

20



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE DIFERENTES ANTIOXIDANTES MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DEL GRADO DE OXIDACIÓN EN ACEITE DE SOYA.

TÉSIS EXPERIMENTAL QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICA EN ALIMENTOS PRESENTA: CATALINA PERDOMO REYES

DIRECTOR: Dr. PEDRO VALLE VEGA



MÉXICO, D.F.



ESCOMENES PROFESIONALES FAC. DE QUÍMICA 1998

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

267728



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado Asignado

Presidente	Prof. Pedro Valle Vega.
Vocal	Profra. Aída Francisca Iturbe Chiñas.
Secretario	Prof. Hugo Rubén Carreño Ortíz.
1er. Suplente	Profra. María de Lourdes Gómez Ríos.
2do. Suplente	Profra. Ruth Villaseñor Gutiérrez

Sitio donde se desarrollo el tema:

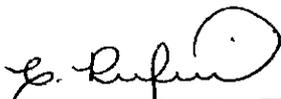
Facultad de Química. UNAM, C.U. Laboratorio 4, Edificio A.

Asesor del Tema



Dr. PEDRO VALLE VEGA

Sustentante



CATALINA PERDOMO REYES

AGRADECIMIENTOS

*A DIOS, POR PERMITIRME FINALIZAR
UNA ETAPA MAS DE MI VIDA.*

*A MIS PADRES PORQUE GRACIAS A SU
APOYO, DEDICACION Y CARIÑO
HE PODIDO CULMINAR MI CARRERA.*

*A RUBEN, POR SU AMOR Y APOYO
EN TODO MOMENTO.*

*AL DR. PEDRO VALLE POR SU
CONSTANTE AYUDA EN LA DIRECCION
DE ESTA TESIS.*

DEDICO ESTE TRABAJO:

***A MIS PADRES Y HERMANOS CON TODO
MI CARÍÑO.***

***A RUBEN, PORQUE ESTE TRABAJO ES
SUYO TAMBIEN.***

***A MIS AMIGOS DE LA UNIVERSIDAD,
ESPECIALMENTE A LULA Y MARIE.***

ÍNDICE

Resumen	i
Introducción	1
Objetivos	3

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

1.1.	Lipólisis	5
1.2.	Autoxidación	6
1.2.1.	Iniciación	9
1.2.2.	Propagación	9
1.2.3.	Terminación	10
1.3.	Antioxidantes	11
1.3.1.	Acción de los antioxidantes	12
1.4.	Antioxidantes primarios	13
1.4.1.	Butilhidroxianisol (BHA)	13
1.4.2.	Butilhidroxitolueno (BHT)	15
1.4.3.	Terbutilhidroquinona (TBHQ)	16
1.4.4.	Galatos de alquilo	18
1.5.	Antioxidantes naturales	22
1.5.1.	Tocoferoles	23
1.5.2.	Beta-caroteno	26
1.5.3.	Antioxidantes del Romero	27
1.5.4.	Capsaicina	30
1.5.5.	Extractos de semillas de toronja	33
1.5.6.	Otros antioxidantes naturales	34
1.6.	Agentes reductores	35
1.6.1.	Ácido ascórbico	36
1.6.2.	Palmitato de ascorbilo	37
1.6.3.	Ácido eritórbico	38
1.6.4.	Sulfitos	38

1.7. Medición de la rancidez	39
1.7.1. Método del oxígeno activo	39
1.7.2. Índice de anisidina	39
1.7.3. Índice de peróxidos	40
1.7.4. Substancias polares	41
1.7.5. Prueba de Kreis	41
1.7.6. Índice de ácido tiobarbitúrico	41
1.7.7. Cromatografía de gases	42

CAPÍTULO II: *DESARROLLO EXPERIMENTAL*

2.1. Preparación de las muestras de aceites	44
2.2. Índice de p-anisidina	45
2.3. Índice de peróxidos	46
2.4. Análisis Estadístico	47
2.5. Constantes de Degradación	47

CAPÍTULO III: *ANÁLISIS DE RESULTADOS*

3.1. Resultados Estadísticos	50
3.2. Valores de "Z" y "E" para los diferentes antioxidantes	51
3.3. Análisis de Resultados	52

CAPÍTULO IV: *CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES*

Conclusiones	65
BIBLIOGRAFIA	66
ANEXOS	72

RESUMEN

En el presente proyecto se estudia la relación entre el grado de oxidación en aceite de soya y la eficiencia de diferentes antioxidantes: Terbutilhidroquinona (TBHQ), extracto de romero, citricidal (extracto de semillas de toronja), capsaicina, extracto de romero-capsaicina, citricidal-capsaicina. Las muestras se sometieron a condiciones controladas de tiempo y temperaturas de 25°C, 37°C y 70°C, y fueron almacenadas en la obscuridad. La adición de antioxidantes fue al 0.02%. Para la determinación del grado de oxidación en el aceite de soya, se aplicaron las pruebas de para-anisidina e índice de peróxidos.

Los resultados para índice de peróxidos indican que el antioxidante más eficiente es el TBHQ (permite una estabilidad 7.04 veces mayor que el control) seguido del citricidal (3.59 veces más estable), capsaicina (3.45 veces más estable) y extracto de romero (3.38 veces más estable). En las mezclas de antioxidantes, no fue evidente acción sinergista entre ellos.

Los resultados para índice de p-anisidina muestran un comportamiento similar, el TBHQ es el antioxidante más estable (haciendo al aceite 4.08 veces más estable que el control) le sigue el citricidal (2.03 veces más estable), la mezcla de citricidal-capsaicina (2 veces más estable) y extracto de romero (1.94 veces más estable).

Las pruebas para la medición de rancidez mostraron que la capsaicina tiene acción antioxidante a un nivel de uso del 0.02%, y que ésta es comparable con la del citricidal y con la del extracto de romero. Los resultados estadísticos

(análisis de varianza), indican que en los antioxidantes naturales no existen diferencias significativas en cuanto a su poder antioxidante.

La temperatura fue la variable de acción en este proyecto para acelerar las reacciones de oxidación en el aceite de soya. Se observó que a temperatura de 70°C los antioxidantes tanto naturales como el sintético (TBHQ), no ofrecen protección.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La oxidación de grasas y aceites comestibles es un proceso inevitable que comienza desde el momento en que el lípido es extraído de la célula animal o vegetal de la cual proviene, y el tiempo de oxidación, varía de acuerdo a la estructura química del lípido, de su contenido natural de antioxidantes y de las condiciones de luz, temperatura y humedad a la que es sometido. Como consecuencia de este proceso oxidativo, se pierden elementos nutricionales importantes como son las vitaminas y provitaminas liposolubles además de los lípidos poliinsaturados; y aparece el atributo sensorial conocido como rancidez, que es descrito como los olores y sabores desagradables ocasionados por la acumulación de los productos de descomposición de los lípidos.¹

La presencia de ácidos grasos libres es una indicación de la actividad de la lipasa. El oxígeno es tomado por la grasa con formación de hidroperóxidos (R-OOH) estos se denominan generalmente peróxidos. En general, mientras mayor sea el grado de insaturación, mayor es la posibilidad de que la grasa presente rancidez oxidativa. Cuando la concentración de peróxidos alcanza cierto nivel, ocurren cambios químicos complejos y se forman productos volátiles los cuales son los principales responsables del sabor y olor rancios.²

Los antioxidantes, son aditivos que están presentes en un producto alimenticio como resultado de su adición premeditada, con el fin de controlar la oxidación de los lípidos y consecuentemente conservar sus propiedades sensoriales y nutricionales durante un periodo de tiempo mayor.³

El presente proyecto se enfoca al deterioro oxidativo que sufre el aceite de soya y comparar la eficiencia de la adición de diferentes antioxidantes.

Para determinar el grado de oxidación del aceite, se emplearon dos métodos:

- a) Índice de peróxidos
- b) Índice de p-anisidina

El primer método se basa en la gran reactividad de los peróxidos; el yoduro de potasio en solución ácida reacciona con el oxígeno combinado, seguida de la titulación del yodo liberado con tiosulfato de sodio.

El segundo método esta basado en que el grado de oxidación se puede determinar por la medición de compuestos carbonílicos.

También se *determinará si la capsaicina* (responsable de la sensación picante de los chiles), tiene actividad antioxidante en un aceite, para lo cual se realizará una comparación *contra un control* (sin antioxidante) sometidos a diferentes condiciones de tiempo y temperatura. También se hará comparación con otros antioxidantes naturales (extracto de *semillas de toronja* y extracto de romero) y con TBHQ (terbutilhidroquinona), de origen sintético.

Dada la tendencia de la gente hacia lo natural, vale destacar las características antioxidantes de los compuestos naturales como una opción a los sintéticos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Comparar la actividad de diferentes antioxidantes en aceite de soya refinado y deodorizado.
- Evaluar la actividad antioxidante mediante la determinación del grado de oxidación en el aceite de soya empleando los métodos del índice de peróxidos y el valor de p-anisidina.
- Determinar si la Capsaicina tiene efectos antioxidantes en aceite de soya.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar la actividad de los diferentes antioxidantes naturales referente a un antioxidante comercial (TBHQ) para evaluar su eficiencia en el aceite de soya.
- Observar si existe sinergismo entre la capsaicina con los antioxidantes naturales.
- Determinar cual es el mejor antioxidante bajo las condiciones de estudio mediante un análisis de varianza y calculando las constantes de degradación para cada antioxidante

CAPÍTULO I
ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

Las grasas y los aceites pueden sufrir diferentes transformaciones que además de reducir el valor nutritivo del alimento producen compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables; esto se debe a que el enlace éster de los acilglicéridos es susceptible a la hidrólisis química y enzimática, y a que los ácidos grasos insaturados son sensibles a reacciones de oxidación. El grado de deterioro oxidativo depende del tipo de grasa o de aceite, en términos generales, los que más fácilmente se afectan son los de origen marino, seguidos por los aceites vegetales y finalmente por las grasas animales.

El término rancidez se usa para describir los diferentes mecanismos a través de los cuales se alteran los lípidos y se han dividido en dos grupos: *lipólisis* o rancidez hidrolítica y *autooxidación* o rancidez oxidativa; la primera se debe básicamente a la acción de las lipasas que liberan ácidos grasos de los triacilglicéridos, mientras que la segunda se refiere a la acción del oxígeno y de las lipoxigenasas sobre las insaturaciones de los ácidos grasos.

Existe una tercera forma de deterioro que se produce por un fenómeno llamado *reversión*, cuyo mecanismo es poco conocido; a pesar de que se presenta en algunos lípidos cuando se almacenan en ciertas condiciones, tiene menos importancia que las dos anteriores. La reversión se relaciona con aquellos aceites que contienen una elevada proporción de ácido linoléico. Sensorialmente, en el aceite de soya se han identificado olores que recuerdan el de la mantequilla y el de algunas semillas, pero posteriormente se transforman en el de pintura y el de pescado.

Se han identificado muchos compuestos en aceites revertidos, entre los que destacan diversos aldehídos y cetonas, como el 2-n-pentilfurano, el diacetilo, la 2,3-pentadiona, el 2,4-pentadienal, el 3-cis-hexanal y el 3-trans-hexenal; algunos de estos son incluso semejantes a los que se encuentran en algunos lípidos autooxidados. Aun cuando no es muy claro el mecanismo, la reversión se considera como una oxidación muy baja que se debe al alto contenido de ácido linolénico.³

1.1. LIPÓLISIS

Mediante esta reacción, catalizada por las enzimas lipolíticas llamadas lipasas, y por efecto de las altas temperaturas, se liberan ácidos grasos de los triacilglicéridos y de los fosfolípidos.

En semillas crudas de las oleaginosas se presenta una fuerte actividad lipásica, cuya función biológica es aprovechar los lípidos que sirven para suministrar nutrimentos y así fortalecer la germinación.

Durante la extracción industrial del aceite de soya, el primer paso es triturar la semilla con lo cual se favorece la acción de estas enzimas; se hidroliza el enlace éster, se producen ácidos grasos libres y se incrementa el índice de acidez; dichos ácidos grasos libres deben eliminarse en la refinación, ya que de otra manera pueden provocar muchos problemas; por ejemplo, en estas condiciones son más sensibles a la autooxidación que en forma esterificada; además, si en los aceites que se emplean para freír hay una concentración de 1.0 % de ácidos grasos libres, esto provoca que la temperatura de formación de humo se reduzca a 65-80°C.

En los aceites vegetales, los ácidos grasos liberados por la lipasa son de más de 14 átomos de carbono, poco volátiles y por lo tanto no se perciben por el olfato; su presencia sólo se puede advertir mediante la determinación del índice de acidez.

La hidrólisis de los acilglicéridos no sólo se efectúa por acción enzimática; también la provocan las altas temperaturas en presencia de agua como ocurre durante el freído de los alimentos; si los acilglicéridos están en estado líquido, tienen una gran movilidad y pueden, consecuentemente, favorecer el contacto con la lipasa y provocar la reacción.

Por otra parte, muchos hongos y levaduras que se encuentran comúnmente como contaminaciones, dado su sistema enzimático, llegan a ocasionar severos problemas de lipólisis.³

1.2. AUTOXIDACIÓN

Esta transformación es una de las más comunes de los alimentos que contienen grasas y otras sustancias insaturadas; consiste principalmente en la oxidación de los ácidos grasos con dobles ligaduras, pero se llega a efectuar con otras sustancias de interés biológico, como la vitamina A.

Recibe el nombre de autoxidación, ya que es un mecanismo que genera compuestos que a su vez mantienen y aceleran la reacción. Entre los productos generados se encuentran algunos de peso molecular bajo que le confieren el olor característico a las grasas oxidadas.

La autoxidación se favorece a medida que se incrementa la concentración de ácidos grasos insaturados (o el índice de yodo); esto se ha comprobado en sistemas modelo de ésteres metílicos de los ácidos esteárico, oleico, linoleico, linolénico, que absorben oxígeno con un patrón determinado; es decir, que los más insaturados necesitan menos tiempo para absorber la misma cantidad de gas y, por consiguiente, se oxidan más rápido. Por lo tanto las grasas y los aceites con mayor índice de yodo se deterioran más fácilmente, de ahí la importancia de la hidrogenación para estabilizarlos.

La autoxidación requiere una energía de activación (E_a) de 20 a 35 Kcal/mol; en sistemas modelo de linoleato de metilo se ha visto que puede ser de 20 Kcal/mol. Aunque la E_a sea baja comparada con otras reacciones, generalmente necesita de catalizadores que la inicien, ya que el oxígeno en su estado normal de triplete es muy poco electrófilo y por sí solo no actúa sobre los dobles enlaces; sin embargo, cuando los spin son diferentes se presenta una fuerte repulsión entre ellos, el átomo de oxígeno se encuentra en estado excitado y se vuelve muy electrófilo; a esta configuración electrónica se le llama singulete y es lo suficientemente reactiva como para unirse directamente a los ácidos grasos, lo cual se facilita por que estos últimos también están como singuletes.

El cobre y el hierro inician esta transformación en concentraciones menores de 1 ppm, el primero tiene más especificidad para catalizar la oxidación de las grasas lácteas, y el segundo para los aceites vegetales. Los ácidos grasos libres solubilizan estos iones y facilitan su acción catalizadora pues provocan un mayor contacto con el lípido.

La actividad acuosa desempeña un papel muy importante en la velocidad de la autoxidación, cuando a_w se encuentra entre 0.4 y 0.8 se favorece la reacción debido a que se incrementa la movilidad de los reactivos, se solubilizan los metales catalizadores y se exponen nuevas superficies del alimento por el aumento de volumen causado por la hidratación.

