

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



**“EFECTO DE LA MEZCLA DE ACEITE SEMI REFINADO DE
PESCADO (*Engraulis Ringens*) CON ACEITE DE OLIVA (*Olea Europaea*)
EN SU ESTABILIDAD OXIDATIVA Y CARACTERISTICAS
FISICOQUIMICAS”**

**PPRESENTADO POR Bach. FIORELLA ELIZABETH ALONSO
ROSSEL Y Bach. ALEXANDER DEIBY CHUQUI DIESTRA**

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

NUEVO CHIMBOTE – PERU

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERIA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



HOJA DEL AVAL DEL JURADO EVALUADOR

El presente trabajo de tesis titulado “EFECTO DE LA MEZCLA DE ACEITE SEMI REFINADO DE PESCADO (*Engraulis Ringens*) CON ACEITE DE OLIVA (*Olea Europaea*) EN SU ESTABILIDAD OXIDATIVA Y CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS” para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial, presentado por Bach. FIORELLA ELIZABETH ALONSO ROSSEL Y Bach. ALEXANDER DEIBY CHUQUI DIESTRA, que tienen como Asesor al docente Dr. Gilbert Rodríguez Paucar designado por resolución N° 846-201-UNS-FI. Ha sido revisado y aprobado el día 12 de noviembre del 2018 por el siguiente jurado evaluador, designado mediante resolución N° 297-2018-UNS-CFI.

Dra. Luz Paucar Menacho
Presidente

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar
Secretario (Asesor)

Dr. Daniel Sánchez Vaca
Integrante

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las **doce** horas del **doce** de **noviembre** del **dos mil dieciocho** se instaló en el Auditorio de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, el Jurado Evaluador, designado mediante resolución N° **297-2018-UNS-CFI** integrado por los docentes:

- **Dra. Luz Paucar Menacho** (Presidente)
- **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar** (Secretario)
- **Dr. Daniel Sánchez Vaca** (Integrante); para inicio a la Sustentación y Evaluación de Tesis, titulada:

“EFECTO DE LA MEZCLA DE ACEITE SEMI REFINADO DE PESCADO (Engraulis Ringens) CON ACEITE DE OLIVA (Olea Europaea) EN SU ESTABILIDAD OXIDATIVA Y CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS”, elaborada por los bachilleres en Ingeniería Agroindustrial.

- **Alonso Rossel Fiorella Elizabeth**
- **Chuqui Diestra Alexander Deiby**

Asimismo, tienen como Asesor al docente: **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar**

Finalizada la sustentación, los Tesisistas respondieron las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el Público presente.

El Jurado después de deliberar sobre aspecto relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
Chuqui Diestra Alexander Deiby	18	BUENO

Siendo las **trece** del mismo día, se dio por terminado dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Nuevo Chimbote, 12 de noviembre del 2018

Dra. Luz Paucar Menacho
Presidente

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar
Secretario

Dr. Daniel Sánchez Vaca
Integrante

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las **doce** horas del **doce** de **noviembre** del **dos mil dieciocho** se instaló en el Auditorio de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, el Jurado Evaluador, designado mediante resolución N° **297-2018-UNS-CFI** integrado por los docentes:

- **Dra. Luz Paucar Menacho** (Presidente)
- **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar** (Secretario)
- **Dr. Daniel Sánchez Vaca** (Integrante); para inicio a la Sustentación y Evaluación de Tesis, titulada:

“EFECTO DE LA MEZCLA DE ACEITE SEMI REFINADO DE PESCADO (Engraulis Ringens) CON ACEITE DE OLIVA (Olea Europaea) EN SU ESTABILIDAD OXIDATIVA Y CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS”, elaborada por los bachilleres en Ingeniería Agroindustrial.

- **Alonso Rossel Fiorella Elizabeth**
- **Chuqui Diestra Alexander Deiby**

Asimismo, tienen como Asesor al docente: **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar**

Finalizada la sustentación, los Tesistas respondieron las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el Público presente.

El Jurado después de deliberar sobre aspecto relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
Alonso Rossel Fiorella Elizabeth	18	BUENO

Siendo las **trece** del mismo día, se dio por terminado dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Nuevo Chimbote, 12 de noviembre del 2018

Dra. Luz Paucar Menacho
Presidente

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar
Secretario

Dr. Daniel Sánchez Vaca
Integrante

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor. A mis hermanos por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho. A mis sobrinos, para que vean en mí un ejemplo a seguir y quienes han sido y son mi motivación, inspiración y felicidad.

A mis amigos que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional porque sin los equipos que formábamos no hubiera logrado esta meta, gracias a todos por compartir los buenos y malos momentos.

Fiorella Alonso R.

DEDICATORIA

A Dios, Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres, por darme el apoyo desinteresado en cada etapa de mi vida, por los consejos que día a día supieron darme para lograr cumplir cada una de mis metas propuestas.

A mis amigos y compañeros de trabajo de CFG y COPEINCA que me apoyaron con sus enseñanzas en el campo de investigación elegido, en especial a Diego Urdániga, Alan Siccha.

Alexander Chuqui D.

AGRADECIMIENTO

Por medio de la presente investigación, queremos agradecer de manera especial a nuestro asesor de tesis el Dr. Gilbert Rodríguez Paucar. Por su gran apoyo, motivación y orientación brindado en la realización de nuestra tesis y cada una de las personas que colaboraron con nosotros; a nuestros amigos por su tiempo compartido en nuestro paso por la universidad, a los buenos maestros de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, aquellos que marcaron cada etapa de nuestro camino universitario y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

INDICE

	Pág.
RESUMEN.....	XIV
ABSTRACT	XV
I. INTRODUCCION	16
II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	18
2.1. Lípidos.....	18
2.2. Aceite de oliva virgen (AOV).....	19
2.2.1. Proceso de obtención del aceite de oliva	23
2.2.2. Composición del Aceite de oliva.....	26
2.3. Aceite de pescado.....	29
2.3.1. Usos de aceite de pescado.....	30
2.3.2. Proceso de producción de aceite de pescado.....	30
2.3.3. Semi refinado del Aceite de pescado.....	33
2.4. Relación de ácidos grasos omega 6 y ácidos grasos omega 3	35
2.5. Mezclas de aceites.....	37
2.6. Propiedades Antioxidantes de los Aceites.....	38
2.7. Cinética del Deterioro de los Alimentos y Predicción de la Vida Útil.....	38
2.7.1. Efecto de la Temperatura.....	39
2.8. Cinética del Deterioro de los Aceites	41
2.8.1. Oxidación de aceites	41
2.8.2. Mecanismo de Oxidación de Lípidos	42
2.8.3. Mecanismo de oxidación de lípidos: tradicional cadena de los radicales libres	43
2.9. Estabilidad Oxidativa	46
2.10. Relación empírica entre el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y la temperatura.....	48
2.11. Relación del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y Energía de Activación de oxidación.....	49
2.12. Métodos para Determinar el Progreso de la Oxidación y Estabilidad Oxidativa de un Aceite.....	51
2.12.1. Valor de Peróxido (VP).....	51
2.12.2. Valor de la Anisidina (AOCS CD 18-90).....	52
2.12.3. Absorbancias de Radiaciones en el Ultravioleta (K 232 Y K 270)	52
2.12.4. Método de oxígeno activo (AOM).....	53
2.12.5. Método Rancimat.....	53
III. MATERIALES Y METODOS	55
3.1. Materiales y Equipos.....	55

3.1.1.	Materia Prima	55
3.1.2.	Reactivos	56
3.1.3.	Materiales de vidrio	57
3.1.4.	Otros Materiales	57
3.1.5.	Equipos.....	58
3.2.	Metodología del análisis	59
3.2.1.	Análisis Físicos y químicos del aceite de pescado, aceite de oliva y sus mezclas	59
3.2.2.	Procedimiento Experimental	63
3.2.3.	Diseño estadístico	64
3.2.4.	Análisis estadístico	64
IV.	RESULTADO Y DISCUSION.....	65
4.1.	Análisis Fisicoquímicos del aceite semi refinado de pescado, aceite de oliva extra virgen y sus mezclas.	65
4.2.	Comportamiento del aceite de pescado, aceite de oliva y respectivas mezclas en la prueba Rancimat.	68
4.3.	Estimación del Tiempo de Vida Útil.	71
4.3.1.	Análisis de Varianza (ANOVA).....	75
4.4.	Determinación de la Energía de Activación	79
4.5.	Caracterización por cromatografía de gases de las mezclas de aceite de pescado y aceite de oliva (M1, M2, M3 y M4)	82
V.	CONCLUSIONES	89
VI.	RECOMENDACIONES	90
V.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA	91
	ANEXO N°01	103
	ANEXO N°02	112
	ANEXO N°03	126
	ANEXO N°04	129
	ANEXO N°05	140

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ácidos mayoritarios en el aceite de oliva.....	23
<i>Figura 2.</i> Diagrama de flujo del proceso de producción de aceite crudo de pescado para consumo humano directo e indirecto.....	32
<i>Figura 3.</i> Mecanismo de oxidación de las grasas donde se muestran las cuatro fases que lo integran.....	44
Figura 4. Principio del Método Rancimat,(2001).....	54
Figura 5. Colorímetro De La Escala Gardner.....	60
Figura 6. Diagrama de flujo del proceso experimental para aceite de pescado, aceite de oliva y mezclas.	63
Figura 7. Gráficos de regresión lineal logaritmo OSI y Temperatura (°C).....	73
Figura 8. Gráfico de medias y 95% de Tukey HSD en Statgraphics Centurion XVI.I. 78	
Figura 9. Concentración de los ácidos grasos presentes en el aceite de pescado	83
Figura 10. Concentración de los ácidos grasos presentes en la Mezcla 1 (50/50) AP/AO	83
Figura 11. Concentración de los ácidos grasos presentes en la Mezcla 2(40/60) AP/AO	84
Figura 12. Concentración de los ácidos grasos presentes en la Mezcla 3 (30/70) AP/AO	84
Figura 13. Concentración de los ácidos grasos presentes en la Mezcla 4 (20/80) AP/AO	85
Figura 14. Concentración de los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva.....	85
Figura 15. Relación de $\omega 6/\omega 3$ presentes en cada muestra, línea a y línea b representada por otros autores	86
Figura 16. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C de Aceite de pescado.....	113
Figura 17. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C de Aceite de pescado.....	114
<i>Figura 18.</i> Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de Aceite de pescado	115
<i>Figura 19.</i> Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C de la muestra 01 AP/AO (50:50).....	116
Figura 20. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C de la muestra 01 AP/AO (50:50)	117

Figura 21. <i>Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de la muestra 01 AP/AO (50:50)</i>	118
Figura 22. <i>Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C de la muestra 02 AP/AO (40:60)</i>	119
Figura 23. <i>Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de la muestra 02 AP/AO (40:60)</i>	120
Figura 24. <i>Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C de la muestra 03 AP/AO (30:70)</i>	121
Figura 25. <i>Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de la muestra 03 AP/AO (30:70)</i>	122
Figura 26. <i>Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C de la muestra 04 AP/AO (20:80)</i>	123
Figura 27. <i>Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C de la muestra 04 AP/AO (20:80)</i>	124
Figura 28. <i>Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de la muestra 04 AP/AO (20:80)</i>	125
Figura 29. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra de aceite de pescado.	134
Figura 30. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra M1 (AP/AO 50/50) ..	135
Figura 31. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra M2 (AP/AO 40/60) ..	136
Figura 32. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra M3 (AP/AO 30/70) ..	137
Figura 33. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra M3 (AP/AO 20/80) ..	138
Figura 34. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra de aceite de oliva	139

INDICE DE TABLAS

	PÁG.
Tabla 1. Características de los aceites de Oliva.....	21
<i>Tabla 2. Resultados de Análisis fisicoquímico del Aceite de oliva extra virgen por diferentes autores.....</i>	<i>25</i>
Tabla 3. Composición en ácidos grasos de aceite de oliva.	27
Tabla 4. Contenido de Ácidos Grasos del Aceite de oliva extra virgen según varios autores.....	28
Tabla 5. Composición de ácidos grasos del aceite semi refinado de pescado.....	34
Tabla 6. Experimento Factorial DBCA con arreglo Factorial de 6x3.	64
Tabla 7. Análisis Fisicoquímicos del Aceite de pescado, Aceite de Oliva y Mezclas respectivas	66
Tabla 8. Índice de estabilidad oxidativa (OSI) de aceite semi refinado de pescado, aceite de oliva extra virgen y mezclas respectivas.	68
Tabla 9. Determinación del Log del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI)	72
Tabla 10. Valores de estimación de la vida útil de OSI a 25°C	74
Tabla 11. Análisis de Varianza (ANOVA) OSI para Mezclas y Temperaturas – Suma de Cuadrados Tipo III.	76
<i>Tabla 12. Pruebas de Múltiple Rangos para OSI por Mezclas</i>	<i>76</i>
Tabla 13. Medias de Muestras y significancia entre ellas.....	77
Tabla 14. Determinación del logaritmo natural del índice de estabilidad oxidativa; Ln(OSI).....	79
Tabla 15. Determinación de la energía de activación.....	80
Tabla 16. Concentración de ácidos grasos presentes en el aceite de pescado, aceite de olivas y mezclas respectivas expresada en (%).	82
Tabla 17. Índices de Estabilidad Oxidativa (OSI) del aceite de pescado, aceite de oliva y mezclas (M1, M2, M3 y M4)	112

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Familias de compuestos presentes en el aceite de oliva virgen	26
--	----

RESUMEN

El aceite de pescado semi refinado es una fuente rica en ácidos grasos EPA y DHA, mientras que el aceite de Oliva presenta un gran contenido en ácido oleico, sin embargo, una relación equilibrada de ω -6/ ω -3 es importante para prevenir enfermedades. Por tal motivo se mezclaron dichos aceites para obtener proporciones de ω -6/ ω -3 adecuadas para el consumo y a la vez que presenten mayor estabilidad oxidativa; el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de las mezcla de aceite de pescado semi refinado (*Engraulis Ringens*) con aceite de oliva (*Olea Europaea*); M1 (50/50), M2 (40/60), M3 (30/70) y M4 (20/80) respectivamente en su estabilidad oxidativa y características fisicoquímicas, El OSI se determinó mediante el Método Rancimat, para ello se utilizaron tres temperaturas 100, 110 y 120°C y flujo de aire de 15 L/h. Se obtuvo valores de 0.160 ± 0.010 h, 0.147 ± 0.009 h y 0.117 ± 0.006 h para aceite semi refinado de pescado; 17.010 ± 0.682 h, 7.537 ± 0.186 h, 3.513 ± 0.058 h para aceite de oliva; 3.410 ± 0.092 h, 1.730 ± 0.046 h, 0.813 ± 0.023 h para la mejor mezcla M4 AP/AO (20/80); a partir de los OSI estimamos la vida útil mediante extrapolación a 25°C, siendo estas: 0.022 ± 0.000 días para el Aceite de pescado, 260.320 ± 25.432 días para el aceite de oliva y 31.274 ± 3.074 días para la mejor mezcla M4 (20/80).

Asimismo, se realizó la evaluación de las características fisicoquímicas tales como: índice de acidez, índice de yodo, índice de peróxido, índice de anisidina. Se caracterizó por cromatografía de gases las muestras de aceite de pescado, aceite de oliva y sus mezclas (M1, M2, M3 y M4), dando como resultados que la mejor mezcla en proporción de omegas fue la M4:20/80 con valores de ω 6/ ω 3 2.245.

ABSTRACT

The semi refined fish oil is a rich source of EPA and DHA fatty acids, while the olive oil has a high oleic acid content, however, a balanced ratio ω - 6 / ω - 3 is important for preventing disease. For this reason , said oils were mixed to obtain proportions of ω - 6 / ω - 3 suitable for consumption and at the same time that they present greater oxidative stability; The objective of this research was to determine the effect of the mixture of semi-refined fish oil (*Engraulis Ringens*) with olive oil (*Olea Europaea*); M1 (50/50), M2 (40/60), M3 (30/70) and M4 (20/80) respectively in their oxidative stability and physicochemical characteristics, OSI was determined by the Rancimat Method , for which three 100, 110 and 120 ° temperatures were used C and air flow of 15 L / h . Values of 0.160 ± 0.010 h, 0.147 ± 0.009 h and 0.117 ± 0.006 h were obtained for semi-refined fish oil; 17.010 ± 0.682 h, 7.537 ± 0.186 h, 3.513 ± 0.058 h for olive oil; 3.410 ± 0.092 h, 1.730 ± 0.046 h, 0.813 ± 0.023 h for the best M4 AP / AO mixture (20/80); from the OSI we estimate the useful life by extrapolation at 25 ° C, these being: 0.022 ± 0.000 days for fish oil, 260 ± 0.320 25432 days for olive oil and 31274 ± 3074 days for the best mix M4 (20/80).

Likewise, the evaluation of the physical and chemical characteristics such as: acidity index, iodine index, peroxide, anisidine value. It characterized by gas chromatography samples fish oil, olive oil and mixtures thereof (M1, M2, M3 and M4), yielding results that the best mixture ratio was omegas m4 with values 20/80 ω 6 / ω 3 2,245.

I. INTRODUCCION

Los procesos de oxidación para aceites y grasas son la principal causa de deterioro de su calidad. Desde el punto de vista industrial es necesario dar protección al aceite de posibles procesos oxidativos que puedan modificar la composición y producir efectos perjudiciales, como por ejemplo la aparición de características organolépticas indeseables, la reducción drástica del de aroma y sabor, o la reducción de s composición en ácidos grasos insaturados y de compuestos antioxidantes de origen natural, que tanto afectan a la vida útil (shelf life) del aceite como a sus propiedades sensoriales y saludables. (*Díaz-Motaña, 2017*). Por esto, es importante buscar nuevas fuentes de aceites de excelente calidad, los cuales presenten estabilidad a la oxidación para poder ser una fuente de aceite alternativa o que al ser mezclados con otros aceites le incrementen la estabilidad oxidativa.

El aceite de pescado tiene un valor nutricional único debido al alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que presenta. Dentro de esta familia, se destacan los ácidos grasos Omega-3 que ejercen numerosos efectos beneficiosos sobre la salud humana. (*Morales-Medina, 2016*). El aceite de oliva no es simplemente un aceite que aporta energía. Es aquel que más se ha visto implicado, junto con otros aspectos de la Dieta Mediterránea, en la prevención de enfermedades cardiovasculares, como la aterogénesis y trombogénesis. Consumir este aceite de manera habitual, contribuye a la funcionabilidad y estructura de las membranas biológicas y a la formación de fosfolípidos de menor grado de insaturación (*De La Torre-Robles, 2015*)

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

- Evaluar el efecto de la mezcla de aceite de pescado (*Engraulis Ringens*) con aceite de oliva (*Olea Europaea*) en su estabilidad oxidativa y características fisicoquímicas.
- Determinar la estabilidad oxidativa a través del método de Rancimat y estimar por extrapolación la vida útil del aceite de pescado, aceite de oliva y sus mezclas, a fin de obtener la mejor mezcla con el mayor tiempo OSI.
- Determinar las características fisicoquímicas del aceite de pescado, aceite de oliva y sus mezclas.
- Determinar la composición de ácidos grasos del aceite de pescado, aceite de oliva y sus mezclas por cromatografía de gases, a fin de establecer la mejor mezcla desde el punto de vista nutricional.

II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1.Lípidos

Los lípidos son un conjunto de biomoléculas cuyas características distintivas son la insolubilidad en agua y la solubilidad en solventes orgánicos —benceno, cloroformo, hexano, entre otros. En su estado sólido son llamados grasas y cuando se encuentran líquidos a temperatura ambiente son llamados aceites; sin embargo, con frecuencia, se usa el término grasas para referirse en general a los lípidos. (*Cabezas-Zábala et al., 2016*)

Los lípidos son un conjunto de moléculas orgánicas que principalmente están constituidas por carbono e hidrógeno y en menor proporción por oxígeno. También se pueden constituir por fósforo, azufre y nitrógeno. Debido a su estructura, son moléculas hidrófobas (insolubles en agua), pero son solubles en disolventes orgánicos como la bencina, el benceno y el cloroformo. Los lípidos cumplen diferentes funciones en los organismos vivientes, entre ellas la de reserva energética (como los triglicéridos), estructural (como los fosfolípidos de las bicapas) y reguladora (como las hormonas esteroideas). (*Domínguez-Alba et al., 2017*)

2.2. Aceite de oliva virgen (AOV)

El AOV es el zumo oleoso de las aceitunas el cual se separa físicamente de los otros componentes del fruto. Es obtenido por procedimientos exclusivamente físicos de elaboración y cuando procede de frutos frescos de buena calidad, sin ningún defecto o alteración, y con una madurez adecuada presenta excepcionales características sensoriales. Es casi el único aceite vegetal que puede ser consumido crudo, sin afectar su composición en ácidos grasos y el contenido en componentes menores, lo cual es de suma importancia en el aspecto nutricional, destacando el contenido en vitaminas liposolubles y polifenoles. (*Pastrana-Moncayo, 2016*)

Dentro de los aceites de oliva, el AOV es el que se obtiene del fruto del olivo únicamente por procesos mecánicos o por otros medios físicos en condiciones, especialmente térmicas que no ocasionen alteraciones al aceite, que no haya tenido más tratamientos que el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado. Por lo tanto, a comparación de los demás aceites vegetales, el AOV al ser consumido crudo, constituye un zumo natural que da lugar a un producto de excepcionales características organolépticas y nutricionales. (*Barbero-López, 2017*)

La acidez contenida, se expresa en gramos de ácido oleico, el cual es el ácido mayoritario, por cada cien gramos de aceite; según la Norma del Consejo Oleícola Internacional (COI), 2016; se clasifica en 3 tipos:

- Aceite de oliva virgen: es aquél que se produce únicamente por extracción mecánica u otros métodos físicos en condiciones, particularmente térmicas, que no generen alteración al aceite, y que no hayan sido sometidos a otro tratamiento que no sea el de lavado, decantación, centrifugación y filtrado. Los aceites de esta categoría se clasifican en cuatro tipos:
 - Aceite de oliva virgen extra: es el aceite cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 0,8 gramos por 100 gramos y sus demás características cumplan con las fijadas en la Norma.
 - Aceite de oliva virgen: es aquel cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 2 gramos por 100 gramos y sus características cumplan con las fijadas en la Norma para esta categoría. *(COI, 2016)*
 - Aceite de oliva virgen corriente: aceite cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 3,3 gramos por 100 gramos y cuyas características correspondan a las fijadas para esta categoría en la Norma. *(COI, 2016)*
 - Aceite de oliva lampante: Aceite de oliva virgen lampante: no es apto para el consumo en la forma en que se obtiene, su acidez libre expresada en ácido oleico es superior a 3,3 gramos por 100 gramos y/o cuyas características organolépticas y demás características corresponden a las fijadas en la Norma. Para que

sea apto para el consumo debe sufrir un proceso de refinación.
(COI, 2016)

- Aceite de oliva refinado: es el que se obtiene de aceites de oliva vírgenes mediante técnicas de refinado pero que no causa cambios en la estructura glicerídica inicial. Además, su acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 0,3 gramos por 100 gramos.
- Aceite de oliva: es aquel constituido por la mezcla de aceite de oliva refinado y de aceites de oliva vírgenes aptos para el consumo en la forma en que se obtienen. Su acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 1 gramos por 100 gramos. (COI, 2016)

Tabla 1. Características de los aceites de Oliva

Categoría	Acidez (%)	Índice de Peróxido (mEqO₂/kg)
Aceite de Oliva Virgen Extra	≤ 0.8	≤ 20
Aceite de Oliva Virgen	≤ 2.0	≤ 20
Aceite de Oliva Lampante	> 2.0	-
Aceite de Oliva Refinado	≤ 0.3	≤ 5
Aceite de Oliva exclusivamente por aceite de oliva refinado y aceite de oliva virgen	≤ 1.0	≤ 15
Aceite de Orujo de Oliva Crudo	-	-
Aceite de oliva Refinado	≤ 0.3	≤ 5
Aceite de orujo de oliva	≤ 1.0	≤ 15

Fuente: Jiménez-Herrera, 2012

Actualmente la producción del aceite de oliva se da en 47 países y en Madagascar y Corea del Sur se están realizando investigaciones, por lo cual es factible que se eleve esta cifra a 49. Debido al clima del resto de países hace que solamente puedan ser productores 54 (*Vilar et al., 2015*). La producción mundial de aceite de oliva en la campaña 2013/2014 ascendió a casi 3,3 millones de toneladas, lo que supuso un aumento de más de 500.000 toneladas (un incremento del 20%) respecto a la campaña anterior, aunque no aumento lo suficiente para alcanzar la cifra de la campaña 2011/2012, que fue la mejor de los últimos cinco años y el récord histórico hasta la fecha. Sin embargo, la producción de aceite de oliva para la campaña 14/15 fue de 2.393 millones de toneladas, lo que supuso un descenso del 23% en relación con la anterior. Según el Comité Oleícola Internacional (*COI, 2016*),

Las propiedades sobre la salud y nutrición han sido constantemente estudiadas, lo cual pone de manifiesta sus importantes beneficios con relación a la prevención y/o reducción de hipercolesterolemia, aterosclerosis, hipertensión, obesidad, diabetes tipo 2, estrés oxidativo, enfermedades inflamatorias, cardiovasculares y cáncer (*Moreno et al, 2015; Parkinson et al, 2016*).

Dichos efectos beneficiosos del aceite de oliva son asociados a su composición, en la cual presenta un elevado porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados con respecto a ácidos grasos saturados, como se observa en la figura 1. Por otro lado, se ha comprobado para el aceite de oliva, dentro de sus compuestos minoritarios también presenta compuestos fenólicos, que contribuyen a sus características protectoras. En conjunto, aportan una importante capacidad antioxidante (*Peyrol et al., 2017*).

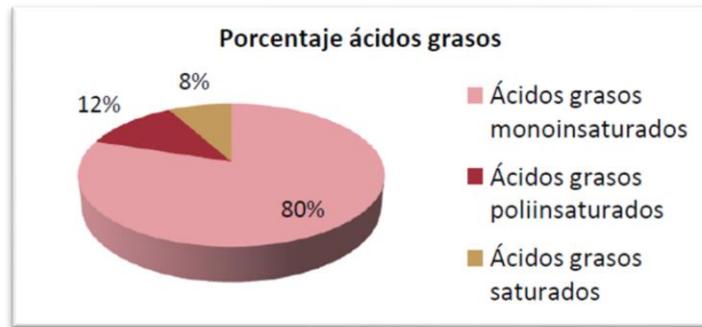


Figura 1. Ácidos mayoritarios en el aceite de oliva.

Fuente: Barbero, 2017

2.2.1. Proceso de obtención del aceite de oliva

Los sistemas de extracción de aceite tradicionales realizaban el proceso cumpliendo tres etapas: molienda, prensado y decantación; en la actualidad con la utilización de nuevas tecnologías se puede dividir en las siguientes etapas (Nores-Sonzini *et al*, 2017):

- **Recolección:** Comienza con la preparación del terreno, recogida de frutos caídos de forma natural, derribo del fruto del árbol y recolección de los mismos. La recogida de la aceituna se puede dar de forma manual (por vareo o por ordeño) o mecanizada (con vibradores). (Olivares-López, 2005. Citado por Nores-Sonzini *et al.*, 2017)
- **Lavado:** Las aceitunas que llegan a las almazaras llevan un porcentaje variable de materias extrañas de diversa índole. Son eliminados con limpiadores que usan el aire para separar los objetos menos pesados que la aceituna y con lavadoras que utilizan el agua con el fin de solubilizar y eliminar los cuerpos

más pesados. (*Barranco et al., 2008. Citado por Nores-Sonzini et al., 2017*)

- Molienda: Luego de que la aceituna es limpiada y lavada, no debe permanecer más de 48 horas sin moler porque podría fermentar. Esta etapa del proceso tiene como objetivo romper la pulpa y con ello las células del parénquima que contienen las vacuolas con minúsculas gotas de aceite, formando una pasta sin emulsionar en el líquido. Se realizan con molinos mecánicos (de martillos, de discos dentados o de cilindros estriados). (*Barranco et al., 2008; Olivares-López, 2005 Citado por Nores-Sonzini et al., 2017*)
- Batido de la pasta: La masa o pasta de aceituna obtenida se bate con objeto de favorecer la salida del aceite. Las gotas de aceite se van aglutinando para formar una fase oleosa más grande y más fácilmente separable de la fase acuosa (alpechín) y de la fase sólida u orujo (piel + pulpa + huesos rotos). La temperatura de batido no debe sobrepasar los 30°C para que no se pierdan los compuestos aromáticos y no se aceleren los procesos de oxidación. (*Olivares-López, 2005. Citado por Nores-Sonzini et al., 2017*)
- Separación/ Extracción: Consiste en la separación de las fases sólidas y líquidas de la pasta batida. Este proceso puede realizarse mediante presión o centrifugación, obteniéndose una fase sólida constituida por los restos de pulpa, huesos y piel, y una emulsión oleosa que contiene el aceite y el alpechín. Actualmente se utiliza

la extracción continua por centrifugación; la pasta, se centrifuga sin añadir químicos, ni calor, gracias a las distintas densidades de los líquidos. (Martínez et al., 2005 citado por Nores-Sonzini et al., 2017)

- Almacenamiento: Los depósitos de aceite son construidos por materiales totalmente impermeables y resistentes para que este no penetre ni reaccione con su superficie, ya que el aceite absorbido que no pueda retirarse con la limpieza se altera. La bodega debe mantenerse a una temperatura casi constante, alrededor de los 15 a 18°C, evitando cambios térmicos. En la actualidad los depósitos que mejor cumplen todas estas condiciones son los llamados “trujales” o “depósitos subterráneos tradicionales”. (Barranco et al., 2008. Citado por Nores-Sonzini et al., 2017)

Tabla 2. Resultados de Análisis fisicoquímico del Aceite de oliva extra virgen por diferentes autores.

Autor	Índice de Acidez (%oleico)	Índice de Peróxido (meqO ₂ /kg)	Humedad (%)
Haddam et al., 2014	0.46±0.02	3.20±0.1	0.15±0.2
COI, 2008	≤0.8	≤20	≤0.2
F. Mansouri et al, 2015	0.29±0.04	10.89±1.13	-
Jimenez, 2012	0.32±0.018	6.57±0.39	-
Pastrana-Moncayo, 2017	0.5±0.3	4.5±1.8	-
Ruiz-Pineda, 2016	0.49±0.019	19.33±0.46	-

2.2.2. Composición del Aceite de oliva

Desde el punto de vista químico, los compuestos del aceite de oliva pueden dividirse en una fracción saponificable, siendo la parte propiamente grasa, y otra fracción muy pequeña respecto al peso total del aceite, (entre el 1 y el 2%), llamada fracción insaponificable, de gran valor con respecto a los componentes saludables que contiene. (Pastrana-Moncayo, 2016). Los componentes minoritarios que conforman la fracción insaponificable del aceite de oliva intervienen como indicadores de autenticidad y aportan características sensoriales y biológicas (Barjol, 2013).

Cuadro 1. Familias de compuestos presentes en el aceite de oliva virgen

Fracción glicérida y derivados (98%)	Compuestos minoritarios (2%)
Triglicéridos	Esteroles y terpenos
Monoglicéridos	Alcoholes alifáticos
Diglicéridos	Esteres no glicéridos
Fosfátidos	Hidrocarburos
Ácidos grasos libres	Compuestos volátiles
	Ceras
	Tocoferoles
	Pigmentos
	Fenoles

Fuente: (Casanovas-Castro, 2012)

De entre los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva la expresión de los resultados y su posterior discusión se van a centrar de forma específica en los mayoritarios: ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoléico (C16:1), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2) y ácido linolénico (C18:3) ya que constituyen el 99% del total así como los índices relacionados con la composición en ácidos grasos del aceite de oliva: Monoinsaturados, Poliinsaturados y Monoinsaturados/ Poliinsaturados. (*Paucar-Menacho et al., 2015*)

Tabla 3. *Composición en ácidos grasos de aceite de oliva.*

Ácidos grasos	Aceite de oliva
Mirístico	0.01 ± 0.00b
Palmítico	18.41 ± 0.01 ^a
Palmitoleico	1.51 ± 0.00b
Esteárico	2.27 ± 0.00b
Oleico	56.82 ± 0.00a
Linoleico	19.96 ± 0.01b
Linolénico	1.03 ± 0.03b
Eicosapentaenoico	0.00 ± 0.00b
Docosahexaenoico	0.00 ± 0.00b
Omega -3	1,03 ± 0.03c
Omega – 6	19.96 ± 0.01b
Omega-6/Omega-3	19.37 ± 0.02 ^a
Ácido graso saturado	20.69
Ácido graso monoinsaturado	58.33
Ácido graso poliinsaturado	20.98
PUFA/SFA	3.83

Fuente: *Paucar-Menacho et al., 2015*

Tabla 4. Contenido de Ácidos Grasos del Aceite de oliva extra virgen según varios autores

Autor	Mirístico	Palmítico	Palmitoleico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico	Araquídico	EPA	DHA
Haddam et al., 2014	0.00	17.9±0.1	2.1±0.1	1.7±0.1	61.2±0.1	15.6±0.1	0.5±0.1	0.2±0.1	-	-
F. Mansouri et al, 2015	0.02±0.00	16.42±0.01	1.71±0.01	1.88±0.01	65.67±0.02	12.54±0.02	0.56±0.00	0.40±0.01	-	-
Ruiz-Pineda, 2016	0.00	12.13	1.27	2.72	73.52	8.14	0.66	0.42		
Essiari et al, 2014	0.00	16.20	1.69	1.60	64.37	13.12	0.72	0.2	-	-
Ollivier et al., 2014	0.00	14.58	1.07	2.6	64.30	13.38	0.59	0.44	-	-
Pastrana-Moncayo, 2017	0.00	16.2±3.1	1.5±0.6	2.0±0.5	65.6±6.1	13.1±3.2	0.2±0.2	0.5±0.2	-	-
COI,2015	≤0.03	7.5-20.00	0.3-3.5	0.5-5.0	55.0-83.0	3.5-21.0	≤1.00	≤0.6	-	-

2.3. Aceite de pescado

El aceite de pescado de anchoveta se vende principalmente al mercado de los alimentos destinados para la acuicultura en Europa y Chile. Es rico en ácidos grasos omega-3 de cadena larga EPA y DHA lo cual lo hace atractivo para el consumo humano directo en los rápidamente crecientes mercados de suplementos y alimentos funcionales (*International Fishmeal and Fish Oil Organisation-IFFO, 2018*)

El aumento de interés a nivel mundial del gran valor de los ácidos grasos omega-3 EPA y DHA en la nutrición humana para un rango amplio de funciones clave, incluyendo los sistemas cardiovasculares e inmunitario, así como también funciones cerebrales, está surgiendo en una demanda creciente de aceite de pescado para consumo humano directo. El aceite de pescado es hoy en día la fuente disponible más rica de ácidos grasos de cadena larga altamente insaturados EPA y DHA y el aceite de anchoveta peruana el cual establece uno de los contenidos más elevados de estos ácidos grasos entre todos los aceites de pescado. Ello quiere decir que la búsqueda de aceite está en aumento para su inclusión no sólo para cápsulas de consumo humano directo sino también para alimentos funcionales. Sin embargo, a pesar de este mercado en aumento, la mayoría del aceite de anchoveta es destinado a la inclusión en nutrición acuícola garantizando así la salud de los peces e impartiendo valiosas propiedades promotoras de la salud en los productos finales. (*International Fishmeal and Fish Oil Organisation-IFFO, 2018*)

2.3.1. Usos de aceite de pescado

El aceite de pescados está designado a la industria nutracéutica y farmacéutica esto se debe primordialmente al alto contenido de omega 3, DHA, EPA y ácidos grasos la cual se usa para la elaboración de suplementos nutricionales. Asimismo, su uso se orienta en la acuicultura y la industria de alimentos para mascotas. Por lo tanto, el aceite de pescado es producido para fines de: consumo humano directo, indirecto y omega 3. (*Canales-Flores et al., 2107*)

Debido a esta causa los pellets que se elaboran para estos animales deben tener un elevado contenido de harina y aceite de pescado. Esta actividad consume el 76% de la producción de aceite de pescado, demanda que es cada vez más ascendente. La industria farmacéutica y nutracéutica representa un porcentaje importante de la demanda actual, donde se utiliza para la preparación de cápsulas, concentrados de omega-3, emulsiones y otras formas consumibles. (*Valenzuela et al., 2012*).

