



# Cálculo del valor ToTox en grasas comestibles

<b>Apellidos, nombre</b>	Fuentes López, Ana (anfuelo@upvnet.upv.es) Fuentes López, Cristina (crifuelp@upvnet.upv.es)
<b>Departamento</b>	Departamento de Tecnología de Alimentos
<b>Centro</b>	Universitat Politècnica de València



## 1 Resumen de las ideas clave

La oxidación de las grasas se produce como resultado de reacciones de lipólisis o enranciamiento hidrolítico y de reacciones de oxidación, fenómeno conocido como enranciamiento oxidativo o autooxidación. Existen diferentes procedimientos analíticos para determinar el estado de oxidación de las grasas comestibles, aunque ninguno de ellos consigue reflejar por sí solo todos estos mecanismos de oxidación. Para determinar el grado de oxidación global de las grasas se emplea el valor ToTox. Este valor se calcula a partir de los valores del índice de peróxidos y de *p*-anisidina de una grasa o aceite.

## 2 Objetivos

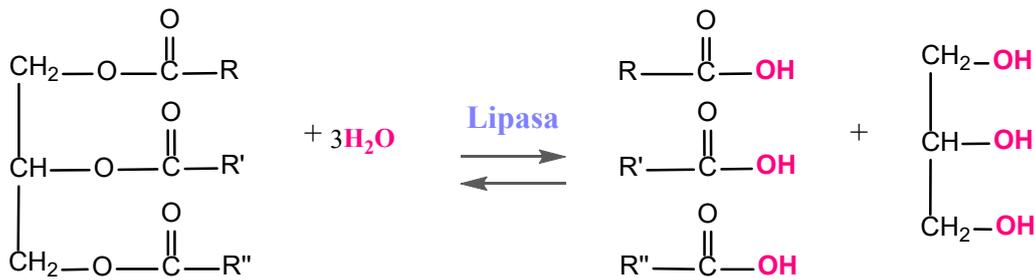
Este artículo tiene como objetivo que el alumno sea capaz de:

- Determinar el valor de oxidación total de una grasa (ToTox) a partir de los valores de índice de peróxidos y de *p*-anisidina.
- Estimar la calidad y nivel de oxidación de un aceite comestible a partir de este índice.

## 3 Introducción

Las reacciones de deterioro de las grasas provocan cambios importantes en su composición y propiedades organolépticas. Estos cambios tienen un impacto notable sobre su calidad e inocuidad, y provocan una reducción significativa de su vida útil. Estas alteraciones reciben comúnmente el nombre de rancidez o enranciamiento, y son el resultado de reacciones de lipólisis (rancidez hidrolítica) y oxidación (rancidez oxidativa).

La **lipólisis** o **enranciamiento hidrolítico** consiste en la hidrólisis de los ácidos grasos de los triglicéridos que constituyen una grasa, para dar lugar a ácidos grasos y glicerina (Figura 1). Estas reacciones se deben fundamentalmente a la acción de enzimas lipolíticas (lipasas) presentes en el producto o producidas por ciertos microorganismos. Este tipo de enranciamiento puede afectar a las características organolépticas del producto, lo que sucede principalmente en el caso de grasas con un alto contenido en ácidos grasos de cadena corta (C12), ya que favorecen la aparición de ciertos aromas o sabores anómalos. Sin embargo, la hidrólisis de los ácidos grasos de cadena más larga de 12 átomos de carbono no provoca alteraciones de sabor ni olor en la grasa o aceite.

