

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Efecto del alfa tocoferol sobre la estabilidad oxidativa de
una mezcla de aceite de palma y de girasol utilizada en
una matriz de galletas**

Carolina Duque Martínez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias

Ciudad, Colombia

2024

Efecto del alfa tocoferol sobre la estabilidad oxidativa de una mezcla de aceite de palma y de girasol utilizada en una matriz de galletas

Carolina Duque Martínez

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias y tecnología de los Alimentos

Director:

Ph.D., Doctor, Químico, Benjamín Rojano

Codirectora:

Ph.D., Doctora Catalina Aguilar R.

Línea de Investigación:

Investigación sobre capacidad antioxidante en alimentos

Grupo de Investigación:

Compañía de Galletas Noel S.A.S

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Posgrado en Ciencias y tecnología de los
Alimentos
Medellín, Colombia
2024

Agradecimientos

Agradezco la ejecución de este trabajo de maestría primeramente a Dios. Él dispuso la fuerza, la energía, los recursos y las personas para su ejecución. Colosenses 3. 23 “Todo lo que hagáis, hacedlo de corazón, como para el Señor”, Filipenses 4. 13 “Todo lo puedo en cristo que me fortalece”. Esta fue mi inspiración en la ejecución de este trabajo. Fue vital siempre agradecer por todo y mantener la fe que hace las cosas posibles, pensando en que la gracia de Dios es infinita y puede lograr hasta lo no imaginado por el hombre.

Agradezco al Doctor Benjamín Rojano director de este trabajo, por todo el conocimiento compartido, me siento muy agradecida y orgullosa por tener la oportunidad de aprender a su lado, como experto y como un reconocido maestro de la ciencia de los alimentos, además por ser un gran ser humano, siempre entregando mensajes de construcción que además de lo profesional nos sirve como concejos para la vida.

Agradezco a Compañía de Galletas Noel por ser un aliado en la ejecución de este proyecto, gracias por su aporte en la experimentación que hicieron potente este trabajo, dejando utilidad para el futuro de la compañía. También un agradecimiento especial a la Doctora Catalina Aguilar, una científica de corazón, quien fue Codirectora de este proyecto, quien confió en este desafío y me apoyó en todo momento en el proceso de aprendizaje.

A mi familia, por la paciencia y el apoyo para continuar con este proyecto, en este camino aprendí que debemos valorar el tiempo compartido con nuestros seres queridos, haciendo de este tiempo una experiencia de calidad y de disfrute, a pesar del tiempo reducido para ellos, logramos valorar más los pequeños momentos en familia.

También doy gracias a los docentes que marcaron y dejaron una huellita en mi corazón, a las personas que aportaron en la revisión de este trabajo, al igual que mis compañeros de

maestría, quienes también me aportaron con sus experiencias y conocimiento en el proceso de aprendizaje, de los cuales aprendí que a pesar de las circunstancias siempre contamos con personas que pueden hacer más ameno el proceso de aprendizaje.

Gracias a las experiencias del proceso de aprendizaje, me enamore más de la ciencia, con sus metodologías y rigurosidad, veo el conocimiento como una puerta a lo infinito, porque nunca dejamos de aprender. El constante conocimiento es parte de la vida, nos permite un mayor entendimiento de lo posible en el futuro, aprendiendo de las experiencias pasada que otros han vivenciado, aportando a la construcción de conocimiento para su aplicación en la vida. Nuevamente agradezco a Dios porque esta experiencia de conocimiento e investigación me abrió un camino lleno de retos y oportunidades como un nuevo camino para mi vida.

Resumen

En el presente estudio se determinó el perfil de ácidos grasos del aceite de palma y de girasol, los valores de oxidabilidad, la estabilidad oxidativa y el efecto y la actividad antioxidante del alfa tocoferol. Se calculó una mezcla más estable a la oxidación, con 40% de palma y 60% de girasol que como mínimo contenga un 44% de ácido oleico desde el origen. Se calculó la cinética de oxidación aplicada en diferentes concentraciones (75ppm-150ppm-225ppm y 300ppm) de alfa-tocoferol en una mezcla de aceite de palma y girasol 50/50, mediante los valores de peróxido, compuestos polares totales y ácidos tiobarbitúricos (TBARS), la cual mostró una disminución en la constante de la velocidad de la reacción (K). La tasa de cambio más acelerada se observó en la velocidad de la reacción de los valores de peróxidos y compuestos polares totales, mientras que en los valores de TBARS, la tasa de cambio fue más lenta, siendo las concentraciones de 225 y 300 ppm las mejores concentraciones para inhibir la oxidación lipídica. En los resultados de IP de la mezcla de palma y girasol 50/50, un efecto prooxidante fue el resultado de la primera muestra, mientras que, en los aceites de manera individual, con una concentración de 300 ppm se logró un mayor valor IP, al igual que con un mix de tocoferol donde se observó un IAA mayor. Con las pruebas de DPPH y ORAC se logró observar que los antioxidantes que tienen mayor proporción de gamma y delta tocoferol presentan una mayor actividad antioxidante comparada con las muestras que solo tienen alfa tocoferol. Este trabajo representa un aporte significativo para la industria de alimentos ya que permite conocer el comportamiento de uno de los antioxidantes más comercializados, con mezclas de aceites que tiene viabilidad en la producción de galletas con perfiles nutricionales más saludables.

Palabras Claves: Aceites palma y girasol, oxidación lipídica, antioxidante, tocoferol, perfil de ácidos grasos, estabilidad oxidativa.

Abstract

Effect of alpha tocopherol on the oxidative stability a blend of palm and sunflower oil used in a biscuit matrix

In the present study, the fatty acid profile in the oils palm and sunflower, oxidizability values, the oxidative stability and the antioxidant effect with the antioxidant activity of alpha-tocopherol were determined. Were calculated a mixture with more oleic acid content with 40% palm and 60% sunflower (minimum 44% oleic in the sunflower). The oxidation kinetics were assessed in 75ppm-150ppm-225ppm and 300ppm of alpha-tocopherol in a mixture with 50% palm and 50% sunflower, using the peroxide values, total polar compounds and thiobarbituric acids (TBARS) values. The results showed a rate of change as long as concentration increases, with the rate of change being more accelerated in the peroxide values and total polar compounds without significant differences, while thiobarbituric acids (TBARS) values the rate of change was slower. The concentrations of 225 and 300 ppm were the best to inhibit lipid oxidation. The results of IP showed a prooxidant effect in the first sample, whereas that in only oils with concentration 300 ppm was achieved a best IP, alike that with mixture of homologues tocoferol in the oils sunflower where showed a best IAA. Also, with the determination of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging and ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) achieved to showed that, the mixture of tocopherols, with increases in the gamma and delta tocopherol have a best capacity antioxidant, if it is in comparison with another sample with only alfa tocopherol. This work contributes significantly to the food industry, because it allows to understand the behaviour of commercial antioxidant in mixtures oils with viability in the production of biscuits with healthier nutritional profiles.

Keywords: Vegetable oils, lipid oxidation, antioxidant, tocopherol, fatty acid profile, oxidative stability

Contenido

1. Marco teórico.....	7
1.1 Especies Reactivas de Oxígeno (Radicales libres, especies no radicales).....	7
1.2 Lípidos	10
1.3 Peroxidación lipídica	16
1.3.1 Fase de Iniciación	17
1.3.2 Fase de Propagación.....	18
1.3.3 Fase de Terminación	18
1.3.4 La oxidación mediada por el oxígeno.....	20
1.3.5 Efecto del agua de los alimentos en la oxidación de lípidos.....	20
1.3.6 El efecto de la temperatura	21
1.3.7 Efectos de los metales de transición.....	23
1.3.8 Efectos de la oxidación enzimática	23
1.3.9 Efectos del pH en la oxidación	25
1.3.10 Efecto de la reacción de Maillard	26
1.4 Productos de Oxidación lipídica	27
1.4.1 Mecanismos para medición de productos de la oxidación lipídica.....	27
1.4.2 Hidroperóxidos.....	32
1.4.3 Compuestos volátiles, no volátiles y polímeros	33
1.4.4 Malondialdehído.....	34
1.4.5 Valor de p-anisidina	34
1.5 Antioxidantes y sus mecanismos en la oxidación de lípidos	35
1.6 Tocoferol	40
1.6.1 Estructuras y nomenclatura del tocoferol y tocotrienoles.....	44
1.6.2 Reacciones de tocoferoles.....	45
1.6.3 Efectos prooxidante de los tocoferoles.....	47
1.7 Métodos para medir la capacidad antioxidante.....	48
1.7.1 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)	49
1.7.2 Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)	50
1.8 Matrices Oleaginosas en Galletas	52

1.8.1 Aceite de Palma.....	53
1.8.2 Aceite de Girasol.....	56
2. Materiales y Métodos.....	61
2.1 Preparación de Muestras	61
2.2 Determinación del perfil lipídico en las grasas utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas	62
2.3 Determinación de la concentración de alfa tocoferol (Vitamina E) en el antioxidante	63
2.4 Determinación de la capacidad antioxidante	63
2.4.1 Determinación de la actividad eliminadora de radicales DPPH.....	63
2.4.2 Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)	64
2.5 Índice de peróxidos, compuestos polares totales y TBARS en la mezcla de aceites sin y con antioxidantes	64
2.5.1 Índice de peróxido.....	64
2.5.2 Compuesto Polares totales	65
2.5.3 Análisis de TBARS.....	65
2.5.4 Estabilidad oxidativa de la mezcla de aceites sin y con antioxidantes.....	66
2.5.5 Índice de actividad antioxidante	66
2.6 Análisis estadístico.....	67
3. Resultados y discusiones.....	68
3.1 Determinación del perfil lipídico en las grasas utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas.	68
3.2 Determinación de la cinética de oxidación en una mezcla de aceite de palma y de girasol utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas.....	72
3.2.1 Evaluación de Índice de Peróxidos	74
3.2.2 Compuestos Polares Totales (CPT).....	78
3.2.3 Análisis del Ácido Tiobarbitúrico	81
3.2.4 Estabilidad Oxidativa de la mezcla de aceites sin y con antioxidantes	84
3.3 Evaluar la capacidad antioxidante del alfa tocoferol por metodologías como ORAC o DPPH y comparar con otros tipos de tocoferoles.	88
4. Conclusiones.....	92
5. Recomendaciones	94

Lista de Tablas

Tabla 1 Ácidos saturados de cadena lineal de origen natural más comunes	15
Tabla 2 Ácidos insaturados de cadena lineal de origen natural más comunes en alimentos	16
Tabla 3 Especies de oxidación de lípidos detectadas con frecuencia en NMR.....	28
Tabla 4 Vida media de radicales	29
Tabla 5 Fluoróforos utilizadas para estudiar la oxidación en lípido	31
Tabla 6 Principales fuentes de tocoferoles	41
Tabla 7 Composición de ácidos grasos en aceites de Palma, Girasol y Colza (Canola)...	57
Tabla 8 Perfil de ácidos grasos de los aceites	69
Tabla 9 Valores calculados de Oxidabilidad.....	70
Tabla 10 Cinética de variables de Oxidación	74
Tabla 11 Índice de peróxidos mezcla 50% aceite de palma y 50% aceite de girasol.....	76
Tabla 12 Compuesto Polares totales.....	79
Tabla 13 TBARS	82
Tabla 14 Estabilidad Oxidativa de aceites y la mezcla con alfa tocoferol - Muestra 1	84
Tabla 15 Estabilidad Oxidativa de aceites y la mezcla con alfa tocoferol - Muestra 2	85
Tabla 16 Concentración y capacidad antioxidante del tocoferol.....	89

Lista de Figuras

Figura 1 Etapas de la reducción secuencial del oxígeno molecular	9
Figura 2 Estructuras de glicerina, monoacilglicérido, diacilglicérido y triacilglicérido.....	12
Figura 3 Ejemplos de estructuras de ácidos grasos saturados	12
Figura 4 Ejemplos de estructuras de ácidos grasos monoinsaturados	13
Figura 5 Ejemplos de estructuras de ácidos grasos poliinsaturados	14
Figura 6 Fases de la Peroxidación lipídica.....	17
Figura 7 Detalle de fases de la Oxidación de los aceites vs productos generados.....	19
Figura 8 Degradación de los Alimentos según actividad de agua.....	21
Figura 9 Iniciación Enzimática por Lipooxigenasas	25
Figura 10 Productos de reacción secundaria -Descomposición de hidroperóxido.....	33
Figura 11 Mecanismo antioxidante.....	36
Figura 12 Oxidación de triacilglicérol de manteca de cerdo.....	39
Figura 13 Degradación del α -tocoferol en cuatro aceites vegetales.....	43
Figura 14 Estructura de tocoferoles y tocotrienoles.....	45
Figura 15 Autooxidación del alfa tocoferol	46
Figura 16 Mecanismo DPPH	50
Figura 17 Mecanismo de reacción de un ensayo ORAC	51
Figura 18 Perfil de Aceite de palma (<i>Elaeis guineensis</i>).....	55
Figura 19 Perfil de Aceite de palma (Híbridos interespecíficos <i>Elaeis oleifera</i> , <i>Elaeis guineensis</i>)	55
Figura 20 Producción Mundial de aceite de Girasol.....	58
Figura 21 Composición de ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados de aceites vegetales.....	60
Figura 22 Perfil de ácidos grasos en la mezcla de aceite 60% Palma – 40% Girasol	70
Figura 23 Perfil de ácidos grasos de la mezcla de aceite 50% Palma – 50% Girasol	71
Figura 24 Perfil de ácidos grasos de la mezcla de aceite 40%Palma – 60% Girasol	71
Figura 25 Cinética de Oxidación de los Peróxidos.....	76
Figura 26 Efectos de la concentración de antioxidante en la velocidad de la reacción de peróxidos.....	78
Figura 27 Cinética de Compuestos Polares.....	80
Figura 28 Efectos de concentración de antioxidante en la velocidad de la reacción de Compuestos Polares Totales.....	81
Figura 29 Cinética de Oxidación TBARS.....	82
Figura 30 Efectos de concentración de antioxidante en la velocidad de la reacción de TBARS	83
Figura 31 Índice de Actividad Antioxidante Muestra 1	86
Figura 32 Índice de Actividad Antioxidante Muestra 2	87
Figura 33 Índice de Actividad Antioxidante Muestra 3	88

Listado de Ecuaciones

Ecuación 1 Iniciación.....	17
Ecuación 2 Propagación (1).....	18
Ecuación 3 Propagación (2).....	18
Ecuación 4 Radicales peroxídicos dimerizados.....	18
Ecuación 5 Radicales alquilo y peroxídico dimerizados.....	19
Ecuación 6 Radicales alquilo dimerizados.....	19
Ecuación 7 Descomposición del radical libre.....	20
Ecuación 8 a,b Descomposición del hidroperóxido.....	20
Ecuación 9 a,b Descomposición de radicales alquilo.....	20
Ecuación 10 Estado de oxidación iones (a).....	23
Ecuación 11 Estado de oxidación iones metálicos (b).....	23
Ecuación 12 Estado de oxidación alto con el hierro.....	23
Ecuación 13 Estado de oxidación bajo con el hierro.....	23
Ecuación 14 Radical alquilo con melanoidinas.....	26
Ecuación 15 Radical alcoxilo con melanoidinas.....	26
Ecuación 16 Radical peroxilo con melanoidinas.....	26
Ecuación 17 Radical peróxido con antioxidante.....	37
Ecuación 18 Antioxidante en forma radicalaria con hidroperóxido.....	37
Ecuación 19 Antioxidante en forma radicalaria con radical peróxido.....	37
Ecuación 20 Antioxidante en forma radical - radical.....	37
Ecuación 21 Antioxidante en forma radical - radical libre.....	37
Ecuación 22 Antioxidante con hidroperóxido.....	37
Ecuación 23 Antioxidante con Oxígeno.....	37
Ecuación 24 a,b Otras reacciones posibles.....	37
Ecuación 25 a,b Reacciones posibles de radicales tocoferoxilo.....	47
Ecuación 26 Cobre (II) con el alfa tocoferol.....	47
Ecuación 27 El alfa tocoferol +.....	47
Ecuación 28 Valor de Oxidabilidad.....	59

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término
A	Alfa
B	Beta
Γ	Gama
Δ	Delta

Superíndices

Superíndice	Término
(•)	Radical Libre

Abreviaturas

Abreviatura	Término
PUFA	Ácidos grasos insaturados
L•	Radical alquilo
LO•	Radical alcoxilo
HO•	Radical hidroxilo
LOO•	Radicales peroxídicos
LOOH	Hidroperóxido lipídico
Aw	Humedad relativa
Cu	Cobre
Fe	Hierro
Mn	Manganeso
ERS	Resonancia de espin electrónico
PBN	N-terc-butil- α -fenilnitrona liposoluble
SHS	Cromatográfica de gases - espacio de cabeza estático

Abreviatura	Término
DHS	Cromatográfica de gases - espacio de cabeza dinámico
CG-HSSE	Cromatográfica de gases - extracción por absorción en el espacio de cabeza
CD	Dieno conjugado
TBA	Reactivo ácido tiobarbitúrico
MS	Espectrometría de masas
IP	Periodo de inducción
TBHQ	Terbutilhidroquinona
TO •	Radical tocoferoxilo
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
ABTS	2, 2'-Azinobis 3-etil- benzotiazolina-6-acido sulfónico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
UV-vis	Espectroscopia de ultravioleta
Trolox	Estándar antioxidante que es análogo de la vitamina E
FAME	Ésteres metílicos de ácidos grasos
PAF	Prácticas Adecuadas de Fabricación
HCL	Ácido clorhídrico
NIST	National Institute of Standards and Technology
GC-MS	Cromatográfica de gases masas
BHT	Butilhidroxitolueno
TE	Equivalente de trolox
PV	Valor peróxido o índice de peróxidos
NH4SCN	Tiocianato de amonio
CPT	compuestos polares totales
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
MDA	Malonaldehído
LSM	Método de mínimos cuadrados
AAI	Índice de actividad antioxidante

Abreviatura	Término
Fe (OH) ₃	Hidróxido de hierro
EROS	Especies Reactivas de Oxígeno
RNS	Especies Reactivas de Nitrógeno
ANOVA	Análisis de varianza
TGL	Triacilgliceroles de manteca de cerdo
α-TOH	Alfa tocoferol cromanoxilo
β-TOH	Beta tocoferol cromanoxilo
γ-TOH	Gama tocoferol cromanoxilo
δ-TOH	Delta tocoferol cromanoxilo

Introducción

La demanda de productos saludables, el cambio de una alimentación más consciente en los consumidores, y las nuevas regulaciones impulsadas por la Organización Mundial de la Salud para prevenir factores de riesgo por las enfermedades cardiovasculares, han generado nuevas políticas y necesidades en los alimentos procesados; implementado nuevas estrategias nutricionales con foco en la reducción de las grasas saturadas en los alimentos, promoviendo así el desarrollo de productos con un perfil lipídico saludable. Reto importante para las industrias de los alimentos que conlleva a cambios en la formulación, producción y etiquetado, con nuevas materias primas oleaginosas que tiene menos estabilidad oxidativa, promoviendo la introducción de antioxidantes que puedan retardar las reacciones indeseables y mejorar la estabilidad de los alimentos en el tiempo (FAO, 2010; Zhao et al., 2021) .

A nivel técnico las soluciones planteadas para la suplementación de aceites saludables es el uso de aceites más insaturados, lo que introduce dificultades por la inestabilidad y el incremento en la velocidad de las reacciones de la oxidación en los alimentos, desarrollando sabores y olores desagradables, afectando la estabilidad en el almacenamiento, disminuyendo su vida útil, y en consecuencia afectando la calidad de los productos terminados. Adicionalmente los productos resultantes de la oxidación lipídica en los alimentos no sólo son los causantes del desagradable olor a rancio, sino que también pueden iniciar procesos de oxidación en cadena en el ser humano cuando se consumen con alta frecuencia, algunas investigaciones en salud han reportado implicaciones en el proceso de la carcinogénesis, aterosclerosis infarto de miocardio, alergias, inflamación intestinal y otras enfermedades (Miyazawa, 2021; Suhag, Ferrentino, et al., 2024).

Existen dos reacciones principales que pueden tener lugar en los aceites y grasas que provocan su degradación hasta el punto de comprometer su vida útil. Estas reacciones son la hidrólisis (también llamada lipólisis) y la oxidación. Los mecanismos de oxidación e hidrólisis son completamente diferentes, al igual que los productos de descomposición que dan lugar a la rancidez, la oxidación pasa por varias etapas y reacciones químicas. La primera etapa del proceso es la generación de radicales libres generados por el rompimiento homolítico de los enlaces de las grasas inicialmente insaturadas, que reaccionan con las moléculas de oxígeno para formar compuestos orgánicos como los dienos conjugados e hidroperóxidos. La segunda etapa de la reacción es la degradación del hidroperóxido, que trae a su vez la formación de otro tipo de productos dependiendo de las condiciones del medio. La reacción se puede dar por la autooxidación lipídica que tiene una energía de activación baja y que puede ocurrir fácilmente sin detenerse, siendo influenciada por otras condiciones difíciles de controlar en los procesos de fabricación y almacenamiento como las altas temperaturas, exposición a la luz, metales, presencia de enzimas, humedad y el aumento de los niveles de oxígeno, factores que pueden aumentar la velocidad de la reacción lipídica. Por lo que es de gran importancia el uso de antioxidantes preferiblemente naturales para continuar con las políticas de alimentos más saludables y etiquetado limpio (Afaf et al., 2003; Talbot, 2016; Bañares et al., 2022; Darmawan et al., 2023;)

Los antioxidantes más potentes usados actualmente en las mezclas de aceites suelen ser de origen artificial, o mezclas de antioxidantes naturales con artificiales, situación que genera una desventaja frente a las políticas de alimentos saludables y etiquetado limpio. Otra de las desventajas de los antioxidantes actualmente usados en la industria de los alimentos, es que puede cambiar el perfil sensorial, introduciendo sabores extraños en la matriz del alimento, además de la disminución del efecto antioxidante por ser termolábiles. Razón por la cual es importante conocer la matriz antioxidante, su origen, la concentración del componente activo y sus vehículos, por medio de las técnicas adecuadas y más utilizadas en la ciencia para la capacidad antioxidante, permitiendo así una mejor selección de estos. Conocer los múltiples factores que interviene en la eficiencia de un antioxidante, tales como, el perfil de ácidos grasos del aceite, los componentes menores presentes en el aceite, la estructura y funcionalidad de las moléculas antioxidantes. Los antioxidantes eficaces deben producir radicales que no sean reactivos frente a moléculas estables, y que limiten sus reacciones únicamente a la donación de hidrógeno(s) a radicales libres y al acoplamiento radical-radical para su regeneración, por lo que es importante conocer en detalle la estructura del antioxidante, su mecanismo de acción y la cinética de oxidación en las matrices alimentarias que permitan la obtención de criterios científicos para una adecuada selección y aplicación. (Afaf & Lars, 1996; Castelo & Torres, 2009; Zhang et al., 2023).

El alfa tocoferol es uno de los antioxidantes naturales liposolubles más comunes para prevenir la oxidación, el cual actúa primeramente como bloqueadores de cadenas de propagación como atrapadores de radicales peroxilos, o también puede inhibir el oxígeno singlete electrónicamente excitado por enfriamiento físico o por reacciones químicas. Pero como todos los antioxidantes naturales, pueden ser sensibles y disminuir su capacidad en el período de almacenamiento hasta que se agotan, y finalmente, la matriz del alimento se oxida por la pérdida de la actividad antioxidante. Razón por la cual es importante determinar la capacidad del antioxidante, además de conocer sus principios de funcionamiento e interacciones con los diferentes tipos de aceites vegetales, de manera que nos permitan obtener criterios claros para la toma de decisiones en la formulación de productos bajos en saturados, definiendo el tipo y la concentración de antioxidante que favorezcan las condiciones para aumentar el tiempo de vida de los productos. (Bañares et al., 2022; Darmawan et al., 2023).

A la fecha no se cuenta con información detallada de la cinética de oxidación de una mezcla de aceites de girasol y palma con alfa tocoferol, que permita mostrar el efecto del antioxidante y la velocidad de la reacción en el tiempo, por lo que, una manera de comprender el proceso de la oxidación lipídica es conociendo en detalle la susceptibilidad a la oxidación, las etapas de proceso oxidativo, los subproductos generados de las reacciones de oxidación, el mecanismo de acción del tocoferol, además de los efectos prooxidantes. Lo que nos motiva a investigar y determinar el perfil de ácidos grasos de la mezcla de aceites de palma y girasol, la capacidad antioxidante del alfa tocoferol y la cinética de oxidación y sus efectos en condiciones aceleradas con y sin antioxidantes, ya que la oxidación de los aceites depende en gran medida del perfil de los aceites, así como la composición de los ácidos grasos presentes. Un ejemplo claro es la degradación del aceite de girasol, el cual es uno de los más susceptibles a procesos oxidativos, con la formación de una cantidad significativa de hidroperóxidos antes de su transformación en productos de oxidación secundarios, situación que puede ser diferente en otros tipos de aceites (Mohan et al., 2018, Vali Zade et al., 2024).

El comportamiento observado en las variables dependientes a los procesos de oxidación, como peróxidos, compuestos polares totales, valores de TBARS y los periodos de inducción en términos de estabilidad oxidativa, nos permiten conocer el efecto del alfa

tocoferol sobre la estabilidad oxidativa en una mezcla de aceite de palma y de girasol, con el fin de obtener criterios en el desarrollo de nuevos productos como las galletas, además de mejorar las condiciones de procesamiento y estabilidad de los productos en la industria de los alimentos (Alzate, 2018; Custodio et al., 2020; Semenov et al., 2019; Vargas Fraile et al., 2019).

Objetivo

Determinar la capacidad antioxidante del alfa tocoferol y la cinética de oxidación en una mezcla de aceite de palma y de girasol utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas

Objetivos específicos

- Determinar el perfil lipídico en los aceites utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas.
- Determinar la cinética de oxidación en una mezcla de aceite de palma y de girasol utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas.
- Evaluar la capacidad antioxidante del alfa tocoferol por metodologías como ORAC o DPPH y comparar con otros tipos de tocoferoles.

1. Marco teórico y estado del arte

1.1 Especies Reactivas de Oxígeno (Radicales libres, especies no radicales)

La base y el principio de la oxidación lipídica son los radicales libres, especies moleculares independientes que contienen uno o más electrones desapareados en su último orbital atómico. Esta característica les otorga una propiedad de captación muy reactiva con una alta inestabilidad energética, actuando como oxidantes o reductores con otras moléculas como los lípidos y proteínas (Serra et al., 2020)

Los radicales libres regulan muchas funciones fisiológicas esenciales en el metabolismo celular, por lo tanto, tienen una gran importancia biológica. Se pueden generar a partir de fuentes exógenas como subproductos del metabolismo celular que juegan un papel esencial en la transducción de señales, la apoptosis, la eliminación de patógenos, la cicatrización de heridas y otros procesos biológicos. En un organismo sano, incluso algunas fugas mitocondriales las EROS parecen estar bien controladas por enzimas antioxidantes pertenecientes a oxidorreductasas como el glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa (Gulcin, 2020a).

Los radicales libres y sus precursores no radicalarios, algunos de ellos como el oxígeno singlete $^1O^2$, el anión superóxido $O_2^{\cdot-}$ y el radical hidroxilo (HO^{\cdot}) son algunos de los radicales más comunes en la oxidación de lípidos, siendo el radical hidroperoxilo (LOO^{\cdot}) un ejemplo de radical formado, el cual es resultado de la protonación del radical superóxido (Desikan et al., 2005; Kusio & Litwinienko, 2022)

Las Especies Reactivas de Oxígeno (EROS), al ser moléculas derivadas de la reducción secuencial del oxígeno molecular, son los responsables de numerosas reacciones en cadena, como se explica en la figura 1, donde el primer EROS que se genera es el anión superóxido, que con su protonación da como resultado la generación de peróxido de hidrógeno, perhidroxilo radical y con las reacciones de Haber–Weiss y/o Fenton, forman radicales hidroxilo y agua (Desikan et al., 2005).

Los EROS son precursores capaces de iniciar la peroxidación de lípidos en las membranas de células animales y vegetales, que, junto con la disminución dramática del nivel de antioxidantes, o defectos en la expresión de genes antioxidantes resultan en estrés y daño oxidativo de células y tejidos. En el caso de los alimentos, los procesos oxidativos pueden ocurrir con la participación de otras especies reactivas, porque las defensas y estructuras biológicas están ausentes o destruidas. Un ejemplo de un participante influyente en los alimentos son las proteínas (Gulcin, 2020a).