2.3.2. Proceso de producción de aceite de pescado

En la planta de procesamiento, los ahora pescados, son llevados en un transportador helicoidal, de cual sale triturado, hacia la etapa de cocción con vapor en un “cooker” (según la terminología industrial) a 120-140°C, durante 2 o 3 horas y luego prensados en grandes prensas metálicas, obteniéndose así un sólido que luego se seca en túneles de calor a 50-

60°C, hasta 8% de humedad y se lleva a la envasadora obteniendo harina en sacos de polietileno; el líquido de prensa se procesa en un “decanter” (un tipo de separador centrífugo) para separar el aceite de pescado, el cual finalmente se centrifuga a alta velocidad con el fin de quitar restos de agua y luego se almacena en grandes tanques para su comercialización. Del “decanter” también se separa una “agua de cola” que luego se concentra por evaporación para recuperar proteínas solubles que se integran a la harina que entra al secador. Después de ciertas etapas de refinación en la cual se le eliminan componentes no deseados, pigmentos, residuos de extracción, entre otros el aceite puede comercializarse a varios rubros: alimentación animal, alimentación humana (en este caso el aceite es refinado, hidrogenado, interesterificado y desodorizado) y más recientemente a la industria farmacéutica, nutracéutica y de suplementos alimentarios como aceites, ésteres etílicos de los ácidos grasos y glicéridos parciales (mezclas de mono y diglicéridos). (*Valenzuela et al., 2012*)

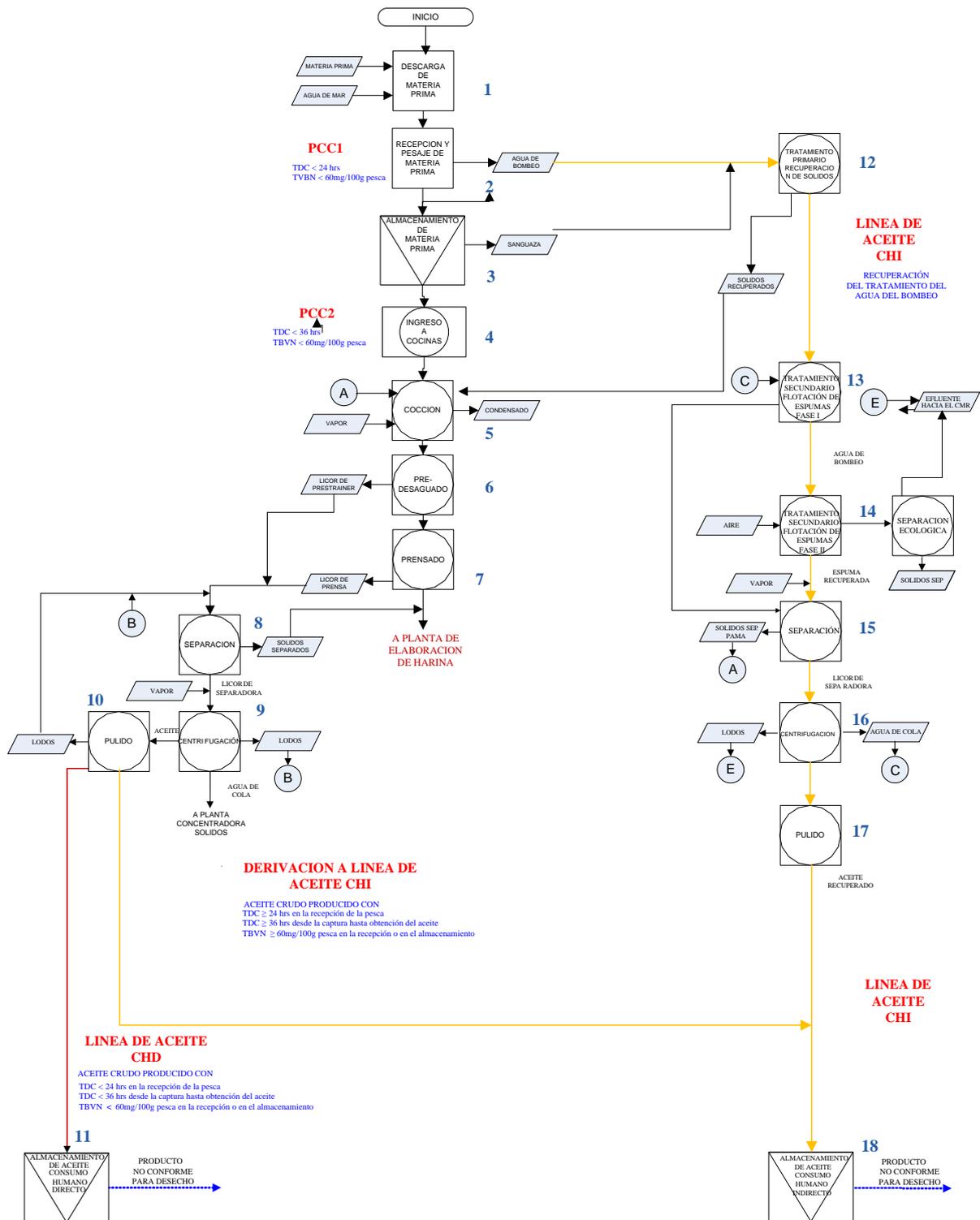


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de producción de aceite crudo de pescado para consumo humano directo e indirecto

Fuente: Manual HACCP – COPEINCA S.A.C, 2017.

2.3.3. Semi refinado del Aceite de pescado

El semi refinado consta de tratar el aceite con una solución acuosa alcalina para eliminar los ácidos grasos libres en forma de jabones y ayudar a la coagulación de los mucilagos presentes. El método de semi refinado de procedimiento por medios químicos; consiste normalmente en el bombeo del aceite al interior de un reactor y la adición seguidamente de una cantidad predeterminada de una solución alcalina, agitando inmediatamente la mezcla, para procurar un íntimo contacto entre el aceite y la fase acuosa. La mezcla suele dejarse en reposo durante la noche. Al cabo de este tiempo se forma un precipitado jabonoso y se aclaran las capas superiores. El aceite, clarificado de esta forma, se lava con agua caliente para eliminar posibles residuos jabonosos. (*Robalino-Jaime, 2009*)

Tabla 5. Composición de ácidos grasos del aceite semi refinado de pescado.

Autor	Mirístico	Palmítico	Palmitoleico	Estearico	Oleico	Linoleico	Linolénico	Araquídico	EPA	DHA
Cert-Trujillo, 2017	8.3±0.1	19.3±0.3	12.1±0.2	3.6±0.1	10.3±0.2	1.7±0.0	1.8±0.1	-	16.5±0.3	18.2±0.3
Esquivel-Paredes et al., 2017	7.0 ± 0.1	17.8 ± 0.2	7.6 ± 0.1	-	2.7 ± 0.04	1.3 ± 0.01	0.9 ± 0.00	0.4 ± 0.00	15.3 ± 0.2	13.2 ± 0.2
Cedrés et al., 2013	-	-	-	2.58	-	1.10	-	0.62	7.18	16.47
Robalino-Jaime, 2009	4.06	16.93	7.44	3.46	15.96	-	5.03	-	6.29	19.85

2.4. Relación de ácidos grasos omega 6 y ácidos grasos omega 3

En base a consideraciones sobre la saludable dieta de nuestros ancestros, muy rica en AG n-3 y relativamente pobre en AGP n-6, el progresivo aumento en la ingesta de n-6 en la dieta occidental y la competición entre estos ácidos grasos para la vía metabólica de los eicosanoides, con generación de compuestos presuntamente pro-inflamatorios si prevalece la disponibilidad del LA sobre el ALA, se propugnó limitar la ingesta de n-6 derivado de semillas, aceites y sus derivados y aumentar la de n-3 de fuentes vegetales y pescado para obtener un cociente n-6/n-3 inferior a 5:1 en la dieta habitual (la proporción común en la dieta occidental, aunque no en la española, oscila entre 7:1 y más de 10:1). (*Ros et al., 2015*)

Actualmente la alimentación de nuestra sociedad tiende a ocasionar carencia de omega 3 y una disponibilidad bastante superior de omega 6. Es por esto que la preocupación principal se centra en la ingesta del Omega 3. El consumo de alimentos ricos en los Omega 3 aparta del organismo a los Omega 6, con lo que tiene acción terapéutica propia de la omega 3. (*Chateauneuf, 2015*)

Los lípidos polinsaturados omega-6 y omega-3 constituyen componentes esenciales de la dieta. Los patrones dietéticos con elevado consumo en omega-6 se han asociado con un mayor riesgo de cáncer de mama. La ingesta de omega-3 parece tener un efecto protector al estar involucrado en mecanismos biológicos que favorecen la inhibición de la carcinogénesis mamaria. Los ácidos grasos omega-6 pueden actuar como inhibidores competitivos de los omega-3 en el metabolismo lipídico y, de esta forma, podrían inhibir los efectos

antiinflamatorios y citoprotectores de los omega-3. Dicha hipótesis indicaría la importancia de mantener una razón n-3/n-6 adecuada para la prevención del cáncer de mama. Este hecho contrasta con el elevado consumo de ácidos grasos polinsaturados omega-6 en los países occidentales. Una de las funciones más importantes de los ácidos grasos polinsaturados omega-3 y omega-6 es la producción de eicosanoides. Estos son compuestos formados por 20 átomos de carbono con una vida media corta, son biológicamente potentes y poseen múltiples funciones, entre las que se encuentran la modulación de la respuesta inflamatoria e inmune, el crecimiento celular, la diferenciación celular y la agregación plaquetaria. (Guirado, 2015).

Los ácidos grasos omega-3 (AG n- 3) y sus propiedades Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI) de la familia omega-3, n-3 o ω -3, son de gran importancia para la función neuronal. Ellos y los AGPIs de la familia omega-6 son los componentes de las membranas plasmáticas y participan en la modulación de procesos importantes tales como de la transmisión de señales, la inflamación, la inmunidad y el estrés oxidativo. El tipo de AG que ingerimos en nuestra dieta habitual ejerce intensa influencia sobre el perfil lipídico de las membranas celulares. Así, la proporción de los diferentes tipos de ácidos grasos en la membrana celular se cambia rápidamente en dependencia de la grasa de la dieta ingerida. Los ácidos grasos ω -3 y ω -6 se localizan en la posición sn-2 de los fosfolípidos de la membrana celular y pueden influir en su estructura y función.

El AGPI ω -3 esencial es el ácido alfa-linolénico (ALA), que se encuentra en los vegetales. La conversión de ALA en sus metabolitos más activos, tales como los

AGPIs eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), es muy baja. Las fuentes dietéticas de EPA y DHA son las algas y peces marinos de aguas profundas y frías. (Garla, 2014)

2.5. Mezclas de aceites

Además del uso en la producción de mantecas y margarinas, el aceite de pescado comenzó a darse uso en la manufactura de aceites comestibles. Fracciones de aceite de pescado, hidrogenadas selectivamente y adecuadamente desodorizadas, se mezclaban con diferentes proporciones de aceite vegetal (soya, maravilla, entre otros) para preparar aceites comestibles de bajo costo que fueron conocidos en aquella época en Chile y Perú como “combinados”, los que se expendían a granel en tambores y en envases pequeños. (Valenzuela et al., 2012)

(Cortez y Sánchez, 2017), mezclaron aceite de Chía el cual contiene una gran cantidad de ácido graso ω -3 y el aceite de Ajonjolí con una gran cantidad de ácido graso ω -6, pero en proporciones no recomendadas para el consumo humano. Realizaron caracterización por cromatografía de gases de los aceites por separado para realizar la correcta mezcla de aceites según la cantidad de ácidos grasos, obteniendo proporciones ω -6/ ω -3: 4:1; 6:1; 8:1; 10:1. donde las relaciones ω -6/ ω -3 están dentro de los recomendados por la FAO, 2012.

(Ract et al., 2015), mezclaron aceites de girasol y canola en 85:15 peso/peso para obtener una relación ω -9/ ω -3 aproximadamente de 0,62y una relación ω -6/ ω -3 de aproximadamente de 1,24, mezclando aceite de Canola y Linaza en

70:30 peso/peso, donde usaron mezclas de aceite para la cicatrización de heridas mediante reacción de interestificación enzimática, la primera mezcla fue empleada para un proceso antiinflamatorio empleado en los 3 primeros días y la segunda mezcla fue empleada para un proceso proinflamatorio, es decir, regeneración de la herida, obteniendo grandes resultados en la disminución del área de la herida y cicatrización empleado en 11 días

2.6. Propiedades Antioxidantes de los Aceites

El estrés oxidativo se manifiesta cuando el balance entre la producción de radicales libres y la defensa antioxidante del organismo se altera. Los sistemas de defensa del organismo (las enzimas catalasa, superóxido dismutasa o glutatión peroxidasa), así como un adecuado aporte de antioxidantes a través de la dieta, protegen a las células del ataque de los radicales libre. Los aceites vegetales contienen una gran variedad de compuestos antioxidantes, entre los que se encuentran los polifenoles y los tocoferoles, como ya se han comentado anteriormente. Ya que las propiedades antioxidantes están relacionadas con el efecto beneficioso de los alimentos en la prevención y tratamiento de multitud de patologías (*Ruiz-Roca et al., 2011*).

2.7. Cinética del Deterioro de los Alimentos y Predicción de la Vida Útil

Las pruebas aceleradas se han usado de forma abundante para observar la estabilidad de los aceites vegetales, con el fin de predecir con un cierto margen de incertidumbre, la estabilidad o pérdida de calidad de un alimento. Al incrementar la temperatura de almacenamiento el nivel de oxidación crece, de tal

modo que la totalidad de la prueba se puede realizar en un lapso más corto. La velocidad de las reacciones que se producen permite estimar la vida útil del alimento en función de las características de calidad evaluadas. (Nolazco-Cama et al, 2015)

La cinética de deterioro de los alimentos se puede expresar matemáticamente por medio de ecuaciones de relación. Aplicando los principios fundamentales de la cinética química, la alteración en la calidad de los alimentos pueden, en general, expresarse como una función de la composición de los mismos y de los factores ambientales, (Casp et al (1999) citado en Villanueva et al, 2013):

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

Donde C_i , son factores de composición, tales como composición de algunos compuestos de reacción, enzimas, pH, actividad de agua, así como población microbiana y E_j son factores ambientales tales como temperatura, humedad relativa, presión total y parcial de diferentes gases, luz, etc. La mayoría de las reacciones estudiadas en los alimentos, se han caracterizado como de orden cero o de primer orden., (Casp et al (1999) citado en Villanueva et al, 2013):

2.7.1. Efecto de la Temperatura

Las reacciones químicas son acompañadas por efectos de calor y si éstos son bastante grandes, permiten originar un cambio significativo en la temperatura de la reacción, por tanto, estos efectos deben ser también

tomados en cuenta. (Heldman y Lund, 1992) Generalmente la constante de velocidad de reacción acrecienta con un aumento de la temperatura. (*Casp et al (1999) citado en Villanueva et al, 2013*).

La temperatura, aparte de afectar fuertemente a las constantes de velocidad de las reacciones, es el único factor que, la mayoría de las veces, le es impuesto externamente al alimento y no puede ser controlado por un envase apropiado. (*Piedrahita-Correa, 2015*)

La influencia de la temperatura sobre la constante de velocidad de reacción en un proceso elemental, se puede describir usando la ecuación desarrollada por Svante Arrhenius, en 1889. (*Piedrahita-Correa, 2015*)

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

Donde, k_0 es el factor pre exponencial o factor de colisión (s⁻¹), Ea es la energía de activación (kJ.mol⁻¹), R es la constante de los gases ideales (kJ.mol⁻¹.K⁻¹) y T es la temperatura absoluta (K) (*Piedrahita-Correa, 2015*)

Al aplicarse logaritmo a la ecuación anterior se tiene:

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

Donde existe una relación lineal entre el logaritmo de la constante de velocidad y la inversa de la temperatura absoluta. La pendiente será el cociente de la energía de activación y la constante de los gases perfectos. (*Piedrahita-Correa, 2015*)

2.8. Cinética del Deterioro de los Aceites

Las reacciones de oxidación que se dan en los alimentos pueden ocasionar la degradación de compuestos funcionales y nutricionales, y pueden dar paso a que surjan compuestos tóxicos y propiedades sensoriales desagradables que van a hacer que los productos, en este caso el aceite deje de ser de gran interés y atracción para el consumidor. Éstas son originadas por los llamados radicales libres que originan una serie de reacciones en cascada que finaliza con la formación de compuestos volátiles y no volátiles causantes de los olores y sabores característicos de un producto rancio. *(Piedrahita-Correa, 2015)*

El procedimiento de oxidación es conducido por reacciones de radicales que implican las estructuras de ácidos grasos insaturados. Durante una fase de inducción inicial no se forman prácticamente ningún producto secundario. Esto es seguido abruptamente por una fase de oxidación que se caracteriza por un rápido incremento en el índice de peróxidos y la formación de productos volátiles, los cuales, según la base del método, consisten en ácido fórmico. *(Focke et al., 2016)*

2.8.1. Oxidación de aceites

Principalmente el motivo que causa la modificación de los alimentos grasos es la rancidez, la cual aparece a causa de procesos oxidativos tales como la termo-oxidación, foto-oxidación o auto-oxidación, siendo este último proceso el de mayor importancia en el deterioro de estos alimentos. La oxidación lipídica es uno de los dilemas que más dañan a la calidad y

perjudican las propiedades del aceite, la sufren tanto sus componentes químicos mayoritarios como minoritarios, y originan alteraciones de sus propiedades sensoriales y nutricionales. (*Díaz-Montaña, 2017*)

La velocidad de oxidación de los lípidos depende de diferentes factores entre los que comprenden la temperatura, la presencia de inhibidores o catalizadores y la naturaleza o composición de la grasa o aceite. Estos factores son de gran importancia para definir el tipo de oxidación sufrida por el lípido. Dependiendo del tipo de oxígeno involucrado, las reacciones de degradación lipídica pueden clasificarse en reacciones de auto-oxidación, cuando se dan en presencia de oxígeno triplete ($3O_2$) y oxidación foto-sensibilizada cuando ocurren por acción de oxígeno singlete ($1O_2$). (*Piedrahita-Correa, 2015*)

2.8.2. Mecanismo de Oxidación de Lípidos

Se da durante la elaboración del aceite y el almacenamiento e incluye los procesos de autooxidación y foto-oxidación. La oxidación lipídica se da a través de la interacción de los ácidos grasos de los triacilglicerolos con oxígeno molecular dando lugar a la formación de hidroperóxidos por un mecanismo de radicales libres. La existencia de trazas de metales de transición o la exposición a la luz pueden catalizar la descomposición de los hidroperóxidos, que son los productos de oxidación primaria, produciendo compuestos volátiles y no volátiles. Ciertos de estos compuestos volátiles,

principalmente aldehídos, son los encargados del defecto sensorial rancio (*Garrido-Delgado et al., 2015; Kotsiou et al, 2015*)

La oxidación lipídica es una de las modificaciones más importantes de los alimentos porque puede ocurrir en cualquiera de las etapas de su elaboración, procesado y conservación; y perjudica a la calidad y seguridad de los alimentos. Los efectos desfavorables para la salud que se atribuyen a los compuestos de oxidación lipídica están peculiarmente vinculado con el inicio y desarrollo de procesos crónicos y degenerativos como las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. (*Márquez, 2013*)

Los fenómenos de peroxidación lipídica se basan en una serie de reacciones en cadena las cuales se dividen en tres etapas principales: Iniciación, propagación y terminación. El grado de las alteraciones sufridos por los lípidos durante este proceso depende de sus características fisicoquímicas; principalmente de su grado de insaturación, y de la presencia de factores promotores de oxidación de los cuales sobresalen la exposición al oxígeno y la luz, así como también la presencia de iones metálicos y temperaturas elevadas. (*Roman et al., 2013*)

2.8.3. Mecanismo de oxidación de lípidos: tradicional cadena de los radicales libres

El proceso de auto-oxidación se inicia a través de una serie de reacciones en cadena, que tienen lugar a través de radicales libres, generando una variada gama de nuevos componentes que se distinguen en sus pesos moleculares

tanto como en sus polaridades (Figura 9). El principal sustrato de la oxidación son los ácidos grasos insaturados y el oxígeno. El mecanismo consiste en cuatro fases: iniciación, propagación, ramificación y terminación. Hay varios sistemas catalíticos que estimulan la oxidación de los lípidos; estos son luz, temperatura, enzimas, metales, metaloproteínas, pigmentos y microorganismos. (Morales et al, 2013)

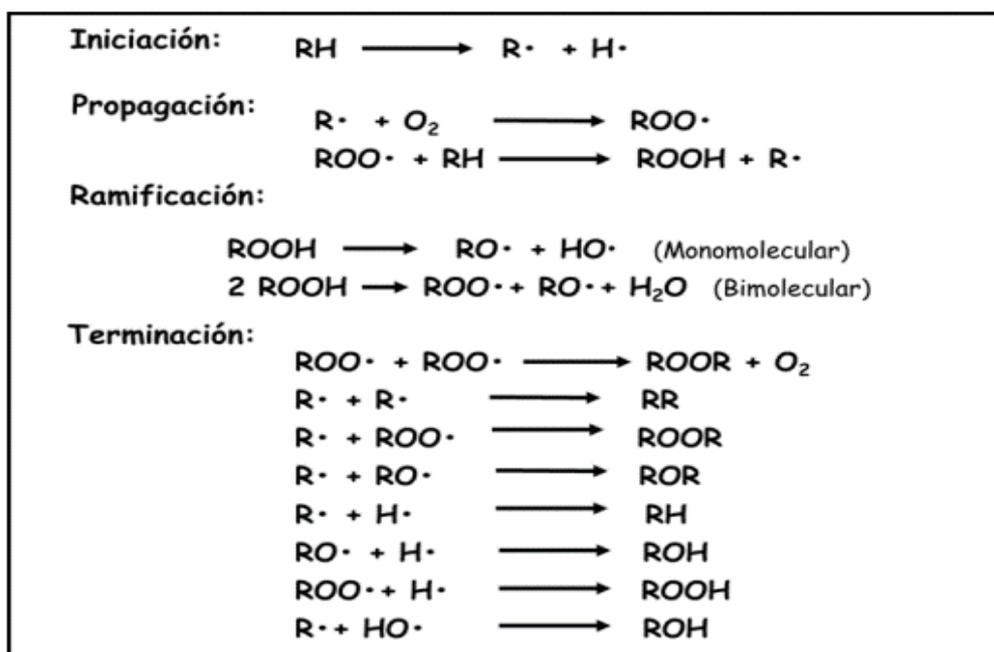


Figura 3. Mecanismo de oxidación de las grasas donde se muestran las cuatro fases que lo integran.

Fuente: (Morales et al., 2013)

2.8.3.1. Iniciación

La oxidación de lípidos siempre requiere de un iniciador o catalizador para quitar un electrón ya sea del lípido o del oxígeno, para la creación de radicales, o para cambiar el espín del electrón del oxígeno de manera que se puede añadir directamente al doble enlace para formar hidroperóxidos que se descomponen a radicales. Cualquiera que sea el iniciador, el resultado final es la formación de radicales alquilo de lípidos iniciales

que reaccionan con el oxígeno para iniciar el proceso de oxidación. (Schaich et al., 2013)

2.8.3.2. Propagación y ramificación

La propagación es la adición sucesiva de moléculas de monómero al centro activo al final de la cadena radical. Cada adición genera un nuevo radical que tiene las mismas características que el preexistente, salvo que contiene una unidad monomérica más. Para la síntesis de un polímero de alta masa molar, la etapa de propagación debe ocurrir a una velocidad de reacción suficiente elevada en comparación con las otras reacciones elementales. Sin embargo, varios factores pueden impedir la propagación para formar el polímero de alta masa molar, como son la polaridad, la resonancia, y factores estéricos. (Moad, 2013)

Paralelamente se produce la ramificación, que consta de la descomposición de hidroperóxidos y se produce de forma monomolecular o bimolecular, incrementando la concentración de radicales libres. La descomposición bimolecular es más probable ya que requiere menor energía de activación. Esto origina que el proceso de oxidación llegue a ser autoinducido, y que tenga lugar autocatálisis. La susceptibilidad de los ácidos grasos insaturados a la oxidación depende de su facilidad en donar un átomo de hidrógeno. Los hidroperóxidos que se forman no presentan estabilidad y se descomponen para producir un conjunto de productos no volátiles y volátiles. Entre estos productos están también radicales, que pueden estimular el proceso de oxidación.

Se ha comprobado que los productos volátiles y no volátiles que se forman son inestables y pueden ser oxidados y/o descomponerse produciendo un amplio grupo de nuevos productos. (Díaz, 2017)

2.8.3.3. Terminación del proceso

En la oxidación de lípidos, la «interrupción» es casi un nombre inapropiado ya que la oxidación de lípidos no se detiene por completo. Un radical específico puede cerrarse y formar algún producto, pero por lo general no es otro radical dejado atrás, por lo que la reacción en cadena

continúa. La oxidación neta se retrasa cuando los procesos de inactivación de radicales exceden la tarifa de la nueva producción de la cadena, y el impulso de oxidación cambia de propagación de radicales y expansión de la cadena a generación de productos estables. Por lo tanto, la «interrupción» en el análisis siguiente se refiere a la conversión individual de un radical lipídico a un producto, y no a detener la reacción global. El efecto acumulativo en un sistema alimentario se determina por el número de cadenas de radicales cuando el proceso ha terminado (Schaich et al., 2013)

2.9. Estabilidad Oxidativa

La estabilidad oxidativa hace referencia a la resistencia de los lípidos a la oxidación; puede ser expresada como el periodo de tiempo requerido para alcanzar un punto crítico de oxidación. Este parámetro sirve como indicador

del comportamiento y vida útil de los lípidos, y depende de la composición del aceite, de las condiciones de procesamiento y almacenamiento, la temperatura, la concentración y tipo de oxígeno, la presencia de metales y de antioxidantes, entre otros (*Guillén et al, 2002*). La determinación de este parámetro es de gran importancia para la industria de los alimentos, pues a partir de los resultados obtenidos, es posible optimizar y controlar el proceso de producción para garantizar la obtención de un aceite de elevada calidad (*García-Solaesa et al., 2013*).

En las etapas iniciales la velocidad de aparición de hidroperóxidos es baja, más aún en presencia de antioxidantes, que atrapan de manera eficiente la mayoría de radicales formados; consecuentemente la concentración de estos compuestos en el aceite permanece baja hasta que la mayoría de los antioxidantes presentes son consumidos; una vez esto sucede las tasas de reacción aumentan de manera exponencial hasta que no quedan más sustratos oxidables. (*Pinchuk et al, 2014*)

En alimentos con un elevado contenido de lípidos la estabilidad oxidativa, medida a través de la aparición de productos de oxidación constituye un índice cuantificable de pérdida de calidad que puede prestarse para monitorear la vida útil de los aceites durante el almacenamiento (*Kozak et al., 2013*).

En términos de estabilidad, el aceite de oliva es conocido por su resistencia a los distintos mecanismos de la oxidación, lo cual está fuertemente ligado a su bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados y a la elevada presencia de antioxidantes naturales, principalmente los ortodifenoles, los polifenoles

y los tocoferoles, que obstaculizan la acción de los radicales libres del oxígeno y preservan la estabilidad del aceite durante su conservación. (Haddam et al, 2014)

2.10. Relación empírica entre el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y la temperatura

Se estableció una relación matemática entre los valores de OSI y la temperatura utilizada en el equipo Rancimat, tal como lo han señalado para aceites vegetales. (Nakatani et al., 2001 citado por Villanueva et al., 2103)

En la ecuación empírica (17), el termino A representa el coeficiente de temperatura, que indica que tan susceptible es el aceite virgen al aumento de la temperatura durante el ensayo de oxidación acelerada, dicho valor es calculado a partir de la pendiente de las rectas que se obtienen al representar el logaritmo decimal de OSI en función a la temperatura. El termino B corresponde a un valor empírico sin significación física. (Nakatani et al., 2001 citado por Villanueva et al., 2103)

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

La ecuación empírica (17) puede utilizarse para calcular los valores de OSI a temperaturas distintas a aquellas utilizadas en la oxidación acelerada, para lo cual se aplican procedimientos matemáticos de interpolación o extrapolación; en este último caso se extrapolaría a las

temperaturas usuales de almacenamiento de los aceites. (*Nakatani et al., 2001 citado por Villanueva et al., 2103*)

No obstante, con el propósito de evaluar la capacidad predictiva de la ecuación empírica, se calcularon los valores de OSI para una temperatura de

También se aplicó el cálculo del error asociado al valor extrapolado aplicando el método de propagación de errores. En primer lugar, se hizo la transformación de la ecuación empírica (17) para obtener la ecuación (18) (*Nakatani et al., 2001 citado por Villanueva et al., 2103*):

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

Para obtener el error de la extrapolación se usó la ecuación diferencial (19) en la cual el diferencial total viene dado por la suma de las derivadas parciales de cada uno de los términos (*Nakatani et al., 2001 citado por Villanueva et al., 2103*):

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

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

Se determinó a partir de la pendiente de la recta que resulta de representar el logaritmo natural de los valores de OSI contra el inverso de la temperatura absoluta. En este caso, R representa la constante universal de

los gases y Z es el factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius.
(Villanueva et al, 2013)

La dependencia de los valores de OSI con respecto a la temperatura termodinámica fue utilizada para la determinación de la energía de activación de las reacciones de oxidación en los aceites vegetales vírgenes estudiados. La adición de los radicales de oxígeno a los ácidos grasos se produce preferentemente en los dobles enlaces entre los átomos de carbono, siguiendo cinéticas de primer orden. (Villanueva et al, 2013)

Según estos autores se puede hacer uso de la ecuación:

$$\alpha = \frac{x}{a_0 - x} \quad (20)$$

Donde α , representa el grado de transformación de las moléculas, a_0 presencia de instauraciones iniciales y x la formación de los productos secundarios de la oxidación. (Villanueva et al, 2013)

Integrando la ecuación (20)

$$\int_{\alpha=\alpha_0}^{\alpha=\alpha^*} \frac{d\alpha}{1-\alpha} = \int_{t=t_0}^{t=t^*} dt \quad (21)$$

Donde α^* representa el grado de transformación para un tiempo t^* o periodo de inducción, Resolviendo la integral (21) se obtiene la ecuación (22) (Villanueva et al, 2013)

$$-\ln(1 - \alpha^*) = Kt \quad (22)$$

Definiendo t^* como OSI y despejando se obtiene la ecuación (23):

$$OSI = \frac{-\ln(1-\alpha^*)}{K} \quad (23)$$

Se establece la relación entre la constante de velocidad y la temperatura termodinámica (T) haciendo uso de la ecuación de Arrhenius (24).

(Villanueva et al, 2013)

$$K = Z e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (24)$$

Sustituyendo (23) en (24) y aplicando logaritmo se obtiene la ecuación

(25):

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (25)$$

2.12. Métodos para Determinar el Progreso de la Oxidación y Estabilidad Oxidativa de un Aceite

2.12.1. Valor de Peróxido (VP)

Determina el estado de oxidación primaria de un aceite antes de que se aprecie el olor y sabor a rancio. Las grasas se oxidan al entrar en contacto con el oxígeno del aire. Cuando una grasa comienza a oxidarse se forman diversos compuestos; entre ellos, se encuentran

los peróxidos, que se consideran los primeros productos de la oxidación.

Este índice también indica el deterioro que pueden haber sufrido ciertos de componentes de interés nutricional como es la vitamina E; y se mide en miliequivalentes (mEq) de oxígeno activo por kg. Su límite para el consumo es de 20. (*Jímenez-Herrera, 2011*)

2.12.2. Valor de la Anisidina (AOCS CD 18-90)

(AOCS Cd 18-90). Los aldehídos son productos de la descomposición de los ácidos grasos peroxidados. Este valor mide los niveles de aldehídos utilizándolos como un indicador que determina la cantidad de material peroxidado que ha sido desdoblado. Juntamente con los niveles de peróxido presentes, el perfil de la degradación pasada y futura de un aceite puede ser mapeado o graficado-especialmente en aceites procesados por segunda vez para reducir el nivel de los ácidos grasos libres y en los aceites recalentados que son utilizados para freír

2.12.3. Absorbancias de Radiaciones en el Ultravioleta (K 232 Y K 270)

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta proporciona indicaciones sobre la calidad del aceite, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos. Es, por tanto, un indicador de la oxidación secundaria del aceite.

Se determina la absorbancia en el UV a dos longitudes de onda: a 270 nm (K270) y a 232 nm (K232). Para la determinación de K270, se pesan 0.2 g de aceite y se aforan a 10 mL con ciclohexano de calidad para espectrofotometría, y se lee su absorbancia a 270 nm con ciclohexano como blanco. Para la determinación de K232, se pesa 0.1 g de aceite, se afora a 25 mL con ciclohexano y se lee su absorbancia a 232 nm. (*Casanovas-Castro, 2012*)

2.12.4. Método de oxígeno activo (AOM)

(AOM, AOCS Cd 12-57). Mide la estabilidad de oxidación. Se hace burbujear aire a través del aceite o grasa que se encuentra a una temperatura de 97.8°F. Se extraen muestras de aceite a intervalos regulares y se determina el valor del peróxido (VP). El AOM es expresado en horas y es el período de tiempo que necesita el VP para alcanzar cierto nivel (100 equivalentes).

El AOM es utilizado como una característica específica de las grasas y los aceites. Las horas del AOM tienden a aumentar juntamente con el grado de saturación o endurecimiento de la muestra. Aunque es un método popular, está siendo reemplazado por el Índice de Estabilidad del Aceite.