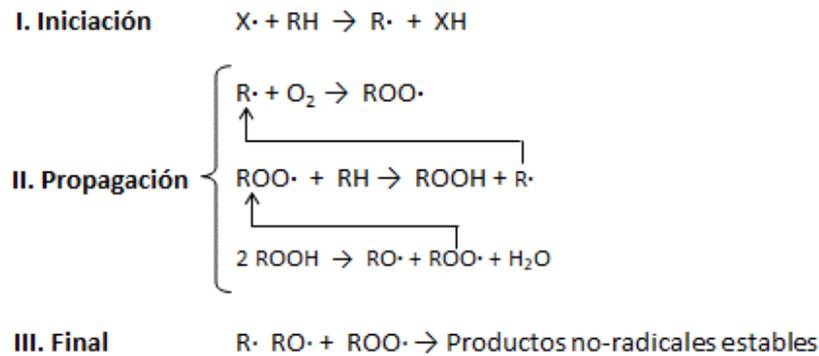


**Figura 1.** Lipólisis o enranciamiento hidrolítico de una grasa.

El **enranciamiento oxidativo**, también conocido como **autooxidación**, se debe a la oxidación de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados, lo que da lugar a la formación de peróxidos o hidroperóxidos que posteriormente se polimerizan y descomponen formando aldehídos, cetonas y ácidos de menor peso molecular. Este proceso se debe a la acción directa del oxígeno y de las lipoxigenasas, y es acelerado en presencia de luz, calor, humedad, otros ácidos grasos libres y ciertos catalizadores inorgánicos como las sales de hierro y de cobre. Este tipo de enranciamiento tiene un impacto directo en el sabor y olor de la grasa y provoca la destrucción de vitaminas liposolubles como las vitaminas A y E (tocoferoles), la degradación de ácidos poliinsaturados y, además, favorece la aparición de determinados compuestos potencialmente tóxicos para la salud humana, como peróxidos y oxiácidos, entre otros.

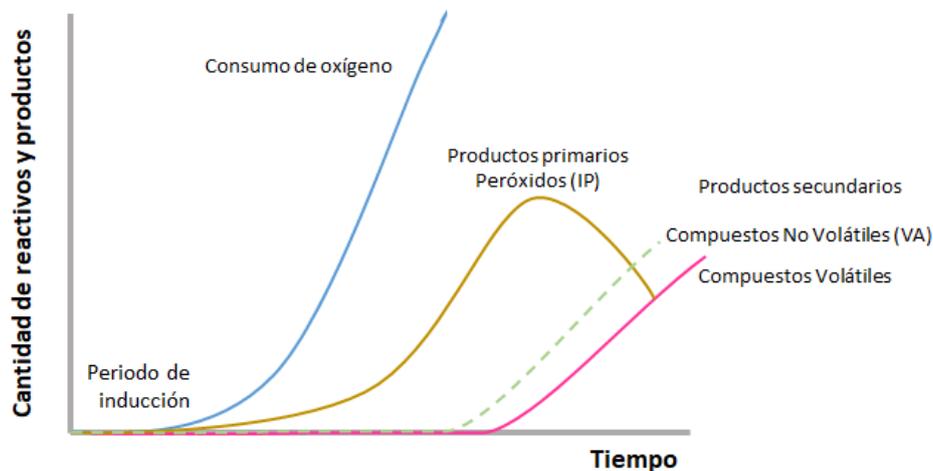
La autooxidación es un proceso irreversible mediado por radicales libres a través de una serie de reacciones en cadena. El mecanismo de oxidación consta de tres fases:

- **Iniciación:** la autooxidación empieza en las zonas de insaturación de las grasas o aceites, ya que son las más susceptibles. Esta reacción ocurre de forma autocatalítica a través de radicales libres intermediarios, y los iniciadores de esta reacción suelen ser energía (luz, calor o cualquier otro tipo de energía radiante), trazas de metales pesados y radicales peróxidos, los cuales hacen que se produzcan radicales libres activos. La acción de la energía provoca la descomposición del ácido graso en un radical libre e ion hidrogeno. Los compuestos formados en esta fase son muy inestables y tienden a reaccionar rápidamente dando lugar a la fase de propagación.
- **Propagación:** con la oxidación de los radicales libres en combinación con otros ácidos grasos, se van formando hidroperóxidos y más radicales libres, que vuelven a entrar en la cadena de oxidación. Por otra parte, con la incidencia de la energía, los hidroperóxidos forman grupos oxidrilo y formas oxidadas de los radicales libres, los cuales junto a otros ácidos grasos dan lugar a más hidroperóxidos y nuevos radicales libres. Finalmente, los grupos oxidrilo junto a otros ácidos grasos, liberan agua y nuevos radicales libres que son expuestos a un nuevo proceso de oxidación.
- **Final:** a medida que la cantidad de los compuestos reactivos aumenta, estos empiezan a interactuar entre sí, formando productos no radicales. En ese momento la concentración de radicales peróxidos comienza a disminuir, ya que empieza a estabilizarse la formación de productos deteriorados. Dada la estabilidad de los productos originados en las reacciones de terminación, se finaliza la actividad de oxidación.