Se ha comprobado que el aceite de soya contiene de 0.05 a 0.7 % de los ácidos esteárico, oleico, linoleico y linolénico en estado libre que actúan como prooxidantes; también se ha identificado una fracción del monoglicérido α -monolinoleína que en concentración de 0.01 % acelera igualmente la autoxidación.³

Los procesos de termoxidación, es decir, el calentamiento de aceites y grasas provocan una serie de transformaciones fisicoquímicas en los mismos que repercuten en la propia naturaleza de la grasa. Estas transformaciones químicas son debidas fundamentalmente a la alteración de las cadenas grasas insaturadas que dan lugar a la formación de una cantidad apreciable de nuevos compuestos, tanto no volátiles como volátiles.

El interés de los compuestos no volátiles esta fundamentalmente relacionado con sus repercusiones desde el punto de vista fisiológico y nutricional. El estudio de los componentes volátiles es centro de atención debido principalmente a tres razones: 1) muchos de ellos son compuestos de elevada significación sensorial, con la incidencia que tal propiedad tiene en olor y sabor de los alimentos, 2) sirven de base al conocimiento de muchas acciones implicadas en la degradación termoxidativa y 3) su identificación permite establecer las posibilidades de reacción con otros componentes de la dieta, en la operación de fritura, dando lugar a productos no volátiles.

Los fenómenos de oxidación están condicionados por múltiples parámetros (naturaleza de la grasa, grado de insaturación, tiempo de calentamiento, temperatura, presencia de aire, catalizadores, etc.).^{15, 16}

La autoxidación de los lípidos es autocatalítica y tiene la característica de ser una reacción en cadena que consta esencialmente de tres pasos: iniciación, propagación y terminación.^{3, 4}

1.2.1. INICIACIÓN

Durante esta etapa se sustrae uno de los átomos de hidrógeno adyacentes a la doble ligadura, formándose un radical libre al cual el oxígeno puede unirse fácilmente.

La reacción de iniciación es catalizada principalmente por la presencia de metales, oxígeno, luz y temperatura, aunque cuando el oxígeno tiene una configuración electrónica de singulete, puede unirse directamente al ácido insaturado sin la previa formación de radicales libres; produciéndose así los correspondientes hidroperóxidos.

1.2.2. PROPAGACIÓN

El radical hidroperóxido es capaz de sustraer un átomo de hidrógeno de nuevos ácidos grasos, formando hidroperóxidos y más radicales libres con lo cual se propaga la reacción.

1.2.3. TERMINACIÓN

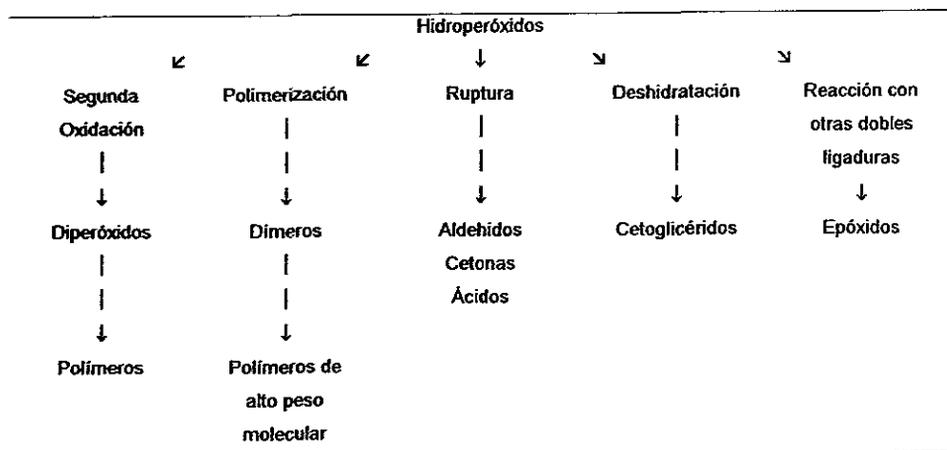
El paso final de las reacciones de oxidación se efectúa a través de reacciones de condensación formando compuestos muy estables.

Por otro lado, las reacciones de descomposición de los hidroperóxidos formados en la etapa de propagación producen diferentes compuestos como peróxidos, aldehídos, cetonas, ácidos, epóxidos, polímeros y cetoglicéridos; algunos de los cuales, son responsables de las propiedades sensoriales de las grasas oxidadas; además, los peróxidos tienen la capacidad de interactuar con otros constituyentes de los alimentos como proteínas y pigmentos reduciendo su valor nutritivo y generando sustancias tóxicas.³

CUADRO 1. *Mecanismo de oxidación de lípidos.*

Iniciación	RH	\longrightarrow	$R\cdot + H\cdot$	Radical libre
Propagación	$R\cdot + O_2$	\longrightarrow	$ROO\cdot$	Radical hidroperóxido
	$ROO\cdot + RH$	\longrightarrow	$R\cdot + ROOH$	Hidroperóxido
Terminación	$R\cdot + R\cdot$	\longrightarrow	RR	Compuestos muy estables.
	$R\cdot + ROO\cdot$	\longrightarrow	$ROOR$	
	$ROO\cdot + ROOR$	\longrightarrow	$ROOR + O_2$	
	$RO\cdot + R\cdot$	\longrightarrow	ROR	
	$2 RO\cdot + 2 ROO\cdot$	\longrightarrow	$2 ROOR + O_2$	

CUADRO 2. Sustancias producidas a partir de hidroperóxidos.



1.3. ANTIOXIDANTES

De acuerdo con la definición que da la Secretaría de Salud, un antioxidante es una sustancia o mezclas de sustancias destinada a retardar o impedir la oxidación y enranciamiento de los alimentos.²³

El papel de los antioxidantes es controlar en parte el deterioro que pueden sufrir las grasas (a un nivel de uso del 0.02 %) prolongando de esta forma la vida útil de los alimentos.

Existen dos categorías fundamentales de compuestos que se utilizan para evitar el deterioro oxidativo de los lípidos: los donadores de protones y los secuestradores. Entre los antioxidantes más usados están: BHA, BHT, TBHQ, Propil galato (PG) y α -Tocoferol. Estos compuestos son generalmente del tipo fenólico y en el caso del BHA y BHT se les ha asociado una acción

antimicrobiana contra *Staphilococcus aureus*, *Vibrio parahaemoliticus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomona*, *Escherichia coli*, entre otros.

Por otro lado existe una gran tendencia para el uso de antioxidantes naturales como los del romero y los del ajonjolí.^{3,5}

Para que un antioxidante sea efectivo, se debe adicionar tan pronto como sea posible en el proceso de manufactura o en el producto final. La selección del antioxidante apropiado es determinada por su compatibilidad con ciertas grasas, su aplicación de acuerdo con la FDA, su solubilidad en la grasa o en la fase acuosa del producto, su dispersabilidad en el alimento y su estabilidad para mantener su acción antioxidante aún después de haber pasado por procesos térmicos tales como el freído y el horneado.¹⁸

1.3.1. ACCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

Existen dos tipos de antioxidantes, antioxidantes primarios o fenólicos y antioxidantes secundarios. Entre los primeros están el butilhidroxianisol (BHA), el butilhidroxitolueno (BHT), la terbutilhidroquinona (TBHQ) y el galato de propilo; éstos no detienen la formación de los radicales que se generan en la oxidación sino que al reaccionar con ellos los estabilizan y se producen radicales del antioxidante que son menos activos. Es decir, se consumen en la reacción y por lo tanto la estabilidad del lípido siempre va a depender de la cantidad residual de aditivo que contenga.^{3,22}

Estos compuestos contienen una o más funciones hidroxilo y actúan en los pasos de iniciación y propagación de la oxidación, pues ceden un átomo de hidrógeno tanto a los radicales ácido graso (R·) como a los hidroperóxidos

(ROO·), restaurando el primero al ácido (RH) y formando el correspondiente hidroperóxido (ROOH) con el segundo. Los radicales de los antioxidantes son estables debido a su resonancia y no promueven la oxidación como lo hacen los radicales de los ácidos grasos. En el cuadro 3 se ilustra la acción de los antioxidantes fenólicos.

CUADRO 3. Mecanismo de acción de los antioxidantes fenólicos.

$R\cdot + AH$	\longrightarrow	$RH + A\cdot$	Radical antioxidante
$ROO\cdot + AH$	\longrightarrow	$A\cdot + ROOH$	
$A\cdot + R\cdot$	\longrightarrow	RA	Compuestos estables.
$A\cdot + ROO\cdot$	\longrightarrow	$ROOA$	
$A\cdot + A\cdot$	\longrightarrow	AA	

Los antioxidantes fenólicos pueden estar naturalmente presentes en un producto alimenticio (por ejemplo tocoferoles en aceites vegetales), pueden ser producidos durante el procesado de un producto alimenticio (por ejemplo, productos de la reacción de Maillard), o pueden ser añadidos como parte de la fórmula.²²

Los antioxidantes secundarios retardan la oxidación de los lípidos pero lo hacen indirectamente. Pueden secuestrar los iones de metal, como en el caso del EDTA, lecitina, glucona delta lactona, ácido cítrico o glicina.

Los antioxidantes secundarios pueden también absorber oxígeno y/o actuar como agentes reductores. El ácido ascórbico, ácido eritórbito y sus

derivados funcionan de esta manera. Se usa una combinación de antioxidantes secundarios y antioxidantes fenólicos en muchos casos ya que estos funcionan sinérgicamente.²²

1.4. ANTIOXIDANTES PRIMARIOS

1.4.1. BUTILHIDROXIANISOL (BHA)

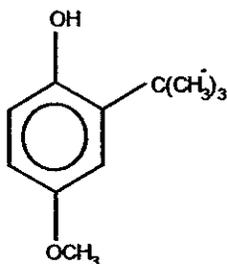
Es una mezcla de 2 isómeros, el 3-terbutil-4-hidroxianisol y el 2-terbutil-4-hidroxianisol. Contiene un grupo hidroxilo y un grupo terbutilo que ocasiona su relativa no-polaridad.

Este antioxidante es más efectivo para estabilizar emulsiones que aceites puros ya que por ser lipófilo, se concentra más cerca de la membrana de las micelas donde se lleva a cabo la oxidación.

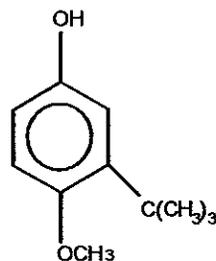
Es un antioxidante grado alimentario⁶ y tiene un valor de DL_{50} oral para ratas de 2.2 g/Kg. con la ventaja de que el cuerpo humano lo elimina rápidamente (aproximadamente 80 % en 24 Hrs).³

El BHA es un sólido (escamas cristalinas) blanco, soluble en grasa e insoluble en agua. Es usado en barras de granola, cereales, grasas animales, papas fritas, goma de mascar, margarinas, cosméticos, productos farmacéuticos, etc.¹⁸

Figura 1. Estructuras del BHA



3-terbutil-4-hidroxianisol



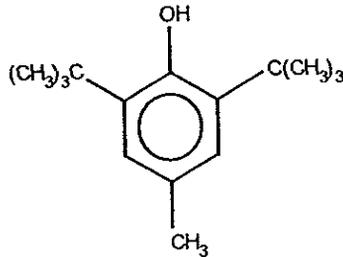
2-terbutil-4-hidroxianisol

1.4.2. BUTILHIDROXITOLUENO (BHT)

Es un sólido (perlas cristalinas) blanco con propiedades similares al BHA¹⁸. Por su estructura química es sumamente débil como estabilizante en aceites vegetales ya que al igual que el BHA presenta impedimento estérico, y es más efectivo para estabilizar emulsiones que aceites puros. Es ideal para grasas animales. Tiene un DL_{50} oral para ratones de 1.4 g/Kg pero el cuerpo humano lo absorbe en pequeñas cantidades.³

El BHT es particularmente buen antioxidante cuando es usado solo, aunque normalmente se usa en mezclas con otros antioxidantes como BHA, ácido cítrico, ácido fosfórico y propilgalato para obtener efectos sinérgicos.²¹

Figura 2. Estructura del BHT



2,6-diterbutil-4-metilfenol

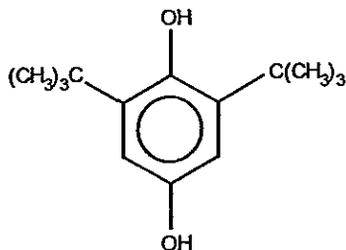
1.4.3. TERBUTILHIDROQUINONA (TBHQ)

Polvo de color beige, tiene una estructura muy similar al BHT solo que incluye un grupo hidroxilo en vez del grupo metilo. Es un antioxidante grado alimentario y exhibe una excepcional potencia en aceites vegetales altamente insaturados y en grasas animales comestibles. No presenta decoloración cuando es usado en presencia de hierro. No produce olor y sabor discernible cuando es adicionado a varios aceites, grasas y alimentos.

Tiene buena solubilidad y puede mezclarse con BHA y BHT para permitir combinaciones de antioxidantes altamente efectivas para la estabilización de aceites, grasas y alimentos cuya formulación contiene grasas.⁷

El TBHQ fue aceptado para uso en alimentos en un número considerable de países, así mismo existía un bajo nivel de preocupación acerca de la toxicidad de los antioxidantes en general, y en base a estudios, algunos de estos no encontraron estándares en pruebas de toxicidad. Estudios más recientes han indicado que el TBHQ puede ser mutagénico *in vivo*, lo cual requiere más investigación.⁸

Figura 3. Estructura del TBHQ



2,5-di(terbutil) hidroquinona

Haciendo una comparación entre estos tres antioxidantes, el BHT es el menos polar y el más lipofílico, es insoluble en propilenglicol y tiene alta solubilidad en d-limoneno.

En la fabricación de saborizantes, el propilenglicol se usa comúnmente como solvente, el BHT no puede usarse en esta aplicación porque es insoluble en el mismo, pero se usa el BHA más comúnmente en saborizantes.

El TBHQ es el más polar y el más hidrofílico de los tres antioxidantes. Es ligeramente soluble en agua a 25°C y poco soluble en d-limoneno.

En cuanto a la volatilidad, el BHT es mucho más volátil que el BHA o el TBHQ. Esta es una ventaja en algunas aplicaciones. Por ejemplo, el papel encerado conteniendo BHT es usado algunas veces para empacar productos alimenticios como galletas o cereales. El BHT emigra por sublimación del papel encerado a la superficie del producto durante su almacenamiento otorgando una protección antioxidante efectiva.

En otros casos la volatilidad del BHT es una desventaja. En productos horneados, el BHT se pierde por destilación por vapor durante el horneado. El BHA es menos volátil y funciona mejor que el BHT en productos horneados.

1.4.4. GALATOS DE ALQUILO

Los Galatos son ésteres del ácido gálico y los que más se emplean son los de propilo, octilo y dodecilo; el incremento del tamaño de la cadena alifática los hace más liposolubles, y así el galato de propilo es algo soluble en agua.

