

17
21



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

DETERMINACION DE LA VIDA DE
ANAQUEL DE ACEITE SAZONADOR
CON CHILE CHILPOTLE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

DIANA GARCIA DELGADO

MEXICO, D. F.

1997.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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. Carreño Ortiz Hugo Rubén
Vocal	Prof. Leon Félix Marco Antonio
Secretario	Prof. Casillas Gomez Francisco Javier
1er. Suplente	Prof. Rodríguez Palacios Felipe de Jesus
2do. Suplente	Prof. Torres Avila Carlos A.
Sitio donde se desarrolló el tema:	
PROTEIN S.A. de C.V. (Depto. Investigación y Desarrollo) y Facultad de Química Edificio A., Lab. 4 A y 4 B., C'd. Universitaria. UNAM.	
Asesor del tema:	
 Hugo Rubén Carreño	
Supervisor técnico:	
 María Elena Fernández Palacios	
Sustentante:	
 Diana García Delgado	

**Dad gracias en todo , porque esta
es la voluntad de Dios para con
vosotros en Cristo Jesús.**

1 Tesalonicenses 5:18

**Señor gracias por todas las bendiciones que de tí he
recibido y en especial por permitirme terminar mi
carrera con gran satisfacción .
Eternamente GRACIAS... Amén.**

**Con Respeto y Admiración a mis Padres Alfredo García y
Herlinda Delgado .**

**Gracias por haberme dado libertad, confianza , apoyo sin límite y
sobre todo por heredarme la mejor de las herencias:
Mi formación profesional.**

**De igual manera dedico este trabajo a mis queridas
hermanas Maru y Eri por ser ejemplares y por su
apoyo moral presente en cada momento de mi vida**

**A la familia Rosales Ortuño con respeto y cariño por
sus consejos y apoyo incondicional en momentos
decisivos de mi vida**

**Con Respeto y Admiración al Q.F.B. Hugo Carreño
Ortíz por su acertada orientación para la realización de
este trabajo.**

Asimismo, a la Q.F.B. Ma. Eugenia Fernández Palacios con respeto y cariño por su gran apoyo y por todas las facilidades otorgadas , ya que sin su ayuda no se hubiese concluido este proyecto.

De igual manera extiendo mi agradecimiento al Departamento de Investigación y Desarrollo de PROTEÍN S.A. de C.V. :

Q.F.B. Olga Celia Pérez

Q.F.B. Raúl Manzano

Q.F.B. Ma. Félix Calva

Q.F.B. Francisco García

y a la Srita. Aurora Parada

por su apoyo y atinados comentarios que guiaron esta investigación.

GRACIAS por la confianza que depositaron en mi para realizar este proyecto y por todas sus enseñanzas tanto a nivel profesional como personal

ÍNDICE

	Páginas
OBJETIVOS	1
INTRODUCCIÓN	2
1. ANTECEDENTES	4
1.1. Definición de vida útil	4
1.1.1 Fecha de duración mínima	4
1.1.2 Fecha de caducidad	4
1.2. Diseño de pruebas de vida útil basadas en cinética química	5
1.2.1 Orden de reacción	5
1.2.2 Procedimiento gráfico simple de la vida útil	6
1.3. Índices de deterioro de los alimentos	8
2. Química de las grasas y aceites	10
2.1. Deterioro de los lípidos	13
2.1.1 Rancidez hidrolítica o lipólisis	13
2.1.2 Rancidez oxidativa	14
2.1.2.1 Autooxidación	14
2.1.2.2 Oxidación por lipoxigenasas	21
2.1.2.3 Reversion	21
3. Tipos de Antioxidantes	22
3.1.1 Antioxidantes Artificiales	22
3.1.2 Antioxidantes Naturales	27
3.2. Cómo actúan los antioxidantes	30
3.3. Beneficios de usar antioxidantes	32
4. Aspectos legislativos para el uso de antioxidantes en los alimentos	33
5. Algunos métodos para determinar el grado de oxidación de los lípidos	35
5.1. Evaluación Sensorial	36
5.2. Métodos Químicos	37

5.2.1.	Índice de Peróxido	37
5.2.2.	Prueba de Kreis	37
5.2.3	Índice del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)	38
5.3.	Otros métodos	39
6	DESARROLLO EXPERIMENTAL	40
6.1	Evaluación de la actividad antioxidante	41
6.1.1	Características de Oleoresina de tomate	42
6.1.2	Características de Terbutilhidroquinona (TBHQ)	43
7.	RESULTADOS	45
7.1	Índice de peróxido vs. Tiempo a 30°C de la muestra control	46
7.2	Índice de peróxido vs. Tiempo a 60 y 70°C con los diferentes antioxidantes empleados	47
7.3	Cálculo de las constantes de degradación "k" de cada antioxidante empleado	48
7.3.1.	Constantes de velocidad a 60°C	50
7.3.2.	Constantes de velocidad a 70°C	50
7.4	Cálculos para determinar el factor de calidad "Q ₁₀ " de cada antioxidante empleado	51
7.4.1	Factor de calidad "Q ₁₀ " y Vida útil estimados a temperatura ambiente para cada antioxidante empleado	52
8	ANÁLISIS DE RESULTADOS	53
9	CONCLUSIONES	56
10.	BIBLIOGRAFÍA	59

OBJETIVOS

Objetivo General

- Estimar la vida de anaquel del aceite sazonador através un método acelerado.

Objetivos específicos

- Evaluar la potencia de oleoresina de romero vs. Terbutilhidroquinona, antioxidante natural y sintético respectivamente.
- Comparar la estabilidad del aceite sazonador através de las constantes de degradación "k" de cada antioxidante.
- Calcular el factor de calidad " Q_{10} " y la vida útil estimados en base a la cinética química de reacción.

1. INTRODUCCIÓN

El aceite sazonador con chile chilpotle es un producto de aderezo para carne asada y ensaladas, desarrollado por "chefs", cuyo mercado es la industria restaurantera.

Se entiende por aderezo, el producto de sabor característico, picante o no, que resulta de la combinación de ingredientes alimenticios y condimentos, que se emplea para impartir sabor agradable a los platillos u otros productos alimenticios.

Este producto contiene alrededor del 97 % en peso de aceite vegetal comestible , chile chilpotle y ajo; debido a que está constituido, principalmente de ácidos grasos poli-insaturados altamente susceptibles a la oxidación, por lo que se manifiesta al poco tiempo de almacenamiento , turbidez del producto, y sensorialmente olor y sabor a rancio, características principales de la rancidez , por lo que se hace imprescindible el uso de antioxidantes para alargar su vida de anaquel.

La autooxidación se ha considerado como la fuente principal de deterioro de los aceites comestibles , asimismo la progresión de la rancidez oxidativa sigue un mecanismo vía radicales libres.

Los antioxidantes son los ingredientes principales para proteger la calidad de los alimentos y retardar la oxidación de lípidos , ya que previenen la formación de varios compuestos responsables del olor y sabor que resultan de su oxidación . Los antioxidantes fenólicos sintéticos , como el BHA (butilhidroxianisol) , BHT (butil hidroxitolueno) y TBHQ (terbutilhidroquinona) son los más comúnmente empleados en aceites y grasas por su alta efectividad, en una gran variedad de sistemas alimenticios , además de su alta estabilidad , bajo costo , y otras ventajas prácticas .

Las referencias bibliográficas indican que el TBHQ tiene un poder antioxidante superior, a los anteriores .

Sin embargo su inocuidad se ha cuestionado y son sujetos de investigaciones rigurosas por agencias del gobierno de los EE.UU. ya que se sospecha que son promotores de carcinogénesis y por lo tanto la tendencia general del consumidor, es rechazar los alimentos que contengan aditivos sintéticos.

Por esta razón , durante la última década , las alternativas de antioxidantes sintéticos han sido muy estudiadas y se han registrado y desarrollado otros antioxidantes de origen natural , potencialmente atractivos; ya que los nuevos antioxidantes podrían jugar un papel importante para combatir la carcinogénesis como un proceso de envejecimiento.

Huang et al (1989) reportó que los extractos de hojas de romero , tiene efectos inhibitorios en compuestos : que inducen la inflamación, en la actividad de la ornitina descarboxilasa, en la promoción de tumores y que también retardan la oxidación lipídica.

Por tales motivos el objetivo de este proyecto de investigación es predecir la vida de anaquel y comparar la estabilidad del aceite sazonador , empleando antioxidantes de alta potencia como oleoresina de romero y TBHQ mediante un método acelerado llamado Prueba de Schaal .

Las muestras se someten a (60 y 70°C) , para determinar el factor de calidad "Q10" con cada antioxidante y de ésta manera estimar la vida útil del producto.

Se espera que la oleoresina de hojas de romero tenga mayor eficacia frente al TBHQ puesto que en la oleoresina de romero coexisten 4 compuestos con actividad antioxidante. Las concentraciones a evaluar son de 1000 ppm para oleoresina de romero y 150 ppm para TBHQ.

El análisis realizado a los aceites , sometidos a oxidación acelerada, es el índice de peróxido.

1. ANTECEDENTES

1.1. DEFINICIÓN DE VIDA ÚTIL

Por vida útil de un producto se entiende el periodo de tiempo contado a partir de su elaboración, durante el cual se conserva una calidad adecuada para su consumo.

La legislación, a veces, indica que pruebas deben realizarse para asegurar una vida útil determinada, como en el caso de algunos productos lácteos. No obstante, en general, el fabricante debe diseñar ensayos que le permitan comprobar que sus productos van a permanecer en buen estado durante la distribución dentro de unos periodos de tiempo. Hay que distinguir entre los siguientes conceptos:

1.1.1. Fecha de duración mínima o fecha óptima de consumo.

Es la fecha hasta la cual el producto alimenticio mantiene sus propiedades específicas en condiciones de conservación apropiadas. Antes de esta fecha el producto alimenticio es todavía enteramente satisfactorio, como se sabe, esta fecha se expresa bajo la leyenda " Consumir preferentemente antes de ..."(2). Después de esta fecha el producto no es óptimo pero es apto para consumo humano.

1.1.2. Fecha de caducidad.

Fecha a partir de la cual el producto alimenticio no es apto para el consumo humano, y por tanto, no podrá comercializarse como tal. La fecha de caducidad es obligatoria en productos alimenticios perecederos en corto tiempo desde el punto de vista microbiológico.