También existen las Especies Reactivas de Nitrógeno, denominadas con las siglas (ERN), que, junto con EROS pueden llegar a oxidar biomoléculas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, en organismos vivos. En los alimentos, las reacciones de deterioro están mediadas por los EROS

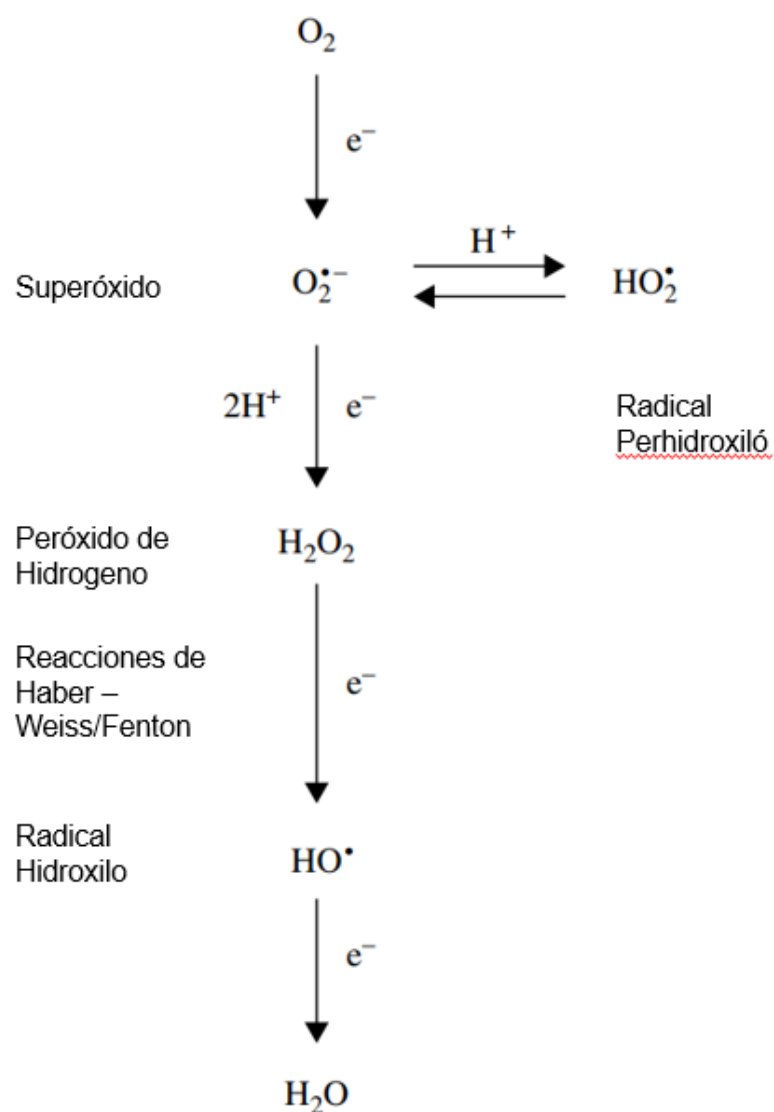


Figura 1 Etapas de la reducción secuencial del oxígeno molecular. De "Fluorescent probes for monitoring oxidation of lipids and assessment of antioxidant activity", Desikan et al., 2005, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants* por Desikan, p. 188.

1.2 Lípidos

Los lípidos son biomoléculas orgánicas compuestas principalmente por Carbono, Hidrógeno y Oxígeno, y en algunos casos, también por Fósforo y Nitrógeno. Éstos se caracterizan por tener grupos heterogéneos de compuestos, insolubles en agua y solubles en disolventes apolares u orgánicos, como el éter, cloroformo, benceno, etc. Dentro de las funciones biológicas más importantes de los lípidos, se encuentran la formación estructural de membranas celulares, la participación en procesos de producción de hormonas (esteroides), la síntesis de vitaminas y su aporte energético (Murphy, 2007)

La clasificación de los lípidos está dada por diferentes características, entre ellas, su función biológica, propiedades físicas y estructura molecular, siendo ésta última, la más estudiada. Según su estructura molecular, los lípidos se dividen en lípidos saponificables, esfingolípidos e insaponificables. Dentro de los lípidos saponificables, existe una subclasificación de saponificables simples y complejos (fosfolípidos); y dentro de los saponificables simples se encuentran los ácidos grasos, los acilglicéridos y los céridos (Murphy, 2007).

Los ácidos grasos poseen un grupo funcional carboxilo o ácido. Dentro de este grupo se encuentran los ácidos grasos esenciales, que no son sintetizados por el organismo humano, como el linoleico, linolénico y el araquidónico. Por otro lado, los acilglicéridos están constituidos por la esterificación del glicerol con 1 a 3 ácidos grasos, como se muestra en la figura 2, generando monoacilglicéridos, diacilglicéridos, triacilglicéridos o también denominados triglicéridos, siendo estos últimos los más encontrados en la naturaleza como reserva energética en animales y vegetales. Los triglicéridos son los principales constituyentes de las grasas naturales y pueden estar en estado sólido, denominados grasas y en estado líquido para el caso de los aceites (Badui, 2006; Murphy, 2007).

Según su estructura química (ver figura 3, 4 y 5), los ácidos grasos se clasifican en ácidos grasos saturados, e insaturados. En el primer caso pueden variar entre 4 a 26 átomos de carbono y su punto de fusión se encuentra directamente relacionado con su peso molecular. En la tabla 1 se exponen algunos de los ácidos grasos saturados de cadena lineal de origen natural más comunes en los alimentos. En contraste, los ácidos grasos insaturados, son más abundantes en aceites vegetales y marinos, y por su estructura, tienen una mayor reactividad química, debido a que son más propensos a reacciones de saturación, oxidación e isomerización. El punto de fusión de los ácidos grasos insaturados disminuye según el número de dobles enlaces y de acuerdo con esto existe una subclasificación: ácidos grasos monoinsaturados que contiene un doble enlace en la cadena carbonada y ácidos grasos poliinsaturados, con más de un doble enlace; siendo la mayoría en el carbono 10 y 9. Los ácidos grasos poliinsaturados más comunes en alimentos se exponen en la tabla 2 (Badui Dergal, 2006; Murphy, 2007, Gurr M.I et al., 2002)

Adicionalmente se ha reportado otra clasificación de los ácidos grasos instaurados por el tipo de cadenas de carbonos en su estructura, las cadenas cortas de 2 a 6 átomos de carbono, cadena media de 8 a 12 átomos de carbono y cadena larga de 16 o más átomos de carbono. Los ácidos grasos de cadena extraña o ramificada sólo son componentes menores de los acilgliceroles (Badui, 2006; Murphy, 2007; Thomas A, 2008,.L. Dupont, 2005)

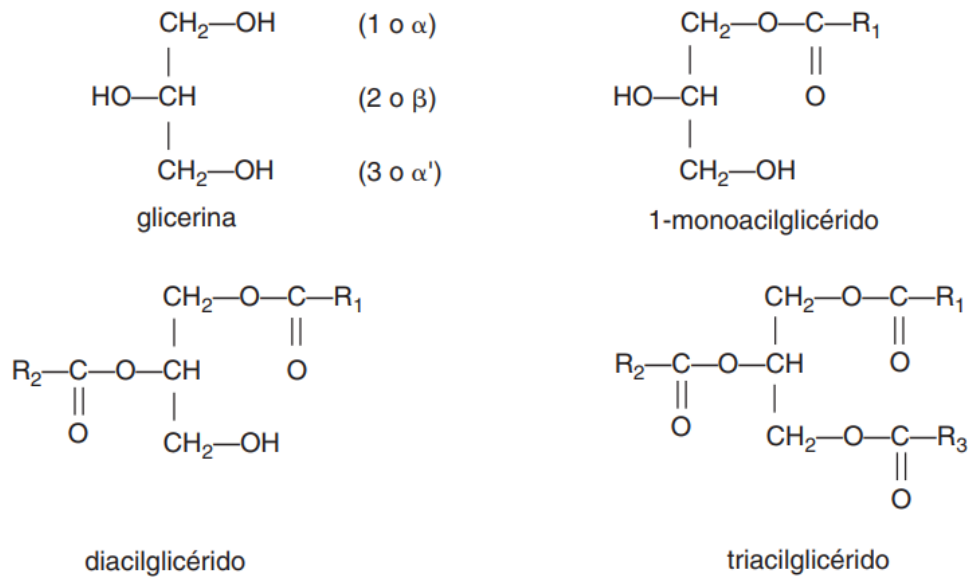


Figura 2 Estructuras de glicerina, monoacilglicérido, diacilglicérido y triacilglicérido. De *“Química de los alimentos, lípidos”* por Badui, 2006, p.253

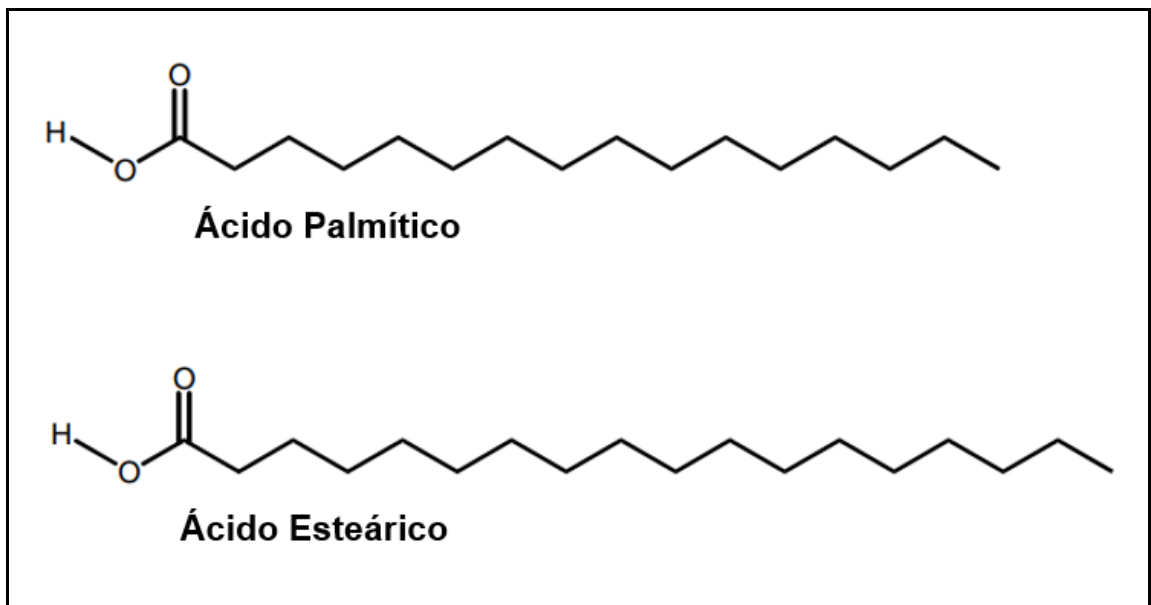


Figura 3 Ejemplos de estructuras de ácidos grasos saturados. De *“Fats, genes and food using lipids as a tool for science education and public outreach”*, por Murphy D, 2007, *Teaching Innovations in Lipid Science* pg 142

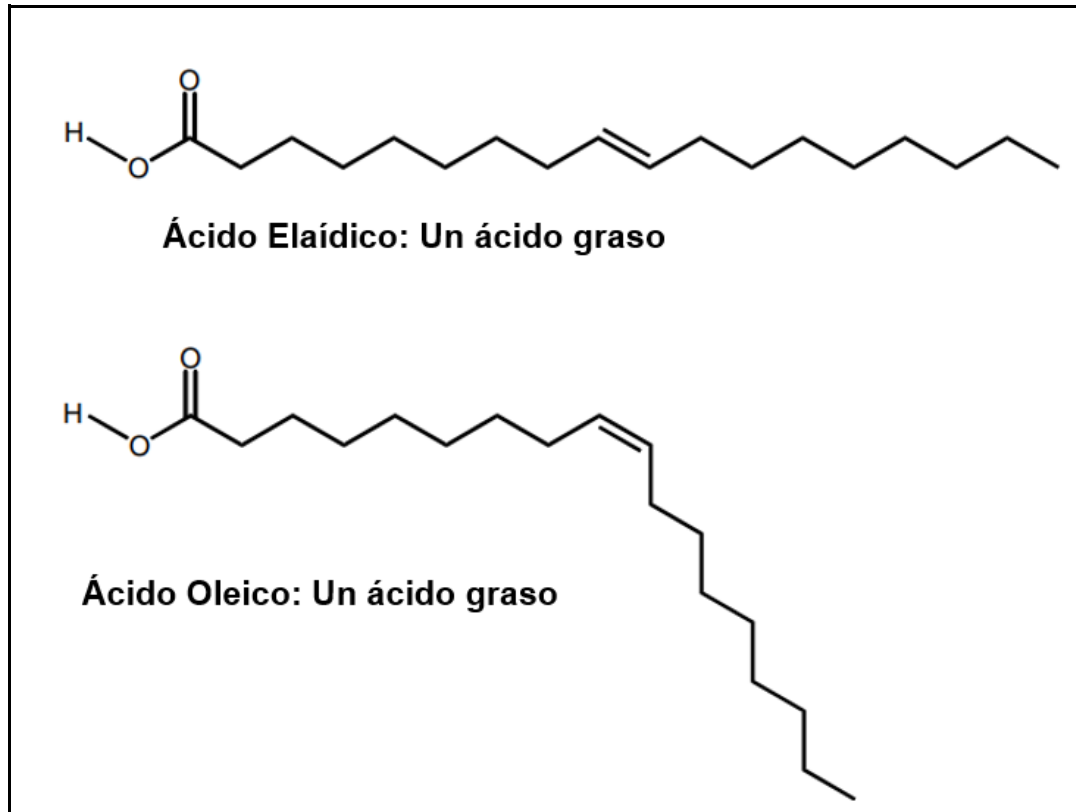


Figura 4 Ejemplos de estructuras de ácidos grasos monoinsaturados. De *"Fats, genes and food using lipids as a tool for science education and public outreach"*, por Murphy D, 2007, *Teaching Innovations in Lipid Science* pg 142

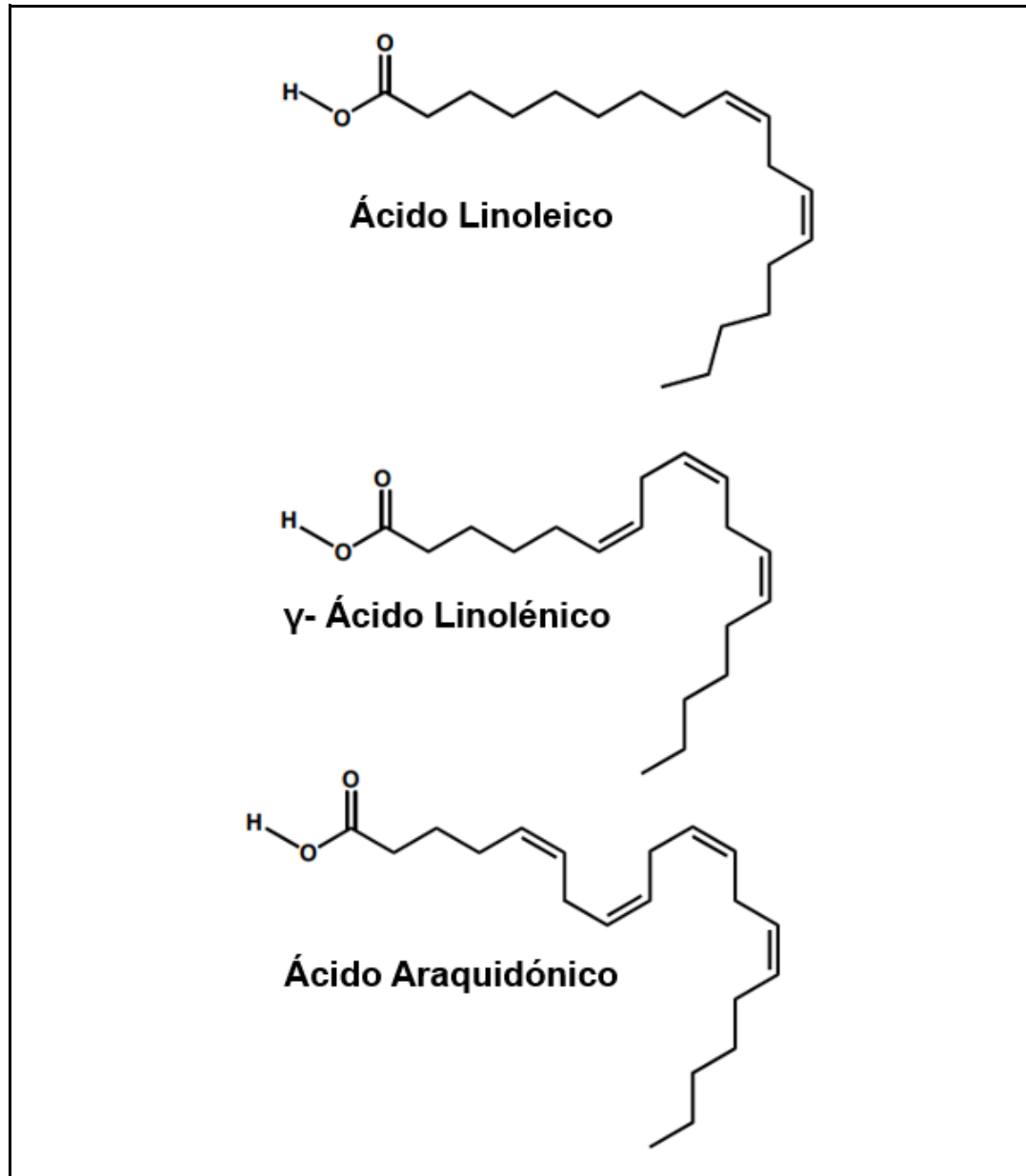


Figura 5 Ejemplos de estructuras de ácidos grasos poliinsaturados. De *"Fats, genes and food using lipids as a tool for science education and public outreach"*, por Murphy D, 2007, *Teaching Innovations in Lipid Science* pg 142

Tabla 1 Ácidos saturados de cadena lineal de origen natural más comunes

N° Carbonos	Nombre Común	Punto de fusión	Fuente
C4:0	Butírico*	-7,9	En niveles elevados en el rumen, también en Grasa láctea de rumiantes
C6:0	Caproico*	-8	Grasa de la leche
C8:0	caprílico*	12,5	Componente muy menor de la mayoría de las grasas animales y vegetales. Importante componente de muchas leches y algunas triacilglicérols de semillas
C10:0	cáprico*	29,6	Generalizado como componente menor. Componente principal de muchas leches y algunos triacilglicérols de semillas.
C12:0	Láurico*	42,2	Ampliamente distribuido, un importante Componente de algunas grasas de semillas (p. ej. aceite de palma o de coco)
C14:0	Mirístico*	52,1	Ocasionalmente se encuentra como componente principal.
C16:0	Palmítico*	60,7	Las grasas saturadas más comunes, Ácido en animales, plantas y microorganismos.
C18:0	Esteárico*	69,6	Componente principal en animales y algunos hongos, constituyente menor en plantas (pero importantes en algunas, por ejemplo, manteca de cacao.
C20:0	Araquídico	75,4	Ocasionalmente un componente importante.
C22:0	Behénico	80	Bastante extendido como menor componente en triacilglicérols de semillas y ceras vegetales
C24:0	Lignocérico	84,2	Bastante extendido como menor componente en triacilglicérols de semillas y ceras vegetales.
C26:0	Cerótico	87,7	Componente principal de algunas ceras vegetales e insectos
C28:0	Montánico	90,9	Componente principal de algunas ceras vegetales

Adaptado de "Lipid Biochemistry" por Gurr M.I et al., 2002, 5th edición, p. 14 -16

Tabla 2 Ácidos insaturados de cadena lineal de origen natural más comunes en alimentos

Insaturados	N° Carbonos	Nombre Común	Punto de fusión	Fuente
Ácidos monoinsaturados	C16:1	Palmitoleico	1	Generalizado: animales, plantas, microorganismos. Componente principal en algunos aceites de semillas.
	C18:1	Petroselénico	33	Se encuentra en aceites de semillas de umbelíferas.
	C18:1	Oleico *	16	Ácido graso más común en plantas y animales. También se encuentra en la mayoría de los microorganismos.
	C18:1	Elaídico	44	Grasas de rumiantes hidrogenadas margarinas.
	C20:1	Gondoico		Aceite de semilla de colza; aceites de pescado.
	C22:1	Erúcico		Aceite de semilla de crucíferas (colza, mostaza, etc.).
Ácidos poliinsaturados	C18:2	Linoleico *	-11	Componente principal de los lípidos vegetales.
	C18:3	γ-Linolénico * α-Linolénico *	-11	En mamíferos se deriva únicamente de vegetales dietéticos y plantas y aceites marinos. Plantas superiores y algas.
	C18:3	eleosteárico	49	Algunos aceites de semillas, especialmente el aceite de Tung.
	C20:4	Araquidónico	-49,5	Componente principal de algas marinas y algunas terrestres especies, como los musgos.
	C22:5	clupanodónico		Abundante en pescado.

*Ácidos grasos insaturados más comunes en alimentos

Adaptado de "Lipid Biochemistry" por Gurr M.I et al., 2002, 5th edición, p. 14 -16

1.3 Peroxidación lipídica

Los fenómenos de oxidación de los ácidos grasos han sido estudiados desde hace muchos años y se ha establecido la teoría de autooxidación de los ácidos grasos insaturados (PUFA) por medio de tres fases y reacciones en cadena, que forman productos en cada una de sus fases. En la figura 6 se muestran de manera resumida el comportamiento y la cinética reacción de PUFA (Afaf et al., 2003)

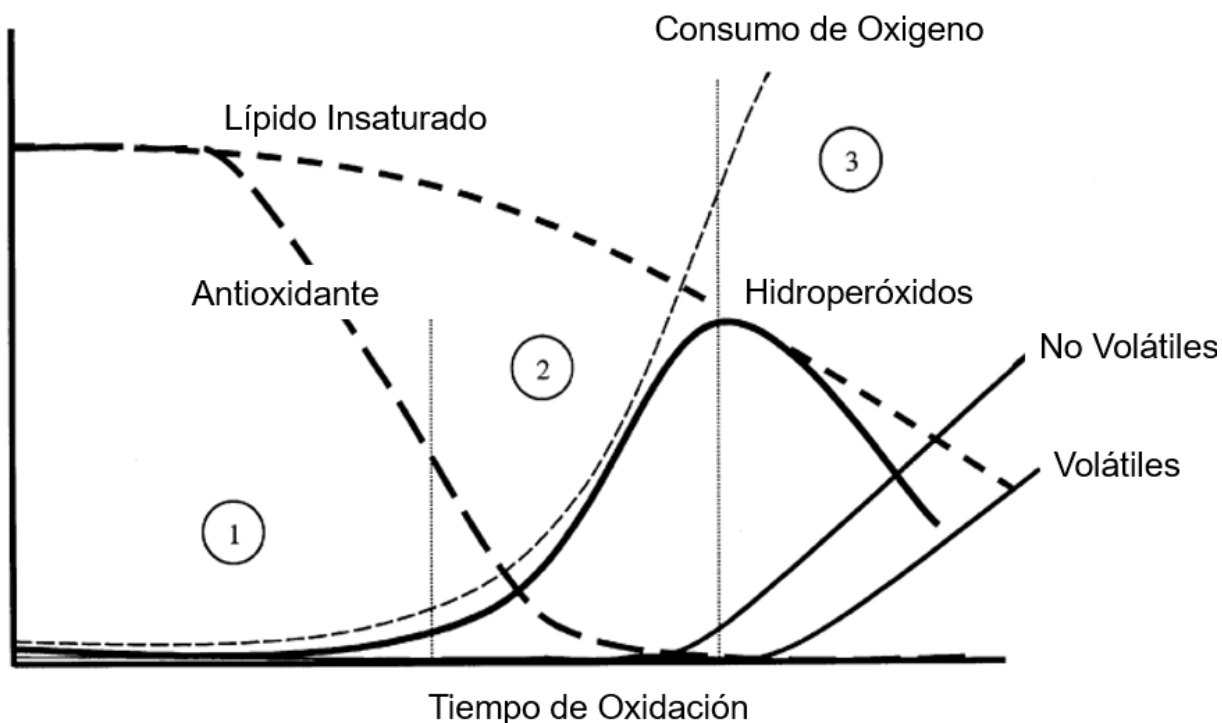
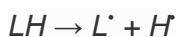


Figura 6 Fases de la Peroxidación lipídica. De "The challenging contribution of Hydroperoxides to the lipid oxidation mechanism", Afaf et al., 2003, *Lipid Oxidation Pathways* por Kamal-Eldin, 2003 p.2

1.3.1 Fase de Iniciación

La reacción de iniciación implica la generación de un radical, generalmente un radical alquilo ($L\cdot$) a partir de un ácido graso insaturado. La reacción de iniciación es muy lenta y depende del iniciador empleado (I). La reacción puede ser catalizada por el calor, la luz, metales traza y/o ciertas enzimas (Kamal-Eldin; A & Appelqvist, 1996). Los productos generados en esta etapa de iniciación son inoloros, pero son iniciadores de las cadenas oxidativas a través de la descomposición en radicales libres como se muestra en la ecuación 1 (Afaf et al., 2003).

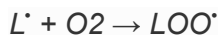
Ecuación 1 Iniciación



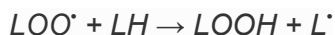
1.3.2 Fase de Propagación

Los radicales alquilo ($L\cdot$) formados en la etapa de iniciación son muy reactivos, y generalmente se combinan con el oxígeno disponible a una velocidad muy alta, dando radicales peroxídicos ($LOO\cdot$). Estos desaparecen mediante una reacción mucho más lenta, dando lugar a los hidroperóxidos lipídicos ($LOOH$) y nuevos radicales alquilo que propagan la reacción (Kamal-Eldin; A & Appelqvist, 1996). Como resultado de la oxidación y escisión de las moléculas de hidroperóxido, se obtienen productos de bajo peso molecular, como aldehídos, cetonas, ácidos, alcoholes, ésteres, furanos y lactonas, causando así rancidez como se muestra en la ecuación 2 y 3 (Afaf et al., 2003).

Ecuación 2 Propagación (1)



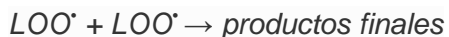
Ecuación 3 Propagación (2)

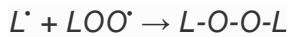
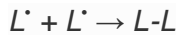


1.3.3 Fase de Terminación

Cuando se consumen casi todos los lípidos no peroxidados, los radicales tienden a dimerizar y terminar la reacción en cadena, formando productos no radicalarios terminado así la reacción como se muestra en las ecuaciones 4,5 y 6 (Afaf et al., 2003; Afaf & Lars, 1996)

Ecuación 4 Radicales peroxídicos dimerizados



Ecuación 5 Radicales alquilo y peróxido dimerizados**Ecuación 6 Radicales alquilo dimerizados**

Las fases de la oxidación avanzan con mayor velocidad de acuerdo los efectos de algunos iniciadores presentes en la reacción, como la luz, la temperatura, los metales y las enzimas, produciendo a su vez diferentes productos los cuales se relacionan con cada fase como se muestra en la figura 7, a continuación, se explican cada una ellos (Afaf et al., 2003; Afaf & Lars, 1996).

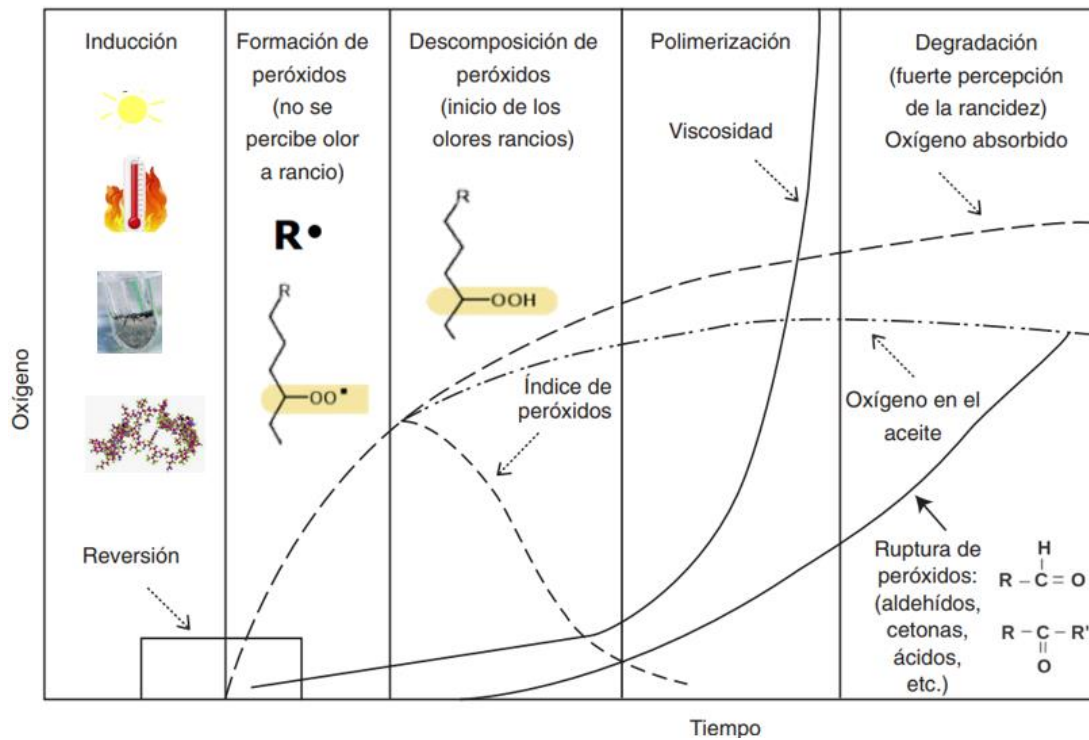


Figura 7 Detalle de fases de la Oxidación de los aceites vs productos generados. Adaptado de *Química de los alimentos* por Badui, 2006 p. 287

1.3.4 La oxidación mediada por el oxígeno

Denominada autooxidación, es la más frecuente en los alimentos como una oxidación natural de una grasa y/o aceites a temperatura ambiente. El oxígeno en su estado natural, estado triplete, se puede convertir en oxígeno singlete que es más reactivo. También puede iniciarse por otros factores autocatalíticos a través de radicales libres intermedios, que incluyen trazas de metales y peróxidos presentes como impurezas en los sistemas alimentarios. Generalmente la autooxidación es un proceso lento, el cual requiere de un tiempo considerable para el desarrollo de sabores y olores desagradables. La autooxidación, ver reacciones 7 a la 9 requiere de una energía de activación de 20-30 kcal/mol, lo que indica que, a bajas temperaturas, ejemplo a 20°C, se requiere de catalizadores. Es así como la velocidad de autooxidación se duplica por cada 15°C de incremento. Por otro lado, la fotooxidación ocurre cuando un alimento se expone a la luz en presencia de fotosensibilizadores y oxígeno atmosférico, incluso en pequeñas cantidades. Un ejemplo de fotosensibilizador es la clorofila (Afaf et al., 2003; Afaf & Lars, 1996; Serra et al., 2020).