Los galatos de alquilo tienen la particularidad de producir una coloración azul en los alimentos que contienen hierro al formarse un complejo azul-negro en una reacción tan sensible que se lleva a cabo con el propio hierro de la mioglobina de la carne en los embutidos. En los alimentos que tienen una composición compleja, es factible que se induzca esta interacción en la fase acuosa ya que es ahí donde se encuentra el hierro.³

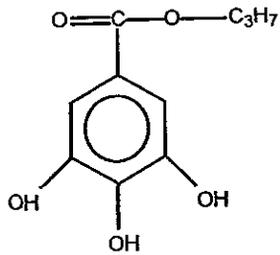
El propilgalato es un polvo blanco cristalino ligeramente soluble en agua, adecuado para grasas animales y aceites vegetales. Su punto de fusión es de 148°C, por lo que pierde su efectividad bajo condiciones de calentamiento a temperaturas de más de 190°C.¹⁸

Comercialmente, podemos encontrar al propilgalato solo o en mezclas con otros antioxidantes por su acción sinérgica. Se puede mezclar con BHA y ácido cítrico para mejorar su acción en diferentes grasas y aceites, donde el ácido cítrico es usado como agente secuestrante de cualquier traza de iones metálicos presentes, reduciendo así la posibilidad de formación de compuestos coloridos en el producto final.²¹

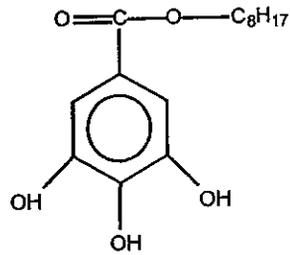
En general y para efectos comerciales son muy frecuentes las mezclas de antioxidantes, por ejemplo, TBHQ y BHT con aspecto de un líquido ámbar de baja viscosidad para aplicación en aceites y grasas vegetales o animales que se vayan a utilizar en procesos con temperaturas bajas.

El TBHQ y ácido cítrico, que también es un fluido ámbar de baja viscosidad, pero a diferencia del anterior, se emplea en procesamientos que requieran temperatura moderada o de panificación. Es perfectamente soluble y estable a la oxidación y no causa incremento en la acidez del aceite o grasa por su bajo nivel cítrico.

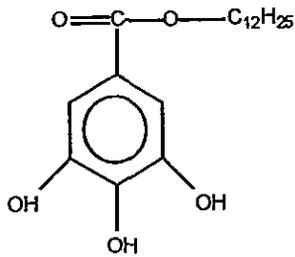
Figura 4. Estructura de algunos Galatos de Alquilo



Propilgalato



Galato de Octilo



Galato de Dodecilo

Otra variedad de esta mezcla puede emplearse en alimentos de freído profundo y se recomienda en procesos donde haya alto contenido de hierro.²⁰

En cuanto al aspecto regulatorio en los Estados Unidos, el BHA, BHT, TBHQ y propil galato son permitidos para su uso en alimentos a niveles que no excedan los niveles permitidos por la FDA (contenido total máximo de antioxidante del 0.02% o 200 ppm).¹⁸

CUADRO 4. Reglamentaciones de la FDA relacionadas con antioxidantes

Aplicaciones	Regulación	Antioxidante	Limitación
Usos generales	21CFR182.3169	BHA	0.02% (200 ppm) solo o en combinación, en peso, grasas o partes oleosas de alimentos, incluyendo aceite esencial (volátil) excepto cuando este prohibido por la norma de identidad.
	21CFR182.3173	BHT	
	21CFR184.1660	Propilgalato	
	21CFR172.185	TBHQ*	
	21CFR182.3890	Tocoferoles	
<ul style="list-style-type: none"> • CFR (Siglas en intés para el Código de Regulaciones Federales). • El TBHQ es legal sólo en combinación con BHA y/o BHT. • Fuente: Food and Drug Administration 			

La regulación por parte de la FDA requiere que los antioxidantes estén declarados en la etiqueta seguido de una explicación del propósito de su adición.¹⁸

En cuanto a la reglamentación por parte de la Secretaría de Salud de nuestro país, los límites permitidos de diferentes antioxidantes se muestra en el cuadro 5.

CUADRO 5. Reglamentación de la Secretaría de Salud

Aplicaciones	Regulación	Antioxidante	Limitación
Grasas y aceites comestibles	Artículo No.555	Tocoferoles	Máximo 0.03% (300 ppm)
		Propilgalato BHA	Máximo 0.01% (100 ppm)
		TBHQ, BHT	Máximo 0.02% (200 ppm)
		BHA; BHT; Propilgalato Galato de octilo Galato de dodecilo	No mayor de 0.02% (200 ppm) en combinación siempre y cuando los galatos no sobrepasen el 0.01%
		Galato de octilo Galato de dodecilo	Máximo 0.01% (100 ppm) solo o en combinación
		Palmitato y estearato de ascorbilo.	Máximo 0.02% (200 ppm) solo o en combinación
Fuente: Secretaría de Salubridad y Asistencia			

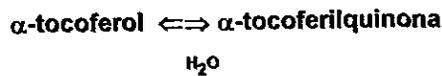
1.5. ANTIOXIDANTES NATURALES

Los antioxidantes naturales más importantes industrialmente explotados son los *tocoferoles* y el *ácido ascórbico*. Así también los extractos vegetales han alcanzado cierta importancia (especialmente extractos de especias que contienen ácido carnósico y ácido romérico). Varios compuestos de soya y

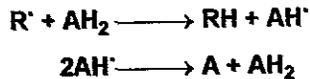
avena son también incluidos en las formulaciones alimenticias para oponer la oxidación de productos.

1.5.1 TOCOFEROLES

La actividad antioxidante de los tocoferoles esta basada principalmente en "el sistema redox tocoferol-tocoferilquinona".

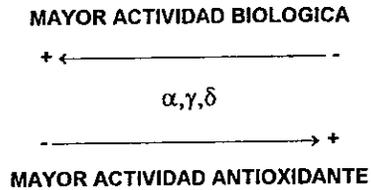


Los tocoferoles (AH_2) son también llamados "radicales basureros", los cuales eliminan los radicales libres (R^\cdot) de acuerdo con el esquema general.



El resultado de esta acción es una molécula regenerada (RH). Después de la reacción de dos moléculas radicales tocoferil semiquinona (AH^\cdot) una molécula de tocoferilquinona (A), se forma una molécula regenerada de tocoferol. Se puede presentar la eliminación de radicales peróxido por la misma reacción.⁸

Los tocoferoles presentan dos características muy importantes A) su actividad biológica y B) su actividad antioxidante. Con respecto a ella se ha encontrado que los tocoferoles con alta actividad biológica de vitamina E son antioxidantes relativamente pobres, mientras que aquellos que tienen baja actividad biológica presentan una alta potencia antioxidante.⁹

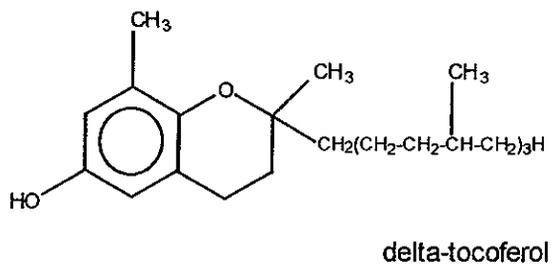
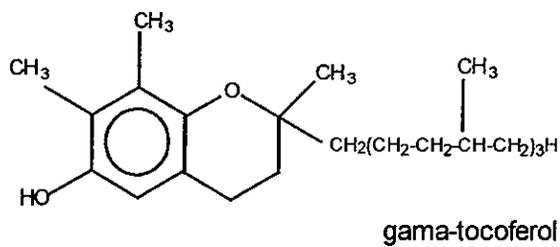
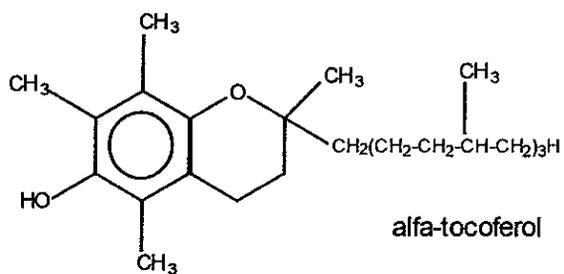


Los tocoferoles son solubles en grasa por lo que se pueden usar con facilidad tanto en grasas como en aceites. Son considerados GRAS como aditivos alimentarios.²⁴

El α - tocoferol es considerado la principal fuente de vitamina E. A pesar de que el alfa-tocoferol tiene poca actividad antioxidante, el delta y gama tocoferoles son considerados substancialmente antioxidantes más efectivos. Mezclas de gama y delta tocoferoles pueden ser efectivos reemplazantes donde antioxidantes sintéticos no son permitidos o como una fuente de antioxidante natural si es preferida²⁴

Los tocoferoles están permitidos en alimentos de acuerdo con las Buenas Prácticas de Manufactura (21 CFR 182.3890) a niveles del 0.03% o 300 ppm (9 CFR 318.7).¹⁸

Figura 5. Estructuras del alfa, gama y delta tocoferoles

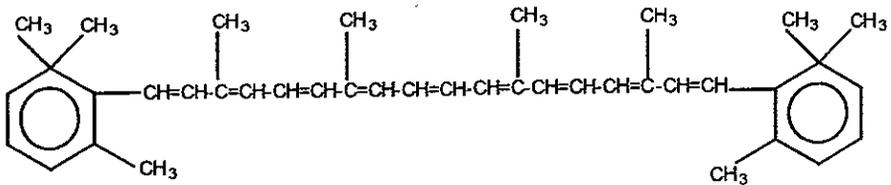


1.5.2. BETA-CAROTENO

Los carotenoides como otros compuestos cíclicos poliinsaturados, además de algunos contar con actividad de provitamina A, también cuentan con acción antioxidante.

El beta-caroteno es usado principalmente como colorante en la industria alimentaria. Puede ser adicionado a aceites vegetales mostrando una protección antioxidante similar a la del BHA.

Figura 6. Estructura del Beta-caroteno



Los aceites como los de soya y maíz, deben su color amarillo a los carotenoides disueltos, mismos que pueden desaparecer en el proceso de refinación.

1.5.3. ANTIOXIDANTES DEL ROMERO

Los antioxidantes predominantes en el Romero y la Salvia son solubles en soluciones acuosas alcalinas sugiriendo un carácter ácido (o fenólico).

Entre las fracciones antioxidantes se encuentran el Carnosol, Royleanona, Acetoxiroyleanona y Dehidroxiroyleanona. También se han aislado de las hojas del Romero otros compuestos antioxidantes como son el Rosmanol, Rosmaridifenol y Rosmariquinona.

La actividad antioxidante de estos se demostró tanto en grasas animales como en aceites vegetales, manteniendo la estabilidad del sabor en aceite de soya y también tiene una menor volatilidad y una mejor estabilidad a temperaturas elevadas que los antioxidantes BHA y BHT.^{8, 14, 32}

Los compuestos naturales en el extracto de oleoresina del Romero exhiben propiedades antioxidantes comparables con una mezcla comercial de BHA/BHT/ácido cítrico. En la figura 7 se muestran algunos compuestos antioxidantes del Romero.

Históricamente, el Romero ha sido usado por su agradable sabor, aroma y por la habilidad que tiene de retardar el deterioro del sabor.

El extracto de Romero ayuda a estabilizar grasas, aceites y aceites esenciales contra la rancidez y para proteger los pigmentos carotenoides de la oxidación y pérdida de color en el producto.

En aceites para ensaladas, los niveles usados para una buena estabilidad son bajos (0.01-0.05%) por lo que el sabor a Romero es casi imperceptible.

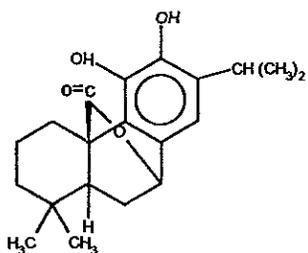
Los extractos de Romero pueden ser adicionados a diferentes productos alimenticios para evitar su oxidación, tales como botanas, mayonesas y aderezos, mariscos, aceites marinos, productos cárnicos, confitería, productos horneados, etc.^{27, 28}

El Romero es una hierba que pertenece a la familia *Labiatae* como la salvia (*Salvia officinalis*) y el orégano (*Origanum vulgare L.*), que también cuentan con actividad antioxidante.

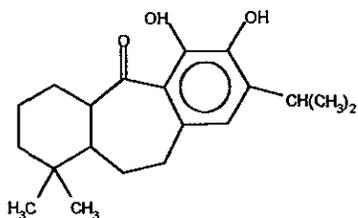
En el caso del orégano, se han aislado diferentes compuestos de carácter fenólico que explica su actividad antioxidante, y se ha encontrado también que estos compuestos son más activos que el alfa-tocoferol y su acción es comparable con la del BHA.^{28, 29}

Estudios actuales han aislado algunos de los constituyentes antioxidantes en la Salvia que son los mismos que el Romero: Carnosol, rosmanol, rosmadial, espirosmanol y ácido carnósico.³⁰

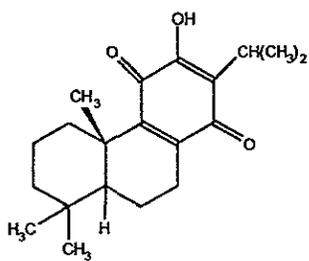
Figura 7. Algunos compuestos antioxidantes del Romero



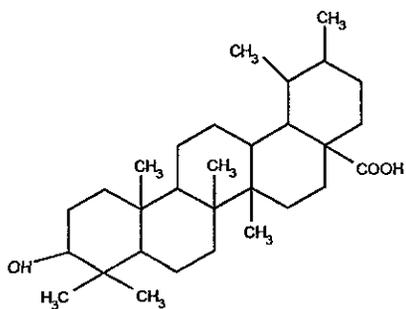
CARNOSOL



ROSMARIDIFENOL



ROYLEANONA



ACIDO URSOLICO

1.5.4. CAPSAICINA

El género *Capsicum* (familia *Solanaceae*) comprende alrededor de 200 variedades de chiles desde el chile jalapeño hasta el morrón. Los frutos tienen una gran diversidad en forma, tamaño, sabor y pungencia.

La Capsaicina, es un capsaicinoide de los frutos *Capsicum* al cual se asocia el sabor picante de los chiles, donde se presenta a niveles del 0.14 al 0.22 %. La capsaicina y sus análogos (dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina, homodihidrocapsaicina) han sido usados desde hace muchos años como especia, como aditivo alimentario y por sus efectos farmacéuticos.³³

Los capsaicinoides son almacenados y degradados durante el desarrollo del fruto, esto es particularmente interesante en los frutos *Capsicum annuum* donde los capsaicinoides son sintetizados en la placenta (a partir de la L-fenilalanina, L-valina y tirosina) y luego acumulados en las vacuolas de las células epiteliales de la placenta.^{34, 35, 36}

La capsaicina y la dihidrocapsaicina son los responsables de la 90% de la pungencia en los chiles, son compuestos derivados de la vainillilamida y del ácido 8-metilnonanoico.

Se cree que la capsaicina se acumula en las semillas por difusión. Es soluble en disolventes orgánicos e insoluble en agua. Se puede determinar colorimétricamente por medio de oxiclورو de vanadio reaccionando con su grupo hidroxilo.⁵

La estereoquímica de la cadena tiene un marcado efecto de la pungencia, que para evaluarla se ha sugerido el uso de unidades arbitrarias llamadas "Scoville", así tenemos que un chile morrón tiene 0 unidades, el chile verde tiene aproximadamente 1000, el jalapeño y el habanero pueden variar entre 2000 y 25000 unidades.

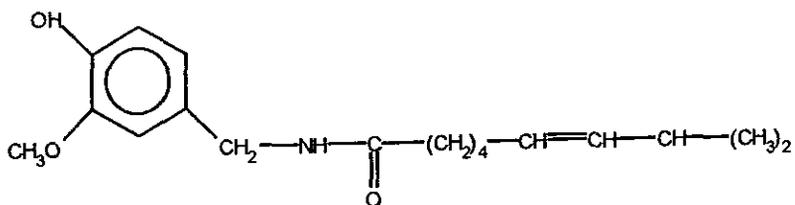
Las propiedades antioxidantes de la capsaicina son atribuidas a su estructura fenólica. En la figura 8 se muestran las estructuras de la capsaicina y dos análogos.

