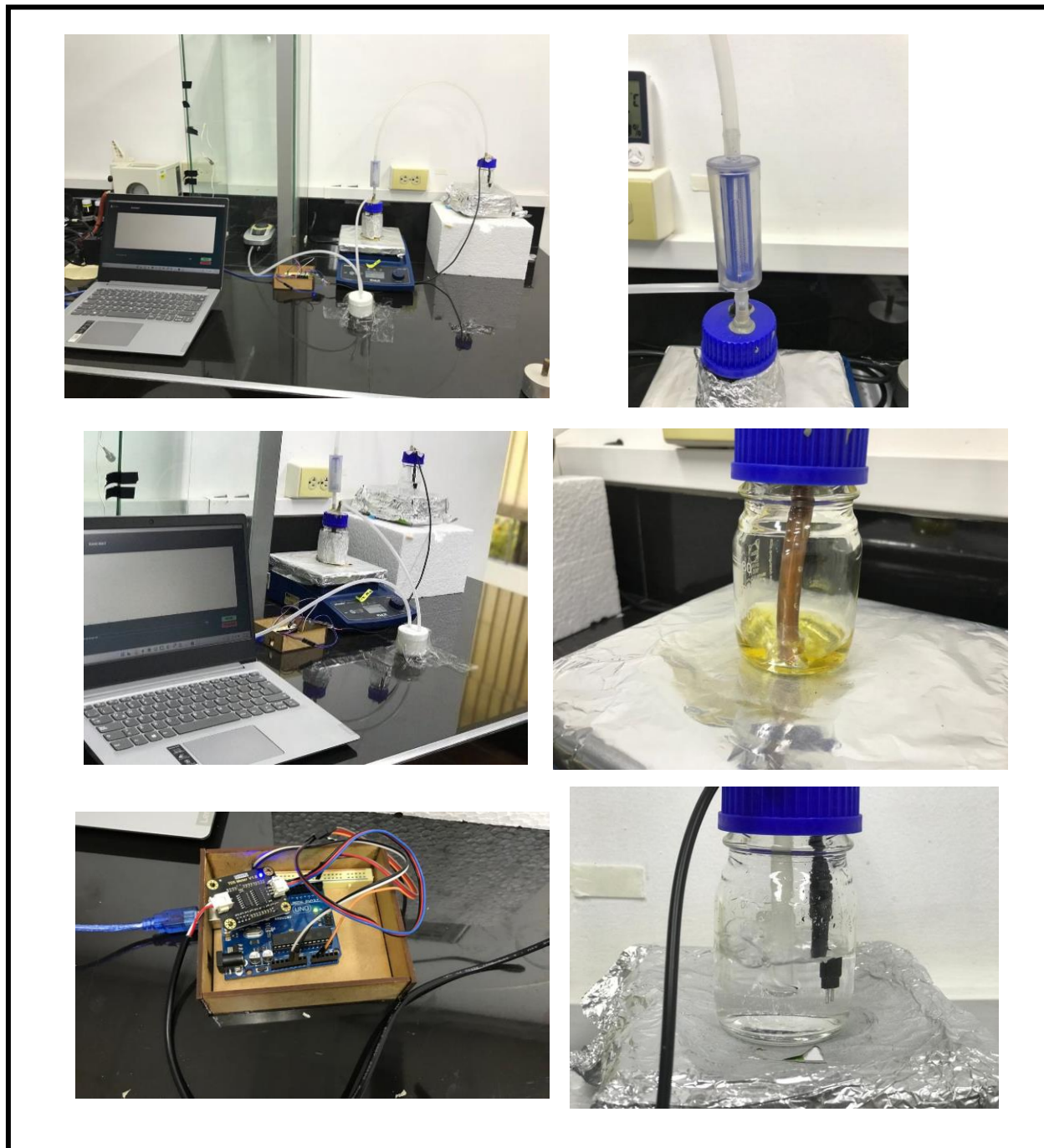


Tabla A1.

Resultados del método Folin para la determinación de polifenoles totales

Aceite	Absorbancia	mg /l	mg Acido cafeico /g muestra	mg Acido cafeico /kg muestra
Control	0,0855	3,187	-	-
Extracto romero	0,464	20,121	1,608664994	1608,66499
Extracto Cacao	0,4865	21,127	1,704292371	1704,29237

Apéndice B. Estructura sistema de oxidación con sus respectivas secciones.

