



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

INFLUENCIA DE LA PIEL DE POLLO EN EL
DETERIORO QUIMICO DE LOS LIPIDOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A:

BERENICE MADRIGAL GALAN



5075033

MEXICO, D.F.



2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

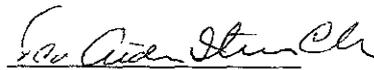
Jurado Asignado

Presidente	Prof. Zoila Nieto Villalobos
Vocal	Prof. Francisca Iturbe Chiñas
Secretario	Prof. María de los Angeles Valdivia López
1 ^{er} Suplente	Prof. Amanda Galvez Mariscal
2 ^o Suplente	Prof. Luz Sandra Sánchez Del Angel

Sitio dónde se desarrolló el tema:

Departamento de Alimentos y Biotecnología
Laboratorio 323 Edificio "E" de la Facultad de Química

Asesor del tema:



Francisca Iturbe Chiñas

Sustentante:



Berenice Madrigal Galán

A Lalo, mi esposo :

Porque esto representa uno de nuestros primeros logros juntos, por el amor y apoyo que me has dado y porque en ningún momento he dudado de que eres el hombre de mi vida.

A mis padres:

Por ayudarme a lograr mis metas a través de su esfuerzo, amor y ejemplo y por formar parte de este trabajo.

A mi hermano Tavo, por su confianza, apoyo y enseñanzas.

A Fanny, que no conforme con brindarme sus conocimientos y experiencia, siempre comprendió mis necesidades, me dio su apoyo y cariño.

A la Maestra Angeles, que a través de este trabajó me enseñó un lado humano y siempre estuvo dispuesta a ayudarme.

A la Maestra Zoila Nieto por la revisión y mejora de éste trabajo.

A Julieta, por todos esos días en que me escuchaba, por brindarme confianza, por todos sus consejos, ayuda y enseñanza.

A mis amigos, Mónica, Liliana, Gina, Juancho, Nina, Alfredo, Wendy y Elisa, porque siempre me mostraron su apoyo e hicieron el tiempo más llevadero.

A Nina, por su paciencia y ayuda en el área estadística

A mi familia, abuelitos, tíos y primos por darme su confianza y fortaleza.

A la familia Villegas Ortega, Rosi y Carlos, por que siempre me brindaron su apoyo y cariño.

A todos los miembros del laboratorio 323, por ayudarme en los momentos difíciles, y por hacer el trabajo más fácil y alegre.

INDICE

	Página
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
1. ANTECEDENTES	4
1.1 Carne de pollo	4
1.2 Almacenamiento y congelación de la carne	7
1.3 Deterioro químico de los lípidos	9
1.3.1 Lipólisis	9
1.3.2 Autooxidación de los lípidos	10
1.3.2.1 Mecanismo general de la autooxidación	10
1.3.2.2 Oxidación con oxígeno singulete	13
1.3.2.3 Descomposición de hidroperóxidos	14
1.3.2.4 Descomposición de aldehídos	16
1.3.2.5 Factores que afectan la velocidad de la autooxidación	18
1.3.2.6 Consecuencias de la oxidación lipídica en los alimentos	24
1.4 Técnicas de evaluación del proceso de oxidación lipídica	27
1.4.1 Índice de peróxidos	27
1.4.1.1 Método volumétrico	28
1.4.1.2 Método colorimétrico	29
1.4.2 Productos secundarios	30
1.4.2.1 Índice de Kreis	31
1.4.2.2 Otros Métodos	31
1.5 Extracción de grasa	32
2. METODOLOGÍA	35
2.1 Cuantificación de contenido de grasa en muslo de pollo	35

	Página
2.2 Preparación de muestras	35
2.3 Monitoreo de la oxidación lipídica	36
2.3.1 Extracción y cuantificación de lípidos	36
2.3.2 Índice de peróxidos	37
2.3.2.1 Método de la AOAC	37
2.3.2.2 Método colorimétrico	38
2.3.3 Índice de Kreis	38
2.4 Análisis estadístico	38
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
3.1 Cuantificación de contenido de grasa en muslo de pollo	39
3.2 Evaluación de oxidación lipídica en pollo con y sin piel almacenado en refrigeración	40
3.3 Monitoreo de la oxidación de lípidos en carne de pollo con y sin piel	43
4. CONCLUSIONES	54
BIBLIOGRAFÍA	55
ANEXO I	
ANEXO II	

RESUMEN

Recientemente la carne de pollo se comercializa sin piel, a fin de satisfacer el gusto del consumidor. Sin embargo se ha pensado que al eliminar la piel, la grasa intramuscular del pollo que es rica en ácidos grasos insaturados queda en contacto directo con el oxígeno, por lo cual es posible una aceleración del proceso de la oxidación lipídica, a diferencia de lo que sucede en el mismo tejido cuando se encuentra con la cubierta natural (piel).

Con el objeto de establecer la influencia de la eliminación de la piel en el proceso de oxidación lipídica de la carne de pollo, se almacenaron tres lotes de muestras, uno en condiciones de congelación (-18°C) durante 154 días y los otros dos en refrigeración (4°C) durante 7 días. Para cada condición el pollo se dividió en dos grupos, a uno de los cuales se le quitó la piel, ambos grupos fueron almacenados en charolas de poliestireno y cubiertos por polietileno (empaquete comercial) y se determinó el contenido de productos primarios y secundarios de la rancidez oxidativa.

Se realizó la extracción de la grasa de los muslos de pollo por medio del método de Bligh y Dyer (1959) y se llevó a cabo la determinación de índice de peróxidos por el método volumétrico y colorimétrico, así como la determinación de contenido de productos secundarios por índice de Kreis.

A través de un análisis estadístico y la observación detenida de las gráficas del monitoreo de productos de oxidación, se determinó que existe un efecto protector de la piel de pollo ante el deterioro oxidativo tanto en condiciones de refrigeración a corto plazo como en congelación por periodos prolongados. Se concluye que la piel actúa como barrera física al paso de oxígeno debido a la gran cantidad de grasa saturada en la piel.

INTRODUCCIÓN

Aproximadamente el 50% de los productos alimenticios generados a nivel mundial tienen la característica de ser perecederos. Por esta razón, es necesario el uso de procesos de conservación para estos. Dichos procesos se dividen principalmente en químicos y físicos, siendo los más importantes los que conservan los alimentos por medio de la reducción de la temperatura (refrigeración y congelación) ya que en principio no inducen cambios en la composición del alimento.

La congelación logra la inhibición de las reacciones de alteración microbiana así como la actividad enzimática. Sin embargo, la alteración de la calidad de los alimentos por oxidación lipídica, también conocida como rancidez oxidativa, no sólo no es detenida, sino que es incluso acelerada. Esto se debe a que la protección parcial que normalmente brinda el agua contra el paso de oxígeno se ve disminuida al reducirse su actividad por encontrarse en estado sólido. El resultado de la oxidación lipídica durante el almacenamiento de los productos cárnicos se refleja en la alteración de varias características relacionadas con la calidad, como lo son el sabor, color, textura, valor nutritivo y seguridad para la salud del consumidor (Gray, 1992).

La carne de pollo presenta un alto contenido de ácidos grasos insaturados (Alasnier, 2000; Rhee, 1996; Píkul, 1990), lo que la hace especialmente susceptible a la oxidación lipídica. Sin embargo, al estudiar este proceso durante el almacenamiento de pollo en congelación se ha observado que se lleva a cabo más lentamente que en otras especies que contienen grasa menos insaturada, como la carne de cerdo (Balarezo, 1998). Esto se ha atribuido a que la piel que cubre al pollo pudiera actuar como una barrera al paso de oxígeno retardando la oxidación lipídica.

Por esto, al estudiar las formas actuales de almacenamiento y comercialización del pollo, el enfoque principal debe ser dirigido hacia la rancidez oxidativa. Particularmente, hoy en día en que una proporción importante de la carne de pollo se comercializa en piezas cuya piel ha sido eliminada de manera previa a la congelación con el fin de satisfacer las necesidades del consumidor. Es aquí donde debemos preguntarnos si a pesar de los beneficios aparentes de esta forma de comercialización se está perjudicando la calidad final de los productos acelerando el proceso de la rancidez oxidativa.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Al finalizar este estudio se podrá conocer la influencia de la piel en la oxidación lipídica de la carne almacenada en condiciones de congelación y refrigeración por diversos periodos.

Objetivos particulares:

- Conocer la evolución del proceso oxidativo de los lípidos en muestras de carne de pollo con y sin piel almacenadas en empaque comercial en condiciones de congelación (-18 °C).
- Conocer la evolución del proceso oxidativo de los lípidos en muestras de carne de pollo con y sin piel almacenadas en empaque comercial en condiciones de refrigeración (4°C) .

ANTECEDENTES

1.1 Carne de pollo

Desde tiempos remotos, la carne ha tomado un lugar muy especial dentro de la dieta del ser humano. Esto se debe tanto a sus propiedades sensoriales como a su alto valor nutritivo, siendo una de las principales fuentes de proteína. Se define como carne a la fibra muscular que se agrupa en manojos gracias al tejido conectivo, a través del cual hay una distribución abundante de vasos sanguíneos, nervios y células de grasa. El recubrimiento de las fibras también contiene proteína soluble en agua y otros compuestos nitrogenados, además de sales minerales (Kirk, 1996).

Particularmente, la carne de pollo es altamente consumida en nuestro país. Su producción representa más de una cuarta parte de los productos pecuarios mexicanos. Incluso, México se encuentra en el cuarto lugar mundial de productores de pollo, habiendo oscilado su producción durante los últimos años alrededor de un millón y medio de toneladas por año (Unión Nacional de Avicultores, 1998).

La composición general de la carne de pollo se presenta en la siguiente tabla:

Tabla 1. Composición de la carne de pollo cruda (Kirk, 1996)

Componente	Composición (g/100 g muestra)
Agua	67
Proteína	19.7
Grasa	12.8
Cenizas	1

La carne de pollo presenta un bajo contenido de grasa en comparación con otras especies. Sin embargo, la carne de pollo es especialmente susceptible a la oxidación lipídica debido a su alta proporción de ácidos grasos insaturados (Pikui, 1990). A pesar de esto, trabajos anteriores han puesto en evidencia que el proceso de oxidación lipídica en la carne de pollo es considerablemente más lento que en otras especies que contienen menos grasas insaturadas, como la carne de cerdo (Balarezo, 1998).

Al evaluar la composición del pollo, es necesario enfocarse en la parte específica que se va a estudiar. Esto es porque la composición del tejido muscular no solo varía de una especie a otra sino aún entre distintos músculos de la misma especie. Los músculos del pollo se distinguen en dos tipos: carne blanca, principalmente la pechuga, y carne roja, encontrándose ésta en piernas y muslos. Estos músculos varían en el contenido de mioglobina y grasa, así como en la composición de la propia grasa. En la tabla 2 se presenta el contenido de grasa típica en la pechuga y muslo de pollo; así como la distribución en cuanto al grado de insaturación. Donde resalta la gran diferencia entre el contenido de grasa de una y otra pieza de pollo, donde el muslo contiene 23% más grasa que la pechuga. Así mismo, el contenido de ácidos grasos es mayor. Particularmente, es importante resaltar que el contenido de ácidos grasos insaturados es mayor en el muslo presentando un porcentaje de 3.24%, por lo que se presenta una mayor tendencia a la oxidación lipídica en el muslo que en la pechuga.

Tabla 2. Contenido de grasa en pechuga y muslo de pollo (Rhee, 1996).

	Pechuga	Muslo
Grasa Total (%)	1.41	5.99
Total de Ácidos grasos (%)	0.89	4.77
Ácidos grasos saturados (%)	0.30	1.53
Ácidos grasos insaturados (%)	0.59	3.24
Moinsaturados (%)	0.41	2.46
Poliinsaturados (%)	0.18	0.78

* Los porcentajes están referidos a 100 gramos de muestra de carne de pollo.

Una comparación entre el músculo rojo y blanco indica que el músculo rojo tiene un contenido lipídico mayor. Otro factor muy importante es que tiene mayor cantidad de hierro, catalizador en el proceso de oxidación. Particularmente los hemopigmentos, como la hemoglobina y mioglobina son capaces de actuar como catalizadores en el proceso de la autooxidación.. También el hierro libre, liberado generalmente de estas moléculas de alto peso molecular por su desdoblamiento durante el almacenamiento en congelación, puede actuar como catalizador (Morrissey, 1998).

La piel de pollo está compuesta en un 57.1% de agua, 14% proteína (principalmente colágeno) y 31.2% de grasa. La influencia de la piel en la oxidación de la carne de pollo en condiciones de congelación no ha sido comprobada, sin embargo, en un estudio similar sobre el arenque se demostró que al conservar el pescado en congelación, la oxidación lipídica es considerablemente más rápida en muestras a las cuales se les eliminó la piel previamente. Se supone que esto es un efecto de la disminución de la difusión del oxígeno (Undeland, 1998). También hay evidencia de que al cocinar muestras de pollo en microondas, la oxidación lipídica es mayor en

aqueñas a las cuales se les eliminó la piel y huesos que en las que fueron cocinadas intactas (Pikul, 1990).