Se ha encontrado en estudios que el (-)-Capsaicinol fue aislado del fruto de *Capsicum frutescens* L, y su actividad antioxidante es tan fuerte como la del α -tocoferol.

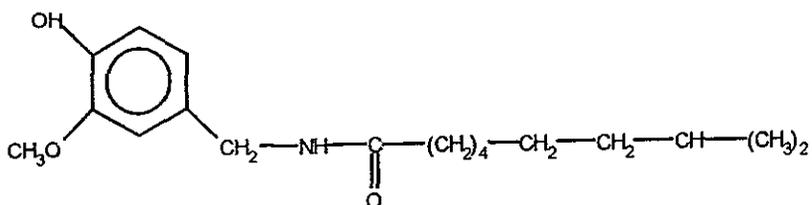
El (-)-Capsaicinol es un antioxidante natural análogo a la capsaicina y su estructura es muy similar a la de la capsaicina. El (-)-capsaicinol no presenta pungencia en contraste con la capsaicina.

Otros estudios han demostrado que tanto la capsaicina como sus análogos tienen actividad de termogénesis causada por la aceleración del metabolismo de lípidos. A pesar de que la capsaicina y sus análogos cuentan con actividad útil, su pungencia limita su uso en ciertas aplicaciones como aditivo en alimentos. El (-)-capsaicinol podría ser una alternativa como aditivo alimentario, sin embargo no se obtiene en suficiente cantidad de las fuentes naturales.¹⁷

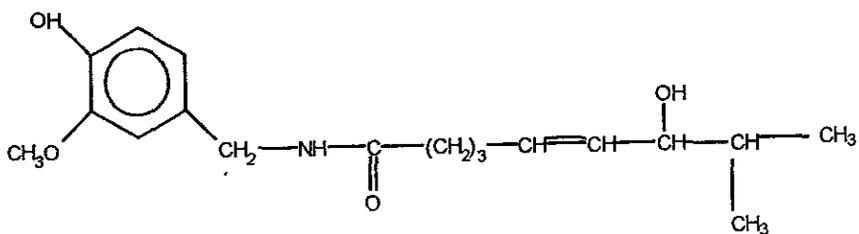
Figura 8. Estructura de la capsaicina, dihidrocapsaicina y (-)-capsaicinol



Capsaicina



Dihidrocapsaicina



(-)-Capsaicinol

1.5.5. CITRICIDAL

Se ha encontrado que otros extractos de origen natural han demostrado tener acción antioxidante. En el extracto de semillas de cítricos (principalmente toronja) predominan compuestos polifenólicos (flavonoides derivados del cítrico), que además de tener acción antioxidante, es un antimicrobiano de amplio espectro, antiviral, antiparasitario y antifungal.

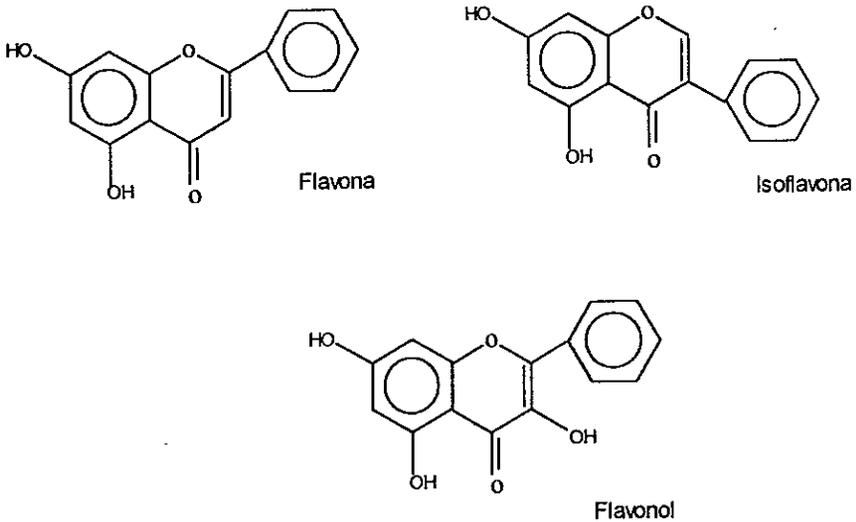
Comercialmente lo podemos encontrar como CITRIDIDAL® (mezcla de extractos de semillas de toronja 60%, glicerina 40% y trazas de ácido ascorbico, dehidroascórbico y compuestos de la familia de los tocoferoles). En los Estados Unidos esta listado como GRAS bajo el Código de Regulaciones Federales como 21CFR182.20 y reconocido por la FDA. Se utiliza en una gran variedad de aplicaciones dentro del área de alimentos, ya que su versatilidad permite desinfectar, conservar y proteger.

En la industria de alimentos, el citricidal es utilizado en niveles de uso que van de 10 a 250 ppm. En la industria agrícola, es usado como bactericida y fungicida en un rango de 50 a 250 ppm.

El citricidal de apariencia es un líquido muy viscoso de color amarillo limón y de olor ligeramente cítrico fresco, es soluble en agua, alcohol y solventes orgánicos. Su seguridad ha sido probada en animales, humanos y el medio ambiente considerandolo no tóxico y no irritante en diluciones hasta del 2%. La DL_{50} es de 5000 mg/Kg.^{43,44}

En la figura 9 se ilustran las estructuras de algunos flavonoides presentes en cítricos.

Figura 9. Estructuras básicas de algunos flavonoides



1.5.6. OTROS ANTIOXIDANTES NATURALES

Productos de frijol de soya son aplicados en varios alimentos. En aceite de soya, sin embargo, solo los tocoferoles, especialmente γ -tocoferol, pero también δ y, en menor proporción α -tocoferol, son antioxidantes activos. Los esteroides tales como campesterol, stigmasterol o β -sitosterol, no presentan actividad antioxidante.

La harina de frijol de soya y otros derivados del frijol de soya son fuentes de una amplia gama de compuestos antioxidantes: tocoferoles, flavonoides, glicosidos de isoflavona y sus derivados y, como sinergistas, fosfolípidos, aminoácidos y péptidos. Otros antioxidantes de origen vegetal son el eugenol, vainillina y ajonjolí.^{8, 14}

Se han encontrado otros antioxidantes naturales en las cáscaras de cítricos, aceitunas, algarrobo y hojas de té verde. En uvas, vinos y productos de uvas contienen altas cantidades de flavonoides hidroxilados y otros compuestos fenólicos como algunas antocianinas responsables de coloraciones en flores y frutos a las que también se les ha relacionado con acción antioxidante.^{26, 31}

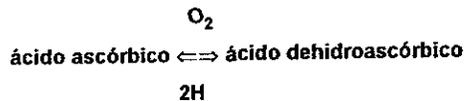
Frutas tales como peras, fresas, manzanas, cerezas, duraznos y cítricos como naranjas, mandarinas, limones y toronjas contienen varios flavonoides que son los responsables en gran medida de la astringencia de algunos alimentos.³⁷ Entre todos los flavonoides destacan los flavonoles, los cuales se encuentran en cebollas, miel, fresas y uvas. Dada su capacidad de capturar radicales libres y de crear complejos con los iones metálicos, tienen una actividad antioxidante muy alta; sin embargo, son poco solubles en lípidos.³

1.6. AGENTES REDUCTORES

La función de los agentes reductores es por la transferencia de átomos de hidrógeno. Tales compuestos incluyen al ácido ascórbico, ácido eritórbico, palmitato de ascorbilo y sulfitos.

1.6.1. ÁCIDO ASCÓRBICO

El ácido ascórbico o vitamina C es usado para incrementar la vida de anaquel de alimentos procesados, enlatados y congelados. Retarda el desarrollo del proceso oxidativo ya que actúa atrapando el oxígeno. El mecanismo de oxidación del ácido ascórbico es el siguiente.⁹

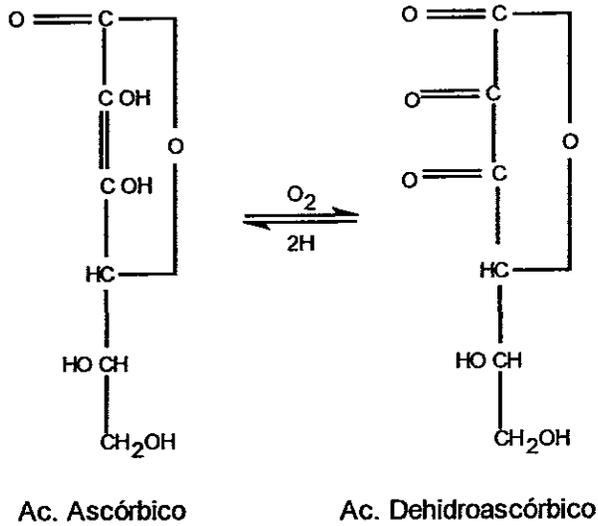


Aproximadamente 3.5. mg de ácido ascórbico son requeridos para atrapar el oxígeno en 1 cm³. Es GRAS como aditivo alimentario y no tiene restricciones en cuanto a niveles de uso (21 CFR 182.3013).¹⁸

El ácido ascórbico como su sal, ascorbato de sodio, actúan secuestrando el oxígeno y provocando que este no este disponible para futuras reacciones.

También tiene acción como agente quelante evitando así que los iones metálicos presentes promuevan la oxidación aunque de esta manera pierde su actividad fisiológica. Así mismo actúa como protector contra la oxidación en vinos, cerveza, frutas, vegetales, etc.²⁴

Figura 10. Oxidación del ácido ascórbico



1.6.2. PALMITATO DE ASCORBILO

Es un polvo blanco-amarillento cristalino, es GRAS y no tiene restricciones en cuanto a los niveles de uso. Incrementa apreciablemente la vida de anaquel de los aceites vegetales cuando es usado al 0.01%. Puede ser usado en aceites comestibles y colores.¹⁸

Su uso en alimentos esta aprobado por la Secretaría de Salud y es liposoluble.

1.6.3. ÁCIDO ERITÓRBICO

El ácido eritórbico y su sal, eritorbato de sodio, son fuertes agentes reductores que actúan como secuestradores de oxígeno, reduciendo el oxígeno molecular.

El ácido eritórbico es GRAS para su uso como aditivo alimentario (21 CFR 182.3041). Es libremente soluble en agua, aproximadamente 15g/100 ml a 20°C, y sus propiedades antioxidantes se desarrollan solo cuando se encuentra disuelto en agua.

Es usado para controlar la oxidación del color y la deterioración del sabor en frutas a niveles de 150-200 ppm.¹⁸

1.6.4. SULFITOS

El dióxido de sulfuro, sulfito de sodio y bisulfito de potasio son usados como antioxidantes débiles en alimentos. Por ejemplo, el dióxido de sulfuro es adicionado a la cerveza para inhibir la deterioración del sabor durante el almacenamiento. Los sulfitos controlan oscurecimientos no enzimáticos y también reacciones enzimáticas. Son usados en bebidas, vino y frutas.¹⁸

Debido a la posible relación de los sulfitos con reacciones alérgicas y asmáticas, la FDA en 1988 solicitó que este tipo de aditivos sean declarados en la etiqueta cuando estén presentes en niveles detectables definidos desde 10 ppm o más. No son considerados GRAS para su uso en carnes, frutas y verduras crudas.²⁵

1.7. MEDICIÓN DE LA RANCIDEZ

Hay un gran número de pruebas que nos ayudan a determinar la calidad de un aceite. Estas incluyen las pruebas físicas, químicas y sensoriales. También existen varias pruebas rápidas que pueden ser utilizadas como herramientas de calidad. La calidad de las grasas y aceites utilizada en el proceso de manufactura afecta directamente la calidad del producto terminado.

Los métodos que a continuación se mencionan, están relacionados con el grado de oxidación en aceites y grasas:

1.7.1. MÉTODO DEL OXÍGENO ACTIVO (AOM, American Oil Chemists' Society-AOCS Cd 12-57).

Mide la estabilidad de oxidación. Se hace burbujear aire a través del aceite o grasa que se encuentra a una temperatura de 97.8°F. Se extraen muestras de aceite a intervalos regulares y se determina el índice de peróxido.

Es expresado en horas y es el periodo de tiempo que necesita el índice de peróxidos para alcanzar cierto nivel, por lo que es utilizado como una característica específica de las grasas y los aceites. Las horas del AOM tienden a aumentar conjuntamente con el grado de saturación o endurecimiento de la muestra.

1.7.2. ÍNDICE DE ANISIDINA (AOCS Cd 18-90).

El grado de oxidación en aceites y grasas se puede determinar por la medición de la formación de compuestos carbonílicos. Los aldehídos son

productos de la descomposición de los ácidos grasos peroxidados. El índice de anisidina mide los niveles de aldehídos utilizándolos como un indicador que determina la cantidad de material peroxidado que ha sido desdoblado.

La reacción de los aldehídos con paraanisidina informa de una buena correlación entre el índice de anisidina de los aceites y sus características organolépticas.

1.7.3. ÍNDICE DE PERÓXIDO (PV, AOCS Cd 8b-90)

Es una medida de los peróxidos contenidos en el aceite durante el almacenamiento, la formación de peróxidos es lenta al principio durante el periodo de inducción el cual puede variar desde unas semanas a varios meses, de acuerdo al aceite o grasa en particular, la temperatura, etc.

El índice de peróxido es determinado usualmente por métodos volumétricos, los cuales han sido ampliamente desarrollados por Lea. Estos dependen de la reacción del yoduro de potasio en solución ácida con el oxígeno combinado, seguida de titulación del yodo liberado con tiosulfato de sodio. Usualmente se utiliza cloroformo como disolvente.^{2, 10}

Este es el método clásico para medir la oxidación del aceite fresco, pero tiene poco valor para el aceite de fritura ya que esta prueba es altamente sensible a las temperaturas. Un índice de peróxido mayor de 2 es un indicador de que el producto tiene un gran potencial de rancidez y que puede fallar cuando se encuentre en el anaquel.¹⁹

1.7.4. SUSTANCIAS POLARES (TPM, AOCS Cd 20-91)

Gran cantidad de procesadores consideran que la medición de las sustancias polares es la prueba individual más importante para medir la degradación del aceite. Los materiales polares son todos materiales no triglicéridos solubles, emulsivos o suspendidos en el aceite de fritura.

Una vez que el aceite es expuesto a una determinada temperatura de fritura, una porción de los triglicéridos es convertida en una innumerable cantidad de productos de degradación acumulativa del aceite.

1.7.5. PRUEBA DE KREIS.

La reacción de Kreis incluye la producción de un color rojo cuando el floroglucinol reacciona con la grasa oxidada en solución ácida. El color formado parece estar relacionado con la producción creciente de algún aldehído epihidrina o de malonaldehído. Los diversos métodos que se han propuesto para realizar la reacción de Kreis han sido revisados por Mehlenbacher (1960).

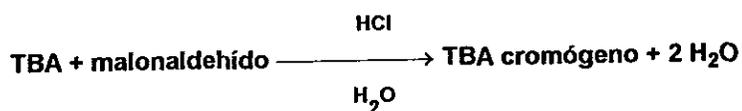
Debido a su elevada sensibilidad la prueba tiende a dar resultados confusos, dado que con frecuencia se obtiene coloración con aceites comparativamente recientes.^{2, 10}

1.7.6. METODO DEL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO. (TBA)

El fundamento de este método esta basado en la reacción de condensación entre dos moléculas de TBA y una de malonaldehído, que forma

un compuesto cromógeno de color rojo. La concentración de color se puede determinar espectroscópicamente a 532 nm.