Apéndice C. Evaluación de punto de inducción e inflexión**Tabla C1.***Resultados de parametrización para control y BHT*

Muestra	IP [s] (h)	Punto inflexión	R²
Control	3122,8 (8,64)	39949	0,9996
BHT 200	481477 (14,13)	59799	0,9988
BHT 30	48147,99 (13,37)	62449	0,9987

Tabla C2.*Resultados de parametrización para el extracto cacao a diferentes concentraciones*

Muestra	IP (s) (h)	Punto inflexión	R²
C1500	39198 (10,89 h)	56749	0,999
C1000	30849 (8,569 h)	44849	0,9988
C800	30186,04 (8,385 h)	48699	0,9981
C500	61258,94 (17,02h)	79100	0,9979
C400	76397 (21,22 h)	98450	0,999
C300	8662,2 (24,06 h)	103100	0,9984
C200	71614 (19,89 h)	92199	0,9989
C70	41039,83 (11,4 h)	55549	0,9973

Tabla C3.*Resultados de parametrización para el extracto de romero a diferentes concentraciones*

Muestra	IP (s)	Punto inflexión	R²
R1500	108432 (30,12 h)	132549	0,9966
R1000	91142,462 (25,32 h)	112049	0,9988
R800	78995 (21,94 h)	99849	0,999
R500	78400 (21,78 h)	99950	0,9988
R200	75051,52 (20,85 h)	90549	0,9946
R50	63352 (17,6 h)	79649	0,9988
R20	45659 (12,61 h)	61799	0,9979

Tabla C4.*Parámetros optimizados para las curvas del aceite control y BHT*

Muestra	Parámetros			
	m	β	τ	Θ
Control	0,001788	45,69	3,28E+04	12,37
BHT 200	0,0003615	59,57	9,46E+04	16,06
BHT 30	0,0009715	76,56	5,18E+04	10,37

Tabla C5.*Parámetros optimizados para las curvas del aceite con extractos polifenólicos de cacao.*

Parámetros				
Muestra	m	β	τ	Θ
C1500	0,000497	65,46	4,42E+04	12,37
C1000	0,0005479	51,53	3,49E+04	7,528
C800	0,0006247	71,97	3,70E+04	7,431
C500	0,0002301	53,85	6,48E+04	5,476
C400	0,000228	82,65	8,07E+04	12,03
C300	0,0003739	39,68	8,88E+04	12,15
C200	0,0003693	77,21	7,56E+04	19,6
C70	0,0003115	68,39	4,44E+04	12,22

Tabla C6.*Parámetros optimizados para las curvas del con extractos polifenólicos de Romero.*

Parámetros				
Muestra	m	β	τ	Θ
R1500	0,0002503	54,5	1,12E+05	16,37
R1000	0,0001791	49,43	9,45E+04	15,8
R800	0,0002685	60,66	8,28E+04	13,45
R500	0,0002308	69,29	8,25E+04	12,84
R200	0,0004778	35,35	7,73E+04	17,85
R50	0,0007021	54,83	6,62E+04	13,87

R20	0,0007471	59,34	4,95E+04	9,712
------------	-----------	-------	----------	-------

Figura C1.

Curvas parametrizadas de aceites con extractos polifenólicos de cacao.