1.2 Almacenamiento y congelación de la carne

El principal propósito de los métodos de conservación radica en la inhibición de la actividad de la mayoría de las enzimas responsables del deterioro químico y del desarrollo microbiano. Esto se hace tratando de conservar la calidad del alimento durante periodos prolongados de almacenamiento (Zbignieco, 1987).

Una forma general de lograr esto es por medio de la reducción de actividad de agua en los alimentos. Esto puede ser, por ejemplo, por medio del secado, salado y azucarado, y congelación. Cada uno de estos métodos emplea medios distintos de disminuir o eliminar el agua activa: el secado la extrae del alimento, el salado y azucarado la ligan por medio de reacciones químicas y la congelación la transforma al estado sólido disminuyendo su disponibilidad.

Actualmente, la congelación se considera el método de preservación de los alimentos más práctico y efectivo. La preservación por medio de la congelación se consigue por medio de dos factores: la aplicación de temperaturas a las cuales la proliferación de microorganismos y la actividad de enzimas no son posibles, y la deshidratación del alimento por medio de la formación de cristales.

La congelación llevada a cabo por periodos muy prolongados o en condiciones no óptimas puede generar ciertos defectos en la calidad de la carne, como la modificación del color, cambios en su olor, sabor y textura,

deshidratación y exudado durante la descongelación. Las razones principales de estas modificaciones son las siguientes:

- Formación de cristales de hielo intramusculares e incluso intracelulares, que conllevan a la ruptura de estructuras y a amplio daño mecánico. Esto está relacionado con una velocidad de congelación ya sea muy lenta o muy rápida y provoca la pérdida de la capacidad de retención de agua y el exudado durante la descongelación.
- Desnaturalización de proteínas, principalmente miofibrilares, que genera cambios en la textura.
- Sublimación del agua, causante de la deshidratación de la superficie.
- Oxidación lipídica, responsable principal de los cambios en aroma y sabor de la carne.

La gravedad que puedan traer estos factores dependen de la velocidad y eficiencia de la congelación, así como condiciones y tiempo de almacenamiento. También el material de empaque influye en la calidad de la congelación (Bowers, 1992).

Es muy importante mencionar que a pesar de ser la congelación un método muy efectivo de conservación, no logra inhibir la oxidación lipídica, incluso se ve favorecido debido a la baja actividad acuosa (Labuza, 1980).

1.3 Deterioro químico de los lípidos

Existen dos mecanismos principales por medio de los cuales se da la descomposición de los lípidos. Estos son la lipólisis y la oxidación, mejor conocida como autooxidación. Los mecanismos de deterioro químico de los lípidos se exponen a continuación.

1.3.1 Lipólisis

Se conoce como lipólisis a la hidrólisis de los enlaces éster de los lípidos. El producto de esta reacción es la liberación de los ácidos grasos constituyentes de los triglicéridos y fosfolípidos, lo cual provoca una disminución en el pH. Esta reacción se da ya sea por aumentos de temperatura, como ocurre durante la fritura de los alimentos, o bien por la acción de las enzimas llamadas lipasas.

En el caso de alimentos, particularmente carne de pollo, almacenada en condiciones de congelación, el efecto de la lipólisis es casi despreciable. La primera razón para esto es que es una reacción de hidrólisis, y al haber poca disponibilidad de agua por estar en estado sólido, la rapidez de esta reacción es muy baja. La segunda razón es que no existe ni la energía necesaria para activar la reacción no catalizada ni la temperatura adecuada para el funcionamiento de las enzimas lipolíticas.

Sin embargo, es necesario tomar en cuenta la reacción de lipólisis en el tiempo previo a la congelación. Esto es porque la reacción de autooxidación se puede dar más fácilmente en aquellos ácidos grasos libres al exceder cierto valor que puede permanecer en las membranas celulares, debido a la disminución de los impedimentos estéricos y a la movilidad de las moléculas (Fennema, 1993; Smith, 1987).

1.3.2 Autooxidación de los lípidos

La oxidación lipídica o rancidez oxidativa ha sido identificada desde hace tiempo como un problema asociado con el almacenamiento por tiempos prolongados de grasas y aceites. Esta reacción provoca cambios en las propiedades organolépticas de los alimentos, así como perjuicio en sus características nutritivas y en la salud de los consumidores finales. Dichos problemas de salud, como propensión al cáncer y artritis reumática, son provocados por los productos de la rancidez oxidativa (Halliwell, 1984). Los cambios oxidativos en los lípidos de los alimentos involucran principalmente reacciones de autooxidación, las cuales son acompañadas por posteriores reacciones no oxidativas.

La oxidación de los lípidos se da generalmente por un mecanismo en cadena de radicales libres, siendo esta reacción conocida como autooxidación. Sólo en algunos casos se puede dar la oxidación de los lípidos por otras vías, como la enzimática (Gray, 1992).

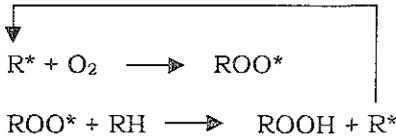
1.3.2.1 Mecanismo general de la autooxidación

El mecanismo de la autooxidación, como mecanismo de radicales libres, se da en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. El sustrato inicial para que esta reacción se lleve a cabo son los lípidos insaturados. Como producto de la autooxidación se forman hidroperóxidos, los cuales son susceptibles a posteriores oxidaciones o descomposición en productos secundarios como aldehídos, cetonas, ácidos y alcoholes. A continuación se muestra un esquema simplificado de los pasos de la autooxidación.

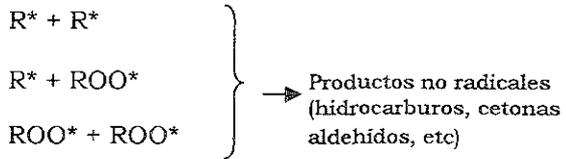
INICIACIÓN



PROPAGACIÓN



TERMINACIÓN



INICIACIÓN

La reacción en cadena es iniciada por la formación de un radical libre formado por la pérdida de un hidrógeno en un ácido graso. Existen distintos medios para la formación del radical libre, y dependiendo de cuál de ellos aplique, será la estructura del radical. La iniciación y el radical libre formado tienen poca influencia sobre el resto de la autooxidación, sin embargo, la velocidad de la iniciación es la dominante en el proceso de oxidación (Wheatley, 2000).

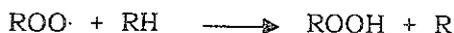
Existen principalmente tres mecanismos de iniciación. El primero es por radiación electromagnética, como rayos ultravioleta, luz, etc., el segundo por descomposición de un hidroperóxido de bajo peso molecular y el tercero por medio de un catalizador metálico. Recientemente se ha propuesto que la especie activa para la iniciación de la autooxidación es el oxígeno singulete (Fennema, 1993).



PROPAGACIÓN

Una vez formado un número suficiente de radicales libres, la reacción en cadena se propaga al captar átomos de hidrógeno de las posiciones α de los dobles enlaces donde la unión entre carbono e hidrógeno es relativamente débil. Por ejemplo, en el ácido oleico los enlaces más débiles están en las posiciones C8 y C11, el sitio más activo en el ácido linoleico se encuentra en la posición C11, mientras que en el ácido linolénico se tienen dos sitios activos, C11 y C14.

En estas posiciones se adiciona el oxígeno triplete, dando lugar a la producción de radicales peróxido ROO \cdot ; que a su vez captan hidrógeno de los grupos α -metilénicos de otras moléculas para dar lugar a los hidroperóxidos ROOH y grupos R \cdot ; estos a su vez reaccionan con el oxígeno repitiéndose la secuencia de reacción descrita.



Los hidroperóxidos, productos primarios de la autooxidación lipídica, son relativamente inestables e intervienen en numerosas y complejas reacciones de ruptura e interacción para formar radicales alcoxilo y peroxilo, que son los responsables de la producción de innumerables compuestos de distintos pesos moleculares capaces de producir aromas y que son biológicamente significativos. (Fenema, 1993 ; Madhavi, 1996).

TERMINACIÓN

La reacción en cadena es terminada con la reacción entre dos moléculas de radicales libres produciendo dímeros y polímeros estables.

Las tres combinaciones por las cuales puede terminar la reacción de autooxidación son las siguientes (Wheatley, 2000).



Las moléculas con radicales libres tienen un electrón deslocalizado y por lo tanto son estructuralmente inestables, por lo que tienden a reaccionar rápidamente para alcanzar la estabilidad. Así, las reacciones en la etapa de terminación interrumpen la secuencia repetitiva de reacciones en la etapa de propagación.

Cuando la concentración de lípidos insaturados disponibles ha disminuido, aumenta la probabilidad de la reacción entre radicales libres para formar compuestos no radicales estables.

1.3.2.2 Oxidación con oxígeno singulete

Hasta ahora queda claro el mecanismo general de las reacciones de autooxidación; sin embargo, el origen de los primeros radicales libres es difícil de explicar tan solo como resultado de ondas electromagnéticas, con catalizadores metálicos, o por un ataque de oxígeno en su forma estable. De aquí surge la teoría de que se da un ataque a las zonas de alta densidad electrónica (dobles enlaces C-C) por acción del oxígeno singulete (1O_2), una de las especies activas en el deterioro fotooxidativo.

El oxígeno singulete se forma a través de fotosensibilizadores, principalmente pigmentos presentes en los alimentos (Khayat, 1983). Esta especie tiene los dos electrones de los orbitales enlazantes 2p con espines opuestos, lo que da una gran repulsión electrostática y reactividad.

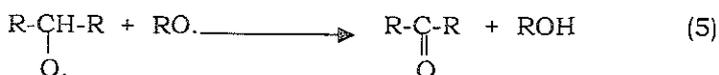
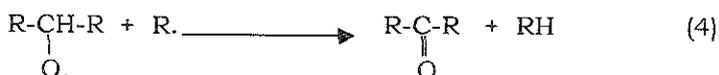
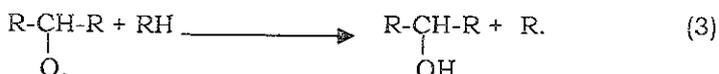
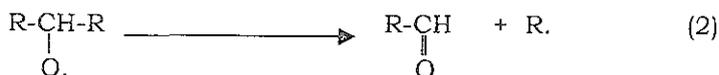
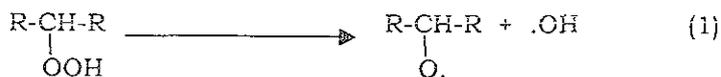
La formación de hidroperóxidos por el oxígeno singulete se da por mecanismos distintos a los radicales libres, principalmente por la reacción *eno*. Esto produce la generación de un peróxido alílico en la configuración trans. Este peróxido se rompe posteriormente generando dos radicales libres e iniciando la reacción en cadena.

1.3.2.3 Descomposición de hidroperóxidos

Los hidroperóxidos, producto de la etapa de propagación de la autooxidación, son compuestos muy inestables y reaccionan para dar lugar a diferentes tipos de productos secundarios. Cada hidroperóxido origina una serie de productos de ruptura iniciales que varían según la posición que ocupe en la molécula originaria; estos compuestos pueden ser sujetos a reacciones de oxidación y descomposición posteriores, contribuyendo así a la formación de radicales libres de distinto tipo.

Los hidroperóxidos se descomponen conforme se van formando. En las primeras etapas de la autooxidación, la rapidez de formación es mayor a la de descomposición, invirtiéndose en las últimas etapas (Fennema, 1993).

La descomposición de los hidroperóxidos se lleva a cabo por medio de un mecanismo de radicales libres, el cual se ilustra a continuación.



En la reacción 1, etapa que podría denominarse de iniciación, el hidroperóxido se descompone en dos radicales libres, radical alcoxi e hidroxilo. En las reacciones de la 2 a la 5 se da la combinación del radical libre alcoxi con otras moléculas ya sea con o sin radicales libres, generando los productos de la descomposición de los hidroperóxidos, ya sean aldehídos, alcoholes o cetonas (Khayat, 1983).

El radical alcoxi generalmente sufre rupturas posteriores. Estas se dan en el enlace carbono-carbono. Cuando la ruptura ocurre por el lado ácido de la molécula, da lugar a la formación de un aldehído y un ácido o un éster. Cuando la ruptura ocurre del lado hidrocarbonado, se forma un hidrocarburo y un oxoácido u oxoéster. En caso de que en la ruptura aparezca un radical vinílico, se forma un aldehído.

