



Influencia de los parámetros Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa del aceite de *Sesamum indicum* L.

Influence of the Rancimat parameters on the determination of oxidative stability index of *Sesamum Indicum* L. Oil

Eudes Villanueva López, Darwin Castillo Benites, Gilbert Rodríguez Páucar*

Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa, Av. Universitaria S/N – Garatea – Nuevo Chimbote, Ancash, Perú.

Recibido 4 junio 2013; Aceptado 16 agosto 2013.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue determinar el índice de estabilidad oxidativa (OSI) en aceite virgen de semillas de *Sesamum Indicum* L. (Sésamo), previamente extraído por presión en frío, clarificado por centrifugación y almacenado bajo atmósfera de nitrógeno y en refrigeración. El OSI se determinó mediante la prueba acelerada de Rancimat, para ello se utilizaron $3,0 \pm 0,1$ g de muestra, parámetros de temperatura (110, 130 y 150°C) y flujo de aire (15, 20 y 25 L/h). Al aplicar el test de Rancimat, se pudo comprobar mediante el ANOVA ($p < 0,05$) que la influencia de la temperatura en el OSI fue altamente significativa, mientras que el flujo de aire solo fue significativo. Mediante el método de extrapolación, se calcularon los valores de OSI a temperaturas usuales de almacenamiento de aceites (25°C) obteniéndose tiempos de estabilidad de 214, 242 y 222 días; además la energía de activación de la reacción de oxidación del aceite de sésamo a distintos flujos de aire, es de 97,28, 98,79 y 96,86 kJ/mol para 15, 20 y 25 L/h respectivamente.

Palabras clave: aceite de *Sesamum indicum* L., índice de estabilidad oxidativa, test Rancimat, rancidez oxidativa.

Abstract

The objective of this research was to determine the oxidative stability index (OSI) in virgin oil seed *Sesamum indicum* L. (Sesame) previously extracted by cold pressing, clarified by centrifugation and stored under nitrogen atmosphere and cooling on. The OSI was determined by accelerated Rancimat test, it was used for 3.0 ± 0.1 g of sample temperature parameters (110, 130 and 150 °C) and air flow (15, 20 and 25 L/h). Applying the Rancimat test, it was found by ANOVA ($p < 0.05$) that the influence of temperature on the OSI was highly significant, whereas the only air flow was significant. By extrapolation method, values were calculated at usual temperatures OSI oil storage (25 °C) to give stability times 214, 242 and 222 days, also the activation energy of the oxidation reaction of sesame oil for different air flows, is 97.28, 98.79 and 96.86 kJ / mol for 15, 20 and 25 L/h respectively.

Keywords: Oil of *Sesamum indicum* L., oxidative stability index, test Rancimat, oxidative rancidity.

1. Introducción

Las semillas de *Sesamum indicum* L. poseen un contenido promedio de 50% de aceite y 25% de proteína; el aceite contiene aproximadamente 47% ácido oleico y 39% ácido linoleico. El aceite de sésamo es utilizado en la cocina, manufactura de confites y otras industrias alimentarias. Este aceite tiene una vida de anaquel bastante larga porque contiene un

antioxidante llamado sésamo (Suja *et al.*, 2005).

Los aceites vegetales provenientes de semillas son muy susceptibles al deterioro por oxidación debido a que la mayoría de ellos están compuestos por ácidos grasos insaturados (Frankel, 1998).

La reacción de oxidación es una reacción en cadena, es decir, que una vez iniciada, continua acelerándose hasta la oxidación

* Autor para correspondencia

E-mail: giropape@yahoo.com (G. Páucar)

total de las sustancias sensibles, apareciendo olores y sabores a rancio, se altera el color y la textura, y desciende el valor nutritivo al perderse algunas vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados. Además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud (Navas, 2010).

La rancidez oxidativa, también llamada autoxidación, se trata de la reacción de oxígeno atmosférico con dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados. Esta reacción genera los productos primarios de la oxidación (peróxidos e hidroperóxidos), los cuales por una serie de reacciones paralelas producen los compuestos secundarios de la reacción, sean estos volátiles, como aldehídos, cetonas y ácidos o no volátiles como dímeros, trímeros y polímeros, característicos de productos rancificados (Barrera, 1998).