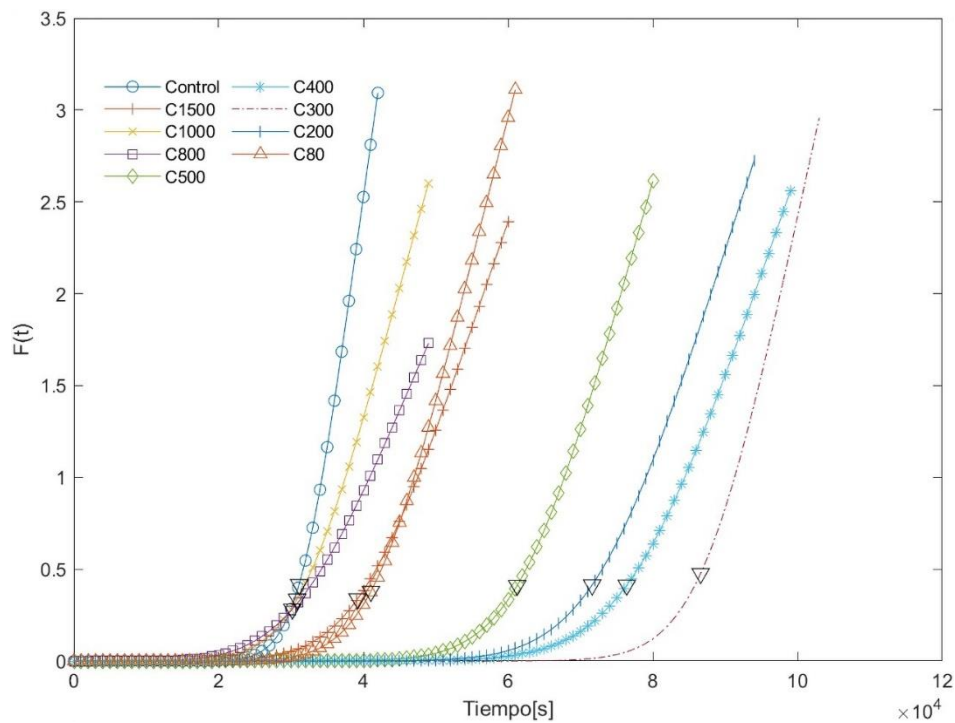


Figura C2.

Curvas parametrizadas de aceites con extractos polifenólicos de Romero.

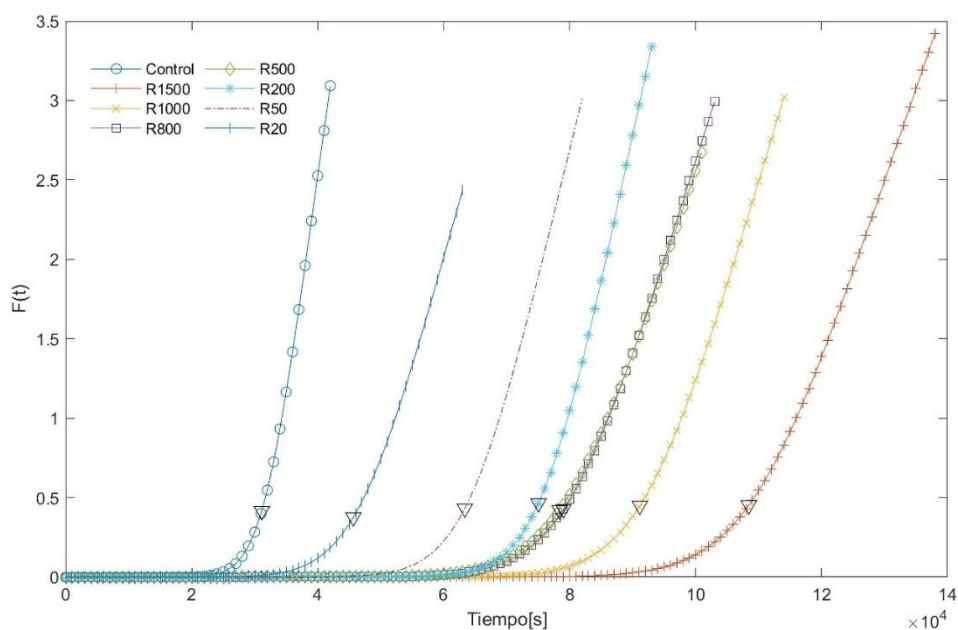
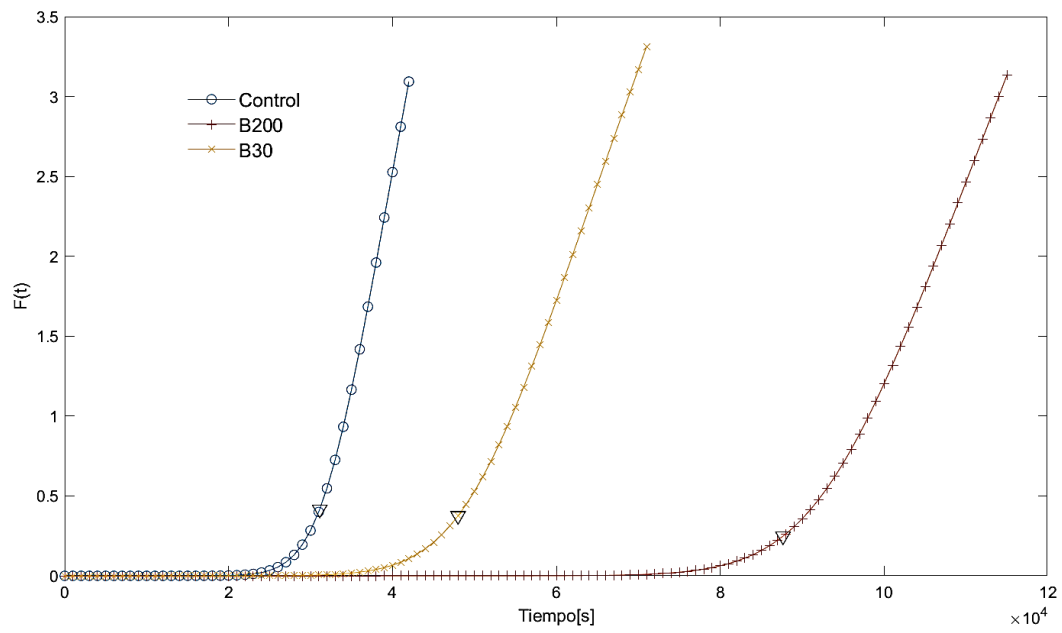
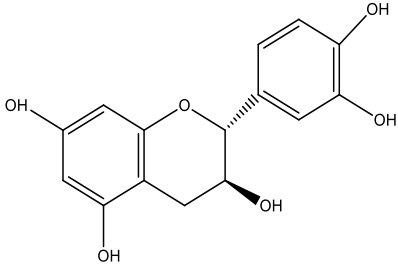
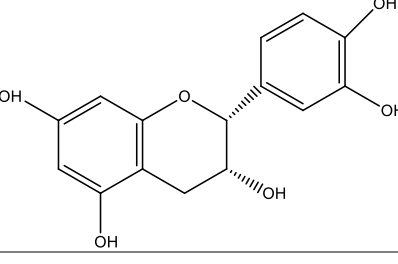
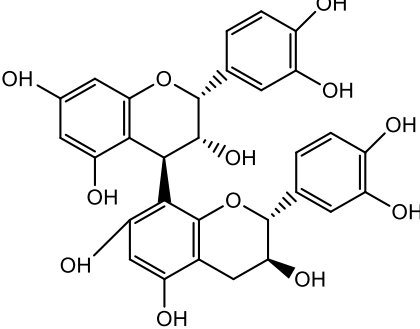
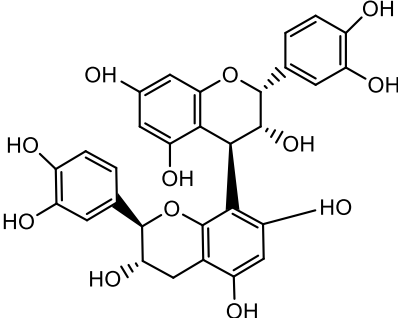
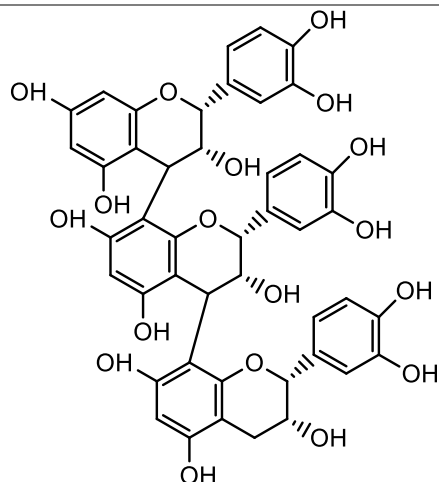