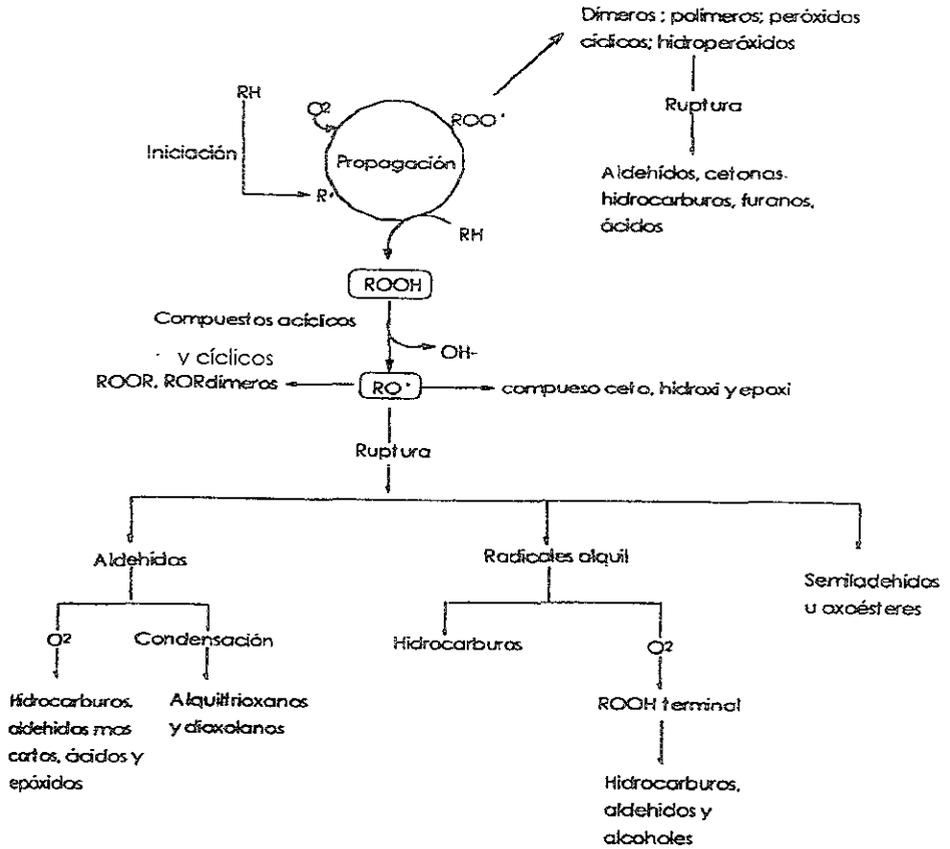
1.3.2.4 Descomposición de aldehídos

Dentro de todo el amplio rango de moléculas que se generan como compuestos secundarios de la autooxidación, los aldehídos ocupan un lugar preponderante. Algunos de ellos son producto de las rupturas clásicas de hidroperóxidos explicadas anteriormente. Sin embargo, muchos de ellos no parecen originados de esta reacción.

Los aldehídos saturados se oxidan fácilmente, generando los ácidos correspondientes. Así mismo pueden participar en reacciones de condensación y dimerización. Los aldehídos insaturados pueden experimentar la autooxidación clásica mediante el ataque del oxígeno en las posiciones α -metilénicas, formando hidrocarburos de cadena corta, aldehídos y dialdehídos. Uno de los productos comúnmente generados por esta vía es el malonaldehído, fundamento para la medición de la oxidación por medio del ácido tiobarbitúrico (TBA).

A partir de todos los procesos que implica el mecanismo de autooxidación, ya sea para formación de productos primarios o su descomposición en productos secundarios, podemos fácilmente concluir que este proceso es de una complejidad asombrosa. De ahí que el estudio de este proceso sea aún limitado, a pesar de la gran cantidad de libros y artículos que se enfocan en él.

Fig. 1. Esquema general de la autooxidación de lípidos. (Fennema, 1993)



1.3.2.5 Factores que afectan la velocidad de la autooxidación

La velocidad del proceso de autooxidación es muy variable, siendo esto por la propia proporción de ácidos grasos del alimento, los compuestos no lipídicos presentes o las condiciones bajo las cuales se encuentre. Los principales factores que pueden afectar la velocidad del proceso son:

Actividad del agua:

La actividad del agua (a_w) es definitivamente uno de los principales factores en la autooxidación lipídica. Es bien conocido que cuando un alimento tiene bajos contenidos de agua, sus grasas son oxidadas rápidamente. Este fenómeno se da por una combinación de varios efectos.

El primero es la disminución de agua como solvente. Mientras se da la congelación, la mayor parte del agua que actuaba como solvente se ve transformada al estado sólido. De este modo los ácidos grasos, hidroperóxidos y moléculas con radicales libres quedan disueltos en menores cantidades de agua y la concentración de los reactivos aumenta proporcionalmente a la disminución del solvente. Debido a la cinética de las reacciones, al estar los reactivos más cercanos unos a otros, la probabilidad de su contacto aumenta y así mismo la velocidad de la reacción.

El segundo efecto de la congelación que favorece el aumento de velocidad en las reacciones de autooxidación de lípidos está directamente relacionado con la formación de cristales. Al encontrarse el agua en su estado sólido, se favorece el paso de oxígeno, siendo este también un reactivo en la propagación de la autooxidación. (Fennema, 1993; Gray, 1978)

Otro de los principales efectos de la disminución en la actividad del agua se relaciona con los catalizadores de la autooxidación. Mientras mayor sea la disponibilidad de estos catalizadores (Cu, Fe, Co y Cd) mayor será la velocidad de la reacción. Al ser la actividad del agua alta, estos metales serán hidratados disminuyendo su propia actividad (Allen, 1992). En cambio, si disminuye la actividad del agua, la hidratación será mínima y la actividad máxima.

Composición de la grasa:

Uno de los principales factores para la rapidez de la autooxidación es la composición de la grasa. La autooxidación es posible tanto en moléculas insaturadas como saturadas, pero a bajas temperaturas se da principalmente en los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados. Así, por ejemplo, la relación de velocidades de oxidación del ácido linolénico, linoléico y oleico son aproximadamente de 20:10:1, teniendo respectivamente tres, dos y un doble enlace.

Pero no sólo es el número de dobles enlaces el factor con influencia en la rapidez, sino también su posición y geometría. Los ácidos grasos con dobles enlaces cis se oxidan más fácilmente que los isómeros trans. Así mismo, los dobles enlaces conjugados son mucho más reactivos y fácilmente oxidables que los no conjugados.

Ácidos grasos libres:

Los ácidos grasos libres son mucho más fácilmente oxidables que los correspondientes a los triacilgliceroles (Labuza, 1969). Para que los ácidos grasos libres tengan un efecto notable en la rapidez de oxidación, tiene que haber una cantidad considerable de ellos. Esto es porque al haber pocos ácidos libres, estos pueden ser acoplados a la membrana celular y ser

protegidos contra la oxidación por la vitamina E (Alasnier, 2000). Al haber mayor cantidad de ácidos grasos libres, estos pueden aumentar la incorporación de trazas de metales, que pueden actuar como catalizadores en el proceso de autooxidación.

Catalizadores:

Los metales de transición, particularmente los que poseen dos o más estados de valencia, actúan como agentes pro-oxidantes. Los principales de ellos son el cobalto, cobre, hierro, manganeso y níquel. Ellos favorecen la disminución del periodo de inducción aumentando la rapidez de oxidación. Estos metales se encuentran prácticamente en todas las grasas con distintos orígenes.

No ha sido especificado cual es el mecanismo específico de catálisis de estos metales pero se han propuesto diversos mecanismos. Los principales son:

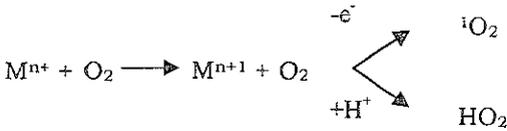
- Aceleración de la descomposición de los hidroperóxidos



- Reacción directa con el sustrato no oxidado



- Activación del oxígeno molecular para dar oxígeno singulete y radicales peróxido



* M = metal

En la carne de pollo es importante este efecto, ya que el hierro se encuentra presente como constituyente de aminoácidos o ácidos carboxílicos o bien unido a proteínas como mioglobina y hemoglobina (Decker, 1990). También se puede encontrar el hierro en la carne de pollo en su forma de iones libres (Fennema, 1993). Parece ser que esta última forma de hierro es la principal responsable de la catálisis en la oxidación lipídica (Hazell, 1982).

La catálisis por hierro se da en la forma de ion ferroso, por lo que además de la dependencia de su concentración, se requiere de agentes reductores que promuevan la presencia del hierro en su forma reducida (Decker, 1990).

Presión de oxígeno:

Al ser el oxígeno el factor limitante en la reacción de autooxidación, la velocidad de reacción es proporcional a la concentración de oxígeno. Hay que tomar en cuenta que otros factores afectan a la presión de oxígeno como la temperatura y el área superficial (Fennema, 1993).

Temperatura:

En términos generales, la rapidez de oxidación aumenta al aumentar la temperatura. Adicionalmente, el incremento de temperatura es un factor de aumento proporcional para la presión y concentración de oxígeno. Sin

embargo, en ciertos intervalos esto pierde importancia ya que la solubilidad del oxígeno disminuye al elevarse la temperatura.

A muy altas temperaturas este factor cobra mayor importancia, ya que se desnaturaliza la membrana y se liberan los fosfolípidos. En ellos se encuentra la mayor cantidad de instauraciones, las cuales al liberarse los fosfolípidos tienen mayor movilidad y se pueden acercar a los catalizadores (Asghar, 1988).

Factores que retardan la oxidación lipídica

Hasta este punto se han tratado exclusivamente factores que perjudican la integridad de los alimentos. La presencia o el incremento de estos, como la presión de oxígeno o catalizadores, favorece la oxidación de los lípidos en la carne de pollo. Pero de igual importancia son los factores que reducen la tendencia a la oxidación de la carne.

Dichos factores pueden derivarse de la naturaleza misma del alimento o bien deberse a fuentes ajenas. Uno de estos factores corresponde a los antioxidantes, ya que el uso de estos disminuye la rancidez oxidativa, retarda la formación de productos tóxicos de oxidación, permite la conservación de la calidad nutrimental e incrementa la vida de anaquel (Madhavi, 1996). Los antioxidantes pueden ser de origen natural o sintético. Dentro de los antioxidantes naturales se encuentran el tocoferol, ácido eritórbico y el ácido cítrico entre otros.

En el caso de la carne de pollo es de especial interés el caso del tocoferol, ya que éste se encuentra presente en la carne de pollo en diversas concentraciones, que dependen de la especie y la dieta. El tocoferol es un antioxidante que actúa a nivel de la membrana celular (Halliwell, 1987),

capaz de reaccionar con los radicales libres, lo cual protege a los fosfolípidos de la oxidación.

Uebersax y Gray han realizado estudios en pollo dónde se demuestra que el tocoferol retarda la oxidación lipídica de la carne de pollo, después de incorporar el tocoferol a través de dieta del animal o bien inyectando el tocoferol directamente en la membrana celular.

Adicionalmente, también son de gran importancia los antioxidantes sintéticos para retardar la oxidación lipídica como el butilhidroxitolueno (BHT) y el butilhidroxianisol (BHA), por mencionar los antioxidantes comúnmente utilizados en la industria.

Otro factor que retarda la oxidación lipídica corresponde a las barreras físicas al paso de oxígeno. Estas también pueden ser tanto de origen natural como artificial. El principal ejemplo de las barreras naturales es la piel, a pesar de que aún no ha sido comprobado su papel en este sentido. Por otro lado, existen barreras físicas sintéticas, siendo éstas los empaques comerciales utilizados comúnmente. Estos suelen ser polímeros, como el polietileno o el poliestireno.

También es común el uso de empaques al vacío o con atmósfera inerte que evitan el deterioro oxidativo. Así mismo, en ocasiones se impregna el empaque con BHA, de modo que este migra a la carne y ejerce su papel de antioxidante. Todos estos métodos se han estudiado y dan como resultados un retraso en la rancidez oxidativa (Dawson, 1983, Anelich, 2001).

1.3.2.6 Consecuencias de la oxidación lipídica en los alimentos

Existen múltiples consecuencias de la oxidación de los lípidos en los alimentos, y no es excepción en la carne de pollo. Estos efectos van desde el perjuicio de las cualidades sensoriales como el olor, sabor y textura, hasta el detrimento del valor nutritivo e incluso a daños en la salud de los consumidores (Vercellotti, 1992).

A continuación se citan algunos de los principales efectos adversos que tiene la oxidación en la carne de pollo.

Olores y sabores desagradables

Los productos primarios de la autooxidación, los peróxidos, son compuestos que no aportan olor, sabor ni color a la carne de pollo. La descomposición de estos genera principalmente varios aldehídos distintos entre sí, pero son estos aldehídos de bajo peso molecular los que provocan los olores y sabores desagradables en la carne de pollo. También existe la posibilidad que a partir del deterioro proteínico se generen aldehídos que deteriorarán las propiedades sensoriales de la carne de pollo. También las cetonas, alcoholes, ésteres y ácidos modifican estas propiedades. Ellos imparten rancidez, olor a grasa pungente y otros sabores característicos a la descomposición de la carne (Chang, 1977).

Dichos productos secundarios no son volátiles bajo condiciones de congelación. Debido a esto, el olor rancio no es detectable hasta que el producto en cuestión es calentado o al menos descongelado.

Otros productos de menor peso molecular capaces de generar malos olores en la carne son por ejemplo el hexano y el pentano. Estos hidrocarburos se encuentran generalmente en concentraciones muy bajas,

por lo que no provocan malos olores en la carne a menos que los periodos de almacenamiento sean muy prolongados (Madhavi, 1996; Shenouda, 1980).