Ecuación 7 Descomposición del radical libre



Ecuación 8 a,b Descomposición del hidroperóxido



Ecuación 9 a,b Descomposición de radicales alquilo



Mas las ecuaciones 4,5 y 6 descritas anteriormente (Nedyalka V. & M. Marinova, 2003).

1.3.5 Efecto del agua de los alimentos en la oxidación de lípidos

El contenido de agua en el alimento influye en la velocidad de autooxidación de los ácidos grasos. Cuando un alimento es sometido al secado, con la remoción del agua quedan canales por donde el oxígeno migra, y los glóbulos de grasa se rompen aumentando así

su exposición. La monocapa del agua ligada es la más difícil de eliminar en el secado, y tiene un efecto protector contra reacciones lipídicas, actuando como barrera al oxígeno. Cuando la monocapa se pierde ($a_w < 0,25$), la oxidación se acelera y también favorece el incremento de la movilidad de las partículas en el alimento y la solubilización de los reactivos y metales. En $a_w > 0,8$, la oxidación se inhibe por la dilución de los metales y en ciertos casos, por su precipitación como hidróxidos (figura 8). Un ejemplo claro es el caso del ion metálico, que reacciona más fácilmente con el hidroperóxido, debido a que, en este caso, no existe la capa de hidratación, por lo que a medida que aumenta el contenido de agua, se reduce la velocidad de autooxidación (Badui, 2006).

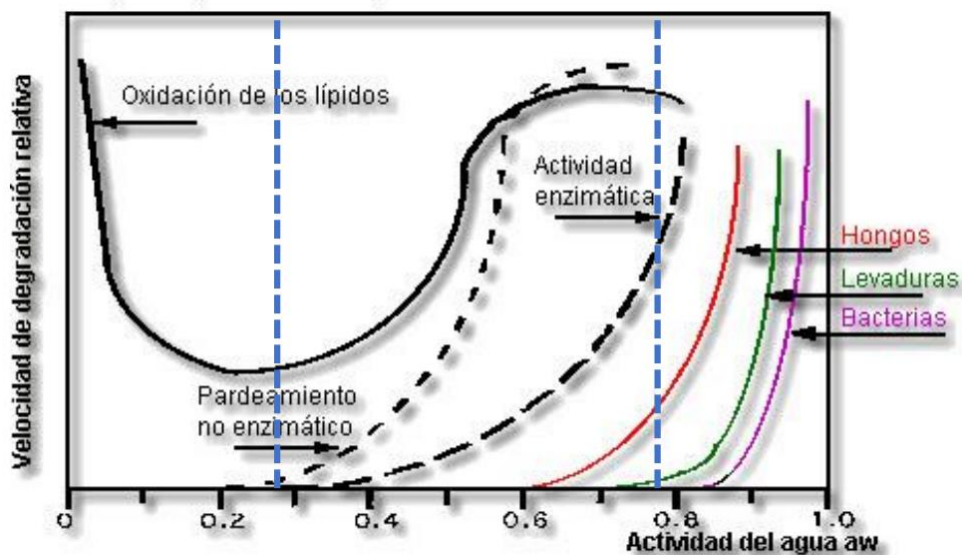


Figura 8 Degradación de los Alimentos según actividad de agua. De "Química de los alimentos" por (Badui, 2006), p.35

1.3.6 El efecto de la temperatura

La termooxidación en la oxidación de lípidos, es la catálisis por la temperatura con el mismo mecanismo básico de la autooxidación, pero con una velocidad mucho mayor y con productos de la reacción diferentes. Esto, debido a que hay una mayor inestabilidad de los hidroperóxidos, generando una mayor participación de los radicales alquilo y alcoxilo y una menor participación de los radicales peroxilo. Los productos de la oxidación a altas temperaturas son principalmente oligómeros y polímeros con enlaces carbono-carbono,

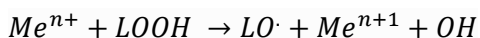
epoxi y éter, a diferencia de los hidroperóxidos, que se forman a bajas temperaturas, siendo los aceites vegetales más susceptibles a la degradación termooxidativa en función de su composición en ácidos grasos (Afaf et al., 2003). En algunos estudios se ha reportado que la reacción de oxidación se duplica por cada aumento de 10°C de la temperatura. En la reacción de propagación del proceso oxidativo, la velocidad a temperatura ambiente es menor que a altas temperaturas, donde la descomposición de los radicales hidroperoxilos aumenta y la disponibilidad de oxígeno puede ser crítica. La velocidad de descomposición del hidroperóxido aumenta en 50-60°C. En experimentos de oxidación estudiados por Kamal-Eldin, 2003, hubo grandes variaciones en la duración del período de inducción, a temperaturas moderadas ($\leq 60^\circ\text{C}$) y sin catalizadores añadidos, en estas condiciones muchas variables desconocidas controlaron el inicio de la oxidación, lo que lleva a una reproducibilidad deficiente. En estudios de oxidación no catalizados, a temperaturas de 60°C se minimiza la descomposición de los hidroperóxidos y otras reacciones secundarias. A temperaturas más altas ($\geq 80^\circ\text{C}$), la duración de los períodos de inducción es más estable, pero a temperaturas mayores a $\geq 100^\circ\text{C}$ la oxidación es más drástica y relevante (Afaf et al., 2003).

La temperatura también influye en las reacciones posteriores de los radicales peroxilo y en la isomerización de los hidroperóxidos; un ejemplo son los hidroperóxidos del ácido linoleico, donde se da una menor β -fragmentación de los radicales dienil peroxilo a 10°C, mientras que a 50°C, la relación de trans,cis-/trans,trans-hidroperóxidos fue mayor a la temperatura más baja. Es por esto por lo que los estudios de productos de oxidación volátiles se dividen en dos categorías, los realizados a temperaturas moderadas ($< 80^\circ\text{C}$) más aplicados para evaluar la estabilidad de los alimentos durante su almacenamiento, y los realizados a temperaturas elevadas ($> 130^\circ\text{C}$), aplicados para estudiar efectos de la cocción, el horneado y la fritura en los alimentos (Afaf et al., 2003).

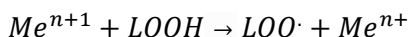
1.3.7 Efectos de los metales de transición

Los iones metálicos pueden iniciar la autooxidación, estos pueden proceder de los equipos de refinación, del proceso de hidrogenación, del envase o de los diversos componentes proteicos como las enzimas. Los iones metálicos más reconocidos son Cu^{2+} , Fe^{2+} y Mn^{2+} . Los metales pueden catalizar la descomposición de los hidroperóxidos en radicales alcoxilo ($\text{LO}\cdot$) y peroxilo ($\text{LOO}\cdot$), como se muestra en la ecuación 10 y 11. Esta catálisis mediada por metales depende de varios factores como el pH, el disolvente y los ligandos. Generalmente los metales en su estado de oxidación más bajo (Ejemplo del Fe^{2+}) conducen a la formación de radicales alcoxilo $\text{LO}\cdot$, mientras que los metales en su estado de oxidación más alto (ejemplo del Fe^{3+}) producen peroxilo ($\text{LOO}\cdot$), Ecuación 12 y 13 (Afaf et al., 2003; Miyamoto & Di, 2014; Serra et al., 2020).

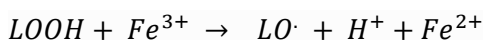
Ecuación 10 Estado de oxidación iones (a)



Ecuación 11 Estado de oxidación iones metálicos (b)



Ecuación 12 Estado de oxidación alto con el hierro



Ecuación 13 Estado de oxidación bajo con el hierro



1.3.8 Efectos de la oxidación enzimática

La oxidación de los lípidos en los alimentos también puede ser causada por enzimas hidrolíticas, las cuales llevan a cabo la ruptura de enlaces covalentes introduciendo una molécula de agua. Dentro de estas enzimas están las lipoxidasas o lipoxigenasas que

pueden catalizar la ruptura de enlaces éster. Estas enzimas pueden actuar en un gran número de sustratos, catalizando reacciones de hidrólisis, esterificación y transesterificaciones con preferencia selectiva en triglicéridos por el tipo y posición de los ácidos grasos. También son industrialmente usadas para la producción de lípidos funcionales, como el enriquecimiento de ácidos grasos de la poliinsaturados (PUFA) (Palacios, 2015).

Las lipoxidasas o lipoxigenasas se pueden encontrar de manera natural en los alimentos y pueden propiciar la generación de hidroperóxidos. Requieren un pH y temperatura óptimos para su funcionamiento y tiene un centro activo denominado metaloproteínas con un Fe^{2+} , el cual tiene preferencia o región selectiva por la posición de los ácidos grasos específicos, como los sistemas pentadienos (1 Cis, 4 cis), que se encuentran en ácido linolénico, linoleico y araquidónico, ver reacción en la figura 9 (Rojano, 1997).

La oxidación mediada por enzimas se puede ver claramente en el germen de trigo, donde el principal obstáculo en el uso extendido del germen de trigo se ha atribuido a las altas actividades de lipasa y lipoxigenasa, que, junto con lípidos insaturados, conducen a cambios indeseables en el producto. Un punto crítico para el proceso de oxidación es el tratamiento mecánico utilizado para separar el grano de trigo, el cual implica una necesaria fase de templado y, en consecuencia, la activación de lipasa y lipoxigenasa. Al agregar agua, la lipasa escinde los triglicéridos en los ácidos grasos y la lipoxigenasa cataliza la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados presentes en el germen (Marzocchi et al., 2022).

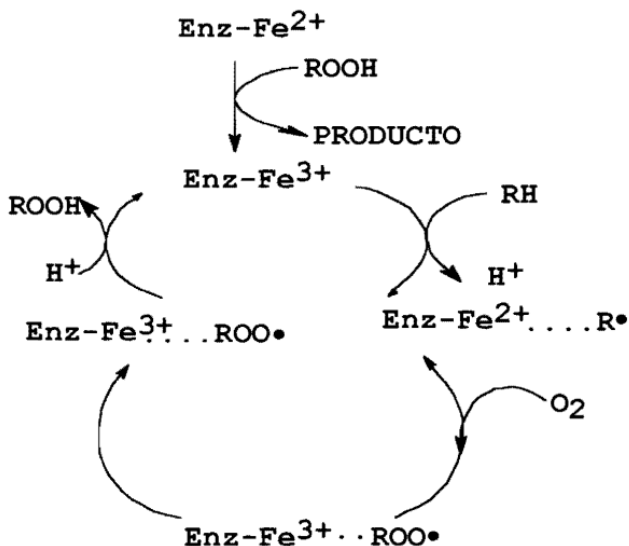


Figura 9 Iniciación Enzimática por Lipooxigenasas. De "Oxidación de lípidos y antioxidantes", Rojano, 1997 pg 12

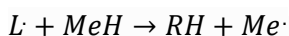
1.3 9 Efectos del pH en la oxidación

El pH depende de las reacciones con los iones metálicos de transición. El hierro, por ejemplo, se comporta de manera diferente según sea el pH del medio. Adicionalmente el pH de la solución también podría influir en la formación del peróxido de hidrógeno, la reacción del Fe^{+2} con el oxígeno y el consumo competitivo de oxidantes activos mediante reacciones en cadena. Un ejemplo de lo anterior se explica por medio del comportamiento del hierro a diferentes pH. Cuando el hierro se encuentra ligado al agua, es muy estable, pero cuando no está unido al agua, el hierro puede ser reemplazado con hidróxidos a medida que se aumenta el pH. La velocidad de reacción del Fe^{+2} con el oxígeno se incrementa al aumentar el pH; a $\text{pH} < 7,0$ la reacción de hierro con el oxígeno es extremadamente lenta, porque el Fe^{+2} es la especie dominante a $\text{pH} < 7,0$. El Fe^{+3} favorece la formación de hidróxidos de hierro inactivos como el $\text{Fe}(\text{OH})_3$ el cual se precipita a un pH más alto (Lin et al., 2025).

1.3.10 Efecto de la reacción de Maillard

Los productos de las reacciones de Maillard pueden retrasar o prevenir la oxidación de los lípidos, y pueden actuar como un antioxidante endógeno natural por medio de la formación de melanoidinas, las cuales tienen la capacidad de donar átomos de hidrógeno y neutralizar radicales libres derivados de la oxidación de lípidos como alquilo ($L\cdot$), alcoxilo ($LO\cdot$) y peroxilo ($LOO\cdot$), de acuerdo con los siguientes mecanismos de las ecuaciones 14, 15 y 16 (Nooshkam et al., 2019; Nooshkam & Varidi, 2024)

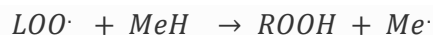
Ecuación 14 Radical alquilo con melanoidinas



Ecuación 15 Radical alcoxilo con melanoidinas



Ecuación 16 Radical peroxilo con melanoidinas



La propiedad antioxidante de las melanoidinas se debe a su capacidad para quelación de iones metálicos, la rotura de cadenas radicales, la descomposición del peróxido de hidrógeno y la eliminación de especies reactivas de oxígeno (Nooshkam et al., 2019; Nooshkam & Varidi, 2024)

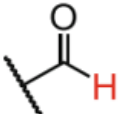
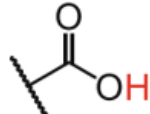

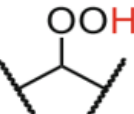
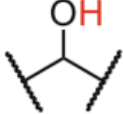
Para explicar la autooxidación de los ácidos grasos, oxidación más frecuente en los alimentos, se calculan los periodos de inducción, donde se puede ver el aumento exponencial con el tiempo de los primeros productos de la oxidación. El periodo de inducción y la velocidad de la oxidación van a depender de la naturaleza del ácido graso oxidable, sustancias prooxidantes como los metales, los cuales aceleran los procesos degradativos (Erim Köse, 2021; Osorio, 2013)

1.4 Productos de oxidación lipídica

1.4.1 Mecanismos para medición de productos de la oxidación lipídica

El análisis de la oxidación en los lípidos se realiza mediante el seguimiento de un conjunto de productos formados durante el proceso de oxidación. En la tabla 3 se presentan algunas de las especies de oxidación de lípidos detectadas con frecuencia utilizando el método de espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR) y el método convencional, más adecuado para detectar varias especies de oxidación de lípidos simultáneamente. Para el caso de las emulsiones, se debe separar el aceite previamente de manera cuidadosa previa a la ejecución de análisis por este método (Ten Klooster et al., 2022)

Tabla 3 Especies de oxidación de lípidos detectadas con frecuencia en NMR

Productos de Oxidación	Método Convencional
Aldehídos 	GC (hexanal); p-Valor anisidinas
Ácidos Carboxílico 	Valores ácidos, valores de saponificación
Epóxidos 	HBr-acético titulación ácida; Valor de peróxido
Hidroperóxidos 	Valor de Peróxidos
Hidróxidos 	Compuestos Polares Totales

*Adaptado De "Lipid Oxidation in food emulsions: Analytical challenges and recent developments"
Ten Klooster et al., 2022, Lipid Oxidation in Food and Biological Systems: A Physical Chemistry
Perspective", p 10*

La evaluación temprana de la oxidación en lípidos se puede hacer también por resonancia de espín electrónico ERS, evaluando los radicales intermedios formados durante la etapa inicial de la oxidación. Este método puede detectar con precisión los electrones desapareados de los radicales lipídicos. La dificultad del método es que estos radicales tienen una corta duración, es decir una vida media en segundos, ver tabla 4, donde sus concentraciones son bajas en su estado estacionario. Adicionalmente, se debe asegurar la homogeneidad de trampa de espín, lo que es complejo en emulsiones secas. Este método consiste en añadir trampas de espín, que reaccionan con los radicales libres para formar aductos radicales más estables, usando una trampa giratoria como N-terc-butil- α -fenilnitrona liposoluble (PBN), lo que es comúnmente usado para controlar autooxidación en los aceites. Como este método puede influir en la oxidación por medio de la inhibición, se debe tener claro que la trampa debe ser adicionada después del proceso de oxidación; esto lo hace poco útil para detectar de manera temprana la oxidación, pero puede ser útil para evaluar las estrategias de antioxidantes en emulsiones O/W (Ten Klooster et al., 2022).

Tabla 4 Vida media de radicales

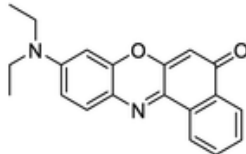
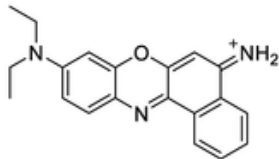
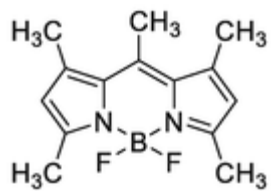
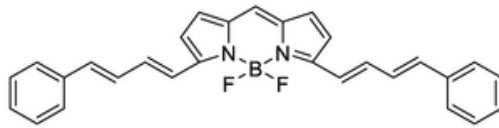
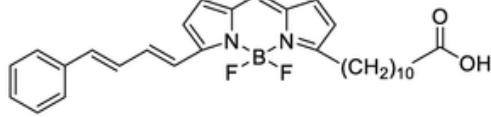
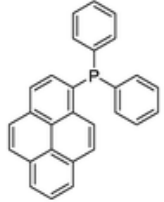
Radical libre	Vida media
<i>Radical hidroxilo HO\cdot</i>	10^{-9} s
<i>Superoxido O$_2^{\cdot -}$</i>	–
<i>Ozono O$_3$</i>	–
<i>Radical alcoxilo lipídico LO\cdot</i>	10^{-6} s
<i>Oxígeno Singlete 1O_2</i>	10^{-5} s
<i>Peroxinitrito ONOO\cdot</i>	0.05-1 s
<i>Anión nitroxilo NO\cdot</i>	1-10 s
<i>Radical hidroperoxilo ROO\cdot</i>	7 s

Adaptado "Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview", Gulcin, 2020

Los compuestos orgánicos volátiles, como los aldehídos y el hexanal, son analizados con mayor frecuencia, seguidos por otros compuestos de oxidación secundaria como alcanos, alquenos, alcoholes, ácidos, cetonas y epóxidos. Estos compuestos orgánicos son los responsables del olor a rancio generado por la oxidación de lípidos, hasta en pequeñas cantidades presentes en el alimento. Debido a su bajo punto de ebullición, se deben medir por cromatografía de gases, con los tres principales métodos, espacio de cabeza estático (CG-SHS), espacio de cabeza dinámico (CG-DHS) y extracción por absorción en el espacio de cabeza (CG-HSSE) (Stefani Juncos et al., 2024; Ten Klooster et al., 2022; Vali Zade et al., 2024)

El uso de fluoróforos es otra técnica utilizada para estudiar la oxidación en lípidos, ya que permite monitorear cambios estructurales y localizar eventos de oxidación. Estos métodos se describen en la tabla 5 (Ten Klooster et al., 2022).

Tabla 5 Fluoróforos utilizadas para estudiar la oxidación en lípido

Objetivo	Fluoróforos (excitación/emisión) nm	Estructura química
Lípido	<i>Rojo Nilo</i> (Zafeiri et al. 2017) (λ_{ex} 532/ λ_{em} 585)	
Lípido	<i>Azul del Nilo</i> (Yang et al. 2013) (λ_{ex} 633/ λ_{em} 660)	
Lípido	<i>BODIPY 493/503</i> (Barden et al.2015) (λ_{ex} 488/ λ_{em} 515)	
Mapeo de oxidación	<i>BODIPY 665/676</i> (Raudsepp et al.2014) (λ_{ex} 580 y 675/ λ_{em} 605/635 y 685)	
Mapeo de oxidación	<i>BODIPY 581/591 C-11</i> (Banerjee et al. 2017) (λ_{ex} 488 y 561/ λ_{em} 500–545 y 570–640)	
Mapeo de oxidación	<i>DPPP</i> (Mónica Mosca et al. 2013) (λ_{ex} 352/ λ_{em} 380)	

Adaptado De “Lipid Oxidation in food emulsions: Analytical challenges and recent developments”
Ten Klooster et al., 2022, *Lipid Oxidation in Food and Biological Systems: A Physical Chemistry Perspective*, p 22

1.4.2 Hidroperóxidos

Los hidroperóxidos son productos resultantes de las etapas de oxidación primaria de los ácidos grasos, formados por la abstracción de átomos de hidrógeno del ácido graso, también son formados por la ruta del radical peroxilo, que cuando se añade directamente al doble enlace, forma epóxidos, siendo este último resultante de sustratos monoinsaturados. La susceptibilidad de los diferentes ácidos grasos a la extracción de hidrógeno depende de la energía de disociación de los enlaces C-H, por lo que la presencia de un doble enlace en el ácido graso debilita el enlace C-H en el átomo de carbono adyacente al doble enlace y facilita la eliminación de hidrógeno. Esto último, explica la estabilidad oxidativa de los sustratos monoinsaturados que son más resistentes a la abstracción de hidrógeno con respecto a los poliinsaturados (Afaf et al., 2003).

Otros compuestos resultantes de la autooxidación del linoleato de metilo a 37°C son los mono hidroperóxidos, que contienen una estructura de dieno conjugado (CD). La descomposición del hidroperóxido proporciona uno de los procesos más importantes que catalizan la oxidación de lípidos. Una vez que el contenido de hidroperóxido en un sistema que contiene PUFA alcanza un valor crítico su descomposición se vuelve significativa y aumenta la tasa de oxidación de lípidos. Este valor crítico no está suficientemente claro, porque algunos autores hablan de 1 – 2 mEq/kg, pero otro autor habla de 18,8 mEq/kg. En un modelo cinético de reacción de formación de primer orden y una reacción de descomposición de segundo orden, de triacilgliceroles de girasol, se demostró que, en la fase de propagación, la tasa de formación de hidroperóxido es mayor que la velocidad de su descomposición, situación que se revierte en la etapa de descomposición, donde la constante de la velocidad de la reacción depende de la temperatura (Afaf et al., 2003)

1.4.3 Compuestos volátiles, no volátiles y polímeros

En las etapas de oxidación secundaria se forma una mezcla compleja de productos, que se forman por las reacciones de descomposición del hidroperóxido. A la fecha todavía no se comprende con exactitud los mecanismos de formación de productos de la reacción secundaria como su cinética y su termodinámica, ya que pueden estar mediados por otros factores que influyen en su formación como la temperatura, los medios de reacción y compuestos antioxidantes y prooxidantes. La mayoría de estos productos de oxidación secundaria se forman a partir del radical alcoxi, donde se han identificado productos aldehídos como el malondialdehído, aldehídos de cadena lineales C3 -C10 y aldehídos β insaturados (como el 4-hidroxinonenal y la acroleína). En la figura 10 se exponen algunos de los productos de la reacción secundaria (Afaf et al., 2003).

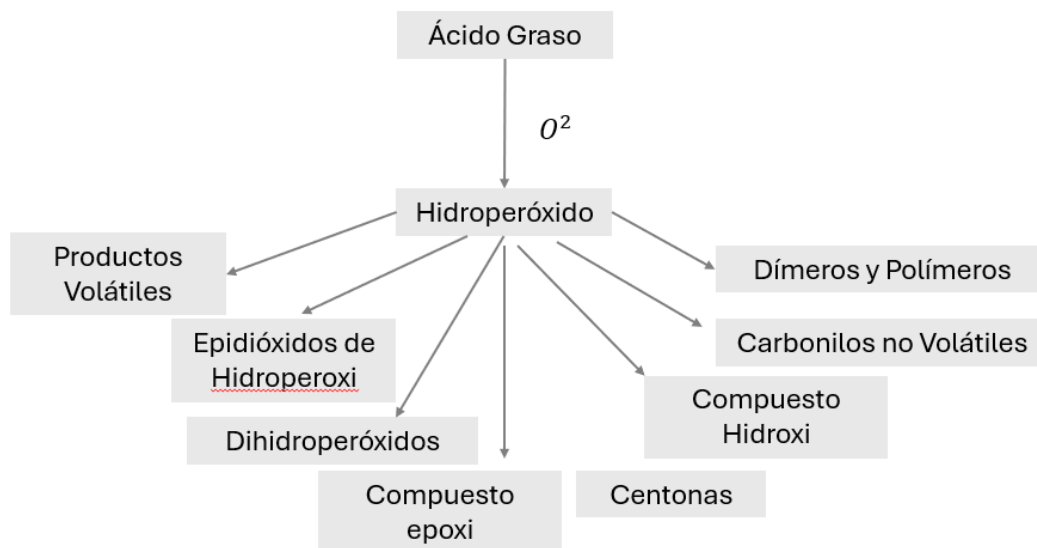


Figura 10 Productos de reacción secundaria -Descomposición de hidroperóxido. De "The challenging contribution of Hydroperoxides to the lipid oxidation mechanism", por Afaf et al., 2003, *Lipid Oxidation Pathways*, Kamal-Eldin, 2003, p 10.

1.4.4 Malondialdehído

Es un producto generado en el proceso oxidativo, por lo que es utilizado como un biomarcador del estrés oxidativo, el cual se puede expresar en procesos biológicos. También se ha reportado en varios alimentos, donde su detección sirve para medir los productos de oxidación secundaria, o reacciones intermedias de oxidación lipídica de una grasa o aceite, sin que sea necesario un aislamiento previo. Esta prueba se correlaciona bien con la evaluación sensorial de la rancidez. Para su determinación se tiene como referente método oficial AOCS Cd 19-90. Consiste en una técnica de extracción de líquido – líquido, con la utilización de reactivo ácido tiobarbitúrico (TBA), seguida de cromatografía líquida de alta resolución, con fluorescencia o espectrometría de masas (MS). La técnica se basa en la reacción de condensación producida entre dos moléculas de TBA con una de malondialdehído en la que se produce un compuesto de color rojo cuya concentración se determina espectroscópicamente a 530 nm (Custodio et al., 2020; Palacios, 2015)

1.4.5 Valor de p-anisidina

Este valor indica la cantidad de productos de etapas de oxidación secundaria de los ácidos grasos insaturados presentes, con formación de aldehídos (principalmente 2-alquenes) y cetonas. Esta prueba está relacionada con la cantidad de radicales libres que inducen la actividad oxidativa. (Semenov et al., 2019). Se define empíricamente como 100 veces la absorbancia de una solución resultante de 1 g de grasa o aceite con 100 ml de reactivo isooctano/ácido acético/ p -anisidina, medida a 350 nm en una cubeta de 10 mm, bajo la condición de la prueba después de la corrección para la muestra en blanco, la reacción de aminación reductora entre el grupo amino de la p -anisidina (p -metoxianilina) y el grupo carbonilo del alquinal para formar una base de Schiff (Semenov et al., 2019)

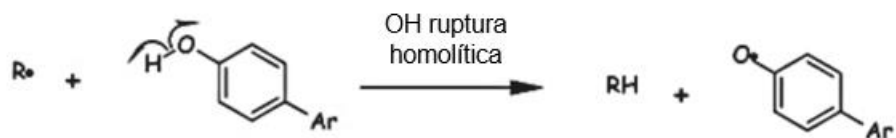
1.5 Antioxidantes y sus mecanismos en la oxidación de lípidos

Un Antioxidante se define como cualquier sustancia que cuando está presente en concentraciones bajas, comparado con el sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación. También se define como una molécula estable que dona un electrón a un radical libre para neutralizarlo, retrasando o inhibiendo el daño celular. Los antioxidantes pueden ser endógenos como las enzimas antioxidantes anteriormente descritas en la explicación de radicales libres, y también están los no enzimáticos como lactoferrinas, albúmina y ubiquinonas y los antioxidantes externos, que son usados para interferir en las primeras fases de la oxidación y son ampliamente utilizados para retardar la oxidación de los lípidos en los alimentos (Gulcin, 2020b; Serra et al., 2020).

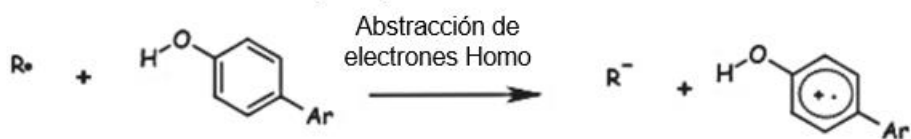
La selección de un antioxidante natural depende de múltiples factores, como el perfil de ácidos grasos del aceite, los componentes menores presentes en el aceite y la estructura y funcionalidad de los propios antioxidantes, razón por la cual es necesario conocer detalle la estructura y reacciones de los antioxidantes previo a su selección (Balagopalakrishna et al., 1999; Castelo & Torres, 2009; Zhang et al., 2023).

Los mecanismos antioxidantes se fundamentan en tres tipos de inhibición como se explica en la figura 11, la transferencia de un átomo de hidrógeno, en la transferencia de un único electrón, o en la actividad quelante característica de los metales (Serra et al., 2020).

