

PRACTICA 3: DETERMINACIÓN DEL GRADO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA

Introducción

La oxidación de los lípidos es una de las principales causas de deterioro químico de los alimentos. Su consecuencia organoléptica más importante es la aparición de olores y sabores desagradables, haciendo que el alimento sea inaceptable para el consumidor y reduciendo o limitando su vida útil. Además, la oxidación de las grasas puede reducir el valor nutritivo de los alimentos y algunos de los productos de oxidación son potencialmente tóxicos. Sin embargo, en determinadas condiciones es recomendable que se produzca un cierto grado de oxidación de las grasas para que los alimentos adquieran las características organolépticas deseables como es el caso de algunos quesos, algunas conservas de pescado o en algún producto frito.

La oxidación de los lípidos es un proceso sumamente complejo que implica a numerosas reacciones que dan lugar a una gran variedad de cambios físicos y químicos. Es necesario ser consciente de que aunque parece que estas reacciones siguen un modelo ordenado, en la mayor parte de las ocasiones se producen de modo simultáneo y de forma competitiva. En general, para el estudio de estas reacciones se suelen dividir en tres etapas: iniciación o inducción, propagación y finalización.

Para valorar el grado de oxidación de las grasas se han puesto a punto una gran variedad de métodos. Sin embargo ninguna de las pruebas por si solas puede medir todas las reacciones de oxidación de una vez, ni es capaz de medir todas las etapas del proceso de oxidación. En el mejor de los casos, un solo análisis puede controlar tan solo unos pocos cambios que nos dan información de un sistema específico en unas condiciones determinadas. Evidentemente cuanto más métodos se utilicen, mayor seguridad se obtiene en el estudio del análisis de los procesos de oxidación. Entre los métodos que se utilizan habitualmente tenemos:

- Índice de peróxidos
- Determinación de compuestos carbonilos totales y volátiles
- Espectrofotometría en el ultravioleta
- Análisis con ácido tiobarbitúrico

INDICE DE PERÓXIDOS DEL ACEITE

Fundamento

Los peróxidos son los productos iniciales mayoritarios de la autooxidación de los lípidos y por ello su determinación está indicada para evaluar el grado de oxidación en las primeras etapas de esta reacción ya que a lo largo de ella este índice aumenta hasta alcanzar un máximo y luego disminuye.

El índice se calcula a partir de los mL de tiosulfato sódico gastados en reducir el yodo formado a partir de yoduro potásico por la acción de los peróxidos presentes en el aceite.



Su concentración se expresa en miliequivalentes de Oxígeno por Kilo de grasa

Este método no es adecuado para determinar el grado de oxidación de las grasas con alto grado de insaturación ya que los peróxidos formados reaccionan con los ácidos grasos insaturados para dar lugar a otros productos secundarios lo que tiene como consecuencia un bajo índice de peróxidos unido a una fuerte oxidación.

REACTIVOS

- Disolución de yoduro potásico 1,5g/mL
- Cloroformo
- Ácido acético glacial
- Tiosulfato sódico 0,01N
- Disolución de almidón soluble al 1% (preparada mediante disolución en caliente)

MÉTODO

- Pese aproximadamente 2 grs de aceite en un Erlenmeyer
- Añada 10 mL de cloroformo y agite para disolver la grasa
- Añada 15 mL de ácido acético glacial (para proporcionar un medio ácido) y agite la mezcla
- Añada 1 mL de la disolución de yoduro potásico. Los peróxidos presentes en la muestra oxidan el IK transformándolo en I₂. Agite la mezcla durante 1 minuto y deje en reposo en la oscuridad durante 5 min.
- Añada 75 mL de agua destilada
- Valore la mezcla con tiosulfato sódico (que reducirá el I₂ a I⁻). Antes de la valoración el color de la mezcla debe de ser amarillento rojizo. Para observar bien el cambio, añada unas gotas de almidón.
- Realice un ensayo en blanco (adicionando todos los reactivos excepto la muestra de aceite).

CÁLCULO

$IP = V \text{ (mL)} \times N \times 1000 / \text{peso muestra (gr)}$

$V = V \text{ de tiosulfato gastado con la muestra} - V \text{ tiosulfato gastado con el blanco.}$

DETERMINACIÓN DEL GRADO DE OXIDACIÓN DEL PESCADO MEDIANTE EL MÉTODO DEL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO

Fundamento

Este método es uno de los más utilizados para evaluar el grado de oxidación de los lípidos que contiene un alto grado de ácidos grasos con tres o más dobles enlaces. Se basa en la aparición de un compuesto coloreado rojizo debido a la presencia de un producto de condensación formado por la unión de una molécula de malonaldehído (que es uno de los derivados de algunos de los productos de descomposición de los ácidos grasos insaturados oxidados) con dos moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA).

Se ha propuesto que el mecanismo por el cual los radicales se ciclan para dar hidroperóxidos que posteriormente se descomponen dando malonaldehído. Se ha observado que algunos compuestos distintos de los formados durante la oxidación de las grasas pueden interferir reaccionando con el TBA. Ocurre, por ejemplo, con algunos de los componentes del humo, lo que obliga a establecer correcciones en productos curados y ahumados. Además, la calidad del aroma de muchos alimentos (principal indicador para el consumidor del estado de oxidación de las grasas) no puede estimarse con los valores del TBA ya que el valor obtenido para un mismo grado de oxidación "sensorial" varía de un producto a otro. Sin embargo es un método muy útil para comparar distintos grados de oxidación en un mismo tipo de muestra.

REACTIVOS

- Ácido fosfórico 2M
- Disolución de TCA al 20% en ácido fosfórico 2 M
- Disolución de TBA 5 mM. Prepárese en baño de ultrasonidos y úsese recién preparado.

MÉTODO

- Pese 5 gramos de las muestras a analizar (pescado)
- Añada 12,5 mL de una disolución de TCA al 20% en ácido fosfórico 2M y homogeneice en el ultraturrax durante 1-2 min
- Transfiera 10 mL del homogeneizado a un matraz aforado de 25 mL, enrase con aguas destilada y fíltrelo.
- Añada a un tubo de ensayo, 3mL del filtrado y 3 mL de la disolución de TBA y agite
- Incube durante 15 horas en oscuridad a temperatura ambiente o 1 hora a 60°C.
- Lea la absorbancia en el espectrofotómetro a 530 nm

Observe la diferencia de los valores para el pescado fresco y el oxidado

Es aconsejable realizar una recta patrón con malonaldehído (0, 20, 40, 80 y 100 μ M) para calcular los valores de las muestras analizadas.