Disminución del valor nutritivo

La oxidación de los lípidos tiende a disminuir la calidad nutricional de los alimentos debido a la oxidación *per se* y a la reacción de los lípidos oxidados con otros constituyentes del alimento. Ejemplo de esto son las proteínas, carbohidratos y vitaminas (Labuza, 1971).

No sólo las proteínas se ven afectadas por reacciones con los lípidos oxidados; también los péptidos y los aminoácidos son presa de este tipo de reacciones perjudiciales. Por esta interacción se ha observado la formación de sulfóxidos y ácidos sulfónicos, así como la presencia de reacciones de Maillard, proceso que se favorece durante la cocción liberando compuestos volátiles de aroma desagradable, disminuyendo la digestibilidad de la fracción protéica por la formación de melanoidinas (Fennema, 1993).

También es muy común la reacción de aminoácidos libres oxidándose con los peróxidos lipídicos. Los más susceptibles a esto son la metionina, cisteína, histidina y lisina. El malonaldehído, por ejemplo, reacciona principalmente con los grupos amino de los residuos de lisina formando enlaces cruzados inter o intramoleculares (Frankel, 1993).

La oxidación de lípidos también puede producir pérdidas de vitaminas solubles en agua. También la disponibilidad de vitaminas solubles en grasa, A, D, y E, así como la vitamina C y el folato pueden reducirse durante la oxidación de los lípidos, generalmente en alimentos secos y deshidratados, por interacción de estas con los radicales libres generados durante la autooxidación (Madhavi, 1993).

Cambio de textura y color

Los compuestos carbonílicos, productos secundarios de la oxidación lipídica, reaccionan con los grupos amino libres de las proteínas, llevándose así a cabo la reacción de Maillard que produce compuestos de color oscuro llamados melanoidinas (Miki, 1994). Estos cambios en color y apariencia para el caso de la carne son irreversibles. Otro factor que afecta el color característico de la carne es la oxidación del hierro (II) dado por la mioglobina oxigenada pasando a metamioglobina con hierro (III) (Brewer, 1993).

Por otro lado se ha relacionado la oxidación de los pigmentos de la carne y la oxidación de los lípidos. Se supone que el inicio de la oxidación de cualquiera de los dos componentes estimula la oxidación del otro (Akamitach, 1990).

La textura también muestra cambios después de la oxidación de lípidos. Esto es debido al daño que sufren las proteínas que al desnaturalizarse interaccionan con los ácidos grasos liberados durante la congelación formando enlaces cruzados. Al ser las proteínas miofibrilares las responsables de dar estructura a la carne, estas reacciones perjudican dicha textura.

Daños a la salud de los consumidores

Existen múltiples efectos en la salud de los consumidores de productos cárnicos cuyo proceso de oxidación lipídica se encuentra avanzado. Uno de los principales es que los compuestos carbonílicos productos secundarios de la oxidación contribuyen al desarrollo de la carcinogénesis y artritis reumatoide (Halliwell, 1984). Así mismo pueden afectar la señal de transducción celular. También se ha encontrado que los

hidroperóxidos ocasionan daños a nivel de ácido desoxirribonucleico (Simic, 1992).

1.4 Técnicas de evaluación del proceso de oxidación lipídica.

Existen varias técnicas para conocer el grado de evolución de la rancidez oxidativa. La mayoría de ellas se basan en la cuantificación de los productos de oxidación, ya sean primarios o secundarios, pero también se pueden hacer otras determinaciones como composición de ácidos grasos o consumo de oxígeno. Actualmente se han desarrollado técnicas que permiten la detección de intermediarios de las reacciones de oxidación lipídica.

Fernández et al. (1997) observaron que las determinaciones de peróxidos, hexanal y malonaldehído son las más importantes para evaluar el proceso de rancidez oxidativa. Baron (1997) afirma que las reacciones de ácido tiobarbitúrico (TBA), los peróxidos lipídicos y los volátiles son los métodos más utilizados, sin embargo no miden los procesos iniciales, los cuales son cruciales para la determinación de la vida de anaquel. También las técnicas de consumo de oxígeno son muy utilizadas, pero en ellas existe la interferencia de otros procesos que no permiten mediciones precisas. Christensen y Hoelmer (1996), como la mayoría de los autores, definen al método de determinación de peróxidos como la técnica más actual y completa. (Wheatley, 2000)

1.4.1 Índice de peróxidos

Los productos primarios de la oxidación lipídica son los hidroperóxidos, normalmente llamados tan solo peróxidos. Por esto, parece

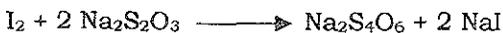
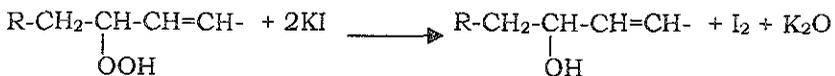
lo más lógico llevar a cabo la determinación de grado de oxidación a través de la medición de la concentración de estos compuestos. Sin embargo, esta teoría es muy limitada debido a la naturaleza transitoria de los peróxidos, que como ya se ha mencionado se descomponen fácilmente dando lugar a productos secundarios, principalmente aldehídos.

Existen en la literatura varios procedimientos para la medición del índice de peróxidos, de los cuales todos exigen la extracción previa de la grasa de la matriz alimenticia. Los resultados que se obtengan y lo adecuado de ellas dependen de las condiciones experimentales y el agente reductor empleado.

1.4.1.1 Método volumétrico (valor peróxido)

El más común de los métodos para medir el contenido de hidroperóxidos es el de "valor peróxido". Este es el método emitido por la American Oil Chemists' Society y la Association for Official Analytical Chemists (AOAC) (AOAC, 1990). El resultado de este método se expresa como miliequivalentes de peróxido por kilogramo de grasa.

Este está basado en la medición de yodo liberado por la reacción de yoduro de potasio con los peróxidos. El yodo es titulado con una solución de tiosulfato de sodio. El esquema de las reacciones se presenta a continuación.



Debido a que se ha encontrado que una concentración alta de ácidos favorece la oxidación de lípidos, se sugiere que este ensayo se haga en un medio con concentración ácida baja (Lobaas, 1992).

Se ha estudiado que las dos principales fuentes de error en este método son

- La absorción de yodo en los enlaces insaturados presentes en los ácidos grasos.
- La liberación del yodo del yoduro de potasio por la presencia de oxígeno en la solución a ser titulada. Esta provoca un aumento en el valor de peróxidos encontrado (Mehlenbacher, 1960).

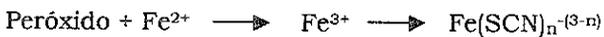
Este método se puede utilizar para determinar grados de oxidación en las grasas y aceites más comunes. Sin embargo, este método es altamente empírico y cualquier variación en el procedimiento ocasionará una variación importante en los resultados. Otro problema que ha encontrado este método es que no es posible la medición de bajos valores de peróxidos debido a las dificultades encontradas para identificar el punto de vire en la titulación del yodo. Por medio de este método se pueden determinar valores de peróxidos entre 0.06 y 20 miliequivalentes de peróxido por kilogramo de grasa de manera confiable (Gray, 1978).

1.4.1.2 Método colorimétrico

Lips (1943) sugirió para la cuantificación de hidroperóxidos un método colorimétrico basado en la oxidación del ion ferroso a ion férrico. Este se determina como tiocianato férrico. Los valores de peróxidos determinados por este método son considerablemente mayores que los calculados por el método volumétrico (Gray, 1978).

El método colorimétrico presenta una reproducibilidad excelente, requiriendo además una menor cantidad de muestra. Estas ventajas hacen suponer que el potencial de este método para la microescala es por mucho mayor que el del método de la AOAC.

Este método se basa en la reacción de los peróxidos con el hierro provocando la oxidación de este último y que ya oxidado reacciona con el tiocianato de amonio para formar un complejo colorido. La intensidad de la coloración, medida en un espectrofotómetro uv-visible, es proporcional a la concentración del complejo colorido, y así mismo a la concentración de peróxidos (Barthel, 1974; Shantha, 1994). La reacción que se lleva a cabo se presenta a continuación.



Otros métodos de determinación de peróxidos son la cromatografía de líquidos (HPLC), pero requiere de la reducción a los hidroxácidos correspondientes, métodos de quimiluminiscencia, basado en la detección de esta propiedad generada durante la oxidación de luminol por los hidroperóxidos (Yamamoto, 1987). También la determinación por fluorescencia generada por diclorofluoresceína oxidada por los hidroperóxidos (Keston, 1965), activación de la cicloxigenasa (Marshall, 1985) y formación de glutatiónina oxidada (O'Gara, 1989) son métodos estudiados para esta determinación.

1.4.2 Productos secundarios

Dos métodos de medición de indicadores de oxidación pueden ser equivalentes entre sí o bien complementarios. Los métodos mencionados anteriormente, volumétrico y colorimétrico, para cuantificar peróxidos son equivalentes, ya que ambos miden la cantidad de peróxidos en la grasa.

Para completar el estudio de la oxidación, se requiere un método complementario, que determine alguno de los productos de reacciones secundarias en la autooxidación.

1.4.2.1 Índice de Kreis

Este método basa su medición en la cuantificación de malonaldehído, aldehído epihidrina y epoxialdehídos, productos secundarios típicos de estas reacciones.

El índice de Kreis es uno de los primeros utilizados comercialmente para determinar la oxidación de las grasas. Este se fundamenta en la formación de un color rojo cuando el fluoroglucinol reacciona con los aldehídos mencionados en solución ácida.

La mayor objeción al índice de Kreis es que no siempre van en paralelo la intensidad de la coloración y la rancidez de los alimentos (Mehlenbacher, 1960). En todos los casos, muestras frescas completamente libres de la oxidación de los lípidos muestran cierta cantidad de coloración cuando son expuestas al reactivo de Kreis. También resulta muy difícil obtener resultados similares en distintos laboratorios o bajo la operación de distintos analistas. Por estas circunstancias, no es recomendable tomar el índice de Kreis como un valor satisfactorio indicativo de la rancidez, pero sí como un buen indicativo de cambios en las condiciones de muestras de grasa.

1.4.2.2 Otros métodos

Existen otros métodos para medir compuestos secundarios, entre los destaca el uso de 2,4 dinitrofenilhidrazina, teniendo la desventaja de ser demasiado lento y complicado como para utilizarlo como ensayo de rutina.

Uno de los métodos más comunes para la medición de productos de oxidación es el del ácido tiobarbitúrico (TBA). Este método se basa en la determinación del malonaldehído, producto secundario de la rancidez oxidativa. Para esto se lleva a cabo la reacción de ácido tiobarbitúrico con malonaldehído en una proporción 1:2, formando un complejo que se cuantifica espectroscópicamente.

Este método es considerado entre los principales para la determinación de productos de rancidez oxidativa, sin embargo, se ha encontrado que es poco específico. Esto es porque exclusivamente reacciona con los aldehídos conjugados formando el complejo colorido. Adicionalmente, la mayor parte del malonaldehído presente en los alimentos se encuentra ligado a otros constituyentes, pudiendo ser liberado por ácidos bajo ciertas condiciones.

Una revisión realizada por Fernández et al. (Wheatley, 2000) sobre artículos que discuten el procedimiento del método de TBA para monitorear la oxidación lipídica en carne encuentra que existen múltiples fuentes de interferencia. Una de las principales es la interferencia de una coloración amarilla (λ_{max} 450-460nm) formada por los azúcares o los productos de su degradación. Otra desventaja de éste método es su baja sensibilidad a la oxidación del ácido oleico. (Wheatley, 2000).

1.5 Extracción de grasa

De modo que se puedan llevar a cabo las determinaciones para evaluar el grado de oxidación en sistemas alimenticios complejos como lo

es la carne de pollo, es necesario obtener muestras de grasa, fuera de la matriz alimenticia. Por ello es que se requiere de un método de extracción para la grasa.

Existen varios métodos de extracción de grasa, de los cuales ninguno es universal. Así mismo existe una inmensa gama de solventes para llevar a cabo esta extracción. La elección de la técnica de extracción así como del disolvente específico dependerá siempre de las propiedades del alimento así como las determinaciones que se quieran hacer.

Los métodos de extracción se dividen principalmente en tres tipos. Estos son la extracción directa, la extracción por solubilización y la extracción por métodos volumétricos.

En la extracción por solubilización, la muestra del alimento es disuelta completamente y posteriormente se realiza la extracción con disolventes polares. Esta se puede llevar a cabo por dos métodos; el ácido, en el que se rompen las proteínas en base a ácido clorhídrico y calor, y el básico, en el cual se utiliza amoníaco y alcohol en frío (Kirk, 1996; Hagan, 1967).

En los métodos volumétricos se disuelve la muestra en ácido sulfúrico y posteriormente se centrifuga la grasa. Este método tiene dos variantes, la de Babcock y la de Gerber, las cuales son comúnmente utilizadas en el análisis de la leche (Kirk, 1996).

Finalmente, los métodos de extracción directa son aquellos en los que el disolvente se pone en contacto directo con el alimento. Son los utilizados más comúnmente y tienen algunas variantes, como la homogeneización del alimento que se da en el método de Bligh y Dyer, que

es el más recomendable para la extracción de grasa en carne por el alto contenido de humedad.