1. Traslencia de átomos de hidrógeno (HAT)



2. Traslencia de un electrón (SET)



3. Quelación de metales de transición (TMC)

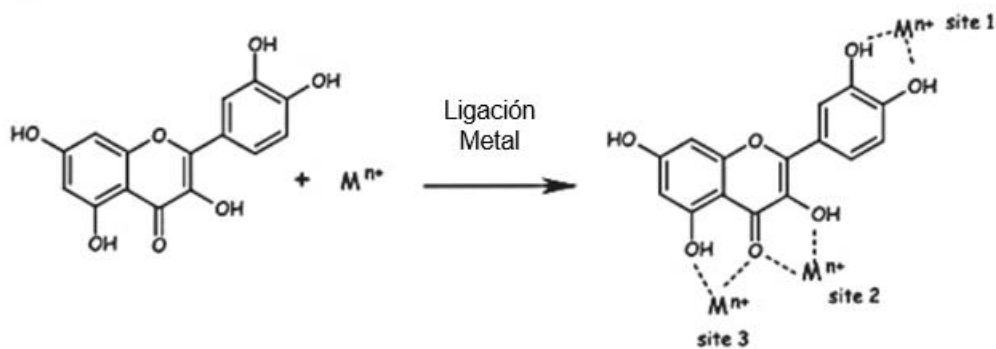


Figura 11 Mecanismo antioxidante. De, *Especies vegetales como antioxidantes de alimentos*, Serra Bisbal et al., 2020, p 76.

En la naturaleza, las plantas contienen sus propios sistemas antioxidantes para su autoprotección, como los inhibidores fenólicos de ruptura de cadena, que tienen sustituyentes liberadores de electrones en las posiciones orto y/o para en los anillos fenólicos y se conocen generalmente como antioxidantes. El proceso de autooxidación de la cadena de radicales libres puede retrasarse gracias a los inhibidores preventivos, que provocan un cambio en el mecanismo y la cinética del proceso (Nedyalka V. & M. Marinova, 2003).

Los antioxidantes más utilizados en alimentos son capaces de competir con el sustrato por las especies portadoras de cadena, normalmente presente en la mayor concentración en el sistema, como los radicales peroxilo $LOO\cdot$. Esta reacción va a depender del tipo de radical como se muestra en las ecuaciones 17 a la 24 (Nedyalka V. & M. Marinova, 2003).

Ecuación 17 Radical peróxido con antioxidante

$LOO\cdot + AH \rightarrow LOOH + A\cdot$ Es igual hidroperóxido más el antioxidante en forma radical

Ecuación 18 Antioxidante en forma radicalaria con hidroperóxido

$A\cdot + LOOH \rightarrow AH + LOO\cdot$ Es igual a antioxidantes más radical peróxido

Ecuación 19 Antioxidante en forma radicalaria con radical peróxido

$A\cdot + LOO\cdot \rightarrow A-OOL$ Es igual al antioxidante unido al radical peróxido

Ecuación 20 Antioxidante en forma radical - radical

$A\cdot + A\cdot \rightarrow \text{productos}$ Es igual productos no radicalarios (aduptos)

Ecuación 21 Antioxidante en forma radical - radical libre

$A\cdot + LH \rightarrow AH + L\cdot$ Es igual al antioxidante más radical alquilo

Ecuación 22 Antioxidante con hidroperóxido

$AH + LOOH \rightarrow \text{productos}$ Es igual productos no radicalarios (aduptos)

Ecuación 23 Antioxidante con Oxígeno

$AH + O_2 \rightarrow A\cdot + HO_2\cdot$ Es igual al antioxidante en forma radicalaria más radical hidroxilo

Ecuación 24 a,b Otras reacciones posibles

a) $AOOL \rightarrow AO\cdot + LO\cdot$ b) $A\cdot + O_2 \rightarrow AOO\cdot$

Los inhibidores eficientes terminan la oxidación en cadena de radicales libres atrapando radicales peroxilo según las reacciones (14) y (15), la posibilidad de ocurrencia de las ecuaciones expuestas (Ecuación 14 a la 21), tienen lugar dependiendo de la estructura del inhibidor, grado de insaturación lipídica y de los ácidos grasos de los triacilglicerol. También dependen de la concentración del antioxidante, la temperatura del proceso y la participación de diferentes microcomponentes en la oxidación (Nedyalka V. & M. Marinova, 2003)

Los antioxidantes se caracterizan por la generación de un periodo de inducción (IP), el cual se define como el grado de oxidación frente al tiempo. Es por esto, que la eficacia de un antioxidante se estima en función del IP, determinado en unidades de tiempo por el método de las tangentes y partes de la curva cinética, donde la eficacia representa la posibilidad de bloquear el proceso radical mediante la interacción con los radicales peroxilo, que son los responsables de la duración de las reacciones. Al aumentar la concentración de antioxidantes se provoca un alargamiento del IP. Un ejemplo de esto se puede observar en la figura 12, donde se muestra el comportamiento del α -tocoferol durante el proceso oxidativo, y la acumulación de peróxido durante la oxidación de triacilglicerol de manteca de cerdo (TGL) a 25°C en presencia de α -tocoferol (Nedyalka V. & M. Marinova, 2003)

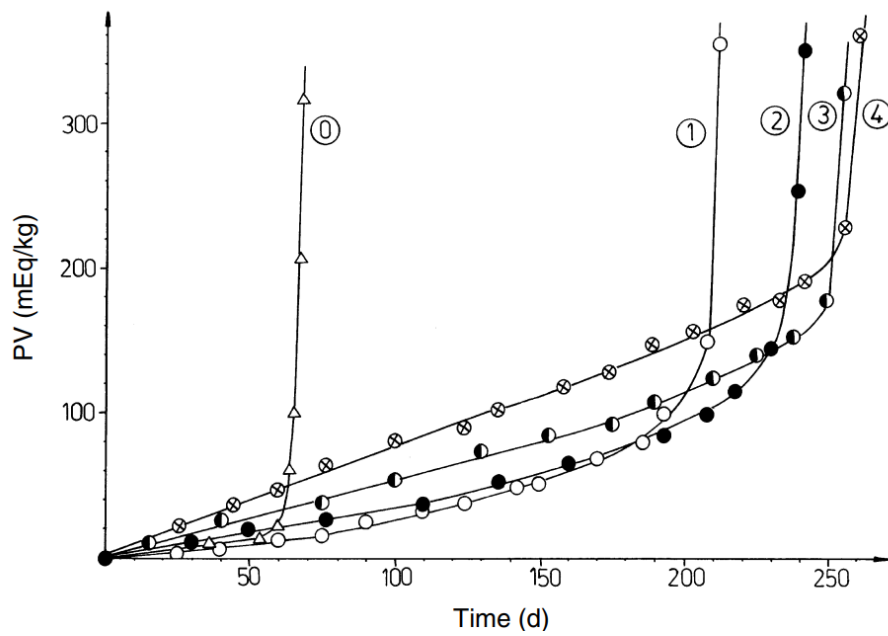


Figura 12 Oxidación de triacilgliceroles de manteca de cerdo. De "Kinetic evaluation of the antioxidant activity in lipid" por Nedyalka V. & M. Marinova, 2003, *Lipid Oxidation Pathway*, Pag 98

1.6 Tocoferol

Los tocoferoles constituyen el grupo de las vitaminas liposolubles, caracterizadas por ser derivados del núcleo isoprenoide, solubles en lípidos y disolventes orgánicos. En 1925 se adoptó la letra “E” para nombrar a este factor dietético por su proximidad dentro de la serie alfabética, a la designación de la vitamina antirraquítica D, por Evans. El tocoferol es sintetizado sólo por organismos fotosintéticos, incluidas todas las plantas, algas y algunas cianobacterias. Particularmente el α -tocoferol es la forma predominante de la vitamina E de las plantas superiores, especialmente en sus hojas verdes. Mientras que el γ -tocoferol es la forma más abundante de las semillas, el β -tocoferol y el δ -tocoferol están presentes en semillas y hojas, pero en proporciones más pequeñas. En la tabla 6 se exponen las principales fuentes de tocoferoles (A. Sayago et al., 2007; Sunarić et al., 2017; Yang et al., 2020)

El proceso de biosíntesis del tocoferol comienza con la formación de ácido homogentísico y fitildifosfato, proceso en el cual participan al menos cinco enzimas. Su función en las plantas es proteger las membranas fotosintéticas de la propagación de la peroxidación lipídica y mantener la estabilidad de la membrana, así como la regulación del óxido nítrico y las tensiones en el desarrollo de la planta (Ali et al., 2022; Sunarić et al., 2017; Yang et al., 2020)

Tabla 6 Principales fuentes de tocoferoles

Cantidad de tocoferol (mg/100g)	
Fuente	Tocoferol mg/100
Avellanas	15
Gérmenes de trigo	14
Girasol	36
Soja	11
Bayas negras	1,2
Tomate	0,5
Canola	27
Kiwi	1,5
Zanahoria	1
Oliva	3,8
batatas dulces	10
Maní	6
Piñones	9
Nueces	20
Orégano	18
Albaricoque	4
Almendra	26
Espicias	38

De, "Tocopherol as plant protector: an overview of Tocopherol biosynthesis enzymes and their role as antioxidant and signaling molecules", Ali et al., 2022, pag 20.

El alfa tocoferol es uno de los antioxidantes naturales liposolubles más comunes, siendo este el más activo biológicamente protegiendo las membranas celulares del daño oxidativo. Los compuestos de vitamina E, los tocoferoles y tocotrienoles, tienen gran importancia en la dieta debido a que sólo son sintetizados por las plantas; por eso para su obtención deben ser introducidos por el consumo de alimentos que lo contengan o como un suplemento nutricional (A. Sayago et al., 2007).

El alfa tocoferol también es bien conocido como antioxidante utilizado en los alimentos, pero su estabilidad puede ser afectada o reducida en los períodos de almacenamiento prolongados, generando agotamiento de éste en la matriz alimentaria hasta que se oxida. De aquí la importancia de conocer los efectos y las reacciones de oxidación de alfa

tocoferol y posibles reacciones en la matriz de los alimentos, incluyendo sus potenciales sinérgicos con otros antioxidantes naturales. Un ejemplo de este potencial sinérgico se expone en un estudio realizado sobre los antioxidantes palmitato de ascórbico y tocoferol en reemplazo de TBHQ. En el estudio se analizó el perfil oxidativo y la de vida útil del aceite de girasol utilizando el método de temperatura acelerada, así como los parámetros de calidad del aceite analizado, y como hallazgos importantes del trabajo, se reporta un potencial sinérgico del tocoferol con el palmitato de ascórbico, en el que su acción conjunta puede inhibir eficazmente el proceso de oxidación del aceite de girasol (Afaf & Lars, 1996; Arabsorkhi et al., 2023)

La actividad antioxidante de los tocoferoles y tocotrienoles se debe principalmente a su capacidad para donar sus hidrógenos fenólicos a los radicales libres lipídicos. En previos estudios de la actividad antioxidante de los tocoferoles, se ha observado un orden relativo de su actividad in vitro así: $\alpha > \beta > \gamma > \delta$. Sin embargo, en otra prueba realizada en una solución homogénea en diclorobenceno, los tocoferoles obtuvieron un orden inverso $\delta > \gamma = \beta > \alpha$, cuando se compararon las potencias antioxidantes relativas en grasas, aceites y lipoproteínas in vitro (Afaf & Lars, 1996; Kulås Elin et al., 2003).

Los tocoferoles no sólo dependen de sus reactividades químicas absolutas frente al hidroperóxido y otros radicales libres, sino también de muchas otras posibles reacciones secundarias. La estabilidad del tocoferol se puede ver afectada por parámetros químicos y físicos de un sistema. Por ejemplo, las reacciones secundarias se pueden afectar drásticamente por las concentraciones de tocoferol, por la temperatura, la luz, el tipo de sustrato, el disolvente en el cual se encuentra, además por otras especies químicas que actúan como prooxidantes y sinergias en un sistema (Afaf & Lars, 1996; Kulås Elin et al., 2003).

La degradación del tocoferol fue estudiada por el autor kamal-Eldin, 2003, en cuatro tipos de aceites a 240°C, por un tiempo de tres horas, donde se identificó que la diferencia en la velocidad de degradación del tocoferol está en función de la insaturación del triacilglicerol (ver figura 13), por lo que se concluye que el α -tocoferol era más estable en los aceites de linaza y girasol más insaturados en comparación con los aceites de girasol

y palma más saturados y de alto contenido oleico. Igualmente se observó en otro estudio del mismo autor, la influencia de la insaturación de triacilglicerol en la pérdida de tocoferol a 240°C, por un tiempo de dos horas, utilizando aceites purificados con diferente insaturación de triacilglicerol (aceite de coco, aceite de palma, sebo, aceite de oliva, aceite de girasol alto oleico, aceite de girasol, aceite de maíz, aceite de soja y aceite de linaza), con una diferencia considerable en la estabilidad del tocoferol entre los distintos aceites y, de nuevo, el tocoferol era más estable en los aceites más insaturados (T. Verleyen et al., 2003).

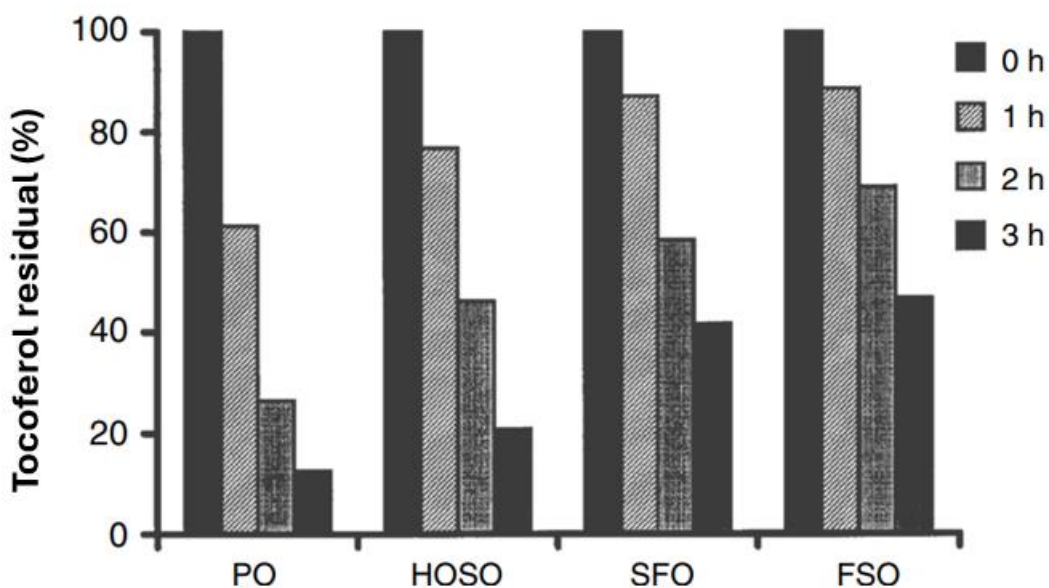


Figura 13 Degradación del α -tocoferol en cuatro aceites vegetales. La concentración inicial de tocoferol fue de 1000 $\mu\text{g/g}$. PO = Aceite de palma, HOSO = Aceite de Girasol de alto oleico, SFO = aceite de girasol, y FSO = Aceite de linaza. De "Competitive oxidation between α -tocopherol and unsaturated fatty acids under thermoxidation conditions", por T. Verleyen et al., 2003, *Lipid Oxidation Pathway*, Pag 75.

En un estudio realizado en aceite de pescado, se identificó que el tipo y la concentración de tocoferol afectan no sólo a la formación global de productos volátiles de oxidación secundaria, sino también la composición de este grupo de productos de oxidación. Durante la autooxidación de ácidos grasos, los radicales peroxilo cis, trans formados inicialmente, se transforman en radicales isómeros trans, trans termodinámicamente más estables. En el estudio, se observó que concentraciones elevadas de α tocoferol, aumentan la formación

de isómeros geométricos trans, cis, cis-2,4,7- decatrienal en relación con el isómero trans, trans, cis en la oxidación del aceite de pescado (Kulås Elin et al., 2003).

La capacidad donadora de hidrógeno del tocoferol influye en la posterior degradación oxidativa de los aldehídos insaturados ya formados, y/o en la descomposición de los hidroperóxidos primarios. Un ejemplo de esto se da con el hidroperóxido en presencia de gama tocoferol, que también puede contribuir a la formación dirigida de los aldehídos más cortos y saturados en estas muestras de aceite pescado. Así, la tasa relativa esperada de eliminación de radicales peroxilo se relaciona con los isómeros cis, trans por los tocoferoles antes de la isomerización a los isómeros trans, trans. Como resultado a los diversos productos de isomerización de los diferentes tocoferoles, se han relacionado las diferencias en los olores y sabores característicos de oxidación. Por ejemplo, se ha considerado que el isómero trans,cis,cis 2,4,7-decatrienal, tiene un sabor a pescado o a hígado de bacalao, mientras que el isómero trans, trans, cis, además de un sabor a pescado menos pronunciado, tiene un sabor dulce, verde, parecido al pepino y al melón. Es por esto por lo que se cree que el alfa tocoferol, especialmente a altos niveles de adición, dirige la formación de los isómeros geométricos aldehídicos más potentes en sabor y de los aldehídos insaturados en comparación con sus homólogos delta y gamma tocoferol (Kulås Elin et al., 2003).

1.6.1 Estructuras y nomenclatura del tocoferol y tocotrienoles

Los tocoferoles y tocotrienoles pueden considerarse con una cabeza cromana (con dos anillos, uno fenólico y otro heterocíclico) y una cola fitílica según figura 14 a,b (A. Sayago et al., 2007; Kulås Elin et al., 2003).

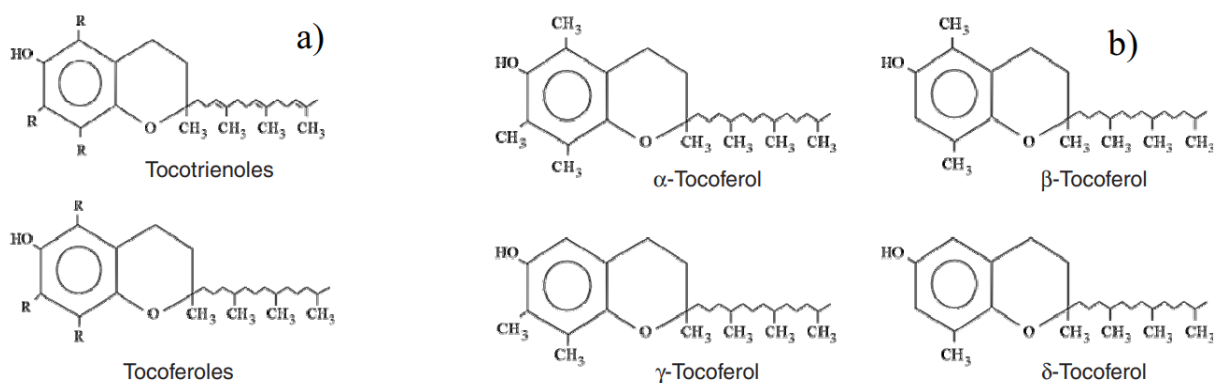


Figura 14 Estructura de tocoferoles y tocotrienoles. De “Estructura de tocoferol y tocotrienoles” Sayago et al 2007, *Revista Journal of food science*, 58 (1), pag 75.

Los cuatro tocoferoles tienen colas saturadas y sólo varían en el número de sustituyentes metilo y los patrones de sustitución en el anillo fenólico, ver figura 14a, mientras que los cuatro tocotrienoles tienen cabezas crománicas similares a las de sus correspondientes tocoferoles, pero contienen tres dobles enlaces aislados en sus colas de fitilo, figura 14b. Mientras que los tocoferoles sólo existen como fenoles libres, los tocotrienoles pueden encontrarse de forma natural esterificados. Es así como la molécula de tocoferol tiene tres centros quirales en su cola fitílica (2, 4' y 8'), lo que hace posible un total de ocho formas estereoisoméricas posibles (Afaf & Lars, 1996).

1.6.2 Reacciones de tocoferoles

La oxidación de todos los cromanoles por agentes oxidantes fuertes (p. ej., ácido crómico, ácido nítrico, cloruro férrico, etc.) generalmente dan productos similares, incluyendo lactonas, quinonas y muchos productos de degradación. Por otra parte, se ha reportado la obtención de diferentes productos de oxidación en condiciones más suaves, como las de la oxidación de lípidos. El primer paso en la oxidación de un cromanol es la formación de un radical cromanoxilo estabilizado por resonancia. Debido a la donación del hidrógeno fenólico a un radical peroxi lipídico, la deslocalización de los electrones no apareados también induce sitios radicales en las posiciones orto y para. En la figura 15 se pueden observar los productos de autooxidación del alfa tocoferol. Estas reacciones se pueden dar

en dos vías, reacciones centradas en el oxígeno, que prefieren las posiciones orto, con la formación de productos descritos en la figura 15 y las reacciones centradas en el carbono, que en condiciones anaerobias tienden a sumar al oxígeno de crómanos formando aductos (Afaf & Lars, 1996).

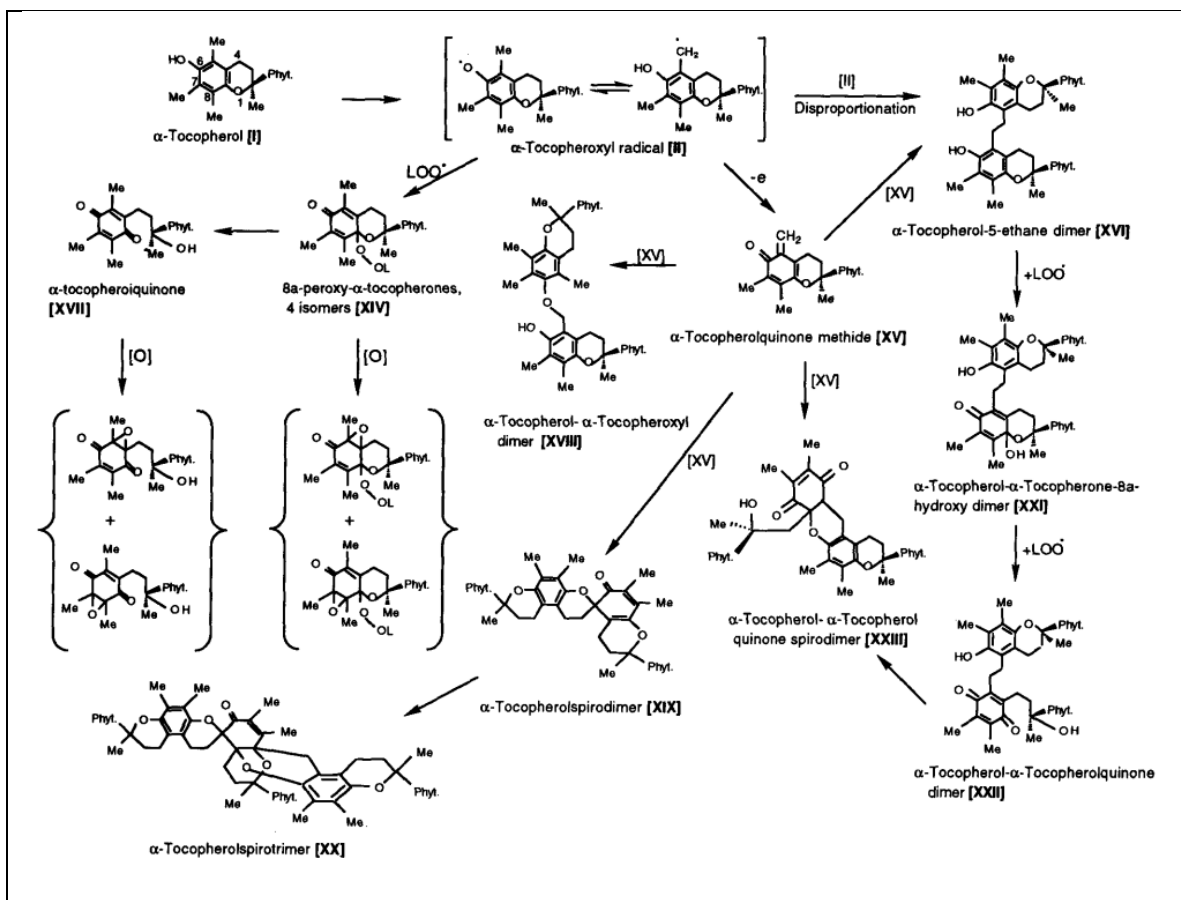


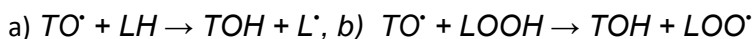
Figura 15 Autooxidación del alfa tocoferol. De “La química y las propiedades antioxidantes de los tocoferoles y tocotrienoles” por (Afaf & Lars, 1996), Division of Food Chemistry, Pag 676

Los aductos de hidroperóxido, formados como resultado de las reacciones lipídicas en etapas de propagación, no son estables y se degradan a altas temperaturas para formar radicales alcoxilo, radicales epoxis con radicales centrados en el carbono en la posición 8^a, lo que puede generar pérdida en la efectividad del antioxidante (Afaf & Lars, 1996).

1.6.3 Efectos prooxidante de los tocoferoles

Los compuestos polifenoles pueden presentar efectos prooxidantes o reducir su actividad en ciertas condiciones, lo que se explica porque el átomo de hidrógeno donado da como resultado un radical fenoxilo que puede sufrir reacciones secundarias de naturaleza prooxidante. Situación que también ocurre con los tocoferoles, los cuales pueden comenzar a perder su efectividad antioxidante a medida que su concentración aumenta. En algunos estudios esta pérdida de efectividad se atribuye a los radicales tocoferoxilo ($TO\cdot$), que pueden reaccionar reversiblemente con los lípidos no peroxidados, como los hidroperóxidos, con transferencia de cadena, generando radicales alquilo y peroxilo (ver Ecuación 25 a,b). Sin embargo, esta reacción no explica el 100% de la pérdida de la efectividad, lo cual se concluyó con estudios de las constantes de la velocidad para esta reacción, donde la velocidad de reversibilidad es menor (Afaf & Lars, 1996).

Ecuación 25 a,b Reacciones posibles de radicales tocoferoxilo



Por otro lado, la presencia de metales de transición como Fe (II) y Cu (I), pueden descomponer los tocoferoles de manera más rápida que otros metales con estados de valencias más altos (ver Ecuación 26 y 27), por lo que los antioxidantes que reducen los iones metálicos pueden en determinadas circunstancias actuar como prooxidantes, debido a que el radical catión α tocoferol y el radical α -tocoferoxilo puede producir α -tocoferyl quinona y otros productos estables (Yoshida et al., 2007)

El cobre (II) con el alfa tocoferol, puede generar radical alcoxilo, cobre + y alfa tocoferol +

Ecuación 26 Cobre (II) con el alfa tocoferol



El alfa tocoferol +, puede generar radicales tocoferoxilo más hidrógeno +

Ecuación 27 El alfa tocoferol +



En este sentido, se espera que el alfa tocoferol descomponga los hidroperóxidos de manera más rápida que los otros homólogos de tocoferol, debido a su mayor capacidad de donar hidrógenos, razón por la cual se atribuye su efecto prooxidante a diferencia de los demás homólogos de tocoferol. Esto es diferente en sistemas biológicos, donde el alfa tocoferol actúa como parte de una red antioxidante, donde también participa el ácido ascórbico y otros antioxidantes. Las sinergias antioxidantes entre el alfa tocoferol y el ácido ascórbico, se explica por la regeneración del radical tocoferoxilo ($TO\cdot$), donde es más fácil la regeneración por agentes reductores solubles en agua, como lo es el ácido ascórbico, que actúa como quelante de metales inhibiendo así la reacción en cadena (Afaf et al., 2003).

En otros estudios se ha identificado que altos niveles iniciales de hidroperóxidos, en algunos casos, formados por el oxígeno singlete, generan radicales libres y actúan como prooxidantes de ácidos grasos polinsaturados, por lo que, los hidroperóxidos lipídicos con el alfa-tocoferol se oxidan principalmente a 8a-peroxi- α tocoferonas. En la peroxidación de LDL (Lipoproteínas de baja densidad) se ha observado una incapacidad del α - TO' (radical alfa toferolxilo) para escapar de la partícula, lo que obliga a propagar la cadena radical a través de su reacción con los PUFA dentro de la partícula. Esto se debe a que los radicales α - TO' se localizan lejos unos de otros y su movilidad dentro de la partícula LDL es limitada, lo que impide las reacciones de acoplamiento. Esto se podría eliminar si el ácido ascórbico está presente en la fase acuosa fuera de partícula LDL (Lipoproteínas de baja densidad)(Afaf & Lars, 1996) .

1.7 Métodos para medir la capacidad antioxidante

Para determinar la capacidad antioxidante de alimentos, bebidas y extractos vegetales, se han descubierto diferentes métodos, los cuales varían dependiendo de su mecanismo de reacción. Algunas de las técnicas más usadas son, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma), y ABTS (2, 2'-Azinobis 3-etil- benzotiazolina-6-acido sulfónico), las cuales se describen a continuación (Gulcin, 2020b).

