

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

"Análisis de antioxidantes en aceites de origen de
producción nacional"

Tesis presentada para optar al grado de

Doctor en Química

por

JUAN PEDRO MARINO

Trabajo realizado en
el laboratorio de la
Cátedra de Química
Analítica III



1 0 5 6

PARRINO DE TERNIS

PROFESSOR

DOCTOR HERBERTO GIOVAMBATTISTA

A MI ESPOSA

Sr. Delegado Interventor,

Sres. Profesores:

Senoto hoy a vuestra consideración mi trabajo de Tesis para optar al título de Doctor en Química, el cual ha sido desarrollado sobre la base del tema: "Aplicación de antioxidantes en grasas de origen de producción nacional".-

Al hacerlo quiero agradecer sinceramente la eficaz y distinguida dirección científica que del mismo ejerciera el profesor Dr. Humberto Giovanbattista y su copia colaboración a los fines de su realización.-

También quiero dejar constancia de mi gratitud hacia el Dr. Carlos A. Grau, quien me hizo llegar la importancia del tema, así como también sus autorizades consejos. Lo mismo con respecto al Dr. Juan G. Romano Yalour quien me asesorara en algunos aspectos del tema.-

Por último dejo sentado mi reconocimiento hacia el Dr. Victor Talleches, jefe del Laboratorio Químico de la Compañía Swift de La Plata, donde he podido realizar algunas determinaciones.-

Así mismo agradezco a todos aquellos que a lo largo de mi carrera han colaborado en una u otra forma para que llegara hasta su final.-

La Plata, abril de 1956.-

SUMARIO

A.- PARTE TEORICA

I.- INTRODUCCION

- 1.- Antecedentes del tema
- 2.- Generalidades sobre la grasa de cordero

II.- LA RANCIDEZ EN LAS MATERIAS GRASAS

- 1.- Distintos tipos de rancidez
- 2.- Factores que afectan el desarrollo de la rancidez
- 3.- Métodos para determinar la rancidez en las materias grasas

III.- MEDIOS PARA PRESERVAR LAS MATERIAS GRASAS

- 1.- Productos de acción antioxidante
- 2.- Productos de acción sinérgica

B.- PARTE PRACTICA

IV.- DETERMINACIONES REALIZADAS

- 1.- Preparación de antioxidantes
- 2.- Determinación de la acción antioxidante
- 3.- Resultados obtenidos

V.- CONCLUSIONES

VI.- BIBLIOGRAFIA

PARTE TEORICA

CAPITULO I

PARTS I

ANTECEDENTES DEL TEMA

El problema de la rancidez en las materias grasas ha sido estudiado desde hace muchísimos años. Desde el siglo pasado preocupó a los hombres de ciencia el hecho de determinar la causa que originaba la serie de fenómenos que formaban parte del enranciamiento. Quizá la primera mención del problema la dieron los antiguos farmacéuticos, preocupados por el hecho de que sus pomadas adquirían un olor desagradable después de un cierto tiempo. Sin embargo el primero en estudiar directamente el tema fué Chevreul en 1823 (1) quien demostró que la superficie de los aceites se oxida rápidamente. Años más tarde Clooz (2) dió los resultados de un estudio detenido que efectuó sobre las modificaciones que sufren los aceites en contacto con el aire, la mayoría de los cuales llaman la atención por encontrarse en perfecto acuerdo con las teorías que se sustentan en la actualidad.-

Pero a pesar de la antigüedad de estos estudios, podemos afirmar que aun no se ha logrado reunir en una teoría generalmente aceptada, todas las ideas, muchas veces contradictorias, que se han vertido al respecto. Cuál es la causa por la cual esta no se ha conseguido todavía?. Debemos decir que en verdad las causas son varias, comenzando por el hecho que ha de parecerse notable, de que aun no ha sido definido de una manera precisa, que es lo que se entiende por estado rancio de una materia grasa.-

El estudio de la rancidez es un problema muy complejo debido en primer lugar a la gran variedad de grasas y aceites que existen en la naturaleza. En segundo lugar porque los métodos de preparación para una misma grasa varían mucho de acuerdo a los diferentes países y ello influye en la composición del producto final; sobre todo por el contenido de ciertas sustancias que actúan unas como protectoras de la rancidez y otras como aceleradoras de la misma. Inego debemos considerar el hecho de que las causas que provocan la rancidez son de muy diver-

esos tipos, que se pueden agrupar en: Físicas, químicas y biológicas. Y que, de acuerdo con ellas son también diferentes los efectos que se producen. Por último diremos que los productos que se forman al enranciarse una grasa son de muy diversas estructuras químicas, muchos de ellos todavía desconocidos y otros difíciles de reconocer y que no se conocen muchas veces los pasos intermedios de la ranción.-