Para determinar o estimar la vida útil de un alimento, pueden utilizarse varias metodologías de coste y de precisión variables. Dependiendo de los objetivos y circunstancias se debe sopesar cuidadosamente la elección más conveniente. Pueden agruparse en métodos predictivos a base de experiencias previas, métodos de simulación y ensayos reales de laboratorio.(2)

1.2.

DISEÑO DE PRUEBAS DE VIDA ÚTIL BASADAS EN LA CINÉTICA QUÍMICA

Debe quedar claro que existen dos procedimientos generales para predecir la vida útil de un producto. El método más común es elegir una situación desfavorable aislada a la que se somete el alimento, realizar dos o tres ensayos durante un periodo determinado y , generalmente, por métodos sensoriales extrapolar seguidamente los resultados (lo que frecuentemente es una especulación lógica) a las condiciones de almacenamiento normal. Otro proceder es suponer que determinados principios de cinética química son aplicables en lo que se refiere a la dependencia de temperatura, tales como la ecuación de Arrhenius, y recurrir a un diseño más complejo que, aunque más costoso, probablemente da mejores resultados. La clave de la base cinética es que ciertos principios se cumplen con carácter general.(8)

1.2.1 ORDEN DE REACCIÓN

La pérdida de calidad de la mayoría de los alimentos, según observaciones de Labuza (39:9 , 1985), se ajusta a las siguientes ecuaciones generales:

Reducción de una característica deseable

$$-\frac{dA}{dt} = k(A)^n \dots\dots\dots(I)$$

o

Aumento de una característica no deseable $+ \frac{dB}{dt} = k (B)^n \dots\dots\dots(II)$

en las que dA/dt o dB/dt es el cambio cuantitativo de A o B con el tiempo; (A) o (B) es la cantidad medida de la característica a cualquier tiempo, k es la constante de velocidad en unidades apropiadas y n es el orden de reacción, generalmente 0,1 ó 2. La mayor parte de los datos de vida útil para el cambio de una característica de calidad, basados en alguna reacción química o crecimiento microbiano , siguen un modelo de orden cero (n=0) o primer orden (n=1). Si los datos son de orden cero, se obtiene una gráfica lineal usando coordenadas lineales , mientras que si los datos son de primer orden se necesitan coordenadas logarítmicas para obtener una representación lineal.(8)

1.2.2. PROCEDIMIENTO GRÁFICO SIMPLE DE LA VIDA ÚTIL

Para un grado de alteración y orden de reacción determinados, la constante de velocidad es inversamente proporcional al tiempo requerido en alcanzar cierto grado de pérdida de calidad. Por tanto, la representación del log de la vida útil (log θ_1) frente a $1/T$ da una línea recta.

La ecuación de la recta es :

$$\ln \theta_1 = \ln \theta_0 - bT$$

en la que θ_0 es la vida útil a $T = 0$, θ_t es la vida útil a T , y

$$b = \frac{\ln Q_{10}}{10}$$

Donde b = pendiente de la ecuación.

Si se determina la relación de la vida útil a dos temperaturas distanciadas 10°C , puede hallarse el Q_{10} de la reacción (8, 2):

$$Q_{10} = \frac{\theta_s \text{ a } T}{\theta_s \text{ a } T + 10^\circ\text{C}}$$

ó

$$Q_{10} = \frac{k \text{ a la temperatura } (T+10)}{k \text{ a la temperatura } T}$$

Integrando la ecuación (II)

$$\int dB / B = \int k dt$$

Se obtiene $\ln B - \ln B_0 = k t$ ó $\ln B / B_0 = kt$

Despejando $k = 1 / t \ln B / B_0$

Donde B es el aumento de la característica no deseable.

1.3. ÍNDICES DE DETERIORO DEL ALIMENTO

El que un alimento conserve la calidad adecuada para su consumo se puede establecer midiendo ésta mediante un índice adecuado al que se impone un valor mínimo apropiado. En la práctica tal índice " Q_{10} ", se reduce a alguno de los siguientes criterios de deterioro, considerándolos de una forma aislada e integrándolos en un sistema de deméritos ponderados. No obstante, la construcción de un índice global de calidad permitiría una menos ambigua interpretación en éste como en otros aspectos del control de calidad.(2)

Como criterios aislados a tener en cuenta en la medida de la vida útil destacan los siguientes:

A) Características Sensoriales Anómalas

Aparición de características sensoriales anómalas en alguno o todos sus atributos (aspecto, sabor y textura). Como esta aparición es progresiva normalmente se mide mediante un panel de catadores utilizando una escala estructurada para asegurar la normalidad de la respuesta. El criterio que indica fallo del producto por deterioro sensorial se fija por un número de unidades en tal escala.

Este valor se determina tomando en cuenta la precisión del panel. Una cifra usual es de 2 puntos en una escala desde 1 (sin cambio apreciable o sin alteración) a 7 (cambio extremo o alteración extrema).

b) Color

Dentro de las características sensoriales, la evolución del color medido como tal o en función del deterioro de algún pigmento o de la formación de colores pardos constituye un buen índice de deterioro.

c) Microbiológicos

Otro criterio para fijar la alteración es la presencia de microorganismos en cantidad tal que haga al alimento insalubre o no apetecible.

d) Rancidez

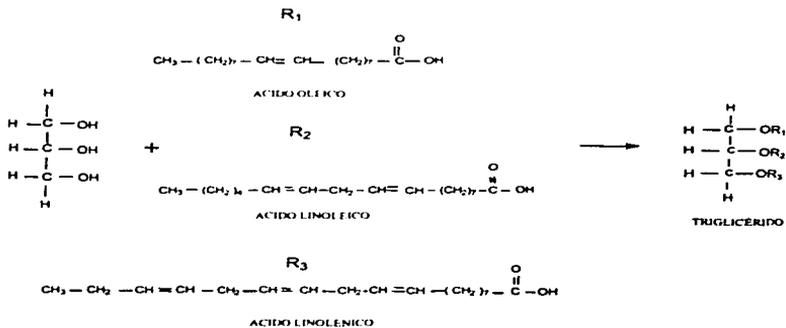
Cuando hay grasas la rancidez es otro de los criterios de deterioro. En una escala de 1 a 5 para la rancidez, detectada sensorialmente, se ha tomado como índice de deterioro un incremento de 3 puntos. (2)

2. QUÍMICA DE LAS GRASAS Y ACEITES

De las tres clases más importantes de nutrientes, los carbohidratos, las proteínas y las grasas, éstas últimas pertenecen a una clase muy numerosa de sustancias llamadas lípidos.

Los componentes esenciales de los lípidos son los ácidos carboxílicos alifáticos, conocidos como ácidos grasos ó triglicéridos.

Estructuralmente un triglicérido es el producto de condensación de una molécula de glicerol con tres moléculas de ácidos grasos para dar una molécula de triglicérido más agua.



Los ácidos grasos se dividen en dos grupos principales: los saturados y los insaturados.(3)

ÁCIDOS GRASOS SATURADOS (1)

NOMBRE TRIVIAL	NOMBRE CIENTÍFICO	FORMULA
Butírico	Butanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_2 \text{COOH}$
Caproico	Hexanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_4 \text{COOH}$
Caprílico	Octadecanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_6 \text{COOH}$
Cáprico	Decanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_8 \text{COOH}$
Láurico	Dodecanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10} \text{COOH}$
Mirístico	Tetradecanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12} \text{COOH}$
Palmitico	Hexadecanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{14} \text{COOH}$
Estearico	Octadecanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{16} \text{COOH}$
Araquídico	Eicosanoico	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{18} \text{COOH}$

ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS (1)

NOMBRE TRIVIAL	NOMBRE CIENTÍFICO	FORMULA
Palmítico	Hexadeca-9-enoico	$\text{CH}_{15} \text{H}_{29} \text{COOH}$
Oleico	Octadeca-9-enoico	$\text{CH}_{17} \text{H}_{33} \text{COOH}$
Linoleico	Octadeca - 9:12 - dienoico	$\text{CH}_{17} \text{H}_{31} \text{COOH}$
Linolénico	Octadeca - 9:12:15 - trienoico	$\text{CH}_{17} \text{H}_{29} \text{COOH}$
Araquidónico	Eicosa-5:8:11:14-tetraenoico	$\text{CH}_{19} \text{H}_{31} \text{COOH}$
Vaccenoico	Octadeca - 11 - enoico	$\text{CH}_{17} \text{H}_{32} \text{COOH}$

La mayoría de los aceites vegetales contienen ácidos grasos insaturados, y éstos son muy sensibles al ataque del oxígeno en los puntos de insaturación, **TABLA I.** (11)

Los ácidos grasos poli-insaturados (que poseen 2 ó más dobles ligaduras) cumplen ciertas funciones fisiológicas importantes, pero como no pueden sintetizarse en el cuerpo con suficiente rapidez, deben suministrarse en los alimentos. También se les conoce como ácidos grasos esenciales. El ácido linoléico es el miembro más importante y abundante de este grupo. (3)

TABLA I.

COMPOSICIÓN APROX. (%) DE ÁCIDOS GRASOS DE ALGUNOS ACEITES VEGETALES COMESTIBLES

Fuente del Alimento	Ácido graso Saturado		Ácido graso Insaturado		
	Palmitico	Estearico	Oleico	Linoleico	Linoléico
Aceite de maiz	10.9	1.8	24.2	58.0	0.8
Aceite de oliva	11.0	2.2	72.5	7.9	0.8
Aceite de cártamo	4.8	1.3	75.3	14.2	-
Aceite de ajonjolí	8.9	4.8	39.3	41.3	0.3
Aceite de semilla de soya	10.3	3.8	22.8	51.0	8
Aceite de girasol	5.9	4.5	19.5	65.7	0.2

2.1. DETERIORO DE LOS LÍPIDOS

Las grasas y los aceites son susceptibles a diferentes reacciones de deterioro que reducen el valor nutritivo del alimento, y además, 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 o enzimática, y a que los ácidos grasos insaturados son sensibles de reacciones de oxidación. (1).