1.7.1 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)

La técnica de DPPH se utiliza porque es un método sencillo que no requiere de un equipamiento sofisticado y porque el reactivo es de fácil adquisición comercial. El DPPH es un radical libre muy estable, que determina la actividad antioxidante por medio del único electrón del átomo de nitrógeno en DPPH que se reduce a hidracina tomando un átomo de hidrógeno de los antioxidantes. El radical DPPH tiene un color notablemente estable e intenso y cuando una solución de DPPH se mezcla con una solución de una sustancia capaz de donar un átomo de hidrógeno, este color violeta desaparece, dando como resultado la forma reducida del radical (DPPH-H), ver figura 16. El cambio de color violeta a amarillo pálido se da como resultado de la reducción de radicales por transferencia de átomos de hidrógeno de los antioxidantes, que son donantes de H, lo cual se puede registrar fácilmente mediante espectroscopia UV-vis. Este método da una estimación del contenido total de reductores presentes en la solución de los extractos vegetales, siendo muy utilizado en sustancias antioxidantes puras, especialmente extractos de hierbas o compuestos fenólicos. Este ensayo cuando se realiza en alimentos o en células no demuestra completamente la posible eliminación de radicales, puede tener interferencias con otra sustancia que tenga un espectro similar, como es el caso de los carotenoides, por lo que no explica todos los sinergismos o antagonismos en la prueba (Alam et al., 2013; Gulcin, 2020b)

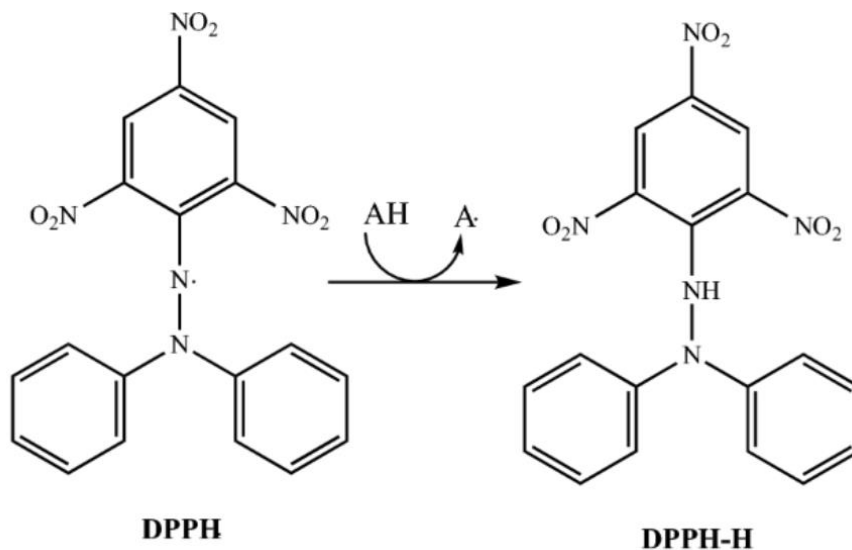


Figura 16 Mecanismo DPPH. De “Antioxidantes y métodos antioxidantes: una descripción general actualizada”, por Gulcin, I, 2020 (p. 689)

1.7.2 Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

La técnica de ORAC, que permite medir la actividad antioxidante de alimentos con una composición altamente diversa, se fundamenta en apagar radicales peroxilo, por medio de las moléculas con capacidad antioxidante, lo que indica una inhibición de la oxidación. En esta técnica se utiliza el reactivo radical AAPH[·] (2,2'-azobis-(2-amidinopropano hidroclicida) como agente oxidante, que tiene la capacidad de reaccionar con el oxígeno molecular en soluciones saturadas de aire y también el estándar antioxidante TroloxR (Tx), que es análogo de la vitamina E. El reactivo contiene grupos funcionales de R-N=N-R, que pierden una mol de nitrógeno generando radicales AAPH[·], que luego, al estar en soluciones saturadas de aire, interaccionan rápidamente con el oxígeno molecular dando como resultado la síntesis de radicales peroxilo (2ROO[·]). Debido al calentamiento, éstos interactúan con las sondas fluorescentes (fluoresceína) generando una transferencia de hidrogeniones (H), lo que origina productos no fluorescentes (ver figura 17). El radical libre se mezcla con otro radical peroxilo y por medio de reacciones rápidas se retiran los radicales de ambos compuestos, generando productos estables. Actualmente el método está estandarizado de acuerdo con los parámetros establecidos, en la Guía de la OMS

sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación PAF en términos de linealidad, precisión y exactitud, especificidad y robustez (Zapata & Zapata, 2022)

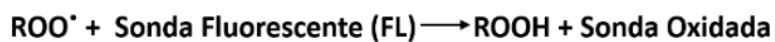
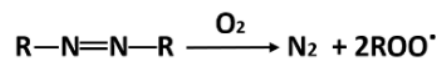


Figura 17 Mecanismo de reacción de un ensayo ORAC. De “Método ORAC y su aplicación en la determinación de la capacidad antioxidante de bebidas fermentadas” Zapata & Zapata, 2022.

1.8 Matrices Oleaginosas en Galletas

Las grasas y aceites son el tercer ingrediente más importante en la elaboración de galletas, siendo primeramente la harina y segundo el azúcar. Las grasas y aceites pueden provenir de diferentes fuentes, como origen vegetal y de animal. En el caso de los aceites vegetales se destacan como lo más usados el aceite de palma, coco, girasol, soya, algodón y en el caso de origen animal el uso de mantequillas. Las grasas y aceites son usados en la industria de galletería porque confieren propiedades especiales en la formulación de las galletas, ayudan a la unión de todos los ingredientes, en el amasado actúa como lubricante y rodea la superficie de la harina inhibiendo la creación de una red cohesiva y extensible de gluten, ayudan con la retención de gases, la aireación, la lubricación, la transferencia de calor en la masa y la textura deseada en el producto final. La incorporación de aire confiere la suavidad, la sensación en boca y las cualidades estructurales y sensoriales en productos como las tortas y galletas (Méndez, 2019; Satish Kumar Sharma et al., 2022).

El uso de aceite de palma es un ingrediente común en la industria alimentaria en múltiples productos de repostería y panadería, entre ellos, las galletas, ya que posee ventajas tecnológicas frente a otros aceites y grasas, al no aportar sabor y olor, tener menor tendencia a la oxidación temprana, y porque mantiene sus propiedades en altas temperaturas, además de aportar texturas más cremosas a los alimentos. A pesar de estos beneficios hay tendencias de su sustitución debido al daño medioambiental que puede suponer el cultivo de la palma aceitera, a pesar de las ventajas tecnológicas, existe un movimiento en la industria alimentaria que busca alternativas que permitan reducir el impacto de su uso, buscando estrategias de sustitución por otros aceites o grasas más sostenibles y saludables (Marcos Hermoso et al., 2023; Siddique et al., 2015).

En un estudio realizado en España - Salamanca, se identificó que los sustitutos más usados en la fabricación de las galletas que no contenían aceite de palma fue el aceite de girasol de alto oleico, seguido de la mantequilla. El aceite de girasol de alto oleico se obtiene de líneas de girasol con una modificación que lo hace ser más resistente a la oxidación que el aceite de girasol convencional. En otras partes del mundo también reportan que los aceites más solicitados para cocinar y comercializar son el aceite de palma y su fracción líquida, la oleína de palma, donde también se han trabajado con otros aceites que puede ser más baratos para la sustitución del aceite de palma tales como; los aceites de soja, semilla de algodón y girasol. La sustitución busca aceites vegetales con un mejor perfil de ácidos grasos, con mayor cantidad de poliinsaturados en comparación con el aceite de palma. (Djikeng et al., 2023; Siddique et al., 2015).

Las mezclas de aceites comerciales tradicionales son una buena opción para optimizar su aplicación. Esta técnica contribuye a la rentabilidad en la producción y ayuda a conservar los atributos sensoriales de sabor y aroma de los productos. Actualmente existen muchos estudios científicos que exponen las ventajas de nuevos aceites de semillas, o aceites con perfiles de nutrición más saludables que el aceite de palma, pero estos aceites son difíciles de adquirir en el mercado, con bajos volúmenes de producción para suplir las necesidades de grandes industrias, con costos que impactan el margen de utilidad de los productos. Adicionalmente, generan una disminución en la estabilidad oxidativa, por lo que, las mezclas de aceites como la palma y el girasol son una opción comúnmente usada, que en las proporciones adecuadas, puede proporcionar aceites que cumplan con los requerimientos nutricionales requeridos para obtener un perfil de ácidos grasos equilibrado, mejorando las características fisicoquímicas con una posible estabilidad aumentada durante el período de almacenamiento, o cuando se utiliza como procesos de cocción, fritura y horneado. (Memon et al., 2024).

1.8.1 Aceite de Palma

El aceite de palma es extraído del mesocarpio del fruto de la palma africana de aceite (*Elaeis guineensis*), un árbol que se cultiva en climas tropicales. El fruto de la palma es como una aceituna grande de color rojizo, que tiene una sola semilla tipo nuez, de la cual

se produce el aceite de palma, que contiene diferentes ácidos grasos, ver figura 18. Así mismo, se puede obtener aceite de palma de alto contenido en oleicos a partir de la pulpa o mesocarpio del fruto de las palmas de materiales híbridos interespecíficos (*Elaeis oleifera*, *Elaeis guineensis*), a través de procedimientos de extracción mecánicos o por solventes, cuyo perfil de ácidos grasos se presenta en la figura 19. El perfil de ácidos grasos del aceite de palma se referencia según la información establecida de los ácidos grasos en el Codex Alimentarius, estándar STAN 210-1999 de la tabla 7 (A. Ocampo Durán, 2024; Dossier, 2023; Resolución 2154, 2012)

Actualmente, el aceite de palma se registra como el aceite vegetal de mayor volumen de producción en el mundo. Según las estadísticas de la FAO, se espera que para el año 2050, la producción de aceite de palma crecerá al menos un 40 por ciento, según el crecimiento de la población. Los principales productores de aceite a nivel mundial son Malasia, con el 53%; Indonesia, con el 23,9%; Nigeria, con el 5,3%; Colombia con el 2,4%, y otros países con el 13%. En Colombia, Fedepalma reporta que hasta el 2017, su producción estuvo en 1,8 millones de toneladas, con un valor estimado de 3,7 billones de pesos. Este aceite suele venderse en su forma refinada (blanqueado y desodorizado), con el fin de mejorar sus propiedades organolépticas y aumentar su estabilidad. (Benguechea, 2023; Gonzalez, 2023)

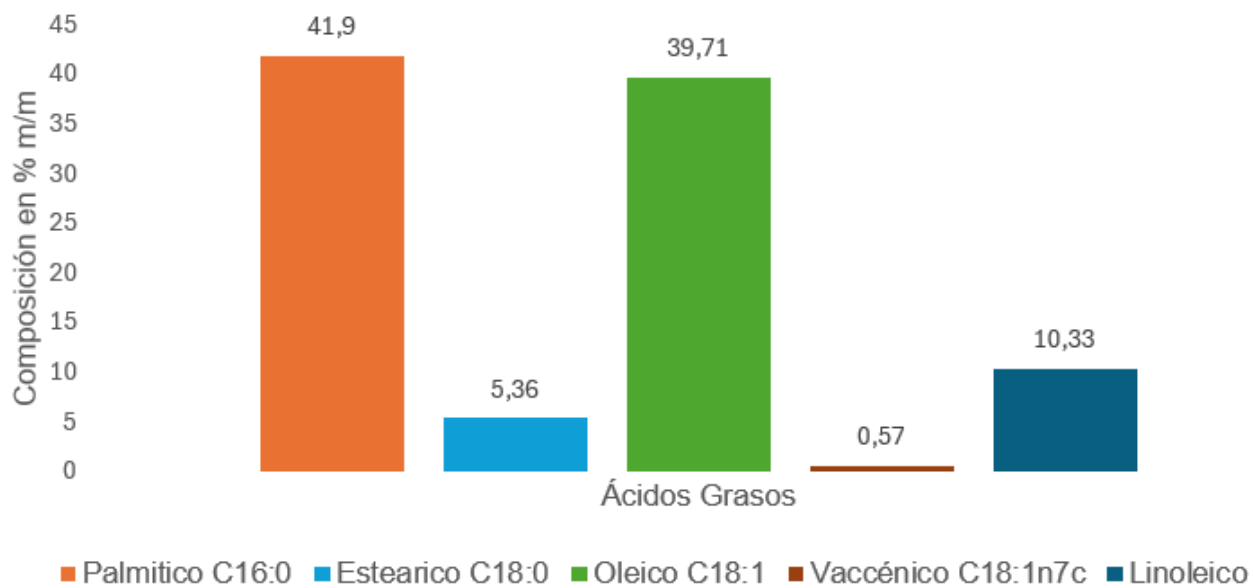


Figura 18 Perfil de Aceite de palma (*Elaeis guineensis*). De "Fitoquímicos de aceite de Palma" por Gonzalez, 2023, Simposio Lípidos, Simposio internacional de ingredientes y aditivos.

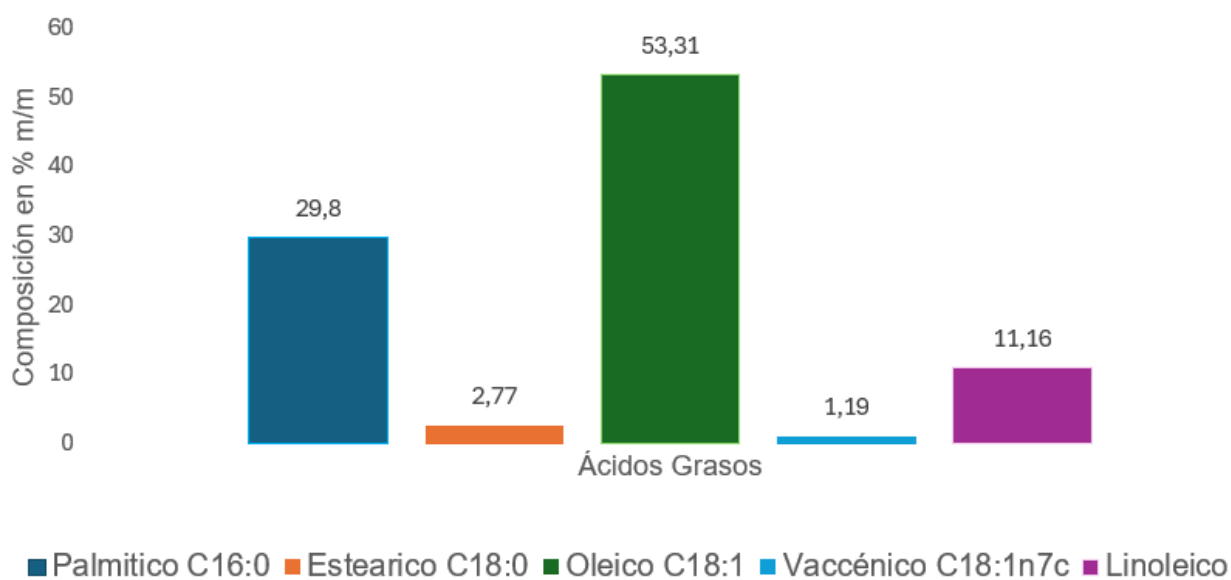


Figura 19 Perfil de Aceite de palma (Híbridos interespecíficos *Elaeis oleifera*, *Elaeis guineensis*). De "Fitoquímicos de aceite de Palma" por Gonzalez, 2023, Simposio de Lípidos, Simposio internacional de ingredientes y aditivos.

1.8.2 Aceite de Girasol

Se obtiene de las semillas de girasol (*Helianthus annuus L*) y según el contenido de ácido oleico que presente, se puede clasificar en alto oleico y en medio oleico. En el primer caso, deberá contener más del 75% de ácido oleico, como porcentaje del contenido total de ácidos grasos. El aceite de girasol se considera uno de los aceites más saludables a nivel nutricional, debido a que contiene ácidos grasos esenciales que deben ser suministrados en la dieta. Además, es uno de los aceites de mejor calidad por su composición de ácidos grasos, lo que lo convierte en una muy buena opción como fuente de lípidos saludables en los alimentos. El perfil de ácidos grasos del aceite de girasol normal, medio y alto oleico, se presentan en la tabla 7 y se contrastan con el perfil de ácidos grasos en otros aceites (AtlasBig.com, 2024; Molina & Zamora, 2021; Codex, 1999)

Los cuatro mayores productores de aceite de girasol en el mundo se exponen en la figura 20, siendo Ucrania, Federación Rusa, Turquía y Argentina, los cuatro primeros países con mayor producción y en el caso de Argentina con un 6% de las exportaciones a nivel mundial seguido de los Estados Unidos en el caso de América (AtlasBig.com, 2024, Velasco Romeo, 2023)

Tabla 7 Composición de ácidos grasos en aceites de Palma, Girasol y Colza (Canola)

Ácidos Grasos	Aceite de palma	Aceite de girasol	Aceite de girasol (ácido oleico alto)	Aceite de girasol de contenido medio de ácido oleico	Aceite de Colza
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND - 0,5	ND-0,1	ND	ND	ND
C14:0	0,5-2,0	ND-0,2	ND-0,1	ND-0,1	ND - 0,2
C16:0	39,3-47,5	5,0-7,6	2,6-5,0	4,0-5,5	1,5 - 6,0
C16:1	ND -0,6	ND-0,3	ND-0,1	ND-0,05	ND - 3,0
C17:0	ND-0,2	ND-0,2	ND-0,1	ND-0,05	ND - 0,1
C17:1	ND	ND-0,1	ND-0,1	ND-0,06	ND - 0,1
C18:0	3,5- 6,0	2,7-6,5	2,9-6,2	2,1-5,0	0,5 - 3,1
C18:1	36,0-44,0	14,0-39,4	75-90,7	43,1-71,8	8,0 - 60,0
C18:2	9,0-12,0	48,3-74,0	2,1-17	18,7-45,3	11,0 - 23
C18:3	ND-0,5	ND-0,3	ND-0,3	ND-0,5	5,0 - 13
C20:0	ND-1,0	0,1-0,5	0,2-0,5	0,2-0,4	ND - 3,0
C20:1	ND-0,4	ND-0,3	0,1-0,5	0,2-0,3	3,0 - 15
C20:2	ND	ND	ND	ND	ND - 1,0
C22:0	ND-0,2	0,3-1,5	0,5-1,6	0,6-1,1	ND - 2,0
C22:1	ND	ND-0,3	ND-0,3	ND	>2,0 - 60
C22:2	ND	ND-0,3	ND	ND-0,09	ND - 2,0
C24:0	ND	ND-0,5	ND-0,5 0	0,3-0,4	ND - 2,0
C24:1	ND	ND	ND	ND	ND - 3,0

De Codex STAN 210-1999



Figura 20 Producción Mundial de aceite de Girasol. De “Producción mundial de aceite de girasol por país” por AtlasBig.com, 2024.

La Fundación Española de aceite de palma reporta la composición de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de los diferentes aceites vegetales (ver figura 21), donde los tres primeros aceites vegetales con mayor contenido de insaturados se encuentran en el orden de aceite de girasol de alto oleico, seguido de aceite de canola y de colza. Los aceites de girasol de alto oleico, tienen menor estabilidad que los aceites de canola y de soja de alto oleico, debido a su inestabilidad en altas temperaturas. Los ácidos oleico, linoleico y linolénico como ácidos grasos libres, se autooxidan más rápidamente que sus correspondientes ésteres metílicos, debido a la acción catalítica de los grupos carboxilo en la descomposición de una pequeña cantidad de hidroperóxidos formados en la etapa inicial de la autooxidación (Lužaić et al., 2022; Tavadyan et al., 2023).

Para la formación de radicales libres del ácido oleico y el ácido linoleico, se requieren 75 kcal/mol y 50 kcal/mol respectivamente, y las tasas de oxidación del ácido oleico, ácido linoleico y ácido linolénico se han reportado en valores aproximados de 1:12:25, información con la cual se pueden calcular valores de oxidabilidad cuando se caracterizan los aceites. Estos valores pueden variar dependiendo del estudio, ya que en otros trabajos hacen referencia a valores cercanos de 1:10,3:21,6, donde se establece la ecuación 28 (Lužaić et al., 2022; Tavadyan et al., 2023).

Ecuación 28 Valor de Oxidabilidad

$$\text{Cox Valores} = [(\text{C18: 1} [\%]) + 10.3 \times (\text{C18: 2} [\%]) + 21.6 \times (\text{C18: 3} [\%])]/100$$

En un estudio realizado por Jaldani et al., 2024, el aceite de girasol se clasificó en un orden medio, según el grado de oxidación evaluado por el monitoreo simultáneo de los productos de reacción primaria, concentración de hidroperóxidos lipídicos totales y dienos conjugados totales (CD), donde se evaluó la peroxidación de aceites de canola, girasol y oliva a 90 °C. Como resultado de este estudio se obtuvo que el aceite de girasol tuvo los valores máximos en la constante de la reacción y significativamente más altos que los demás aceites. Lo que es natural en este tipo de aceite debido a su composición de ácidos grasos altamente inestables, además de los componentes antioxidantes menores que no logran inhibir adecuadamente la peroxidación. Sobre esta base la concentración de hidroperóxidos fue más alta en el aceite de oliva, luego en los aceites de girasol y por último en el aceite de canola. (Jaldani et al., 2024a).

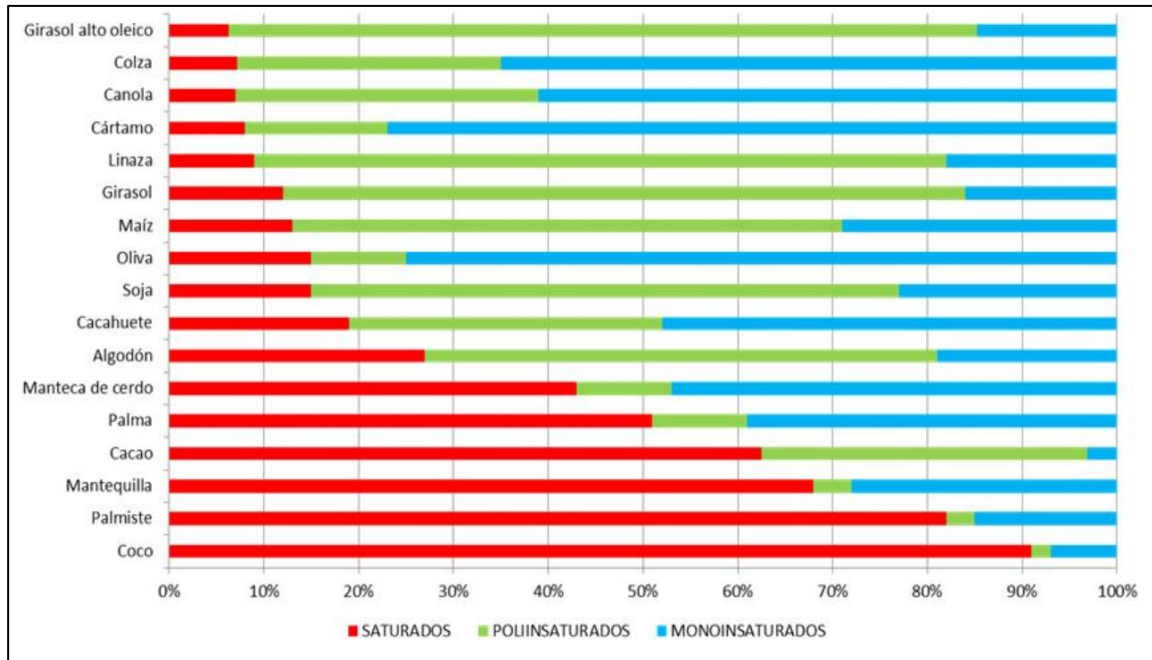


Figura 21 Composición de ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados de aceites vegetales. De *“Fundación Española de aceite de Palma”, por Dossier, 2023*

2. Materiales y Métodos

2.1 Preparación de Muestras

Se obtuvieron muestras comerciales de aceites vegetales de palma y de girasol sin antioxidante, a través de un fabricante de grasas nacional. Posteriormente, se realizó una mezcla del 50% de aceite de palma y 50% de aceite de girasol que posteriormente fue tratada con diferentes concentraciones de antioxidante alfa tocoferol. Esta mezcla fue seleccionada previamente a partir del perfil nutricional de formulaciones para galletas tipo crackers (datos no mostrados por ser de carácter confidencial) y con base la resolución 2492 del 2022 de Colombia, en cuanto a cantidad de ácidos grasos saturados en producto terminado. También se consideró el aceite de palma por ser estable a la oxidación según su perfil de ácidos grasos y su bajo costo, se consideró la mezcla con el aceite de girasol por su gran aporte en ácidos grasos insaturados y su alto valor nutricional (*Dossier, 2023, por González, 2023, AtlasBig.com, 2024; Molina & Zamora, 2021; Codex, 1999*).

Se utilizó el antioxidante alfa tocoferol como uno de los antioxidantes más usados en alimentos, y por la necesidad de conocer la capacidad antioxidante y la cinética de oxidación en una mezcla de aceite de palma y de girasol utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas, para una futura optimización en el proceso de galletería. El tratamiento se determinó con base en la cantidad máxima establecida según codex stan 192 – 1995, norma general para aditivos alimentarios de tocoferoles en aceites, y con base en esta cantidad se trabajó concentraciones de alfa-tocoferol del 100%, que corresponde a 300 ppm, 75%, que corresponde a 225 ppm, 50% que corresponde a 150 ppm y 25% a 75 ppm).

El antioxidante alfa tocoferol fue suministrado por un proveedor nacional, con una composición de DL- alpha tocopheryl acetato al 50%, almidón modificado y dióxido de silicio como vehículos. Los demás antioxidantes fueron suministrados por proveedores importados con una mezcla de alfa tocoferol además de sus homólogos gama y delta tocoferol, con una concentración más alta de gama y delta tocoferol para un total del 33% de tocoferoles.

2.2 Determinación del perfil lipídico en las grasas utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas

Para determinar el perfil de ácidos grasos del aceite de palma y de girasol, se utilizó un cromatógrafo de gases 6890N GC acoplado a un detector selectivo MS 5973N y equipado con un inyector split/splitless (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). La temperatura del inyector fue de $(300 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Las muestras se procesaron añadiendo 1 ml 0.5 mol·l⁻¹ de hidróxido potásico en metanol a 50 mg de muestra en 1 ml de n-hexano y posterior agitación durante 60 segundos, después se neutralizaron con 1 mol·l⁻¹ de HCL y se centrifugó. Se recogió la capa superior de n-hexano que contenía ésteres metílicos de ácidos grasos, se filtró y se inyectó automáticamente (3,0 µl) al cromatógrafo en modo splitless. En HP-5 MS (5,0 % fenilmetilsiloxano) de 30 m, 0,25 mm de columna (Agilent Technologies), 0,25 µm de espesor de película, y una temperatura máxima de 325°C. Se utilizó la base de datos NIST 98 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, USA) para identificar los ácidos grasos. La cantidad de ácido grasos se expresan en gramos de ácido graso por kilogramo de aceite (Alzate Arbeláez, et al 2018).

Considerando los resultados de perfil de ácidos grasos de cada aceite, se calcularon los valores de los ácidos grasos oleico, linoleico, linolénico en tres posibles mezclas de aceite de palma y girasol (60% palma y 40% girasol, 50% palma y 50% girasol y 40% palma y 60% girasol), con el fin de verificar en cuál de las tres mezclas se podría llegar a una mayor

cantidad de contenido de oleico. Adicionalmente se calcula con que mezclas se logra llegar a medio oleico según valores establecidos en las normas Codex STAN 210-1999.

Para calcular la tasa de oxidación de los aceites y las mezclas de los aceites se usó los valores obtenidos en el perfil de ácidos grasos y el cálculo realizado de cantidad de ácido oleico, ácido linoleico y ácido linolénico. Con esta información se aplicó la fórmula propuesta por Tavakoli et al, 2024, ecuación 25, donde el valor de oxidabilidad calculado se obtiene por $\text{Cox Valores} = [(C18:1 [\%]) + 10.3 \times (C18:2 [\%]) + 21.6 \times (C18:3 [\%])]/100$. Entre mayor es el valor de oxidabilidad en el aceite o la mezcla de aceites es más propenso a oxidarse.

2.3 Determinación de la concentración de alfa tocoferol (Vitamina E) en el antioxidante

La cuantificación del alfa tocoferol presente en el antioxidante comercial, se realizó por medio de un estudio en una cromatografía de gases con detector selectivo de masas GC-MS, la muestra se diluyó en hexano y luego se inyectó directamente al GC-MS para una identificación cuantitativa del componente.

2.4 Determinación de la capacidad antioxidante

2.4.1 Determinación de la actividad eliminadora de radicales

DPPH·

Este procedimiento se realizó utilizando 10 µl del extracto y 990 µl del radical DPPH en solución de octanaje (20 mg·l⁻¹). Después de 0,5 h de reacción a temperatura ambiente en la oscuridad, la absorbancia fue leída en 517 nm. Para la muestra estudiada, el

porcentaje de inhibición de la concentración de radicales fue calculado y los resultados se expresaron como TEAC $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ de aceite (Alzate Arbeláez, et al 2018).

2.4.2 Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

Se preparó un volumen de 3 ml de la siguiente solución: 21 μl de una solución de fluoresceína de $10 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ solución de fluoresceína, 2899 μl de $75 \text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ tampón fosfato (pH 7,4), 50 μl de $600 \text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ de 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH) y 30 μl de aceite, que se disolvió en una solución de $70 \text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ de metil- β -ciclodextrina. La fluorescencia se registró en un espectrofluorómetro con una multicelda termostatazada (modelo LS55; Per-kin Elmer, Waltham, Massachusetts, EE. UU). El valor de ORAC se calculó a partir de una curva de calibración utilizando Trolox como patrón antioxidante y se expresó en micromoles de equivalente de Trolox (TE) por kilogramo de aceite (Alzate Arbeláez, et al 2018).