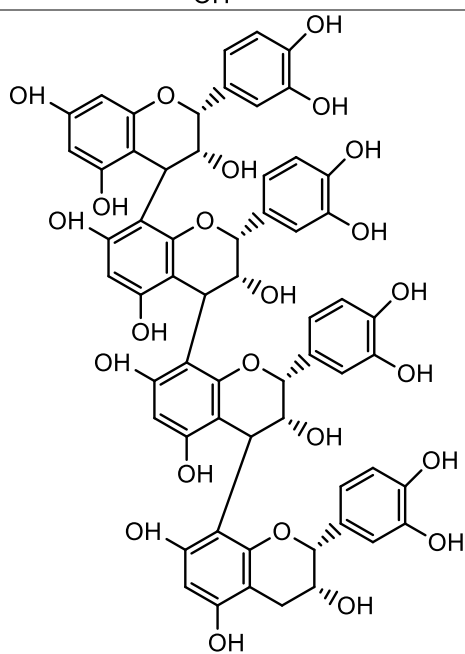
Figura C3.*Curvas parametrizadas de aceite con BHT.*

Apéndice D. Coeficiente de reparto determinados en ChemDraw Ultra

Componentes	Formula	Grado de polimerización	Coeficiente de reparto log P
(+) - Catequina		1 (monómeros)	1,5
(-) - Epicatequina			
Procianidina B2		2 (dímeros)	2,56
Procianidina B1			

Trímeros

3,56

Tetrámeros>2
(oligómeros)