El deterioro de los lípidos se ha dividido en 3 grupos de reacciones:

- *Rancidez hidrolítica o lipólisis
- *Rancidez oxidativa
- * Reversión

2.1.1. RANCIDEZ HIDROLÍTICA O LIPÓLISIS.

Este tipo de rancidez, se debe a la acción de enzimas lipolíticas sobre los enlaces éster de los triacilglicéridos de las grasas, liberando así, ácidos grasos y glicerol que se caracterizan por producir un sabor "jabonoso". es muy notable en alimentos que contienen altas concentraciones de ácidos volátiles de cadena corta (C_4 - C_{12}) como los productos lácteos. Sin embargo, los alimentos de cadena larga, (que son la mayoría de las grasas y aceites de la industria alimentaria), no se percibe la rancidez hidrolítica aún cuando exista actividad de la enzima.

La fuente y el origen de las enzimas puede ser el propio alimento o bien una contaminación microbiana por levaduras, hongos y bacterias.

2.1.2. RANCIDEZ OXIDATIVA.

Las reacciones de oxidación de los lípidos se dividen en dos grupos principales (1):

- a) Acción directa del oxígeno sobre las dobles ligaduras de los ácidos grasos insaturados (autooxidación).
- b) Acción enzimática de la lipoxigenasa y de la alcohol deshidrogenasa

2.1.2.1. AUTOXIDACIÓN

A su vez, la autooxidación de los lípidos se ha dividido en 2 áreas generales (15):

- 1) La oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados que dan productos polimerizados; y
- 2) La oxidación de los ácidos moderadamente insaturados que producen compuestos volátiles impartiendo olores y sabores desagradables además de otros fenómenos como el de la reversión del sabor.

Sin embargo, los ácidos grasos insaturados no son los únicos constituyentes de los alimentos que se oxidan; los componentes que le imparten olor, color y sabor como los pigmentos, fosfátidos y aceites esenciales, de igual manera algunas vitaminas, también son propensas a la oxidación. El común denominador de todas estas sustancias es la presencia de dobles ligaduras en su estructura química

(1).

La intensidad y la forma de oxidación, así como los compuestos que se producen, dependen en gran parte, de las condiciones de oxidación como la temperatura, la presencia de catalizadores, estado de dispersión de la grasa, tipo de ácido graso, distribución y geometría de la doble ligadura y cantidad de oxígeno disuelto. (1, 15).

El ácido linoléico es el principal ácido graso poliinsaturado de las grasas comerciales, por lo que el mecanismo de la reacción de oxidación se encontró a partir de sistemas modelo empleando éste ácido graso (1, 15)

La oxidación de los lípidos es auto catalítica y tiene la característica de ser una reacción en cadena que consta esencialmente de 3 pasos: iniciación, propagación y terminación.

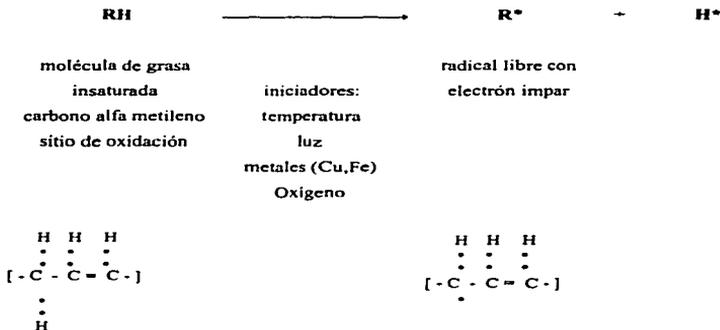
(1 , 15)

Reacción de 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 se puede unir fácilmente.

En el siguiente diagrama se muestra que el primer paso en la oxidación de los lípidos es la generación de un radical libre de una molécula de grasa insaturada. (fig. I).

Figura I.
INICIACIÓN
Generación de radicales libres



Un radical libre es un átomo o molécula que tiene un electrón impar. La mayoría de los radicales libres son extremadamente reactivos porque tienden a ganar un electrón adicional para completar el par. La generación de radicales libres de grasas insaturadas es acelerada por:

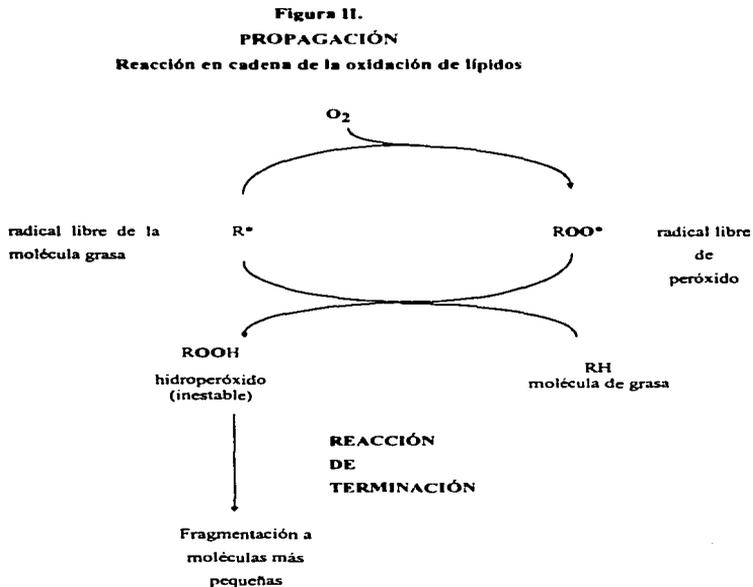
- temperatura
- luz
- oxígeno
- metales como hierro y cobre

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.

Asimismo, mientras más saturada es la grasa , mayor será la tendencia a formar radicales libres.(14)

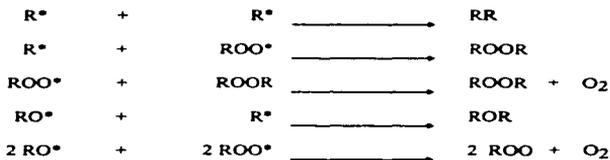
Reacción de propagación

El radical hidropéroxido reacciona con nuevos ácidos grasos, formando más radicales libres con lo cual se inicia la reacción en cadena mostrada en la figura II



Reacción de terminación

El paso final de las reacciones de oxidación se efectúa a través de reacciones de condensación formando compuestos muy estables ; por tanto , termina cuando ya no existen radicales libres activos:



Las reacciones de descomposición de los hidroperóxidos formados en la etapa de propagación producen diferentes compuestos como peróxidos, aldehidos, cetonas, ácidos, epóxidos, polímeros, y cetoglicéridos; algunos de los cuales, son los responsables de las propiedades sensoriales de las grasas oxidadas. **TABLA II. (1).**

Además de su descomposición, los peróxidos tienen la capacidad de interaccionar con otros constituyentes de los alimentos como proteínas y pigmentos, reduciendo así su valor nutritivo y generando sustancias cuya naturaleza química puede ser dañina para la salud del hombre .

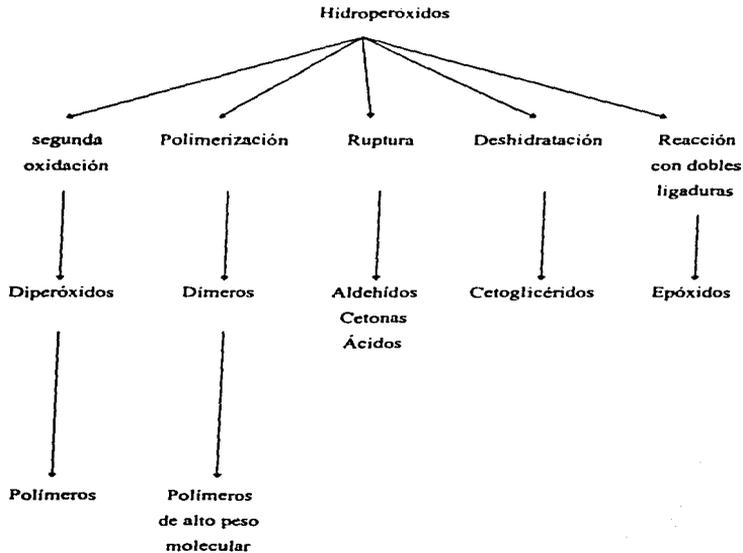
Los peróxidos pueden destruir vitaminas como la A , la tiamina y otras, al igual que varios aminoácidos; la destrucción de lisina y de histidina se ha comprobado en sistemas modelo. (1).

En general, durante la autoxidación de los lípidos (14):

- 1) Los productos primarios son insípidos e inodoros.
- 2) A altas temperaturas y/o niveles de oxidación, se forman varios compuestos no volátiles que son inodoros pero que imparten sabor desagradable.
- 3) Posteriormente se forman aldehídos, cetonas y otros compuestos volátiles de cadena corta que ocasionan olores y sabores desagradables muy intensos.

TABLA II.

REACCIONES DE DESCOMPOSICIÓN DE LOS HIDROPERÓXIDOS



2.1.2.2. OXIDACIÓN POR LIPOXIGENASAS.

Las enzimas efectúan una oxigenación en lugar de una oxidación, adicionando dos átomos de oxígeno a cada molécula de ácido graso, con lo que se forman hidroperóxidos cis-trans ópticamente activos, que causan los mismos problemas y tienen mecanismos de reacción semejantes a los descritos en la autoxidación. Los sustratos específicos de las enzimas son ácidos grasos insaturados que contienen como mínimo, una unidad de cis-1,4 pentadieno (-CH=CH-CH₂-CH=CH-). La enzima no actúa sobre los ácidos grasos con sistemas conjugados de insaturación, ni en ácidos con doble ligadura en posición trans. (1).

2.1.2.3. REVERSIÓN

Es un fenómeno que no está muy relacionado con la oxidación de los lípidos, pues sucede aun en productos con bajo índice de peróxido y, además, el olor producido es diferente al de las grasas rancias. Los olores y sabores producidos por el fenómeno de reversión se describen como "a semillas", "a pintura" y finalmente "a pescado".

Entre los compuestos producidos durante este fenómeno se han aislado el diacetilo, el 2n-pentilfurano, el ácido málico, el acetaldehído, el 2,4-pentadieno y otros.