Como vemos, nos hemos encontrado en un terreno muy dificultoso, pues a pesar de los numerosos y capacitados investigadores que se han dedicado a este tema, todavía falta mucho por aclarar y más aun por trabajar. Sin embargo lo hemos hecho teniendo en cuenta la importancia capital que tiene el problema de las grasas rancias desde el punto de vista industrial, económico, bromatológico y médico.-

Importancia industrial: Radica en el hecho de que la industria que directamente se dedica a elaborar materias grasas, debe adecuar sus procedimientos a las técnicas más aconsejables para evitar que se pierdan en ellas los elementos naturales que estas sustancias contienen y que impidan que ellas lleguen a enranciarse muy rápidamente. El control cuidadoso de las operaciones que se efectúan con las materias grasas y el estudio de las sustancias que es necesario agregar a ellas para evitar que se enrancien, es una cuestión que atañe directamente a este tipo de industria.-

también la industria que elabora productos que llevan incluidas materias grasas (elaboración de galletitas, cosméticos, medicamentos, etc.), se encuentran con el grave problema que luego de un cierto tiempo ellas adquieren olor y sabor desagradables, lo cual es necesario evitar. Vemos entonces que son numerosos los intereses industriales que entran en juego en esta cuestión. Es por ello que también el problema tiene:

Importancia económica: Solo para dar una idea de la importancia económica que tiene el evitar que las grasas se en-

rancidez, diremos que en el 1947 la fábrica Swift tuvo que liquidar 500 tt. de grasa de cerdo por rancidez y al año siguiente el I.A.P.I. debió vender 5000 tt. de grasa de cerdo a jaboneras, al precio de \$0.70 el Kg., habiendo pagado por ella \$3.80 el Kg. En consecuencia en ese solo año y en ese solo tipo de grasa, esa institución perdió la fabulosa suma de \$ 15.000.000.-

Y no mencionamos la serie numerosa de pequeños industriales y aun los mismos consumidores que deben sufrir pérdidas económicas porque sus productos padecen los efectos de la deterioración natural o provocada por agentes extraños.-

E.U.U. es quizá el país donde más se ha estudiado el problema de la rancidez y muy especialmente en la época de la 2ª guerra mundial, cuando más que nunca era necesario considerar con circunstancia por el tiempo muchas veces larga que transcurría entre la preparación y la ingestión de grasas y alimentos que las contenían. Imaginemos el perjuicio económico grande que podía causar a una nación que con todas sus reservas estaba empeñada en una lucha mundial, la circunstancia de tener que descartar por encontrarse rancias las materias grasas que enviaba para alimentación de sus soldados. Igualmente el efecto psicológico que habría de tener para esa gente el recibir alimentos en un estado desagradable a los sentidos.-

Importancia bromatológica: Las autoridades sanitarias de todos los países del mundo se encuentran empeñadas en que lleguen a su población los alimentos en las mejores condiciones para el consumo. Los países sudamericanos, impulsados en esta política por la obra iniciada en nuestro país por el Dr. Carlos A. Grau, han considerado estas cuestiones en sus diferentes congresos y es así como en el quinto Congreso Sudamericano de Química se aprobaron entre otras los siguientes votos (3):

- 1.- Sugiero la conveniencia que los Códigos Bromatológicos se basen en el nuevo principio que alimento natural es el que se presenta en buen estado de conservación, libre de contaminación alguna, sin modificacio-

nes que disminuyan apreciablemente su valor biológico y respondan a las demás exigencias de las reglamentaciones oficiales.-

2.- Sugiere que las naciones de América que aun no posean Código Bromatológico Nacional, procuren tenerlo. Y ratificando el voto aprobado por el Tercer Congreso Sudamericano de Química, sugiere a las mismas adopten entre tanto, con carácter provisorio, las definiciones del Código Bromatológico de la Provincia de Buenos Aires, República Argentina.-

3.- Sugiere la conveniencia que se considere la adición, bajo el control del Estado, a las materias grasas sólidas comestibles de origen animal, de productos antioxidantes, permitidos por las autoridades sanitarias, bajo las condiciones establecidas por estas.

Como vemos era preocupación de los congresales que los productos que se expenden en los países sudamericanos lleguen en las mejores condiciones al público consumidor. Tanto que, en el tercer voto aprobado, se aconseja el uso de substancias antioxidantes para evitar que las grasas se enranciaran. Estaban dando frutos los trabajos iniciados hace ya tantos años por algunos investigadores argentinos que, como los doctores Ceriotti y Sanguinetti, proponían ya en 1919 (4) que "se exigiera en las materias grasas un grado de rancidez nulo o sumamente pequeño" y que se nombrara además una comisión de químicos argentinos para que estudiara especialmente estas importantes cuestiones.-