2.5 Índice de peróxidos, Compuestos Polares Totales y TBARS en la mezcla de aceites sin y con antioxidantes

Se caracterizan parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad en la mezcla de aceites vegetales para verificar el estado del proceso de oxidación. Las variables evaluadas nos permiten establecer la calidad oxidativa de las grasas y conocer los cambios generados por las diferentes etapas de la oxidación lipídica, aplicando las cinéticas para cada variable (Amorati & Valgimigli, 2018; Zang et al., 2024)

2.5.1 Índice de peróxido

El índice de peróxido (PV) se determinó mediante el método de la Federación Internacional de Lechería. Este método se basa en la capacidad del peróxido lipídico de oxidar Fe^{2+} a Fe^{3+} . Se utilizó un volumen de 3,5 ml de una mezcla de cloroformo y metanol (7: 3) se agitó durante 10 s y, posteriormente, se añadieron 50 μl de una solución de FeSO_4 (0,144 mol-

l-1), BaCl_2 en HCl (0,4 mol-l-1) y 50 μl de una solución de NH_4SCN (0,44 mol-l-1) a 1 ml de la solución anterior. Esta mezcla se incubó durante un período de 20 min en la oscuridad y, transcurrido este tiempo, se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm. Los resultados se expresaron en miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de aceite (Alzate Arbeláez, et al 2018).

2.5.2 Compuesto Polares totales

El contenido de compuestos polares totales (CPT) se determinó según la norma IUPAC 2507 de la IUPAC. Las fracciones polares y no polares se separaron de 100 mg de aceite disuelto en 2 ml de n-hexano utilizando un cartucho de sílice para extracción en fase sólida (Sep-pak; Waters, Milford, Massachusetts, EE.UU.). La fracción no polar se disolvió con 20 ml de hexano: éter etílico (90: 10, v/v), el disolvente y la muestra se retuvo en la columna. La segunda fracción (que contenía CPT) se disolvió en 20 ml de éter dietílico. La eficacia de la separación mediante cartuchos de sílice se comprobó mediante cromatografía en capa fina (placas de gel de sílice 60; 5 cm x 10 cm, 0,25 mm de espesor; Merck) utilizando n-hexano: éter dietílico: ácido acético (80:20:1 v/v/v) para el desarrollo de placas. Se expusieron placas secas a vapor de yodo para visualizar la separación de dos fracciones. Los disolventes se eliminaron a presión reducida en un evaporador rotatorio y se pesaron ambas fracciones. Los resultados se expresaron en gramos de compuestos polares por kilogramo de aceite (Alzate Arbeláez, et al 2018).

2.5.3 Análisis de TBARS

El producto final de la peroxidación lipídica, el malonaldehído (MDA), reacciona con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) para producir un complejo fluorescente que puede ser medido 500 excitación nm y 520 nm longitudes de onda de emisión. La fluorescencia se leyó en un espectrofluorómetro LS-55. Se utilizaron volúmenes de 80 μl de ácido tricloroacético (TCA, 10 g-l-1) y 160 μl de TBA (60 g-l-1) a 500 μl de aceite donde se adiciona 500 μl de aceite. Esta mezcla se incubó durante un período de 20 min a 90 °C y, a continuación, se sumergió en agua fría durante 10 min. Tras este periodo, se añadieron 600 μl de butanol. Se agitó la muestra y se tomaron las respectivas mediciones. Los valores de sustancias

reactivas TBARS se expresaron como milimoles de malondialdehído por kilogramo de crudo utilizando una curva de calibración con MDA como patrón (Alzate Arbeláez, et al 2018).

2.5.4 Estabilidad Oxidativa de la mezcla de Aceites sin y con Antioxidantes

La estabilidad oxidativa de los aceites y la mezcla se determinó en el equipo Oxitest Test Reactor Velp Scientifica, (Usmate, Milán, Italy). Se trabajó a temperaturas de 90°C, 100°C y 110 °C, con una presión de 6 bares. Los datos obtenidos del equipo vienen dados en el periodo de inducción IP, que permite predecir la estabilidad del aceite o su vida útil a cualquier temperatura después de aplicado el método de mínimos cuadrados (LSM) (Akcicek et al., 2021; Mora Ruiz et al., 2023)

2.5.5 Índice de actividad antioxidante

Con los IP obtenidos en los resultados de la estabilidad oxidativa realizada en el Oxitest, se calcula un índice de actividad antioxidante (AAI), el cual corresponde a la división de los valores de estabilidad con y sin antioxidante presente en la muestra evaluada. Este índice nos permite identificar si hay un efecto o no con la aplicación de un antioxidante, un AAI mayores a uno (>1) indica un efecto protector, un AAI iguales a uno ($=1$) indica que no hay efecto protector, y un efecto prooxidante se relaciona con valores menores a uno (<1) (Bañares et al 2022, Suhag, Razem, et al., 2024a).

2.6 Análisis estadístico

Los experimentos del perfil de oxidación se realizaron por triplicado, la estabilidad oxidativa por duplicado, excepto en el perfil de ácidos grasos y en la variable de compuestos polares totales, en razón a que, en la técnica aplicada de cromatografía no fue posible hacer replicas, por lo que, en estos dos casos no fue posible calcular la desviación estándar. En los demás casos se reportan los valores medios y sus desviaciones estándar. Las diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos fueron estimadas a través de un análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas, con un nivel de significancia del 95% y prueba de Tukey ($p < 0.05$). Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando el software Minitab V19.

3. Resultados y discusiones

3.1 Determinación del perfil lipídico en las grasas utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas.

Los ácidos grasos presentes en las muestras de aceite de palma y de girasol (ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados) se reportan en la tabla 8. En los resultados se encontró que el aceite de girasol contiene un total de ácidos grasos insaturados del 73,1%, los cuales se clasifican en 44,6% de linoleico C18:2 (Omega 6), 28,5% de Oleico C18:1 (Omega 9), y un total de saturados del 26,9%. Por esta razón, y como se muestra en la Tabla 9, el aceite de girasol es más susceptible a la oxidación, ya que contiene un alto porcentaje de linoleico C18:2 (Omega 6).

De acuerdo con la clasificación de los aceites (Codex Stan STAN 210-1999 y resolución 2154 del 2012 de Colombia), el aceite de girasol evaluado se encuentra dentro de los rangos de un aceite de girasol normal o estándar en cuanto a su contenido de oleico, ya que tiene porcentajes entre 14% y 39,4%. Adicionalmente, según especificaciones técnicas, un aceite de girasol debe contener entre 43,1% al 71,8% de ácido oleico para ser clasificado como medio contenido de ácido oleico y entre 75% a 90,7% para considerarse con alto contenido de ácido oleico. Si se compara el contenido de ácidos grasos saturados del aceite de girasol con los reportados en ficha técnica del fabricante (14,9% de saturados) y con lo encontrado en un estudio previo del aceite de girasol, con 12.3 ± 0.25 de saturados (Arquero A, 2024), se evidenció una concentración mucho más alta que los reportados, situación que puede favorecer la estabilidad oxidativa en este estudio, pero desfavorece los perfiles nutricionales calculados en galletas.

El aceite de palma evaluado contiene un total de ácidos grasos insaturados de 52,4%, de los cuales, el 42,4% es ácido oleico C18:1 (Omega 9) y 10,7% ácido linoleico C18:2

(Omega 6), así como un total de 46,9% de saturados. Este aceite se encuentra dentro del rango de ácidos grasos establecido en el Codex Stan STAN 210-1999 para este tipo de productos, se encuentra dentro de lo establecido en la ficha técnica del fabricante y en valores muy cercanos al perfil de aceite de palma (*Elaeis guineensis*) reportado por Gonzalez, 2023.

En una mezcla del 60% de aceite de palma y 40% de aceite de girasol; se calculó un contenido de 37,00% de oleico, ver figura 22. En la mezcla de 50% de aceite de palma y 50% de aceite de girasol, se calculó un contenido de oleico en 35,57%, ver figura 23, y en la mezcla de 40% de aceite de palma y 60% de aceite de girasol se alcanzó un 34,16%, ver figura 24. Por lo anterior se concluye, que, para llegar a una mezcla con media cantidad de contenido de oleico (43,1% al 71,8%), con el aceite de palma y aceite de girasol normal, no sería posible. Se realizó otro cálculo suponiendo un 99% de aceite de palma donde se obtuvo un 42,38% de ácido oleico, lo que afectaría la cantidad de saturados con un valor de 46,83%. Para obtener una mezcla de aceites vegetales con media cantidad de ácido oleico, sin afectar los saturados, es necesario mezclar 40% de palma y 60% de girasol de medio contenido oleico, el cual debería tener como mínimo 44% de ácido oleico desde el origen.

Tabla 8 Perfil de ácidos grasos de los aceites. Se presenta la caracterización en porcentaje de los ácidos grasos contenidos en aceite de girasol y palma obtenidos comercialmente y usados como materia prima para la elaboración de galletas.

Clasificación de	Aceite de Girasol		Aceite de Palma	
	Ácido graso	%	Ácido graso	%
Poliinsaturado	Omega 6 – Linoleico	44,6	Omega 6 - Linoleico	10,7
Monoinsaturados	Omega 9 – Oleico	28,5	Omega 9 – Oleico	42,4
Saturados	–	26,9	–	46,9

Tabla 9 Valores de Oxidabilidad de aceites y Mezclas. Oxidabilidad calculada a partir de la cantidad de ácidos grasos oleico, linoleico y linolénico obtenidos del perfil de ácidos grasos del aceite de palma y girasol.

Tipo de Aceite	Valor Oxidabilidad
Aceite de Palma	1,45
Mezcla 60P/40G	2,84
Mezcla 50G/50P	3,18
Mezcla 60G/40P	3,52
Aceite de Girasol	6,07

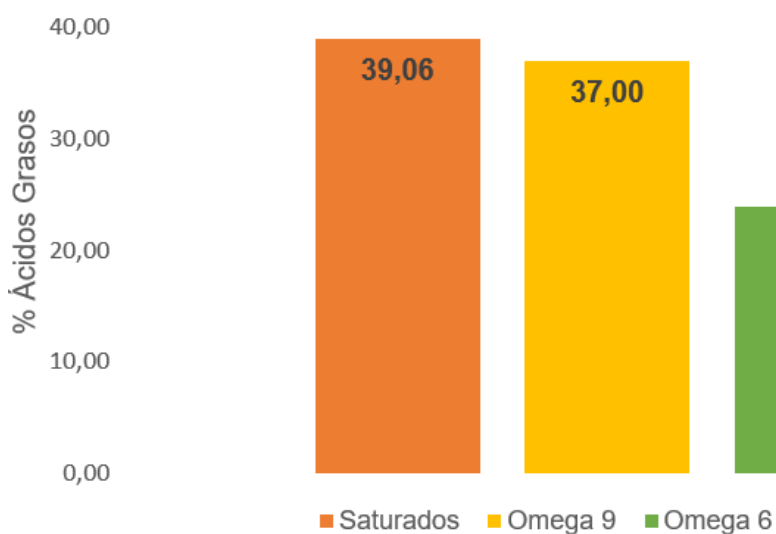


Figura 22 Perfil de ácidos grasos en la mezcla de aceite 60% Palma – 40% Girasol. Se presentan los porcentajes calculados a partir de la cantidad de ácidos grasos oleico, linoleico obtenidos de la caracterización de cada aceite.

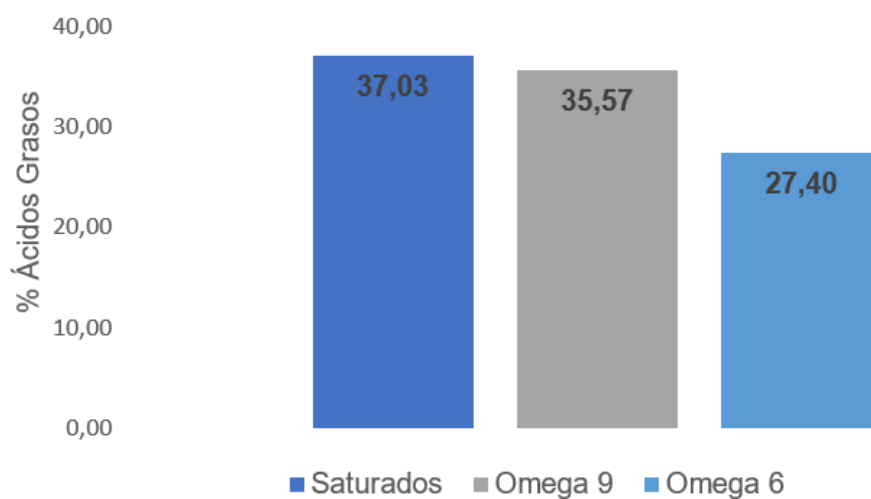


Figura 23 Perfil de ácidos grasos de la mezcla de aceite 50% Palma – 50% Girasol. Se presentan los porcentajes calculados a partir de la cantidad de ácidos grasos oleico, linoleico obtenidos de la caracterización de cada aceite.

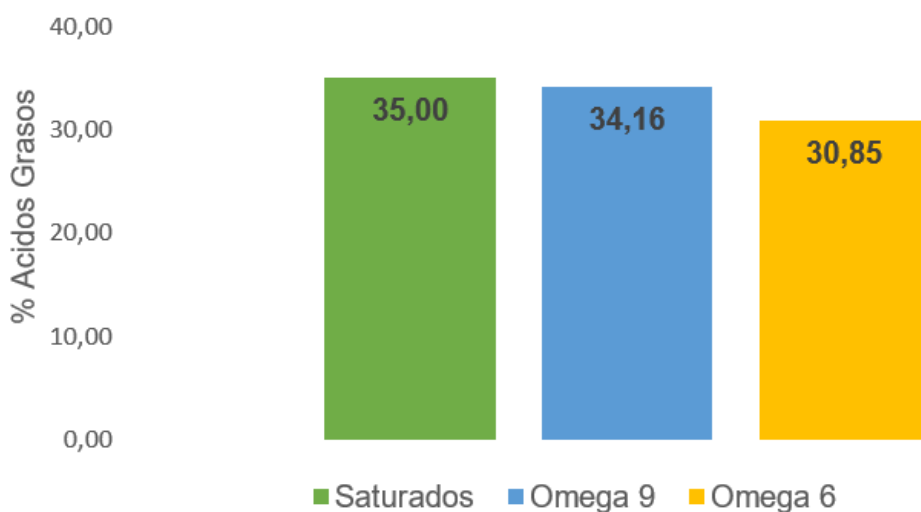


Figura 24 Perfil de ácidos grasos de la mezcla de aceite 40%Palma – 60% Girasol. Se presentan los porcentajes calculados a partir de la cantidad de ácidos grasos oleico, linoleico obtenidos de la caracterización de cada aceite.

3.2 Determinación de la cinética de oxidación en una mezcla de aceite de palma y de girasol utilizadas como materia prima para la elaboración de galletas.

Con las variables de calidad evaluadas, índice de peróxidos, compuestos polares totales y TBARS, se aplica la cinética de oxidación obteniendo el mejor modelo con la cinética de orden cero, la cual presentó valores de R cuadrado más cercanos a uno. En la tabla 10 se puede ver la constante de la velocidad de la reacción (K), que es igual al valor de la pendiente de la regresión lineal y su correspondiente R cuadrado. La constante de la velocidad de la reacción (K), nos permite ver el cambio de las diferentes concentraciones en el tiempo y está directamente relacionada con la velocidad de una reacción. A mayores valores de K, más rápida es la reacción, por el contrario, a menor valor de K, menor es la velocidad de una reacción, por lo que, al aumentar la concentración del antioxidante se observa que disminuye la velocidad de reacción de índice de peróxidos, compuestos polares totales y TBARS (Guo et al., 2024; Jaldani et al., 2024b). La variable que más mostró cambios con las diferentes concentraciones de alfa tocoferol fue el valor de peróxidos y los compuestos polares totales, con una disminución constante. Este mismo comportamiento se observó en un modelo cinético de reacción de formación de primer orden y una reacción de descomposición de segundo orden, de triacilgliceroles de girasol, en la fase de propagación realizada por Afaf et al., 2003, donde la tasa de formación de hidroperóxido fue mayor que la velocidad de su descomposición. La variable que presentó una mejor linealidad cuando se grafican los valores de K son los compuestos polares totales, con un R^2 de 0,9243.

Los valores de peroxidos tienen un R^2 de 0,85 y TBARS = 0,61. La pérdida de linealidad a medida que la concentración aumento se puede explicar por el comportamiento normal que presentan los hidroperóxidos, donde cada concentración puede obtener un comportamiento diferente, con un alargamiento de la curva a medida que la concentración aumenta, debido al efecto inhibitor del antioxidante, lo que a su vez también afecta el comportamiento de las reacciones secundarias. Para el caso de los TBARS, donde se observó menor cambio según el valor de K y poca linealidad según el valor R en la gráfica

de la K, se explica porque los TBARS son los productos de reacciones secundarias, como este producto fue medio en el mismo tiempo (72 horas), con los productos de las reacciones primarias, la reacción no se encontró en su momento de pico en la curva, donde los valores de K aumentan con mayor normalidad, contribuyendo así también a su linealidad. En un estudio de estabilidad oxidativa realizado en emulsiones de Pickering (Cheng et al., 2024), se observó un incremento de esta reacción en tiempos más prolongados de almacenamiento.

De manera general, la pérdida de linealidad observada en las variables en estudio, expresada por medio del R cuadrado en tabla 10, pueden ser explicadas por la metodología aplicada de mediciones aisladas de cada variable y muestreo intermitente, lo que no permiten mantener un flujo de datos continuo para el análisis cinético preciso y detallado, con la captura de datos en tiempo real para la comprensión integral de la cinética de la oxidación. Adicionalmente, el análisis de las reacciones de los aceites en diferentes momentos puede introducir variabilidad debido a la homogenización de la muestra, la diferencia de lotes, fluctuaciones de la temperatura y la exposición a la luz. Cuando las reacciones se monitorean en un solo recipiente y con muestreo periódico, se puede introducir la variabilidad en los datos por los tiempos de almacenamiento de la muestra, o presentar "efecto de memoria" que puede sesgar significativamente los resultados, afectando así la desviación estándar y la linealidad de los resultados, situación que es más crítica en las reacciones de oxidación, lo que puede introducir sesgos en los resultados que influyen en la cinética de la reacción. (Suhag, Razem, et al., 2024). Los resultados de la cinética son consecuentes con lo encontrado en un estudio de oxidación lipídica, de Osorio I, 2013, y por Ahmadi et al., 2024, en el cual se explica el hecho de que la cinética de orden cero, permite describir la reacción de oxidación de lípidos, (Ahmadi et al., 2024; Osorio, 2013; Ríos et al., 2024).

Tabla 10 Cinética de variables de Oxidación. *Calculada a partir de la ecuación de la recta aplicado un orden cero de la mezcla 50% aceite de palma y 50% aceite de girasol sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm en los valores de peróxidos, compuestos polares totales y TBARS con su R².*

Concentración de Antioxidante α -Tocoferol	Índice de peróxido		% CPT		TBARS	
	K	R ²	K	R ²	K	R ²
Blanco	0,45	0,99	0,77	0,97	0,105	0,96
75 ppm	0,26	0,99	0,49	0,91	0,042	0,90
150 ppm	0,24	0,98	0,33	0,89	0,041	0,92
225 ppm	0,16	0,96	0,24	0,92	0,032	0,95
300 ppm	0,14	0,92	0,16	0,80	0,035	0,92

3.2.1 Evaluación de índice de peróxidos

Los resultados obtenidos de la evaluación de índice de peróxido a 80°C, realizados en la mezcla 50% de aceite de palma y 50% de girasol (descrito en la preparación de la mezcla) se muestran en la tabla 11, además de los resultados de la cinética de oxidación del índice de peróxidos de orden cero (figura 27). Los valores de peróxidos iniciaron en 5 MeqO/kg de aceite y se observaron en incremento durante las 72 horas del estudio a 80°C. Esto ocurre en todas las concentraciones de alfa tocoferol y sin diferencias significativas, con un valor promedio menor en las muestras con 225 y 330 ppm de alfa tocoferol. Valores similares se encontraron en un estudio de una mezcla de 50/50 de palma y girasol con y sin antioxidantes, donde los valores iniciales de peróxidos se encontraron entre 5 a 10 meqO²/Kg (Djikeng et al., 2023) Comparando los valores de peróxidos con otro estudio, se observaron más altos a lo reportado en un aceite de palma a 70°C, donde a las 72 horas se encontraron en 3,3 MeqO²/kg (Espinoza, 2024). También se puede decir que un comportamiento similar se observa en una cinética del α -tocoferol durante la oxidación de triacilglicerol de manteca de cerdo TGL a 25°C de la figura 12, evaluada por Nedyalka V. & M. Marinova, 2003, donde al aumentar la concentración de antioxidantes, se observa la tasa inhibición (Espinoza, 2024).

Con la constante de la velocidad de la reacción (K) de la tabla 10 y figura 25, se observó una tasa de disminución a medida que aumenta la concentración de antioxidante con respecto a la muestra sin antioxidante. El alfa tocoferol logró retardar la reacción de oxidación a partir de la concentración de 75 ppm, además se observó que todas las concentraciones tienen tendencia creciente, lo que indica que los hidroperóxidos se encontraban en una fase de formación, sin llegar a fase de caída de la curva. Situación que ocurre en la fase de propagación de la reacción lipídica expuesta por Afaf et al., 2003, por lo que se concluye, que, en todas las concentraciones evaluadas, no se alcanzaron la fase de descomposición completa de los hidroperóxidos durante las 72 horas a 80°C, algo similar se encontró en un estudio de Afaf et al., 2003, donde se reporta que la curva de descomposición de los hidroperóxidos inició en valores críticos de 18,8 MeqO/kg, y a valores más altos a medida que la temperatura aumenta.

Al comparar los resultados obtenidos de índice de peróxidos con la norma de Colombia (resolución 2154 del 2012), en las primeras horas del estudio, de las cero horas a las seis horas a 80°C, se alcanzó el valor de índice de peróxidos máximo de la norma en todas las concentraciones evaluadas (5 MeqO/kg de aceite), y al comparar con la norma internacional del Codex Stan 210 – 1999 (10 MeqO/kg de aceite), el blanco, la concentración de 75 y 300 ppm superan los valores de la norma a las 26 horas; en la concentración de 300 ppm a las 32 horas y para la concentración de 225 ppm a las 54 horas, por lo que se concluye, que la concentración 225 ppm de alfa tocoferol tardó más tiempo en alcanzar este límite de la norma.

Tabla 11 Valores de Índice de peróxidos. *Determinados de la mezcla 50% aceite de palma y 50% aceite de girasol sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm, con anova, la desviación estándar y la prueba tukey donde "a" significa que no presenta diferencias significativas.*

Tiempo (Horas)	Índice de peróxido (mEqO ₂ /kg grasa)				
	0 ppm	75 ppm	150 ppm	225 ppm	300 ppm
0	5,14 ± 0,23 a	5,14 ± 0,23 a	5,14 ± 0,23 a	5,14 ± 0,23 a	5,14 ± 0,23 a
2	5,3 ± 0,16 a	5,43 ± 0,36 a	4,79 ± 0,40 a	5,41 ± 0,57 a	4,34 ± 0,30 a
6	5,61 ± 0,16 a	6,54 ± 0,36 a	6,23 ± 0,23 a	5,08 ± 0,57 a	4,84 ± 0,33 a
10	7,32 ± 0,18 a	6,76 ± 0,21 a	6,38 ± 0,23 a	7,58 ± 0,21 a	6,61 ± 0,46 a
14	9,24 ± 0,19 a	7,86 ± 0,27 a	7,10 ± 0,25 a	8,42 ± 0,45 a	7,60 ± 0,25 a
26	13,18 ± 0,43 a	11,37 ± 0,71 a	9,62 ± 0,52 a	8,73 ± 0,20 a	10,41 ± 0,37 a
32	16,44 ± 0,23 a	14,19 ± 0,23 a	12,61 ± 0,47 a	9,78 ± 0,18 a	11,33 ± 0,41 a
54	26,41 ± 0,62 a	17,57 ± 0,91 a	15,74 ± 0,48 a	12,81 ± 0,47 a	11,92 ± 0,33 a
72	37,53 ± 1,61 a	23,74 ± 0,59 a	22,41 ± 0,15 a	17,8 ± 0,58 a	14,77 ± 0,43 a

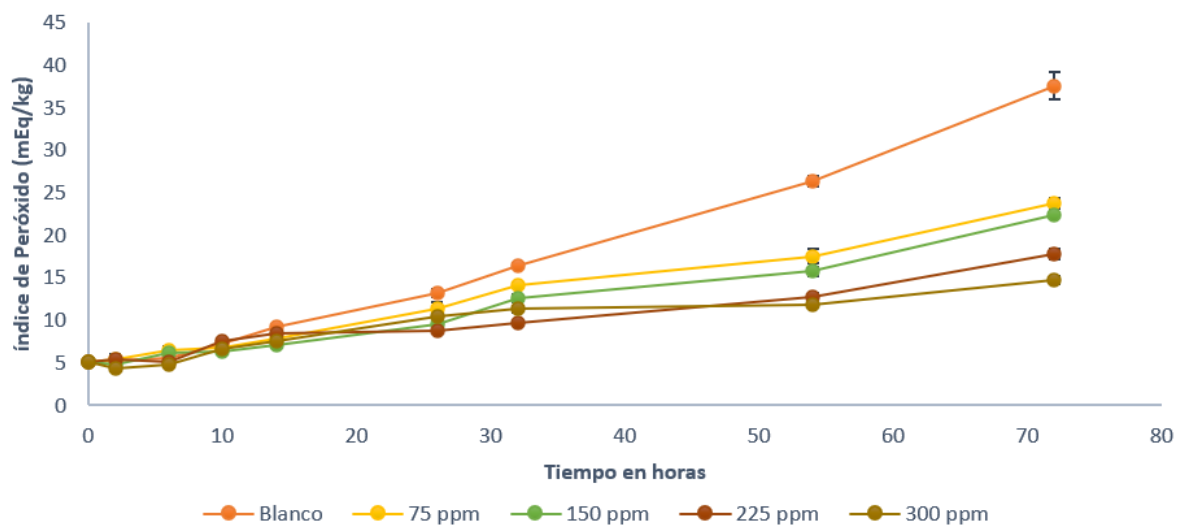


Figura 25 *Cinética de Oxidación de los Peróxidos. Grafica del Índice de peróxidos de orden cero de la mezcla 50% aceite de palma y 50% aceite de girasol sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm.*

La figura 25 permite describir la reacción de oxidación de lípidos, donde se puede observar que, no hubo un aumento significativo entre las cero horas y las 26 horas, después de las 26 horas los valores aumentan. Algo similar se reportó en un estudio del efecto del α -tocoferol y BHT (A), en portadores que contienen α -tocoferol (liposomas, niosomas y micelas), donde se aumentó significativamente en la formación de peróxido lipídico durante el almacenamiento de 14 a 60 días (Olbińska et al., 2023). La velocidad de la reacción de peróxidos de la mezcla de aceites con y sin antioxidantes alfa tocoferol, es coherente con el mecanismo antioxidante del alfa tocoferol que actúa en la etapa de propagación de la reacción de oxidación de los lípidos de Nedyalka V. & M. Marinova, 2003.

La velocidad de reacción de los peróxidos de la mezcla de aceites con alfa tocoferol, figura 26, muestra un efecto entre las diferentes concentraciones de antioxidante, con una disminución a medida que la concentración aumenta. Este comportamiento se puede explicar, por los valores obtenidos en las primeras horas de seguimiento, en los cuales se obtuvieron valores de peróxidos de 5 MeqO/kg de aceite, valor máximo para aceites refinados fuera de la planta, ya que aceites refinados en planta debe contener máximo 1 mEq/kg de aceite. Lo que demuestra que los valores de peróxidos fueron aumentando durante el tiempo transcurrido entre la producción del aceite sin antioxidante en fábrica, hasta la adición de antioxidante para efectos del estudio, lo que pudo afectar la efectividad del alfa tocoferol por la cantidad de peróxidos presente inicialmente en las muestras. Efecto que aún no es suficientemente claro. Afaf et al., 2003 expone que algunos autores hablan de 1 – 2 mEq O₂/kg de aceite, y otros autores hablan de 18,8 mEqO₂/kg de aceite. Adicionalmente Kamal E, 1996, mostró que la efectividad del antioxidante alfa tocoferol puede generar poca efectividad cuando ya se encuentran altos niveles iniciales de hidroperóxidos debido a que estos pueden actuar como prooxidantes de ácidos grasos poliinsaturados. Igualmente lo expone Kulås Elin., 2003, el cual dice en su estudio que las altas concentraciones de hidroperóxidos, con altos niveles de α -TOH hace que sea necesario sustituir algo de α -TOH por γ -TOH y/o δ -TOH con el fin de incrementar la eficacia para reducir la formación de productos de oxidación primaria.