Parece ser que el ácido linoléico es el mayor precursor de la reversión de los aceites; sin embargo, el mecanismo de la reacción no es totalmente conocido. Se sabe que algunos factores como la temperatura, ciertos iones metálicos y algunas radiaciones electromagnéticas la aceleran; mientras que la presencia de oxígeno, no tiene mucha influencia. (1).

3. TIPOS DE ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes se clasifican en naturales y artificiales.

3.1.1. Antioxidantes Artificiales

La mayoría de los antioxidantes, artificiales usados comúnmente en la industria alimentaria, están constituidos por un anillo aromático insaturado y grupos hidroxilo que funcionan como donadores de electrones o átomos de hidrógeno (1,15). La potencia de cualquiera de estos aditivos se puede alterar si se modifica su estructura química añadiendo ciertos grupos activos dentro del núcleo aromático; por ejemplo, la sustitución de grupos alquilo en posición orto o para, aumenta sus capacidad antioxidante(1) y provocan que sean menos volátiles y más solubles en grasas y aceites (15); estos grupos estabilizan la molécula, puesto que sus radicales intermedios son relativamente estables debido a la deslocalización de electrones por resonancia y a la falta de posiciones apropiadas para ser atacados por el oxígeno molecular; sin embargo, es muy importante tomar en cuenta la longitud de la cadena y la ramificación de la cadena de átomos de carbono usados como sustituyentes del grupo aromático, pues si estos son demasiado grandes, provocarán un impedimento estérico hasta el punto en que el aditivo no sea efectivo contra la oxidación (15).

En la bibliografía se menciona que la eficacia de un antioxidante está relacionada con muchos factores, como la energía de activación, las constantes de velocidad, el potencial

óxido- reducción, su solubilidad, pero también la eficacia del antioxidante (AH) aumenta al disminuir la fuerza del enlace A-H. (8)

A este tipo de antioxidantes pertenecen:

Butilhidroxianisol (BHA)

Butilhidroxitolueno (BHT)

Galatos de Alquilo (Ácido gálico, Propilgalato, Galato de octilo, Galato de laurilo)

Monoterbutilhidroquinona o Terbutilhidroquinona (TBHQ)

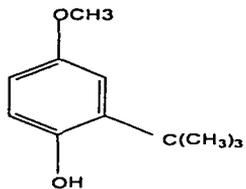
4-Hidroximetil-2,6-diterbutilfenol

Ácido Nordihidrido guayarético (NDGA)

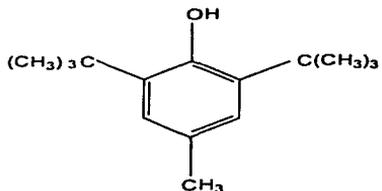
Las estructuras de estos antioxidantes se presentan en la figura V.

Los antioxidantes usados comúnmente son sintéticos, y la posibilidad de sus efectos toxicológicos han sido tema de investigaciones rigurosas en los últimos años por agencias del gobierno de los EE.UU (12,16) ya que se sospecha que son promotores de carcinogénesis y por lo tanto la tendencia general del consumidor es rechazar los alimentos que contengan aditivos sintéticos o artificiales (16).

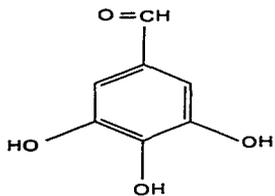
Figura V.
Estructuras de antioxidantes sintéticos



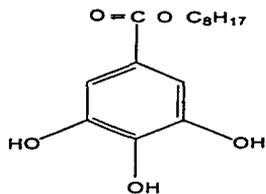
BHA



BHT

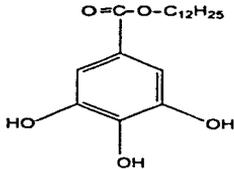


ACIDO GÁLICO

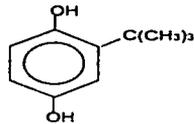


GALATO DE OCTILO

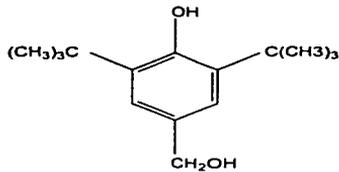
Figura V.
Estructuras de antioxidantes sintéticos



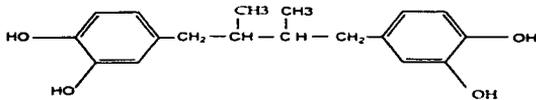
GALATO DE LAURILO



TBHQ



4-HIDROXIMETIL-2,6-DITERBUTILFENOL



ACIDO NORDIHIDRIDO GUAYARÉTICO (NDGA)

Se ha demostrado que los antioxidantes butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT) son inofensivos a niveles de hasta 50 mg/kg./día que es 500 veces la cantidad consumida por el hombre.

El BHA es en realidad una mezcla de dos isómeros, el 3-terbutil-4-hidroxianisol y 2-terbutil-4-hidroxianisol el cual tiene una DL_{50} (dosis letal media) oral para ratas de 2.2g/kg., con la ventaja de que el cuerpo humano lo elimina rápidamente (aprox.80% en 24 horas), mientras que BHT tiene una DL_{50} oral para ratones de 1.04 g/kg . pero el organismo humano lo absorbe en pequeñas cantidades (1).Sin embargo, a concentraciones altas (500 mg/kg), tanto BHA como BHT ocasionan alteraciones enzimáticas patológicas en el hígado y en otras zonas como la mucosa y el tracto gastrointestinal (et. al. Branen , J.A.O.C.S. 52:59 , 1977).

3.1.2. Antioxidantes Naturales

Los grupos de compuestos naturales que han sido estudiados por sus propiedades antioxidantes son :

- Aminoácidos y proteínas
- Tocopheroles (vitamina E) y ácido ascórbico
- compuestos fenólicos

Debido a que este trabajo está enfocado al uso de oleorresina de romero , sólo se hará énfasis en los compuestos de tipo fenólico.

Durante la última década , las alternativas de antioxidantes sintéticos han sido estudiadas (16) y se han desarrollado otros antioxidantes de origen natural , potencialmente atractivos; ya que se ha encontrado que estos antioxidantes podrían jugar un papel importante para combatir la caremógenésis como un proceso de envejecimiento.

Se han aislado e identificado algunos compuestos fenólicos como las isoflavonas y derivados del ácido cinámico de semillas oleaginosas, como la soya , el cacahuete y el algodón que responden a la actividad antioxidante de sus extractos; sin embargo ciertos flavonoides y derivados del ácido cinámico, sirven como sustrato para un oscurecimiento enzimático y pueden acarrear problemas dentro del marco toxicológico como es el caso del gósipol, polifenol abundante en la semilla de algodón.

De igual manera, se han encontrado compuestos fenólicos con actividad antioxidante en el romero, la salvia, el clavo, y en general las especias. (Rodríguez palacios F.J. Tec. Alim. 19:26)

Las hojas de romero son comúnmente usadas como especia y agente saborizante. Investigaciones recientes, han presentado que los extractos de hojas de romero retardan la oxidación lipídica, puesto que se han aislado e identificado, ciertos compuestos fenólicos de actividad antioxidante de las hojas de romero. El componente mayoritario del extracto de hojas de romero, es el carnosol, y se ha demostrado que presenta actividad inhibitoria similar al que presenta el extracto de hojas de romero (12). Wu. Et. al. (18) en 1984 demostró que este extracto de antioxidantes en conjunto, tienen una mayor actividad que el antioxidante artificial BHA y comparable con la del BHT cuando se agregaron a una concentración de 0.02% en grasa de cerdo.

Asimismo se ha publicado que la adición del extracto de hojas de romero que contiene dichos compuestos con actividad antioxidante, inhibe la carcinogénesis.

Huang et al. (1989) reportó que los extractos de hojas de romero, tiene efectos inhibitorios en los siguientes compuestos: en el 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) que induce inflamación, en la actividad de la ornitina descarboxilasa y en la promoción de tumores.

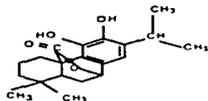
Los cinco compuestos que predominan en el extracto de hojas de romero son:

Carnosol, Rosemanol, Ácido carnósico, Rosemaridifenol, y Ácido ursólico (12). Siendo este último el compuesto que no tiene actividad antioxidante.

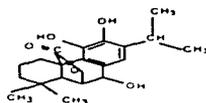
La estructura de estos compuestos fenólicos se presenta en la figura VI.

En esta sección cabe señalar que algunos investigadores han presentado evidencia de que la vitamina E y otros antioxidantes fenólicos retardan el envejecimiento y previenen el desarrollo del cáncer, del mismo modo existe cierta evidencia de que la vitamina E protege al tejido pulmonar de daños causados por el bióxido de nitrógeno. Sin embargo, estos estudios son sugerentes, no concluyentes (14).

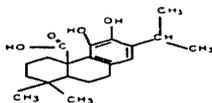
Figura VI.
Estructuras de los compuestos fenólicos con
actividad antioxidante de la oleoresina de romero



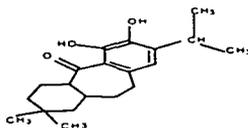
CARNASOL



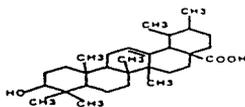
ROSMANOL



ACIDO CARNOSIDICO



ROSEMARIDIFENOL



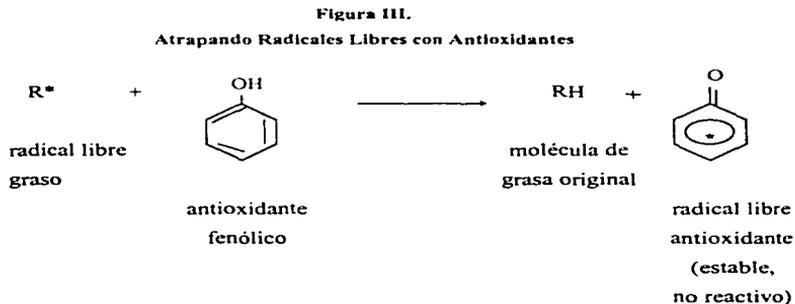
ACIDO URSÓLICO

3.2. COMO ACTÚAN LOS ANTIOXIDANTES

Véase que una vez que el radical libre inicia la reacción en cadena, ésta continua indefinidamente porque genera un radical libre fresco durante cada ciclo. Por eso, una vez que el radical libre se forma, comienza un proceso continuo de degradación, en ambos: en alimentos y en el cuerpo humano.