La estabilidad oxidativa se define como la resistencia de una matriz lipídica a la oxidación por efecto de la temperatura, luz, oxígeno, presencia de metales etc., lo que genera el deterioro de un aceite o grasa en un periodo de tiempo razonablemente corto (Frankel, 1998).

El método rancimat, incluido en los estándares nacionales e internacionales (OSI, AOCS Cd 12b-92), es la prueba automatizada del AOM, que mide el grado en el que un aceite se oxida cuando se hace burbujear aire a través de él. El producto de desdoblamiento, que es el ácido fórmico, es conducido hacia el agua destilada que se encuentra en una celda. El instrumento monitorea en forma continua la conductividad eléctrica del agua. En el momento en que la conductividad aumenta agudamente indica en forma inmediata el momento final de la prueba. En este método la estabilidad oxidativa se define como el tiempo (en horas) necesario para que la reacción de oxidación alcance el punto de inflexión en la representación gráfica de la conductividad vs Tiempo (Navas, 2010).

2. Material y Métodos

2.1. Muestra

El aceite de sésamo previamente extraído en frío (Prensa SEW-EURODRIVE modelo FA57/G) (Figura 1) y centrifugado a 3900 rpm por 10 minutos (Centrifuga SIGMA modelo 2-16) del Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial de la Universidad Nacional del Santa, con las siguientes propiedades declaradas: densidad 0,88 g/cm³, índice de refracción 1,47 e índice de peróxidos 0.8 meqO₂/kg. El aceite se mantuvo en un frasco oscuro, cubierta con papel de aluminio a 4 °C bajo atmósfera de nitrógeno, no se añadieron antioxidantes.

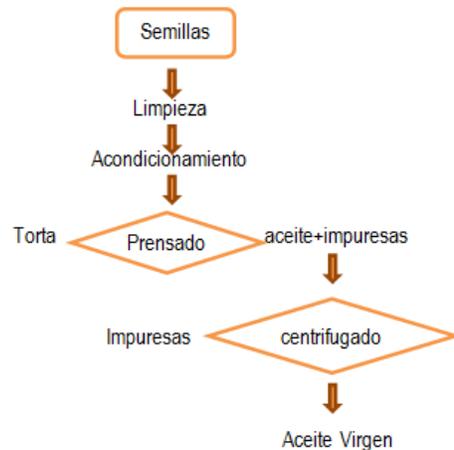


Figura 1. Esquema del proceso para la extracción de aceite por prensado en frío.

2.2. Equipo

El Metrohm Rancimat, modelo 743, fue utilizado para determinar el Índice de la Estabilidad Oxidativa del aceite de sésamo variando los siguientes parámetros: temperatura y flujo de aire, manteniendo constante el peso de muestra (3,0 ± 0,1 g). Previamente se hizo un riguroso lavado a los tubos en una solución de NaOH (3 %), luego fueron lavados con agua destilada y acetona, finalmente se colocaron en la estufa a 80°C para su secado. Los electrodos son lavados rigurosamente con agua destilada, luego con alcohol 98° y rociados con nitrógeno.

2.3. Determinación del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI)

Una corriente de aire filtrado, limpio y seco se burbujeó en la muestra de aceite contenida en un tubo de reacción. Este tubo se colocó en un canal del bloque de calentamiento eléctrico, que se fijó a la temperatura deseada para cada prueba experimental. El aire efluente que contiene los ácidos orgánicos volátiles de la muestra de aceite se recoge en un recipiente de medición (vaso de policarbonato) con 60 ml de agua destilada. La conductividad del agua se registró continuamente y el OSI se determinó automáticamente por el aparato. Ocho muestras de aceite se analizaron en el equipo al mismo tiempo.

2.4. Relación empírica entre OSI y la temperatura

Se estableció una relación matemática entre los valores de OSI y la temperatura utilizada en el equipo Rancimat, tal como lo han señalado para aceites vegetales, Nakatani *et al.* (2001) y Méndez *et al.* (1996).