El método utilizado actualmente es el de Bligh y Dyer modificado por Hanson y Olley en 1963. En el se homogeniza el alimento con metanol y cloroformo de modo que se forme una fase miscible con el agua de los alimentos. Posteriormente se adicionan cloroformo y agua, formándose así dos fases, una de las cuales contiene el cloroformo y los materiales lipídicos (Kirk, 1996).

Debido a la alta toxicidad que presenta el cloroformo, éste se ha visto sustituido para el método de Bligh y Dyer por el diclorometano. Khor y Chan (1985) demostraron que se puede utilizar cloruro de metileno en lugar de cloroformo en los procesos de extracción de lípidos.

Hagan (1967) demostró que este método de extracción separa mayores cantidades de grasa que los recomendados por la AOAC. Este método es recomendado por dos factores: el primero es que permite una efectiva extracción en sistemas con alta humedad, como el pollo que contiene 74%; el segundo es que al no utilizar altas temperaturas, el grado de oxidación de la grasa no se modifica alterando los resultados (Sahasrabudhe, 1983; Erickson, 1993; Rossell, 1991).

Balarezo, (1998) encontró que se logran las mejores extracciones de grasa y productos de oxidación en carne de pollo utilizando como solvente una mezcla diclorometano: metanol (1:1) (Balarezo, 1998).

METODOLOGÍA

2.1 Cuantificación de contenido de grasa en muslo de pollo.

El paso inicial a seguir en la metodología de este tipo de estudio es la determinación del tamaño y cantidad de muestras a preparar para llevar a cabo las evaluaciones correspondientes. La cantidad de muestras es función de la longitud del periodo que se quiere monitorear así como de los intervalos entre una y otra evaluación. Para estipular el tamaño de las muestras, es necesario calcular cuánta grasa se necesita para llevar a cabo las pruebas correspondientes y la cantidad de ésta disponible por peso de pollo.

Para determinar la cantidad de grasa promedio por muslo de pollo, se cuantificó la grasa en seis muslos. De estos se tomó solo la parte muscular (carne), se pesó y se le extrajo la grasa como se indica en la sección 2.3.1 (Extracción y cuantificación de lípidos) del presente estudio. Finalmente con los distintos contenidos de grasa se calculó el promedio así como la desviación estándar.

2.2 Preparación de muestras

Para la determinación de la influencia de la piel de pollo en el desarrollo de la oxidación de lípidos en condiciones de congelación (-18°C) y refrigeración (4°C) se seleccionaron piezas de pollo correspondientes al muslo, con y sin piel. Dichas piezas se obtuvieron frescas de forma aleatoria. Fueron adquiridas en un solo tiempo y se empaquetaron en forma comercial, utilizando charolas de poliestireno y cobertura

transparente de polietileno cuya permeabilidad es de $5.9 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \text{ día atm stp}$, cada una de las charolas contenía dos piezas de pollo (200g aproximadamente). Las muestras así preparadas se almacenaron a una temperatura de $-18 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ y $4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ en un refrigerador Whirpool modelo ED25DQ.

Se utilizó el muslo, ya que esta pieza pertenece a los músculos rojos del pollo, presentando un mayor contenido lipídico que los blancos y por lo tanto una mayor susceptibilidad al deterioro oxidativo. Este efecto se ve aumentado por la actividad catalítica que se lleva a cabo en estos músculos que presentan una mayor cantidad de mioglobina (Rhee, 1996). Adicionalmente, los lípidos de la porción magra contienen mayor cantidad de fosfolípidos que la porción adiposa, siendo los fosfolípidos altamente insaturados (Fennema, 1993).

2.3 Monitoreo de la oxidación lipídica

A partir del tiempo de adquisición (tiempo cero) se realizó el monitoreo de las muestras. Esto con el objeto de verificar la calidad química de la grasa. Posteriormente se realizaron análisis periódicamente en intervalos variables que dependían de la velocidad de oxidación de la muestra, cada dos o tres semanas aproximadamente para el caso de la carne almacenada en congelación, para las muestras almacenadas en refrigeración se analizó cada tres días.

Para el monitoreo primero se procedió a la separación del material lipídico de la matriz alimenticia. Posteriormente se llevaron a cabo los métodos de determinación de productos de oxidación de índice de peróxidos (AOAC, 1990; Kirk, 1996) e índice de Kreis (Hart, 1991).

2.3.1 Extracción y cuantificación de lípidos

Trabajos realizados sobre diversos productos cárnicos han demostrado que tanto el disolvente empleado como el método de extracción son factores de gran importancia en la cuantificación de lípidos, así como en la determinación de los índices de oxidación. Por esto se requiere para cada alimento un solvente o una mezcla de ellos específica y un método de acuerdo a sus propias características (Donoso, 1996). En el caso particular de la carne de pollo, se recomienda el uso del método de Bligh y Dyer para la extracción y cuantificación de lípidos, así como para la determinación de índices de oxidación, empleando como disolvente la mezcla diclorometano: metanol (1:1) (Balarezo, 1998).

Se extrajo solamente la grasa intramuscular por lo que en las muestras almacenadas con piel la extracción se realizó una vez que ésta fue retirada.

El método general de extracción de lípidos para cuantificación de Bligh y Dyer se describe en el anexo I (Bligh, 1959).

2.3.2 Índice de peróxidos

Es la medida de los peróxidos, productos primarios en la oxidación de lípidos. Se puede llevar a cabo por medio de dos métodos principalmente:

2.3.2.1 Método de la AOAC 965.33 (AOAC, 1990)

Es también conocido como método volumétrico. Se basa en la reacción de yoduro de potasio, en medio ácido, con el oxígeno de los peróxidos. El yodo liberado se titula con tiosulfato de sodio.

El procedimiento completo se muestra en el anexo I.

2.3.2.2 Método Colorimétrico (Kirk, 1996)

El método se basa en la capacidad de los peróxidos para oxidar los iones ferrosos (FeII) a ferricos (FeIII). Se cuantifica midiendo el compuesto de color rojo producido por la formación de un complejo entre el tiocianato y el ión férrico, como se indica en el anexo I.

2.3.3 Índice de Kreis (Hart, 1991)

La prueba se basa en la determinación de malonaldehído, producto secundario en la oxidación de lípidos. En esta medición se da la formación de un color rojo cuando el fluoroglucinol reacciona con el aldehído epihidrina, o malonaldehído

El método se muestra en el anexo I.

2.4 Análisis Estadístico

Con el fin de determinar si existen diferencias significativas en el desarrollo oxidativo de los lípidos en carne de pollo con o sin piel durante su almacenamiento en condiciones de congelación y refrigeración es necesario llevar a cabo una evaluación estadística de los resultados. El método a emplearse será el análisis de varianza para un diseño de bloques. Para llevar a cabo el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 10.0 para la determinación de análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Cuantificación de contenido de grasa en muslos de pollo.

La extracción de grasa del muslo de pollo se llevó a cabo por medio del método de Bligh y Dyer ya que por medio de éste se obtienen buenos rendimientos de extracción para alimentos con alto contenido de humedad, siendo así el caso del pollo. Además al no utilizar altas temperaturas, el grado de oxidación de la grasa no es alterado, obteniéndose así resultados confiables durante el monitoreo de la oxidación lipídica. En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de la cuantificación lipídica del muslo de pollo.

Tabla 3. Concentración de grasa en el muslo de pollo

Muestra	Grasa (g/100g de muestra)
1	5.20
2	6.32
3	5.82
4	7.07
5	5.86
6	6.23
Media	6.08
Desviación estándar	0.6245

En los resultados obtenidos (tabla 3), podemos observar que el contenido lipídico del muslo de pollo corresponde al 6.08 ± 0.6245 %. Rhee y Anderson (Rhee, 1996) reportan que el muslo de pollo contiene 5.99% de grasa, lo cual concuerda con nuestros resultados.

Es importante mencionar aquí que a pesar de corresponder todas las piezas a un mismo lote, adquiridas al mismo tiempo, se espera cierta diferencia entre los contenidos de grasa de unas y otras piezas. Esto se debe a que existen variaciones entre cada animal, debidas al metabolismo, las condiciones de su crianza, y de manera muy importante a la alimentación recibida por cada uno. A pesar de dichas diferencias, encontramos que la desviación estándar del contenido de grasa en el muslo es relativamente baja.

La cantidad de grasa necesaria para llevar a cabo los métodos que permiten evaluar la oxidación lipídica es de 11.8g, considerando que el método colorimétrico e índice de Kreis se realizan por triplicado y el método volumétrico se lleva a cabo sólo por duplicado debido a la alta cantidad de muestra requerida por este último método. Tomando en cuenta que el porcentaje promedio de grasa en el muslo es de 6.08% se requirieron 194 gramos de carne. De este modo se colocaron de dos a tres piezas de pollo en cada una de las charolas para su almacenamiento y posterior análisis.

3.2 Evaluación de oxidación lipídica en pollo con y sin piel almacenados en refrigeración (4°C).

Se realizó un estudio para muestras de pollo con y sin piel almacenado en condiciones de refrigeración (4°C). Tomando como referencia el trabajo realizado por Alasnier (2000) donde se estudió la

oxidación lipídica del muslo y pechuga de pollo durante 14 días, bajo las mismas condiciones de refrigeración. Sin embargo en el presente estudio no fue posible realizar el monitoreo de la rancidez lipídica por más de 7 días debido al deterioro microbiológico presentado en las muestras.

Este estudio se realizó para dos lotes diferentes, en los cuales se evaluó el índice de peróxidos por los métodos colorimétrico y volumétrico así como el índice de Kreis. Los resultados para los dos lotes se presentan a continuación.

Tabla 6. Evaluación de productos de oxidación para pollo con piel almacenado en refrigeración (4°C)

Lote	Día de monitoreo	Índice de peróxidos (meq / kg grasa)				Índice de Kreis (Índice / g grasa)
		Método volumétrico		Método colorimétrico		
		valor	aumento	valor	aumento	
1	0	0	0	0.4086	0	0.17
	3	0	0	0.5855	0.1769	1.86
	7	0.7171	0.7171	0.7870	0.3784	5.45
2	0	0.83	0	0.8563	0	1.1703
	3	0.94	0.11	1.0178	0.1615	1.3239
	7	1.4354	0.6054	1.5221	0.6658	2.9868

*La desviación estándar de los datos no fue mayor a 0.99%

Tabla 7. Evaluación de productos de oxidación para pollo sin piel almacenado en condiciones de refrigeración(4°C).

Lote	Día de monitoreo	Índice de peróxidos (meq / kg grasa)				Índice de Kreis (Índice / g grasa)
		Método volumétrico		Método colorimétrico		
		valor	aumento	valor	aumento	
1	0	0	0	0.4086	0	0.2444
	3	0	0	0.8059	0.3973	6.90
	7	1.02	1.02	1.3546	0.946	2.8472
2	0	0.83	0	0.8563	0	1.1703
	3	0.97	0.14	1.1186	0.2623	1.7334
	7	1.52	0.69	1.644	0.7877	3.2094

* La desviación estándar de los datos no fue mayor a 0.99%

En el análisis del proceso de oxidación lipídica para el pollo con piel y sin piel almacenado durante periodos cortos en condiciones de refrigeración, se puede ver que los dos lotes estudiados presentan una mayor producción de compuestos primarios y secundarios en los muslos de pollo cuya piel había sido eliminada. Esto se observó particularmente en los resultados de índice de peróxidos por el método colorimétrico, el principal por ser el más confiable para la determinación de productos primarios de la oxidación de lípidos.

Tanto en el método volumétrico como en el colorimétrico el aumento presentado hasta el día siete de meq de peróxido/kg de grasa, con respecto al tiempo cero nos permite observar más claramente la diferencia en la producción de compuestos primarios entre las dos condiciones de

almacenamiento, presentando un mayor aumento en el nivel de peróxidos de la carne de pollo almacenada sin piel.

Durante la evaluación del deterioro oxidativo de carne de pollo en refrigeración, se encontraron resultados irregulares con respecto al índice de Kreis. Esto puede deberse a que al haber acción de microorganismos, estos consumen los productos secundarios de la oxidación o bien reacción con otros compuestos presentes en la matriz alimenticia..

El análisis estadístico aplicado a los resultados (anexo II), permite ver que existe diferencia significativa entre la producción de productos primarios (método colorimétrico) y productos secundarios (Índice de Kreis) para las muestras almacenadas con piel y sin piel.

Finalmente los resultados de la rancidez oxidativa presentado por las muestras almacenadas con y sin piel bajo estas condiciones muestran un indicio de que la piel influye en el deterioro oxidativo, ya que dicho proceso se lleva a cabo más lentamente en la carne de pollo almacenada con piel.

3.3. Monitoreo de la oxidación de lípidos de carne de pollo con y sin piel

En la tabla 4 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de los productos de la oxidación lipídica del muslo de pollo que fue almacenado con piel y que como ya se mencionó se mantuvo en congelación (-18°C), empaquetado de manera comercial. Esta evaluación se llevó a cabo durante 154 días y consistió en la determinación del índice de peróxidos por el método colorimétrico y volumétrico así como del índice de Kreis, en la grasa extraída del muslo (una vez que se retiró la piel). El porcentaje de grasa intramuscular promedio de las piezas de pollo que fueron estudiadas fue de 6.21 ± 0.8575 .