Por eso es crítico evitar la formación de los radicales libres o "amarrar" los radicales libres que han sido formados.

Los antioxidantes reaccionan con los radicales libres para formar compuestos conocidos como "radicales libres antioxidantes". Estos compuestos son estables y no son reactivos. Este proceso se llama "atrapando radicales libres" y se muestra en el siguiente diagrama (14):

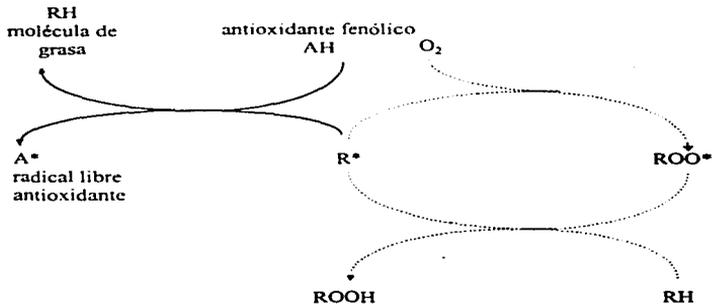


Los antioxidantes más efectivos son de tipo fenólico, como se muestra en el diagrama, y funcionan efectivamente porque su estructura anular estabiliza el electrón impar. De esta manera se frena la reacción en cadena de la oxidación de lípidos.

A continuación se presenta un diagrama que muestra esquemáticamente, la terminación de la reacción en cadena.

Figura IV.

La terminación de la reacción en cadena



3.3. BENEFICIOS DE USAR ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes fenólicos previenen o retardan la oxidación de lípidos. Así protegen a los alimentos y al cuerpo humano de los efectos negativos de esta oxidación.

En alimentos , los antioxidantes protegen el valor nutricional de tres maneras:

- a) Previenen la degradación de vitaminas liposolubles y de algunos otros nutrientes, como los ácidos grasos esenciales.
- b) Previenen la producción de sabores y olores rancios y muy desagradables que resultan de la oxidación de lípidos.
- c) Previenen la generación de sustancias químicas tóxicas, como peróxidos, hidroperóxidos, cetonas y ácidos. Estos compuestos se ingieren como parte de los alimentos en los cuales ha ocurrido la oxidación .

Durante el almacenamiento y distribución de los alimentos, los antioxidantes prolongan el periodo de inducción de la reacción oxidativa, ya que se activan o comienzan a reaccionar con los radicales de la molécula grasa, previniendo su oxidación.

Al ingerir los alimentos, algunos de los antioxidantes fenólicos que permanecen todavía activos se absorben en el cuerpo humano .

Los antioxidantes son esenciales para la salud humana. Por ejemplo , la vitamina E (o alfatocoferol) es una antioxidante fenólico y debe consumirse regularmente como parte de la dieta humana. Específicamente la vitamina E y otros de los antioxidantes fenólicos protegen al cuerpo humano de estas maneras:

- a) Protegen las membranas de las células contra los daños ocasionados por radicales libres.
- b) Protegen varios tejidos y ayudan a sanar los mismos después de sufrir quemaduras ó cirugías.
- c) Mantienen la integridad de la vitamina A. (14)

4. ASPECTOS LEGISLATIVOS PARA EL USO DE ANTIOXIDANTES EN ALIMENTOS

Los antioxidantes primarios o fenólicos que están aprobados para usarse como aditivos en alimentos por la Secretaría de Salud (14) son los siguientes:

Alfatocoferol	Galato de propilo
BHA	TBHQ
BHT	Tocoferoles mixtos

El nivel de uso de los antioxidantes primarios es muy bajo, típicamente 0.02% basado en el peso de la grasa del producto alimenticio.

Además de los antioxidantes primarios mencionados en esta lista, existen otros ingredientes usados en productos alimenticios que contienen antioxidantes fenólicos. Estos pueden ser usados para cambiar el sabor del alimento y para otros propósitos, pero también proveen cierta clase de protección antioxidante; ejemplos de estos ingredientes son las especias y extractos de especias.

Los antioxidantes secundarios también retardan la oxidación de lípidos pero lo hacen indirectamente. Pueden atrapar iones de metal que actúan como catalíticos para la producción de radicales libres o pueden reaccionar preferentemente con el oxígeno y por lo tanto bajar la cantidad de oxígeno disponible. Se recomienda usar una combinación de antioxidantes primarios y secundarios ya que funcionan sinérgicamente.

Los antioxidantes secundarios aprobados por la Secretaría de Salud (14) para usarse como aditivos en alimentos son los siguientes:

Ácido ascórbico	Ascorbato de sodio
Acido eritórbico	Eritorbato de sodio
Ascorbato de calcio	Palmitato de ascorbilo

La mayoría de estos son hidrosolubles, , excepto el palmitato de ascorbilo es liposoluble (14).

La nuevas disposiciones gubernamentales en lo que se refiere a antioxidantes para alimentos "Generalmente Reconocidos Como Seguros" (GRAS), se pueden encontrar en el "Código de Regulaciones Federales" (Code of Federal Regulations") parte 21.187. (4)

Una de las pruebas más importantes que requiere la "Administración de Alimentos y Drogas" (Food and Drugs Administration) (FDA) para reconocer a un aditivo como seguro (et. al. Coppens, Food., 7:49, 1985) , es la llamada "Dosis Letal Media", en la que se suministra una dieta con el aditivo a animales como ratas, conejos y , perros realizando un examen histopatológico periódicamente. De igual manera , se estudia la ruta metabólica del aditivo y los efectos bioquímicos de los metabolitos producidos. La dosis letal media indica la dosis del aditivo en la cual la mitad de los animales de experimentación muere.

Para ser considerado como seguro, un aditivo debe tener una dosis letal media de no más de 1g/kg. basado en el peso del cuerpo del animal, además, no debe causar efecto significativo en el crecimiento del animal cuando se suministre una dieta durante un periodo de dos años que contenga 100 veces mas la cantidad del aditivo propuesto para el humano (15).

5. ALGUNOS MÉTODOS PARA DETERMINAR EL GRADO DE OXIDACIÓN DE LOS LÍPIDOS

Antes de hacer una revisión de los métodos químicos para determinar el grado de oxidación de los lípidos , es necesario aclarar las diferencias que existen entre las "pruebas de susceptibilidad a la oxidación" y las pruebas que determinan el "grado de oxidación" de los lípidos.

Las pruebas de susceptibilidad miden la estabilidad de los lípidos sometiéndolos a condiciones drásticas que favorecen su oxidación, evaluando constantemente el progreso de ésta utilizando métodos físicos, químicos y/o sensoriales (Gray et. al. , J.O.A.C.S. 55:339, 1978).

Estas pruebas incluyen : (8, 15)

a) Método del Oxígeno Activo (AOM).

En este procedimiento se bombea aire purificado a una velocidad constante sobre el líquido a evaluar, manteniendo una temperatura elevada (usualmente 100°C) y se monitorea el progreso de la oxidación frecuentemente.

b) Almacenamiento a temperaturas elevadas (Schaal Oven Test)

En este método, las muestras se almacenan a una temperatura constante , y se determina periódicamente su índice de peróxido o sus propiedades sensoriales; el tiempo necesario para llegar a un límite de rancidez establecido es el resultado de este análisis.

(Evans C.D., J.A.O.C.S. 50: 218 (1973) "Experiencias en subsecuentes evaluaciones indican que 4 días a 60°C equivale a 3 mes de almacenamiento a temperatura ambiente)

c) Bomba de Oxígeno

En este método, la muestra a evaluar se coloca en un recipiente de acero inoxidable cerrado y se bombea con oxígeno monitorcando los cambios de presión constantemente. Cuando empieza la oxidación del lípido la presión disminuye a consecuencia de la absorción de oxígeno.

Los métodos químicos que se discuten a continuación , proporcionan información acerca de las diferentes etapas del proceso oxidativo; sin embargo, indicar mediante estos métodos el momento exacto en que ocurre la rancidez es arbitrario, pues es difícil determinar exactamente en que momento el lípido será rechazado por los consumidores (Gray et. al. , J.O.A.C.S. 55:339, 1978).

A continuación se mencionan algunos métodos para determinar el grado de oxidación o de rancidez de un aceite:

5.1. EVALUACIÓN SENSORIAL

Se lleva a cabo con un grupo de jueces entrenados , que evalúan el olor y a veces el sabor de las muestras proporcionadas, posteriormente, los resultados obtenidos se analizan utilizando modelos estadísticos específicos con el fin de concluir si existe 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.(Gray et. al. , J.O.A.C.S. 55:339, 1978).

Las principales desventajas de este sistema de evaluación, son la gran cantidad de tiempo requerido y su reproducibilidad deficiente; sin embargo, tanto los métodos físicos como los químicos deben correlacionarse de alguna manera con la evaluación sensorial ((Evans C.D., J.A.O.C.S. 50: 218 (1973).