2.12.5. Método Rancimat

La prueba Rancimat está reconocida como método oficial a nivel internacional (norma ISO 6886) y por numerosos países, como Estados Unidos, Japón y Suiza. Para evaluar la estabilidad oxidativa

de las cuatro muestras de aceite de oliva, utilizamos la prueba Rancimat, que indica el TIR o tiempo de inducción Rancimat, expresado en horas, y que se corresponde con el tiempo durante el cual la materia grasa resiste al estrés oxidativo. (Haddam et al, 2014)

El método analítico consiste en someter a la muestra, 3.0 ± 0.1 g de aceite a una oxidación forzada mediante una corriente de aire seco a 20 L/h y a una temperatura de 120 °C. Se utiliza un equipo Rancimat 679 (Metrohm Co., Herisau, Suiza). Fruto de la degradación del aceite, se desprenden compuestos volátiles que son retenidos en un vaso de medida que contiene agua destilada, del que se registra la conductividad a lo largo del tiempo. El resultado se expresa en horas, que es el tiempo necesario hasta llegar a un nivel fijado de conductividad. (Casanovas-Castro, 2012)

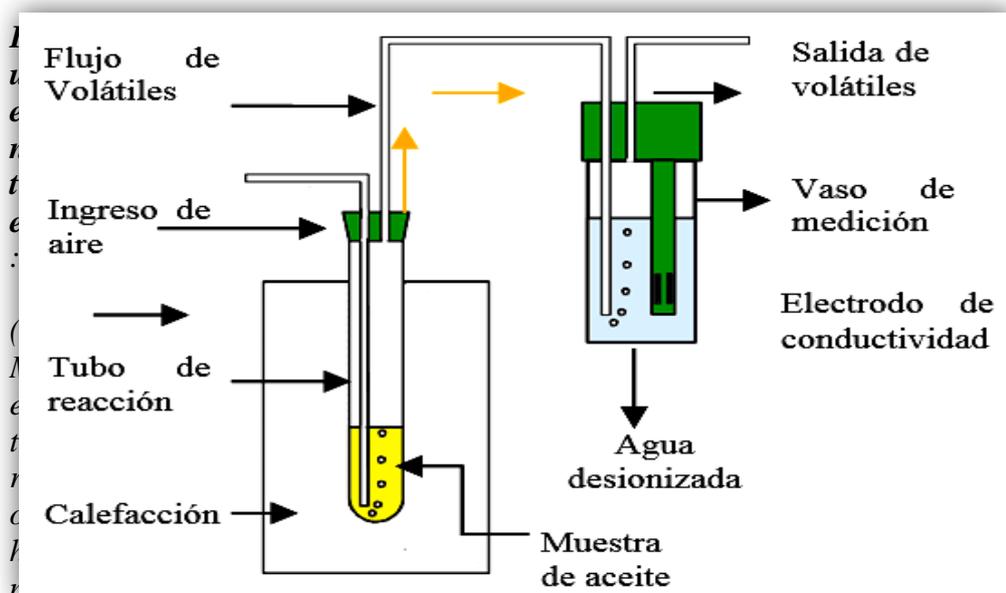


Figura 4. Principio del Método Rancimat, (2001)

III. MATERIALES Y METODOS

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

Laboratorio de Control de Calidad de Aceites y Grasas de la empresa pesquera CFG-COPEINCA S.A.C.

3.1. Materiales y Equipos

3.1.1. Materia Prima

- Aceite de Oliva extra virgen
Marca: ACAVILLE, RS:C0900417NDCAASA, LT:71002143, libre de antioxidantes. Adquirido de Supermercado Plaza Ve-Chimbote. Cantidad 2.5 L.
- Aceite de pescado semi refinado.
Proporcionado por la empresa pesquera CFG-COPEINCA S.A.C., F.P:06/07/2017, 2 botellas de 500 mL c/u.

3.1.2. Reactivos

- Nitrógeno (N_2), Marca: Messer; 5kg
- Alcohol (C_2H_6O); Pureza: 96°; Marca: Inkafarma
- Cloroformo ($CHCl_3$), Marca: Merck, Pureza: 99%; Ind.CE: 602-006-00-4
- Reactivo de Wijs, Marca: Merck, Concentración: 0.1 mol/l%
- Hexano (C_6H_{14}), Marca: Scharlow, Pureza: 96%, Código HE02381000
- Fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$), Marca: Merck, Masa Molar, 318.32 g/mol Ind.CE: 604076-00-1
- Solución de hidróxido de sodio (0.1 N). ($NaOH$); Marca: Lobal Chemie, Pureza: 98%, Bacht: A541308
- Tetracloruro de carbono (CCl_4), Marca: Merck
- Solución de yoduro (I_2), Marca: Merck, Pureza: 99.999%, Ind.CE: 053-001-00-3
- Solución de Tiosulfato de sodio (0.1 N) ($Na_2S_2O_3$), Marca: Merck, Pureza: 97%, Ind.CE: 231-867-5
- Solución de almidón (1%) ($C_6H_{10}O_5$), Marca: Merck, Ind.CE: 236-686-4
- Solución de ácido acético ($C_2H_4O_2$), Marca: Central Drug House, 2.5 l, 027017
- Yoduro de potasio saturado (KI), Marca: Merck, Pureza: 99.995%, Ind.CE: 231-659-4

- Trifluoruro de boro (BF_3), Marca: Sigma-Aldrich, Pureza: 99.99%, CAS:7637-07-2
- Isooctano (C_8H_{18}) Marca: Merck, Pureza: 99.5% CAS:540-84-1

3.1.3. Materiales de vidrio

- Bureta. (50 ml graduado 1/10)
- Embudo de vidrio
- Matraces de Erlenmeyer (250 ml).
- Pipetas (1, 2,5,10 y 25 ml).
- Probetas (50 y 100 ml)
- Termómetro
- Varillas de vidrio
- Vasos precipitados (100, 500, 1000 ml)
- Picnómetro (10 ml)
- Tubos de reacción
- Tubos de ensayo
- Frascos color ámbar 250 ml

3.1.4. Otros Materiales

- Espátula
- Papel filtro Wathman N° 12.
- Pera succionadora 60 mL.
- Marcadores

- Pinzas de metal y de madera.
- Papel aluminio
- Gradilla para tubos de ensayo

3.1.5. Equipos

- Rancimat, Marca: Metrohm, Modelo 743, País: Suecia
- Agitador magnético. Marca: THERMOLYNE. Modelo: S-130815. Serie: 120110. País: EE.UU
- Equipo comparador de color Gardner. Marca: Lovibond, País: Alemania.
- Cocina eléctrica. Marca: KESSEN. Modelo: HPY6870-26. Serie: 46804273. País: China
- Centrífuga, Marca: SIGMA, Modelo: 2 – 16, Velocidad: 15000 rpm, Motor: 1 HP eléctrico
- Balanza, Marca: Precisa, Modelo: 4200 C, Serie: 321LX, Rango MAX. 4200 gr. MIN. 0,5gr. e=0,1 gr
- Balanza Analítica, Marca: Precisa, Modelo: 220 A, Serie: 321LX, Rango MAX. 220 gr. MIN. 0,01 gr. e=0,001 gr.
- Estufa, Marca: POL-EKO APARATURA, Modelo: SLW115 TOPT.
- Termobalanza, Marca: Precisa, Modelo XM50.
- Cromatógrafo de gases, Hecho en China, Serie CN15323140, modelo 7890B, Agilent Technologies.

3.2. Metodología del análisis

3.2.1. Análisis Físicos y químicos del aceite de pescado, aceite de oliva y sus mezclas

3.2.1.1. Humedad

Se realizó con método 934.06 (37.1.10) del A.O.A.C (1996).

3.2.1.2. Índice de refracción

Se realizó con el método de la AOCS Cc 7-25.

3.2.1.3. Determinación de color en escala Gardner

ISO 4630-1: 2004 especifica un método para estimar, por medio de la escala de colores Gardner, el color de los productos líquidos transparentes de color amarillo / marrón con instrumentos de medición del color. Es aplicable al secado de aceites, barnices y soluciones de ácidos grasos, ácidos grasos polimerizados, resinas, colofonia y productos relacionados.

Es aplicable a productos que tengan colores de Gardner 1 a Gardner 18. La escala de Gardner no se aplica a productos con colores más claros que 1 o más oscuros que 18.



Figura 5. Colorímetro De La Escala Gardner.

Fuente: Manual HACCP-COPEINCA, 2017

El color de una muestra del producto examinado se ve en un tubo de vidrio de diámetro estándar y visualmente comparado con los colores de los estándares de color numerados arbitrariamente. El estándar más cercano coincide con el color de la muestra de prueba se identifica y el resultado se expresa en términos de un número en la Escala de colores Gardner.

3.2.1.4. Índice de acidez – Método Oficial de la AOAC

Se realizó con el método AOCS Cd 3d-63

3.2.1.5. Índice de peróxidos – Método Oficial AOAC

Se realizó con el método AOAC 2001. 11.

3.2.1.6. Índice de Yodo – Método AOCS Cd 1-25

Se realizó con el método AOCS Cd 1-25

3.2.1.7. Índice de p-anisidina – Método AOCS Cd 18-90

Se realizó con el método AOCS Cd 18-90

3.2.1.8. Índice de Estabilidad Oxidativa

Se utilizó el método AOCS Cd 12b-92 en el Metrohm Rancimat 743,

3.2.1.9. Estimación de del tiempo de vida útil

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

$$\log(OSI) = AT + B$$

Donde:

OSI: Índice de Estabilidad Oxidativa (h)

T: Temperatura (°C)

A: Constante

B: Constante

3.2.1.10. Determinación de la Energía de Activación

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

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

Donde:

OSI: Índice de Estabilidad Oxidativa (h).

T: Temperatura (°C).

Ea: Energía de Activación (KJ/mol).

R: Constante ideal de los gases.

Z: Factor de Arrhenius.

α' : grado de transformación de moléculas insaturadas.

3.2.1.11. Determinación de ácidos grasos en aceite de la mezcla pescado – oliva.

La determinación se realizó mediante el método de la AOAC método oficial 991.39 en el cromatógrafo de la empresa pesquera CFG-COPEINCA SAC.

3.2.2. Procedimiento Experimental

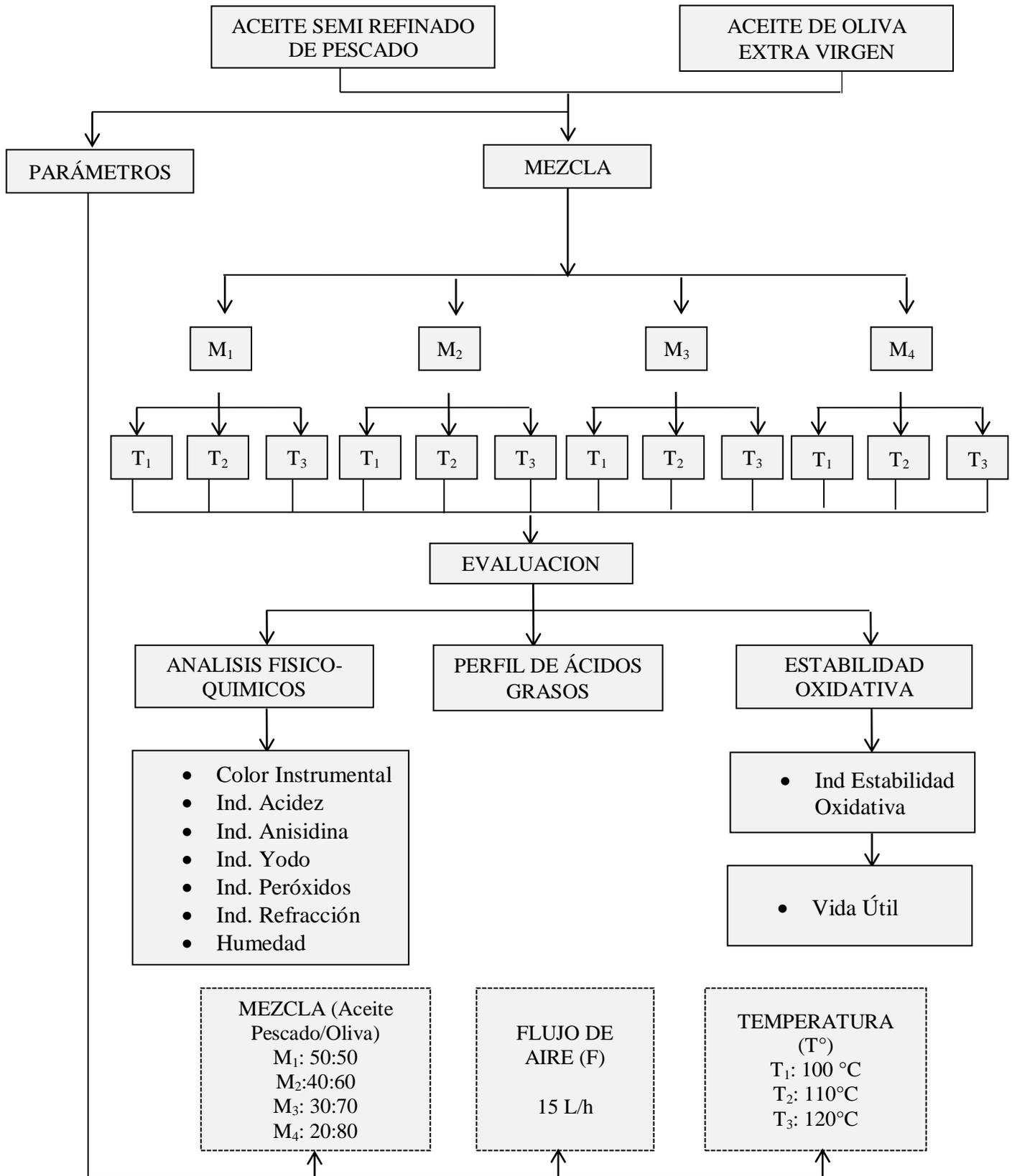


Figura 6. Diagrama de flujo del proceso experimental para aceite de pescado, aceite de oliva y mezclas.

3.2.3. Diseño estadístico

Dos factores experimentales se consideran para este estudio: Mezcla de aceite de pescado y oliva (M y Temperatura (T). Los que variaron de acuerdo con un diseño factorial de dos factores. Para lo cual, cada factor de entrada se fijó en dos, uno y tres niveles respectivamente, de la siguiente manera:

Mezclas de muestras (M1, M2, M3, M4) y temperatura (100°C, 110°C y 120 °C). El índice de estabilidad oxidativa se evaluó para un total de 54 determinaciones. Experimento Factorial DBCA con arreglo factorial de 6x3.

Tabla 6. Experimento Factorial DBCA con arreglo Factorial de 6x3.

	OSI					
	AP	M1 (AP/AO 50/50)	M2 (AP/AO 40/60)	M3 (AP/AO 30/70)	M4 (AP/AO 20/80)	AO
TEMPERATURA						
100 °C						
110 °C						
120 °C						

OSI: Índice de Estabilidad Oxidativa (horas)

3.2.4. Análisis estadístico

Se utilizó el software Statgraphics Centurion para el análisis estadístico y los modelos de regresión. El OSI se relaciona con las variables de entrada (Mezclas y Temperatura).

IV. RESULTADO Y DISCUSION

4.1. Análisis Físicoquímicos del aceite semi refinado de pescado, aceite de oliva extra virgen y sus mezclas.

Los análisis físicoquímicos se realizaron antes de iniciar la prueba de oxidación acelerada (Test Rancimat) para las muestras de aceite semi refinado de pescado (AP), aceite de oliva extra virgen (AO) y mezclas respectivas **M1** (AP 50/ AO 50), **M2** (AP 40/ AO 60), **M3** (AP 30/ AO 70), **M4** (AP 20/ AO 80), los cuales se muestran en la tabla N° 8.

La oxidación de aceites de pescado es un proceso secuencial: a raíz de un aumento inicial del índice de peróxido, aumenta el índice de anisidina. El índice de peróxido es por tanto un parámetro para los productos de oxidación primaria, el índice de anisidina para los productos de oxidación secundaria. La NORMA PARA ACEITES DE PESCADO CXS 329-2017 establece valores para índice de peróxido y anisidina: ≤ 5 meqO₂/kg y ≤ 20 respectivamente. Asimismo (*García-Solaesa et al., 2018*) obtuvo un valor de índice de anisidina de 19.7 ± 0.4 para aceite de sardina. (*Aghbashlo et al., 2012*) reporto valor de índice de peróxido de 5.00 ± 0.20 para aceite de pescado.

Así también, (*Cevik et al., 2017*) obtuvo un valor de índice de peróxido 10.3 meqO₂/kg para aceite de oliva. (*Mansouri, et al., 2015*), muestra resultados de aceite de oliva monovarietales; respecto al índice de peróxidos de 6.78 ± 1.16 meqO₂/kg para la variedad Arbequina, 9.08 ± 0.69 meqO₂/kg para Arbosana y 10.89 ± 1.13 meqO₂/kg para Koroneiki. (*Montaño et al., 2014*), obtuvo valor de

Tabla 7. *Análisis Fisicoquímicos del Aceite de pescado, Aceite de Oliva y Mezclas respectivas*

Análisis Fisicoquímicos	Aceite semi					Aceite de
	refinado de pescado	M1 (50/50)	M2 (40/60)	M3 (30/70)	M4 (20/80)	Oliva extra Virgen
Ind. Acidez (% ácido oleico)	0.43 ± 0.01	0.50 ± 0.000	0.53 ± 0.010	0.53 ± 0.010	0.58 ± 0.01	0.59 ± 0.010
Humedad (%)	0.07 ± 0.002	0.04 ± 0.004	0.06 ± 0.001	0.08 ± 0.001	0.05 ± 0.002	0.07 ± 0.002
Ind. Refracción	1.477 ± 0.001	1.475 ± 0.001	1.475 ± 0.001	1.471 ± 0.002	1.47 ± 0.001	1.469 ± 0.002
Ind. Yodo (mgI ₂ /g)	178.12 ± 1.120	134.79 ± 0.990	127.46 ± 0.260	116.23 ± 0.100	107.82 ± 0.76	89.12 ± 0.890
Ind. Peróxidos (meqO ₂ /kg)	4.89 ± 0.040	6.92 ± 0.260	7.25 ± 0.120	8.17 ± 0.060	8.85 ± 0.16	10.07 ± 0.040
Ind. Anisidina	15.26 ± 0.550	10.45 ± 0.070	8.94 ± 0.060	7.12 ± 0.100	5.46 ± 0.24	4.99 ± 0.510
Color Instrumental	8 ± 0.000	9 ± 0.000	9 ± 0.000	9 ± 0.000	9 ± 0.000	9 ± 0.000

índice de peróxido de 9 ± 2 meqO₂/kg para el aceite de oliva.

Los resultados muestran que los criterios de calidad en cuanto al índice de acidez, son compatibles con los criterios establecidos en la NORMA PARA LOS ACEITES DE OLIVA Y ACEITES DE ORUJO DE OLIVA CODEX STAN 33-1981 (enmendada 2013 y revisada 2017) que el índice máximo permisible debe ser ≤ 0.8 g/100g, mientras en la tabla 8 se muestra un valor de 0.51 ± 0.01 % para aceite de oliva. (*Montaño et al, 2014*) obtuvo valores de índice de acidez para el aceite de oliva de 0.61 ± 0.1 % asimismo, (*Reboredo-Rodríguez, 2015*), reporta resultados similares en índice de acidez 0.42%. En cuanto a aceite de pescado (*Fadhil et al, 2015*) reportó 0.70 % de índice de acidez, valor elevado comparado con nuestro resultado de 0.43 ± 0.01 %, lo cual está dentro de lo establecido según la NORMA PARA ACEITES DE PESCADO CXS 329-2017 que el índice de acidez debe ser ≤ 3 mg KOH/g.

El índice de yodo encontrado para aceite de pescado fue 178.12 ± 1.12 mgI₂/g, mientras que (*Fadhil et al, 2015*) reporta valor en índice de yodo de 86.36 mgI₂/g, (*Mata et al., 2017*) reportó 146 mgI₂/g para aceite de pescado. Asimismo, el índice de yodo encontrado para aceite de oliva fue 89.12 ± 0.89 mgI₂/g, valor que se encuentra dentro de lo permitido según la NORMA PARA LOS ACEITES DE OLIVA Y ACEITES DE ORUJO DE OLIVA CODEX STAN 33-1981 (revisada 2017 y enmendada 2013), que establece valor de índice de yodo un nivel máximo de 75-94 mgI₂/g.

Como se observa en la tabla 6 los valores de las muestras para Escala de color Gardner se encuentran entre los colores 8 (amarillo más pálido) y 9 (amarillo más intenso). Valores reportados también por (Esquivel-Paredes et al., 2017), que obtuvo valor de 7 para aceite de pescado; (Fuentes-Seguel., 2015) muestra resultados de 8.9 y 9.9 para aceite de oliva variedad Arbequina y Arbosana respectivamente.

4.2. Comportamiento del aceite de pescado, aceite de oliva y respectivas mezclas en la prueba Rancimat.

Los resultados promedio de estabilidad oxidativa de las muestras de aceite de oliva, aceite de pescado y sus mezclas, se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 8. Índice de estabilidad oxidativa (OSI) de aceite semi refinado de pescado, aceite de oliva extra virgen y mezclas respectivas.

CODIGO	MUESTRA	Periodo de inducción (horas)		
		OSI 100 °C	OSI 110 °C	OSI 120 °C
AP	Aceite Semi refinado de pescado	0.16 ± 0.001a	0.147 ± 0.009a	0.117 ± 0.006a
M1	AP/AO (50/50)	0.963 ± 0.126b	0.430 ± 0.272b	0.183 ± 0.006ab
M2	AP/AO (40/60)	1.255 ± 0.013b	0.529 ± 0.020b	0.251 ± 0.016b
M3	AP/AO (30/70)	2.327 ± 0.085c	1.103 ± 0.006c	0.52 ± 0.020c
M4	AP/AO (20/80)	3.41 ± 0.092d	1.73 ± 0.046d	0.813 ± 0.023d
AO	Aceite de Oliva	17.01 ± 0.682e	7.537 ± 0.186e	3.513 ± 0.058e

(*) OSI: Índice de estabilidad oxidativa (horas) / SD: Desviación estándar

(*) Flujo de aire: 15L/h

El proceso de oxidación es conducido por reacciones de radicales que implican las estructuras de ácidos grasos insaturados. Durante una fase de inducción inicial no se forman prácticamente ningún producto secundario. Esto es seguido abruptamente por una fase de oxidación que se caracteriza por un rápido incremento en el índice de peróxidos y la formación de productos volátiles, los cuales, según la base del método, consisten en ácido fórmico (*Focke et al., 2016*).

En la tabla 9 puede observarse que, a medida que aumenta la temperatura de aceleración inducida en las muestras de aceite se produce un menor tiempo de inducción, y a medida que aumenta la concentración de aceite de oliva y por tanto disminuye la concentración de aceite de pescado; se produce un aumento en dicho tiempo de inducción. Como era de esperarse la mezcla 4 (AP/AO 20/80) fue más estable con 3.41 ± 0.092 horas frente a las demás mezclas por su alta concentración de aceite de oliva frente al aceite de pescado.

Al mezclar el aceite de oliva que contiene antioxidantes de origen natural se pudo notar el incremento de los tiempos de inducción notoriamente lo cual confirma la protección de estos antioxidantes en el aceite de pescado, por lo tanto, cuanto mayor sea el contenido de ácidos grasos poliinsaturados del aceite, más susceptible será este de sufrir reacciones de reducción-oxidación (aceite de pescado). A su vez, debido a su efecto antioxidante neutralización de los radicales libres), los compuestos fenólicos limitan estas reacciones (aceite de oliva). (*Mansouri et al., 2015*)

Esta mejora de la estabilidad oxidativa de los aceites formulados está en que el aceite de oliva virgen es prácticamente el único aceite que contiene cantidades importantes de antioxidantes naturales (fenoles y tocoferoles), los fenoles son, en gran medida, responsables de la estabilidad oxidativa (*Mansouri et al., 2015*) y los tocoferoles actúan como antioxidante en el proceso de autooxidación del aceite de oliva, al reaccionar con los radicales libres, dando lugar a radicales antioxidantes libres peroxidados y rompiendo por tanto la reacción en cadena. (*Silva-Ortiz., 2013*) obtuvo contenido de α -Tocoferol de 245 ± 3.0 y 239 ± 11.2 mg/kg para aceite de oliva de variedad Arbequina I-18 y Arbusana respectivamente.

El tiempo de inducción para el aceite de pescado a un flujo de aire constante de 15L/h y a las temperaturas de 100°C, 110°C y 120°C fue de 0.160 ± 0.010 horas, 0.147 ± 0.009 horas y 0.117 ± 0.006 horas respectivamente. Comparado con valores de tiempo de inducción (OSI) del aceite de oliva $17.010 \pm 0,682$ a 100 °C, $7.537 \pm 0,186$ a 110 °C y $3.513 \pm 0,058$ a 120 °C. Se puede observar que el aceite de pescado es más inestable debido a la gran cantidad de dobles enlaces que presenta por tanto requiere de la acción de un antioxidante para su conservación. la composición del aceite afecta críticamente a la velocidad de oxidación (*Morales-Medina, 2016*).

El valor OSI de nuestra mejor mezcla (mezcla 4) fue de 3.41 ± 0.092 , 1.73 ± 0.046 y 0.813 ± 0.023 para temperatura de 100, 110 y 120°C respectivamente, lo cual se asemeja al aceite de Sacha Inchi, (*Cert-Trujillo, 2017*) obtuvo OSI de 4.0 h a

100°C también al de Chía (*Villanueva et al., 2017*) que obtuvo OSI de 3.03 h a 100°C.

Por lo tanto, los aceites de origen marino son las materias grasas más inestables por dos razones: carecen de protección natural a diferencia de los aceites vegetales y son ricos en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), especialmente aquellos de la familia omega-3 como el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5) y el ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6) que por su estructura son altamente sensibles a sufrir este deterioro oxidativo tanto primario como secundario, desarrollándose sabores y olores indeseados a muy bajos niveles de oxidación esto se debe principalmente a la presencia de los numerosos dobles enlaces de estructura metileno interrumpida (activos), distribuidos en la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos de cadena larga con 20 a 22 átomos de carbono, los cuales son blanco del ataque de especies reactivas del oxígeno. (*Guevara-Perez, 2016*)

4.3. Estimación del Tiempo de Vida Útil.

Se estimó el tiempo de vida útil del aceite semi refinado de pescado, aceite de oliva extra virgen y mezclas respectivas, usando los coeficientes de temperatura y valor empírico las cuales se muestran en la tabla 10.

Tabla 9. Determinación del Log del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI)

Muestras	Coeficientes		
	A ± SE (°C-1)	B±SE	R ²
Aceite de pescado	-0.007 ± 0.00018	-0.101 ± 0.0094	0.9380
M1: 50/50	-0.036 ± 0.0005	3.592 ± 0.0605	0.9998
M2: 40/60	-0.035 ± 0.0015	3.585 ± 0.1688	0.9981
M3: 30/70	-0.033 ± 0.0001	3.623 ± 0.0096	1.0000
M4: 20/80	-0.031 ± 0.0010	3.654 ± 0.1051	0.9991
Aceite de oliva	-0.034 ± 0.0006	4.652 ± 0.0703	0.9997

Resultados promedio realizado a tres repeticiones por muestra.

*SE: Error estándar

*A: Coeficientes de temperatura.

* B: valor empírico.

En la figura 12 se observa la regresión lineal entre la temperatura (°C) y el log (OSI) para cada muestra.

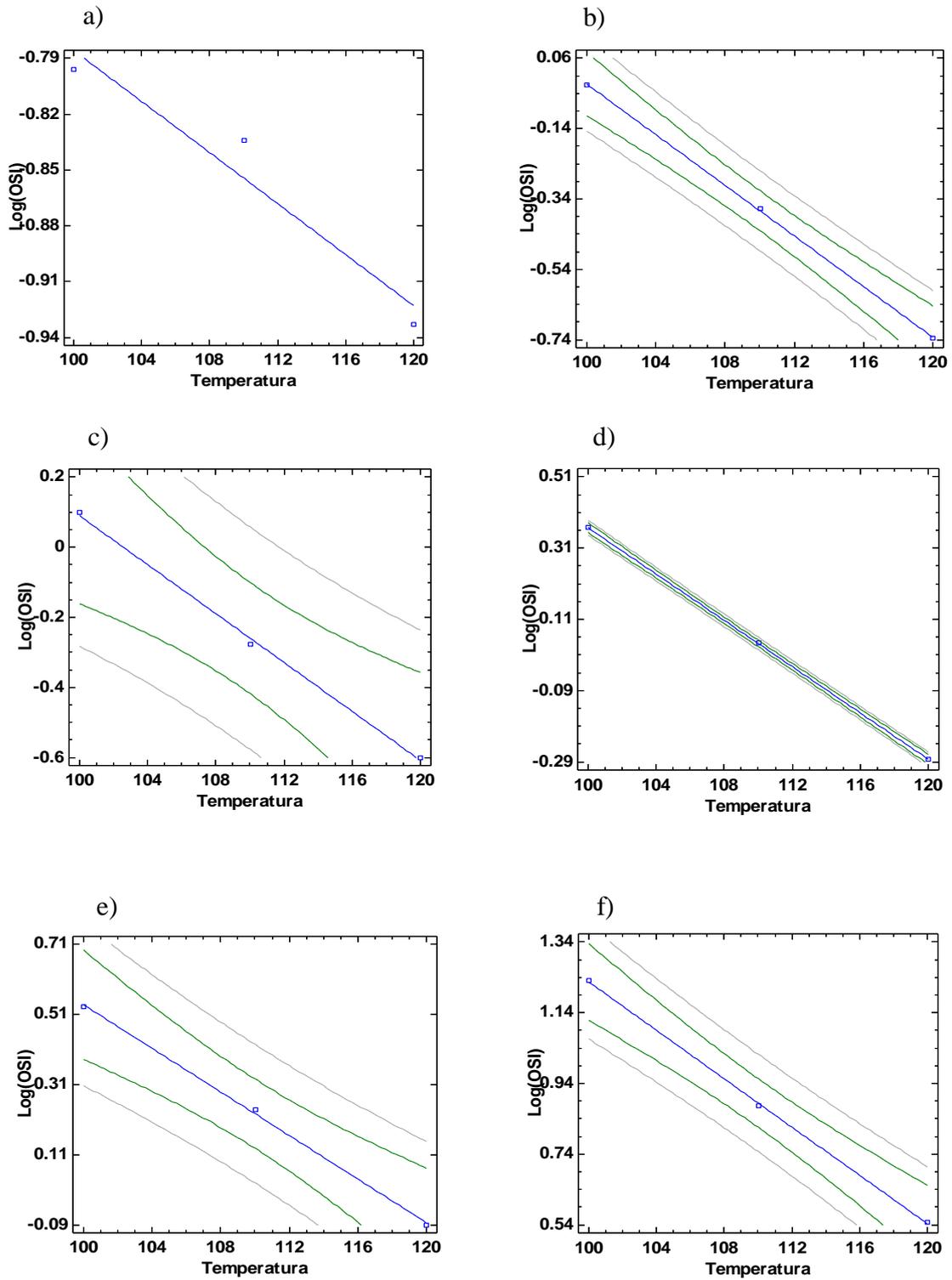


Figura 7. Gráficos de regresión lineal logaritmo OSI y Temperatura (°C).

a) Aceite de Pescado, b) M1 50/50, c) M2 40/60, d) M3 30/70, e) M4 20/80 y f) Aceite de Oliva

En la tabla 11 se muestra la estimación de la vida útil a temperatura usual de almacenamiento 25°C (T° ambiente) la cual indica cómo va cambiando a medida que se aumenta la concentración de aceite de oliva y disminuye la concentración de aceite de pescado.

Tabla 10. Valores de estimación de la vida útil de OSI a 25°C

MP Aceites y Mezclas de aceites	días
Aceite semi refinado de pescado	0.022 ± 0.000
M1: 50/50	20.478 ± 2.006
M2: 40/60	21.441 ± 2.012
M3: 30/70	26.846 ± 0.724
M4: 20/80	31.274 ± 3.074
Aceite de oliva	260.320 ± 25.432

* Resultados promedio realizado a tres repeticiones por muestra.

El tiempo de estabilidad oxidativa determinado por el método Rancimat a temperaturas elevadas para un aceite en particular, se puede extrapolar a temperaturas bajas como las empleadas en almacenamiento; el tiempo hallado vendría a ser teóricamente la “vida útil” a temperatura de almacenamiento (Rodriguez *et al.*, 2015). El método de extrapolación incorpora la cinética de reacción y se basa en un cálculo tipo Arrhenius entre los valores de OSI y la temperatura (Dinkov *et al.*, 2015).

Debido a su contenido rico en ácidos grasos insaturados, el aceite de pescado es susceptible al deterioro y tienen una vida útil relativamente baja (comparada con

aceites refinados comerciales). Sin embargo, su consumo es necesario, pues el cuerpo humano es capaz de producir todos los ácidos grasos que necesita, excepto el ácido linoléico y el ácido alfa-linolénico. Así como muestra la tabla 10 el aceite de pescado muestra una estimación de vida útil de 0.022 ± 0.000 días frente a 260.320 ± 25.432 días del aceite de oliva asimismo (*Paucar-Menacho et al., 2015*) obtuvo el tiempo de vida útil para el aceite de oliva de 136 días.

La mezcla M4 (AP/AO 20/80) presenta la estimación de vida útil más elevado (31.274 ± 3.074 días), por el contrario, el menor tiempo de vida útil se halló en la mezcla M1 (AP/AO 20/80) (20.478 ± 2.006 días); lo que se traduce en una baja estabilidad oxidativa; Así, tal como se ha descrito previamente en la literatura, (*Grati-Kammoun et al., 2013*), se observa una clara correlación directa entre las concentraciones de las mezclas y el tiempo de vida útil de los aceites medido con el método Rancimat, debido a que el aceite de oliva presenta grandes cantidades de ácido oleico que le confiere antioxidantes naturales; por lo tanto, mayor tiempo de vida útil.

4.3.1. Análisis de Varianza (ANOVA)

La tabla 12, muestra los resultados en cuanto al índice de estabilidad oxidativa, donde los factores temperatura y concentración tienen diferencias altamente significativas a un nivel de significancia del 5%, ya que los valores P, resultaron ser menores a 0.05 ($p < 0.05$) y también menores a 0.01 ($p < 0.01$) estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el OSI con un 95% de nivel de confianza.

Tabla 11. Análisis de Varianza (ANOVA) OSI para Mezclas y Temperaturas – Suma de Cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Mezclas	551.231	5	110.246	3741.21	0.0000
B: Temperatura	102.072	2	51.0359	1731.91	0.0000
AB	204.095	10	20.4095	692.60	0.0000
RESIDUOS	1.06085	36	0.029468		
TOTAL (CORREGIDO)	858.46	53			

Tabla 12. Pruebas de Múltiple Rangos para OSI por Mezclas

Mezclas	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
AP	9	0.141111	0.0572209	a
M1	9	0.525556	0.0572209	b
M2	9	0.678556	0.0572209	b
M3	9	1.31667	0.0572209	c
M4	9	1.98444	0.0572209	d
AO	9	9.35333	0.0572209	e

Esta tabla 14 aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El asterisco que se encuentra al lado de los 14 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0%

de confianza. En tabla 13 se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las letras en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de letras. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 13. Medias de Muestras y significancia entre ellas

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
AO - AP	*	9.21222	0.243486
AO - M1	*	8.82778	0.243486
AO - M2	*	8.67478	0.243486
AO - M3	*	8.03667	0.243486
AO - M4	*	7.36889	0.243486
AP - M1	*	-0.384444	0.243486
AP - M2	*	-0.537444	0.243486
AP - M3	*	-1.17556	0.243486
AP - M4	*	-1.84333	0.243486
M1 - M2		-0.153	0.243486
M1 - M3	*	-0.791111	0.243486
M1 - M4	*	-1.45889	0.243486
M2 - M3	*	-0.638111	0.243486
M2 - M4	*	-1.30589	0.243486
M3 - M4	*	-0.667778	0.243486

(*) indica una diferencia significativa.

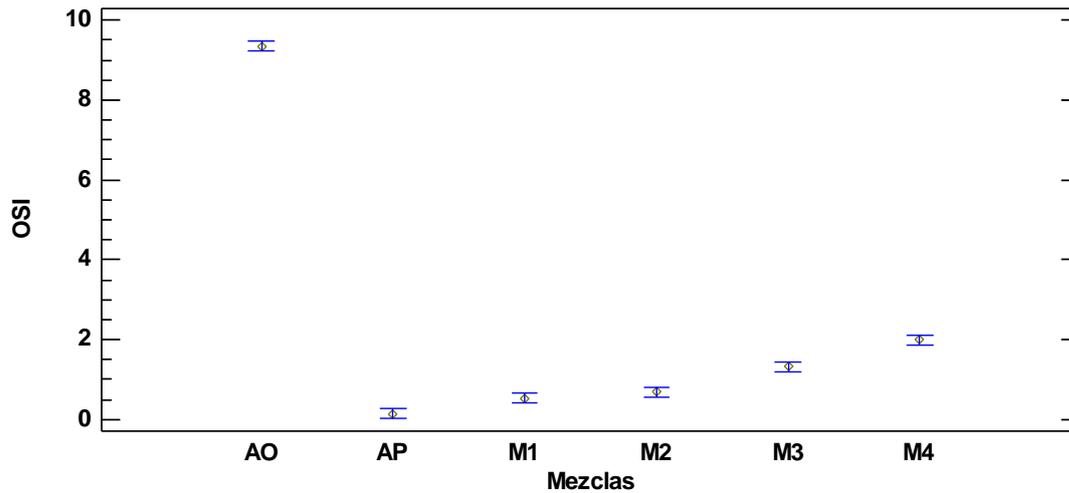


Figura 8. Gráfico de medias y 95% de Tukey HSD en Statgraphics Centurion XVI.I.