**Figura 2.** Esquema de las reacciones que suceden en las diferentes etapas del proceso de oxidación de las grasas (Adaptado de: Coulate, 2001).

Los hidroperóxidos son los compuestos más importantes en la fase inicial de la reacción y se caracterizan por ser muy inestables. Al aumentar el tiempo de la reacción, estos productos primarios de la oxidación se descomponen generando una mezcla compleja de productos volátiles, no-volátiles y otros compuestos secundarios de la oxidación, cuya concentración va aumentando a medida que avanza el proceso de oxidación (Figura 3).



**Figura 3.** Cambios producidos en las cantidades de reactivos y productos de oxidación lipídica a lo largo del tiempo (Adaptado de: Pike y O'Keefe, 2017).

Para determinar el grado de oxidación de una grasa se pueden emplear diferentes métodos de análisis. Sin embargo, debido a la complejidad de los procesos de oxidación, ninguno de estos métodos permite medir por sí solo todos estos mecanismos de oxidación. Es por ello, que se emplean diferentes procedimientos para medir los cambios producidos en cada una de las etapas del proceso. Entre los procedimientos más utilizados para medir el nivel de oxidación de una grasa destacan: el índice de peróxidos (IP) y la determinación de dienos conjugados, para



determinar el grado de oxidación primaria, y el índice de *p*-anisidina (VA) y el test del ácido tiobarbitúrico o índice del TBA para evaluar estados de oxidación más avanzados.

## 4 Desarrollo

A continuación, describiremos cómo se determina el grado de oxidación total de un aceite o grasa comestible empleando el valor ToTox y cuáles son los cálculos necesarios para obtener este parámetro a partir de los valores del índice de peróxidos y del valor de *p*-anisidina de la muestra.

Finalmente, veremos un ejemplo práctico dónde calcularemos el valor TOTOX de diferentes aceites de pescado, con el objetivo de comprobar si cumplen con los criterios de calidad establecidos para este tipo de grasa.

### 4.1 Fundamento

Tal y como se ha indicado anteriormente, debido a la complejidad del proceso de oxidación de las grasas no existe un único parámetro que permita medir por sí solo todos estos mecanismos de oxidación. Entre los procedimientos más utilizados destacan el índice de peróxidos y el índice de *p*-anisidina. El índice de peróxidos se emplea para estimar el grado de oxidación únicamente en las primeras etapas del proceso, ya que este índice mide un producto transitorio, que rápidamente se transforma a otros productos de la oxidación. Por otro lado, el índice de *p*-anisidina representa una medida de la oxidación secundaria de una grasa.

La combinación de ambos índices se puede emplear para informar sobre el estado de oxidación total de una grasa. En 1972, Holm propuso una fórmula para expresar de forma global la oxidación primaria y secundaria de una grasa, a partir del índice de peróxidos y del valor de *p*-anisidina (Holm, 1972). Es lo que se denomina **índice ToTox** o **índice de oxidación total**.

### 4.2 Cálculos y expresión de los resultados

El valor ToTox o índice de oxidación total se calcula como la suma del índice de *p*-anisidina (VA) más dos veces el índice de peróxidos (IP):

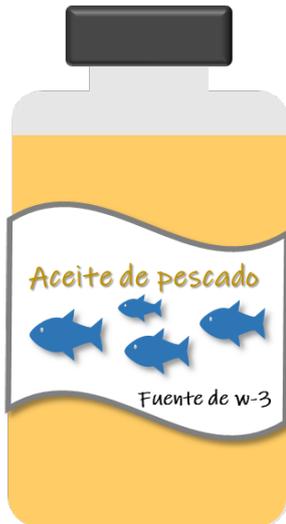
$$\text{ToTox} = 2 \cdot \text{IP} + \text{VA}$$

El valor ToTox es un parámetro empírico ya que corresponde a la suma de dos parámetros con unidades diferentes.

### 4.3 Caso práctico

Para medir la oxidación en aceites ricos en ácidos grasos  $\omega$ -3, como son los aceites de pescado, se utilizan habitualmente dos métodos analíticos: el índice de peróxidos y el valor de *p*-anisidina. Los parámetros de calidad de los aceites de pescado usados en alimentos y

suplementos alimentarios están recogidos en la Norma del Codex CXS 329-2017. En esta norma se establecen los valores que deben cumplir estos productos para su comercialización.