En la ecuación (1), el término A representa el coeficiente de temperatura, que indica que tan susceptible es el aceite virgen al aumento de la temperatura durante el ensayo de oxidación acelerada, dicho valor es calculado a partir de la pendiente de las rectas que se obtienen al representar el logaritmo decimal de OSI en función a la temperatura. El término B corresponde a un valor empírico sin significación física.

$$\text{Log(OSI)} = AT + B \quad (1)$$

La ecuación (1) puede utilizarse para calcular los valores de OSI a temperaturas distintas a aquellas utilizadas en la oxidación acelerada, para lo cual se aplican procedimientos matemáticos de interpolación o extrapolación; en este último caso se extrapolaría a las temperaturas usuales de almacenamiento de los aceites.

No obstante, con el propósito de evaluar la capacidad predictiva de la ecuación empírica, se calcularon los valores de OSI para una temperatura de 25°C.

También se aplicó el cálculo del error asociado al valor extrapolado aplicando el método de propagación de errores. En primer lugar se hizo la transformación de la ecuación (1) para obtener la ecuación (2):

$$\text{OSI} = 10^{AT+B} \quad (2)$$

Para obtener el error de la extrapolación se usó la ecuación diferencial (3) en la cual el diferencial total viene dado por la suma de las derivadas parciales de cada uno de los términos:

$$\delta \text{OSI} = \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial T} \right)_{A,B} \delta T + \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial A} \right)_{T,B} \delta A + \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial B} \right)_{T,A} \delta B \quad (3)$$

En la ecuación (3), δ OSI representa el error de la extrapolación, δA y δB son los errores estándar (SE) de los coeficientes A y B, los cuales se obtienen por el cálculo de los mínimos cuadrados. Obteniéndose por derivadas parciales la ecuación (4):

$$\delta \text{OSI} = \ln 10 \cdot (10^{AT+B}) \cdot (A\delta T + T\delta A + \delta B) \quad (4)$$

2.5. Relación del OSI y energía de activación de oxidación

Se determinó a partir de la pendiente de la recta que resulta de representar el logaritmo natural de los valores de OSI contra el inverso de la temperatura absoluta. En este caso, R representa la constante universal de los gases y Z es el factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius.

La dependencia de los valores de OSI con respecto a la temperatura termodinámica fue utilizada para la determinación de la energía de activación de las reacciones de oxidación en los aceites vegetales vírgenes estudiados. Según las consideraciones de Blaine y Savage (1992) y García-Ochoa *et al.* (1989), la adición de los radicales de oxígeno a los ácidos grasos se produce preferentemente en los dobles enlaces entre los átomos de carbono, siguiendo cinéticas de primer orden. Según estos autores se puede hacer uso de la ecuación:

$$\alpha = \frac{x}{a_0 - x} \quad (5)$$

Donde α representa el grado de transformación de las moléculas, a_0 presencia de instauraciones iniciales y x la

formación de los productos secundarios de la oxidación.

Integrando la ecuación (5)

$$\int_{\alpha=\alpha_0}^{\alpha=\alpha^*} \frac{d\alpha}{1-\alpha} = \int_{t=t_0}^{t=t^*} dt \quad (6)$$

Donde α^* representa el grado de transformación para un tiempo t^* o periodo de inducción, Resolviendo la integral (6) se obtiene la ecuación (7):

$$-\ln(1-\alpha^*) = Kt \quad (7)$$

Definiendo t^* como OSI y despejando se obtiene la ecuación (8):

$$OSI = \frac{-\ln(1-\alpha^*)}{K} \quad (8)$$

Se establece la relación entre la constante de velocidad y la temperatura termodinámica (T) Haciendo uso de la ecuación de Arrhenius (9).

$$k = Ze^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (9)$$

Sustituyendo (8) en (9) y aplicando logaritmo se obtiene la ecuación (10):

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (10)$$

2.6. Diseño Experimental

Dos factores experimentales fueron considerados para este estudio: flujo de aire (F) y temperatura (T). Los que variaron de acuerdo con un diseño factorial de dos factores. Para lo cual, cada factor de entrada se fijó en tres niveles, de la siguiente manera: flujo de aire (15, 20 y 25 L/h) y temperatura (110, 130 y 150 °C). El índice de estabilidad oxidativa se evaluó para un total de 36 determinaciones.