Según a prueba de Diferencia Significativa Honesta (HSD) de Tukey los tiempos de Inducción de las mezclas M1 y M2 tienen medias iguales, el resto de mezclas tienen grupos de medias diferentes.

En estudios recientes acerca de la influencia de los parámetros del Test Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa de aceite de hígado de bacalao, utilizando flujos de aire de (10, 15, 20 y 25 L/h) y temperaturas de (60, 70, 80 y 90°C) se concluyó mediante el análisis de varianza (ANOVA) el valor de OSI es altamente dependiente de los efectos lineales de temperatura y flujo de aire, con probabilidades $p < 0,001$ y $p = 0,001$, respectivamente. (García-Moreno et al., 2013). Los cuales en nuestro trabajo se obtuvo que la temperatura (100, 110 y 120 °C) y las mezclas (M1, M2, M3 y M4) son altamente significativas en el valor de OSI. Con valores de $p < 0,001$. (Ardiles-Falcón et al, 2017) obtuvo que la temperatura (80, 100 y 120°C) y su concentración de Antioxidantes son altamente significativos en su valor OSI con valor-P =0.0000.

4.4.Determinación de la Energía de Activación

En la tabla 15 se muestra el valor del Ln (OSI) del aceite de pescado, aceite de oliva y mezclas a temperatura de tratamiento (100, 110 y 120 °C) expresada en °K.

Tabla 14. Determinación del logaritmo natural del índice de estabilidad oxidativa;

Muestras	Temperatura (°K)		
	373	383	393
Aceite de pescado	-1.833	-1.920	-2.148
M1: 50/50	-0.037	-0.844	-1.696
M2: 40/60	0.227	-0.637	-1.382
M3: 30/70	0.844	0.098	-0.654
M4: 20/80	1.227	0.548	-0.207
Aceite de oliva	2.834	2.020	1.257

En el aceite de pescado y aceite de oliva se observan diferencias de energía de activación debido a la concentración usada para cada mezcla, sin embargo, estas diferencias pueden deberse a factores de tipo molecular, como por ejemplo la relación de ácidos grasos monoinsaturados/poliinsaturados, y no a consideraciones de tipo termodinámico.

En la tabla 16, muestra los resultados de la energía de activación para cada muestra empleada a un flujo de 15 L/h, situados entre 19.18 J/mol y 101.14 KJ/mol.

Tabla 15. Determinación de la energía de activación

Muestras	Pendiente	R²	Ea (KJ/mol)
Aceite de pescado	2307.3	0.9295	19.183
M1: 50/50	12164.1	0.9997	101.136
M2: 40/60	11810.4	0.9993	98.195
M3: 30/70	10987.9	0.9997	91.357
M4: 20/80	10506.5	0.9979	87.354
Aceite de oliva	11570.0	1.0000	96.196

El valor de la energía de activación es de interés en la caracterización de los aceites debido a que es indicadora de la demora del proceso de oxidación inicial, debido a la escisión de la unión que tiene lugar para formar productos de oxidación primarios (*Saldívar-Ramírez, 2018*)

(*Villanueva et al., 2017*), determinaron las constantes de velocidad de reacciones de oxidación para aceite de chía, midiendo la velocidad de desaparición de los monómeros de los triacilglicerol oxidados a distintas temperaturas empleando la prueba de Rancimat. Estas constantes fueron usadas para el cálculo de las energías de activación de acuerdo a la ecuación de Arrhenius y se obtuvieron resultados del orden de 82.75 kJ/mol. Este valor es similar a lo obtenido en

nuestras muestras experimentales en especial a nuestra mejor mezcla (mezcla 4) con 87.354 KJ/mol.

En la muestra de aceite de pescado se obtuvo (19.183 KJ/mol), a medida que aumenta la concentración de aceite de oliva, el valor de la energía de activación aumenta respecto al aceite de pescado (véase la tabla 14). Según la teoría cinética la energía de activación, definida como la energía promedio que las moléculas deben adquirir para participar en una reacción permanece constante en tanto el mecanismo de reacción no cambie. La adición de antioxidantes, cambios en la presión parcial del oxígeno, y otros factores pueden alterar el mecanismo y por consiguiente la energía de activación. (*Pinchuk et al., 2014*)

Distintos estudios de estabilidad de lípidos han indicado que no existe vínculo entre el valor inicial de hidroperóxidos y la vida útil de aceites; pero, debido a la cuantiosa inestabilidad de los mismos, a elevadas temperaturas se provee la energía necesaria iniciar las reacciones de descomposición de hidroperóxidos, con la consecuente constitución de productos finales de oxidación y más radicales que aceleran la etapa de propagación de la peroxidación lipídica, lo que incrementa la velocidad de degradación y disminuye el valor de la energía de activación de la reacción. Así, es de esperarse que la reducción del contenido de hidroperóxidos iniciales y de otros compuestos precursores de las reacciones de oxidación, presentes en los aceites crudos, como el estudiado, ayude a aumentar la estabilidad oxidativa y el tiempo de vida útil de este tipo de productos. (*Piedrahita-Correa., 2015*).

4.5. Caracterización por cromatografía de gases de las mezclas de aceite de pescado y aceite de oliva (M1, M2, M3 y M4)

Tabla 16. Concentración de ácidos grasos presentes en el aceite de pescado, aceite de olivas y mezclas respectivas expresada en (%).

Ácidos grasos	Aceite de oliva	Aceite de Pescado	M1 AP/AO (50/50)	M2 AP/AO (40/60)	M3 AP/AO (30/70)	M4 AP/AO (20/80)
Mirístico C14:0	0.000 ± 0.000	6.187 ± 0.008	3.048 ± 0.025	2.464 ± 0.032	1.857 ± 0.026	1.282 ± 0.003
Palmítico C16:0	16.750 ± 0.000	15.446 ± 0.005	16.149 ± 0.023	16.277 ± 0.009	16.447 ± 0.023	16.545 ± 0.039
Palmitoleico C16:1	1.655 ± 0.002	7.625 ± 0.021	0.079 ± 0.034	0.066 ± 0.028	0.095 ± 0.047	0.047 ± 0.010
Estearico C18:0	2.908 ± 0.012	3.269 ± 0.020	3.076 ± 0.009	3.056 ± 0.002	3.023 ± 0.008	2.986 ± 0.027
Oleico C18:1w9	53.966 ± 0.032	2.926 ± 0.017	32.019 ± 0.126	36.221 ± 0.284	40.890 ± 0.113	45.037 ± 0.088
Linoleico C18:2w6	19.504 ± 0.005	1.224 ± 0.005	10.624 ± 0.035	12.322 ± 0.129	14.236 ± 0.072	15.911 ± 0.043
Linolénico C18:3w3	1.022 ± 0.009	0.101 ± 0.017	0.879 ± 0.024	0.927 ± 0.047	0.935 ± 0.017	1.282 ± 0.009
Araquídico C20:0	0.522 ± 0.024	0.287 ± 0.018	0.411 ± 0.028	0.433 ± 0.028	0.468 ± 0.027	0.463 ± 0.023
Eicosapentaenoico C20:5w3 (EPA)	0.116 ± 0.100	16.864 ± 0.127	8.276 ± 0.073	6.752 ± 0.133	4.997 ± 0.018	3.495 ± 0.097
Docosahexaenoico C22:6w3 (DHA)	0.000 ± 0.000	12.676 ± 0.076	6.224 ± 0.058	5.043 ± 0.115	3.813 ± 0.102	2.612 ± 0.041
Omega-3	1.138 ± 0.109	29.641 ± 0.220	15.379 ± 0.070	12.722 ± 0.252	9.745 ± 0.128	7.089 ± 0.093
Omega-6	19.504 ± 0.00	1.224 ± 0.005	10.624 ± 0.035	12.322 ± 0.129	14.236 ± 0.072	15.911 ± 0.043
ω6/ω3	17.146 ± 1.751	0.041 ± 0.00	0.69 ± 0.003	0.969 ± 0.030	1.461 ± 0.026	2.245 ± 0.035

En la figura se muestra el grafico de la concentración de ácidos grasos presentes en las mezclas del aceite de pescado y aceite de oliva

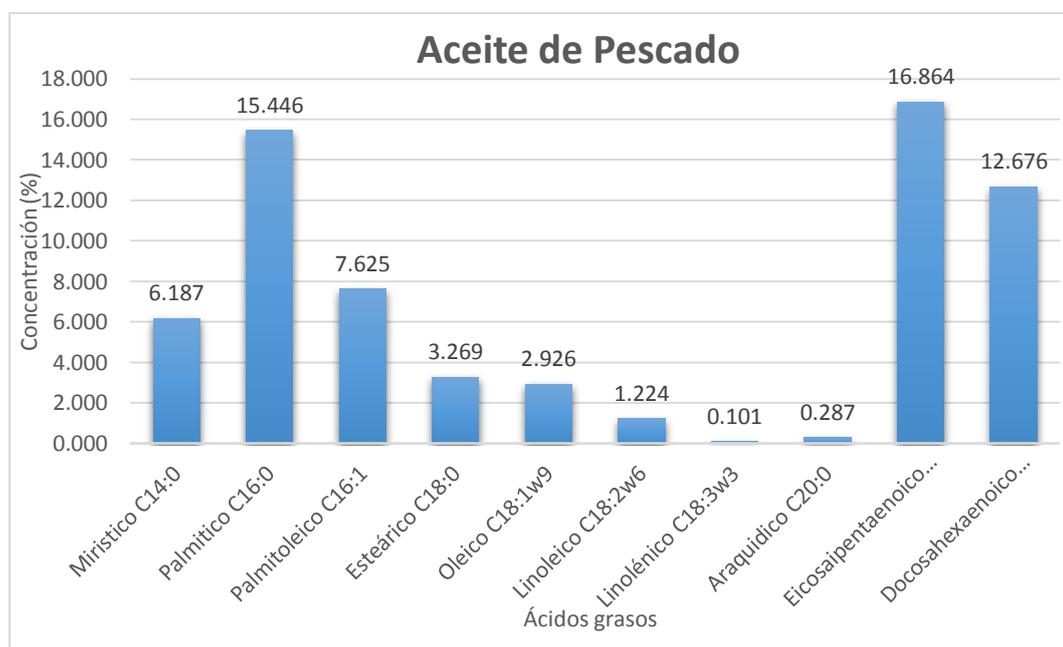


Figura 9. Concentración de los ácidos grasos presentes en el aceite de pescado

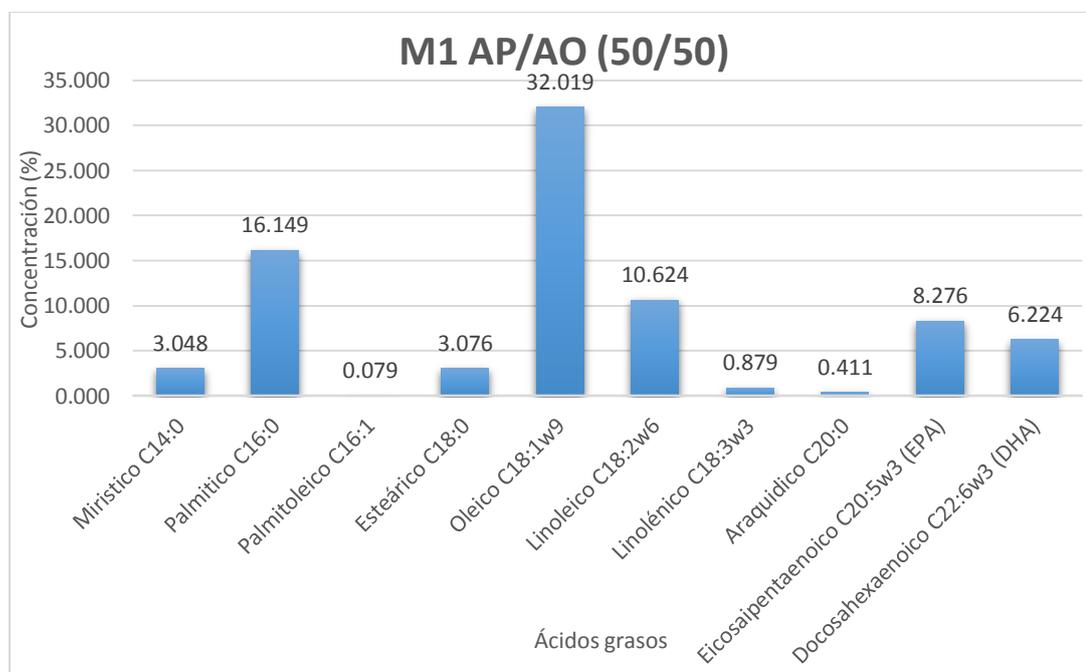


Figura 10. Concentración de los ácidos grasos presentes en la Mezcla 1 (50/50)

AP/AO

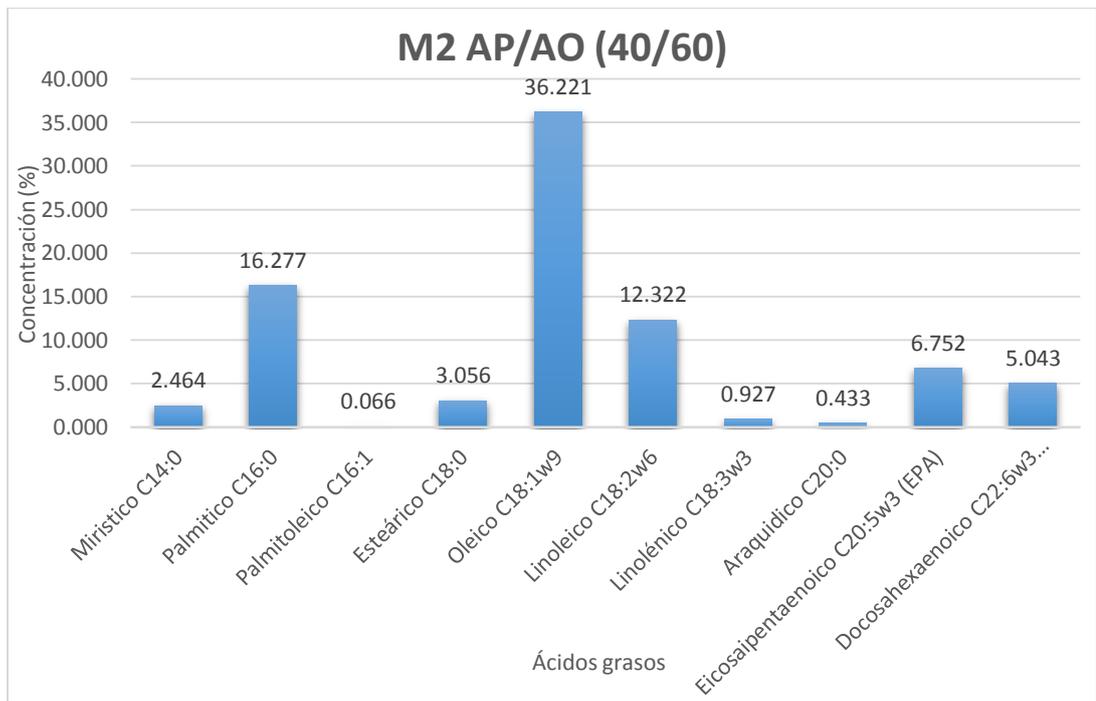


Figura 11. Concentración de los ácidos grasos presentes en la Mezcla 2(40/60)

AP/AO

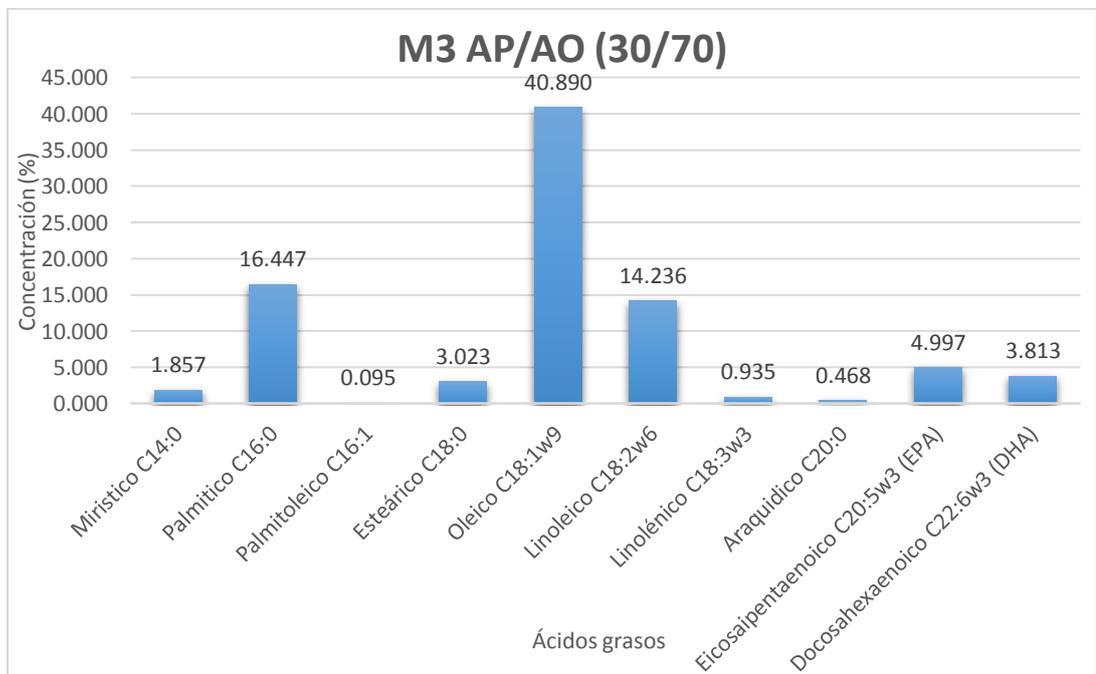


Figura 12. Concentración de los ácidos grasos presentes en la Mezcla 3 (30/70)

AP/AO

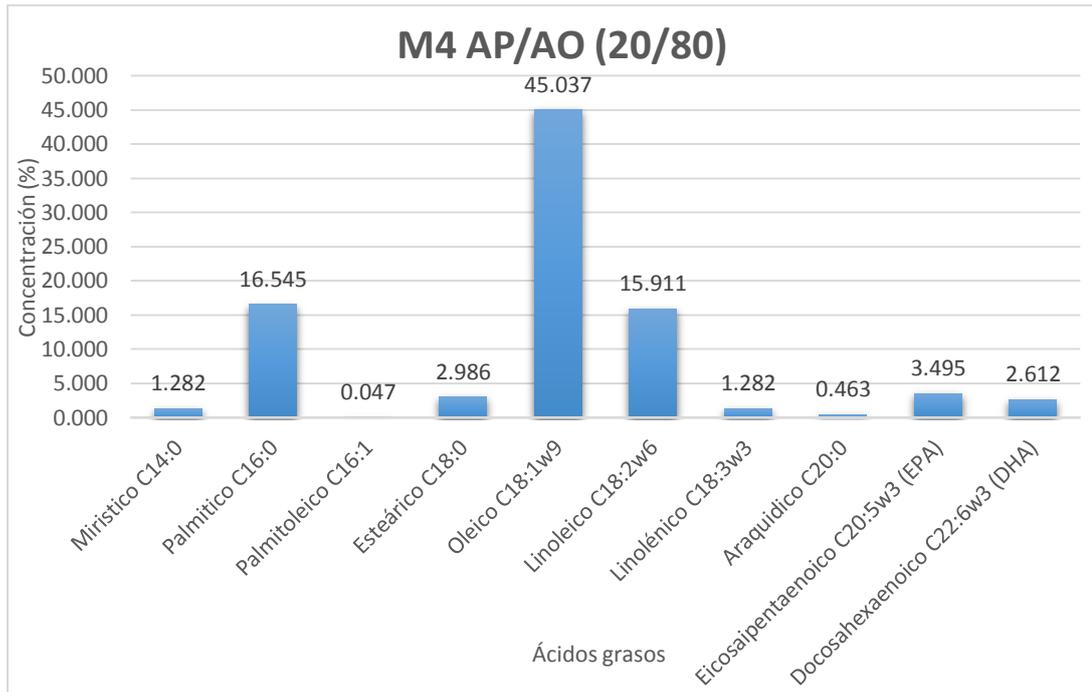


Figura 13. Concentración de los ácidos grasos presentes en la Mezcla 4 (20/80)

AP/AO

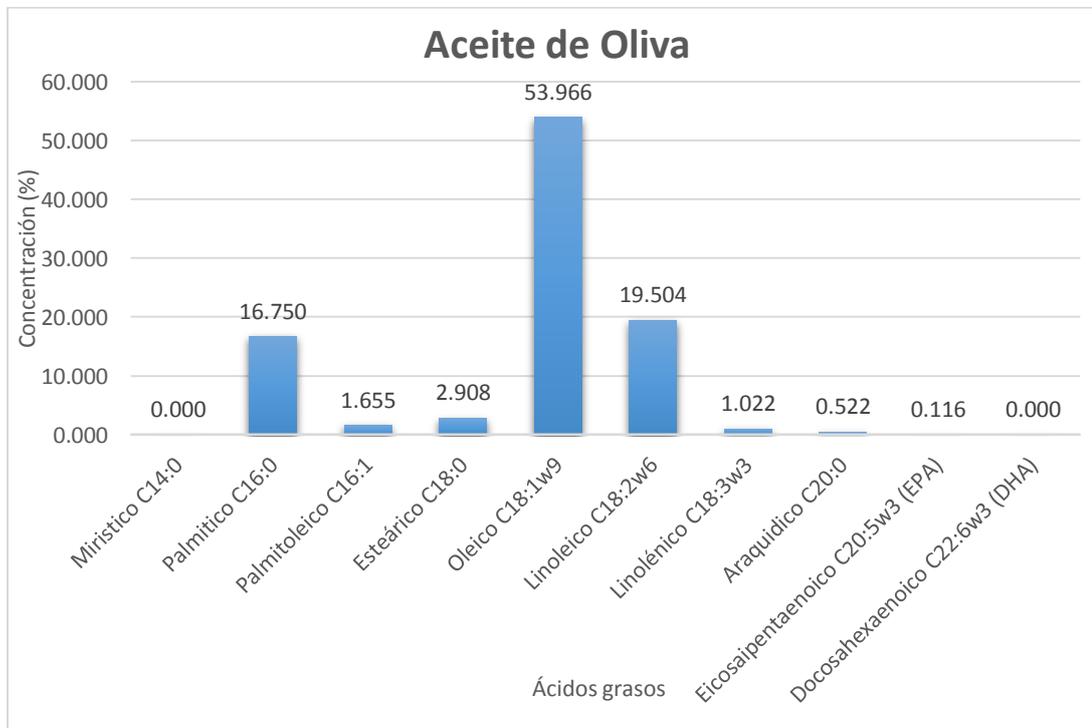


Figura 14. Concentración de los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva

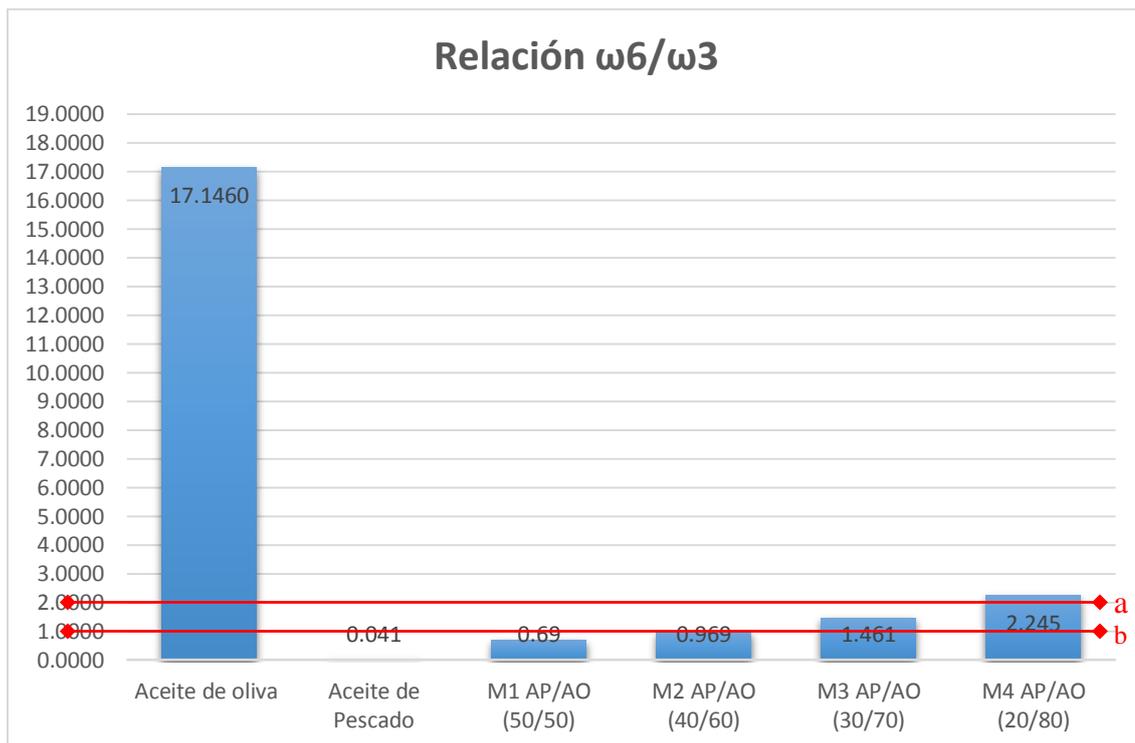


Figura 15. Relación de ω_6/ω_3 presentes en cada muestra, línea a y línea b representada por otros autores

El ácido oleico es el ácido graso principal y el que predomina en el aceite de oliva, luego por grado de importancia le sigue el ácido linoleico y, a continuación, por el ácido palmítico. Estos ácidos grasos representan un indicador importante para la determinación de la calidad y la legitimidad del aceite de oliva. (Essiari *et al.*, 2014). Los valores obtenidos en el aceite de oliva fueron 2.908 ± 0.012 para ácido esteárico, 19.504 ± 0.005 para ácido linoleico, 1.022 ± 0.009 para ácido linolénico y 0.522 ± 0.024 para ácido araquídico siendo superiores a lo reportado por (Mansouri *et al.*, 2015); el cual obtuvo 1.88 ± 0.01 para ácido esteárico, 12.54 ± 0.02 para ácido linoleico, 0.56 ± 0.00 para ácido linolénico y 0.40 ± 0.01 para ácido araquídico

Está bien establecido que la resistencia a la oxidación de un aceite depende de su composición en ácidos grasos, donde cada aceite tiene su perfil de ácido graso característico así los resultados cromatográficos de cada aceite son mostrados en la tabla 15 obteniéndose un contenido de ácido oleico de 1.224 ± 0.005 para aceite de pescado; el cual incrementa al mezclarse con aceite de oliva a diferentes concentraciones siendo así para M1 (50/50) 36.019 ± 0.126 , M2 (40/60) 36.221 ± 0.284 , M3 (30/70) 40.890 ± 0.113 , M4 (20/80) 45.037 ± 0.88 . El mecanismo propuesto para explicar los efectos positivos del aceite de oliva se puede atribuir a su abundante concentración de grasa monoinsaturada, ácido oleico y constituyentes polifenólicos que difieren dependiendo de la variedad, el suelo, el clima, el proceso de extracción y almacenamiento. (Naglaa et al., 2015)

Según la NORMA PARA ACEITES DE PESCADO CXS 329-2017, para el aceite derivado de la especie *Engraulis Ringens* la suma de EPA y DHA tiene que ser por lo menos 27% (expresada como porcentaje de ácidos grasos totales) respecto a ella se obtuvo un valor de 29.54 % para la suma de EPA y DHA. Según esta norma el rango establecido para ácido mirístico es 2.7-11.5, ácido palmítico 13.0-22.0, ácido esteárico 1.0-7.0, ácido linoleico ND-3.5, ácido linolénico ND-7.0 y ácido araquídico ND-1.8; lo cual nuestros resultados en la tabla 17 se encuentran dentro de lo antes mencionado.

Los aceites de pescado son fuentes ricas en ácidos grasos poliinsaturados n-3 (PUFA), especialmente ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) y ácido docosahexaenoico, (DHA, 22:6 n-3). Varios estudios mostraron que el aceite de pescado tiene efectos inmunomoduladores y beneficios terapéuticos en

diversas enfermedades. (Cyoung-Huei et al., 2014), así mismo, los estudios han confirmado que el consumo de aceite de oliva reduce el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como el cáncer y enfermedad cardíaca (Naglaa et al., 2015). Sin embargo, una relación equilibrada PUFA n-6 / n-3 puede ser más importante que los niveles de ingesta de PUFA n-3 para prevenir enfermedades cardiovasculares (ECV) y otros trastornos crónicos (Yang et al., 2015).

Cyoung-Huei et al., 2014, obtuvo que la relación 2:1 como se muestra en la *figura 18* representada por la **línea a**; fue más efectiva para reducir las reacciones inflamatorias en colitis inducida por DSS; al mezclar aceite de Soya y aceite de pescado. La relación óptima de omegas puede ser específica de la enfermedad, por ejemplo, Yu et al., 2015, informa que una baja proporción de n-6 / n-3, como 1:1 o 2:1 como se muestra en la *figura 18* representada por la **línea b**, alivia el daño del cartilago en artritis inducida, mientras que Lee et al., 2017, muestra que la proporción baja de PUFA n-6 / n-3 (1: 1 y 5: 1) como se muestra en la *figura 20* representada por la **línea b**, tiene efecto beneficioso sobre los factores de riesgo cardiovascular.

En apoyo de estas hipótesis, nuestros resultados muestran la mejor proporción de PUFA n-6 / n-3 en la muestra 4 con valor de 2.25:1.

V. CONCLUSIONES

- En la determinación del índice de estabilidad oxidativa, se encontró que tanto la temperatura y la concentración fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) sobre el índice de estabilidad oxidativa (OSI).
- Se realizó la evaluación de las características fisicoquímicas con valores de 0.580 ± 0.010 para índice de acidez, 101.820 ± 0.760 para índice de yodo, 8.850 ± 0.160 para índice de peróxido y 5.460 ± 0.240 índice de anisidina para la mejor mezcla (M4).
- En base a los valores de OSI se estimó la vida útil mediante extrapolación (25°C) de las muestras Aceite semi refinado de pescado, aceite de oliva y la mejor mezcla (M4) con valores de 0.022 ± 0.000 , 260.320 ± 25.432 y 31.274 ± 3.074 días respectivamente.
- Se realizó caracterización por cromatografía de gases destacando que la mejor mezcla fue la Muestra 04 dando como valores: Ácido Mirístico 1.28%, Ácido Palmítico 16.54%, Ácido Palmitoleico 0.05%, Ácido Esteárico 3.00%, Ácido oleico 45.04%, Ácido linoleico 15.91%, Ácido linolénico 0.98%, Ácido Araquídico 0.46%, EPA 3.49% y DHA 2.61%. La relación de omegas $\omega 6/\omega 3$ 2.245.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios que permitan conocer la concentración de los ácidos grasos en las muestras de aceites antes y después de ser expuestos al método acelerado de Rancimat.
- Realizar estudios de mezclas de aceite de pescado por su amplia concentración de omega 3 y otros aceites ricos en omega 6 tales como aceite de chía, moringa, entre otros.
- Realizar estudios que permitan conocer la concentración de tocoferoles y polifenoles en los aceites.
- Se recomienda hacer estudios para determinar la estabilidad de aceite de pescado agregando antioxidantes naturales y artificiales para su conservación.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA

- Aghbashlo M., Mobli H., Madadlou A., Rafiee S. (2012). *Influence of Wall Material and Inlet Drying Air Temperature on the Microencapsulation of Fish Oil by Spray Drying*. Food Bioprocess Technol, pp 1561-1569.
- Ardiles-Falcón N., Mozo-Malca V. (2017). *Determinación del Tiempo de Vida útil del aceite crudo de pescado usando antioxidantes sintéticos y naturales mediante uso del Rancimat*. Tesis de Grado para optar el Título de Ingeniero. Escuela de Agroindustria, Universidad Nacional del Santa.
- Barbero-López M. (2017). *Estudio de la Alteración Oxidativa del Aceite de Oliva Virgen: Compuestos Fenólicos*. Trabajo de Fin de Grado en Farmacia. Universidad de Sevilla, España.
- Barjol JL. (2013) *Introduction*. En: Aparicio R, Harwood J, editores. *Handbook of Olive Oil*. 2ª ed. New York: Springer. Pág.1-17.
- Barranco D., Fernández-Escobar R., Rall L. (2008) *El cultivo del Olivo*. 6ta Ed. Madrid: Mundi-Prensa.
- Boskou D. (2015). *Olive oil: Properties and Processing for use in food*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Pág 3-38.
- Cabezas-Zábala C., Hernández-Torrez B., Vargas-Zárate M. (2016). *Aceites y grasas: efecto en la salud y regulación mundial*. Revista de Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia.
- Canales-Flores E., Huamaní-Gallegos L., Medrano-Lozano M., Villasis-Izaguirre M. (2017). *Planeamiento Estratégico para la Industria de Harina y Aceite de Pescado del Perú*. Tesis de Grado. Pontificia Universidad Católica del Perú, Escuela de Posgrado. Pág 40-45.
- Casanovas-Castro M. (2012). *Metabolismo de compuestos fenólicos en olivas y estudio de aceites de oliva singulares de la provincia de Lleida*. Tesis Doctoral.
- Casp, A., y Abril, J. (1999). *Procesos de Conservación de Alimentos*. Madrid, España: Mundi-Prensa.

- Cedrés, J., Rébak, G., Patiño, E., Sánchez Negrette, M., Tuñón, G. (2013). *Ácidos grasos de lípidos intramusculares y grasa de cobertura en búfalos suplementados con aceite de pescado*. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste-Uruguay, 2013
- Cert-Trujillo R. (2017). *Estudio de la Estabilidad Oxidativa de aceites Funcionalizados con derivados de Hidroxitirosol*. Tesis Doctoral. Dpto De Química Orgánica y Farmacéutica, Universidad de Sevilla, pp 99-100.
- Cevik S., Aydin S., Sermet O., Ozkan G., Karacabey E. (2017). *Optimization of Olive Oil Extraction Process by Response Surface Methodology*. Akademik Gida, pp 337-343.
- Chamorro-Zárate A., Pacheco-Barraza M., Tamayo-Restrepo M. (2016). *Estudio científico sobre la adición de Omega-3 (DHA/EPA) para el mejoramiento cognitivo de niños menores de cinco (5) años*. Tesis de Grado. Especialización en Alimentación y Nutrición, Corporación Universitaria Lasallista, Antioquia.
- Chateauneuf., R. (2015). *Los Omegas 3, 6 y 9 y su importancia en la alimentación y la salud*. Artículo Política Agrícola -Universidad de Chile.
- Consejo Oleícola Internacional (COI). (2016). *Norma comercial Aplicable a los Aceites de Oliva y los Aceites de Orujo de Oliva*. España.
- Cyoung-Huei, H., Yu-Chen, H., Chiu-Li, Y., & Sung-Ling, Y. (2014). *A Soybean and Fish Oil Mixture with Different n-6/n-3 PUFA ratios modulates the inflammatory reaction in mice with dextran sulfate sodium-induced acute colitis*. Clinical Nutrition, Vol 34, pp 1018-1024.
- De La Torre-Robles Amelia María. (2015) *Aceite de Oliva Virgen, Calidad Nutricional y Propiedades Saludables*. Tesis Doctoral, Dpto Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada.
- Díaz-Montaña E. (2017). *Desarrollo de un método verde para evaluar el tiempo de vida útil de aceites de oliva vírgenes*. Tesis. Universidad de Sevilla facultad de farmacia Departamento de Química Analítica. Sevilla, España.