#### NORMA PARA ACEITES DE PESCADO (CXS 329-2017)

##### Parámetros de calidad

Los parámetros de calidad de los aceites de pescado, aceites de hígado de pescado, aceites de pescado concentrado y ésteres etílicos de aceites de pescado concentrados, cumplirán los siguientes valores:

Índice de acidez  $\leq 3$  mg KOH/g

Índice de peróxido  $\leq 5$  mEq oxígeno activo/kg aceite

Índice de anisidina  $\leq 20$

Índice de oxidación total (ToTox)  $\leq 26$

Debemos determinar si dos aceites de hígado de bacalao diferentes cumplen con los requisitos establecidos en la Norma CXS 329-2017. Para ello, se determinan experimentalmente el índice de acidez (IA), el índice de peróxidos (IP) y el valor de *p*-anisidina (VA). Los resultados obtenidos en estos análisis se muestran en la siguiente tabla:

	<i>Aceite de hígado de bacalao 1</i>	<i>Aceite de hígado de bacalao 2</i>
IA (mg KOH/g)	3	3
IP (mEq O <sub>2</sub> /kg)	6	6
VA	10	15

#### ***¿Cumplen los aceites de hígado de bacalao analizados con los requisitos de calidad establecidos en la norma del Codex?***

Según los resultados obtenidos en el laboratorio, podemos comprobar que ambos aceites cumplen con los 3 primeros parámetros de calidad establecidos en la norma (IA, IP y VA). Para completar nuestra evaluación, deberemos calcular el valor ToTox, a partir de los valores de IP y VA.

$$\text{Aceite de bacalao 1: TOTOX} = 2 \cdot \text{IP} + \text{VA} = 2 \cdot 6 + 10 = 22 \quad \checkmark$$

$$\text{Aceite de bacalao 2: TOTOX} = 2 \cdot \text{IP} + \text{VA} = 2 \cdot 6 + 15 = 27 \quad \times$$

	<i>Aceite de hígado de bacalao 1</i>	<i>Aceite de hígado de bacalao 2</i>
<i>IA (mg KOH/g)</i>	3 ✓	3 ✓
<i>IP (mEq O<sub>2</sub>/kg)</i>	6 ✓	6 ✓
<i>VA</i>	10 ✓	15 ✓
<i>TOTOX</i>	22 ✓	27 ✗

El valor ToTox del aceite de hígado de bacalao 1 sería igual a 22, por lo tanto, cumple con lo establecido en la norma del CODEX, ya que todos los parámetros que han sido calculados están dentro de los límites macados por la Norma. Sin embargo, el aceite 2, aunque cumple con los parámetros IA, IP y VA, su valor TOTOX excede el límite de 26 establecido en la norma, por lo que no cumple con los parámetros de calidad requeridos por la Norma.

## 5 Cierre

En este documento hemos visto cómo determinar el grado de oxidación global de una grasa comestible empleando el valor ToTox. Para ello, se ha mostrado cómo realizar los cálculos necesarios para obtener este parámetro utilizando el índice de peróxidos y el valor de *p*-anisidina. Además, hemos trabajado con un supuesto práctico tomando como ejemplo el análisis de dos muestras de aceite de pescado para comprobar si cumplen con los parámetros de calidad establecidos en Norma del CODEX.

## 6 Bibliografía

- Belitz, H.D., Grosh, W., Schieberle, P. "Lipids" En: Food Chemistry, Ed. Springer, 2009, págs. 158-248.
- CODEX. Norma para aceites de pescado CXS 329-2017 (revisión 2021).
- Coulate, T. (2001). "Lipids". En: Food. The chemistry of its components. 6<sup>th</sup> Edition. Ed. The Royal Society of Chemsitry, 2001, págs. 73-125.
- Holm, U. (1972) Abstracts International Soc. for Fat Research Congress. Yoteberg, Sweden.
- Nielsen, S.S, Qian, M.C., Pike, O.A. "Fat Characterization". En: Food Analysis Laboratory Manual, Ed. Springer, 2017, págs. 185-194.
- Pike, O.A. y O'Keefe, S. "Fat Characterization" En: Food Analysis, Ed. Springer, 2017, págs. 407-729.