Tabla 4 . Resultados de los productos de oxidación en la carne de pollo con piel, almacenada en congelación (-18°C)

Día de monitoreo	Índice de peróxidos (meq / kg grasa)		Índice de Kreis (índice Kreis/ g grasa)
	Método volumétrico	Método colorimétrico	
0	0.0000	0.5190	0.4563
15	0.0000	0.8273	0.7359
30	0.6150	1.5338	1.0190
45	0.9975	1.3658	2.5556
60	1.1890	1.2661	3.6964
88	1.2261	1.2898	3.9829
94	1.2005	0.9795	3.3873
101	1.1123	1.1985	3.9666
108	1.2361	1.9415	3.9945
135	---	2.2526	3.8272
154	1.7877	2.4964	3.7472

*La desviación estándar de los datos no fue mayor a 6.8%

De manera simultánea se llevó a cabo el monitoreo de las muestras de muslos de pollo almacenados bajo condiciones de congelación sin piel. El monitoreo de ambos lotes se realizó exactamente los mismos días, de modo que no se agregaran variables no controlables como temperatura y humedad ambientales en distintos días de monitoreo. En la tabla 5 se presentan los resultados de esta evaluación

La grasa fue extraída por el método de Bligh y Dyer (1959) para llevar a cabo las determinaciones por los tres métodos correspondientes. Los resultados de la extracción de la grasa para las piezas sin piel

presentan un valor promedio de 6.25% con una desviación estándar de 0.8845.

Tabla 5. Resultados de evaluación de productos de oxidación en carne de pollo almacenado sin piel en congelación (-18°C)

Día de monitoreo	Índice de peróxidos (meq / kg grasa)		Índice de Kreis (índice de Kreis / g grasa)
	Método volumétrico	Método colorimétrico	
0	0.0000	0.5190	0.4563
15	0.0000	0.8300	0.6566
30	0.8075	1.6704	1.3556
45	1.2950	1.5834	3.7778
60	1.1932	1.8271	4.2000
88	1.3380	1.7000	4.4737
94	1.2221	1.7539	4.7733
101	1.0250	1.6965	4.4048
108	1.2859	1.6648	3.8675
135	---	3.9161	5.5324
154	1.7986	2.6338	2.8228

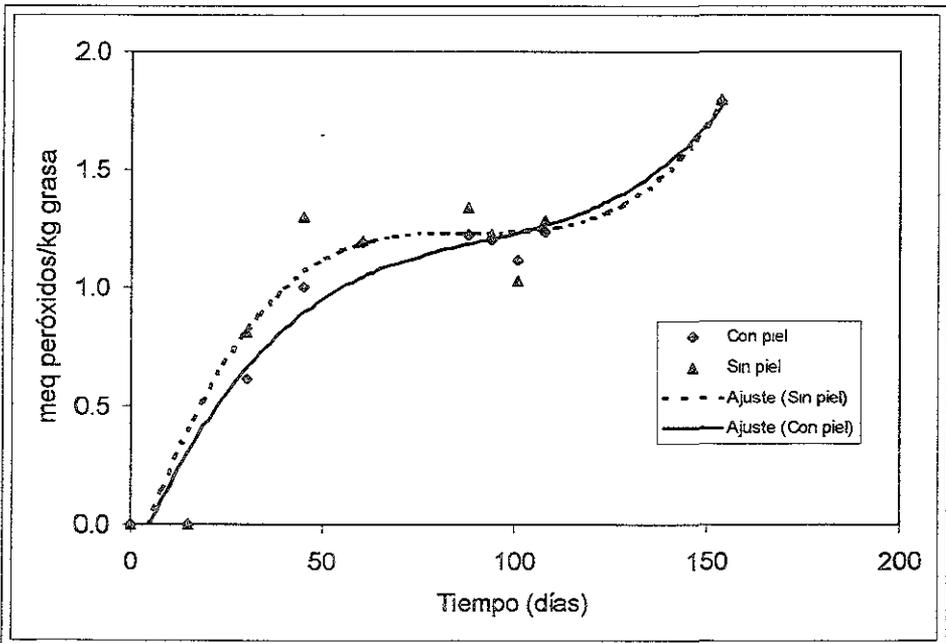
*La desviación estándar de los datos no fue mayor a 6.8%

Este estudio se llevó a cabo durante 154 días, tiempo que aparentemente dura el periodo de inducción para el muslo almacenado en congelación, ya que el nivel de peróxidos se mantiene constante y muy similar. El tiempo de inducción es dependiente de la presencia de agentes inhibidores como los antioxidantes naturales, que en este caso corresponde a la vitamina E (tocoferol). Sin embargo este lapso de tiempo,

a pesar de ser aún la etapa de inducción, nos permite determinar si existe diferencia entre la evolución oxidativa de las dos condiciones a estudiar.

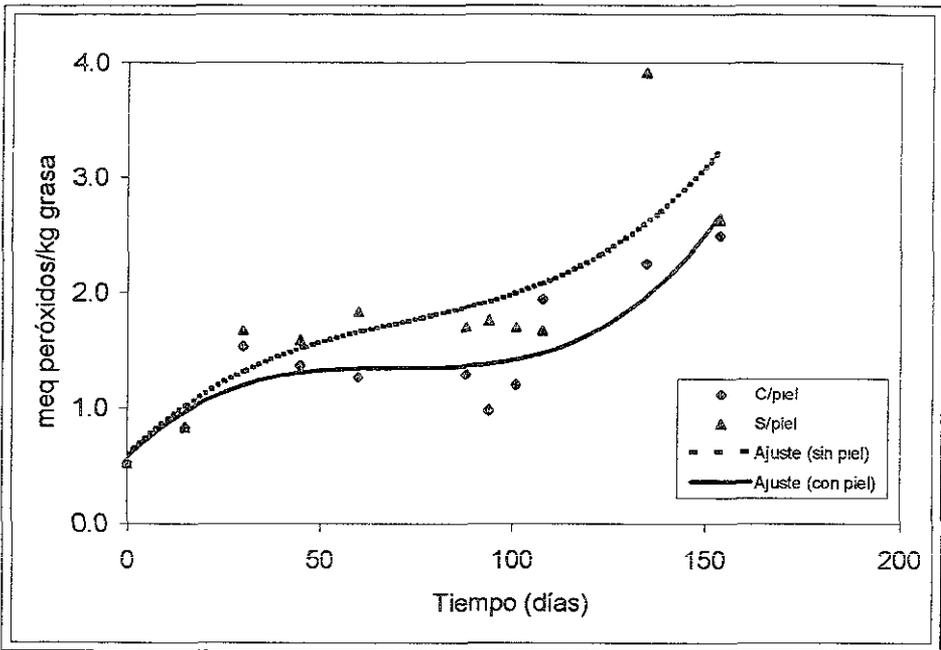
A partir de los resultados presentados en la tabla 4 y 5, se construyeron gráficas comparativas que muestran la evolución de la concentración de los productos primarios y secundarios de la rancidez oxidativa a lo largo del periodo de monitoreo, tanto en la grasa de la carne de pollo almacenado con piel como en la del producto almacenado sin piel. Con el fin de determinar la influencia de la piel como posible agente limitante para el proceso de rancidez oxidativa. Se construyó una gráfica para cada método de determinación de índice de peróxidos, así como para el índice de Kreis. (Gráfica 1, 2 y 3).

Gráfica 1. Evolución de la oxidación lipídica del muslo de pollo almacenado con y sin piel en congelación (-18°C) (método volumétrico).



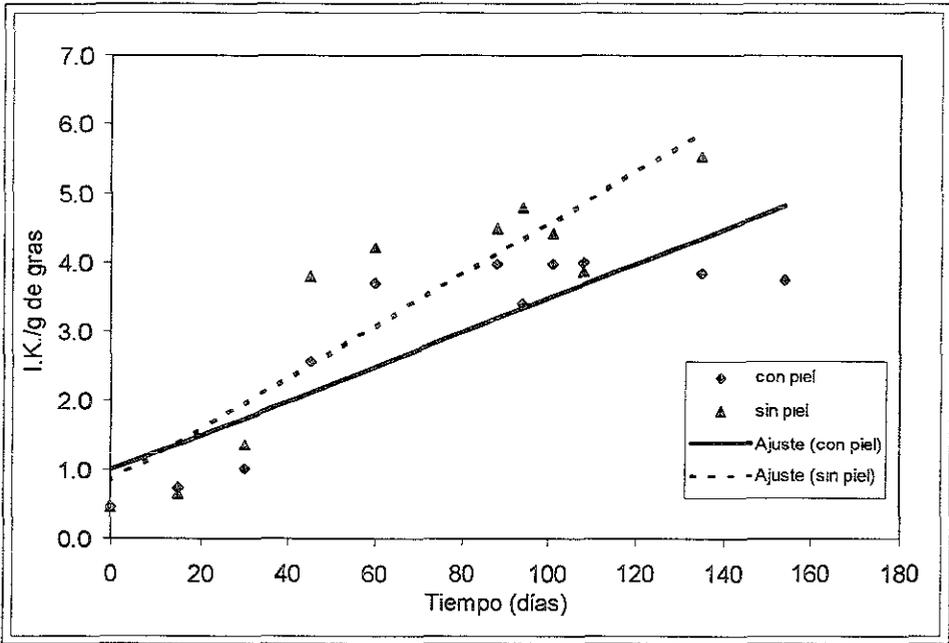
En la gráfica 1 se puede observar que el nivel de peróxidos determinado por el método volumétrico para el pollo con piel comparado con los resultados para el pollo sin piel no presentan una diferencia evidente a lo largo del periodo de inducción. Incluso, a ciertos tiempos se encontró que el grado de oxidación encontrado para el pollo almacenado sin piel era menor que el del pollo almacenado con piel. Sin embargo este método es poco sensible y por lo tanto presenta la desventaja de no permitir la medición de valores bajos de peróxidos, como los que determinamos, con precisión. (Gray, 1978). Adicionalmente, el método volumétrico se caracteriza por la dependencia de éste en la observación del analista. En varias ocasiones no fue evidente el vire durante la titulación, por lo que la interpretación del analista añade un alto índice de error. Por lo que es necesario también evaluar el índice de peróxidos por medio del método colorimétrico, el cual es más sensible, objetivo y así lograr medir valores de peróxido bajos confiables.

Gráfica 2. Evolución de la oxidación lipídica del muslo de pollo con y sin piel almacenado en congelación (-18°C) (método colorimétrico).



En la gráfica 2, se muestran los resultados de rancidez lipídica evaluados por medio del índice de peróxidos en su método colorimétrico, éste método presenta una mayor sensibilidad en comparación con el método volumétrico y por tal permite la medición de los peróxidos formados al inicio de la rancidez oxidativa con mayor precisión (Shantha, 1994). En la grafica que representa la evolución de la rancidez oxidativa se observa una aparente diferencia a partir de los treinta días de almacenamiento en congelación entre el índice de peróxidos para el pollo con piel y sin piel, siendo mayor la evolución de la oxidación lipídica para el pollo almacenado sin piel.

Gráfica 3. Evolución de productos secundarios de la oxidación lipídica del muslo de pollo almacenado en congelación (-18°C) (Indice de Kreis).



La comparación de resultados de Índice de Kreis se presenta en la gráfica 3 y corresponde a la medida de los productos secundarios de la oxidación lipídica. El valor se incrementa lentamente ya que al encontrarse en las primeras etapas de la oxidación de lípidos, la velocidad de descomposición de los hidroperóxidos es baja, siendo mayor la velocidad de formación. Los resultados nos muestran que se presenta una mayor cantidad de productos secundarios en el pollo que es almacenado sin piel, esto como consecuencia de una mayor formación de hidroperóxidos y su subsecuente descomposición.

A pesar de que las gráficas de Índice de peróxidos, el cual mide el inicio de la oxidación lipídica, y la del Índice de Kreis presentan una

aparente diferencia, es necesario determinar si la diferencia presentada se debe a errores generados por los métodos de evaluación y la variabilidad de las muestras, o a una dependencia de estos resultados con respecto a la presencia o ausencia de la piel durante el almacenamiento. Para determinar dicha diferencia se realizó un análisis de varianza (tabla A1, A2) que se presenta en el Anexo II.

Los resultados obtenidos para el método colorimétrico indican que a partir de los treinta días de almacenamiento se presenta diferencia significativa entre la producción de peróxidos, lo cual marca una diferencia en la evolución oxidativa del pollo con piel y sin piel, siendo mayor para el pollo almacenado sin piel. Este comportamiento se mantiene hasta el día 154, a excepción del día 108, el cual se puede deber a un error en la determinación o a la variabilidad intrínseca de las muestras.

Para los resultados obtenidos a partir del método volumétrico no fue necesario llevar a cabo un análisis estadístico. Esto se debió a que los resultados no sugerían siquiera una tendencia de la presencia de la piel a retardar o adelantar el proceso del deterioro oxidativo.

En el caso del Índice de Kreis se encontró una diferencia significativa entre las dos condiciones de almacenamiento a partir de los 45 días de almacenamiento. También en este caso se encontró una excepción en el día 108. Sin embargo en general se observó una diferencia estadísticamente significativa durante los primeros 154 días del proceso de oxidación lipídica de los muslos de pollo con o sin piel.