- Dinkov R., Stratiev D., Shishkova I., Ivanov S., Tsaneva T., Mitkova M., Skumov M. (2015). *Assessment of shelf life of Bulgarian industrial FAME by the use of modified ASTM D2274 as accelerated oxidation method*. Fuel Processing Technology. Vol 130, pp 245-251.
- Domínguez-Alba A., Jimenez-Gonzales D. (2017). *Caracterización y estimación de la vida útil del aceite de castaña (bertholletia excelsa) mediante pruebas aceleradas*. Tesis de Grado. Facultad de ingeniería. Universidad Nacional del Santa.
- Esquivel-Paredes L., Campos-Grijalva A., Castillo-Martinez W. (2017). *Optimización de la temperatura de secado y presión de vacío en la decoloración y composición del aceite crudo de pescado*. Rev Investigación Altoandina. pp 61-72
- Essiari M., Zouhair R., Chin H. (2014). *Contribución al estudio de la tipicidad de los aceites de oliva vírgenes producidos en la región de Sais (Marruecos)*. Olivae-Revista Oficial del Consejo Oleícola Internacional. N° 119, pp 8-23.
- Fadhil A., Al-Tikrity E., Albadree M. (2015). *Transesterification of novel feedstock, Cyprinus Carpio Fish Oil: Influence of co-solvent and characterization of Biodiesel*. ElSevier. Vol 162, pp 215-223
- Focke, W.W. Westhuizen I.V., Oosthuysen X. (2016). Biodiesel oxidative stability from Rancimat data. *Thermochimica Acta.*, Vol. 633, pp 116-121.
- Fuentes-Seguel T. (2015). *Influencia de la latitud, practicas agronomicas y variedad de cultivo en la evolucion de los compuestos responsables del flavor del aceite de oliva virgen extra*. Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile, pp 33-34.
- García-Moreno, P. J., Pérez-Gálvez, R., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2013). *Influence of the parameters of the Rancimat test on the determination of the oxidative stability index of cod liver oil*. LWT. Food Science and Technology, 51(1), pp 303–308.

- García-Rodríguez Rosa María. (2013). *Factores Bioquímicos implicados en la Degradación oxidativa de compuestos fenólicos durante el proceso de obtención del aceite de oliva virgen*. Tesis Doctoral. Dpto Bioquímica Vegetal y Biología Molecular, Universidad de Sevilla. Pág 9-11
- García-Solaesa A., Sanz M., Melgosa R., Beltrán S. (2018). *Oxidation kinetics of sardine oil in the presence of commercial immobilized lipases commonly used as biocatalyst*. Food Science and Technology. Vol 96, pp 228-235.
- Garla P., Waitzberg D. (2014). *Contribución de los Ácidos Grasos Omega-3 para la Memoria y la Función Cognitiva*. Rev. Nutrición Hospitalaria, 30(3): 467-477
- Garrido-Delgado R., Dobao-Prieto M., Arce L., Valcárcel M. (2015). *Determination of volatile compounds by GC-IMS to assign the quality of virgin olive oil*. Food Chem, pp 572-579.
- Gonzáles-Montes (2012) afirmó que “los tocoferoles se utilizan como estabilizadores de aceites esenciales..” en Mitarai A., Tokonaga A., Mukai K., Abe K.(2008) Kinetic Studies of the free Radical-Scavenging Actions of Tocopherol Metabolites (α -, γ -, and δ -Carboxyethyl-6-hydroxychroman) and Trolox in Ethanol and Micellar Solution. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol: 56, 84-91
- Gonzales-Montes C. (2012). *Evaluación fisicoquímica y capacidad antioxidante del aceite de amaranto (Amaranthus hypochondriacus) y estabilidad oxidativa de diferentes sistemas de encapsulación*. Tesis. Universidad Autónoma de Queretaro.
- Grati-Kammoun, N. & Laroussi, S. (2013). *L'expérience tunisienne dans l'élaboration des signes de qualité dans l'huile d'olive*. CIHEAM, Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, 104, 8
- Guerra-López, M. (2009). *Radicales Libres y Estrés Oxidativo*. Bogotá-Colombia: Pontificia Universidad Javeriana.
- Guevara-Perez R. (2016). *Los Aceites y Acidos Grasos del Pescado, Su procesamiento y uso para el Consumo Humano directo, Animal e*

Industrial. Informe Final. Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos, Universidad Nacional del Callao.

- Guillén M.D., Cabo N., (2002). *Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils*. Food Chemistry, 77:503-5010.
- Guirado B. O. (2015). *Dietary omega-3 and omega-6 fatty acids and mammary carcinogenesis: molecular and celular bases*. Medicentro, Universidad de Ciencias Médicas, Villa Clara. Cuba.
- Gutiérrez-Salinas J., Mondragón-Terán P., García-Ortíz L., Hernández-Rodríguez S., Ramírez-García S., Núñez-Ramos N. (2014). Breve Descripción de los mecanismos moleculares de daño celular provocado por los radicales libres derivados de oxígeno y nitrógeno. *Rev Especialidades Médico-Quirúrgicas.*, Vol 19, pp 446-454.
- Haddam M., Chimi H., El-Antari A., Zahouily M., Mouhibi R., Zaz A., Ibrahimi M., Amine A. (2014). Caracterización fisicoquímica y estabilidad oxidativa de los aceites de oliva de las variedades "Pcholine marocaine", "Haouzia", "Koroneiki" y "Arbequina" de la región pleícola central de Marruecos (Chauía-Uardiga). *Olivae N°119-Revista Oficial del Consejo Oleícola Internacional*.
- IFFO. (24 de Abril de 2018). International Fishmeal and Fish Oil Organisation. Obtenido de IFFO: <http://www.iffonet.es>
- Jiménez B., Sánchez-Ortíz A., Lorenzo ML., Rivas A. (2014). *Influence of the malaxation time and olive ripening stage on the physico-chemical and nutritional characteristics of virgin olive oils*. International Journal of Food Science and Technology:221-234.
- Jiménez-Herrera B. (2011). *Evolución del perfil sensorial del aceite de oliva virgen en la maduración y su influencia en el diseño de almazara*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada,
- Kotsiou K., Tasioula-Margari M. (2015). *Changes occurring in the volatile composition of Greek Virgin olive oils during storage: Oil variety influences stability*. European Journal Lipid Science and Technology, pp 514-522.

- Kozak W., Samotyja U. (2013). *The Use of oxygen content determination method based on fluorescence quenching for rapeseed oil shelf-life assessment*. Food Control 33(1):162-165.
- Lee H., Liang A., Lin Y., Guo Y., Huang S. (2017). *Low Dietary n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratio prevents induced oral carcinoma in a hamster pouch model*. Science Direct.
- Lukic M., Lukic I., Krapac M., Sladonja B. (2013) *Sterols and triterpene diols in olive oil as indicators of variety and degree of ripening*. Food Chemistry 136(1):251-8.
- Mansouri, F., Moumen B., Houmy, N., Richard, G., Fauconnier, M., Sindi, M., Serghini C., Elamrani A. (2015). *Evaluación de la estabilidad oxidativa de los aceites de oliva obtenidos a partir de la mezcla de aceite Arbequina con otros aceites de oliva monovarietales*. Olivae: revista oficial del Consejo Oleícola Internacional, pp 23-30.
- Marquez., G. (2013). *Compuestos de oxidación lipídica mayoritarios en los alimentos: nuevos métodos para su determinación cuantitativa y efectos sobre modelos celulares Caco-2*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).
- Martínez Álvarez JR, Villarino Marín MA, Serrano Morago L, Lezcano Martín C, Urrialde de Andrés R, Sánchez Muñoz FJ. et. al. (2005). *El aceite de oliva y la dieta mediterránea*. 1ª ed. España: Nueva imprenta S.A. [citado mayo 2017]. Disponible en: http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/aceite_de_oliva.pdf.
- Méndez, E., Sanhueza, J., Speisky, H., y Valenzuela, A. (1996). *Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils*. Journal of American Oil Chemists' Society, 73, 1033-1037.
- Mercado-Mercado, G., De La Rosa Carrillo, L., Wall-Mendrano, A., López Díaz, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2013). *Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias de típicas consumidas en México*. Nutr Hops. Vol 28 N° 01, Madrid.
- Moad, G.; Chiefari, J.; Mayadunne, R.; Moad, C.L.; Postma, A.; Rizzardo, E.; Thang, S. (2013). "Initiating free radical polymerization", Macromolecular symposia, 182 (3): 65.

- Mohd-Ali N., Yeap S., K.Ho W., Beh B., K.Tank S., W.Tan S. (2012). *The promising future of Chia, Salvia Hispanica L.* J Biomed Biotechnol, 171956.
- Montañó A., Sáiz-Abajo M., Espinosa F., Garrido I., Llerena J. (2014). *Analysis of the influence of multiple parameters on the comercial categories of Extremadura Virgin olive oils.* National Technological Center for Food and Agriculture. Grasas y Aceites, Vol 65, N° 4.
- Morales MT, Przybylski R. (2013). *Olive oil oxidation.* En: Harwood JL, Aparicio R, editores. *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties.* Gaithersburg, MA (USA): Aspen Publishers. p.459–90.
- Morales-Medina R. (2016). Obtention of functional compounds from fish oil and protein. Doctoral Thesis. *Doctoral Program in Chemistry. University of Granada*
- Moreno B., Lezcano-Solís A. (2015). *Aceite de Oliva: Piedra angular de la dieta Mediterránea.* Olivae: Revista Oficial del Consejo Oleícola Internacional. N° 121, Págs 19-27.
- Naglaa, H., Hassanen, M., Mona, H., & Ahmed, M. (2015). *Protective Effect of Fish Oil and Virgin Olive on Diethylnitrosamine Toxicity in Rats.* Science Publishing Group, pp 388-396.
- Nakatani , N., Tachibana , Y., y Kikuzaki , H. (2001). Establishment of a model substrate oil for antioxidant activity assessment by oil stability index method. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 78, 19–23.
- Nolazco-Cama D., Téllez-Monzón L., Ccapa-Ramirez K. (2015). Influencia de la concentración de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) en el tiempo de vida en anaquel del aceite de oliva (*Olea europaea*) extra virgen. *Rev Ulima, Universidad Nacional Agraria La Molina.*
- Nores-Sonzini C., Pomar M. (2017). *Modificaciones químicas por tratamientos térmicos en el Aceite de Oliva Extra Virgen.* Trabajo de Investigación para optar la Licenciatura en Nutrición. Universidad Nacional de Córdoba.

- Olivares-López MJ. (2005) *Calidad del Aceite de Oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica*. Tesis Doctoral en Farmacia. Granada: Universidad de Granada. España.
- Parkinson L., Cicerale S. (2016). *The Health Benefiting Mechanisms of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds*. Department of Medical and Health Science. Rev Molecules. Swinburne University, Australia.
- Pastrana-Moncayo L. (2016). *Análisis de la Calidad del Aceite de Oliva Virgen: relación entre la estabilidad oxidativa y la composición fenólica*. Tesis para optar el grado de Ingeniero. Universidad de Sevilla, España.
- Paucar-Menacho L., Salvador-Reyes R., Guillén-Sánchez J., Caparobles J., Moreno-Rojo C. (2015). *Estudio Comparativo de las Características físico-químicas del aceite de sacaha inchi (Plukenetia Volubilis L.), aceite de oliva (Olea europaea) y aceite crudo de pescado*. Scientia Agropecuria, vol 6 N° 4, pp 279-290.
- Pérez- Camino, M. C., Moreda, W., Mateos, R., Cert, A. (2003). *Simultaneous determination of long- chain aliphatic aldehydes and waxes in olive oils*. Journal of Chromatography A, 983 (1- 2), 283- 288
- Pérez-Magro M. (2015). *El Valor económico del aceite de oliva en España: El oro verde de la dieta mediterránea*. Tesis de Grado en Nutrición Humana y Dietética. Universidad de Valladolid. España.
- Peyrol J., Riva C., Amiot MJ. (2017) *Hydroxytyrosol in the Prevention of the Metabolic Syndrome and Related Disorders*. Nutrients. Avignon University, France.
- Piedrahita-Correa M. (2015). *Estabilidad oxidativa y vida útil del Aceite de Choibá (Dipteryx oleifera Benth.) suplementado con extracto de romero (Rosmariuns officinalis L.)*. Tesis de Posgrado. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Pág. 79-83
- Pinchuk I., Lichtenberg. D. (2014). *Analysis of the kinetic of lipid peroxidation int erms of characteristic time-points*. Chem Phys Lipids., 63-76.
- Quispe-Montalvo, A. (2015). *Relación del consumo de alimentos fuentes de omega 3 en niños hiperactivos con déficit de atención del nivel*

primario “Santa Maria” N° 70536 Juliaca-Puno 2015. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Altiplano.

- Ract J., Shafer F., Gomes H., Bortolon J., Masahiro G., Almeida M., Hatanaka E., Curi R., Gioielli L. (2015). Production of vegetable oil blends and structured lipids effect on wound healing. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(2), 415-427.
- Reboredo-Rodríguez (2015). *Caracterización aromática y fenólica de aceitunas y aceites de oliva producidos en Galicia*. Tesis Doctoral. Dpto Química Analítica y Alimentaria, Universidad de Vigo.
- Reboredo-Rodríguez P., Gonzales-Barreiro C., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J. (2012) *Dynamic headspace//GC-MS to control the aroma fingerprint of extra-virgin olive oil from the same and different olive varieties*. *Food Control* 25, 684-695
- Rigane, G., Boukhris, M., Bouaziz, M., and Sayadi, S. and Ben Salem, R. (2013). *Analytical evaluation of two monovarietal virgin olive oils cultivated in the south of Tunisia: Jemri-Bouchouka and ChemlaliTataouin cultivars*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93: 1242–1248
- Robalino-Jaime J. (2009). *Aprovechamiento de Residuos Pesqueros para la Obtención de Ácidos grasos omega 3 en el procesamiento de productos alimenticios*. Tesis de Grado, Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la producción. Escuela Superior Politécnico del Litoral.
- Rodríguez S., Escobar A., Ortiz E. (2010) *Desarrollo de una Prueba de Estabilidad Oxidativa del Aceite de Pescado, Comparando Medidas de Técnicas Bromatológicas con las de Calorimetría Diferencial de Barrido*, *Revista Colombiana de Física*, Vol. 42, No. 2,
- Rodríguez, G.; Villanueva,E.; Glorio, P.; Baq, M. (2015) *Estabilidad oxidativa y estimación de la vida útil del aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.)*. *Scientia Agropecuaria*, 6 (3): 155 – 163.
- Roldán-Acero D. (2016). *Extracción y Refinación de Aceite Crudo de Pescado*. Artículo de Clase. Facultad de Pesquería, Universidad Nacional Agraria La Molina.

- Roman O., Heyb. B., Broyart B., Castillo R., Maillard M. (2013). *Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids from sunflower, high oleic sunflower and rapessed oil subjected to heat treatment, under controlled conditions*. Food Science Technology, pp 49-59.
- Romero del Rio, Inmaculada. (2015) *Evaluación de indicadores de la calidad del aceite de oliva virgen: fortalezas, debilidades y oportunidades*. Tesis Doctoral. Instituto de la Grasa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C), Sevilla.
- Ros E., López-Miranda J., Pico C., Rubio M., Babio N., Sala-Vila A., Pérez-Jiménez F., Escrich E., Bullo M., Solanas M., Gil-Hernández A., Salas-Salvado J. (2015). *Consenso sobre las grasas y aceites en la alimentación de la población española adulta; postura de la Federación Española de Sociedades de Alimentación, Nutrición y Dietética (FESNAD)*. Artículo Nutrición Hospitalaria. Pág 435-477.
- Ruiz-Pineda C. (2016). *Calidad de los Aceites de Oliva Virgen Extra de Sierra y Campiña de la Provincia de Jaén* Trabajo de Fin de Máster. Dpto Química Física y Analítica. Universidad de Jaén, Perú.
- Ruiz-Roca, B., Delgado-Andrade, C., Navarro, M., & Seiquer, I. (2011). *Effects of Maillard reaction products model systems on oxidates stress markers and against oxidative induction by hydrogen peroxide in caco-2-cells*. Journal of Food and Nutrition Research. Vol 50, N° 4, pp 237-248.
- Saldívar-Ramírez M. (2018). *Estudio de la cinética de la transesterificación de aceites vegetales y grasas animales con cromatografía de gases*. Tesis de Psgrado. Ingeniería Energética. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, pp 33-38.
- Schuchardt JP., Hahn A. (2013). *Bioavailability of long-chain omega-3 fatty acids*. Rev El Sevier, Pág 1-8.
- Silva-Ortiz., C. (2013). *Levantamiento y Procesamiento de Información de Nueve Variedades de Olivo con Potencial Económico para el mejoramiento de la oferta exportable de la industria Olvícola nacional-Tercera Contribución*. Tesis de Grado, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile, pp 48-50.

- Sparkman, D.O., Penton, Z.E., Kitson, F.G. (2011). *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide*. 2ª Edición. Elsevier, Amsterdam.
- Valenzuela B., Sanhueza C., De la Barra D. (2012). *El aceite de pescado: ayer un desecho industrial, hoy un producto de alto valor nutricional*. Revista Chil Nutr Vol. 39, N°2.
- Valenzuela, B., Sanhueza, C., & Fernando de la Barra, D. (2012). *El aceite de pescado: ayer un desecho industrial hoy un producto de alto valor nutricional*. Rev Chilena de Nutrición. Sociedad Chilena de Nutrición, Bromatología y Toxicología. Vol 39, pp 201-209.
- Vilar, J., Cárdenas, J.R y Estévez, A. (2015). *El sector internacional de elaboración de aceite de oliva: Un estudio descriptivo de los distintos países productores*. GEA Westfalia Separator Ibérica.
- Villanueva E., Rodríguez G., Aguirre E., Castro V. (2017). *Influencia de antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de chia (Salvia hispanica L.) por rancimat*. Scientia Agropecuaria. Vol. 8, Num 1. pp 19-27.
- Villanueva, E., y Castillo, D. (2013). *Influencia de los parámetros Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa del aceite de Sesamum indicum L.* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Santa, Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Chimbote, Perú.
- Yang L., Song Z., Yin H., Wang Y., Shu G., Lu H., Wang S., Sun G. (2015). *Low n-6/n-3 PUFA Ratio Improves Lipid Metabolism, Inflammation, Oxidative Stress and Endothelial Function in Rats Using Plant Oils as n-3 Fatty Acid Source*. CrossMark.
- Yu H., Li Y., Meng H., Bai X., Fan Z., Yu F., Guo A. (2015). *A low ratio of n-6/n-3 Polyunsaturated fatty acids Suppresses matrix metalloproteinase 13 expression and reduces adjuvant-induced arthritis in rats*. Science Direct.

ANEXOS

ANEXO N°01

Procedimiento Experimental

- Mezcla de aceite de Pescado y Oliva



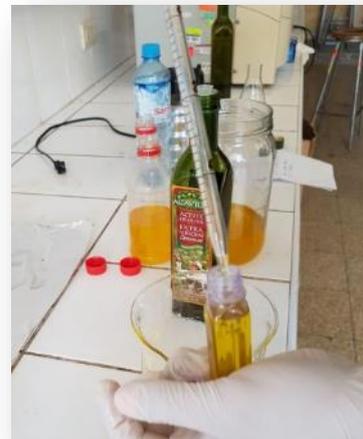
Aceite de Oliva Extra virgen
obtenido de mercado local



Aceite de Pescado brindado
por la empresa CFG-
COPEINCA S.A.C



MEZCLA (Aceite
Pescado/Oliva)
M₁: 50:50
M₂: 40:60
M₃: 30:70
M₄: 20:80



- Análisis fisicoquímicos

- Humedad



Pesar 10 gr de muestra en un vaso beaker previamente tarado, llevar a la estufa a

Retirar y colocar al desecador por 30 min aproximadamente y pesar.

- Color



Homogenizar la muestra y filtrar. Verter una pequeña cantidad de la muestra a un tubo de ensayo dejando un espacio de luz de la muestra y la parte superior del tubo de ensayo. Colocar en el colorímetro.

- Índice de Refracción



Agregar una gota de muestra al refractómetro y presionar START para lectura.

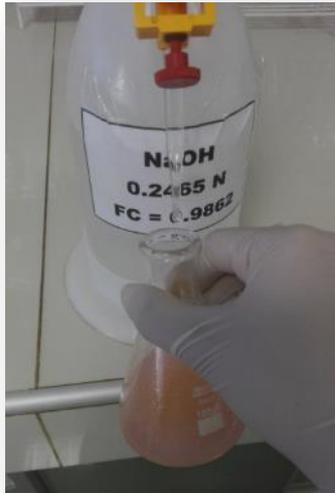
○ Índice de Acidez



Pesar de 7g – 8g de aceite homogenizado y adicionar 40 ml de alcohol etílico al 95% neutralizado



Calentar la muestra, retirar el matraz y adicionar 10 gotas de fenolftaleína



Titular con solución de Hidróxido de Sodio 0.25 N, hasta que la muestra se torne un color rosado.

○ Índice de Peróxido



Pesar 2.5 gr de aceite homogenizado y adicionar 15 ml de solución Ácido acético/cloroformo. Luego agregar 250 μ l KI saturado.



Agitar y agregar 15 ml de agua destilada. Titular con tiosulfato de sodio al 0.1 N de color amarillo a pajizo. Luego añadir 250 μ l de almidón 1% y volver a titular hasta virar a color blanco.

o Índice de Yodo



Pesar de 0.1000-0.2000g de muestra en un matraz con tapa de vidrio, luego añadir 10 ml de cloroformo.



Añadir por las paredes del matraz 10 ml de solución KI al 15% y agitar, luego añadir 100 ml de agua destilada y titular con tiosulfato de sodio a 0.1 N hasta que la solución amarilla disminuya su color



Añadir unas gotas de indicador almidón, la solución se tornará azul oscuro. Continuar la titulación hasta que desaparezca por completo el color azul y la solución se torne transparente.

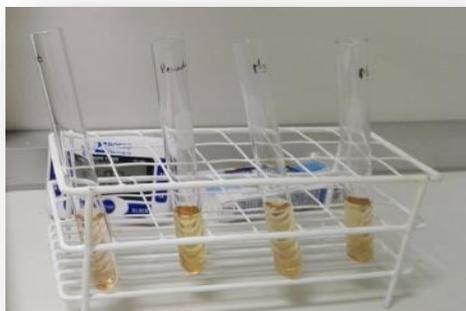
○ Índice de Anisidina



Pesar en una fiola con precisión hasta la cuarta cifra decimal, de 0.2 g a 0.5 g, En un beaker agregar aproximadamente 25 ml de Hexano, luego agregarlo a la fiola y aforarlo.



Trasvasar el contenido de la fiola a la celda de cuarzo, (llenarlo hasta los $\frac{3}{4}$ de la celda) y ubicarlo en la posición 1, empleando como blanco en la otra celda hexano puro, medir la absorbancia a 350 nm con la tapa del equipo cerrada. El resultado obtenido se denomina Ab.



Luego en un tubo de ensayo transvasar exactamente 5 ml de la solución de la fiola , y en otro tubo de ensayo añadir 5 ml de hexano. Con una pipeta, añadir exactamente 1 ml de reactivo anisidina a cada tubo. Agitar y dejar en reposo durante 10 minutos.



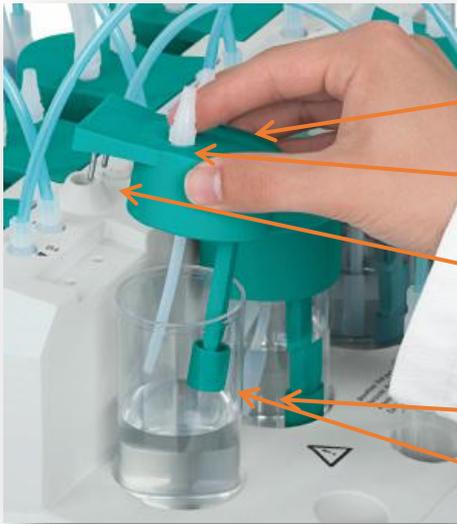
Trasvasar el contenido de los tubos a las celdas de medición, previamente enjuagadas con hexano, medir la absorbancia de la solución a 350 nm empleando como blanco la solución de hexano-anisidina; con la tapa del equipo cerrado. Registrar el dato como A_s

- Análisis Rancimat



Preparación de muestra, pesar 3 gr.

ELECTRODOS



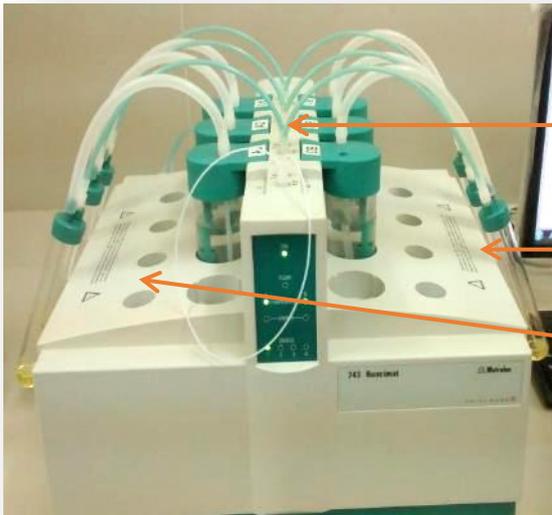
Entrada de volátiles

Salida de volátiles

Ánodo / Cátodo

Vaso policarbonato (60 ml)

Detector



Rancimat 743

Canales

Bloque B

Bloque A



Ácido fórmico

ANEXO N°02

Índice de Estabilidad Oxidativa del aceite de Oliva, aceite de Pescado y sus mezclas

Los resultados del cuadro muestran la estabilidad oxidativa del aceite de pescado, aceite de oliva y las mezclas propuestas y como va disminuyendo a medida que aumenta la temperatura

Tabla 17. Índices de Estabilidad Oxidativa (OSI) del aceite de pescado, aceite de oliva y mezclas (M1, M2, M3 y M4)

Muestras	Temperatura		
	100 °C	110 °C	120 °C
	0.24	0.12	0.11
AP	0.09	0.13	0.12
	0.15	0.19	0.12
	0.98	0.43	0.18
M1 (AP/AO 50/50)	0.98	0.66	0.18
	1.08	0.5	0.19
	0.829	0.13	0.26
M2 (AP/AO 40/60)	1.265	0.55	0.233
	1.24	0.51	0.26
	2.39	1.11	0.54
M3 (AP/AO 30/70)	2.36	1.1	0.52
	2.23	1.11	0.5
	3.51	1.74	0.84
M4 (AP/AO 20/80)	3.33	1.77	0.8
	3.39	1.68	0.8
	17.72	7.56	3.48
AO	16.36	7.71	3.58
	16.95	7.34	3.48

A continuación, se muestran las curvas Rancimat, conductividad ($\mu\text{s}/\text{cm}$) vs tiempo (hr), que evidencian el efecto de las condiciones experimentales de temperatura y concentraciones de las mezclas de aceite de pescado y aceite de oliva.

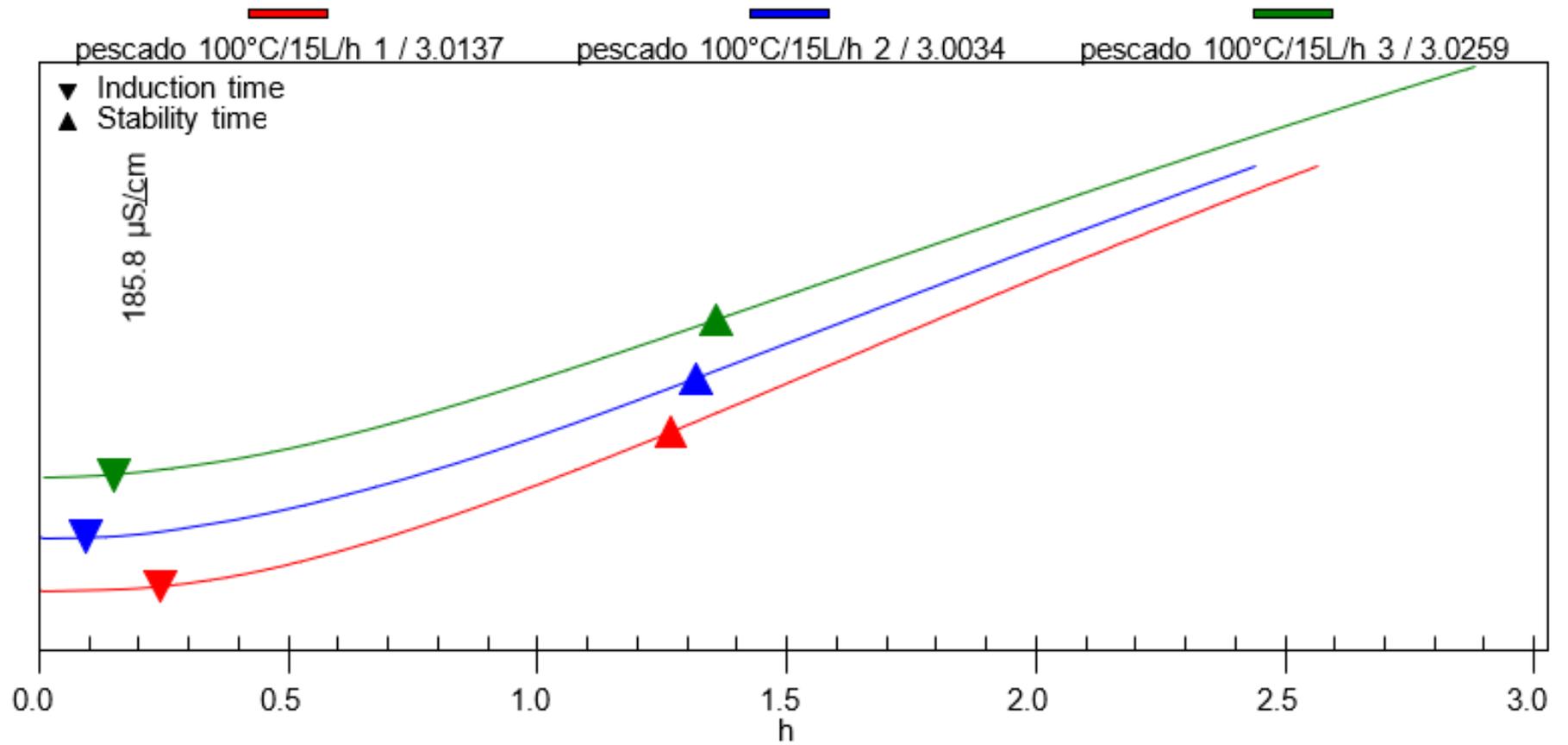


Figura 16. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C de Aceite de pescado

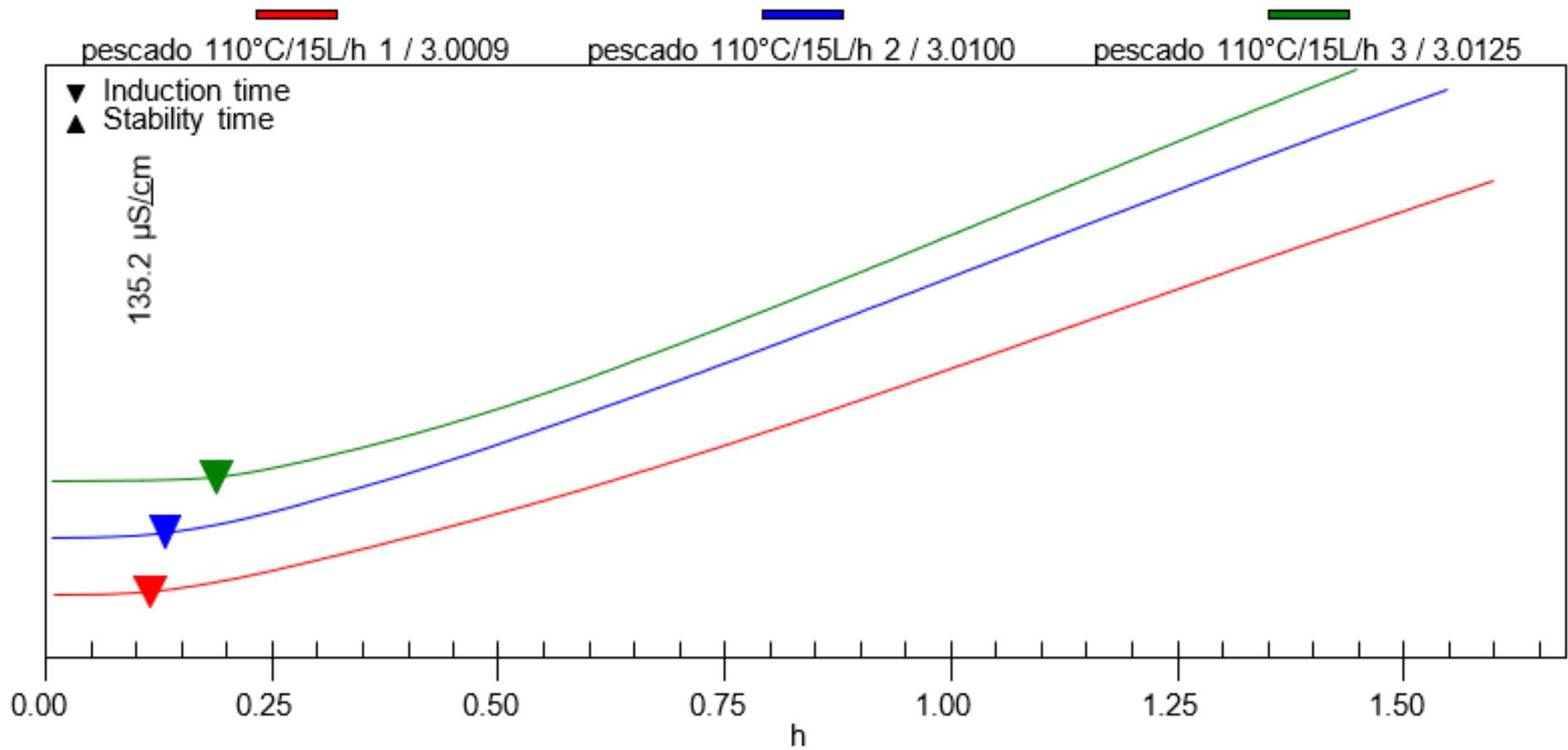


Figura 17. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C de Aceite de pescado