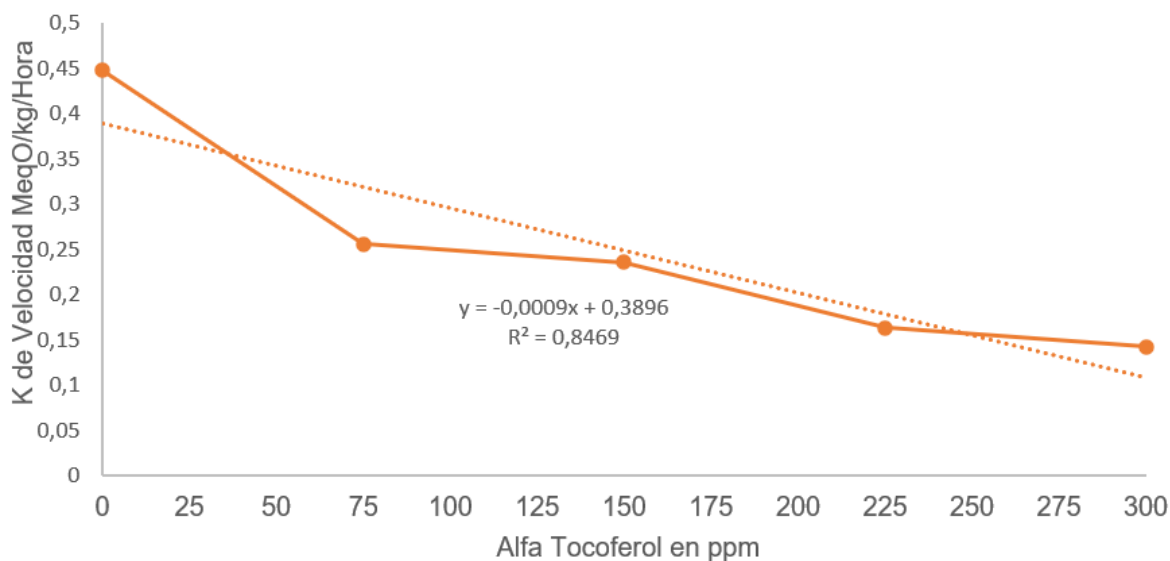


Figura 26 Efectos de la concentración de antioxidante cinete en la velocidad de la reacción de peróxidos. Gráfica de los valores K sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm.

3.2.2 Compuestos polares totales (CPT)

Los resultados de los compuestos polares totales en la mezcla 50% de aceite de palma y 50% de girasol se muestran en la tabla 12. Los valores se observaron en incremento durante las 72 horas del estudio a 80°C en todas las concentraciones de alfa tocoferol y sin diferencias significativas, con un menor promedio en las concentraciones de 225 ppm y 300 ppm. Los resultados de la cinética de oxidación de los compuestos polares totales de orden cero se puede ver en la tabla 10 y la figura 27, donde se observa que el alfa tocoferol si tiene un efecto en la mezcla de aceite. Todos los valores mayores a 24% y 27% de CPT según la norma de calidad para los aceites y grasas calentados, 1989 de España, con otras normas internacionales en Europa, no están dentro de los valores recomendados de CPT. En el caso de Colombia y en el Codex Alimentario no existe regulación de CPT, por lo que se concluye, que, para no superar los valores recomendados según normas europeas, la mezcla de aceites 50% de palma y 50% de girasol, con antioxidantes no debe superar más de 46 horas con concentraciones de 75 ppm, 54 horas con concentraciones de 150 ppm y más de 72 horas para las concentraciones de 225 y 300 ppm.

Tabla 12 Compuestos Polares totales. *Determinados de la mezcla 50% aceite de palma y 50% aceite de girasol sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm, con anova y la prueba tukey donde “a” significa que no presenta diferencias significativas.*

Tiempo (Horas)	% Compuesto Polares totales				
	0 ppm	75 ppm	150 ppm	225 ppm	300 ppm
0	5,50 a	5,00 a	5,00 a	5,00 a	7,50 a
2	7,50 a	7,50 a	6,50 a	6,50 a	8,00 a
4	10,50 a	6,50 a	12,50 a	5,00 a	6,00 a
6	13,50 a	8,50 a	8,00 a	5,50 a	5,50 a
8	15,00 a	9,00 a	8,00 a	5,00 a	5,50 a
10	15,50 a	10,00 a	7,50 a	5,50 a	5,00 a
12	17,00 a	11,50 a	8,50 a	6,50 a	6,50 a
14	17,50 a	8,50 a	9,50 a	6,50 a	6,50 a
16	17,50 a	8,50 a	9,00 a	5,50 a	6,50 a
18	19,50 a	9,00 a	9,50 a	6,00 a	7,00 a
20	20,50 a	9,50 a	9,50 a	7,00 a	6,50 a
22	21,00 a	10,50 a	9,50 a	8,00 a	6,50 a
24	22,50 a	10,00 a	10,50 a	8,50 a	6,50 a
26	26,50 a	12,50 a	12,00 a	9,50 a	10,00 a
32	32,00 a	17,50 a	15,50 a	10,50 a	12,50 a
38	38,50 a	21,50 a	17,50 a	14,50 a	11,50 a
46	42,50 a	28,00 a	21,50 a	12,50 a	10,50 a
54		34,50 a	26,50 a	18,50 a	14,50 a
72		38,50 a	28,50 a	21,00 a	17,50 a

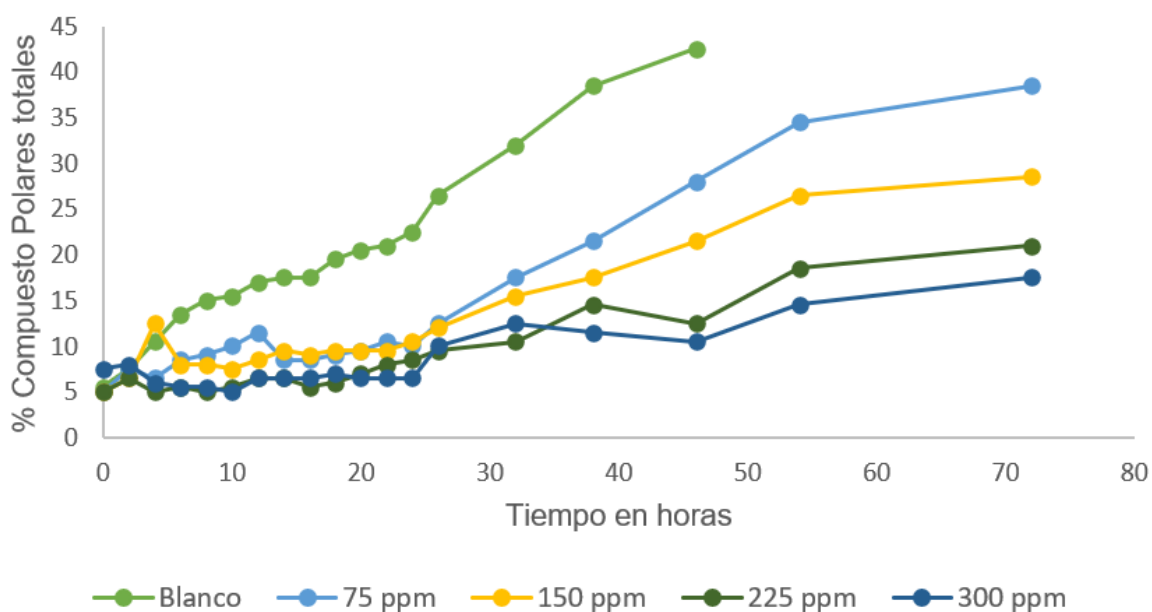


Figura 27 Cinética de Compuestos Polares. Grafica de orden cero de la mezcla 50% aceite de palma y 50% aceite de girasol sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm.

Los resultados de los compuestos polares totales se encontraron ajustados a una cinética de oxidación de orden cero, ver figura 28. Al determinar la constante de la velocidad de la reacción de compuestos polares totales, ver tabla 10 y figura 28, se puede ver el efecto de la concentración del antioxidante alfa tocoferol en la velocidad de la reacción lipídica de la mezcla de aceites sin y con antioxidantes en diferentes concentraciones. A partir de estos hallazgos, se concluye que a medida que aumenta la concentración del antioxidante alfa tocoferol, se reducen los compuestos polares en la mezcla de aceites, con un cambio muy leve en la velocidad de reacción entre las concentraciones de 225 ppm a 300 ppm.

Los resultados de compuestos polares totales están de acuerdo con lo reportado por Ramírez, B et al, 2004, donde la cantidad de compuestos polares de varios aceites de fritura, incluido el aceite de palma, eran máximo 8% o menos y alcanzaron el 30% después de 80 horas de fritura. Resultados similares también se reportan en el aceite de girasol, con un máximo de 5,1% de compuestos polares, siendo las mezclas de aceites vegetales los

que presentaron un valor promedio mayor de compuestos polares totales (Ramírez B, et al., 2012)

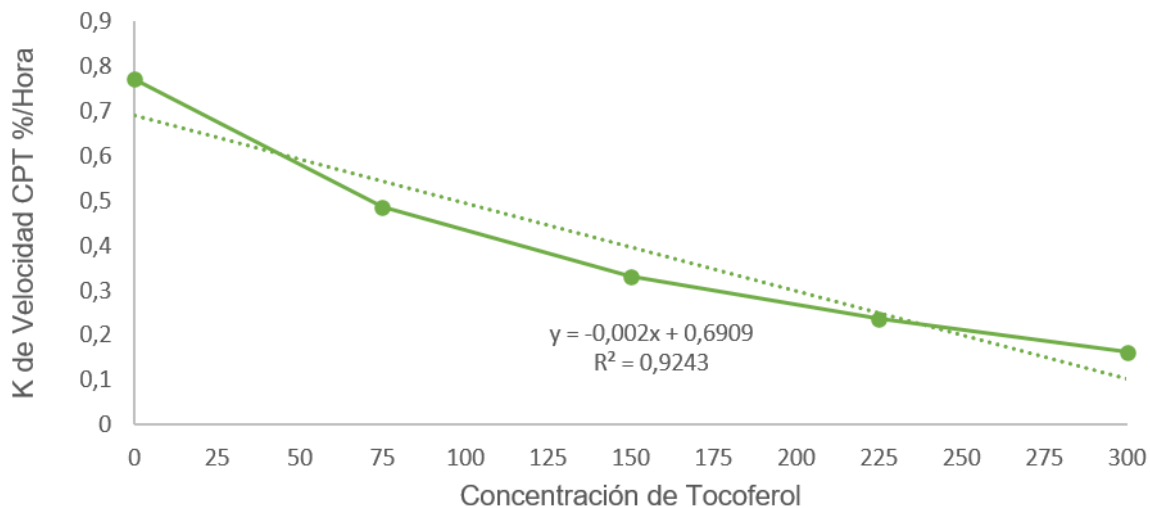


Figura 28 Efectos de concentración de antioxidante en la velocidad de la reacción de Compuestos Polares Totales. *Gráfica de los valores K sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm.*

3.2.3 Análisis del ácido tiobarbitúrico

Los resultados de los valores de TBARS se muestran en la tabla 13 y la figura 29, donde se observa diferencias significativas entre los valores de TBARS de la mezcla de aceite con y sin alfa tocoferol. Siendo el blanco y la concentración de 300 ppm significativamente diferente, y sin diferencias significativas entre las concentraciones de 75 ppm a 225 ppm.

Tabla 13 TBARS. *Determinados de la mezcla 50% aceite de palma y 50% aceite de girasol sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm, con anova y la prueba tukey con diferencias significativas entre a y b.*

nmol de MDA/g Aceite					
Tiempo (Horas)	0	75	150	225	300
0	0,74 ± 0,06a	1,21 ± 0,12ab	1,21 ± 0,10ab	1,21 ± 0,05ab	1,21 ± 0,11b
2	1,28 ± 0,07a	1,66 ± 0,13ab	1,18 ± 0,07ab	1,21 ± 0,08ab	1,24 ± 0,06b
6	2,36 ± 0,08a	1,71 ± 0,06ab	1,57 ± 0,06ab	1,61 ± 0,10ab	1,33 ± 0,06b
10	2,97 ± 0,13a	2,23 ± 0,15ab	1,76 ± 0,07ab	1,45 ± 0,12ab	1,40 ± 0,10b
14	3,11 ± 0,06a	2,45 ± 0,12ab	1,85 ± 0,15ab	1,54 ± 0,08ab	1,66 ± 0,07b
26	4,57 ± 0,21a	3,15 ± 0,12ab	2,77 ± 0,08ab	2,01 ± 0,10ab	2,37 ± 0,08b
32	5,71 ± 0,04a	3,54 ± 0,25ab	3,27 ± 0,14ab	2,43 ± 0,13ab	2,85 ± 0,10b
54	7,41 ± 0,39a	4,12 ± 0,25ab	3,66 ± 0,07ab	3,24 ± 0,04ab	3,34 ± 0,12b
72	8,37 ± 0,17a	4,21 ± 0,25ab	3,94 ± 0,21ab	3,24 ± 0,09ab	3,37 ± 0,12b

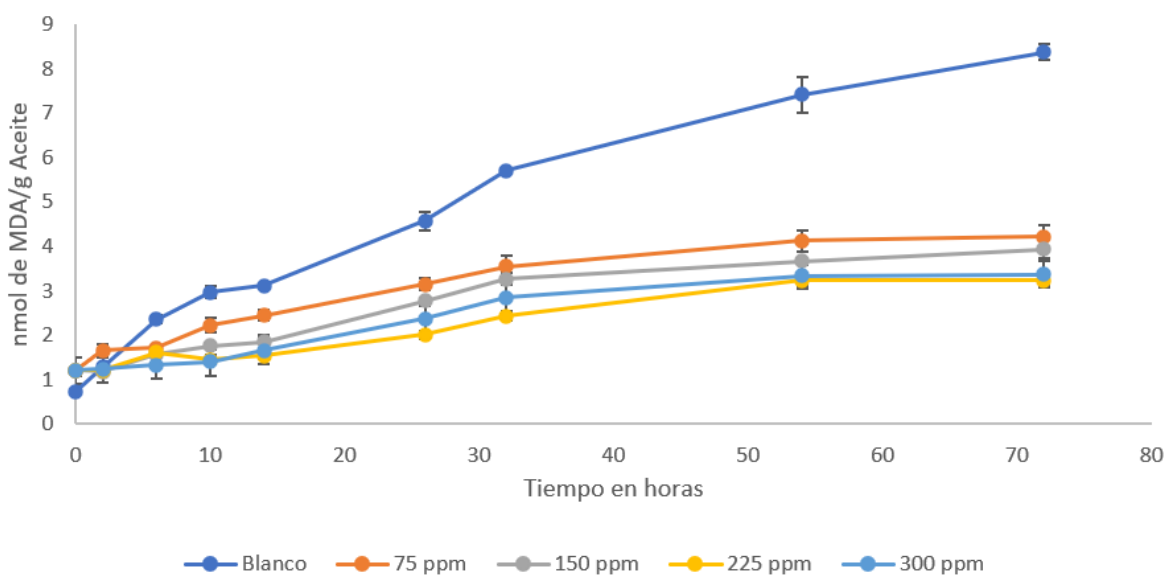


Figura 29 Cinética de Oxidación TBARS. *Grafica de orden cero de la mezcla 50% aceite de palma y 50% aceite de girasol sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm.*

Los valores de TBARS exhibieron un aumento constante durante el tiempo, donde los resultados de TBARS se ajustan a una cinética de oxidación de orden cero. Al determinar la constante de la velocidad, ver tabla 10 y la figura 29, se puede ver el efecto de la concentración del antioxidante alfa tocoferol en la velocidad de la reacción TBARS, lo que indica la degradación de los hidroperóxidos en otros compuestos los aldehídos y cetonas en la mezcla de aceites con y sin antioxidantes. En las concentraciones evaluadas de alfa tocoferol, se observa un comportamiento muy similar en todas las concentraciones, presentando una menor tasa de inhibición en la concentración de 225 ppm.

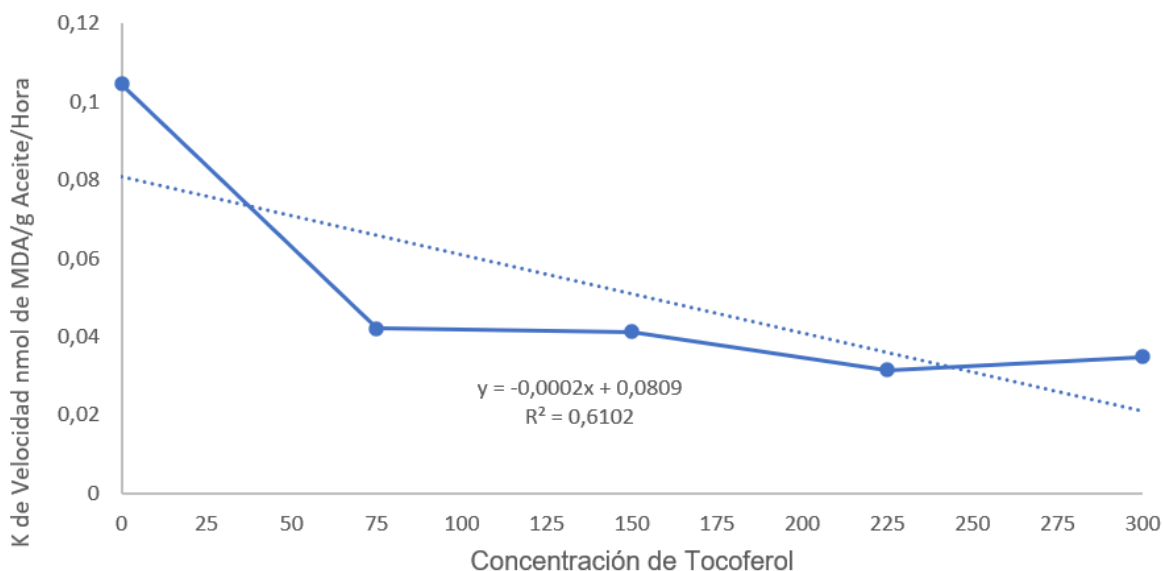


Figura 30 Efectos de concentración de antioxidante en la velocidad de la reacción de TBARS. Gráfica de los valores K sin y con alfa tocoferol en concentraciones de 75, 150, 225 y 300 ppm.

Como los compuestos TBARS son el resultado de la reacción con los productos de la oxidación primaria (hidroperóxidos), más el oxígeno para formar malondialdehido (MDA) en las reacciones secundarias, es posible que el alfa tocoferol ya no se encontraba lo suficientemente activo para seguir reaccionando, y así se aumente la concentración de alfa tocoferol, la poca capacidad de autoregeneración del alfa tocoferol, puede generar una condición de protección menor, lo que se relaciona con lo encontrado por Afaf & Lars, 1996; Kulås Elin et al., 2003, donde se explica que, los radicales α -TO', cuando ceden su

hidrógeno en la etapa de formación de hidroperóxidos, se le impide las reacciones de acoplamiento para su regeneración y continuar la actividad protectora.

3.2.4 Estabilidad oxidativa de la mezcla de aceites sin y con antioxidantes

Los resultados obtenidos de la estabilidad oxidativa se muestran en la tabla 14, donde se puede observar el IP medido en meses de cada uno de los aceites y la mezcla 50/50. En el caso del aceite de palma se obtuvo 22,3 meses, en el aceite de girasol 8,00 meses y en la mezcla 50/50 9,58 meses. La mezcla 50% de palma y 50% de girasol, con las diferentes concentraciones de antioxidante se encuentran entre 4,31 meses a 8,12 meses, siendo la concentración de 300 ppm la que mostró una mejor estabilidad oxidativa con un mayor valor IP.

Tabla 14 Estabilidad oxidativa de aceites y la mezcla con y sin alfa tocoferol N°1. *Obtenidos de la primera muestra de aceites de girasol y palma tratada con alfa tocoferol a concentraciones 75, 150, 225 y 300 ppm.*

Aceite	Muestra 1		
	IP Meses	DS	R ²
Girasol sin antioxidante	8,00	6,08	0,99
Palma sin antioxidante	22,30	12,20	0,99
Mezcla 50/50 sin antioxidante	9,58	0,67	1,00
Mezcla 50/50 con antioxidante (α-T) 75 ppm	7,22	4,07	1,00
Mezcla 50/50 con antioxidante (α-T) 150 ppm	5,85	1,74	1,00
Mezcla 50/50 con antioxidante (α-T) 225 ppm	4,31	1,00	1,00
Mezcla 50/50 con antioxidante (α-T) 300 ppm	8,12	0,09	1,00

IP: Periodo de Inducción DS: Desviación estandar. R²: R Cuadrado

Se determinó nuevamente la estabilidad oxidativa en otra muestra de aceite de palma y girasol sin antioxidante y con 300 ppm de alfa tocoferol y un mix de tocoferoles, concentración máxima para aceites según Codex stan 192 – 1995. En la segunda muestra se controló el tiempo de experimentación (no mayor a dos semanas), donde se obtuvo 165,63 meses para el aceite de palma sin antioxidante y 180,62 meses con 300 ppm de

alfa tocoferol. Para el aceite de girasol sin antioxidante se obtuvo 0,57 meses y 0,95 meses con 300 ppm de alfa tocoferol, lo que nos muestra una alta variabilidad oxidativa entre las muestras de aceites evaluados, posiblemente por la variabilidad del perfil de ácidos grasos de cada lote. Adicionalmente, a la mezcla 50% de palma y 50% de girasol se le aplicó nuevamente una concentración de 225 ppm de alfa tocoferol con un IP de 7,10 meses sin antioxidante y 7,35 meses con antioxidante, lo que indica que no presentó cambios significativos en la estabilidad oxidativa, ver tabla 15

Tabla 15 Estabilidad Oxidativa de aceites y la mezcla con y sin alfa tocoferol N°2. *Obtenidos de la segunda muestra de aceites de girasol y palma tratada con alfa tocoferol a concentraciones 75, 150, 225 y 300 ppm.*

Aceite	Muestra 2		
	IP Meses	DS	R ²
Girasol sin antioxidante	0,57	0,25	0,970
Palma sin antioxidante	165,63	17,54	1,000
Girasol antioxidante (α-T) 300 ppm	0,95	0,70	0,986
Palma antioxidante (α-T) 300 ppm	180,62	15,94	1,000
Mezcla 50/50 sin antioxidante	7,105	0,06	1,000
Mezcla 50/50 antioxidante (α-T) 225 ppm	7,354	1,11	1,000
Girasol sin antioxidante	4,16		
Girasol antioxidante (Mix-T) 300 ppm			

IP: Periodo de Inducción DS: Desviación estandar. R²: R Cuadrado

Con los resultados obtenidos en la estabilidad oxidativa de la tabla 14 y 15, se calcula el índice de la actividad antioxidante, el cual se calculó con el IP con y sin antioxidantes según Bañares et al., 2022. En los resultados de la primera muestra se observó que no se presentó un efecto protector, todos los valores IAA (Índice de Actividad Antioxidante) de las diferentes concentraciones de alfa tocoferol, en la mezcla del aceite 50% de palma y 50% de girasol, se encontraron menores a uno (<1), lo que indica un efecto prooxidante, ver figura 31. El efecto prooxidante se podría atribuir a los valores de peróxidos de la muestra (que inicio en 5 Meq O²/kg de aceite a 80°C y fueron aumentando en el tiempo (según la figura 25), los cuales al ser sometidos a condiciones aceleradas (90°C, 100°C y 110°C, a 6 bares de presión), incrementa la reacción de peróxidos, y posiblemente la degradación del antioxidante sin lograr su regeneración radical-radical, por lo que no puede continuar actuando como inhibidor en la reacción lipídica. Un comportamiento similar se encontró en un estudio realizado por Afaf et al., 2003, el cual expone que, se espera que el alfa tocoferol descomponga los hidroperóxidos de manera más rápido que los otros

homólogos de tocoferol, debido a su capacidad de donar hidrógenos y menor capacidad de regeneración, esto a su vez genera un efecto catalizador para la oxidación de lípidos. Adicionalmente cuando se compararon los IP de manera independiente a la temperatura más alta (IP a 110°C), el alfa tocoferol en el aceite de girasol no mostró un efecto protector, y en el aceite de palma el efecto fue muy leve con pequeñas diferencias en los IP, por lo que se concluye que, a temperaturas mayores a 100°C, el antioxidante puede presentar una menor actividad antioxidante. Una situación similar se explica por Afaf & Lars, 1996, donde informa que, los aductos de hidroperóxido, formados como resultado de las reacciones lipídicas en etapas de propagación, no son estables y se degradan a altas temperaturas lo que puede generar pérdida en la efectividad del antioxidante.

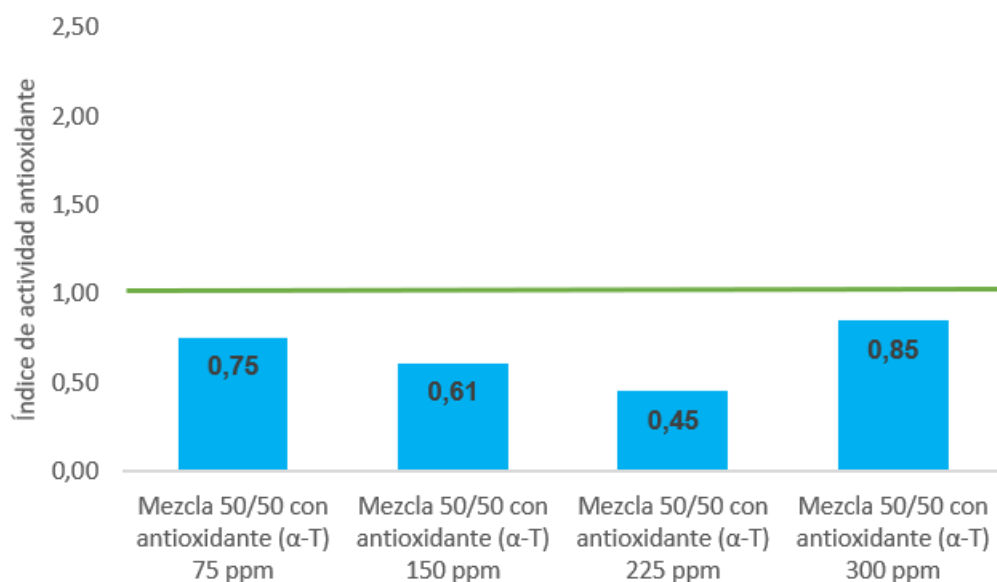


Figura 31 Índice de Actividad Antioxidante Muestra 1. *Índice calculado con la división de los valores de estabilidad con y sin antioxidante de la primera mezcla de aceites de girasol y palma 50/50 tratada con alfa tocoferol a diferentes concentraciones.*

En la segunda muestra de aceites, ver figura 32, cuando se trabaja con los aceites independientes y con 300 ppm de alfa tocoferol, se observa un efecto protector, con valores mayores a uno (>1), pero con mayor efecto protector en el aceite de girasol comparado con el aceite de palma y la mezcla 50% de palma y 50% de girasol. Estos resultados son menores a lo reportado en un estudio de protección antioxidante de varios aceites con

antioxidantes fenólicos, donde la protección de los aceites se reportó de 2 a 4 veces más altos de lo esperado (Guo et al., 2024).

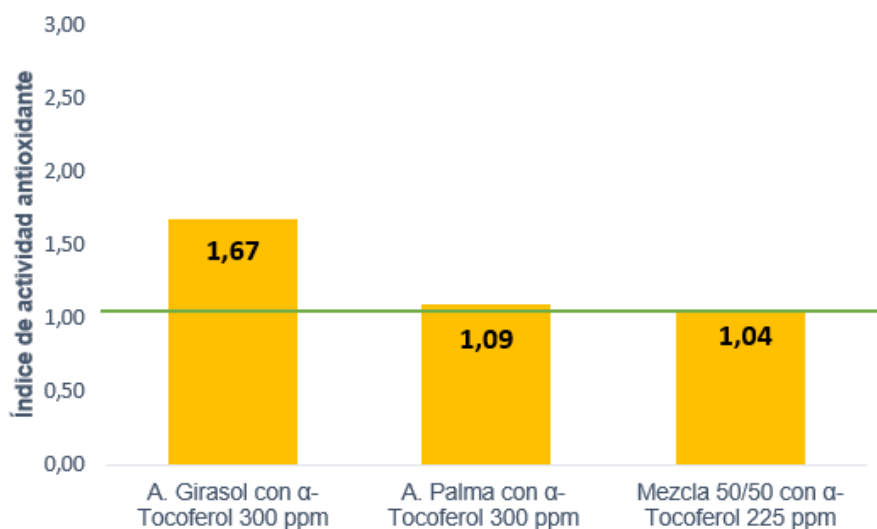


Figura 32 Índice de Actividad Antioxidante Muestra 2. *Índice calculado con la división de los valores de estabilidad con y sin antioxidante de la segunda muestra de aceites de girasol y palma con alfa tocoferol a diferentes concentraciones.*

El comportamiento de mayor efecto protector del alfa tocoferol en el aceite girasol, comparado con el aceite de palma, también se explica por T. Verleyen et al., 2003, donde se identificó que la degradación del α -tocoferol era más estable en los aceites de linaza y girasol más insaturados en comparación con los aceites de girasol y palma más saturados y de alto contenido oleico, estudio realizado en cuatro aceites vegetales durante 3 h, a 240°C. Como se mostró en la figura 32, el efecto protector depende del tipo de aceite utilizado, por lo que se compara el aceite de girasol anteriormente evaluado con un Mix de tocoferoles con predominación en gamma y delta en la misma concentración del alfa, donde se logró un efecto protector mayor con un IAA de 2,13. Ver figura 33.