Al almacenar el pollo sin piel hay una mayor producción de compuestos secundarios los cuales pueden interaccionar fácilmente con otros compuestos presentes en la carne como serían las proteínas provocando una disminución en el valor biológico del alimento; por lo que

sería útil realizar un estudio paralelo de la solubilidad proteínica y/o grupos amino libres.

Existen varias posibles interpretaciones a la influencia de la piel de pollo sobre el proceso de oxidación lipídica encontrada, pero la principal sugerida es la aparente función de la piel como barrera física al paso de oxígeno. Esta barrera física impide el contacto directo entre el oxígeno con la carne del pollo, y así mismo al consumirse el oxígeno que se encuentra en contacto con la piel por la oxidación de los lípidos, se requiere la difusión del oxígeno exterior a través de la piel para nuevamente tener contacto con la carne y continuar el proceso de oxidación. En sí la piel parece evitar la difusión del oxígeno.

Se sabe que la piel contiene grandes cantidades de grasa (30%), que a su vez es más saturada que la grasa intramuscular de la carne de pollo, esto último se confirmó con el análisis realizado en el laboratorio 214 del Departamento de Alimentos y Biotecnología del perfil de ácidos grasos de ésteres metílicos de los ácidos grasos de las muestras de grasa de pollo extraída del muslo y de la piel; donde se obtuvo que el porcentaje de ácidos grasos saturados en la piel es de 27.9, y de el de la carne de pollo es de 29.4. Este grado de saturación en la grasa de la piel provocará que la difusión del oxígeno a través de la piel, parte de este mismo gas se consumirá en la oxidación de los lípidos de la piel, evitando así parcialmente la oxidación de los lípidos de la carne destinada al consumidor. Por la naturaleza de esta grasa que es saturada, dicha oxidación se da con una velocidad muy moderada y permite que la influencia de la piel en dicho sentido se mantenga durante tiempos prolongados.

Estudios realizados en arenque han demostrado las propiedades protectoras de la piel ya que al almacenar este pescado sin piel, se acelera

la oxidación lipídica debido a que la piel actúa como barrera física evitando la difusión del oxígeno y al quitarla los lípidos quedan expuestos al proceso de oxidación (Undeland, 1998). Con esto se tiene evidencia de que la piel actúa como agente protector retardando la rancidez lipídica.

Gray et al 1996, encontraron que procesos como la molienda, el deshuesado mecánico, y otros, en el pollo provocan la ruptura de membranas celulares de la carne de pollo. Esta ruptura podría darse también durante el proceso de la eliminación de la piel. Así, al romperse la membrana celular se liberan los fosfolípidos, que como bien sabemos son lípidos con altos grados de insaturación. Al estar dichos lípidos libres y en contacto con el aire, por lo tanto con el oxígeno, fácilmente se puede dar el proceso de oxidación lipídica. Al ser expuestos los fosfolípidos se genera una aceleración del proceso de oxidación sobre el total de los lípidos de la carne de pollo. En caso de llevar a cabo la eliminación de la piel cuando ya se acerca su consumo final, no será posible evitar la ruptura de membranas celulares y la liberación de fosfolípidos, sin embargo el tiempo restante se reducirá de modo que al momento de su consumo, no se haya llevado a cabo aún la oxidación de dichos fosfolípidos, o al menos se haya realizado en menor grado.

Así, podemos resumir los resultados obtenidos diciendo que efectivamente se encontró una influencia de la piel sobre la oxidación de los lípidos de carne de pollo almacenada en condiciones de congelación e incluso se tienen indicios de que se presenta en mismo comportamiento en condiciones de refrigeración. Las probables razones que encontramos para estos hechos son la presencia de la piel que actúa aparentemente como barrera física, la posible oxidación de los lípidos de la piel, y la probable ruptura de membranas celulares durante la eliminación de la piel. Si embargo para corroborar estas condiciones es necesario evaluar la rancidez oxidativa de la grasa de la piel, la cual va a depender del grado de

instauración de los ácidos grasos presentes, que a pesar de que la grasa en este tejido es altamente saturada va a depender de la alimentación del animal así como también lo será la presencia de antioxidantes.

CONCLUSIONES

Se establece que existe diferencia significativa en la evolución de la oxidación lipídica en el muslo de pollo cuando se almacena con piel y sin piel, en condiciones de congelación (-18°C) y de refrigeración (-4°C), donde la piel ejerce un efecto positivo al retardar parcialmente el proceso de rancidez oxidativa.

Se encontró que el método colorimétrico que es empleado para la determinación del índice de peróxidos ofrece una mayor sensibilidad que el método volumétrico, permitiendo la medición de valores de peróxidos menores a 0.6 meq de peróxidos/kg de grasa a diferencia del método volumétrico.

Se comprobó que la oxidación lipídica se lleva a cabo más lentamente en condiciones de congelación que en refrigeración, debido a la influencia de la temperatura y muy probablemente a la actividad lipolítica.

Es recomendable que en estudios posteriores se estudie la oxidación lipídica de la piel de pollo tomando en cuenta entre otros factores el nivel de antioxidantes naturales presentes, para poder describir la forma en que ésta protege a la carne de la rancidez oxidativa.

Bibliografía

1. Akamittath, J.G; Brekke, C.J. and Sxhanus, E.G. 1990. Lipid Oxidation and Color Stability in Restructured Meat Systems During Frozen Storage. *J. Food Sci.* 55, (6), 1513-1517.
2. Alasnier C Meynier, A; Viau, M. y Gandemer, G. 2000. Hydrolytic and Oxidative changes in the Lipids of chicken breast and muscles during refrigerated storage. *J. Food Sci.* 65, 9-14.
3. Allen, J. St Angelo. *Lipid Oxidation in Food.* ACS symposium Series 500. American Chemical Society, Washington, D.C. 1992.
4. Anelich, L.E; Hoffman, L.C. and Swanepoel, M.J. 2001. The quality of frozen African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) fillets under long-term storage conditions. *J. Sci Food Agric.* 81, 632-639.
5. AOAC, *Official Methods of Analysis.* 1990. 15th. Association of Official Analytical Chemists, Inc. Arlington, V.A. U.S.A. sec. 965.33.
6. Asgahar, A, Gray, J.I; Buckley, D. J; Pearson, A. M. 1988. perspectives on warmed- over flavor. *Food Technol.* 42(6): 102-108.
7. Balarezo, P. 1998. Deterioro Químico de Lípidos en Carne de Cerdo y Pollo en Congelación. Facultad. Química. Departamento de Alimentos y Biotecnología. Tesis para maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
8. Barthel, G. and Grosch, W. 1974. Peroxide value determination-comparison of some methods. *J.A.O.C.S.* 51, 540-544
9. Bligh, E. and Dyer, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J. Biochem and Physiol.* 17, (3), 911-917.
10. Brewer, M.S; Ikins, G.W. and Harbes, A.C. 1992. TBA values, Sensory Characteristics and Volatiles in Ground Pork During Long-Term Frozen Storage: Effects of Packaging. *J. Food Sci.* 57, 558-563, 580-585.
11. Bower. 1992. *J. Food Theory and Application: Processing Conditions and Practices.* Macmillon, Inc. Second Edition.
12. Chang, S.S. and Peterson, R.J. 1977. Symposium: The Basis of Quality in Muscle Foods. Recent Developments in the Flavor of meat. *Food Sci.* 42, 298-305.
13. Christensen, G; Holmer, J. 1996. *J. Food Sci.* 61,486.

14. Dawson, L.E. and Gartner, R. 1983. Lipid Oxidation in Mechanically deboned poultry. *Food Technol.* July, 112-116.
15. Decker, A.E. and Hultin, O.H. 1990. Display, Packaging, and Meat Block Location Effects on Color and Lipid Oxidation of Frozen Lean Ground Beef. *J. Food Sci.* 58, (6), 1219-1223.
16. Donoso, S. 1996. Evaluación del Deterioro Químico en Carne de Res y Pescado Congelados. Facultad. Química. Departamento de Alimentos y Biotecnología. Tesis para maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
17. *Enciclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition.* 1993. Vol 6. Great Britain.
18. Emanuel, N.M. and Lyaskouskaya, Y.N. 1967. The inhibition of fat Oxidation Processes. Pergamon Press, New York.
19. Fennema, R. Owen. 1993. *Química de los Alimentos.* Acribia, S.A. México.
20. Frankel, E.N. 1993. Recent Advances in the Chemistry of Rancidity of Fats. In *Recent Advances in the Chemistry of Meat.* Publish By ARC Meat Research Institute, Langford Bristol. Edited by Allen Bailey.
21. Gray, J.I. 1978. Measurement of Lipid Oxidation: A Review. *J.A.O.C.S.* 55, 539-546.
22. Gray, J. I. and Monahan, F. J. 1992. Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. *Trends in Food Sci and Techno.* 31, 315-319.
23. Gray, J.I; Goma, E.A. and Buckley. D.J. 1996. Oxidative Quality and Shelf Life of Meats. *Meat Sci.* 43, S111-S123.
24. Hagan, S; Murphy, E and Shelley, L. 1967. Meat and Meat products. *J.A.O.C.S.* 50, (2), 250-254.
25. Halliwell, B. 1987. *FASEB J*;184, 469.
26. Halliwell, B; Gutteridge, J. M.C. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219
27. Halliwell, B; Gutteridge, J.E. 1989. Oxidation of polyunsaturated fatty acids. Mechanisms, products and inhibition with emphasis on fish. *Adv. Food. Nutr. Res.* 33, 233-239.
28. Hart, L. 1991. *Análisis Moderno de los Alimentos.* Ed. Acribia, S.A. España.
29. Hazell, T.J. 1982. Iron and zinc compounds in the muscle meats of beef, lamb, pork and chicken. *J.Sci. Food Agri.* 33, 1049-1056.

-
30. Keston, A.S. 1965. *Anal. Biochem.* 11, 1-5.
 31. Khayat, A. and Schwall D. 1983. Lipid Oxidation in Seafood. *Food Technol.* 130-140.
 32. Kirk, R; Sawyer, R. and Egan, H. 1996. *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson.* CECSA. México.
 33. Lips, A; Chapman, R.A. and McFarlane, W.D. *Oil Soap* 20:240. 1941.
 34. Labuza, T.P; Tsuyuki, H; Karel, M. 1969. Kinetics o linoleate oxidation in model systems. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 46, 409-416.
 35. Labuza, T.P. 1971. Kinetics of Lipid Oxidation in Foods. *Crit. Rev. Food. Technol.* 2, 355-405.
 36. Labuza, T. 1980. The effect of water activity on reactions kinetics of food deterioration. *Food Technol.* 34, (12), 36-41.
 37. Lovaas, E. 1992. A Sensitive Spectrophotometric Method for lipid Hydroperoxide Detrmination. *J.A.O.C.S.* 51, 540-544.
 38. Madhavi, D; Deshpande, S. and Salunkhe. 1996. Food antioxidants, technological, toxicological, and health perspectives. Marcel Dekker, Inc.
 39. Marshall, P.J; Warso, M.A. and Lands, E.E.M. 1985. *Anal. Biochem.* 145, 192-199.
 40. Mehlenbacher, V.C. 1960. *The Analysis of Fats and Oils.* Garrad Press, Champaign, IL.
 41. Miki, H; Nishimoto, J. and Yamanaka, T. 1994. Relation between protein denaturation and lipid oxidation in fish muscle during storage al low temperatures. *Nippon suisan Gakkaishi*, 60, (5), 631-634.
 42. Morrissey P.A; Sheehy, P.J.A; Galvin, K; Kerry, J.P. and Buckley, D.J. 1998. Lipid Stability in Meat and Meat Products. *Meat Sci*, 49, (1), S73-S86.
 43. Pikul, J. 1990. Effects of Microwave Cooking and Refrigerated Storage of Main Broiler Parts on Lipid Oxidation in Chiken Muscle and Skin. *Poultry Science.* 69,833-844.
 44. Rhee. K.S; Anderson L. M. and Sams, A.R. 1996. Lipid Oxidation Potential Of Beef, Chiken, and Pork. *J. Food Sci.* 61, (1), 8-12.
 45. Rossell, J and Pritchard. 1991. *Analysis of oil seeds fats and fatty food.* Elsevier. New, York.
-

-
46. Sahasrabudhe, M. and Smallbone, B. 1983. Comparative evaluation of solvent extraccion methods for the determination of neutral and polar lipids in beef. J.A.O.C.S. 60, 801-805.
 47. Shantha, N.C. and Decker, E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for detrmination of peroxide values of food lipids. J.A.O.A.C. 77 (2), 421-424.
 48. Shenouda, S. 1980. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. Adv Food Res. 26, 275-306.
 49. Shimada, Y; Ross, Y. and Karel, M. 1991. Oxidation of methyl linoleate encapsulated in amorphous lactose-based food model. J. Agric. Food Chem. 39,(4), 637-641.
 50. Simic, M.G; Jovanovic, S.V. and Niki, E. 1992. Mechanisms of Lipid Oxidative Processes and Their Inhibition. Chapter 2. En Lipid Oxidation in Food. Edited by allen J.St. Angelo. ACS symposium series 500. American Chemical Society, Washington, D.C. 1992.
 51. Ubersax, M.A; Dawson, L.E. and Uebersax, K.L. 19778. Storage stability (TBA) of meat obtained from turkey receiving tocopherol supplementation. Poultry Sci. 57, 924.
 52. Undeland, I; Stading, M. and Lingnert, H. 1998. Influence of Skinning on Lipid Oxidation in Different Horizontal Layers of Herring (*Clupea harengus*) during Frozen Storage. J. Sci Food Agric. 78, 441-450.
 53. Union Nacional de Avicultores. La Industria Avicola Mexicana, Abril, 1998.
 54. Vercelloti, J.R; St. Angelo. A. and Spanier, A.M. 1992. Lipid Oxidation in Foods. An Overview. Chapter 1. En Lipid Oxidation in Food. Edited by allen J.St. Angelo. ACS symposium series 500. American Chemical Society, Washington, D.C. 1992.
 55. Wheatley, A. 2000. Some recent trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. Trends in Analytical Chemistry. 19, 18.
 56. Yamamoto, Y. and Ames, B.N. 1987. Free Rad. Biol. Med. 3, 359-361.
 57. Zbignieco, G. 1987. Tecnología de la Congelación de los Alimentos. Acribia, S.A. España.