La ventaja de este método es que se puede aplicar a los alimentos en forma directa después de eliminar todos los pigmentos, o bien en la fracción del alimento que se obtiene por una destilación con vapor.^{3, 13}



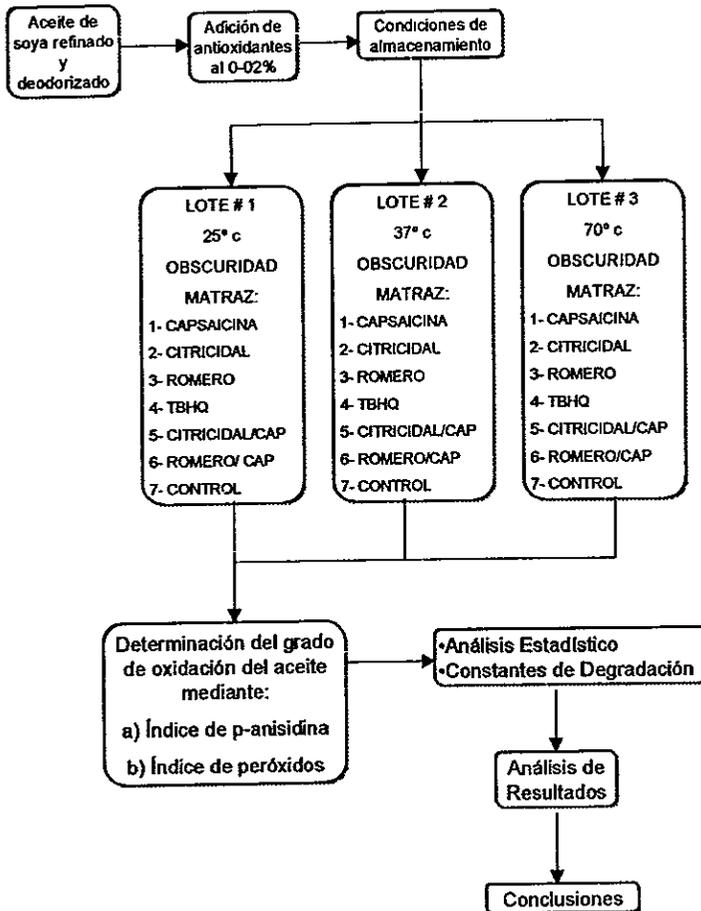
1.7.7. CROMATOGRAFÍA DE GASES.

La cromatografía de gases se ha usado para separar e identificar los productos de oxidación de los lípidos.

Se ha utilizado este método para la determinación de rancidez en aceites de soya, identificando compuestos volátiles que fueron productos de autooxidación de ácidos grasos insaturados como son: pentano, 1-pentanal, hexanal, n-octano, t-2-hexanal, heptanal, t-2-heptanal y dodecano. También es un método para comparar la eficiencia de diferentes antioxidantes, tanto naturales como sintéticos.^{11, 12}

CAPÍTULO II
DESARROLLO EXPERIMENTAL

DIAGRAMA GENERAL DE LA EXPERIMENTACIÓN



DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACEITE DE SOYA REFINADO Y DEODORIZADO

MATERIAL

- Material de vidrio común
- Estufas a temperaturas constantes de 25°C, 37°C y 70°C

ANTIOXIDANTES

- Capsaicina (Sigma® - Chemical Company)
- Extracto de semillas de toronja (Citricidal® - Bio/Chem Research Inc.)
- Extractos de romero (Herbalox® - Kalsec Inc.)
- TBHQ (Terbutilhidroquinona). (Dresen Química)
- Capsaicina-Citricidal
- Capsaicina-Romero

METODOLOGÍA

1. Adicionar al aceite de soya 0.02% de cada antioxidante.
2. Tapar el matraz y envolver en papel aluminio.
3. Distribuir un matraz de cada antioxidante en cada una de las estufas temperatura constante.

2.2. *ÍNDICE DE P-ANISIDINA*

Referencia:

Egan Harold "Análisis Químico de los Alimentos de Pearson". 1987 Ed. Cecsa.
Segunda Impresión. México. pp 711

Traducción de: Pearson's Chemical Analysis of Foods.

Cálculos:

$$I-PA = 25 (1.2A_2 - A_1) / M$$

Donde:

A_1 = Absorbancia inicial

A_2 = Absorbancia final

M = Peso de la Muestra

Equipo usado durante la experimentación.

SPECTRONIC 20 / Bouch & Lomb

2.3. *ÍNDICE DE PERÓXIDOS*

Referencia:

Official Methods of Analysis of AOAC International. 1995. 16th Edition. Volume II
Chapter 41 Oils and Fat.. P.9B.

Edited by Patricia Cunniff

Cálculos:

Índice Peróxidos (meq/Kg) = (S)(N)(100) / M

Donde:

S = ml gastados de la solución de tiosulfato de sodio

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

M = Peso de la muestra

2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de los datos se realizó por medio de un programa estadístico de computación obteniendo el análisis de varianza:

Origin 3.5 for Windows

Nivel 0.2

2.5. CONSTANTES DE DEGRADACIÓN PARA LOS DIFERENTES ANTIOXIDANTES.

En el caso de las reacciones de rancidez siguen un patrón de orden uno. Para dichas reacciones se ha establecido una expresión matemática que define la pérdida de calidad en los alimentos:

$$- dA / dt = KA^n$$

Donde:

A = Factor de calidad medido en las unidades correspondientes.

t = Tiempo.

K = Constante de degradación.

n = Orden de reacción.

dA / dt = Constante de cambio del factor de calidad contra el tiempo.

Integrando la ecuación:

$$\int_{A_0}^A \frac{dA}{A} = \int_{t_0}^t K dt$$

Se obtiene:

$$\ln A / A_0 = - Kt$$

$$\ln A - \ln A_0 = - Kt$$

$$\ln A = \ln A_0 - Kt$$

Despejando K:

$$K = 1/t \quad \ln A / A_0$$

Donde:

K = Constante de degradación del aceite de soya para cada antioxidante.

A = Valor máximo obtenido de índice de peróxidos o para-anisidina para cada antioxidante.

A₀ = Valor inicial de índice de peróxidos o para-anisidina para cada antioxidante.

t = Tiempo en que se obtiene el máximo valor de índice de peróxidos o para-anisidina para cada antioxidante.

Para el cálculo de los valores de "Z" para los diferentes antioxidantes tenemos que:

$$D = 1 / K$$

Por medio de la regresión lineal del Log D vs T obtenemos la pendiente y de esta forma el valor de "Z" para cada antioxidante:

$$Z = - 1 / m$$

El valor comparativo de estabilidad se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$E = Z \text{ Control} / Z \text{ Antioxidante}$$

CAPÍTULO III
ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. RESULTADOS ESTADÍSTICOS

ORIGIN 3.5 FOR WINDOWS

NIVEL 0.2

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 25°C)

SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE	NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE
Control	Capsaicina, citricidal, extractos de romero, citricidal/capsaicina, extractos de romero/capsaicina	TBHQ

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 37°C)

SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE	NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE
Control	Capsaicina, citricidal, extractos de romero, citricidal/capsaicina, extractos de romero/capsaicina	TBHQ

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 70°C)

NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES		
Capsaicina, citricidal, extractos de romero, citricidal/capsaicina, extractos de romero/capsaicina, TBHQ y control		

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 25°C)

SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE	NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE
Control	Capsaicina, citricidal, extractos de romero, citricidal/capsaicina, extractos de romero/capsaicina	TBHQ

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 37°C)

SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE	NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES	SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE
Control	Capsaicina, citricidal, extractos de romero, citricidal/capsaicina, extractos de romero/capsaicina	TBHQ

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 70°C)

NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES		
Capsaicina, citricidal, extractos de romero, citricidal/capsaicina, extractos de romero/capsaicina, TBHQ y control		

3.2. VALORES "Z" Y "E" PARA LOS DIFERENTES ANTIOXIDANTES.

TABLA 1.
VALORES DE "Z" PARA CADA ANTIOXIDANTE

ANTIOXIDANTE	ÍNDICE DE PERÓXIDOS	ÍNDICE DE P-ANISIDINA
CAPSAICINA	100	111
CITRICIDAL	96	102
ROMERO	102	107
TBHQ	49	51
CITRICIDAL/CAP	100	104
ROMERO/CAP	114	112
CONTROL	345	208

TABLA 2.
VALORES COMPARATIVOS DE ESTABILIDAD "E" PARA CADA ANTIOXIDANTE

ANTIOXIDANTE	ÍNDICE DE PERÓXIDOS	ANTIOXIDANTE	ÍNDICE DE P-ANISIDINA
TBHQ	7.04	TBHQ	4.08
CITRICIDAL	3.59	CITRICIDAL	2.03
CAPSAICINA	3.45	CITRICIDAL/CAP	2
CITRICIDAL/CAP	3.45	ROMERO	1.94
ROMERO	3.38	CAPSAICINA	1.87
ROMERO/CAP	3.03	ROMERO/CAP	1.86
CONTROL	1	CONTROL	1

3.3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En este trabajo, para la determinación del grado de oxidación en aceite de soya, se eligieron los métodos de índice de peróxidos e índice de para-anisidina, debido a que el primero se enfoca a la medición en las primeras etapas de la oxidación, específicamente a la etapa de la propagación durante la cual hay formación de radicales hidroperóxido, los que son indirectamente cuantificados por dicho método. La siguiente etapa, posterior a la propagación, es la terminación, en donde hay una gran formación de compuestos muy estables, tales como aldehídos, cetonas, ácidos, etc.; y para la cuantificación de este tipo de compuestos se eligió el índice de para-anisidina, ya que la anisidina reacciona favorablemente con los compuestos carbonílicos, como un indicador que determina la cantidad de material peroxidado que ha sido desdoblado.

El efecto de la luz se controló con el fin de evitar su acción sobre el aceite, de manera que las variables fueran la temperatura y el tiempo en relación a la estabilidad. La adición de los antioxidantes fue al 0.02%.

En la gráfica 1 se presenta el índice de peróxidos con respecto al tiempo, en el aceite de soya mantenido a una temperatura de 25°C y en la obscuridad con cada uno de los antioxidantes empleados. El antioxidante más eficiente a esta temperatura resultó ser como se esperaba el TBHQ, que de acuerdo con el valor comparativo de estabilidad "E" (Tabla 2) es 7.05 veces más estable que la muestra sin antioxidante.

Los antioxidantes naturales mostraron su acción como tales al comparar el índice de peróxidos en cada temperatura y el índice medido en el matraz control (el cual no contenía antioxidante), y de acuerdo con los cálculos

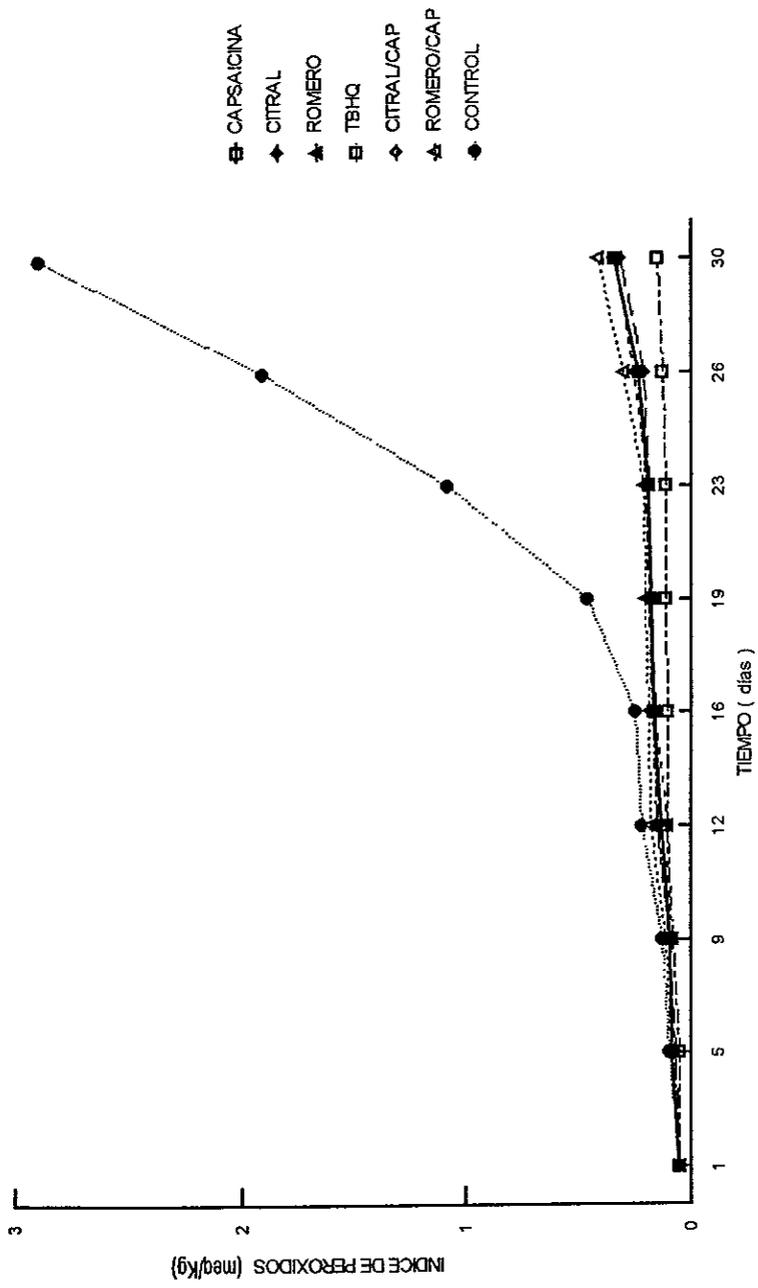
estadísticos se encontró que no existen diferencias significativas entre dichos antioxidantes con respecto a su eficiencia. Se encontraron diferencias significativas entre el TBHQ y los antioxidantes naturales, así también entre todos los antioxidantes y el control.

Analizando los resultados se puede observar que la capsaicina, citricidal (extractos de semillas de toronja), extractos de romero y las mezclas de antioxidantes, muestran poder antioxidante pero este es menor al que proporciona el TBHQ. Se encontró que a los 9 días el índice de peróxidos para capsaicina fué de 0.0880 meq/kg de muestra, en tanto que un valor aproximado a este índice lo obtuvo el TBHQ a los 30 días (0.0895 meq/kg de muestra).

En la gráfica 2 se presenta el índice de peróxidos con respecto al tiempo en el aceite de soya mantenido a 37°C, la cual muestra un comportamiento similar al de la gráfica 1. El TBHQ muestra un alto poder como antioxidante en tanto que los antioxidantes naturales muestran un comportamiento similar entre ellos, es decir, no se encontraron diferencias significativas. Lo anterior sugiere que la capsaicina presenta actividad antioxidante comparable con la de los extractos de romero y citricidal.

Basándose en los resultados de los valores comparativos de estabilidad (Tabla 2), tenemos que la muestra con capsaicina es 3.45 veces más estable que la muestra sin antioxidante, las muestras con extractos de romero y citricidal son 3.38 y 3.59 veces más estables respectivamente.