4,34

Apéndice E. Determinación de vida Útil

Análisis de regresión modelo de vida útil en el aceite control

- Variable dependiente: logaritmos base 10 de OSI
- Variable independiente: Temperatura (°C)
- Ecuaciones de vida útil (OSI)

$$\text{Log}_{10}(\text{OSI}) = AT + B$$

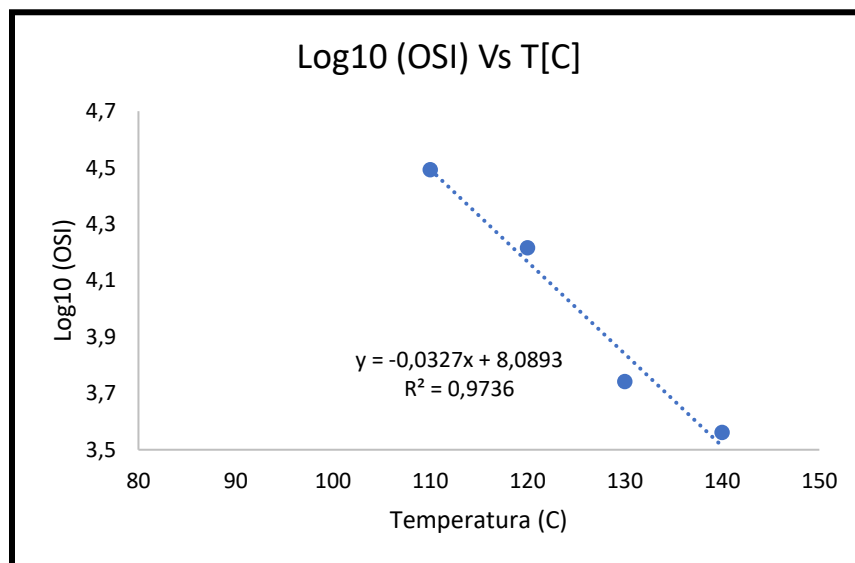
ACEITE DE CONTROL**Tabla E1.**

Parámetros de vida útil para el aceite control

Control		
OSI [s]	T[°C]	LOG ₁₀ (OSI)
3645	140	3,5617
5516	130	3,7416
16459	120	4,2164
31122	110	4,4931

Figura E1.

Curva de vida útil aceite control



$$OSI = 10^{AT+B}$$

$$OSI = 10^{-0.0327(T)+8.0893}$$

$$OSI = 7.2186 \text{ meses}$$

Tabla E2.

Vida útil de aceite control.

VIDA UTIL		
A	B	Meses
-0,0327	8,0893	7,2186

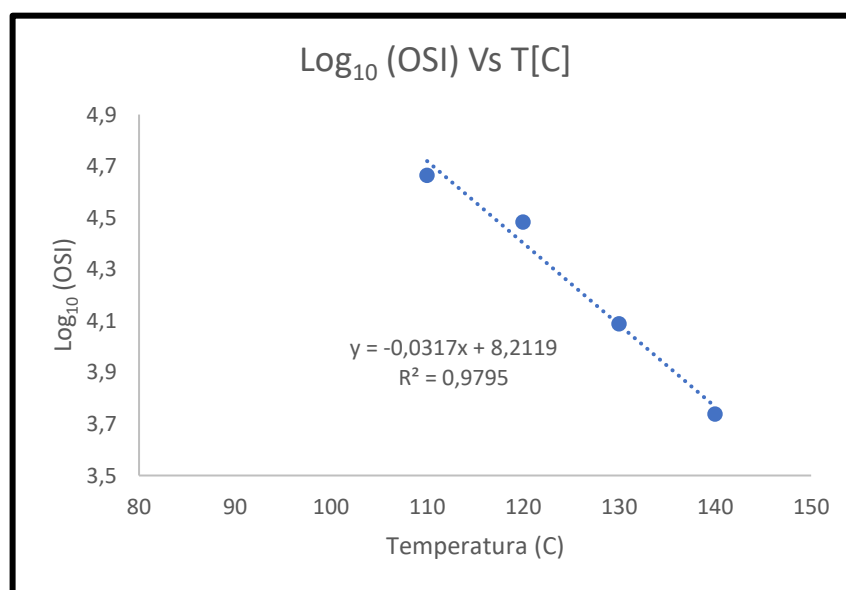
MUESTRA B30**Tabla E3.**

Parámetros de vida útil para el aceite con antioxidante sintético (BHT)

BHT 30		
OSI [s]	T[C]	LOG10(OSI)
5465	140	3,7376
12250	130	4,0881
30432	120	4,4833
46147	110	4,6641

Figura E2.