5.2. MÉTODOS QUÍMICOS

5.2.1. Índice de Peróxido

El índice de peróxido es determinado usualmente por métodos volumétricos, estos dependen de la reacción del yoduro de potasio en solución ácida con el oxígeno combinado, seguida de la titulación del yodo liberado con tiosulfato de sodio. Usualmente se utiliza cloroformo como disolvente. El método da resultados rápidos (7). Sin embargo, esto está limitado a su rápida transformación en otros compuestos que provocan los olores y sabores indeseables, por su alta sensibilidad a las temperaturas elevadas. El método oficial de la AOCS es el más empleado y el que generalmente se usa para efectos comparativos. (1)

5.2.2. 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. Debido a su elevada sensibilidad la prueba de Kreis tiende a dar resultados confusos, dado que con frecuencia se obtiene coloración con aceites comparativamente recientes.(7)

5.2.3. Índice del ácido tiobarbitúrico (TBA)

El aumento en la cantidad de pigmento rojo formado en la reacción entre el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) y los lípidos oxidados a medida que la rancidez avanza , se ha aplicado a una amplia variedad de alimentos grasos. Se cree que los aldehídos (malonaldehído uno de los productos finales de la descomposición) es el responsable de la formación del color; puesto que los aldehídos son formados después de la reacción de oxidación. Las muestras son evaluadas periódicamente midiendo la presencia de aldehídos usando como reactivo el ácido tiobarbitúrico. La formación del color rojo puede ser medido espectrofotométricamente (530 nm) indica el grado de oxidación en la muestra.(7)

Este método ha sido usado frecuentemente en estudios recientes , particularmente en alimentos grasos compuestos. Sin embargo, no puede ser usado extensivamente como prueba de control del producto. Cuando es usado en condiciones cuidadosamente controladas , da buena correlación con las pruebas organolépticas (15).Sin embargo este procedimiento adolece de alguna fallas:

- a) No siempre forma dialdehído malónico, ya que generalmente proviene de los aceites que contienen ácidos linoléico y araquidónico.
- b) el TBA , en ausencia de aldehído , también produce compuestos de color amarillo con otros derivados de la oxidación de las grasas.
- c) El malonaldehído reacciona con proteínas e interacciona con otros compuestos como alcanales y 2-alquenas con una absorción máxima a 455nm, lo que reduce su concentración real para la determinación.(1)

5.3 OTROS MÉTODOS

Existen otros procedimientos químicos para determinar la intensidad de la oxidación de las grasas, como es el de carbonilos totales y el índice de anisidina; el primero se basa en la reacción e los productos de la oxidación con la 2,4-fenilhidrazina, y en el segundo se usa p-anisidina que reacciona con los aldehídos y genera un color amarillo.

Entre los métodos físicos , los más importantes son los de fluorescencia , espectroscopia infrarroja y cromatografía de gases; algunos de estos son muy elaborados y costosos , por lo que se emplean poco en la industria alimentaria para el control rutinario de la calidad de las grasas. Sin embargo, la cromatografía de gases va adquiriendo cada día más importancia, ya que como se indicó, la cantidad de hexanal o pentano es una indicación el grado de oxidación; estos compuestos se identifican con esta técnica analítica apartir de los volátiles del alimento.(1)

6. DESARROLLO EXPERIMENTAL

6.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La actividad antioxidante de la Oleorresina de Romero y del TBHQ se evaluó midiendo la capacidad de retardar la formación de peróxidos , aplicándolos en el aceite en una concentración de 1000 y 150 ppm (0.1 y 0.015%) respectivamente.

Se eligieron estas dosis de acuerdo con el máximo que recomienda el proveedor y la FDA (Food and Drugs Administration).

En el caso de Oleorresina de romero el proveedor recomienda dosis de uso de 0.01 a .1% como máximo, y para TBHQ menos de 200 ppm ó 0.2% en base al contenido graso del alimento.

De esta manera se compara la efectividad que tiene el antioxidante natural y sintético , respecto al progreso de la oxidación que presenta la muestra sin antioxidante.

Las muestras se almacenaron a 60 y 70 °C en envase de vidrio calizo para contener aceites comestibles, con el fin de determinar el factor de calidad "Q₁₀ ", monitoreando frecuentemente el progreso de la oxidación empleando el método oficial para la determinación del índice de peróxidos en grasas y aceites; para posteriormente determinar la vida de anaquel del aceite sazoador con chile chilpotle, a temperatura ambiente con cada antioxidante. Asimismo, se analizaron paralelamente las muestras con cada antioxidante almacenadas a temperatura ambiente.

6.1.1. Características de oleoresina de romero

Se adquirió a través de Herbalox (extracto de hojas de romero tipo O) y su descripción es la siguiente:

Se extrae de las hojas de romero , Rosmarinus officinalis L., conforme a todas las disposiciones de la Federal Food , Drug and Cosmetic Act.

Características físicas.

Líquido pardizo , fluido a temperatura ambiente.

Aceites volátiles: menos del 2%

Hidrocarburos monoterpénicos: menos del 10% de los volátiles.

Es dispersable en aceite vegetal al 0.5 % dando un color ligeramente dorado al aceite.

Es efectivo en la inhibición del enranciamiento a diluciones del 0.02% al 0.1% del contenido graso.

La oleoresina de romero es un potente antioxidante natural , que se ha extraído de las hojas de romero y debe estar libre de alcanfor y de solventes. Se puede utilizar en cualquier alimento que contenga aceites o grasas y en el cual esté permitida la aromatización o condimentación, incluso en aquellos con contenido graso muy bajo. Se ha sugerido también su uso para proteger los pigmentos carotenoides y aceites esenciales contra la degradación oxidativa .

Se recomiendan dosis de uso del 0.01% al 0.1% del contenido graso. Se pueden necesitar dosis superiores en los siguientes casos:

- niveles altos de insaturación en las grasas.
- altas temperaturas de procesamiento (deseccación por spray)
- requerimientos de vidas útiles alargadas.
- contenido alto de metales traza y pigmentos.

En el caso específico del aceite sazónador con chile chilpotle, se recomienda la adición del 0.01 a 0.05 % del contenido graso, con lo que se alargará la vida útil del aderezo e incrementará el aroma. Sin embargo debido a la problemática planteada anteriormente se empleará 0.1%. (Especificaciones técnicas).

6.1.2. Características de TBHQ

Es un antioxidante sintético de grado alimentario (sustane TBHQ)

Características físicas y químicas.

Características		Solubilidad mg/100 mg de solvente a 20 °C	
Punto de fusión °C	126.5 - 128.5	Agua	1
Punto de ebullición °C	295 (760 mmHg)	Benceno	Insoluble
Metales pesados, ppm	10 (máx. como Pb)	Propileno	30
Arsénico, ppm	3 máx.	Aceite de maíz	10
Pureza, en peso %	99 mín.	Lardo (50°C)	5
Olor	ligeramente aromático		
Gravedad específica (g/ml) a 60°F	1.05		

El sustanc TBHQ tiene un producto de fusión (127°C) más alto que BHA , BHT y propilgalato.

Es el antioxidante más difícil de solubilizar , por esta razón se recomienda hacer premezcla en el aceite a una temperatura de 32°C con agitación lenta durante 30 min (para evitar la incorporación de oxígeno).

Es estable, pero debe almacenarse a una temperatura menor de 37°C. o en frío, bien cerrado y en área ventilada. Este producto a granel se considera combustible, por lo que se recomienda eliminar toda fuente de ignición y se deben tomar todas las precauciones de acuerdo a la NFPA 63, "Prevention of Dust Explosions in Industrial Plants".

Evitar el contacto con los ojos y piel , para su manipulación utilizar guantes, respirador para polvos (y en casos extremos cubre bocas).

Sustanc TBHQ es ligeramente tóxico cuando se ingieren grandes cantidades. Por piel la intoxicación es leve, solo causa irritación (rash cutáneo - lavarse inmediatamente después de manipular-), este producto irrita los ojos. La inhalación del polvo puede causar irritación del tracto respiratorio.

La dosis letal media (DL₅₀) oral en ratas es de 0.95 a 1.13 g / kg. (17)

7. RESULTADOS

**7.1. ÍNDICE DE PERÓXIDO DEL ACEITE SIN ANTIOXIDANTE
(meq/ kg. de aceite) vs. TIEMPO a 30 °C**

Tiempo (días)	Índice de Peróxido (meq/kg. aceite)
inicial	4.89
30	5.35
90	6.33
150	7.29
210	10.57

El tiempo crítico de vida para el aceite sazonador sin antioxidante es de alrededor de 7 meses a temperatura de 30 °C , ya que como se observa en la tabla , en este tiempo se alcanzaron los 10 meq de oxígeno peróxido/kg de aceite.

Por lo tanto :

$$t_{c\ 30} = 7 \text{ m e s e s}$$

7.2. GRAFICAS DE ÍNDICE DE PERÓXIDO vs. TIEMPO

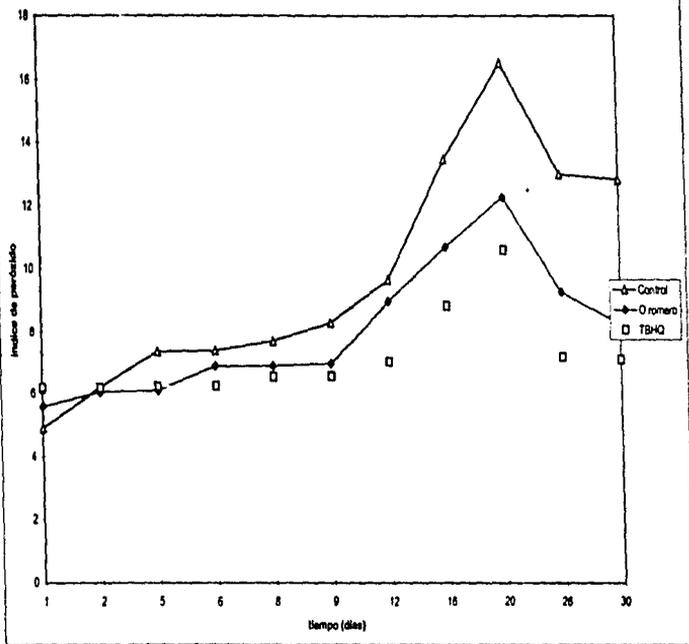
A) Índice de Peróxidos (meq/ kg. de aceite) en el aceite sazonador almacenado a 60 °C en la oscuridad para cada uno de los antioxidantes empleados (gráfica 1):

Tiempo (días)	Control	O.Romero (1000 ppm)	TBHQ (150 ppm)
1	4.89	5.58	6.18
2	6.18	6.04	6.18
5	7.36	6.09	6.22
6	7.39	6.87	-
8	7.69	6.87	6.53
9	8.27	6.94	-
12	9.64	8.95	7.00
16	13.45	10.68	8.83
20	16.52	12.26	10.59
26	12.97	9.24	7.15
30	12.81	8.23	7.08