2.7. Análisis Estadístico

Se utilizó el software Statgraphics Centurion para el análisis estadístico y los modelos de regresión. En primer lugar, el OSI se relaciona con las variables de entrada (flujo de aire y la temperatura) de acuerdo con la ecuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

En donde μ es el efecto medio general, τ_i es el efecto del i -ésimo nivel del factor flujo de aire, β_j es el efecto del j -ésimo nivel del factor temperatura, $(\tau\beta)_{ij}$ es el efecto de la interacción entre τ_i y β_j , y ϵ_{ijk} es el componente del error aleatorio.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), con un valor de significancia de $\alpha = 5\%$.

3. Resultados y discusión

En las figuras 2, 3 y 4 se muestran las curvas Rancimat, conductividad ($\mu S/cm$) vs tiempo (h), que evidencian el efecto de las condiciones experimentales de temperatura y flujo de aire sobre los valores de OSI para el aceite virgen de la semilla de sésamo. Este comportamiento podría atribuirse a la aceleración producida en la descomposición de hidroperóxidos de lípidos (Frankel, 2005).

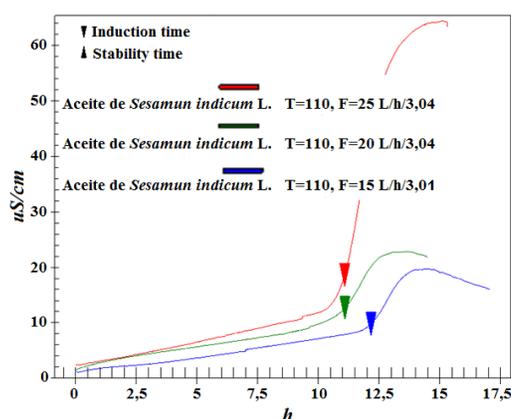


Figura 2. Variación de la conductividad eléctrica a diferentes flujos y a la temperatura de 110°C.

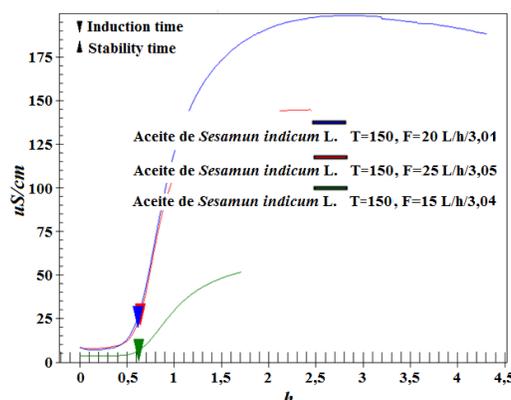


Figura 3. Variación de la conductividad eléctrica a diferentes flujos y a la temperatura de 130°C.

La temperatura ejerció el efecto más importante sobre los valores de OSI en el

aceite evaluado, lo cual era de esperarse ya que es conocido que la velocidad de las reacciones químicas tiende a duplicarse por cada 10 °C de aumento de la temperatura a la cual ellas ocurren (Navas, 2010). Por lo tanto, los valores más altos de OSI se obtuvieron a 110°C (Figura 2) y los más bajos se obtuvieron a medida que la temperatura aumenta 130 y 150°C (Figuras 3 y 4).

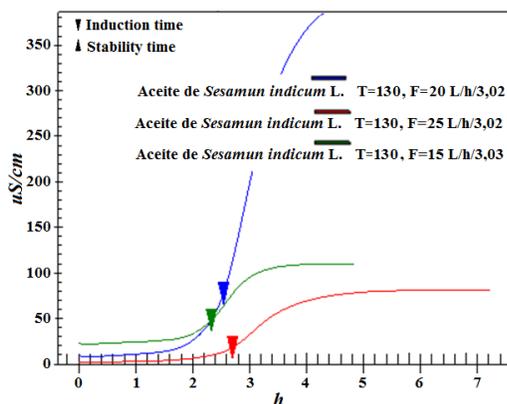


Figura 4. Variación de la conductividad eléctrica a diferentes flujos y a la temperatura de 150°C.