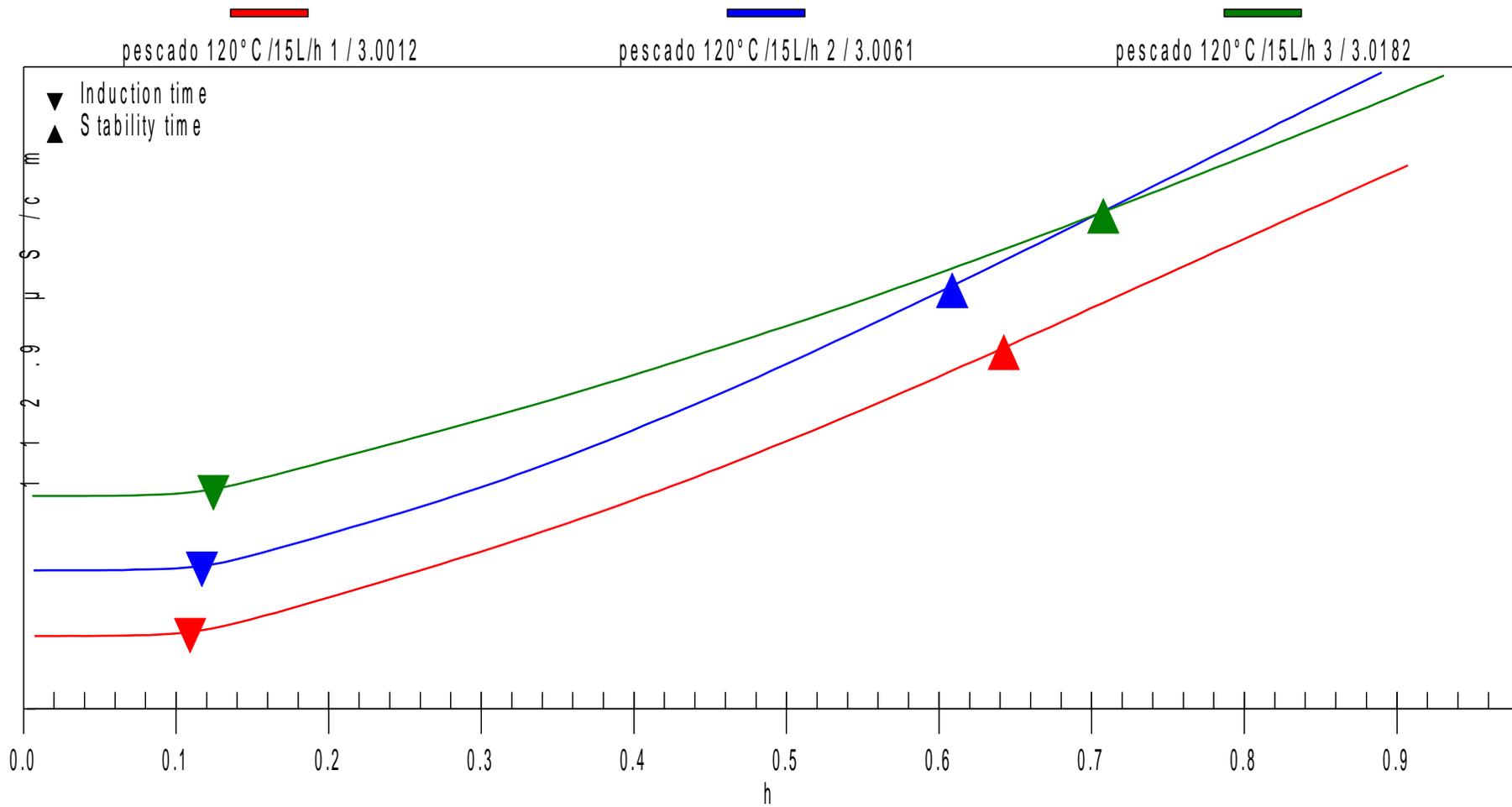


Figura 18. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de Aceite de pescado

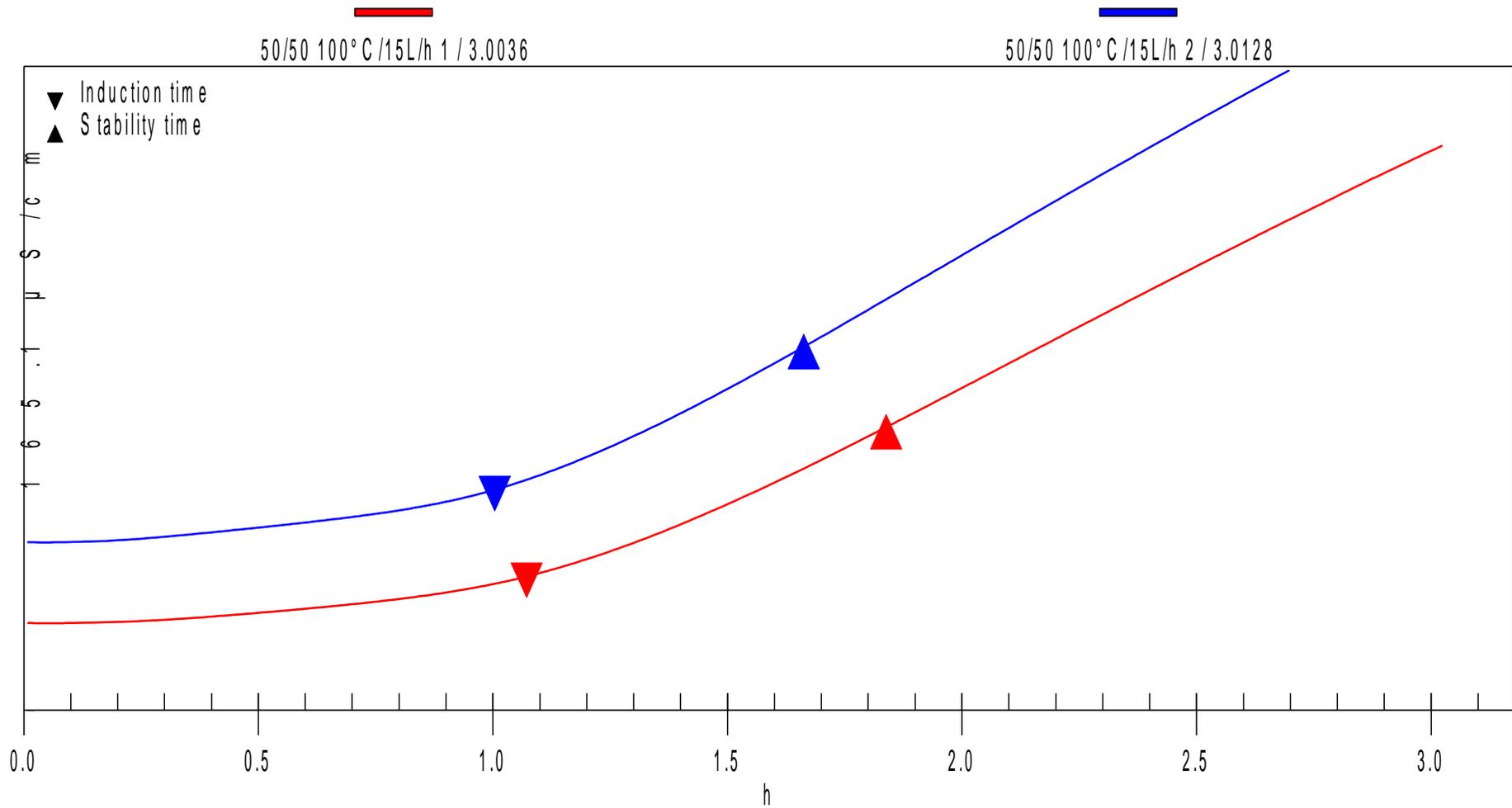


Figura 19. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C de la muestra 01 AP/AO (50:50)

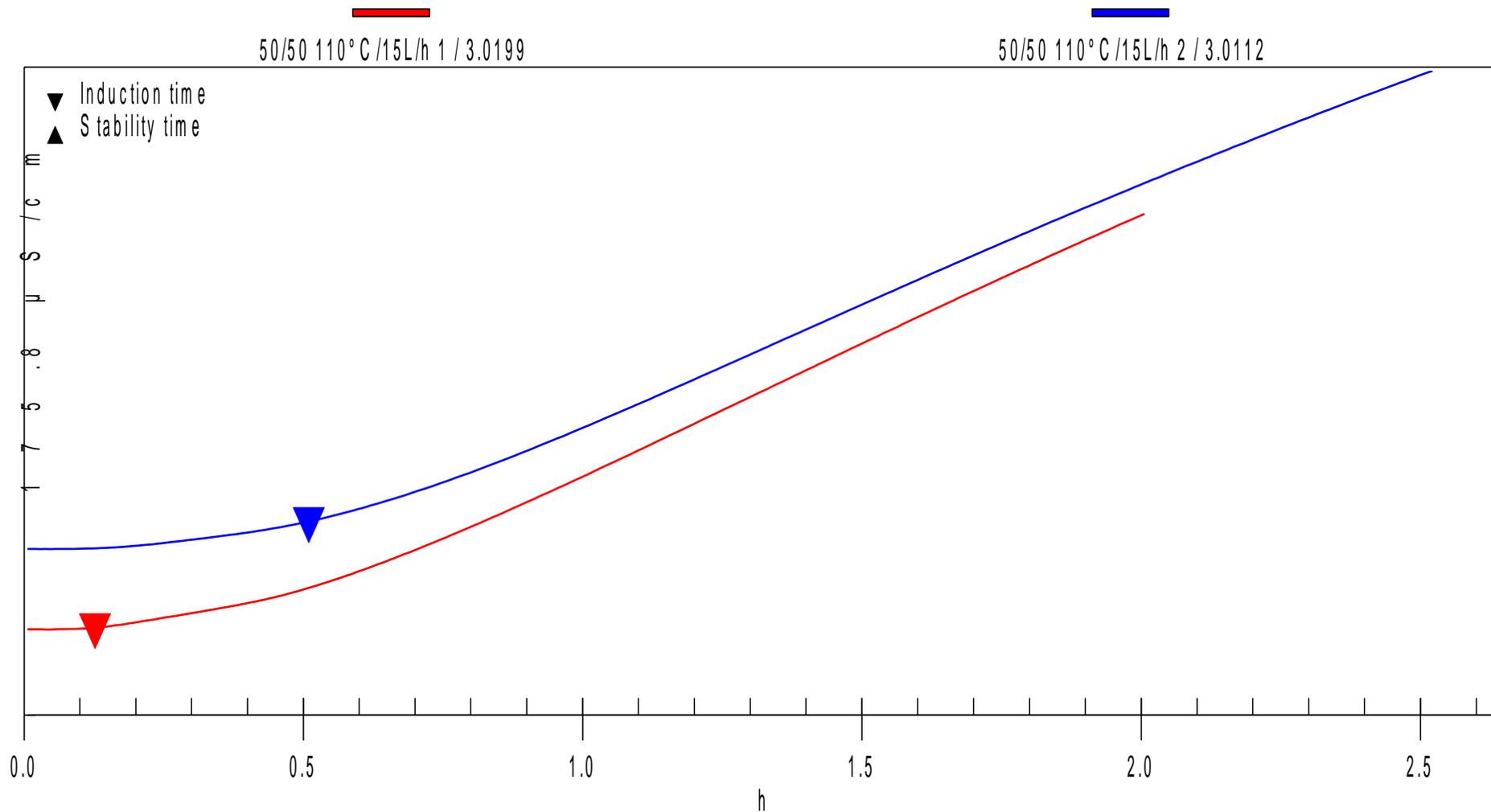


Figura 20. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C de la muestra 01 AP/AO (50:50)

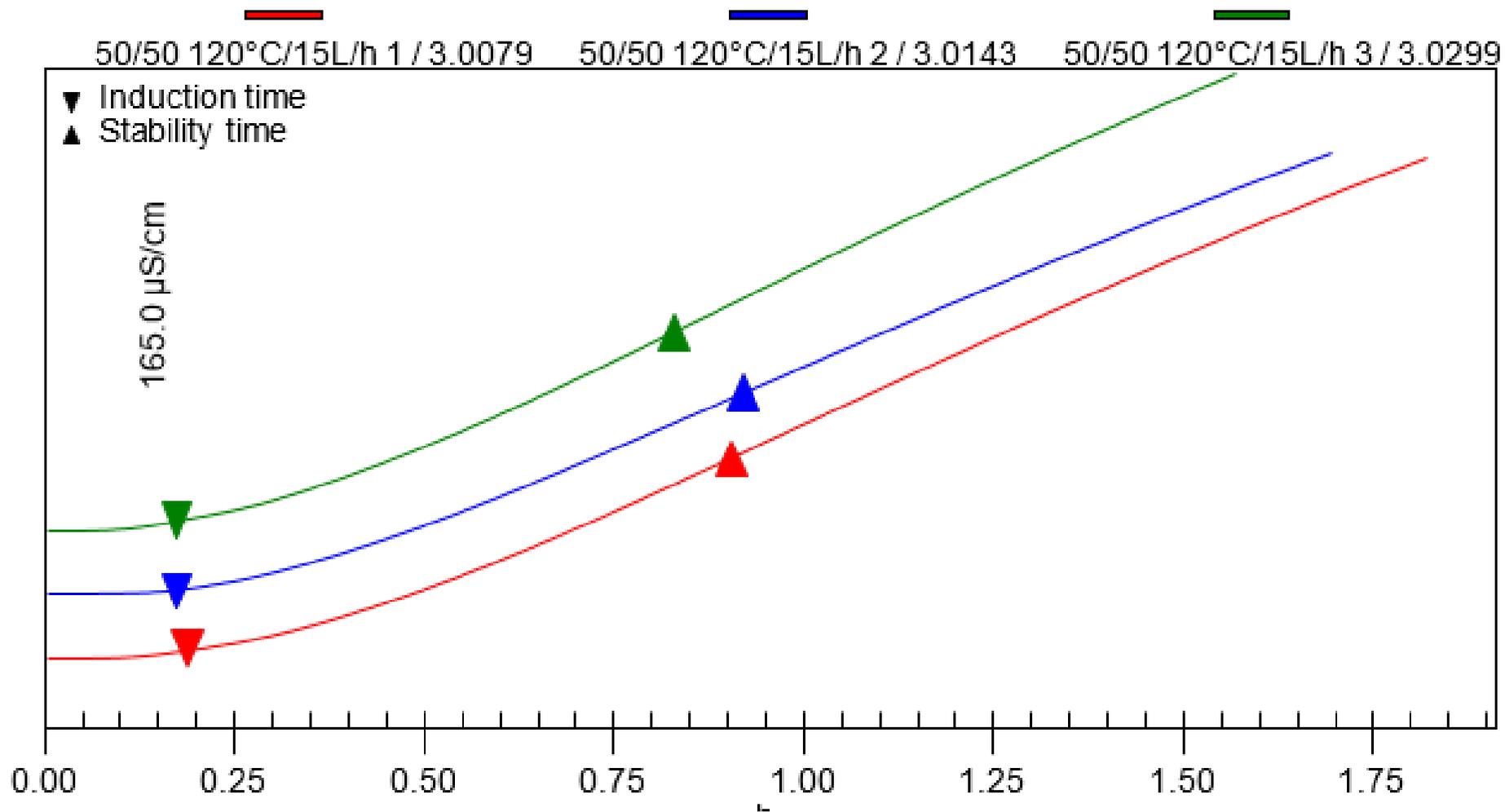


Figura 21. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de la muestra 01 AP/AO (50:50)

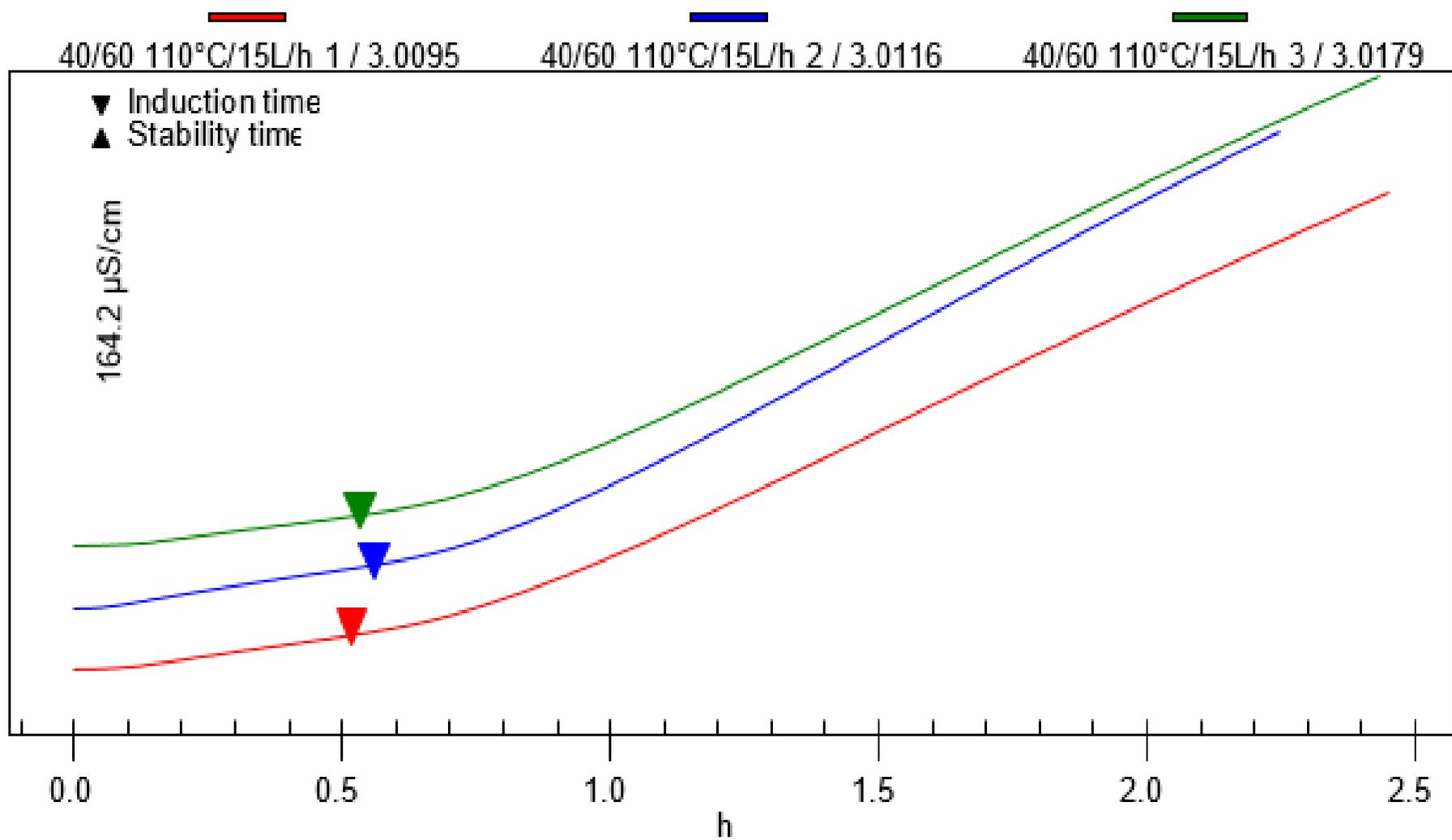


Figura 22. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C de la muestra 02 AP/AO (40:60)

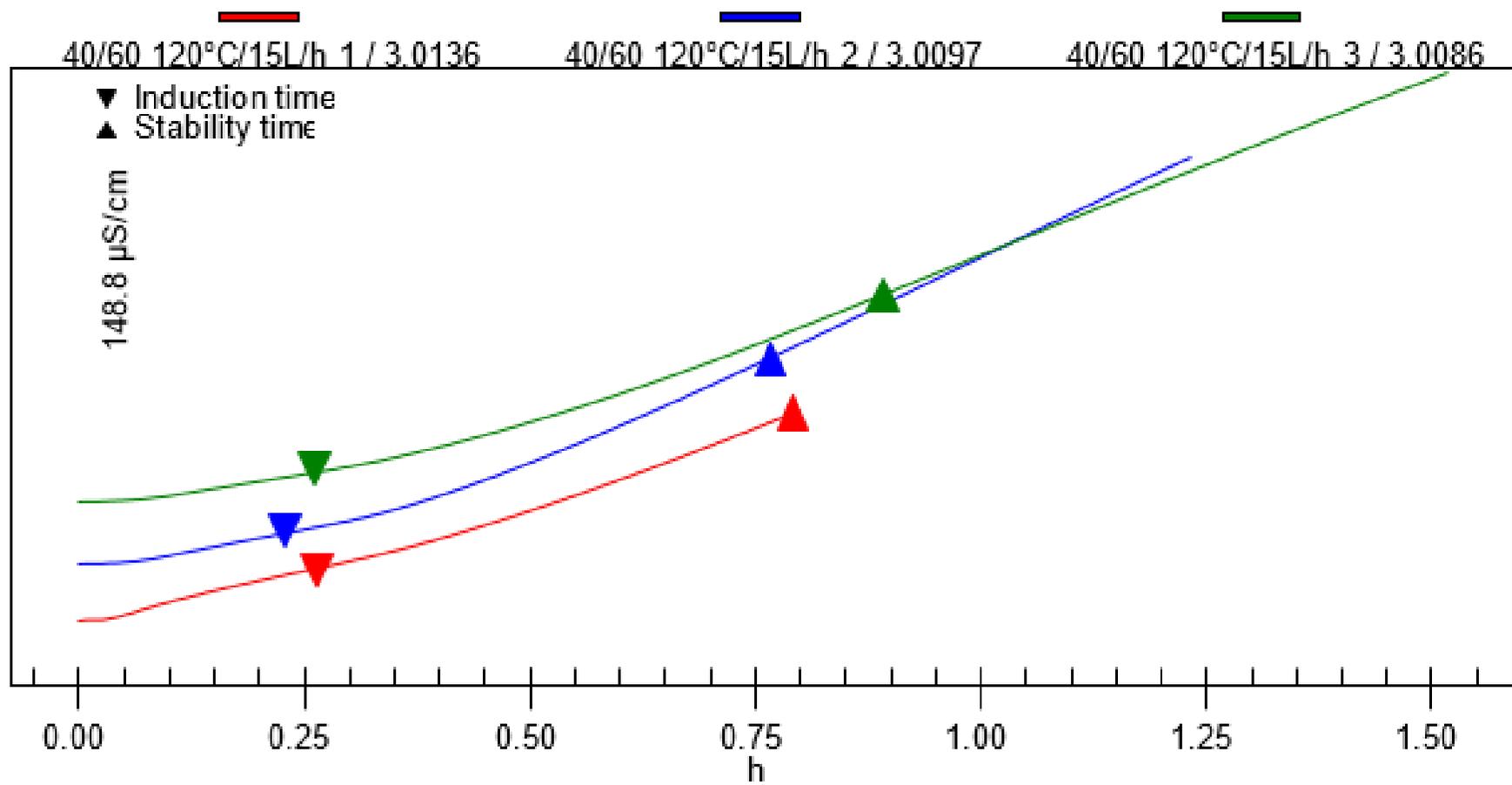


Figura 23. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de la muestra 02 AP/AO (40:60)

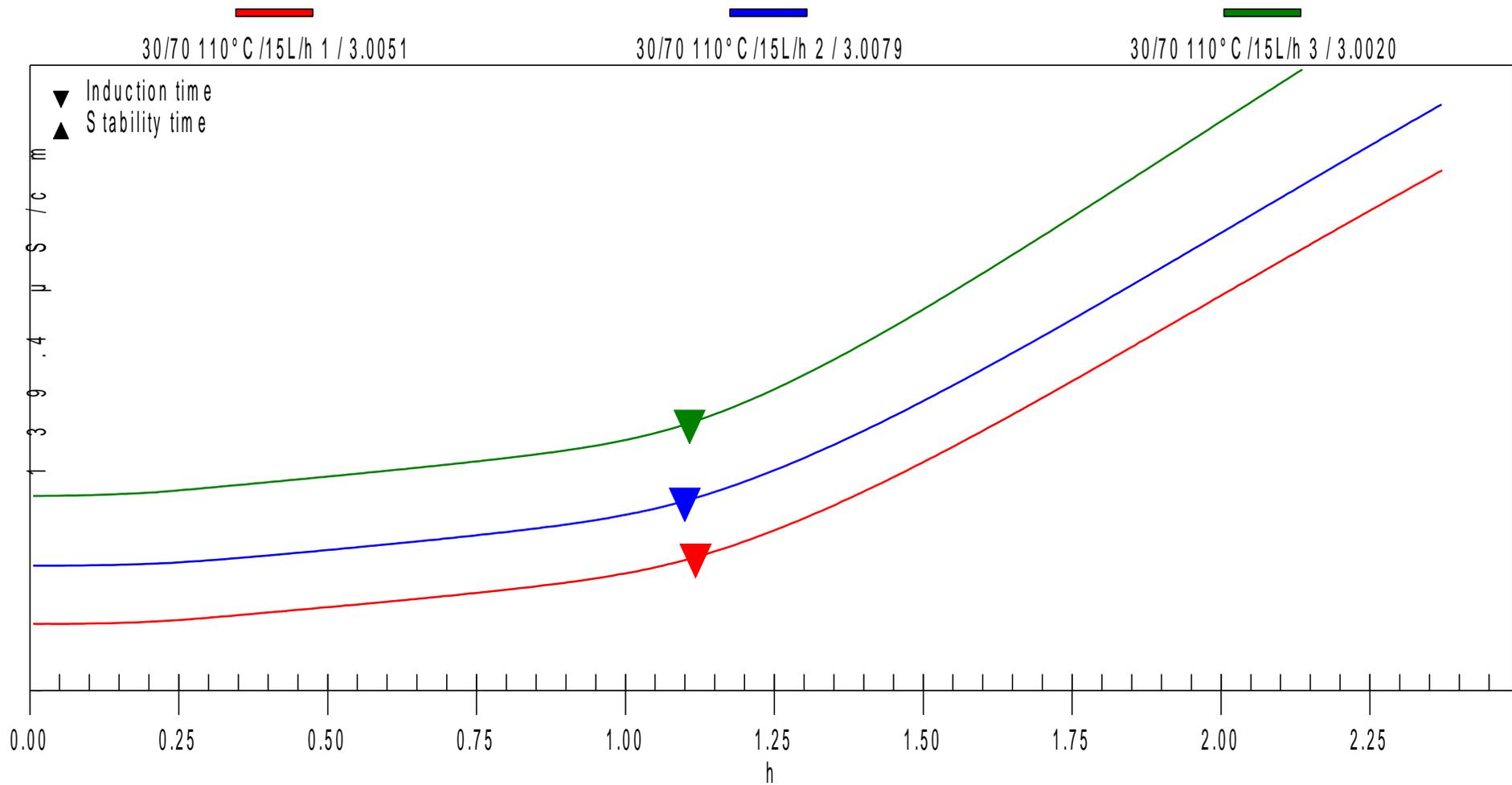


Figura 24. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C de la muestra 03 AP/AO (30:70)

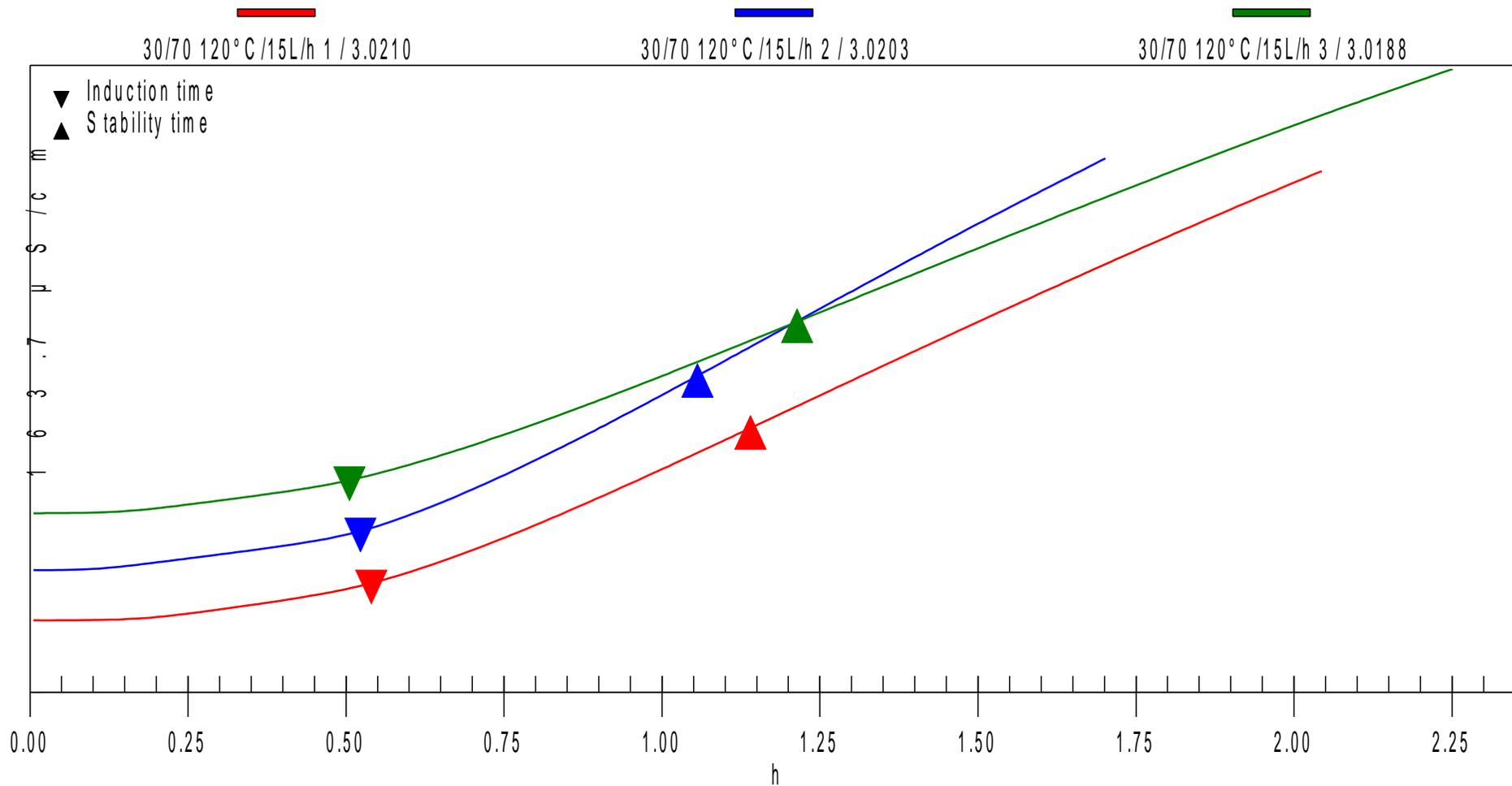


Figura 25. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de la muestra 03 AP/AO (30:70)

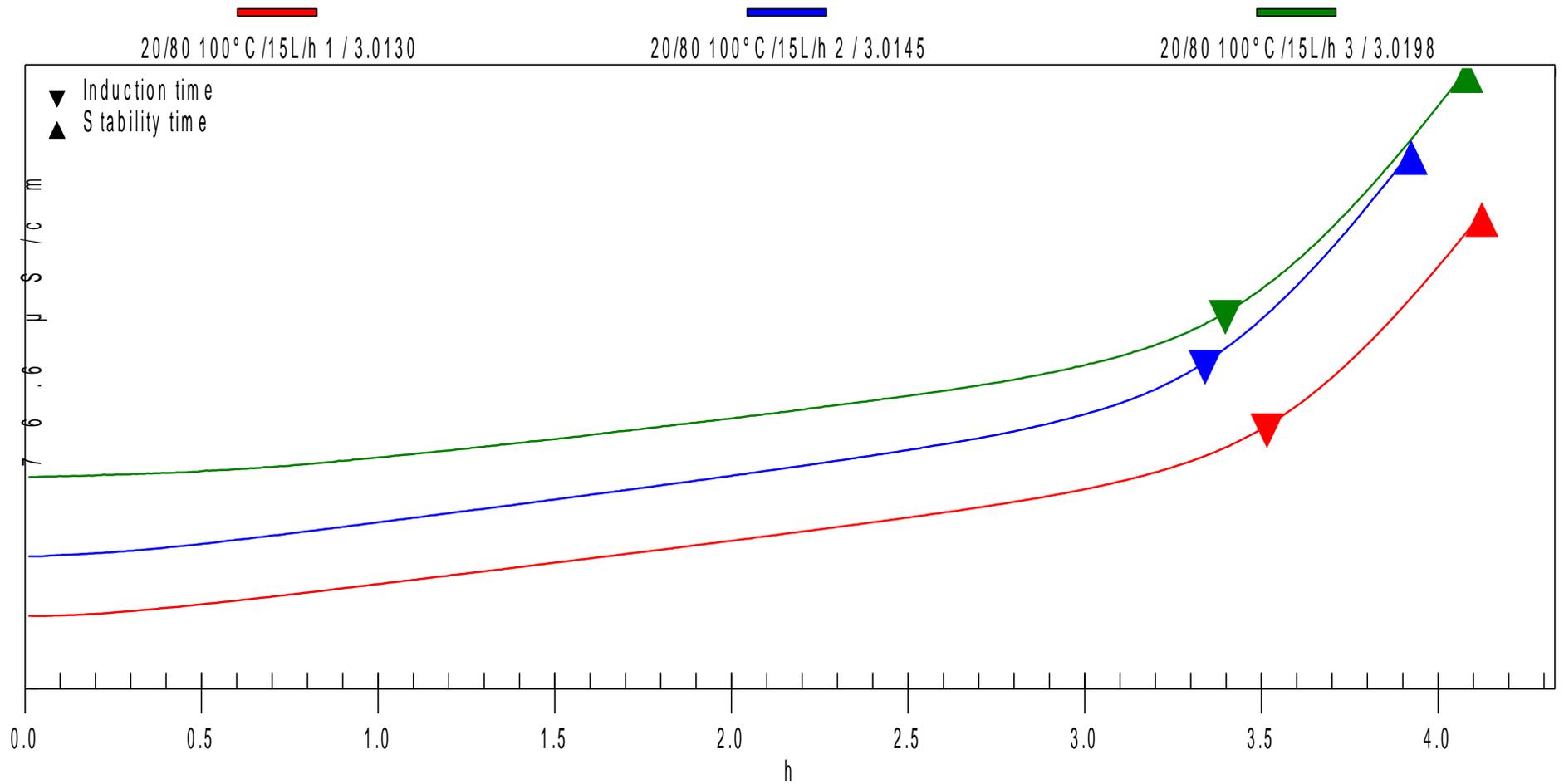


Figura 26. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 100°C de la muestra 04 AP/AO (20:80)