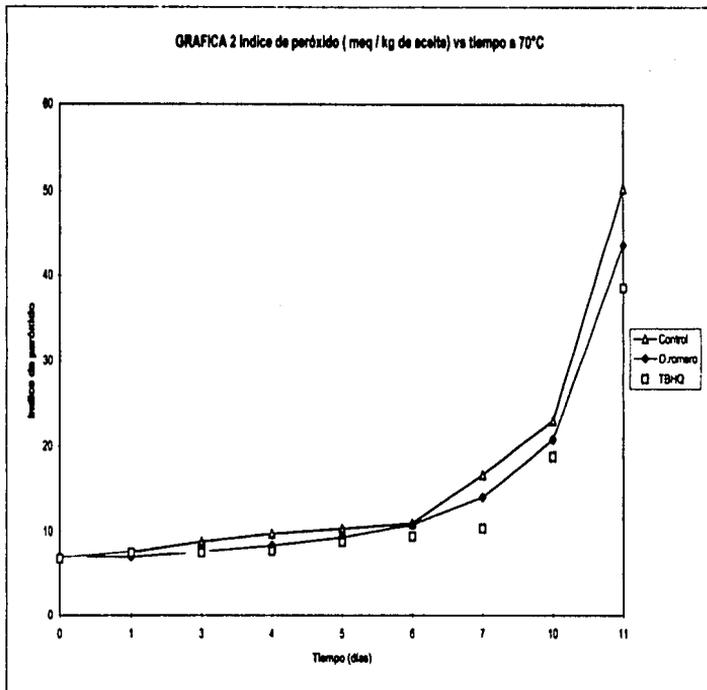
B) Índice de Peróxidos (meq/ kg. de aceite) en el aceite sazonador almacenado a 70 °C en la oscuridad para cada uno de los antioxidantes empleados (gráfica 2):

Tiempo (días)	Control	O.Romero (1000 ppm)	TBHQ (150 ppm)
0	6.92	7.04	6.84
1	7.59	-	7.53
3	8.82	7.61	-
4	9.74	8.36	7.78
5	10.35	9.33	8.81
6	10.96	10.82	9.46
7	16.71	14.03	10.38
10	23.48	20.77	18.85
11	50.31	43.54	38.56

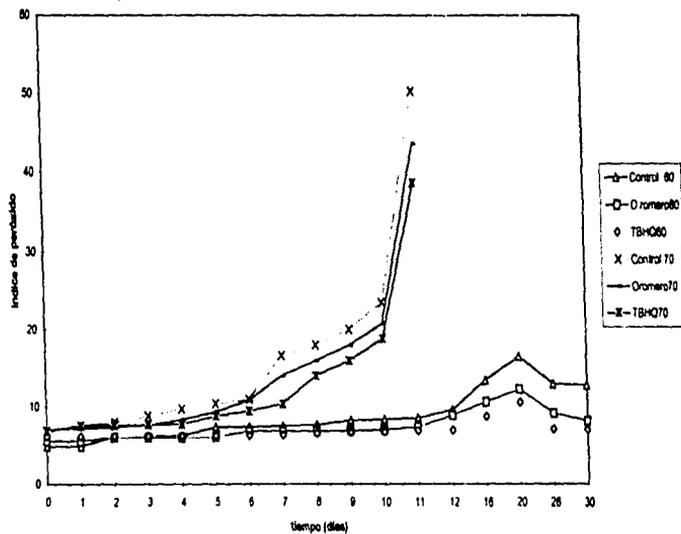
GRAFICA 1 Índice de Peróxido (meq/kg aceite) vs. Tiempo a 60°C



GRAFICA 2 Índice de peróxido (meq / kg de aceite) vs tiempo a 70°C



GRAFICA 3 Indices de pérdida (meq/kg aceite) vs tiempo



7.3. CALCULO DE LAS CONSTANTES DE DEGRADACIÓN "k" PARA LOS DIFERENTES ANTIOXIDANTES EMPLEADOS

De acuerdo a la investigación bibliográfica realizada (6), se asumió el valor de orden de reacción como $n=1$ para las reacciones correspondientes a la rancidez oxidativa.

Para las reacciones de orden cero y uno se ha establecido una expresión matemática (8) que define la pérdida de calidad en los alimentos de la siguiente manera:

$$- dA / dt = k A^n \dots\dots (1)$$

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.

El signo negativo se utiliza si el deterioro implica la pérdida de un algún componente, y positivo si se refiere a la aparición de un producto final indeseable.

En este caso el signo es positivo puesto que los peróxidos son productos de reacción indeseables.

En el caso de las reacciones de rancidez , donde la vida de anaquel no presenta una constante de degradación establecida y el producto sigue el patrón de las reacciones de orden uno, el cálculo del valor de "k" se realiza de la siguiente manera (7) :

Integrando la ecuación [1] :

$$\int^A dA / A = \int^t k dt$$

Se obtiene:

$$\ln A - \ln A_0 = k t$$

$$\ln A / A_0 = k t$$

Despejando k :

$$k = 1/t \ln A / A_0$$

Donde :

k = Constante de degradación del aceite sazonador con chile chilpotle empleando el antioxidante en cuestión

A = Valor del índice de peróxido establecido como máximo por el Codex Alimentarius (5) para mezclas de aceite vegetal (máximo = 10 meq/Kg. de aceite).

A₀ = Valor inicial del índice de peróxido para el antioxidante en cuestión

t_c = Tiempo en que se obtiene el máximo valor de índice de peróxidos para el antioxidante en cuestión.

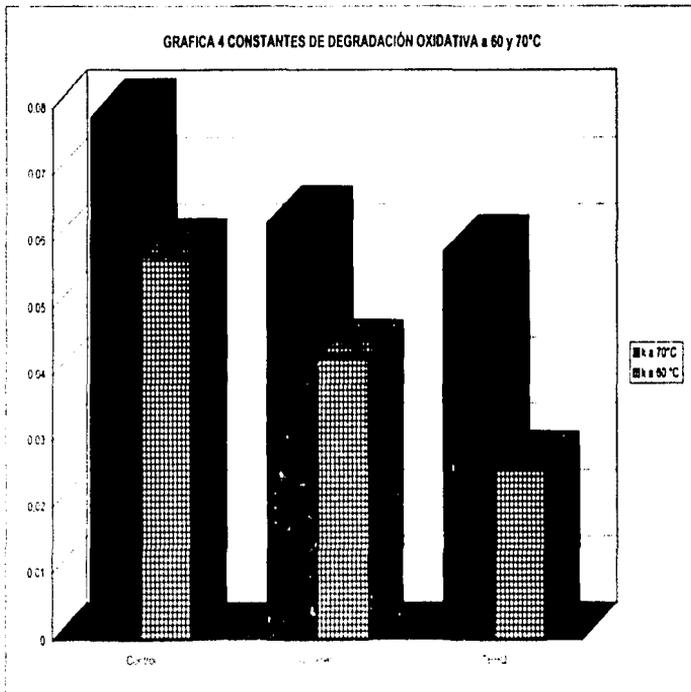
7.3.1. CONSTANTES DE VELOCIDAD a 60 °C

Antioxidante	A/Ao	Ln A/Ao	1 / tc	k a 60°C
Control	10/4.89	0.5833	1 / 12.4	0.0577
O. Romero	10/5.58	0.48127	1 / 13.7	0.04258
TBHQ	10/6.18	0.7154	1 / 18.7	0.02574

7.3.2.CONSTANTES DE VELOCIDAD a 70 °C

Antioxidante	A/Ao	Ln A/Ao	1 / tc	k a 70°C
Control	10/6.92	0.3681	1 / 4.68	0.07867
O. Romero	10/7.04	0.3510	1 / 5.6	0.06267
TBHQ	10/6.84	0.3798	1 / 6.5	0.05830

GRAFICA 4 CONSTANTES DE DEGRADACIÓN OXIDATIVA a 60 y 70°C



7.4. CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS FACTORES DE CALIDAD " Q 10 " CON LOS DIFERENTES ANTIOXIDANTES EMPLEADOS

Debido a que los análisis fisicoquímicos por sí mismos no definen el periodo de estabilidad del producto, se utiliza la siguiente fórmula para calcular el factor de calidad del aceite sazonador con chile chilpotle con cada uno de los antioxidantes empleados (2):

$$Q_{10} = \frac{k \text{ a la temperatura } (T+10)}{k \text{ a la temperatura } T}$$

De manera que Q_{10} para el experimento es:

$$Q_{10} = \frac{k \text{ a } 70^{\circ}\text{C}}{k \text{ a } 60^{\circ}\text{C}}$$

Una vez determinado el Q_{10} para cada antioxidante, en condiciones aceleradas, se puede estimar la vida útil del alimento, de acuerdo a la siguiente fórmula (2):

$$t_{20} = t_{30} (Q_{10})^{\Delta/10}$$

Donde:

t_{20} = es el tiempo o vida útil a 20°C , en días o meses

t_{30} = es el tiempo o vida útil a 30°C en días o meses

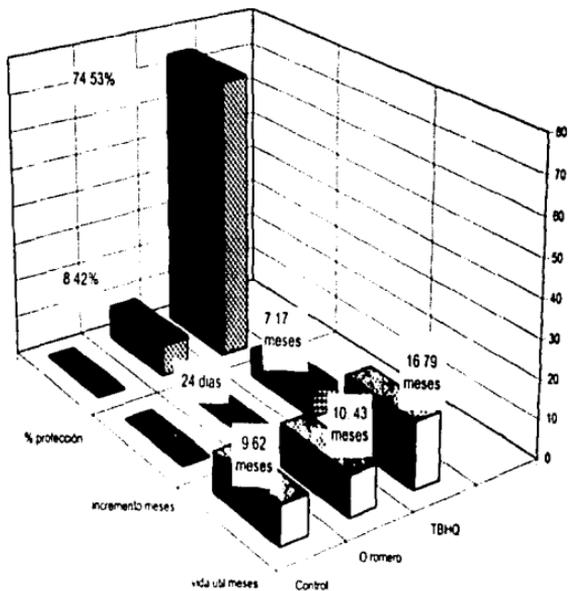
Δ = es la diferencia en temperatura (para este ejemplo es $30-20= 10$)

7.4.1. FACTOR DE CALIDAD "Q₁₀" y VIDA ÚTIL ESTIMADOS A TEMPERATURA AMBIENTE PARA CADA ANTIOXIDANTE EMPLEADO

	Q 10 (k70/k60)	Vida útil a 25°C (meses)	Vida útil a 20°C (meses)	Vida útil a 15°C (meses)	*Vida útil a temperatura ambiente (meses)
Control	1.3636	8.17	9.54	11.14	9.62
O. Romero	1.4718	8.49	10.30	12.49	10.43
TBHQ	2.2703	10.54	15.89	23.95	16.79

* Vida útil promedio para el rango de temperatura ambiente de 15 a 25 °C

GRAFICA 5
VIDA ÚTIL DEL ACEITE SAZONADOR



8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la **gráfica 1** se presenta el índice de peróxido con respecto al tiempo en el aceite sazonador con chile chilpotle mantenido a 60 °C y en la oscuridad con cada uno de los antioxidantes empleados, se observa un valor máximo , a los 20 días de almacenamiento, en todas las muestras; sin embargo, las muestras con antioxidante presentan una menor concentración de peróxido, comparadas con el control.