GRÁFICA 2: ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 37° C

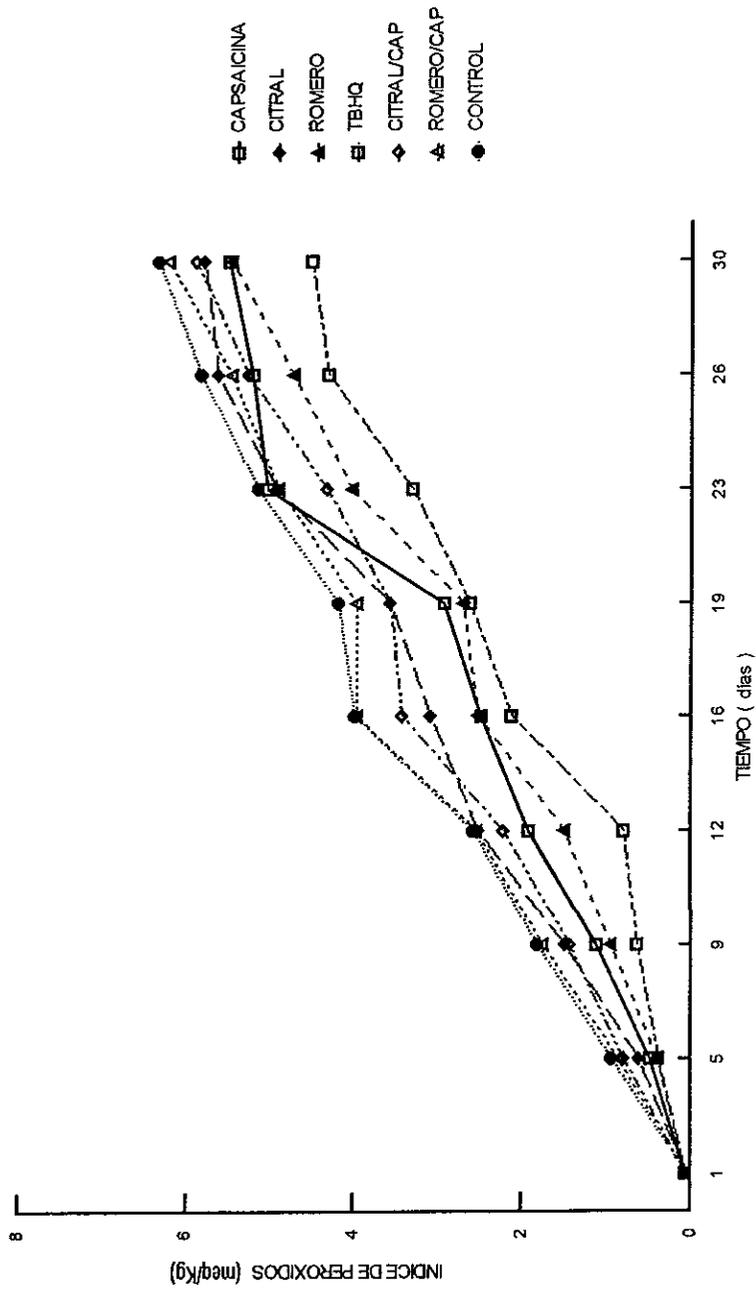


El comportamiento del aceite de soya almacenado a 70°C se muestra en la gráfica 3, donde la curva que corresponde a la muestra de aceite sin aditivo y las curvas con los diferentes antioxidantes, presentan un rápido incremento en el valor de índice de peróxidos después de los 5 días de almacenamiento. Esto no significa que los antioxidantes no sean realmente efectivos, sino que las condiciones de almacenamiento fueron tan drásticas, que la oxidación se aceleró de tal manera que los antioxidantes no pudieron controlarla.

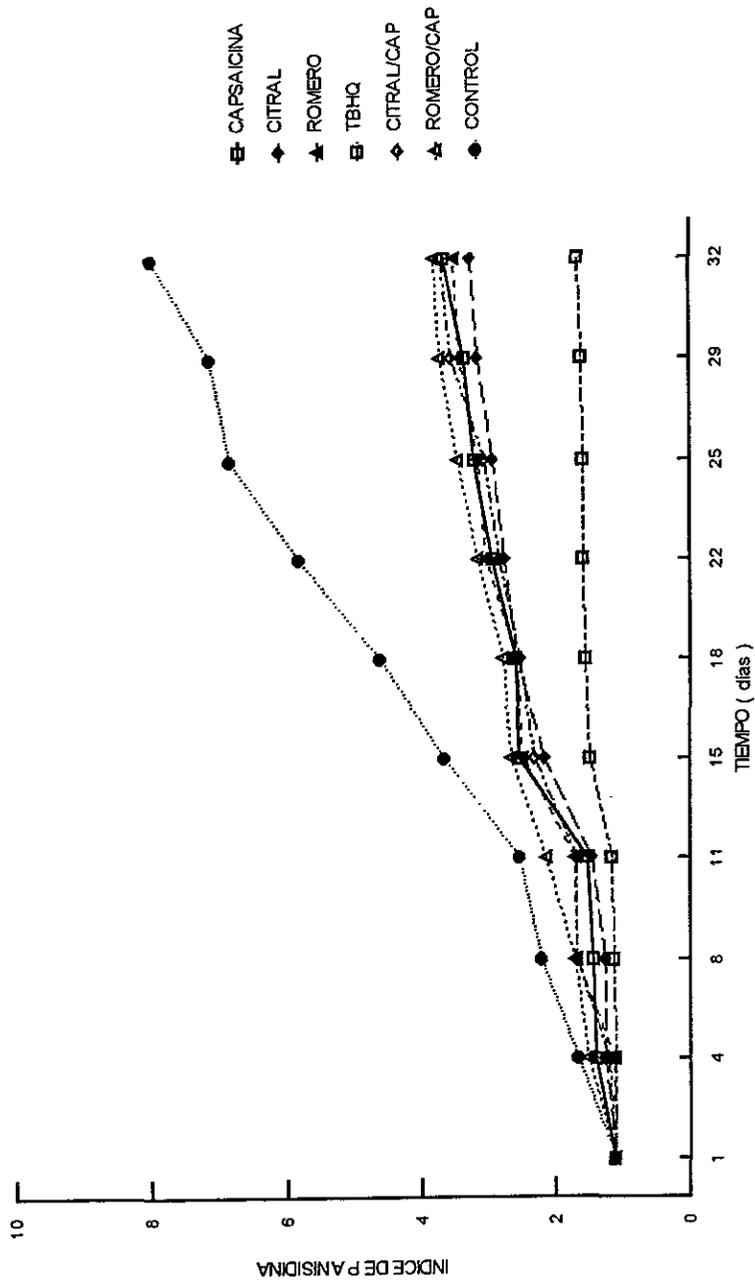
En la gráfica 4, se muestra el incremento del índice de para-anisidina del aceite de soya almacenado 25°C con respecto al tiempo. En esta gráfica es importante destacar que el comportamiento de los antioxidantes naturales es similar a los 18, 22 y 25 días, de acuerdo con los cálculos estadísticos no existen diferencias significativas entre los antioxidantes naturales, donde se encontraron diferencias significativas fue nuevamente entre los antioxidantes naturales y el TBHQ, el cual muestra una protección superior a los demás antioxidantes.

A esta temperatura, la muestra que contenía TBHQ presentó un índice de para-anisidina a los 32 días de 1.6701 en contraste con la muestra que contenía capsaicina, la cual presentó un índice de para-anisidina próximo al anterior a los 11 días. Es importante hacer mención de que la capsaicina otorga protección al aceite, y esto se puede apreciar comparando los índices de la muestra con capsaicina y con la muestra control, la primera presentó un índice de para-anisidina a los 32 días de 3.6681, en tanto que en la segunda dicho índice fue de 8.0265; lo mismo ocurre con los otros antioxidantes naturales.

GRÁFICA 3: ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 70° C



GRÁFICA 4: ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 25°C



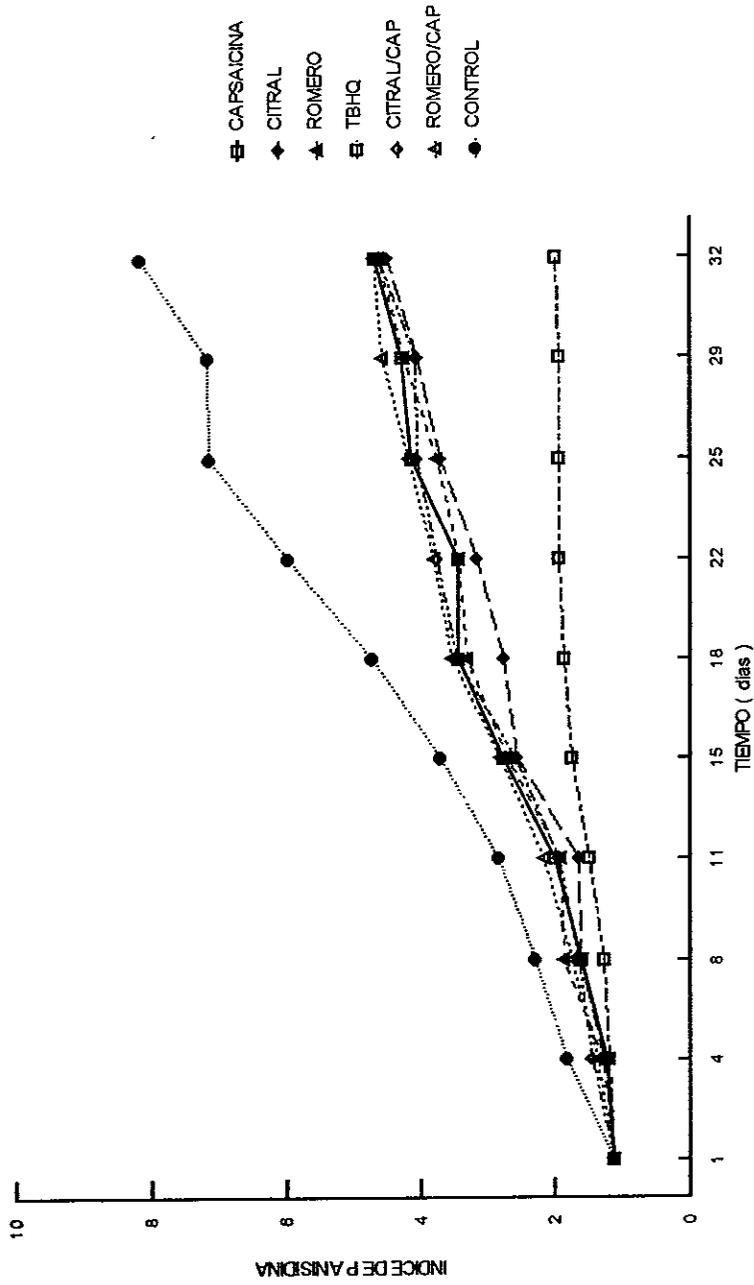
Este comportamiento lo podemos confirmar si analizamos los valores comparativos de estabilidad. La muestra con TBHQ es 4.08 veces más estable que el control, la muestra con citricidal 2.03 veces más estable y la mezcla citricidal/capsaicina resultó ser 2 veces más estable, la muestra con capsaicina es 1.87 veces más estable.

El incremento del índice de para-anisidina del aceite de soya almacenado a 37°C con respecto al tiempo se muestra en la gráfica 5, en esta gráfica se aprecia de manera muy clara el comportamiento similar que presentan los antioxidantes naturales, los cuales no presentan diferencias significativas entre ellos en cuanto a su eficiencia.

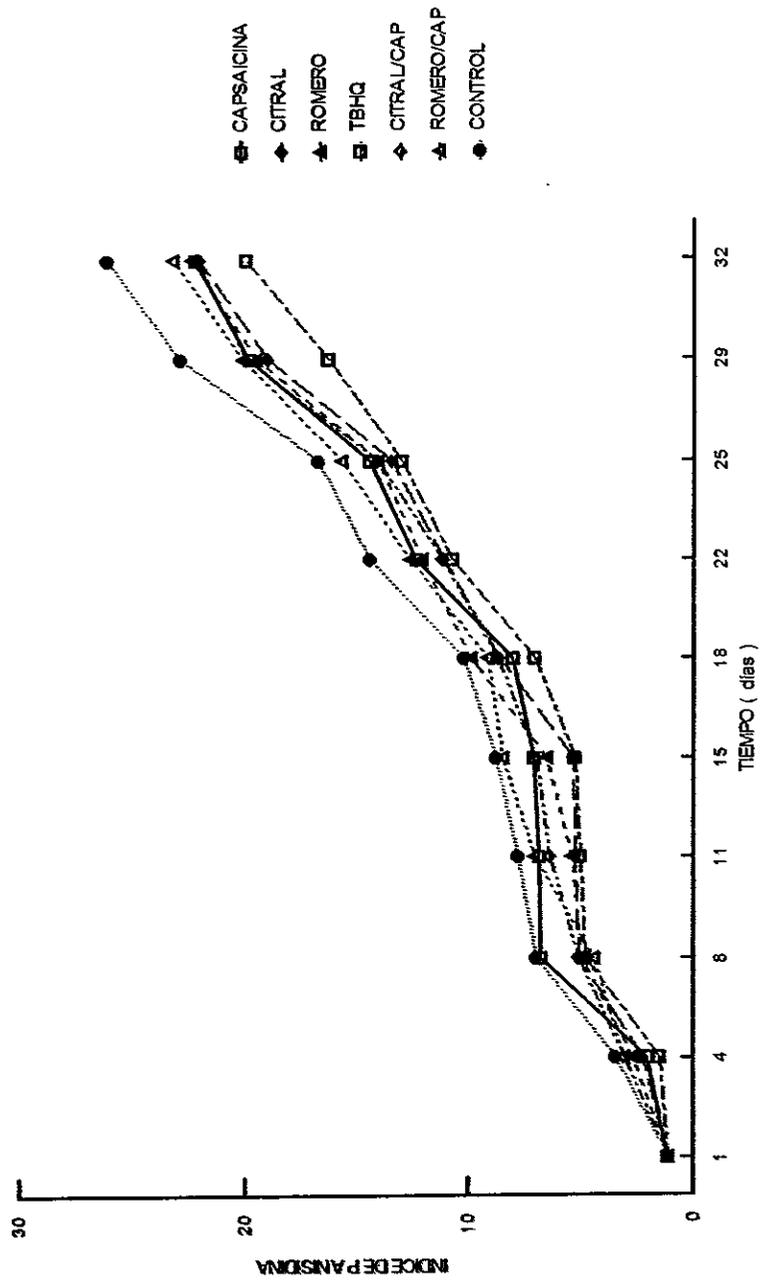
El aceite sometido a 70°C (gráfica 6), presentó un comportamiento muy similar al de la gráfica 3. En la gráfica se muestra un rápido incremento del índice de para-anisidina debido a que a esta temperatura los antioxidantes no otorgan protección. Los cálculos estadísticos muestran que no existen diferencias significativas en cuanto a la eficiencia de las muestras con los diferentes antioxidantes y la muestra control.

En el caso de las mezclas de antioxidantes, no se observó sinergismo de acuerdo con los resultados de índice de peróxidos y de para-anisidina ya que los resultados estadísticos revelan que no existen diferencias significativas entre los antioxidantes naturales.

GRÁFICA 5: ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 37°C



GRÁFICA 6: ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 70°C



De acuerdo con las gráficas 7 y 8 que muestran los valores de Z para los diferentes antioxidantes (Log D vs temperatura), podemos observar que a mayor valor de Z mayor es la degradación del aceite, así tenemos que para índice de peróxidos el valor de Z para el TBHQ es de 49, el de la muestra con capsaicina de 100 y el del control es de 345. Los comportamientos para los antioxidantes naturales son muy similares entre ellos, lo anterior confirma los resultados del análisis de varianza.