Los resultados de la Tabla 1 muestran que todos los tratamientos tienden a un ligero aumento de los valores de OSI como respuesta al incremento en el flujo de aire, esta tendencia ha sido señalada por Farhoosh (2007a) y Jebe *et al.* (1993).

Tabla 1

Índice de estabilidad oxidativa (OSI) de aceite de *Sesamum indicum* L.

Flujo (L/h)	Temperatura (°C)		
	110	130	150
15	11,37±0,239	2,42±0,148	0,63±0,017
20	11,53±0,538	2,49±0,108	0,61±0,040
25	12,12±0,239	2,61±0,141	0,68±0,046

SD: Desviación estándar; OSI (horas).

En un estudio similar Farhoosh (2007b), lo explica basado en que a elevados flujos de aire se hace más difícil alcanzar una condición de saturación del oxígeno en la masa de aceite, por lo cual muchas moléculas de O₂ no tienen el tiempo

suficiente para disolverse en la matriz oleosa, reduciéndose por lo tanto la concentración efectiva de oxígeno que puede adicionarse a los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados, como resultado se extiende el tiempo de inducción.

En el análisis de varianza (Tabla 2) se comprueba que la temperatura es altamente significativa con respecto al flujo. Se puede observar (tabla 1) que los valores de OSI disminuyeron significativamente con el aumento de la temperatura.

Tabla 2

Análisis de varianza (ANOVA)

Fuente	SC	GL	CM	F	p
Flujo	0,7010	2	0,355	5,54	0,087
Temperatura	836,82	2	418,4	6535,46	0
Residuos	1,9847	31	0,064		
Total (corregido)	839,51	35			

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de OSI en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los *valores-p* prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un *valor-p* es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre OSI con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 3

Valores de extrapolación de OSI a 25°C

Flujo (l/h)	A±SE (°C ⁻¹)	B±SE	R ²
15	-0,031±0,001	4,496±0,165	0,998
20	-0,032±0,001	4,563±0,104	0,999
25	-0,031±0,001	4,510±0,156	0,998

SE: Error estándar.

El OSI es correlacionado por el método de regresión lineal para cada tasa de flujo (Figura5) tomando como base los

resultados de la Tabla 1, donde los valores de A (Tabla 4) oscilan entre -0,0313 y -0,0319. Resultados similares han sido reportados por Farhoosh (2007b) y Hassenhuettl y Wan (1992), para otros aceites vegetales comestibles, incluido el aceite refinado de soja.

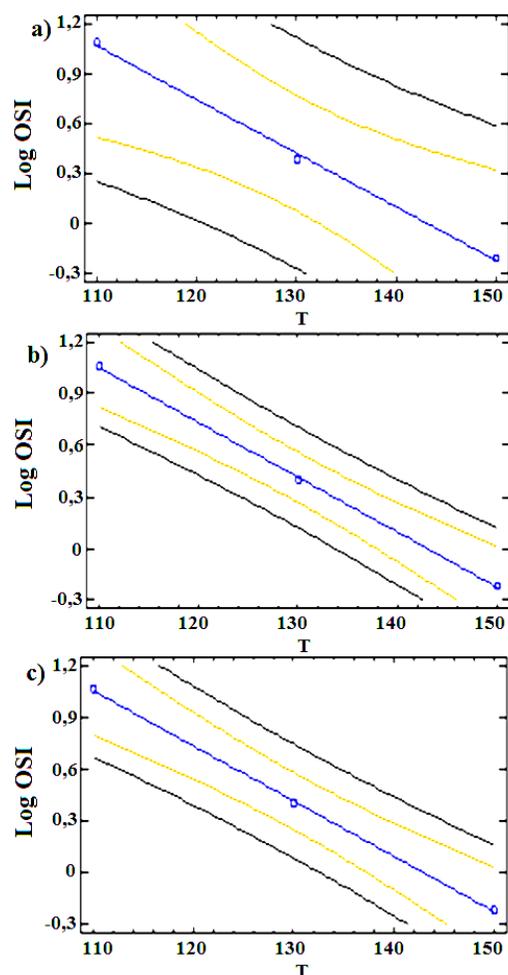


Figura 5. Gráficos de regresión lineal logaritmo OSI y Temperatura: a) 15 L/h, b) 20 L/h y c) 25 L/h.