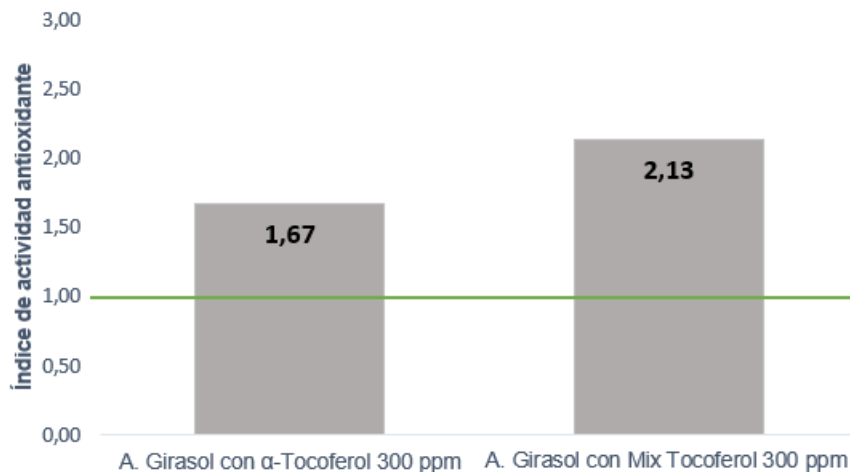


Figura 33 Índice de Actividad Antioxidante Muestra 3. *Índice calculado con la división de los valores de estabilidad con y sin antioxidante del aceite de girasol con alfa tocoferol y un mix de tocoferoles a 300 ppm.*

El efecto del alfa tocoferol en los estudios de la estabilidad oxidativa y el índice de actividad (IAA), se pueden explicar con los resultados siguientes sobre la capacidad antioxidantes identificada en las pruebas de ORAC y DPPH, donde el alfa tocoferol utilizado en el experimento, mostró menos capacidad antioxidante, comparada con un Mix de tocoferoles, un resultado similar fue identificado por Ríos et al., 2024, en el cual se explica que, el alfa tocoferol presenta capacidad antioxidante más baja en aceites comestibles.

3.3 Evaluar la capacidad antioxidante del alfa tocoferol por metodologías como ORAC o DPPH y comparar con otros tipos de tocoferoles.

En la Tabla 16 se puede ver la concentración y la capacidad antioxidante de tres tipos de tocoferol comerciales en presentación en polvo con un máximo de 5% de humedad. La capacidad antioxidante fue medida por la captación de radicales libres de las metodologías DPPH y ORAC. El Alfa tocoferol evaluado, es el mismo antioxidante que se aplica en los estudios de cinética de oxidación anteriormente expuesta. En la tabla 17 se observa que

las muestras que tienen mezcla de los diferentes homólogos de tocoferol presentan una mayor actividad antioxidante comparando con las muestras que solo tienen alfa tocoferol, todas las muestras presentan diferencias significativas. Las diferencias de los resultados se deben posiblemente a que cada proveedor tiene diferentes vehículos que puede influir en su capacidad antioxidante, además porque los tocoferoles pueden ser obtenidos de diferentes fuentes, y sus tipos de tocoferol varían según el fabricante, afectando así su capacidad en la matriz del antioxidante. Los resultados obtenidos de capacidad antioxidante se pueden relacionar con lo encontrado en el estudio realizado por Kulås Elin et al., 2003, donde se identificó que la actividad antioxidante de las mezclas de tocoferoles se ve fuertemente afectada por su composición, igualmente se explica en un estudio realizado por Olbińska et al., 2023, donde se expone que, el efecto del α -tocoferol depende de su disponibilidad, de la concentración y en gran medida de la composición del sistema. Adicionalmente en un estudio in vitro de Kamal-Eldin; A & Appelqvist, 1996, de diferentes tocoferoles, se identificó que en grasas, aceites y lipoproteínas se reportó un orden inverso al comúnmente encontrado (α -TOH > β -TOH > γ -TOH > δ -TOH) versus δ -TOH > γ -TOH = β -TOH > α -TOH), lo cual se explica porque el δ -TOH cromanoxilo y γ -TOH cromanoxilo pueden reorganizarse en radicales y ser capaces de capturar radicales de peróxidos lipídicos en la posición (5) cinco, además de ser el sitio orto para el acoplamiento radical – radical, lo que es más complicado para el α -TOH cromanoxilo, donde se identificó que es más difícil su acoplamiento radical – radical.

Tabla 16 Concentración y capacidad antioxidante del tocoferol. *Actividad antioxidante y concentraciones obtenida por la determinación de DPPH, ORAC y cromatografía de alfa tocoferol y un Mix de tocoferoles.*

Muestra	Concentración de Tocoferoles	Actividad antioxidante, TEAC ($\mu\text{mol Trolox/ 100g}$)	
		DPPH ($\pm\text{S, n} = 3$)	ORAC ($\pm\text{S, n} = 2$)
Vitamina E (α - Tocoferol) Lote: 539189	α - T 50%	$14,51 \pm 1,11$ a	$216,54 \pm 8,60$ a
Vitamina E (α - Tocoferol) Lote: 543911	α - T 50% 20% α - Tocoferol	$16,59 \pm 0,91$ a	$215,69 \pm 4,90$ a
Mix de tocoferoles P1	α -T 4%, β -T 1%, γ -T 7%, δ -T 20%	$36999,2 \pm 2420,3$ b	$48667,4 \pm 2006,0$ b
Mix de tocoferoles P2	Total Mix 33%	$43537,4 \pm 1967,9$ c	$56318,8 \pm 1276,2$ c

Adicionalmente, se puede observar que, el lote 539189 de una muestra de antioxidante de alfa tocoferol, con más de 15 días de almacenamiento después de abierta, varían en su concentración con respecto a la muestra del lote 543911 que fue tomada del paquete inmediatamente abierto, lo que podría afectar su capacidad antioxidante. La diferencia de la concentración en almacenamiento fue similares a la degradación del α -tocoferol obtenidos después del tiempo de almacenamiento realizado en un estudio sobre nanoemulsiones enriquecidas con vitamina E en aceites, con una pérdida de 25 a 40% de degradación (Maldonado et al., 2023).

4. Conclusiones

Se logró determinar el perfil de ácidos grasos saturados y los insaturados tipo linoleico C18:2 (Omega 6) y Oleico C18:1 (Omega 9) en los aceites de palma y de girasol utilizados como materia prima para la elaboración de galletas. Los dos aceites cumplen con lo establecido en las normas del Codex Stan STAN 210-1999 y la resolución 2154 del 2012 de Colombia. Adicionalmente, el aceite de girasol fue más susceptible a la oxidación, con un valor de oxidabilidad significativamente mayor comparado con el aceite de palma y con las mezclas de ambos. Sin embargo, para llegar a una mezcla más estable a la oxidación, es necesario mezclar 40% de palma y 60% de girasol que como mínimo contenga un 44% de ácido oleico desde el origen, porcentaje que no fue alcanzado por el aceite evaluado. Por otro lado, se determinó la cinética de oxidación de la mezcla de aceite de palma y de girasol 50/50 con y sin alfa tocoferol, mediante el seguimiento de los valores de peróxidos, compuestos polares totales y TBARS, a través del tiempo. En general, se observó una disminución en la constante de la velocidad de la reacción (K), a mayor concentración de alfa tocoferol. La tasa de cambio más acelerada se observó en la velocidad de la reacción de los valores de peróxidos y compuestos polares totales, mientras que en los valores de TBARS, la tasa de cambio fue más lenta, siendo las concentraciones de 225 y 300 ppm las mejores concentraciones para inhibir la oxidación lipídica. En los resultados de estabilidad oxidativa calculados mediante valores IP para las mezclas de palma y girasol, no se encontró un efecto protector del antioxidante, dando por el contrario un efecto prooxidante. Sin embargo, en un segundo experimento, al evaluar los aceites de manera individual, y utilizando una concentración de alfa tocoferol de 300 ppm sí se encontró un efecto protector, siendo más efectivo en el aceite de girasol con un IAA de 1,67. Un mayor nivel de protección en aceite de girasol, se encontró al evaluar una mezcla de tocoferoles con predominio de gamma y delta, obteniéndose un IAA de 2,13. Estos resultados fueron coherentes con la capacidad antioxidante evaluada mediante ORAC y DPPH, donde se observó que las muestras con mezclas de los diferentes homólogos de tocoferol, con mayor proporción de gamma y delta tocoferol, presentaron una mayor actividad antioxidante comparada con las muestras que solo tenían alfa tocoferol. Finalmente, este trabajo representa un aporte significativo para la industria de alimentos ya que permite conocer el comportamiento de uno de los antioxidantes más comercializados para inhibir los procesos de oxidación como lo es el alfa tocoferol, y al mismo tiempo proponer

alternativas promisorias, como el mix de tocoferoles para mejorar el perfil oxidativo de los productos. Adicionalmente, se comprobó que las mezclas de aceites evaluadas permiten la viabilidad tecnológica y económica de productos de galletería con perfiles nutricionales más saludables.

5. Recomendaciones

Se recomienda hacer una mezcla con un aceite de girasol con medio contenido de ácido oleico y menos linoleico, donde el aceite de girasol debe contener como mínimo 44% de ácido oleico desde el origen. También sería importante considerar la mezcla de un tercer aceite como el aceite de canola, que según la composición de ácidos grasos informada en el Codex STAN 210-1999 y la Fundación Española de aceite de Palma, con una composición de ácidos grasos saturados muy similar al aceite de girasol, con un mayor aporte de ácido oleico, lo que puede ayudar a reducir los valores de oxidabilidad. Esta recomendación se realiza considerando que el aceite de canola es un aceite comercial que se vende mezclado con el aceite de girasol, por lo que se considera una mezcla fácil de obtener en el mercado de aceites.

Se recomienda hacer un seguimiento más exhaustivo en el perfil de ácidos grasos del aceite de girasol, en razón a que en este estudio se evidenció que el contenido de ácidos grasos saturados no estaba dentro de los valores reportados en ficha técnica del fabricante.

Según los hallazgos identificados en este estudio, se recomienda el uso de tocoferoles con más concentración de γ -tocoferol y δ -tocoferol, debido a que estos homólogos del alfa tocoferol muestran un mejor desempeño antioxidante según resultados de DPPH y ORAC. También sería importante considerar hacer un seguimiento por la posible pérdida de la capacidad antioxidante en la etapa de almacenamiento del antioxidante. En razón a que se identificó disminución de la concentración de antioxidante cuando se comparó una muestra del mismo lote con una diferencia de 15 días después de abierto.

Posterior a este trabajo se recomienda hacer un estudio en la matriz de la galleta, con la aplicación de las mezclas de grasa y adición de los homólogos γ -tocoferol y δ -tocoferol como antioxidantes, de manera que se pueda observar el comportamiento de la estabilidad oxidativa en una matriz con otros componentes unidos a la grasa.

Bibliografía

- A. Ocampo Durán. (2024, March). *La palma aceitera africana, un recurso de alto potencial para la producción animal en el trópico*. FAO.
- A. Sayago, M.I. Marín, R. Aparicio, & M.T. Morales. (2007). Vitamina E y aceites vegetales. *ISSN: 0017-3495*, 58, 74–86.
- Afaf, K. E., & Lars, A. A. (1996). La química y las propiedades antioxidantes de los tocoferoles y tocotrienoles. *AOCS Press*, 31, 671–701.
- Afaf, K. E., Mäkinen, M., & Lampi, A. (2003). The challenging contribution of Hydroperoxides to the lipid oxidation mechanism. In A. Kamal-Eldin (Ed.), *Lipid oxidation pathways: Vol. Capítulo 1*. AOCS Pres. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:82767613>
- Ahmadi, N., Ghavami, M., Rashidi, L., Gharachorloo, M., & Nateghi, L. (2024). Effects of adding green tea extract on the oxidative stability and shelf life of sunflower oil during storage. *Food Chemistry: X*, 21, 101168. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101168>
- Akcicek, A., Bozkurt, F., Akgül, C., & Karasu, S. (2021). Encapsulation of olive pomace extract in rocket seed gum and chia seed gum nanoparticles: Characterization, antioxidant activity and oxidative stability. *Foods*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/foods10081735>
- Alam, Md. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, Md. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Ali, E., Hussain, S., Hussain, N., Kakar, K. U., Shah, J. M., Zaidi, S. H. R., Jan, M., Zhang, K., Khan, M. A., & Imtiaz, M. (2022). Tocopherol as plant protector: an overview of tocopherol biosynthesis enzymes and their role as antioxidant and signaling molecules. *Acta Physiologiae Plantarum*, 44(2), 20. <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03350-x>
- Alzate, A. A. F. C. P. Á. R. B. B. (2018). Composition, antioxidant activity, thermal and oxidative stability of lecythis tuyrana oil. *Journal of Food and Nutrition Research*, 57((ISSN 1336-8672), 87–97.
- Amorati, R., & Valgimigli, L. (2018). Methods to Measure the Antioxidant Activity of Phytochemicals and Plant Extracts. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 66, Issue 13, pp. 3324–3329). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01079>
- Arabsorkhi, B., Pourabdollah, E., & Mashadi, M. (2023). Investigating the effect of replacing the antioxidants Ascorbyl palmitate and tocopherol instead of TBHQ on the shelf life of

- sunflower oil using temperature accelerated method. *Food Chemistry Advances*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100246>
- Arquero A, C. L. (2024). *Caracterización fisicoquímica y aceptabilidad sensorial en pan de molde con concentrado proteico de anchoveta, harina de cascara de mango y aceite de girasol* [Universidad Nacional del Santa]. <https://doi.org/https://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14278/4729/Tesis%20Arquero%20Aranda.pdf?sequence=1>
- AtlasBig.com. (2024, March 16). *Producción mundial de aceite de girasol por país*. AtlasBig.Com. <https://www.atlasbig.com/es-es/paises-por-produccion-de-aceite-de-girasol>
- Badui, D. S. (2006). *Química de los alimentos, lípidos* (E. Quintanar Duarte, Ed.; Vol. 4a). Pearson Educación. www.pearsoneducacion.net
- Balagopalakrishna, C., Paka, L., Pillarisetti, S., & Goldberg, I. J. (1999). Lipolysis-induced iron release from diferric transferrin: possible role of lipoprotein lipase in LDL oxidation supplementary key words atherosclerosis, lipoprotein, lipase, tri-glycerides, fatty acids, proteoglycans. *Journal of Lipid Research*, 40, 1347–1356.
- Bañares, C., Chabni, A., Reglero, G., & Torres, C. F. (2022). Oxidative stability of microalgae oil and its acylglycerol mixture obtained by enzymatic glycerolysis and the antioxidant effect of supercritical rosemary extract. *LWT*, 171, 114150. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114150>
- Benguechea, D. (2023). Agroindustria de grasa una cadena sostenible - Cenipalma. In Acta (Ed.), *Lípidos simposio internacional de ingredientes y aditivos*. Uniagraria.
- Castelo, B. V. N., & Torres, A. G. (2009). Potential application of antioxidant capacity assays to assess the quality of edible vegetable oils. *Lipid Technology*, 21(7), 152–155. <https://doi.org/10.1002/lite.200900035>
- Cheng, C., Yuan, C., Cui, B., Li, J., & Liu, G. (2024). β -Cyclodextrin based Pickering emulsions for α -tocopherol delivery: Antioxidation stability and bioaccessibility. *Food Chemistry*, 438, 138000. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138000>
- Custodio, M. J. A., Aja, M. J., Valente, I. M., Rodrigues, J. A., Almeida, P. J., Lorenzo, R. A., & Carro, A. M. (2020). Determination of malondialdehyde, acrolein and four other products of lipid peroxidation in edible oils by gas diffusion microextraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1627, 461397. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461397>
- Darmawan, M. A., Arya Ramadhan, M. Y., Curie, C. A., Muryanto, Sahlan, M., Utami, T. S., Abd-Aziz, S., & Gozan, M. (2023). Shelf life of indigenous tengkawang butter: Storage kinetic and effect of antioxidant to oxidation stability index. *Heliyon*, 9(5), e15643. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15643>
- Desikan, R., Hancock, J., & Neill, S. (2005). *Reactive oxygen species as signalling molecules* (Smirnoff Nicholas). Blackwell .

- Djikeng, F. T., Ewusi, K. E. K., Ngangoum, E. S., Sylvia, V.-T. Z. N., Nyemb, G. M., & Tiencheu, B. (2023). Stabilization of multi-source edible oils from palm olein and sunflower oil using clove (*Syzygium aromaticum*) extract and powder during accelerated storage. *Food and Humanity*, 1, 1584–1591. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.11.008>
- Dossier. (2023). *Fundación Española del Aceite de Palma Sostenible*.
- Erim Köse, Y. (2021). Kinetic modeling of oxidation parameters and activities of lipase-lipoxygenase in wheat germ oil. *Grasas y Aceites*, 72, e423. <https://doi.org/10.3989/gya.0554201>
- Espinoza, E. G. (2024). *Determinación del deterioro del aceite crudo de palma (Elaeis guineensis) en la planta extractora industrias del espino, anexo nuevo Horizonte S. A.* Universidad Continental.
- FAO. (2010). *Fats and fatty acids in human nutrition : report of an expert consultation : 10-14 November 2008, Geneva*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Gonzalez, D. A. (2023). Fitoquímicos de Aceite de Palma. In Acta (Ed.), *Lípidos simposio internacional de ingredientes y aditivos*. Uniagraria.
- Gulcin, İ. (2020a). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gulcin, İ. (2020b). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Guo, Y., Pina, A., Gabbanini, S., & Valgimigli, L. (2024). Absolute kinetics of peroxidation and antioxidant protection of intact triglyceride vegetable oils. *Food Chemistry*, 452, 139289. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139289>
- Gurr M.I, Harwood J.L., & Frayn K.N. (2002). *Lipid Biochemistry: Vol. ISBN 0-632-05409-3* (a B. P. C. E. Blackwell Science Ltd, Ed.; 5th Edition).
- Jaldani, S., Sarfaraz Khabbaz, E., Jooyandeh, M., & Farhoosh, R. (2024a). Kinetics of simultaneous change in the concentration of total lipid hydroperoxides and total conjugated dienes during peroxidation of canola, sunflower, and olive oils. *Food Chemistry*, 435, 137605. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137605>
- Jaldani, S., Sarfaraz Khabbaz, E., Jooyandeh, M., & Farhoosh, R. (2024b). Kinetics of simultaneous change in the concentration of total lipid hydroperoxides and total conjugated dienes during peroxidation of canola, sunflower, and olive oils. *Food Chemistry*, 435, 137605. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137605>
- Kulås Elin, Olsen, E., & G. Ackman, R. (2003). *Oxidation of fish lipids and its inhibition with tocopherols: Vol. Capitulo 2* (E. Afaf Kamal, Ed.). AOCS Press.
- Kusio, J., & Litwinienko, G. (2022). Lipid Oxidation in Food and Biological Systems. In C. Bravo-Diaz (Ed.), *Lipid Oxidation in Food and Biological Systems: A Physical Chemistry Perspective*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-87222-9>

- L. Dupont, J. (2005). *Basic Lipidology* (R.-S. B. J. Moffatt, Ed.; Taylor & Francis). CRC Press.
- Lin, Y., Qiao, J., Sun, Y., & Dong, H. (2025). The profound review of Fenton process: What's the next step? In *Journal of Environmental Sciences (China)* (Vol. 147, pp. 114–130). Chinese Academy of Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2023.10.005>
- Lužaić, T. Z., Grahovac, N. L., HLADNI, N. T., & ROMANIĆ, R. S. (2022). Evaluation of oxidative stability of new cold-pressed sunflower oils during accelerated thermal stability tests. *Food Science and Technology*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.67320>
- Maldonado, A., Riquelme, N., Muñoz-Fariña, O., García, O., & Arancibia, C. (2023). Stability and bioaccessibility of α -tocopherol-enriched nanoemulsions containing different edible oils as carriers. *LWT*, 174, 114419. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114419>
- Marcos Hermoso, S., García Estévez, I., & Alcalde Eon, C. (2023). Aceite de palma y palmiste. Estudio de su utilización en la elaboración de galletas a través del etiquetado. *FarmaJournal*, 8(2), 27–35. <https://doi.org/10.14201/fj2023822735>
- Marzocchi, S., Caboni, M. F., Miani, M. G., & Pasini, F. (2022). Wheat germ and lipid oxidation: an open issue. *Foods*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/foods11071032>
- Méndez, D. D. (2019). *Análisis del control de calidad de materias primas, en la industria de galletas GISA*.
- Miyamoto, S., & Di, M. P. (2014). *Lipid hydroperoxides as a source of singlet molecular oxygen* (Y. Kato, Ed.). Springer.
- Miyazawa, T. (2021). Lipid hydroperoxides in nutrition, health, and diseases. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 97(4), 161–196. <https://doi.org/10.2183/pjab.97.010>
- Molina, Q. G. N., & Zamora, M. E. A. (2021). *Correlación entre los períodos de inducción oxidativa y métodos sensoriales para determinar el umbral de aceptación en aceites vegetales comestibles* [Informe de Investigación]. Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.
- Mora Ruiz, F. E., Suárez Córdova, A. M., Silva Ordóñez, M. del P., & Álvarez Núñez, M. F. (2023). Estudio de la estabilidad del aceite de ajonjolí (*Sesamum Indicum* L.) empleando antioxidantes. *Revista de Investigación Talentos*, 10(2), 1390–8197. <https://doi.org/10.33789/talentos.10.2.188>
- Murphy, D. (2007). Fats, genes and food using lipids as a tool for science education and public outreach. In *Teaching Innovations in Lipid Science* (pp. 11–26). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420012804.ch2>
- Nedyalka V., Y., & M. Marinova, E. (2003). *Kinetic evaluation of the antioxidant activity in lipid oxidation: Vol. Chapter 4* (K. E. Afaf, Ed.; AOCS Press).
- Nooshkam, M., & Varidi, M. (2024). Antioxidant and antibrowning properties of Maillard reaction products in food and biological systems, Vitamins and Hormones. *Academic Press, ISSN 0083-6729*.

- Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The maillard reaction products as food born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, 275, 644–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083>
- Norma de Calidad Para Los Aceites y Grasas Calentados, Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno (1989).
- Olbińska, E., Trela-Makowej, A., Larysz, W., Orzechowska, A., & Szymańska, R. (2023). The effect of α -tocopherol incorporated into different carriers on the oxidative stability of oil in water (O/W) emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 230, 113536. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2023.113536>
- Osorio, C. (2013). *Simulación de la cinetica de oxidación de manteca manpan por pruebas aceleradas*. Universidad Nacional Agraria de la Serva.
- Palacios, D. (2015). *Estudio y caracterización de lipasas comerciales con potencial biotecnológico para la modificación de aceites* [Tesis Doctoral]. Universidad de Burgos.
- Ramírez, B. M. C., Gómez, R. D. B., Suaterna, H. A. C., Martínez, G. P. J., Cardona, Z. M. L., & Rojano, B. A. (2012). Contenido de compuestos polares totales en aceites de cocina previo uso más vendidos en Medellín (Colombia). *Perspectivas En Nutrición Humana*, 14(ISSN 0124-4108), 59–69.
- Resolución 2154, Ministra de Salud y Protección Social (2012).
- Ríos, M. S. C., Asesora, A., Aguirre Vargas, D., & Berta, E. (2024). *Estabilidad oxidativa y calidad sensorial del aceite de Plukenetia Volubilis L por acción de cinco aceites esenciales provenientes de especies aromáticas de Jaén Perú*. Universidad Nacional del Santa.
- Rojano, B. A. (1997). *Oxidación de lípidos y antioxidantes*. Universidad Nacional de Colombia.
- Satish Kumar Sharma, Riya Barthwal, Deepa Saini, & Neha Rawat. (2022). Chemistry of Food Fats, Oils, and Other Lipids. In *Advances in Food Chemistry: Food Components, Processing and Preservation* (pp. 209–246). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-981-19-4796-4>
- Semenov, V., Volkov, S., Khaydukova, M., Fedorov, A., Lisitsyna, I., Kirsanov, D., & Legin, A. (2019). Determination of three quality parameters in vegetable oils using potentiometric e-tongue. *Journal of Food Composition and Analysis*, 75, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.09.015>
- Serra, B. J. J., Melero, L. J., Martínez, L. G., & Fagoaga, C. (2020). Especies vegetales como antioxidantes de alimentos. *Nereis. Interdisciplinary Ibero-American Journal of Methods, Modelling and Simulation.*, 12, 71–90. https://doi.org/10.46583/nereis_2020.12.577
- Siddique, B. M., Muhamad, I. I., Ahmad, A., Ayob, A., Ibrahim, M. H., & Ak, M. O. (2015). Efecto de la fritura sobre las propiedades reológicas y químicas del aceite de palma y sus mezclas. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (3)(PMC4348297), 1444–1452. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1124>
- Standard for Named Vegetable Oils, International Food standards (1999).

- Stefani Juncos, N., Florencia Cravero, C., Rubén Grosso, N., & Horacio Olmedo, R. (2024). Integral oxidation Value used as a new oxidation indicator for evaluation of advanced stages of oxidative processes: Intox value. *Microchemical Journal*, *204*, 111186. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111186>
- Suhag, R., Ferrentino, G., Morozova, K., Zatelli, D., Scampicchio, M., & Amorati, R. (2024). Antioxidant efficiency and oxidizability of mayonnaise by oximetry and isothermal calorimetry. *Food Chemistry*, *433*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137274>
- Suhag, R., Razem, M., Ferrentino, G., Morozova, K., Zatelli, D., & Scampicchio, M. (2024). Real-time monitoring of vegetable oils photo-oxidation kinetics using differential photocalorimetry. *Food Chemistry*, *456*, 140011. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140011>
- Sunarić, S., Lalić, J., & Spasić, A. (2017). Simultaneous determination of alpha tocopherol and alpha tocopheryl acetate in dairy products, plant milks and health supplements by using SPE and HPLC method. *Food Analytical Methods*, *10*(12), 3886–3901. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0943-x>
- T. Verleyen, R. Verhe, & A. Kamal, E. (2003). *Competitive oxidation between α -tocopherol and unsaturated fatty acids under thermoxidation conditions* (E. A. Kamal, Ed.; Vol. Capitulo3). AOCS Press.
- Talbot, G. (2016). The Stability and Shelf Life of Fats and Oils. In *The Stability and Shelf Life of Food* (pp. 461–503). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100435-7.00016-2>
- Tavadyan, L., Martoyan, S., Kocharyan, G., & Kamal-Eldin, A. (2023). Kinetic modeling of the reversal of antioxidant potency of α -, β -, γ - and δ -tocopherols in methyl linoleate peroxidation. *Food Chemistry*, *406*, 134866. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134866>
- Ten Klooster, S., Boerkamp, V., Lazaridi, E., Yang, S., Takeuchi, M., Berton-Carabin, C., Schroën, K., Janssen, H.-G., Friedrich, H., Hohlbein, J., van Duynhoven, J., & Hennebelle, M. (2022). Lipid Oxidation in food emulsions: Analytical challenges and recent developments. In C. Bravo-Diaz (Ed.), *Lipid Oxidation in Food and Biological Systems: A Physical Chemistry Perspective* (pp. 3–29). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-87222-9_1
- Thomas A, M. (2008). *Oils and Fats Simple Demonstrations of Properties and Uses* (N. Smirnoff, Ed.; Blackwell).
- Vali Zade, S., Forooghi, E., Ranjbar, M., Jannat, B., Rastegar, H., & Abdollahi, H. (2024). Unveiling the oxidative degradation profiles of vegetable oils under thermal stress via Raman spectroscopy and machine learning methods. *Microchemical Journal*, *204*, 111028. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111028>
- Vargas Fraile, H., Bascuas Véntola, S., Hernando, I. H., & Chuliá, A. Q. (2019). *Desarrollo de Oleogel Comestibles con HPMC elaborados con distintos aceites, estructura y estabilidad*. Universidad Politécnica de Valencia.

- Velasco Romeo, S. (2023). *Comportamiento agronómico de poblaciones experimentales de girasol (Helianthus annuus L.) alto oleico en la región Sureste de Coahuila*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Yang, H. Y., Dong, S. S., Zhang, C. H., Wu, W. L., Lyu, L. F., & Li, W. L. (2020). Investigation of tocopherol biosynthesis in blackberry seeds (*Rubus* spp.). *Russian Journal of Plant Physiology*, 67(1), 76–84. <https://doi.org/10.1134/S1021443720010252>
- Yoshida, Y., Saito, Y., Jones, L. S., & Shigeri, Y. (2007). Chemical reactivities and physical effects in comparison between tocopherols and tocotrienols: physiological significance and prospects as antioxidants. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 104(6), 439–445. <https://doi.org/10.1263/jbb.104.439>
- Zang, J., Qing, M., Chi, Y., & Chi, Y. (2024). Extending the shelf-life of whole egg powder with different packaging: Based on the multivariate accelerated shelf-life test model. *Food Chemistry*, 460, 140602. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140602>
- Zapata, C., & Zapata, P. (2022). Método ORAC y su aplicación en la determinación de la capacidad antioxidante de bebidas fermentadas. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 121(1669–9513).
- Zhang, M., Fan, L., Liu, Y., & Li, J. (2023). Food grade interface design based on antioxidants to enhance the performance, functionality and application of oil in water emulsions: Monomeric, binary and ternary systems. *Food Hydrocolloids*, 137, 108423. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108423>
- Zhao, X., Xiang, X., Huang, J., Ma, Y., Sun, J., & Zhu, D. (2021). Studying the Evaluation Model of the Nutritional Quality of Edible Vegetable Oil Based on Dietary Nutrient Reference Intake. *ACS Omega*, 6(10), 6691–6698. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05544>