Curva de vida útil aceite con antioxidante sintético (BHT)



$$OSI = 10^{AT+B}$$

$$OSI = 10^{-0.0317(T)+8.219}$$

$$OSI = 10.1046 \text{ meses}$$

Tabla E4.

Vida útil de aceite antioxidante sintético.

VIDA UTIL		
A	B	Meses
-0,0317	8,2119	10,1046

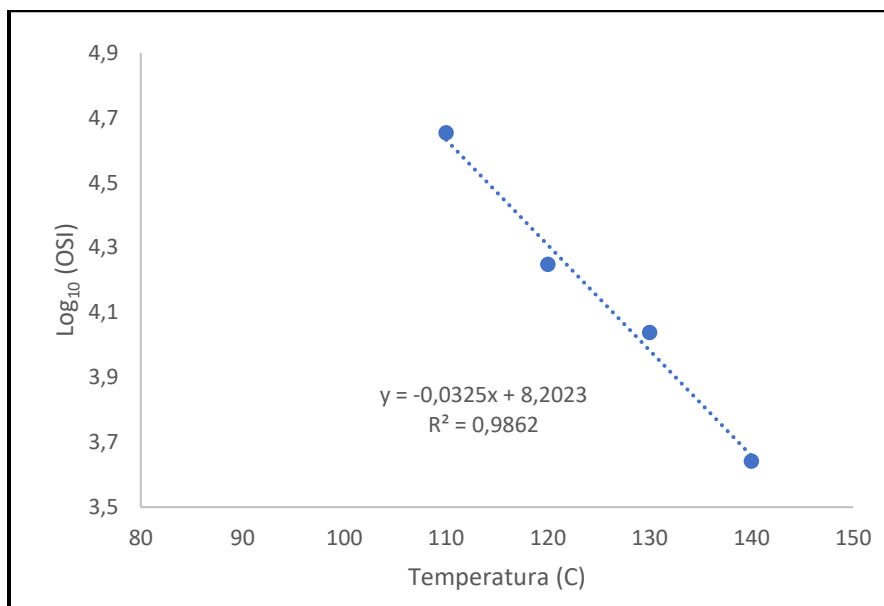
MUESTRA C70**Tabla E5.**

Parámetros de vida útil para el aceite con extractos de cacao

Cacao 70		
OSI [s]	T[C]	LOG10(OSI)
4382	140	3,6417
10925	130	4,0384
17707	120	4,2481
45039	110	4,6536

Ilustración E3.

Curva de vida útil aceite con extractos polifenólicos de cacao



$$OSI = 10^{AT+B}$$

$$OSI = 10^{-0.0325(T)+8.2023}$$

$$OSI = 9.4906 \text{ meses}$$

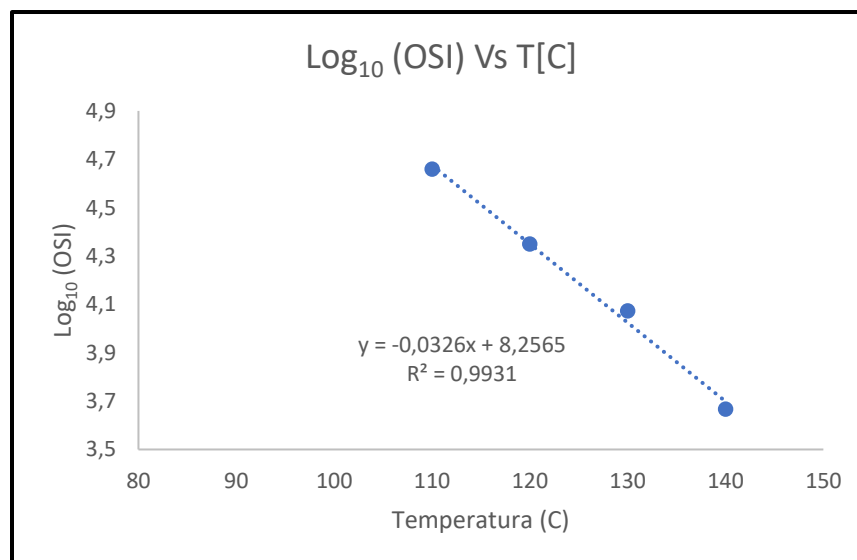
Tabla E6.

Vida útil de aceite antioxidante extracto de cacao.