Otra opción con el uso del rancimat es la extrapolación de la temperatura. La extrapolación ayuda a determinar la vida media de las grasas y aceites, y se basa en la relación entre el tiempo de estabilidad oxidativa y la temperatura de acuerdo a la ley de van't Hoff. Se realizan varias mediciones a diferentes temperaturas para lograr extrapolar la temperatura de almacenamiento. El valor obtenido permite

una estimación del tiempo que se puede almacenar un producto.

Tabla 4

Valores de regresión lineal A y B, sometidos al test Rancimat

Flujo (L/h)	OSI \pm δ OSI (días)
15	214 \pm 97
20	242 \pm 68
25	222 \pm 94

La Tabla 4 señala una fuerte influencia de los flujos sobre la extrapolación del OSI de aceite de sesamo a 25°C. Los OSI obtenidos para cada flujo de aire fueron de 214, 242 y 222 días respectivamente. Por otro lado el método de propagación de errores genera como resultados 97, 68 y 94 días. Estas desviaciones son elevadas ya que el método de extrapolación parte del supuesto de que se mantiene la dependencia lineal de OSI con la temperatura, lo cual no es necesariamente cierto cuando se trabaja con valores muy alejados del límite inferior o superior del intervalo de valores experimentales (Navas, 2010).

A partir de la pendiente de las rectas se determinaron los valores de las energías de activación (Tabla 5), obteniéndose como resultados 97,28, 98,79 y 96,86 kJ/mol. Navas (2010) afirma que el efecto de la temperatura en los valores de OSI obtenidos por el método de Rancimat puede ser estudiado aplicando tanto la ecuación empírica como el modelo cinético. Con este último pueden obtenerse la energía de activación de la reacción a fin de poder comprender un poco mejor el proceso de oxidación de los aceites vírgenes de semillas.

En el aceite de sésamo se observan diferencias de energía de activación debido al flujo empleado, sin embargo, estas diferencias pueden deberse a factores de tipo molecular, como por ejemplo la relación de ácidos grasos monoinsaturados / poliinsaturados, y no a consideraciones de tipo termodinámico.

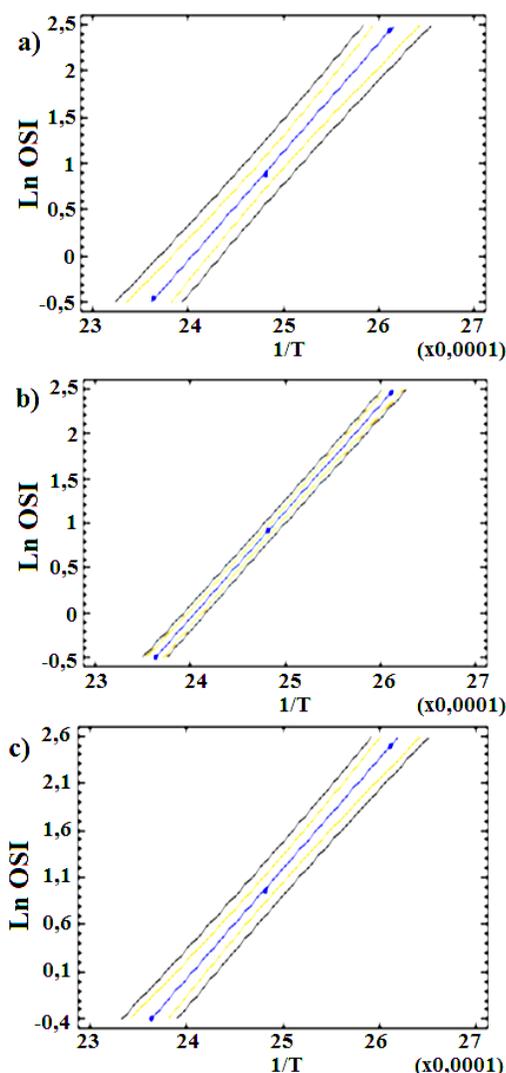


Figura 5. Gráficos de regresión lineal para el logaritmo del índice de estabilidad oxidativa: a) 15 L/h, b) 20 L/h y c) 25 L/h.