El tiempo para que las muestras alcancen el límite de oxígeno peróxido (10 meq) , presentan el siguiente orden de menor a mayor : Control (12.4 días), Oleoresina de Romero (13.7 días) y TBHQ (18.7 días).

Una vez alcanzado el máximo se presenta un decremento en la cantidad de peróxido , esto se debe a que estos peróxidos reaccionan con los radicales libres y forman productos volátiles de degradación. Por esta razón la valoración de peróxido en estas condiciones aceleradas se realizó cada día o cada tercer día para evitar perder cantidades substanciales de peróxido , que son los indicadores del enranciamiento oxidativo ; esto es cierto porque los peróxidos aumentan hasta un máximo y seguidamente, en poco tiempo , descienden hasta casi cero. Por tanto un bajo índice de peróxido no significa necesariamente que el alimento no esté rancio (8).

En la **gráfica 2** se presenta el índice de peróxido con respecto al tiempo en el mismo aceite para ensalada mantenido a 70 °C y en la oscuridad con cada uno de los antioxidantes empleados , y presenta la misma tendencia que a 60 °C , sólo que la velocidad de degradación es mayor a 70 °C que a 60°C, puesto que los 10 meq de oxígeno peróxido se alcanzaron en menor tiempo, siendo para el control , Oleoresina de romero y TBHQ , de 4.68 , 5.6 y 6.5 días respectivamente.

En la **gráfica 3** se observa claramente que la velocidad de degradación oxidativa medida a través del índice de peróxido a 70°C es mayor que a 60°C , puesto que la oxidación es mayor , y por lo tanto el límite máximo de peróxido se alcanza más rápido.

Para este tipo de reacción las constantes de degradación "k" incrementan con la temperatura.

En la **gráfica 4** se observa esta tendencia ya que las constantes de degradación calculadas a 70 °C , son mayores que las obtenidas a 60 °C , siendo $k_{\text{control}} > k_{\text{O. romero}} > k_{\text{TBHQ}}$ a ambas temperaturas.

El tiempo para determinar las constantes de degradación para cada uno de los antioxidantes empleados se tomó de acuerdo con la tabla 7.2 .

Considerando que la temperatura ambiente es un rango de temperatura de 15 a 25°C , en la **gráfica 5** se observa que la vida útil del producto con TBHQ (150 ppm) se prolonga 74.53% a temperatura ambiente, lo que equivale a 7.17 meses. Mientras que con Oleoresina de romero (1000 ppm) , tan sólo hay un incremento de vida útil del 8.42 % a temperatura ambiente , lo que equivale a 24 días .

Los resultados indican que las muestras con antioxidante efectivamente retardan la degradación oxidativa , sin embargo se observa que la eficacia de la TBHQ frente a la Oleoresina de romero es mucho mayor , aun estando aproximadamente 10 veces menos concentrado que ésta.

Aunque ambos compuestos presentan 2 grupos hidroxilo , que son los que donan el hidrógeno que estabilizan los ácidos grasos, evitando así su oxidación ; cabe señalar que la posición, así como la longitud y la ramificación de la cadena de átomos de carbono , que están como sustituyentes del anillo aromático , si son demasiado grandes provocan un impedimento estérico (15).

Por lo tanto de acuerdo con estos argumentos al comparar las estructuras de los compuestos fenólicos presentes en la oleoresina de romero con la del TBHQ , se puede verificar que esta última no presenta este impedimento estérico y por lo tanto su efectividad como antioxidante es mayor , como se pudo corroborar a través de este método acelerado para determinar la vida de anaquel.

De esta manera se explica el porque aun estando la Oleoresina de romero aproximadamente 10 veces más concentrada , su eficacia es menor frente a TBHQ , por el impedimento estérico que inhibe su acción antioxidante

9. CONCLUSIONES

- Los valores de las constantes de degradación oxidativa " k " calculadas, a 70°C son mayores que a 60°C , lo que indica que para este sistema efectivamente la oxidación es mayor cuando aumenta la temperatura.
- La constante de degradación oxidativa (k) del aceite sin antioxidante es mayor en ambos casos evaluados a 60 y 70 °C , seguida del aceite con oleoresina de romero (1000 ppm) y por último el aceite con TBHQ (150 ppm) .

Antioxidante	k a 60°C	k a 70°C
Control	0.0577	0.07867
O. Romero	0.04258	0.06267
TBHQ	0.02574	0.05830

- Por lo tanto la estabilidad del aceite sazonador es mayor cuando se aplica TBHQ como antioxidante en una concentración de 150 ppm , que cuando se aplica oleoresina de romero en una concentración de 1000 ppm y más aún que cuando no se adiciona antioxidante.

- Con el cálculo del factor de calidad “ Q_{10} ” se pudo estimar la vida de anaquel del aceite sazonador con y sin antioxidantes , puesto que involucra variables como tiempo, índice de deterioro evaluado (en este caso es el índice de peróxido) y la temperatura .
- El Q_{10} calculado para el producto evaluado fue de :

Control	1.3636
O. Romero	1.4718
TBHQ	2.2703

- Por lo que podemos concluir que para este sistema alimenticio es adecuado la aplicación de TBHQ como antioxidante en una concentración de 150 ppm , ya que prolonga la vida de anaquel aproximadamente 7 meses (tomando como referencia el control experimental). Sin embargo , el hecho de ser un aditivo sintético o artificial, repercute en la aceptación de aquellos consumidores que exigen productos 100% naturales (que no es el caso de México).

- Respecto al antioxidante de origen natural -oleorresina de romero a una concentración de 1000 ppm - , no se obtuvo el efecto esperado, ya que en este producto su efectividad tan sólo incrementó la vida de anaquel 24 días.
- En cuanto a costos la TBHQ es muy económica comparada con oleorresina de romero puesto que con una cantidad aproximadamente 10 veces menor se prolonga la vida de anaquel en un 74.53%. Sin embargo respecto a la solubilidad y manipulación , el extracto de oleorresina es más versátil.
Pero cabe señalar que en el mercado ya existen premezclas de aceite con antioxidante (s) , que facilitan su manipulación. Sin embargo estas premezclas encarecen el producto.

RECOMENDACIONES

- Por lo tanto la vida de anaquel estimada a través de métodos acelerados siempre debe compararse con los productos sometidos a pruebas de vida de anaquel normales, a fin de comprobar el poder predictivo para implementar este procedimiento como rutinario
- Debido a que los peróxidos están sujetos a reacciones secundarias de degradación, este método de análisis, está limitado sólo a las primeras etapas de la oxidación y no es aplicable en productos deshidratados o con bajo contenido de lípidos.
- Aunque este proceder de predicción de vida útil sea correcto , la calidad de los datos normalmente no permite obtener predicciones con gran exactitud, ya que depende de las condiciones de prueba y del tipo de empaque utilizado.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Badui D. S. Química de los Alimentos. Ed. Alhambra Mexicana.3ª reimp.1996.México D.F.Mex. pp.225-266..
2. Burón A.I., García T.R. Nuevos Productos Alimentarios. Ed A M V . Madrid Vicente , España. 1994. pp. 297-299 , 307-311.
3. Braverman, Bioquímica de los alimentos. De. El Manual Moderno. México D.F. 1980. pag.189-191 , 255, 263-265.
4. Code of Federal Regulations . Alimentos -Leyes- E.E.U.U.*FDA* . 1992. pp. 392 - 399.
5. Codex Alimentarius . Texto Abreviado. 1989. División 3 y 11. pp.3.26-3.30, 11.39-11.40
6. Echeverría Orozco E. Aplicación de una Metodología para Determinar la Vida de Anaquel de un Producto de baja Humedad a Base de Carne y Grasa de Pollo. 1987. Tesis Ibero. México D.F. México
7. Egan H. Análisis Químico de los Alimentos de Pearson. Cia. Ed. Continental. 5ª. reimp.1993. pp. 545-551.
8. Fennema O. R. Química de los Alimentos . Ed Acribia S.A. 2ª ed.Zaragoza España, 1993, pp 220-230 1025-1035, y 1040.

9. Norma Oficial Mexicana. NOM-F-154-1987. Determinación del Índice de Peróxido
10. Pedrero. D.L. Pangborn R.M. Evaluación Sensorial de los Alimentos. Métodos Analíticos. Ed. Alhambra, edición 1989. pag 103 - 104.
11. Potter Norman La Ciencia de los alimentos . Edutex. México. 1978.
12. Qinyun Chen , Huang Shi y Chi-Tang Ho. Effects of Rosemary Extracts and major Constituents on Lipid Oxidation and Soybean Lipoxygenase Activity. *Journal American Oil Chemist's Society* . Vol. 69 , No. 10 . 1992. pp . 999.
13. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. *Secretaría de Salud*. 1988. pp. 71-79 , 101 - 103.
14. VIII Simposio de Nutrición y Alimentos. Uso de Antioxidantes en Industria y Nutrición . México D.F. , México. 7 Septiembre 1995 .
15. Thomas E. Furia. HandBook of Additives. Ed. CRC Press, Inc. 1981 2a. ed. Vol. 1 Cap. 4 . pp. 185-223.
16. Udaya N. Wanasundra y Fereidoon Shahidi. Canola Extract as an Alternative Natural Antioxidant for Canola Oil. *Journal American Oil Chemist's Society* . Vol. 71 , No. 8 . 1994. pp . 812.

17. UOP. Food Products and Processes department. Material safety Data Sheet. Marzo .1994

18. Wu. J.M; M-H Lee; C-T Ho and S.S. Chang " Elucidation of de chemical Structure of natural Antioxidants Isolates from Rosemary" 1982. J.A.O.C.S., 59:339.