VIDA UTIL		
A	B	Meses
-0,0325	8,2023	9,4906

MUESTRA R20**Tabla E7.***Parámetros de vida útil para el aceite con extractos de romero*

Romero 20		
OSI [s]	T[C]	LOG10(OSI)
4640	140	3,6665
11833	130	4,0731
22363	120	4,3495
45659	110	4,6595

Ilustración E4.*Curva de vida útil aceite con extractos polifenolicos de romero*

$$OSI = 10^{AT+B}$$

$$OSI = 10^{-0.0326(T)+8.2565}$$

$$OSI = 10.6903 \text{ meses}$$

Tabla E8.

Vida útil de aceite antioxidante extracto de romero.

VIDA UTIL		
A	B	Meses
-0,0326	8,2565	10,6904

Apéndice F. Determinación de energía de activación y factor preexponencial.

Análisis de regresión para la energía de activación de aceite control en comparación con antioxidantes naturales y sintético.

- Variable dependiente: logaritmo de la constante (K)
- Variable independiente: inverso de la Temperatura (1/°C)

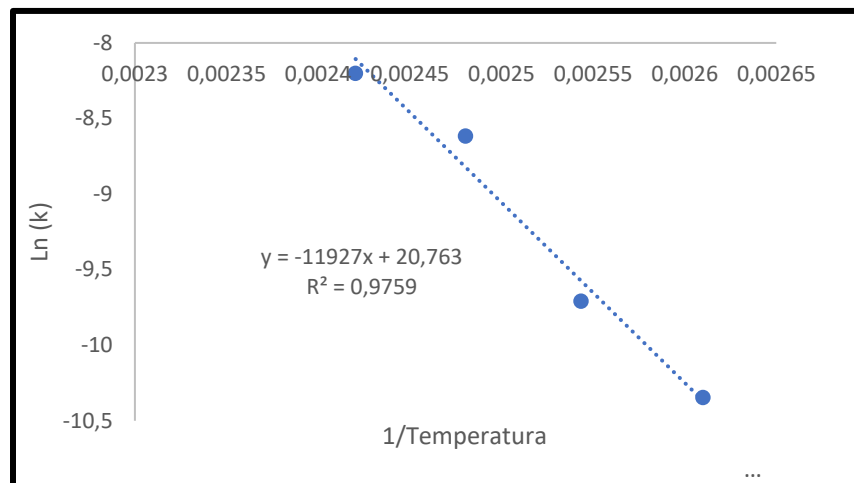
Ecuaciones para la energía de activación (Ea)

$$\begin{aligned} \ln(k) &= -\frac{E_a}{R} * \left(\frac{1}{T}\right) + \ln(A) \\ y &= mx + b \\ m &= \frac{E_a}{R} \\ E_a &= \frac{m}{R} \end{aligned}$$

Tabla F1.

Parámetros para la energía de activación en el aceite control

Control		
k	ln(k)	1/T
0,000274	-8,20111	0,00242
0,000181	-8,61541	0,00248
0,000061	-9,70863	0,00254
0,000032	-10,34567	0,00261

Figura F1.*Curva energía de activación para el aceite control***Tabla F2.**

Energía de activación del aceite control.

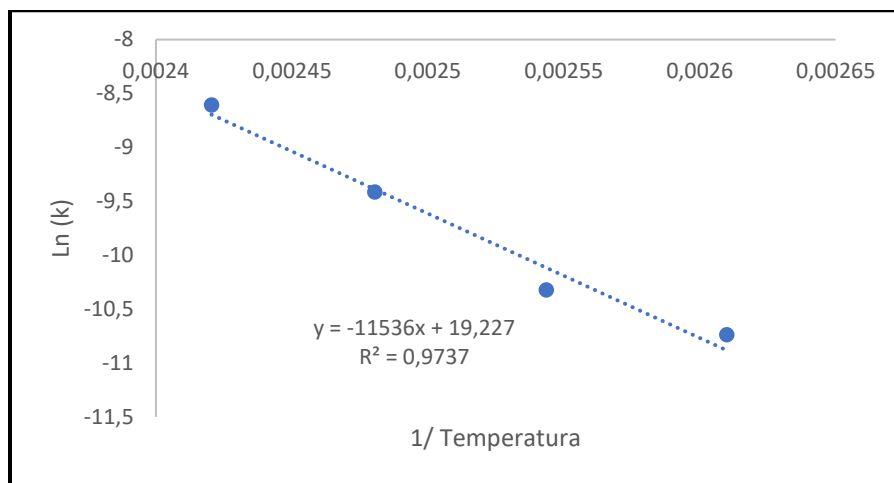
R	A	Ea (kJ/mol)
0,0083	1040728978	99,1711

MUESTRA B30**Tabla F3.***Parámetros para la energía de activación en el aceite con antioxidante sintético*

BHT 30		
k	ln(k)	1/T
0,000183	-8,60612	0,00242
0,000082	-9,41328	0,00248
0,000033	-10,32325	0,00254
0,000022	-10,73959	0,00261

Figura F2.