Tabla 5

Determinación de la energía de activación (E_a)

Flujo (L/h)	Pendiente	R^2	E_a (kJ/mol)
15	11721,2	0,9998	97,28
20	11903,3	0,9999	98,79
25	11669,9	0,9999	96,86

4. Conclusiones

Después de evaluar el efecto de los parámetros Rancimat en la determinación del índice de estabilidad oxidativa del aceite *Sesamum indicum* L., se encontró que tanto la temperatura y la tasa de flujo

de aire fueron estadísticamente significativos sobre la estabilidad oxidativa del aceite de sésamo.

El ANOVA ($p < 0,05$) determinó que la temperatura fue altamente significativa en comparación al flujo de aire utilizado.

El método de extrapolación permitió obtener valores del OSI que esta fuera del intervalo de los valores experimentales de la temperatura, por lo cual el error asociado (δOSI) al resultado final tiende a ser muy elevado.

Al utilizar el modelo matemático propuestos por Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa *et al.* (1989) se ha determinado la energía de activación de la reacción de oxidación del aceite de sésamo a distintos flujos de aire, siendo 97,28, 98,79 y 96,86 kJ/mol para 15, 20 y 25 L/h respectivamente.

En base a estos resultados, se puede afirmar que el efecto de la temperatura en los valores de OSI obtenidos por el método de Rancimat puede ser estudiado aplicando tanto la ecuación empírica como el modelo cinético, Con este último pueden obtenerse la energía de activación de la reacción a fin de poder comprender mejor el proceso de oxidación de los aceites vírgenes de materias primas vegetales.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Bachiller Lenin Palacios Ambrosio y a Luis Enrique Zapata Cárdenas, técnicos del área de Operaciones Unitarias del Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial de la EAP Ing. Agroindustrial – UNS.

Referencias Bibliográficas

- Barrera, D. 1998. Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas. *Grasas y Aceites* 49(1): 55-63.
- Blaine, S.; Savage, P.E. 1992. Reaction Pathways in Lubricant Degradation, 3, Reaction Model for n - Hexadecane autoxidation. *Engineering Chemical Research* 31: 69-75.
- Farhoosh, R. 2007a. Shelf-life prediction of edible fats and oils using Rancimat. *Lipid Technology* 19 (10): 232-234.
- Farhoosh, R. 2007b. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of

- soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* 84: 205-209.
- Frankel, E.N. 1998. *Lipid oxidation*. The Oily Press, Dundee, UK.
- Garcia-Ochoa, F.; Romer, A.; Querol, A. 1989. Modeling of the Thermal n-Octane Oxidation in the Liquid Phase. *Industrial and Engineering Chemical Research* 28: 43-48.
- Hasenhuettl, G.L.; Wand, P.A. 1992. Temperature effects on the determination of oxidative stability with the Metrhom Rancimat. *Journal of the American Oil Chemists Society* 69: 525-527.
- Jebe, T.A.; Matlock, M.G.; Sleeter, R.T. 1993. Collaborative study of the oil stability index analysis. *Journal of the American Oil Chemists Society* 70: 1055-1061.
- Mendez, E.; Sanhueza, J.; Speisky, H.; Valenzuela, A. 1996. *Journal of the American Oil Chemists Society* 73:1033-1037.
- Nakatani, N.; Tachibana, Y.; Kikuzaki, H. 2001. Establishment of a model substrate oil for antioxidant activity assessment by oil stability index method. *Journal of the American Oil Chemists Society* 78: 19-23.
- Navas, P. 2010. Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla La Mancha, Facultad de Ciencias Químicas. España. 302 p.
- Suja, K.P.; Jayalekshmy, A.; Arumughan, C. 2005. Antioxidant activity of sesame seed extract. *Food Chemistry* 91: 213-219.