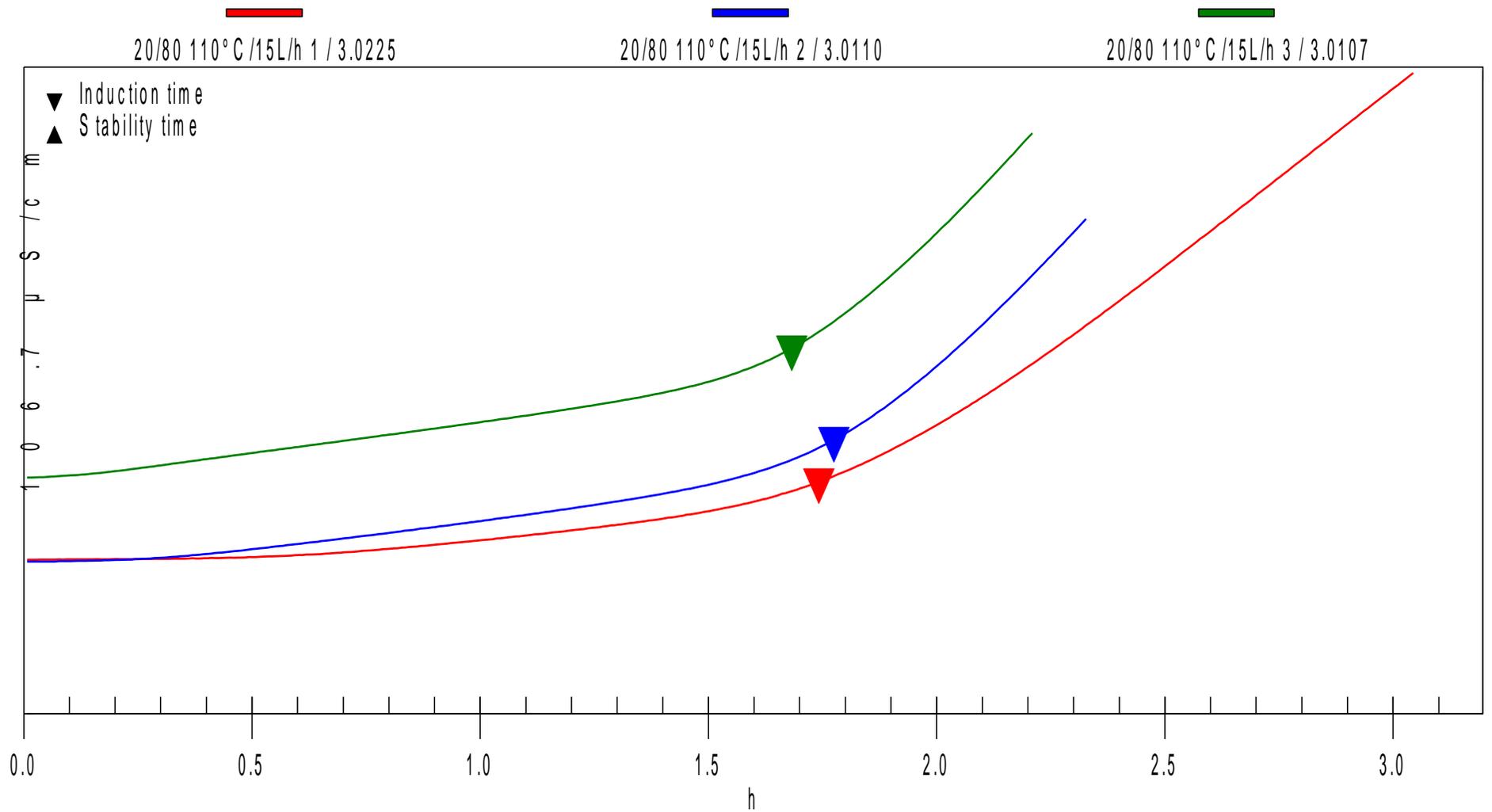


Figura 27. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 110°C de la muestra 04 AP/AO (20:80)

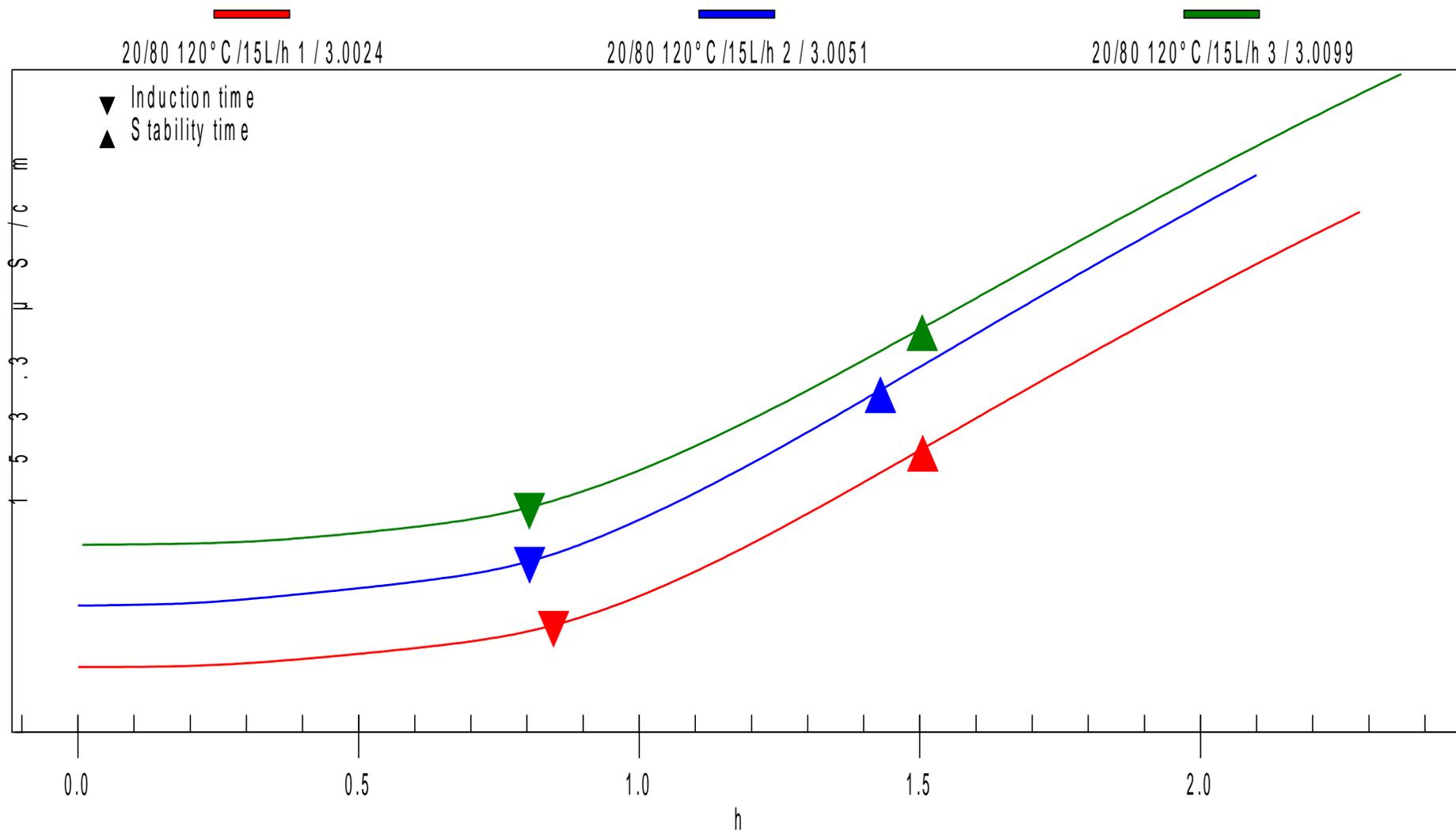


Figura 28. Variación de la conductividad eléctrica a temperatura de 120°C de la muestra 04 AP/AO (20:80)

ANEXO N°03

Determinación del Índice de Estabilidad Oxidativa Extrapolado a 25°C

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

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

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

Donde:

OSI: Índice de estabilidad oxidativa (hr).

T: Temperatura (°C).

A y B: Constantes.

1. Reemplazando en la ecuación (2) para cada Mezcla de aceite de pescado y aceite de oliva:

- Aceite de Pescado:

- $\text{Log}(0.160) = A(100) + B \dots\dots\dots (3)$

- $\text{Log}(0.147) = A(110) + B \dots\dots\dots (4)$

- $\text{Log}(0.117) = A(120) + B \dots\dots\dots (5)$

- Muestra 1 AP/AO (50/50):

- $\text{Log}(0.963) = A(100) + B \dots\dots\dots (6)$

- $\text{Log}(0.430) = A(110) + B \dots\dots\dots (7)$

- $\text{Log}(0.183) = A(120) + B \dots\dots\dots (8)$

- Muestra 2 AP/AO (40/60):
 - $\text{Log}(1.255) = A(100) + B \dots\dots\dots (9)$
 - $\text{Log}(0.529) = A(110) + B \dots\dots\dots (10)$
 - $\text{Log}(0.251) = A(120) + B \dots\dots\dots (11)$

- Muestra 3 AP/AO (30/70):
 - $\text{Log}(2.327) = A(100) + B \dots\dots\dots (12)$
 - $\text{Log}(1.103) = A(110) + B \dots\dots\dots (13)$
 - $\text{Log}(0.520) = A(120) + B \dots\dots\dots (14)$

- Muestra 4 AP/AO (20/80):
 - $\text{Log}(3.410) = A(100) + B \dots\dots\dots (15)$
 - $\text{Log}(1.730) = A(110) + B \dots\dots\dots (16)$
 - $\text{Log}(0.813) = A(120) + B \dots\dots\dots (17)$

- Aceite de Oliva
 - $\text{Log}(17.010) = A(100) + B \dots\dots\dots (18)$
 - $\text{Log}(7.537) = A(110) + B \dots\dots\dots (19)$
 - $\text{Log}(3.513) = A(120) + B \dots\dots\dots (20)$

Los valores de A y B para cada muestra se encuentran en la tabla 10.

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

- Aceite de pescado:

- $Log(OSI) = -0.007(T) - 0.101..... (21)$

- Muestra 1 AP/AO (50/50):

- $Log(OSI) = -0.036(T) + 3.592..... (22)$

- Muestra 2 AP/AO (40/60):

- $Log(OSI) = -0.035(T) + 3.585..... (23)$

- Muestra 3 AP/AO (30/70):

- $Log(OSI) = -0.033(T) + 3.623..... (24)$

- Muestra 4 AP/AO (20/80):

- $Log(OSI) = -0.031(T) + 3.654..... (25)$

- Aceite de Oliva

- $Log(OSI) = -0.034(T) + 4.652..... (26)$

Las ecuaciones 21, 22, 23, 24, 25 y 26 permiten estimar la vida útil a temperatura ambiente (25°C) para las muestras de aceite de pescado, aceite de oliva y mezclas (M1, M2, M3 y M4) respectivamente. Estas ecuaciones se utilizaron para obtener los valores que se muestran en la tabla 11.

ANEXO N°04

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

Arrhenius

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

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

Donde:

- α^* : Grado de transformación de moléculas insaturadas para el tiempo de inducción.
- Z: Factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius.
- R: constante universal de los gases (8.314 KJ/mol)
- T: Temperatura expresada en °Kelvin.

Entonces convertimos la temperatura experimental (100, 110 y 102°C) a (373, 383, 393°K), respectivamente.

1. Reemplazando en la ecuación (27) para cada muestra experimental:

- Aceite de Pescado:

- $\ln(0.160) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{373} \dots \dots \dots (28)$

- $\ln(0.147) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{383} \dots \dots \dots (29)$

- $\ln(0.117) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{393} \dots \dots \dots (30)$

- Muestra 1 AP/AO (50/50):

- $Ln(0.963) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{373} \dots\dots\dots (31)$

- $Ln(0.430) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{383} \dots\dots\dots (32)$

- $Ln(0.183) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{393} \dots\dots\dots (33)$

- Muestra 2 AP/AO (40/60):

- $Ln(1.255) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{373} \dots\dots\dots (34)$

- $Ln(0.529) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{383} \dots\dots\dots (35)$

- $Ln(0.251) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{393} \dots\dots\dots (36)$

- Muestra 3 AP/AO (30/70):

- $Ln(2.327) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{373} \dots\dots\dots (37)$

- $Ln(1.103) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{383} \dots\dots\dots (38)$

- $Ln(0.520) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{393} \dots\dots\dots (39)$

- Muestra 4 AP/AO (20/80):

- $Ln(3.410) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{373} \dots\dots\dots (40)$

- $Ln(1.730) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{383} \dots\dots\dots (41)$

- $Ln(0.813) = Ln\left(\frac{-Ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{393} \dots\dots\dots (42)$

- Aceite de Oliva

$$\blacksquare \ln(17.010) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{373} \dots \dots \dots (43)$$

$$\blacksquare \ln(7.537) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{383} \dots \dots \dots (44)$$

$$\blacksquare \ln(3.513) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} + \frac{1}{393} \dots \dots \dots (45)$$

Los valores de la pendiente para muestra experimental se encuentran en la tabla 14.

2. Reemplazando en la ecuación (27) los valores de las pendientes para cada muestra experimental:

- Aceite de Pescado:

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + 2307.3 + \frac{1}{T} \dots \dots \dots (46)$$

Entonces:

$$\frac{E_a}{R_g} = 2307.3$$

$$R_g = 8.3$$

$$E_a = (8.3 \times 2307.3)$$

$$E_a = 18.18 \text{ KJ/mol}$$

- Muestra 1 AP/AO (50/50):

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + 12164.1 + \frac{1}{T} \dots \dots \dots (47)$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 12164.1$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 12164.1)$$

$$Ea = 101.14 \text{ KJ/mol}$$

- Muestra 2 AP/AO (40/60):

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{z}\right) + 11810.4 + \frac{1}{T} \dots \dots \dots (48)$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 11810.4$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 11810.4)$$

$$Ea = 98.20 \text{ KJ/mol}$$

- Muestra 3 AP/AO (30/70):

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{z}\right) + 10987.9 + \frac{1}{T} \dots \dots \dots (49)$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 10987.9$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 10987.9)$$

$$Ea = 91.36 \text{ KJ/mol}$$

- Muestra 4 AP/AO (20/80):

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{z}\right) + 10506.5 + \frac{1}{T} \dots \dots \dots (50)$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 10506.5$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 10506.5)$$

$$Ea = 87.35 \text{ KJ/mol}$$

- Aceite de Oliva:

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{z}\right) + 11570.0 + \frac{1}{T} \dots \dots \dots (50)$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 11570.0$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 11570.0)$$

$$Ea = 96.20 \text{ KJ/mol}$$

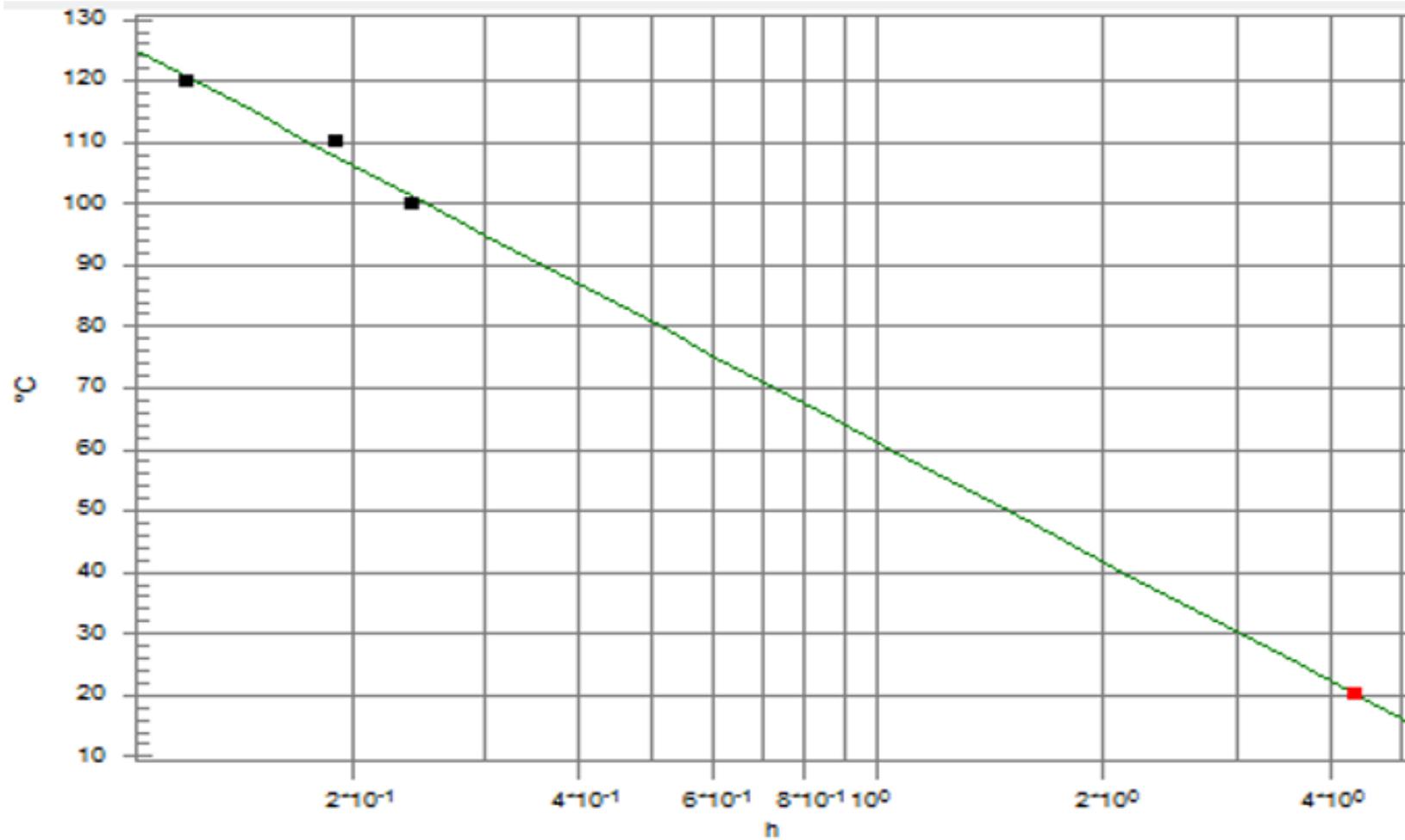


Figura 29. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra de aceite de pescado

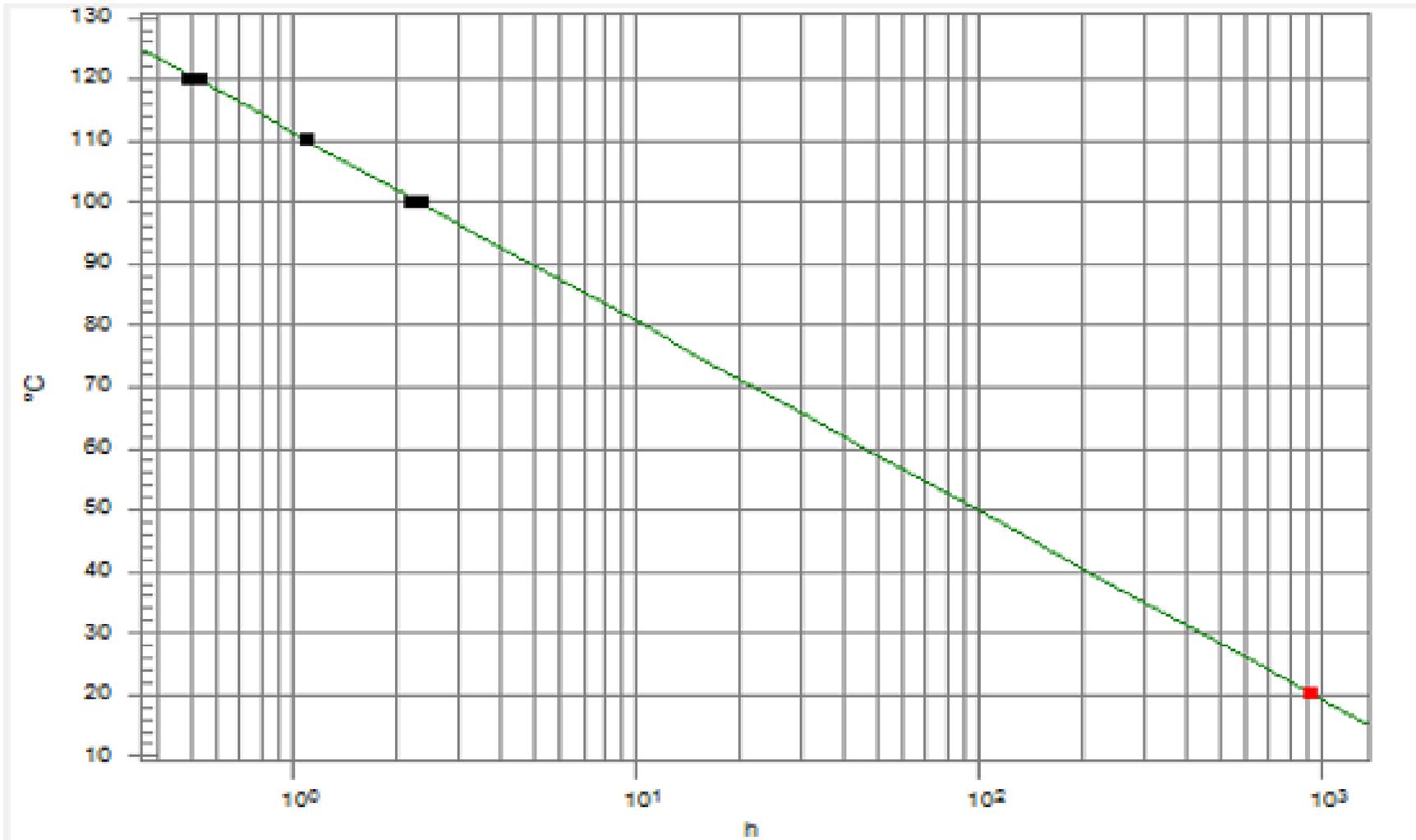


Figura 30. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra M1 (AP/AO 50/50)

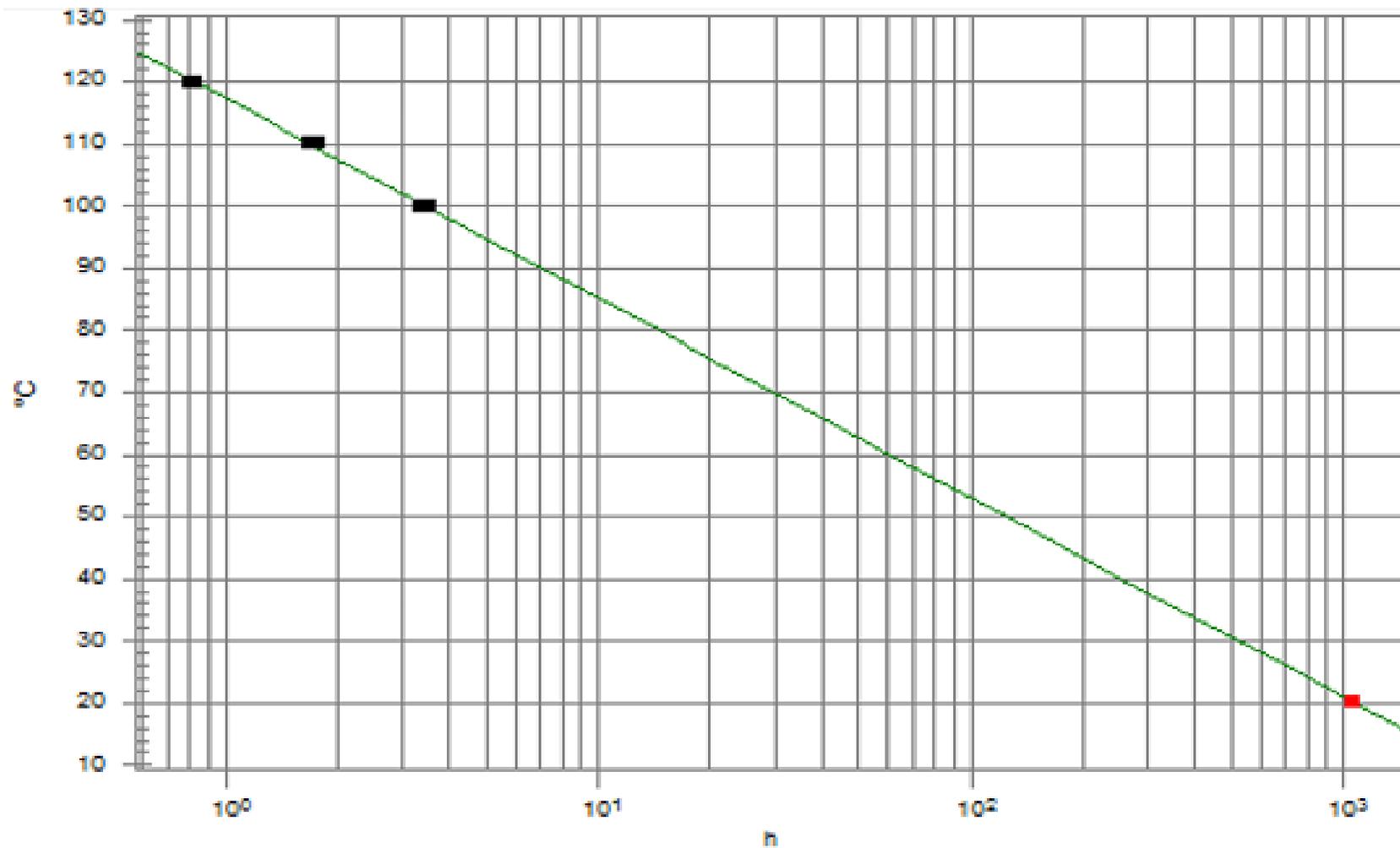


Figura 31. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra M2 (AP/AO 40/60)

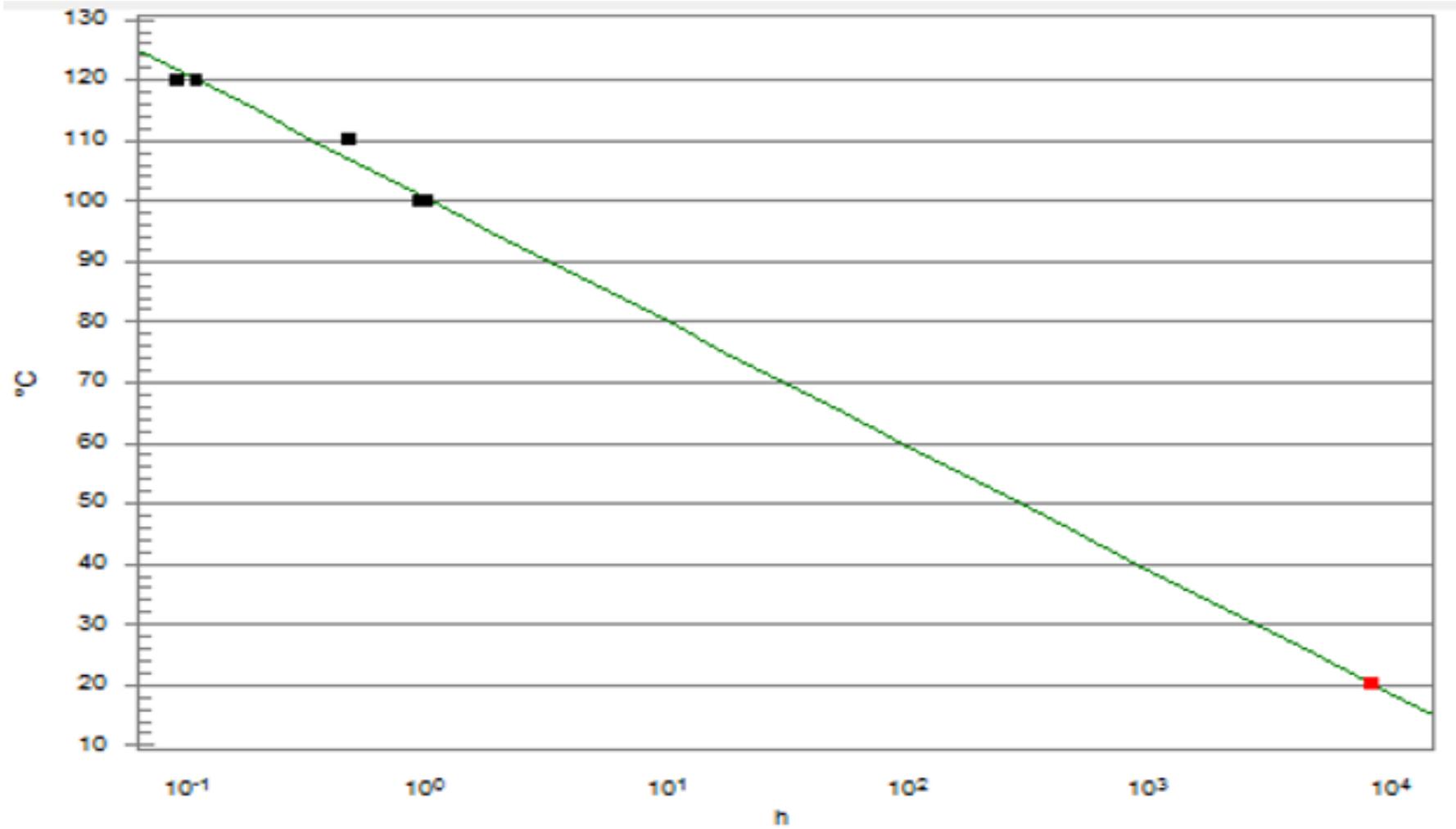


Figura 32. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra M3 (AP/AO 30/70)

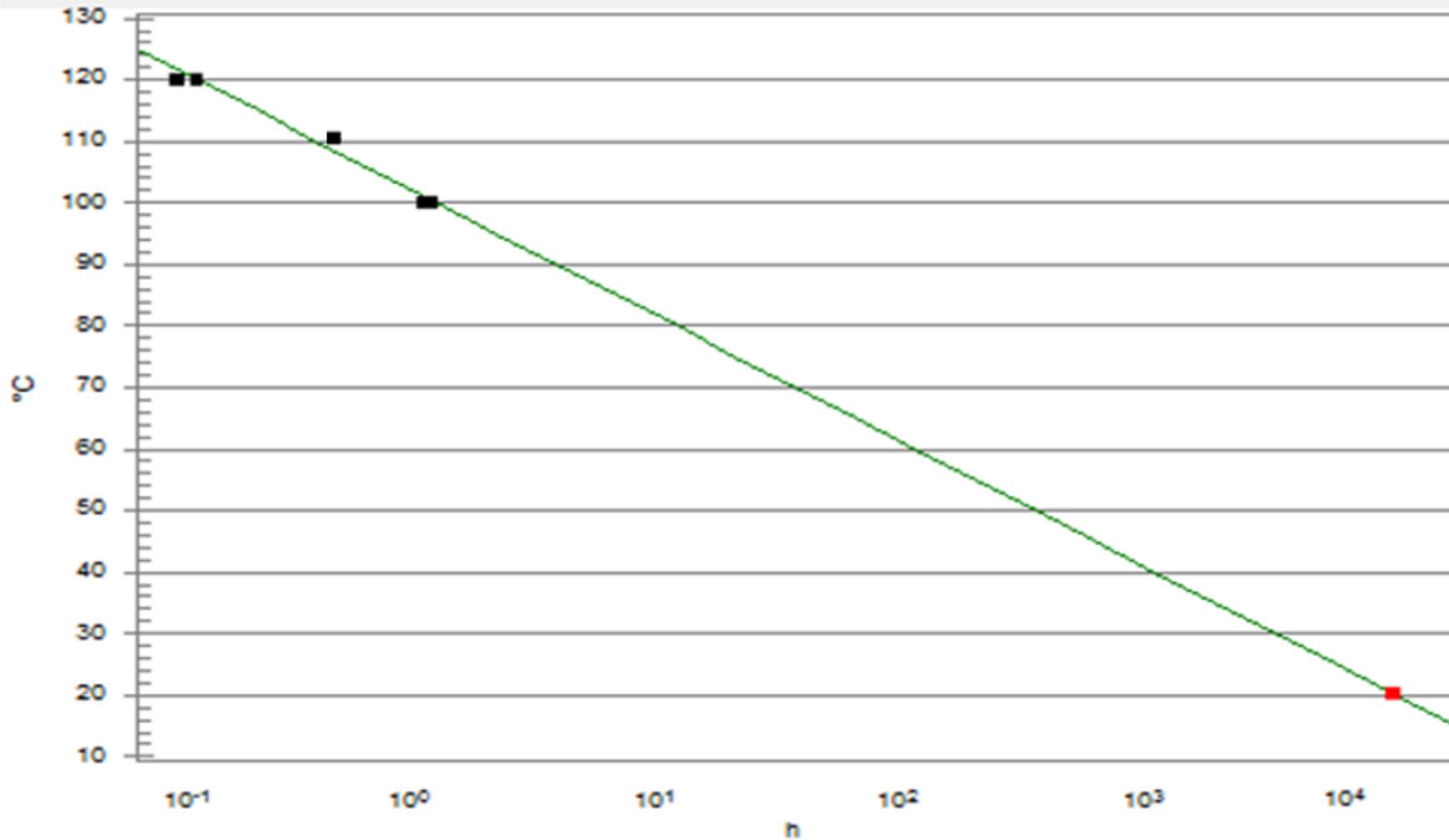


Figura 33. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra M3 (AP/AO 20/80)

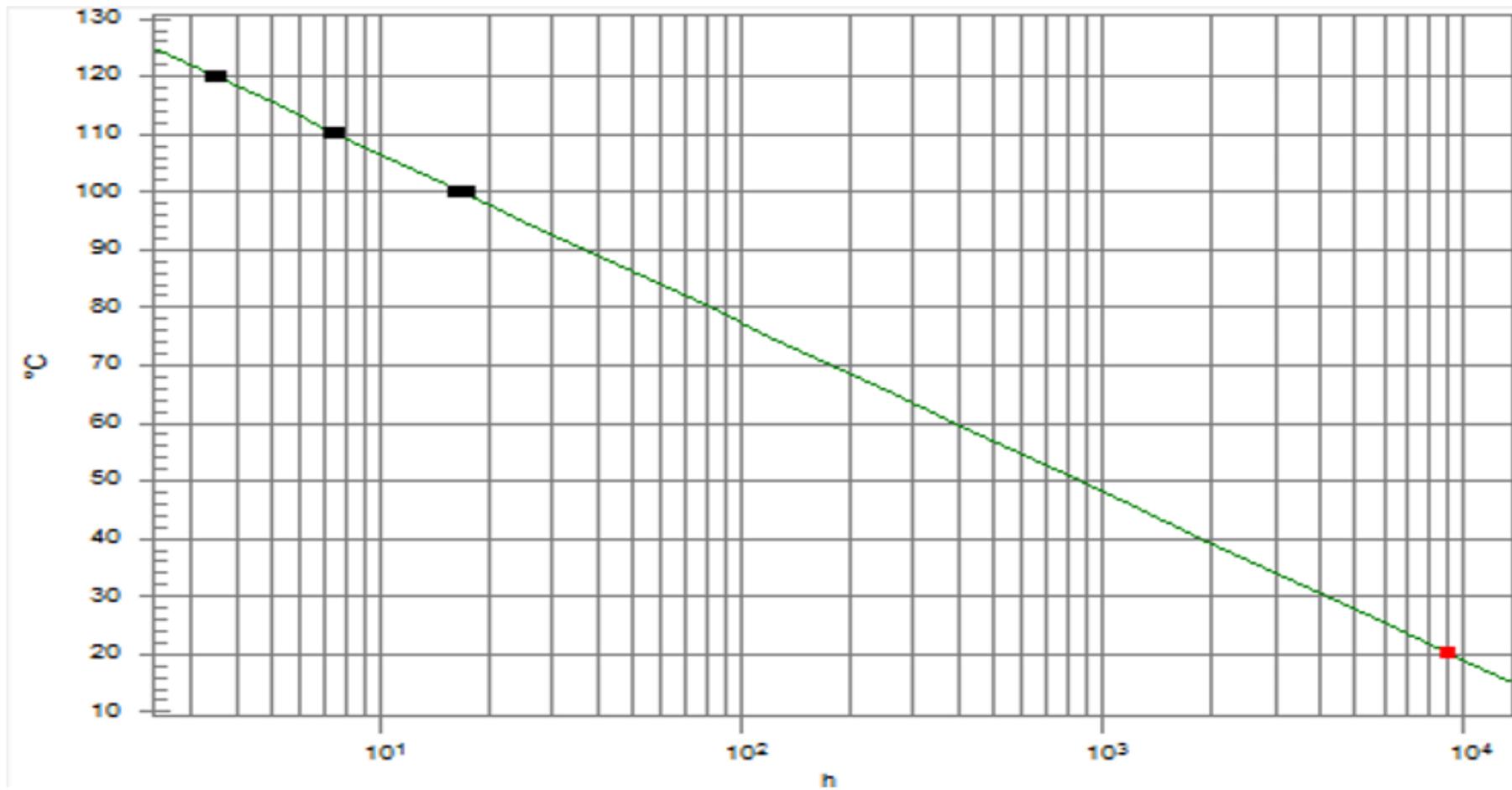


Figura 34. Gráfico de extrapolación Rancimat para la muestra de aceite de oliva

➤ Aceite de pescado duplicado:

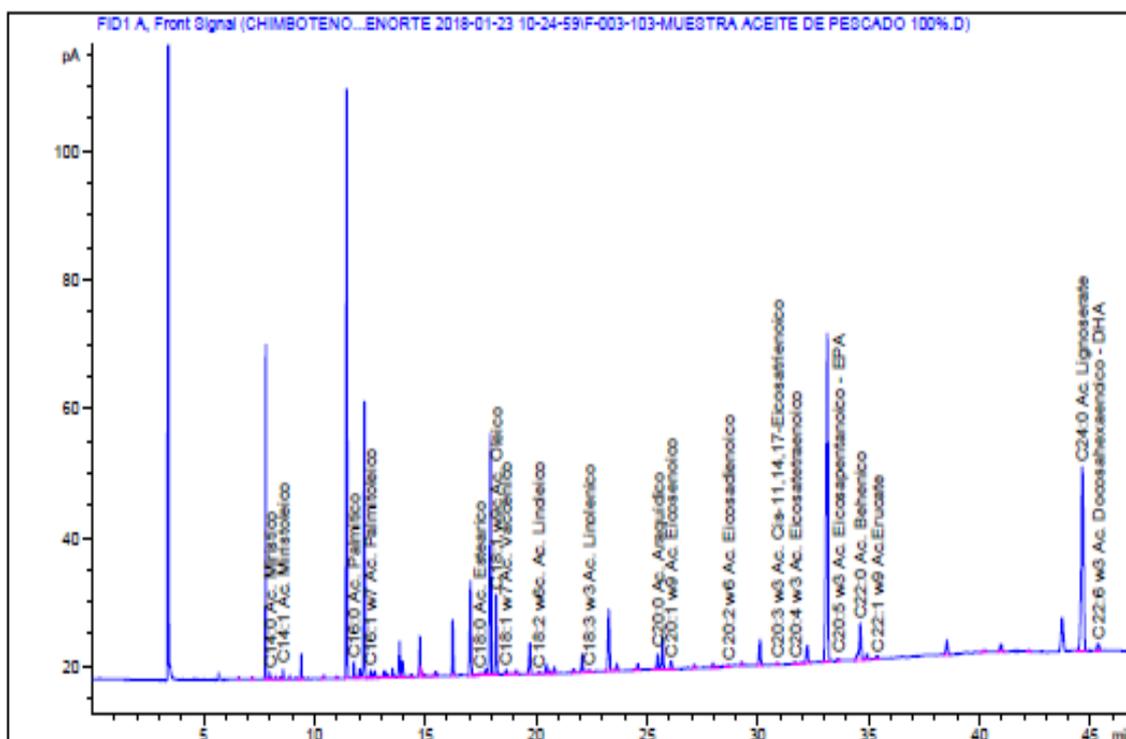
Data File C:\Chem32\...ORTE 2018-01-23 10-24-59\F-003-103-MUESTRA ACEITE DE PESCADO 100%.D
 Sample Name: MUESTRA ACEITE DE PESCADO 100%

```

=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    3
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE         Location  : 103 (F)
Injection Date  : 01/23/2018 11:18:08 AM      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Method         : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 10-24-59\PERFIL_
                LIPIDICO1.M (Sequence Method)

Last changed   : 01/23/2018 10:24:59 AM by B Asmat
Method Info    : Perfil Lipídico para aceite de pescado
  
```



Area Percent Report

```

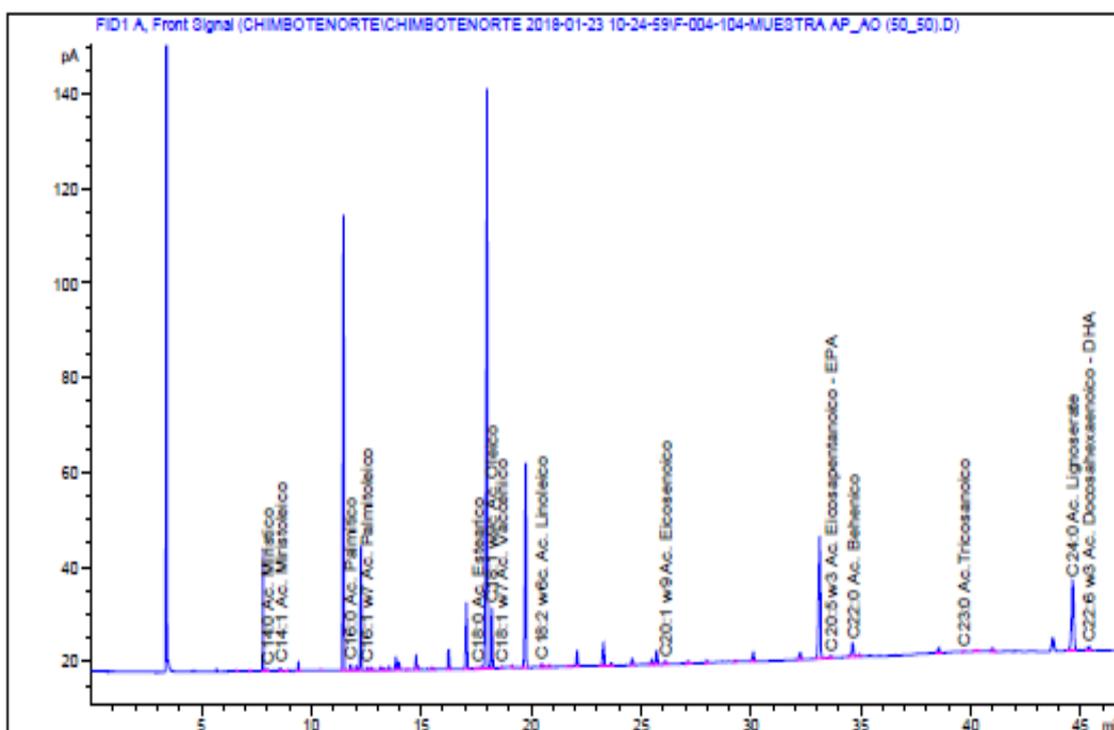
=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

➤ Muestra 1 AP/AO (50:50)

Data File C:\Chem32\...\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 10-24-59\F-004-104-MUESTRA AP_AO (50_50).D
 Sample Name: MUESTRA AP/AO (50/50)

```

=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    4
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE         Location  : 104 (F)
Injection Date  : 01/23/2018 12:09:36 PM      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Method          : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 10-24-59\PERFIL_
                  LIPIDIC01.M (Sequence Method)
Last changed   : 01/23/2018 10:24:59 AM by B Asmat
Method Info    : Perfil Lipídico para aceite de pescado
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

➤ Muestra 1 AP/AO (50:50) duplicado

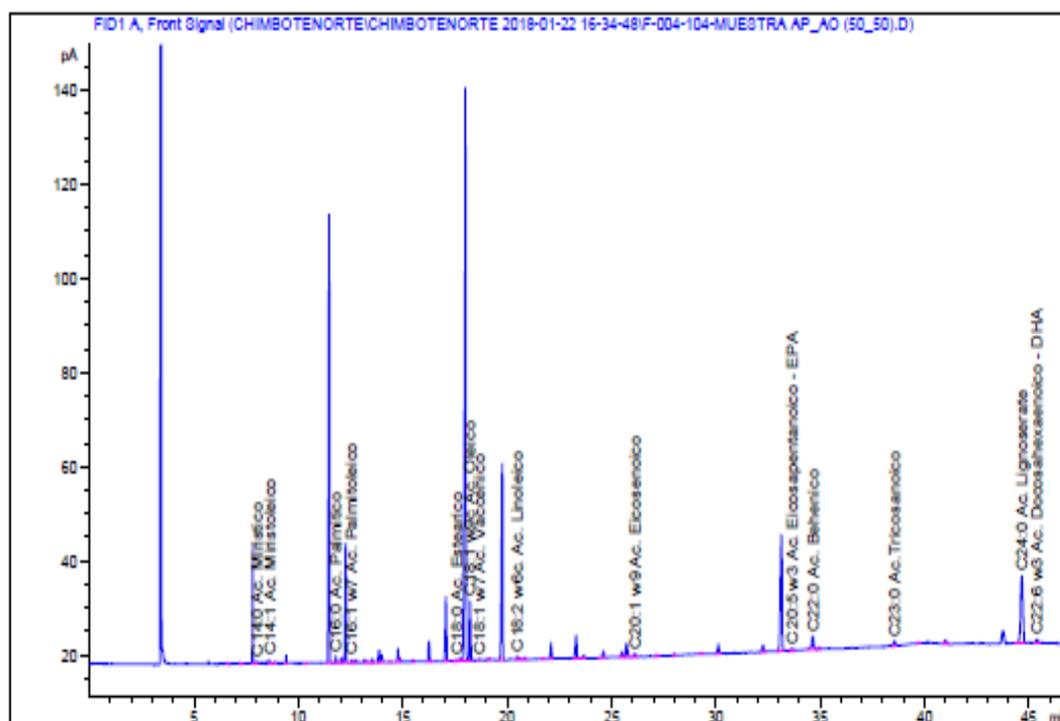
Data File C:\Chem32\...\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\F-004-104-MUESTRA AP_AO (50_50).D
 Sample Name: MUESTRA AP/AO (50/50)

```

=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    4
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE        Location  : 104 (F)
Injection Date  : 01/22/2018 5:27:59 PM      Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 0.2 µl

Method         : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\PERFIL_
                LIPIDICO1.M (Sequence Method)

Last changed   : 01/22/2018 4:34:49 PM by B Asmat
Method Info    : Perfil Lipídico para aceite de pescado
  
```

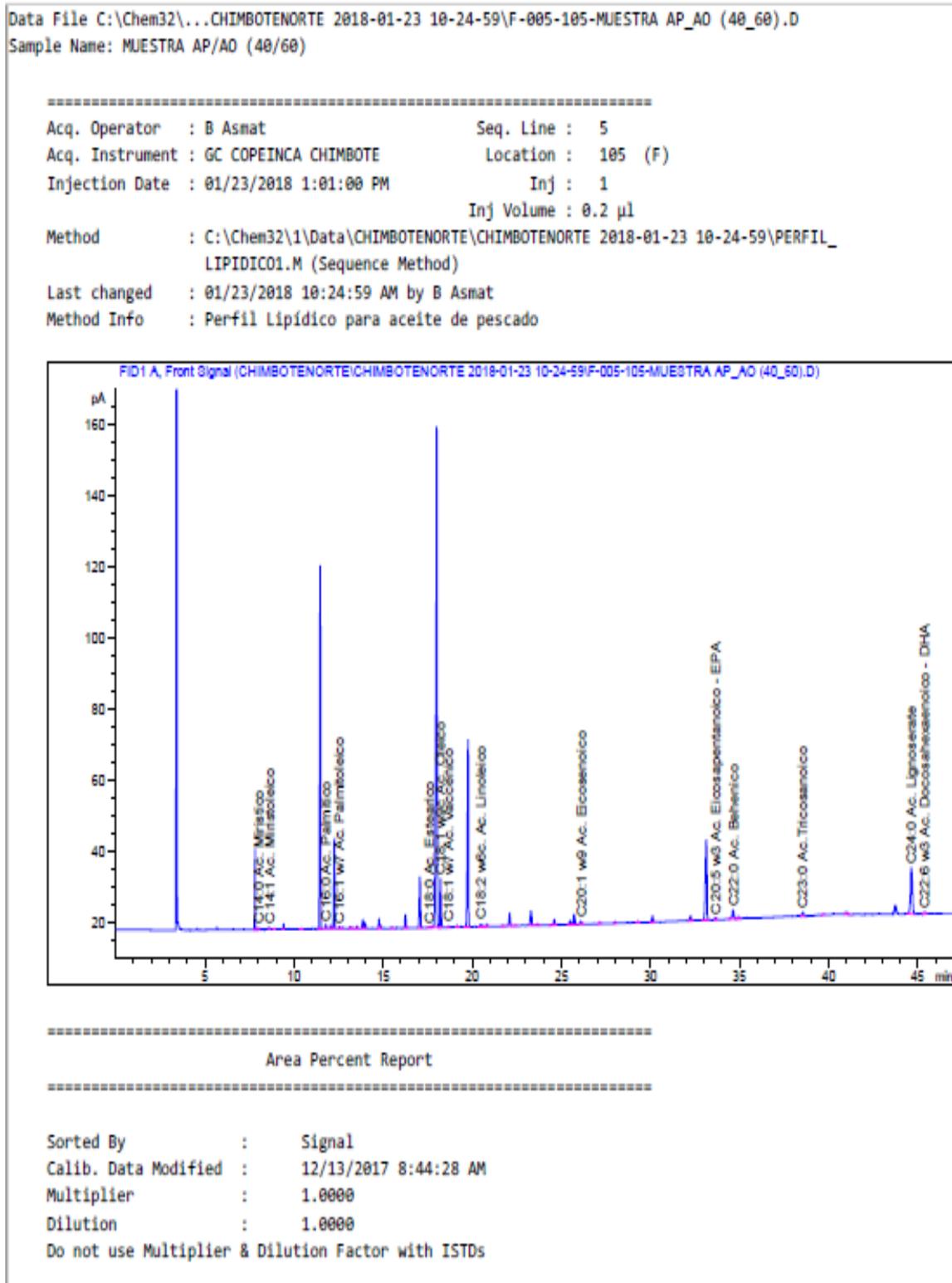


Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

➤ Muestra 2 AP/AO (40:60)



➤ Muestra 2 AP/AO (40:60) duplicado:

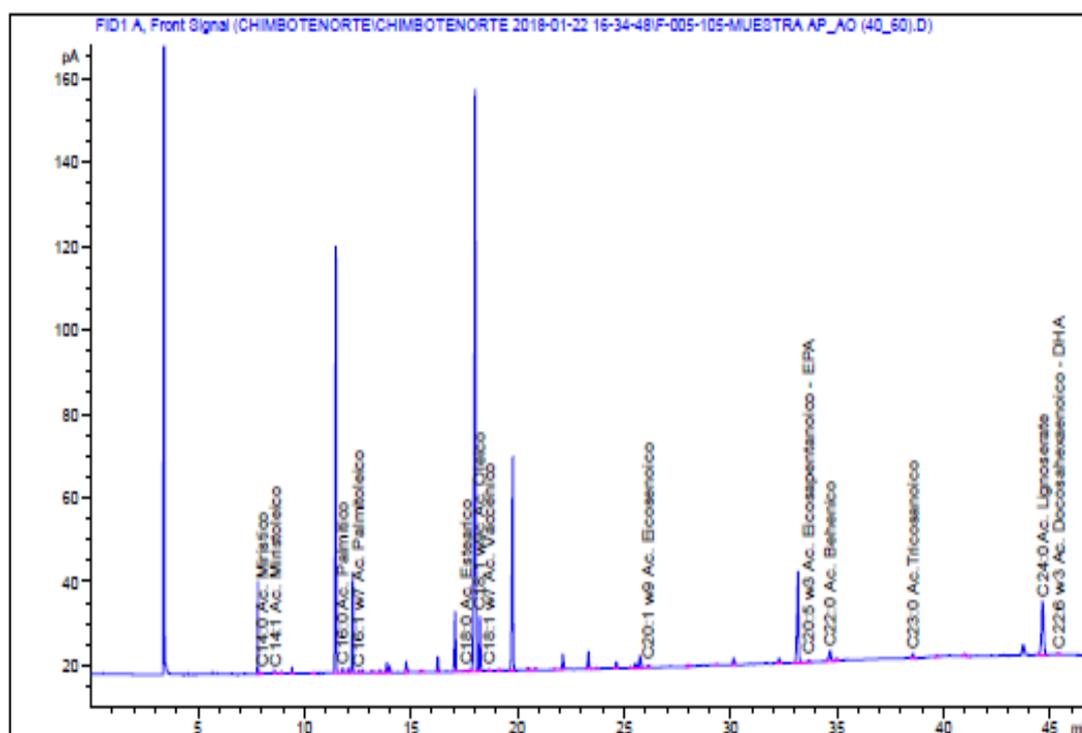
Data File C:\Chem32\...\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\F-005-105-MUESTRA AP_AO (40_60).D
 Sample Name: MUESTRA AP/AO (40/60)

```

=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    5
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE         Location  : 105 (F)
Injection Date  : 01/22/2018 6:19:26 PM      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Method          : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\PERFIL_
                LIPIDICO1.M (Sequence Method)

Last changed    : 01/22/2018 4:34:49 PM by B Asmat
Method Info     : Perfil Lipídico para aceite de pescado
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

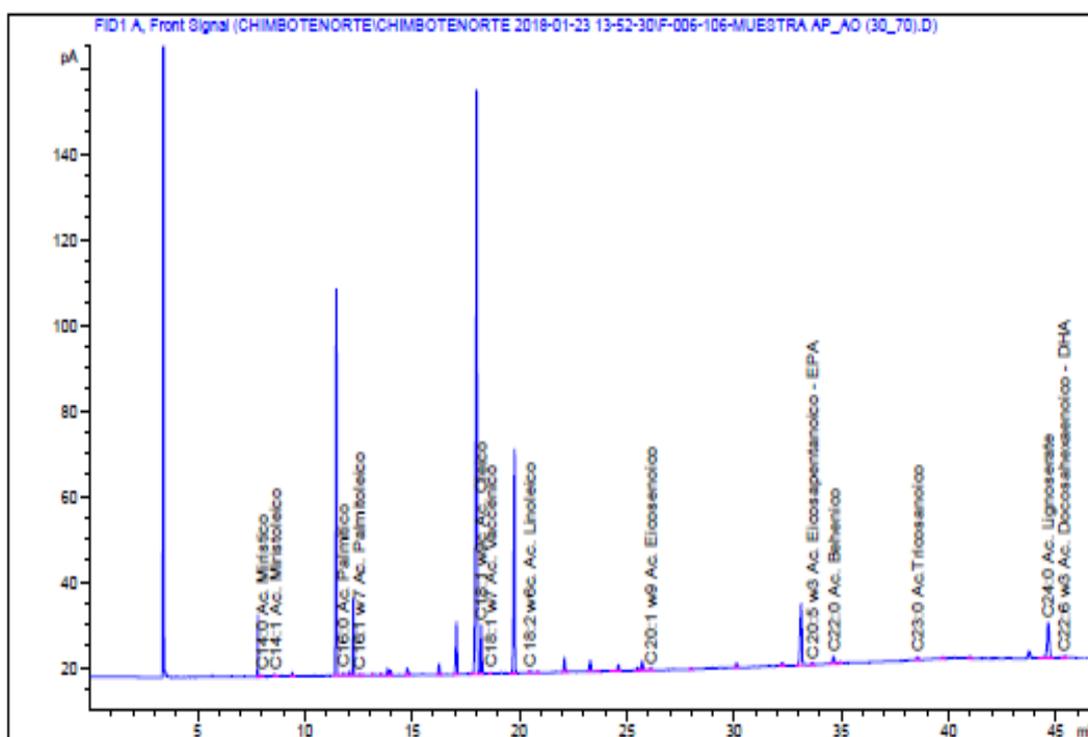
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

➤ Muestra 3 AP/AO (30:70):

Data File C:\Chem32\...\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 13-52-30\F-006-106-MUESTRA AP_AO (30_70).D
 Sample Name: MUESTRA AP/AO (30/70)

```

=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    6
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE          Location  : 106 (F)
Injection Date  : 01/23/2018 3:37:11 PM        Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Method          : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 13-52-30\PERFIL_
                  LIPIDICO1.M (Sequence Method)
Last changed   : 01/23/2018 1:52:31 PM by B Asmat
Method Info    : Perfil Lipídico para aceite de pescado
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

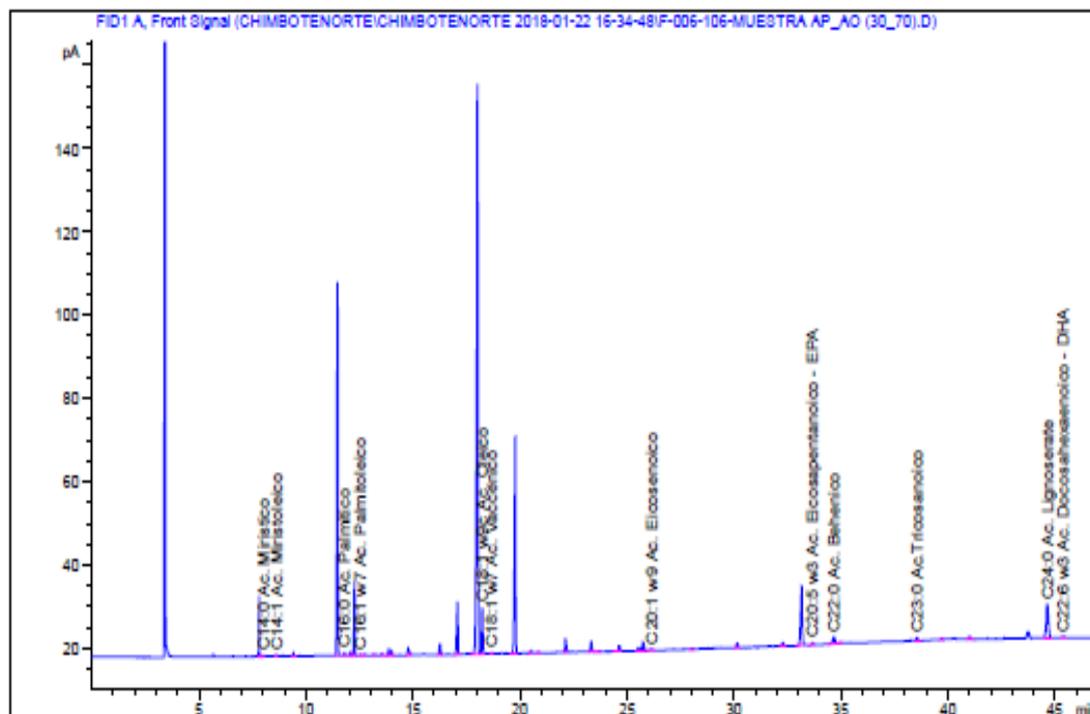
➤ Muestra 3 AP/AO (30:70) duplicado:

Data File C:\Chem32\...\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\F-006-106-MUESTRA AP_AO (30_70).D
Sample Name: MUESTRA AP/AO (30/70)

```
=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    6
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE        Location  : 106 (F)
Injection Date  : 01/22/2018 7:10:50 PM      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Method          : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\PERFIL_
                LIPIDIC01.M (Sequence Method)

Last changed    : 01/22/2018 4:34:49 PM by B Asmat
Method Info     : Perfil Lipídico para aceite de pescado
=====
```



=====
Area Percent Report
=====

```
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

➤ Muestra 4 AP/AO (20:80):

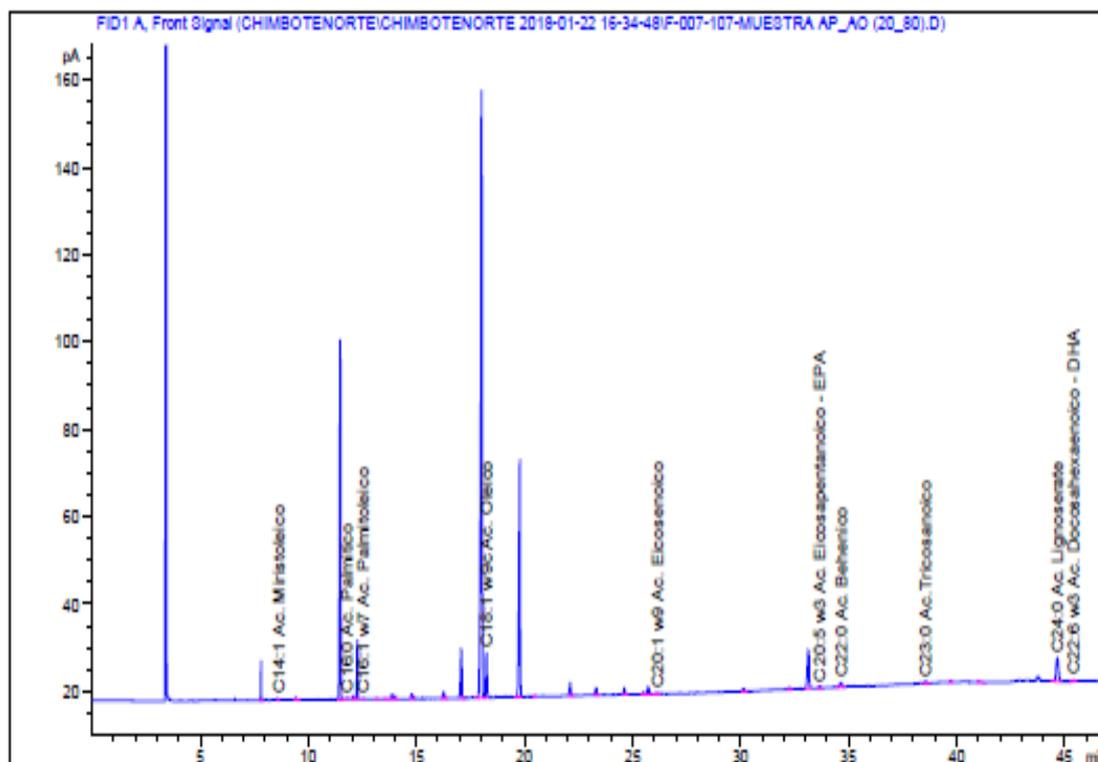
Data File C:\Chem32\1\...CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\F-007-107-MUESTRA AP_AO (20_80).D
 Sample Name: MUESTRA AP/AO (20/80)

```

=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    7
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE         Location  : 107 (F)
Injection Date  : 01/22/2018 8:02:18 PM      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Method          : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\PERFIL_
                  LIPIDICO1.M (Sequence Method)

Last changed    : 01/22/2018 4:34:49 PM by B Asmat
Method Info     : Perfil Lipídico para aceite de pescado
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

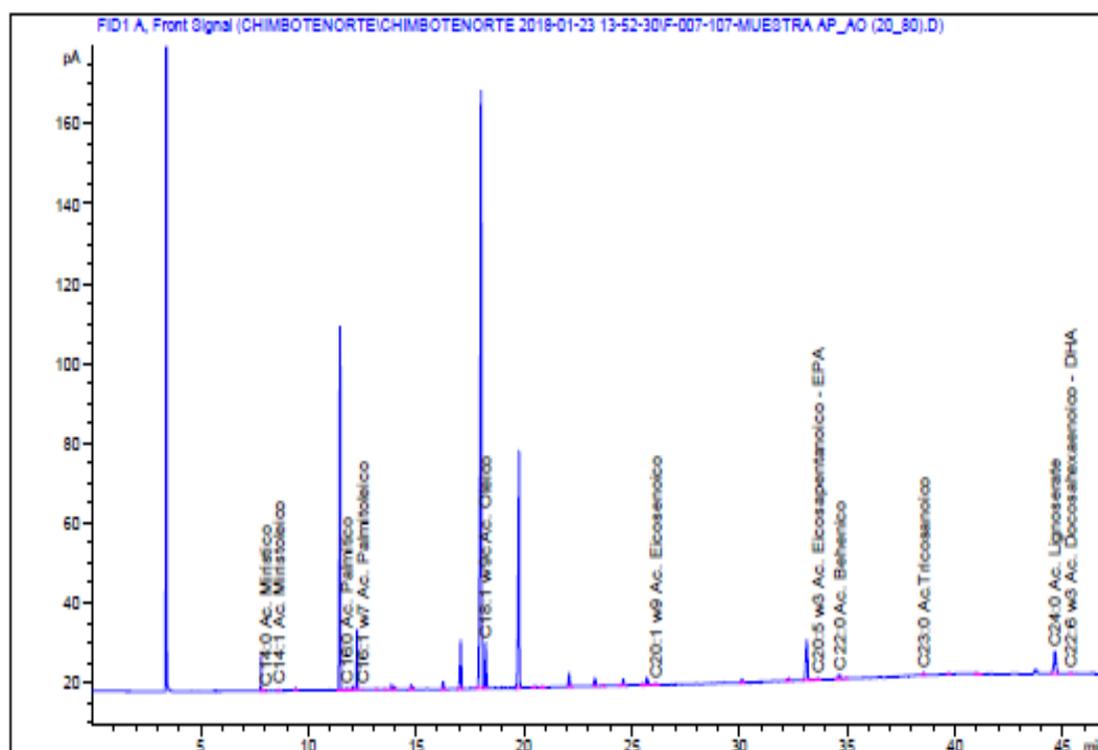
```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

➤ Muestra 4 AP/AO (20:80) duplicado:

Data File C:\Chem32\...\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 13-52-30\F-007-107-MUESTRA AP_AO (20_80).D
Sample Name: MUESTRA AP/AO (20/80)

```
=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    7
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE         Location  : 107 (F)
Injection Date  : 01/23/2018 4:28:39 PM       Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Method         : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 13-52-30\PERFIL_
                LIPIDICO1.M (Sequence Method)
Last changed   : 01/23/2018 1:52:31 PM by B Asmat
Method Info    : Perfil Lipídico para aceite de pescado
=====
```



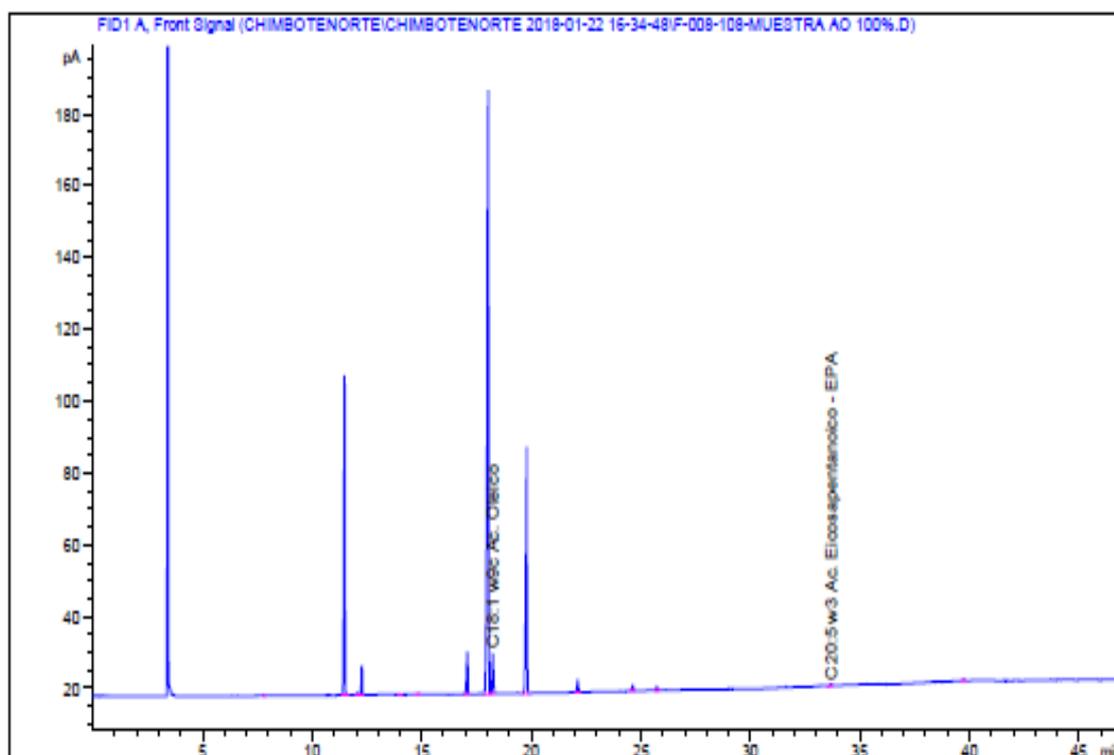
=====
Area Percent Report
=====

```
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

➤ Aceite de Oliva:

Data File C:\Chem32\...\NORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\F-008-108-MUESTRA AO 100%.D
Sample Name: MUESTRA AO 100%

```
=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    8
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE         Location  : 108 (F)
Injection Date  : 01/22/2018 8:53:42 PM       Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Method          : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-22 16-34-48\PERFIL_
                LIPIDICO1.M (Sequence Method)
Last changed    : 01/22/2018 4:34:49 PM by B Asmat
Method Info     : Perfil Lipídico para aceite de pescado
=====
```



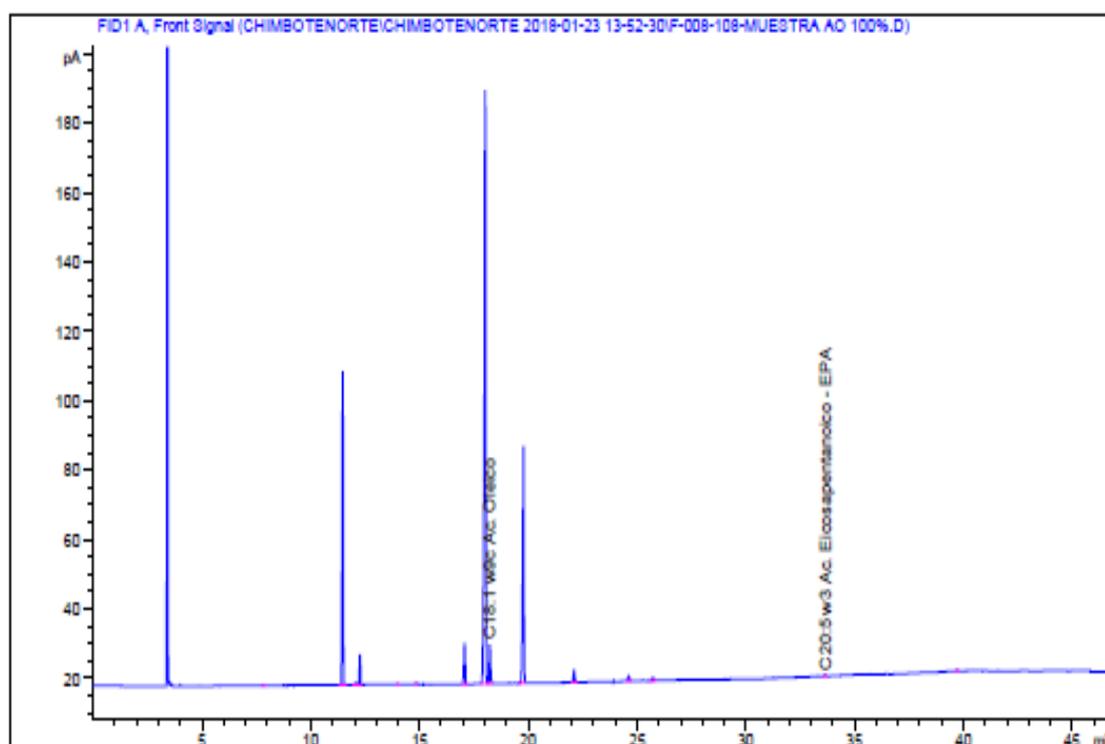
=====
Area Percent Report
=====

```
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

➤ Aceite de Oliva duplicado:

Data File C:\Chem32\1\NORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 13-52-30\F-008-108-MUESTRA AO 100%.D
Sample Name: MUESTRA AO 100%

```
=====
Acq. Operator   : B Asmat                      Seq. Line :    8
Acq. Instrument : GC COPEINCA CHIMBOTE        Location  : 108 (F)
Injection Date  : 01/23/2018 5:20:10 PM      Inj       :    1
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Method          : C:\Chem32\1\Data\CHIMBOTENORTE\CHIMBOTENORTE 2018-01-23 13-52-30\PERFIL_
                  LIPIDICO1.M (Sequence Method)
Last changed    : 01/23/2018 1:52:31 PM by B Asmat
Method Info     : Perfil Lipídico para aceite de pescado
=====
```



```
=====
                          Area Percent Report
=====
```

```
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/13/2017 8:44:28 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```