Curva energía de activación para el aceite con antioxidante sintético

**Tabla F4.**

Energía de activación del aceite con antioxidante sintético.

R	A	Ea (kJ/mol)
0,0083	224032589	95,9194

MUESTRA C70

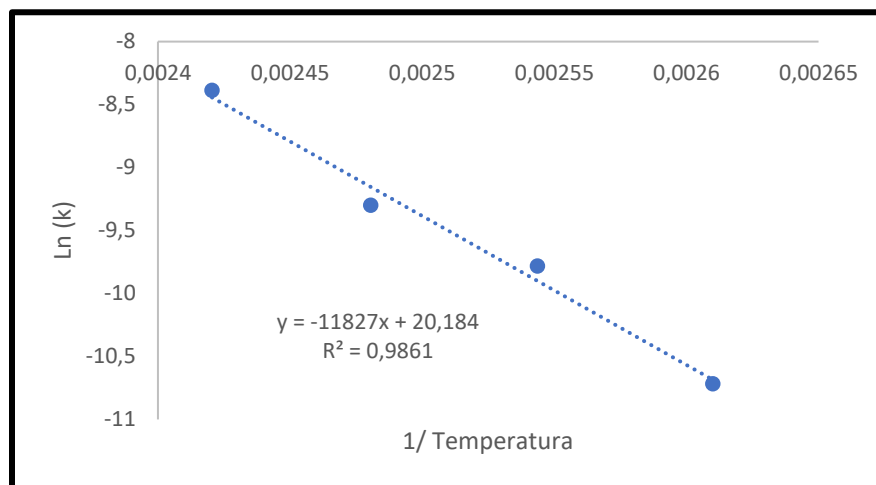
Tabla F5.

Parámetros para la energía de activación en el aceite con extractos polifenólicos de cacao

Cacao 70		
k	ln(k)	1/T
0,000228	-8,38526	0,00242
0,000092	-9,29881	0,00248
0,000056	-9,78172	0,00254
0,000022	-10,71528	0,00261

Figura F3.

Curva energía de activación para el aceite con extracto polifenólicos de cacao

**Tabla F6.**

Energía de activación del aceite con extracto polifenólicos de cacao.

R	A	Ea (kJ/mol)
0,0083	582993135	98,3377

MUESTRA R20

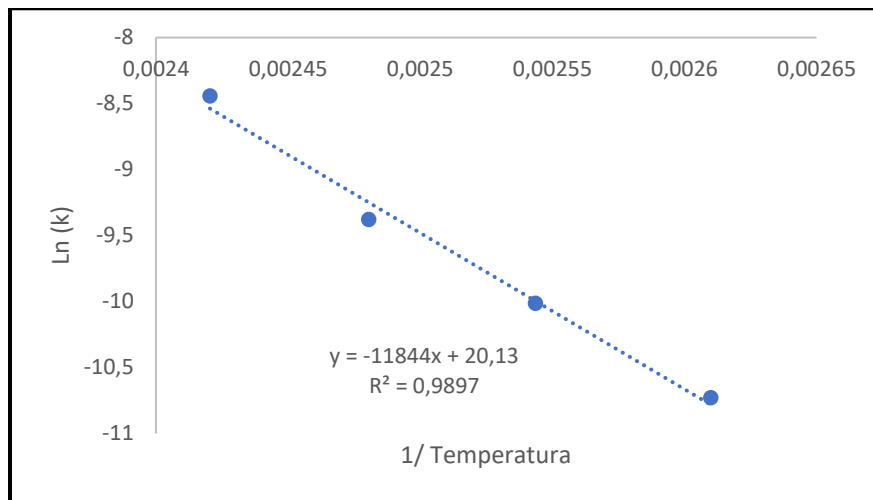
Tabla F7.

Parámetros para la energía de activación en el aceite con extractos polifenólicos de romero

Romero 20		
k	ln(k)	1/T
0,00022	-8,44247	0,00242
0,00008	-9,37865	0,00248
0,00004	-10,01516	0,00254
0,00002	-10,72896	0,00261

Figura F4.

Curva energía de activación para el aceite con extracto polifenólicos de romero

**Tabla F8.**

Energía de activación del aceite con extracto polifenólicos de romero.

R	A	Ea (kj/mol)
0,0083	552471255	98,4776