Es importante mencionar que los cambios sensoriales se evaluaron de manera sencilla (como observaciones experimentales únicamente), comparando al olfato los aceites al inicio y al final de la experimentación. Las muestras sometidas a 25°C y 37°C con los diferentes antioxidantes no presentaron cambios de olores rancios.

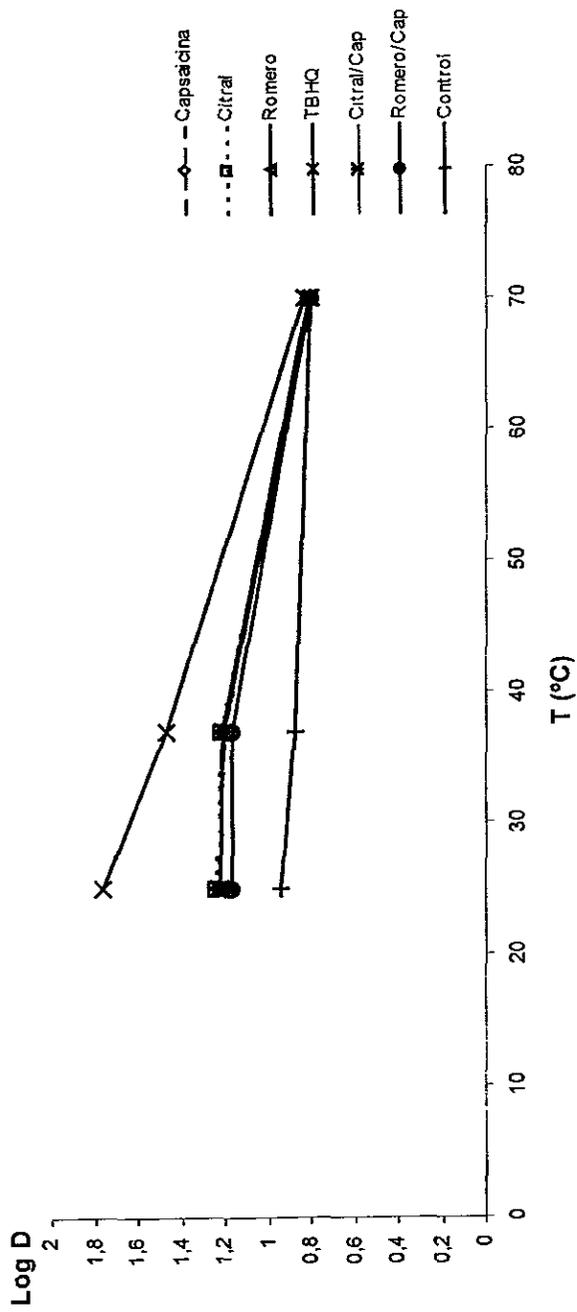
Para las muestras con antioxidantes sometidas a 70°C, se percibió olor rancio. En la muestra sin antioxidante se lograron percibir además de las notas rancias características, ciertas notas con olor a pescado.

La capsaicina, a pesar de ser un compuesto con características pungentes, a la concentración usada para el experimento (0.02%), no se percibió en el aceite notas irritantes, olor o sabor y tampoco hubo cambio visible en la coloración del aceite.

Es importante mencionar que en el caso de la muestra que contenía extractos de romero, el aceite en el inicio de la experimentación, presentó un olor ligeramente diferente a los demás (notas herbales), esto es muy importante porque este problema limita su uso en la industria alimentaria.

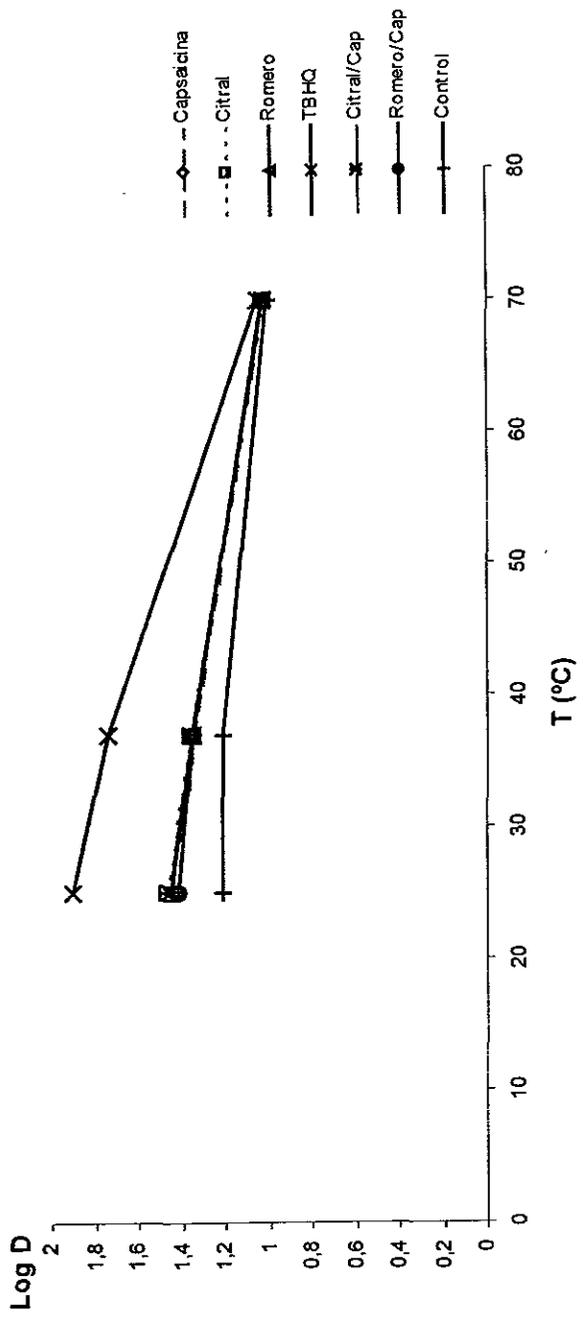
GRÁFICA 7: VALORES DE Z PARA CADA ANTIOXIDANTE (Log D VS. TEMPERATURA)

ÍNDICE DE PERÓXIDOS



GRÁFICA 8: VALORES DE Z PARA CADA ANTIOXIDANTE (Log D VS. TEMPERATURA).

ÍNDICE DE P-ANISIDINA



CAPÍTULO IV
CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

La capsaicina tiene acción antioxidante a nivel del 0.02% en el aceite de soya refinado y deodorizado. Se demostró que la actividad antioxidante de la capsaicina es comparable con la de los otros antioxidantes naturales (extractos de semillas de toronja y de romero) ya que de acuerdo con los resultados estadísticos, no se observaron diferencias significativas entre los antioxidantes naturales.

El antioxidante más eficiente según las pruebas de índice de para-anisidina e índice de peróxidos resultó ser el TBHQ. La muestra de aceite que contenía este antioxidante fue la que menos se degradó de acuerdo con los valores de "Z", así también la que mayor protección ofreció basándose en los resultados del valor comparativo de estabilidad "E". Se observaron diferencias significativas entre los antioxidantes naturales y el TBHQ.

Las mezclas de antioxidantes citricida-capsaicina y extractos de romero-capsaicina, no presentaron sinergismo, no se encontraron diferencias significativas entre las mezclas y los antioxidantes naturales.

A 70°C, los antioxidantes no ofrecen protección como tales ya que las condiciones de almacenamiento fueron muy drásticas.

En cuanto a las características sensoriales del aceite y como sugerencia, en trabajos futuros se podría correr un análisis sensorial mediante el entrenamiento de jueces analíticos que describan, analicen y evalúen la calidad y cambios sensoriales en el aceite de soya.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Frankel, E.N. "Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids". 1985. *Prog. Lipid Res.* Vol 23. 197-221.
- 2) Egan, Harold. "Análisis Químico de los Alimentos de Pearson." 1991 Ed. Continental, S.A. de C.V. 4ª Impresión. México.
- 3) Badui Dergal, Salvador. "Química de los Alimentos." 1990. Ed. Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. Segunda Edición. México.
- 4) Furia, Thomas E. "Handbook of Food Additives." 1972. Vol. 1 CRC Press. Cleveland U.S.A.
- 5) Valle Vega, Pedro. "Toxicología de Alimentos." 1991. ECO. 2ª Edición. México.
- 6) Furia, Thomas E. "Handbook of Food Additives." 1976. Vol. 2. CRC Press. Florida U.S.A.
- 7) "Tenox Food-Grade Antioxidants Manual". Publication No ZG-262C. September 1996. Eastman Chemical Company, Kingsport, TN 37662-5280 U.S.A.
- 8) Hudson, B.J.F. "Food Antioxidants." 1990. Elsevier Applied Science Publishers LTD. First Edition. Essex, England.

9) Garrido Fernández, M^a de la Luz. " Importancia de los Antioxidantes en la Industria Alimenticia." 1990. Tesis U.N.A.M. México.

10) Egan, Harold. "Análisis Químico de los Alimentos." 1987. Ed. Cecsa. 2^a Impresión. México.

11) Chun, H.; Kim, Z.U. 1991. " Headspace gas chromatographic analysis as an objective method for measuring rancidity in soybean oil.". Journal of the Korean Agricultural Chemical Society. 34(2).

12) Cuvelier, M.E.; Berest, C.; Richard, H. 1990. "Use of a new test for determining comparative antioxidative activity of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, alpha and gamma tocopherols and extracts from rosemary and sage". Science des Aliments. 10(4).

13) Shahidi, F.; Hong, C.. 1991. "Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products". Journal of Food Biochemistry. 15(2).

14) Löliger, J. 1991. "Natural antioxidants". Lipid Technology. 3(2).

15) Pérez, F.; Permanyer, J.J. 1986. "Estudio de las Alteraciones Termoxidativas de los aceites vegetales: aceite de oliva virgen y aceite de girasol refinado". Grasas y Aceites. Vol. 37 Fasc. 1.

16) M.C. Dobarganes, J.J. Ríos; M.C. Pérez-Camino. 1986 "Relaciones entre la composición de aceites vegetales y los componentes volátiles producidos durante su termoxidación". Grasas y Aceites. Vol. 37. Fasc. 2.

- 17) Masuda, T.; Nakatani, N. 1991. "Synthesis and absolute structure of (-)-Capsaicinol". *Agricultural and Biological Chemistry*. 55(9).
- 18) Giese, James. 1996. "Special Report: Antioxidants, Tools for Preventing Lipid Oxidation". *Food Technology*. 50(11). 73-80
- 19) Stier F. Richard, DiMarco Nancy, Blumenthal Michael, Farr Walter. 1997. "Guía de aceites comestibles-The National Cottonseed Products Association". *Alimentos Procesados*. 16(10).
- 20) Torrez Osorno Joaquín. 1997. "Antioxidantes: Barrera contra sabores y olores desagradables, frecuentes en alimentos elaborados con grasas y aceites comestibles". *Tecnología de Alimentos Industria y Mercado*. 32(5). 27-32
- 21) Manual de antioxidantes Embanox. Rhône-Poulec Chemicals Ltd., Oak House Reeds Crescent, Watford Hertfordshire WD1 1QH, 1995.
- 22) Sortwell R. Daniel. 1997. "Selección y uso de antioxidantes fenólicos". *Industria Alimenticia*. 8(8). 32-35
- 23) "Reglamento de Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios", *Diario Oficial de la Federación*, 18 de enero de 1988, México, D.F.
- 24) Giese James. 1995. "Special Report: Vitamin and Mineral Fortification of Foods". *Food Technology*. 49(5). 110-122
- 25) G.M. Sapers. 1993. "Scientific Status Summary: Browning of foods: Control by sulfites, antioxidants and other means". *Food Technology*. 47(10). 75-83.

- 26) Tamura Hirotohi, Yamagami Atsushi. 1994. "Antioxidant activity of monoacylated anthocyanins isolated from muscat bailey grape". *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 42(8). 1612-1615
- 27) Barbut Shai, Josephson David, Maurer Arthur. 1995. "Antioxidant Properties of Rosemary Oleoresin in Turkey Sausage". *Journal of Food Science*. Vol. 50. 1356-1359.
- 28) Manual de datos técnicos de HERBALOX®. Kalsec Inc. Publicación No. R-10. Junio 1988.
- 29) Kkuzaki Hiroe, Nakatani Nobuji. 1989. "Structure of a New Antioxidative Phenolic Acid from Oregano (*Origanum vulgare L.*)". *Agricultural and Biological Chemistry* 53(2). 519-524
- 30) Cuvelier Marie E, Berset Claudette, Hubert Richard. 1994. "Antioxidant Constituents in sage (*Salvia officinalis*)". *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 42(3). 665-669.
- 31) Kanner Joseph, Frankel Edwin, Granit Rina, German Bruce, Kinsella John E. 1994. "Natural Antioxidants in Grapes and Wines". *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 42(1). 64-69.
- 32) Chang S. Stephen, Ostric-Matijasevic Biserka, Hsieh Oliver A, Huang Cheng-Li. 1997. " Natural Antioxidants from Rosemary and sage". *Journal of Food Science*. 42(4). 1102-1106.

- 33) Iwai Kazuo, Suzukietsuya, Fujiwake Hideshi. 1979. "Formation and Accumulation of Pungent Principle of Hot Pepper Fruits, *Capsicum* and its Analogues, in *Capsicum annuum* var. *annuum* cv. Karayatsubusa at Different Growth Stages after Flowering". *Agricultural and Biological Chemistry*. 43(12). 2493-2498.
- 34) Bernal María, Calderón Antonio, Pedreño María, Muñoz Romualdo, Barceló Ros, De Cáceres Merino. 1993. "Dihydrocapsaicin Oxidation by *Capsicum annuum* (var. *annuum*) Peroxidasa". *Journal of Food Science*. 58(3). 611-613.
- 35) Iwai Kazuo, Suzukietsuya, Fujiwake Hideshi. 1982. "Capsaicinoid Formation in the Protoplast from the Placenta of *Capsicum* Fruits". *Agricultural and Biological Chemistry*. 46(10), 2591-2592.
- 36) Jinpin Yao, Muraleedharan G. Nair, Amitabh Chandra. 1994. "Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Scotch Bonnet (*Capsicum annuum*) and Quantification of Capsaicin and Dihydrocapsaicin". *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 42(6). 1303-1305.
- 37) Middleton E., Kandaswami. 1994. "Potencial Health-Promoting Properties of citrus Flavonoids". *Food Technology*. 48 (11). 115-121.
- 38) List G.R, Evans C.D., Kwolek W.F, Boundy B.K. 1974. "Oxidation and Quality of Soybean Oil: A preliminary Study of the Anisidine Test". *Journal of The American Oil Chemists' Society*. Vol. 51. 17-21.
- 39) Almeida-Dominguez N.G., Higuera-Ciapara I., Goycoolea F.M., Valencia M.E. 1992. "Package, Temperature and TBHQ Effects on Oxidative Deterioration of Corn-based Snacks". *Journal of Food Science*. 57 (1). 112-117.

- 40) Taylor Steve L. 1993. "Why Sulfite Alternatives?". *Food Technology*. 48 (19). 14
- 41) Block Gladys, Langseth Lillian. 1994. "Antioxidant Vitamins and Disease Prevention". *Food Technology*. 48 (7). 80-84
- 42) McCord Joe M. 1994. "Free Radicals and Prooxidants in Health and Nutrition". *Food Technology*. 48 (5). 106-116.
- 43) Manual de datos técnicos de CITRICIDAL®. Bio/Chem Research, Inc. Lakeport, CA 95453. 1995.
- 44) Diccionario de Especialidades de la Industria Alimentaria. 1985. Ediciones PLM. 8ª Edición. México.