ANEXO I

Extracción de grasa (Método Bligh & Dyer)

Pesar 20g de muestra preparada, (correctamente homogenizada) y previamente determinada la humedad, en un vaso mezclador. Adicionar agua destilada suficiente para llevar a un total de 16ml junto con 40ml de metanol y 20ml de diclorometano.

Macerar 2 minutos y agregar 20 ml de diclorometano y homogeneizar por 10 segundos en un homogeneizador de laboratorio marca Osterizer, a alta velocidad. Agregar 20 ml de agua destilada y macerar de nuevo durante 30 segundos. Centrifugar, utilizando una centrifuga marca Beckman J2-21M/E, la mezcla durante 10 minutos de 2000 a 2500 r.p.m. Extraer la capa de diclorometano sin perturbar el resto y filtrar a través de papel filtro grueso (Whatman #2). El filtrado se coloca en un rotavapor a 25°C en el cual se lleva a cabo la evaporación total del solvente. Se mantiene la operación del rotavapor hasta que no es perceptible el olor a solvente. De este modo se obtiene la grasa pura para llevar a cabo los métodos que permiten la evaluación de la oxidación lipídica.

Para el caso de la cuantificación de la grasa se toman 25 ml de filtrado (grasa y diclorometano), los cuales se colocan en un vaso a peso constante. Se evapora el diclorometano a sequedad sobre baño de vapor y se continúa el secado en una estufa a 105°C hasta peso constante

Índice de peróxidos.

Método de la AOAC.

Reactivos:

Acido acético grado analítico, Reasol.

Almidón soluble grado analítico, Merck.

Diclorometano grado analítico, Reasol.

Yoduro de potasio grado analítico, Reasol.

Tiosulfato de Sodio 0.1N, Reasol.

Procedimiento:

Pesar 5.00 ± 0.05 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250ml. Añadir 30ml de ácido acético-diclorometano (3:2 v/v) y agitar para disolver la grasa. Añadir 0.5ml de solución saturada de yoduro de potasio y dejar reposar por 1 minuto moviendo ocasionalmente; añadir 30ml de agua destilada. Titular con una solución 0.1N de tiosulfato, con agitación vigorosa hasta que el color amarillo haya desaparecido casi completamente. Añadir 0.5ml de solución de almidón al 1% y continuar la titulación agitando para liberar todo el yodo del diclorometano, hasta que el color azul desaparezca.

Si se utilizó un volumen menor a 0.5ml de tiosulfato de sodio 0.1N, repetir la determinación con tiosulfato de sodio 0.01N. El blanco debe ser menor o igual a 0.1ml de tiosulfato de sodio 0.1N y se debe correr en cada determinación.

Cálculos.

Valor Peróxido (meq peróxido/kg de muestra) = $S \times N \times 1000 / g$ de muestra

S = ml de tiosulfato de sodio corregido con el blanco

N = normalidad de tiosulfato de sodio.

Método colorimétrico.

Reactivos:

Alcohol metílico grado analítico, Reasol.

Cloruro ferroso grado analítico,

Diclorometano grado analítico, Reasol.

Tiocianato de amonio grado analítico, Mallinekrodt AR.

Procedimiento:

Se pesa exactamente de 15mg a 0.3g de muestra de grasa (W) en un tubo de ensayo. Se añade diclorometano:metanol 70:30 (v/v) hasta un volumen de 9.9ml y se mezcla para disolver la muestra. Se adiciona 0.05ml de solución de tiocianato de amonio (30% m/v, reactivo grado analítico), se mezcla y se mide la absorbancia a 500nm (Ab0) contra un blanco de la mezcla diclorometano: metanol 70:30. Se adiciona 0.05ml de solución de cloruro ferroso (0.35% que contiene 2% de HCL 10N). Se mezcla y después de exactamente 5 minutos se mide la absorbancia nuevamente a 500nm (Ab2). Simultáneamente se efectúa una determinación de un blanco de reactivos (Ab1).

Para preparar una curva de calibración de absorbancia se utiliza una solución patrón de cloruro férrico que contiene 20 ppm de Fe; se

pesan 0.242g de cloruro férrico pentahidratado en un matraz aforado, se lleva a 50ml con una mezcla de diclorometano:metanol 70:30, de la cual se toma 1 ml y se afora a 50ml con la mezcla diclorometano:metanol. Se realiza una curva patrón con diez tubos usando volúmenes de 0.25 a 2 ml de solución patrón agregando al primer tubo 9.65ml y al último 7.9ml de la mezcla diclorometano:metanol 70:30 para obtener concentraciones de 5 a 40µg de Fe. Se añade 0.05ml de tiocianato de amonio y 0.05ml de ácido clorhídrico 0.2N y se mide la absorbancia a 500nm frente a un blanco de reactivos.

Cálculos.

A partir del resultado de $Ab_2 - (Ab_0 + Ab_1)$ y por medio de la interpolación de este valor en la curva patrón se obtienen los µg de Fe (III).

Índice de peróxidos = $\mu\text{g de Fe (III)} / 55.84 \times W = \text{meq} / \text{kg}$.

Índice de Kreis

Reactivos:

Acido Tricloroacético grado analítico, Reasol.

Alcohol Etilico grado analítico, Reasol

Diclorometano grado analítico, Reasol.

Fluoroglucinol grado analítico, Merck.

Procedimiento:

Se disuelven 0.05 - 0.50 g de grasa en 5ml de diclorometano; se añaden 10 ml de la solución de ácido tricloroacético glacial al 30% en ácido acético glacial, y se adiciona 1 ml de floroglucinol en ácido acético al 1%. Se agita e incuba por 15min en baño maría a 45°C. Se deja enfriar y se le agregan 4ml de etanol.

Simultáneamente se corre un blanco de reactivos. Finalmente, se mide la absorbancia de las muestras incubadas a una longitud de onda de 540 nm. Para la obtención del índice de Kreis se utiliza la siguiente fórmula:

$$IK = \frac{A_m - A_b}{l \times C} = \text{D.O.} / \text{g grasa}$$

En donde:

A_m = absorbancia de la muestra

A_b = absorbancia del blanco

l = longitud de la celda

C = concentración del aceite en g/ml de la solución final.

ANEXO II

Tabla A.1. Anova para resultados de Índice de Peróxidos en pollo con y sin piel.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F
T0				
Entre grupos	0.000	1	0.000	
Error	1.529E-03	4	3.823E-04	0.000
Total	1.529E-03	5		
T15				
Entre grupos	1.098E-05	1	1.098E-05	
Error	2.362E-03	4	5.901E-04	0.019
Total	2.373E-03	5		
T30				
Entre grupos	2.800E-02	1	2.800E-02	
Error	1.215E-02	4	3.039E-03	9.210
Total	4.016E-02	5		
T45				
Entre grupos	7.103E-02	1	7.103E-02	
Error	1.454E-02	4	3.635E-03	19.542
Total	8.556E-02	5		
T60				
Entre grupos	0.472	1	0.472	
Error	6.710E-03	4	1.678E-03	281.424
Total	0.479	5		
T88				
Entre grupos	0.252	1	0.252	
Error	4.413E-02	4	1.103E-02	22.875
Total	0.297	5		
T94				
Entre grupos	0.899	1	0.899	
Error	3.604E-02	4	9.009E-03	99.826
Total	0.935	5		
T101				
Entre grupos	0.372	1	0.372	
Error	6.681E-02	4	1.670E-02	22.270
Total	0.439	5		
T108				
Entre grupos	0.115	1	0.115	
Error	7.685E-02	4	1.921E-02	5.977
Total	0.192	5		
T135				
Entre grupos	4.151	1	4.151	
Error	3.663E-02	4	9.158E-03	453.233
Total	4.188	5		
T154				
Entre grupos	2.829E-02	1	2.829E-02	
Error	7.310E-03	4	1.827E-03	15.481
Total	3.560E-02	5		

Tabla A-2. ANOVA de los resultados de Índice de Kreis para pollo con y sin piel.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F
T0 Entre grupos	0.000	1		
Error	4.720E-03	4	0.000	0.000
Total	4.720E-03	5	1.180E-03	
T15 Entre grupos	9.441E-03	1		
Error	1.811E-02	4	9.441E-03	2.085
Total	2.755E-02	5	4.527E-03	
T30 Entre grupos	0.170	1		
Error	0.149	4	0.170	4.559
Total	0.319	5	3.727E-02	
T45 Entre grupos	2.241	1		
Error	3.261E-02	4	2.241	274.865
Total	2.273	5	8.152E-02	
T60 Entre grupos	0.380	1		
Error	0.124	4	0.380	12.243
Total	0.505	5	3.107E-02	
T88 Entre grupos	0.361	1		
Error	0.206	4	0.361	7.023
Total	0.567	5	5.145E-02	
T94 Entre grupos	2.882	1		
Error	3.296E-02	4	2.882	138.956
Total	2.965	5	2.074E-02	
T101 Entre grupos	0.288	1		
Error	0.155	4	0.288	7.437
Total	0.443	5	3.873E-02	
T108 Entre grupos	2.418E-02	1		
Error	0.241	4	2.418E-02	0.401
Total	0.265	5	6.029E-02	
T135 Entre grupos	4.362	1		
Error	0.483	4	4.362	36.140
Total	4.844	5	0.121	
T154 Entre grupos	1.282	1		
Error	0.229	4	1.282	22.411
Total	1.511	5	5.719E-02	

F para $\alpha 0.5 = 7.71$

Tabla A-3. Resultados de Anova para índice de peróxidos en muestras de pollo refrigerado con y sin piel, lote 1.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F
T0 Entre grupos	0.000	1	0.000	
Error	1.600E-07	4	4.000E-8	0.000
Total	1.600E-07	5		
T3 Entre grupos	7.924E-02	1	7.924E-02	568.020
Error	5.580E-04	4	1.395E-04	
Total	7.979E-02	5		
T7 Entre grupos	0.483	1	0.483	30695.472
Error	6.297E-05	4	1.574E-05	
Total	0.483	5		

F para $\alpha 0.5 = 7.71$

Tabla A-4. Resultados de Anova para índice de peróxidos en muestras de pollo refrigerado con y sin piel, lote 2.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F
T0 Entre grupos	0.000	1	0.000	0.000
Error	2.624E-03	4	6.559E-04	
Total	2.624E-03	5		
T3 Entre grupos	1.524E-03	1	1.524E-02	14.848
Error	4.106E-03	4	1.027E-03	
Total	1.935E-02	5		
T7 Entre grupos	2.229E-02	1	2.229E-02	8.612
Error	1.035E-02	4	2.589E-03	
Total	3.265E-02	5		

F para $\alpha 0.5 = 7.71$

Tabla A-5. Resultados de Anova para resultados de índice de kreis en muestras de pollo refrigerado con y sin piel, lote 1.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F
T0 Entre grupos	1.298E-03	1	1.298E-03	1.077
Error	2.411E-03	2	1.205E-03	
Total	3.709E-03	3		
T3 Entre grupos	25.468	1	25.468	845.000
Error	6.028E-02	2	3.014E-02	
Total	25.528	3		
T7 Entre grupos	6.798	1	6.798	167.838
Error	8.100E-02	2	4.050E-02	
Total	6.879	3		

F para $\alpha 0.5 = 18.51$

Tabla A-6. Resultados de Anova para resultados de índice de kreis en muestras de pollo refrigerado con y sin piel, lote2.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F
T0 Entre grupos	0.000	1	0.000	0.000
Error	6.840E-02	2	1.710E-02	
Total	6.840E-02	3		
T3 Entre grupos	0.252	1	0.252	60.956
Error	1.651E-02	2	4.128E-03	
Total	0.268	3		
T7 Entre grupos	7.437E-02	1	7.437E-02	5.191
Error	5.731E-02	2	1.433E-02	
Total	0.132	3		

F para $\alpha 0.5 = 18.51$