ANEXOS

ANEXO No.1 MÉTODOS DE ANÁLISIS

ÍNDICE DE P-ANISIDINA

REACTIVOS

N-hexano

Solución de P-anisidina (2.5 g/l en ácido acético glacial).

METODOLOGÍA

Pesar con exactitud 0.5-4.0 g (M) de la muestra seca en un matraz volumétrico de 25ml. Disolver y diluir a la marca con iso-octano o con n-hexano.

Medir la absorbancia (A_1) de la solución a 350 nm en una celda de 10 mm contra un blanco de iso-octano.

Con pipeta tomar 5ml de la solución de la muestra a un tubo de ensayo de 10ml provisto de tapón y adicionar exactamente 1ml de solución de p-anisidina (2.5 g/l en ácido acético glacial) que contiene menos de 0.1% de humedad).

De manera similar, se determina un testigo con reactivos. Después de exactamente 10 minutos se determina la absorbancia (A_2) como se hizo con anterioridad, comparando con la determinación del blanco de reactivos.

$$I-pA = 25 \times (1.2 A_2 - A_1) / M$$

ÍNDICE DE PERÓXIDOS

REACTIVOS

1) Solución de cloroformo-ácido acético glacial (2:3 v/v).

2) Solución saturada de Yoduro de Potasio

Disolver 113g de Yoduro en 100ml de agua destilada, se decanta y se conserva en un frasco de boca esmerilada y obscuro. Diariamente debe realizarse la siguiente prueba: a 0.5ml de la solución de KI se adicionan 30ml de la solución de cloroformo-ácido acético, 2 gotas de almidón al 1%. Si la solución se torna azul y requiere más de una gota de solución de tiosulfato de sodio 0.1N para que el color desaparezca deberá prepararse una solución nueva.

3) Solución de tiosulfato de sodio 0.1N y 0.01N. Valorar ambas soluciones con Yodato de potasio.

METODOLOGÍA

Pesar una muestra de 5.00 +/- 0.05g de aceite en un matraz Erlen-meyer con tapón.

Adicionar 30ml del disolvente cloroformo-ácido acético y agitarse por rotación para disolver la muestra.

Adicionar 0.5ml de la solución saturada de KI con una pipeta Mohr.

Se tapa el matraz con tapón y esperar un minuto agitando de vez en cuando (dejándolo en la obscuridad por 5 minutos).

Adicionar 30ml de agua destilada.

Titular con la solución de tiosulfato de sodio 0.1N valorada con yodato.

Adicionar 0.5ml de la solución de almidón al 1% y continúese la titulación agitando vigorosamente hasta que desaparezca el color azul.

ANEXO No.2 RESULTADOS ÍNDICES DE PERÓXIDOS

ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 25°C

(meq/Kg)

TIEMPO (días)	CAPSAICINA	CITRICIDAL	ROMERO	TBHQ	CITRICIDAL/CAPSAICINA	ROMERO/CAPSAICINA	CONTROL
1	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531
5	0.0759	0.0610	0.0881	0.0550	0.0643	0.0691	0.0976
9	0.0880	0.0881	0.0884	0.0568	0.0901	0.1085	0.1213
12	0.1342	0.1420	0.1194	0.0584	0.1424	0.1774	0.2010
16	0.1606	0.1589	0.1669	0.0613	0.1733	0.1778	0.2258
19	0.1714	0.1722	0.1897	0.0682	0.1823	0.1905	0.4466
23	0.1886	0.1815	0.1900	0.0721	0.1971	0.2041	0.8311
26	0.2265	0.2036	0.2762	0.0793	0.2413	0.2955	1.3297
30	0.3014	0.2897	0.3210	0.0895	0.3103	0.4042	1.6864

ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 37°C

(meq/Kg)

TIEMPO (días)	CAPSAICINA	CITRICIDAL	ROMERO	TBHQ	CITRICIDAL/CAPSAICINA	ROMERO/CAPSAICINA	CONTROL
1	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531
5	0.0845	0.0645	0.0922	0.0548	0.0727	0.0856	0.0987
9	0.0921	0.0944	0.0955	0.0835	0.0951	0.1088	0.1237
12	0.1265	0.1494	0.1036	0.1034	0.1515	0.1804	0.2177
16	0.1675	0.1577	0.1623	0.1053	0.1715	0.1867	0.2487
19	0.1720	0.1789	0.1857	0.1094	0.1876	0.1925	0.4546
23	0.1897	0.1841	0.1982	0.1159	0.2006	0.2084	1.0777
26	0.2329	0.2119	0.2572	0.12257	0.2307	0.3023	1.9082
30	0.3401	0.3180	0.3298	0.1470	0.3439	0.4143	2.8989

ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 70°C

(meq/Kg)

TIEMPO (días)	CAPSAICINA	CITRICIDAL	ROMERO	TBHQ	CITRICIDAL/CAPSAICINA	ROMERO/CAPSAICINA	CONTROL
1	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531
5	0.4803	0.6187	0.4076	0.3704	0.8073	0.8511	0.9345
9	1.1174	1.5042	0.9685	0.6479	1.4387	1.7581	1.8300
12	1.9266	2.5157	1.5033	0.8049	2.2255	2.5481	2.5764
16	2.4869	3.0910	2.5148	2.1269	3.4141	3.9566	3.9777
19	2.9144	3.5522	2.7089	2.6132	3.5711	3.9616	4.1855
23	5.0144	4.9294	4.0283	3.2978	4.3186	4.9128	5.1360
26	5.1983	5.6309	4.7155	4.3111	5.2695	5.4685	5.8173
30	5.4890	5.7904	5.4722	4.5047	5.8792	6.2122	6.3198

ANEXO No.3 RESULTADOS ÍNDICE DE P-ANISIDINA

ÍNDICE DE P-ANISIDINA A 25°C

TIEMPO (días)	CAPSAICINA	CITRICIDAL	ROMERO	TBHQ	CITRICIDAL/ CAPSAICINA	ROMERO/ CAPSAICINA	CONTROL
1	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175
4	1.3997	1.2644	1.1384	1.1176	1.2313	1.5229	1.6688
8	1.4423	1.2748	1.7079	1.1545	1.6992	1.7251	2.2173
11	1.5218	1.4818	1.7219	1.1637	1.7025	2.1546	2.5606
15	2.5507	2.1717	2.5071	1.4953	2.3176	2.6835	3.6780
18	2.6061	2.5894	2.5989	1.5697	2.5572	2.7907	4.6647
22	2.9615	2.7696	3.0617	1.5911	2.8612	3.1817	5.8610
25	3.2342	2.9404	3.1678	1.6062	2.9752	3.4864	6.8880
29	3.3769	3.1692	3.4607	1.6266	3.1742	3.7399	7.1886
32	3.6681	3.2869	3.5320	1.6701	3.4252	3.8389	8.0265

ÍNDICE DE P-ANISIDINA A 37°C

TIEMPO (días)	CAPSAICINA	CITRICIDAL	ROMERO	TBHQ	CITRICIDAL/ CAPSAICINA	ROMERO/ CAPSAICINA	CONTROL
1	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175
4	1.2330	1.2714	1.2872	1.2012	1.6532	1.3776	1.8111
8	1.5979	1.6307	1.8661	1.5806	1.6610	1.7422	2.3021
11	2.5132	1.6630	1.9180	1.6033	1.9491	2.1807	2.8605
15	2.7807	2.5785	2.7323	1.7615	2.5948	2.8144	3.7264
18	3.4417	2.7835	3.3196	1.8753	3.4718	3.5514	4.7514
22	3.4530	3.1723	3.4473	1.9390	3.7823	3.8309	5.9943
25	4.1394	3.7382	3.7814	1.9514	4.0686	4.2118	7.1809
29	4.3117	4.0772	4.2738	1.9569	4.1066	4.6129	7.2188
32	4.6937	4.5355	4.6476	2.0096	4.4437	4.7203	8.2128

ÍNDICE DE P-ANISIDINA A 70°C

TIEMPO (días)	CAPSAICINA	CITRICIDAL	ROMERO	TBHQ	CITRICIDAL/ CAPSAICINA	ROMERO/ CAPSAICINA	CONTROL
1	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175	1.1175
4	2.0224	2.2116	2.6868	1.5219	3.0791	3.0674	3.4616
8	6.7458	5.0629	4.9718	4.8271	5.0869	4.4222	6.9713
11	6.8350	5.2094	5.3865	5.0456	6.3748	7.0838	7.8246
15	7.0868	5.3291	6.5525	5.2779	7.0113	8.4570	8.7594
18	8.0418	8.6526	9.9059	7.0268	8.6981	9.1511	10.1919
22	12.3261	11.1089	12.1118	10.7304	11.1772	12.5978	14.3993
25	14.4133	13.4530	14.0621	12.9554	14.0597	15.7075	16.7145
29	19.8202	19.0028	19.4919	16.2673	19.9318	20.0976	22.8888
32	22.2516	22.0832	22.3537	19.9431	22.1261	23.1842	26.1058

**ANEXO No.4 CÁLCULO DE LAS CONSTANTES DE DEGRADACIÓN
PARA LOS DIFERENTES ANTIOXIDANTES.**

VALORES DE "K" PARA CADA ANTIOXIDANTE.

ÍNDICE DE PERÓXIDOS

ANTIOXIDANTE	T		
	25°C	37°C	70°C
CAPSAICINA	0.05793	0.06189	0.15459
CITRAL	0.05661	0.05965	0.15637
ROMERO	0.05996	0.06087	0.15449
TBHQ	0.01740	0.03393	0.14800
CITRAL/CAPSAICINA	0.05883	0.06226	0.15688
ROMERO/CAPSAICINA	0.06765	0.06847	0.15872
CONTROL	0.11526	0.13331	0.15929

ÍNDICE DE P-ANISIDINA

ANTIOXIDANTE	25°C	37°C	70°C
CAPSAICINA	0.0371	0.0447	0.0933
CITRAL	0.0336	0.0437	0.0930
ROMERO	0.0359	0.0444	0.0934
TBHQ	0.0125	0.0183	0.0899
CITRAL/CAPSAICINA	0.0349	0.0430	0.0931
ROMERO/CAPSAICINA	0.0384	0.0449	0.0946
CONTROL	0.0615	0.0622	0.0983

Log D PARA CADA ANTIOXIDANTE

ÍNDICE DE PERÓXIDOS

ANTIOXIDANTE	25°C	37°C	70°C
CAPSAICINA	1.2373	1.2090	0.8110
CITRAL	1.2471	1.2247	0.8060
ROMERO	1.2225	1.2160	0.8113
TBHQ	1.7494	1.4698	0.8297
CITRAL/CAPSAICINA	1.2306	1.2062	0.8046
ROMERO/CAPSAICINA	1.1700	1.1649	0.7994
CONTROL	0.9385	0.8751	0.7980

ÍNDICE DE P-ANISIDINA

ANTIOXIDANTE	25°C	37°C	70°C
CAPSAICINA	1.4306	1.3496	1.031
CITRAL	1.4736	1.3595	1.0315
ROMERO	1.4449	1.3526	1.0296
TBHQ	1.9030	1.7375	1.0462
CITRAL/CAPSAICINA	1.4571	1.3665	1.0310
ROMERO/CAPSAICINA	1.4156	1.3477	1.0241
CONTROL	1.2111	1.2062	1.0074

VALORES DE "m" PARA CADA ANTIOXIDANTE

ANTIOXIDANTE	ÍNDICE DE PERÓXIDOS	ÍNDICE DE P-ANISIDINA
CAPSAICINA	-0.0100	-0.0090
CITRAL	-0.0104	-0.0098
ROMERO	-0.0098	-0.0093
TBHQ	-0.0203	-0.0194
CITRAL/CAPSAICINA	-0.0100	-0.0096
ROMERO/CAPSAICINA	-0.0088	-0.0089
CONTROL	-0.0029	-0.0048

ANEXO No.5 RESULTADOS ESTADÍSTICOS
ORIGIN 3.5 FOR WINDOWS.
NIVEL 0.2

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 25°C)

ANTIOXIDANTE	RESULTADOS
CAPSAICINA - CITRICIDAL	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - TBHQ	Son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - TBHQ	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CONTROL	Son significativamente diferentes.
ROMERO - TBHQ	Son significativamente diferentes.
ROMERO - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - CONTROL	Son significativamente diferentes.
TBHQ - CITRICIDAL / CAPSAICINA	Son significativamente diferentes.
TBHQ - ROMERO / CAPSAICINA	Son significativamente diferentes.
TBHQ - CONTROL	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.
ROMERO / CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 37°C)

ANTIOXIDANTE	RESULTADOS
CAPSAICINA - CITRICIDAL	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - TBHQ	Son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - TBHQ	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CONTROL	Son significativamente diferentes.
ROMERO - TBHQ	Son significativamente diferentes.
ROMERO - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - CONTROL	Son significativamente diferentes.
TBHQ - CITRICIDAL / CAPSAICINA	Son significativamente diferentes.
TBHQ - ROMERO / CAPSAICINA	Son significativamente diferentes.
TBHQ - CONTROL	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.
ROMERO / CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PERÓXIDOS A 70°C)

ANTIOXIDANTE	RESULTADOS
CAPSAICINA - CITRICIDAL	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - TBHQ	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CONTROL	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - TBHQ	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CONTROL	No son significativamente diferentes.
ROMERO - TBHQ	No son significativamente diferentes.
ROMERO - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - CONTROL	No son significativamente diferentes.
TBHQ - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
TBHQ - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
TBHQ - CONTROL	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL/CAPSAICINA-ROMERO/CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA - CONTROL	No son significativamente diferentes.
ROMERO / CAPSAICINA - -CONTROL	No son significativamente diferentes.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 25°C)

ANTIOXIDANTE	RESULTADOS
CAPSAICINA - CITRICIDAL	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - TBHQ	Son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - TBHQ	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CONTROL	Son significativamente diferentes.
ROMERO - TBHQ	Son significativamente diferentes.
ROMERO - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - CONTROL	Son significativamente diferentes.
TBHQ - CITRICIDAL / CAPSAICINA	Son significativamente diferentes.
TBHQ - ROMERO / CAPSAICINA	Son significativamente diferentes.
TBHQ - CONTROL	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL/CAPSAICINA-ROMERO/CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.
ROMERO / CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 37°C)

ANTIOXIDANTE	RESULTADOS
CAPSAICINA - CITRICIDAL	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - TBHQ	Son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - TBHQ	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CONTROL	Son significativamente diferentes.
ROMERO - TBHQ	Son significativamente diferentes.
ROMERO - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - CONTROL	Son significativamente diferentes.
TBHQ - CITRICIDAL / CAPSAICINA	Son significativamente diferentes.
TBHQ - ROMERO / CAPSAICINA	Son significativamente diferentes.
TBHQ - CONTROL	Son significativamente diferentes.
CITRICIDAL/CAPSAICINA-ROMERO/CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.
ROMERO / CAPSAICINA - CONTROL	Son significativamente diferentes.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ÍNDICE DE PARA-ANISIDINA A 70°C)

ANTIOXIDANTE	RESULTADOS
CAPSAICINA - CITRICIDAL	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - TBHQ	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CAPSAICINA - CONTROL	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - TBHQ	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL - CONTROL	No son significativamente diferentes.
ROMERO - TBHQ	No son significativamente diferentes.
ROMERO - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
ROMERO - CONTROL	No son significativamente diferentes.
TBHQ - CITRICIDAL / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
TBHQ - ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
TBHQ - CONTROL	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA-ROMERO / CAPSAICINA	No son significativamente diferentes.
CITRICIDAL / CAPSAICINA - CONTROL	No son significativamente diferentes.
ROMERO / CAPSAICINA - CONTROL	No son significativamente diferentes.