En la actualidad en nuestro país, se admite el agregado de antioxidantes y retardadores de la rancidez a las materias grasas, siempre que los mismos se encuentren aprobados por la autoridad sanitaria (5).-

En otros países del mundo este asunto ha sido también muy estudiado. Ya hemos mencionado E. E. U. U., donde existen oficinas nacionales y luego para cada estado, que es-

tán continuamente en procura de que las grasas se expendan de la mejor manera posible. Por ello es que las medidas tomadas en este sentido son muy amplias y fue el primer país donde comenzó en gran escala el uso de antioxidantes para materias grasas comestibles, con el objeto de prevenir la rancidez. Y es así como la "U.S. Food and Drug Administration" ha encarado el estudio de numerosas sustancias que se le han presentado con estos fines.-

En el Reino Unido, la cuestión del agregado de los antioxidantes a los alimentos está bajo el estudio de un comité llamado: "Preservatives Sub-Committee of the Food Standards Committee of the Ministry of Food". El cual se encuentra bajo la dirección de uno de los investigadores más conspicuos de todos los tiempos en el asunto de la rancidez, Colin H. Lee (6).-

Antiguamente se creía que las grasas desempeñaban en las dietas la única función de proporcionar calorías al organismo. Sin embargo a partir del trabajo de Burr y Burr en 1939 (7), ampliado luego por Burr (8) se demostró el carácter esencial que ciertos ácidos grasos tienen en la nutrición. En consecuencia es necesario en primer lugar, proporcionar al individuo este tipo de sustancias en su dieta y luego tratar de que ellas lleguen en el mejor estado posible. Precisamente el Dr. Cattaneo (9) (10) ha publicado un extenso trabajo sobre el valor nutritivo de las grasas y entre otras cosas señala como una "importante medida" impedir o retardar adecuadamente los procesos de rancidez oxidativa en grasas o aceites destinados a la alimentación; puesto que ha sido probado que las grasas rancias destruyen un numeroso grupo de vitaminas y provocan una serie de trastornos en los individuos y animales que son sometidos a dietas en esas condiciones.-

Queda entonces establecido el hecho de que es muy interesante llegar a conocer cuando una grasa está rancia. Antiguamente se denominaban rancias a las grasas que se descomponían dando como producto final de la reacción el ácido butírico; luego el olor y sabor rancio se atribuyó con un críto-

rio unánime a los aldehídos y cetonas que varios investigadores encontraron en las grasas rancias. Y en la actualidad se ha demostrado que las grasas rancias desarrollan un serie de hidroperóxidos que luego se descomponen dando aldehídos y cetonas α y β -no saturados, los cuales son los responsables de aroma y sabor rancios.-

Naturalmente que el interés del hombre por conocer el estado de conservación de una grasa no radica en el mero hecho observativo desde el punto de vista de evitar ser engañado por quien se la vende pues esto puede ser probado bastante fácilmente por la simple observación organoléptica; sino más por el contrario, impulsado por la importancia que tiene este problema, como hemos visto más arriba, procura evitar por todos los medios que las grasas lleguen a enranciarse y luego al ya lo están, ver si puede evitar que continúe el desarrollo de esa rancidez. Para ello debe contar con métodos adecuados que le indiquen cuando una grasa está en esas condiciones.-

Fue por esta causa que los investigadores se dedicaron desde el siglo pasado a buscar reacciones cualitativas y métodos cuantitativos para determinar la rancidez. En un principio era considerado en casi todo el mundo que una grasa estaba rancia cuando daba positiva la reacción de Frois (11). Más tarde, cuando esta reacción fue modificada por Verr (12), se pudo hacer este ensayo casi cuantitativo, y de acuerdo a los laboratorios de la Inspección Alimenticia de Washington (13), las grasas se clasifican en cuatro grupos:

1.-Grasas que no dan la reacción de Frois; Son las grasas y aceites frescos, que poseen un largo período de inducción y en consecuencia requieren un tiempo largo para que se vuelvan rancias.-

2.-Grasas que dan la reacción sin dilución; Son aquellas grasas en las cuales no se percibe olor y sabor rancio, pero con un proceso de rancidez incipiente que más tarde se manifiesta notadamente.-

3.-Grasas que dan la reacción en diluciones de 1 en 10 en vasolina líquida o kerosene, pero no de 1 en 20: En este caso la rancidez está bien avanzada y se aprecian notablemente el olor y

sabor rancios.-

4.- Grasas que dan la reacción en diluciones de 1 en 20: Son los productos completamente rancios. El olor y sabor desagradables son extensamente notorios.-

La Provincia de Buenos Aires (14) había adoptado esta reacción, considerando grasas rancias a aquellas que dieran positiva la reacción de Kreis, en solución al décimo en kerosene, y según la teoría de Kerr. No obstante ello en estos momentos se ajusta a las nuevas teorías propuestas.-

Actualmente uno de los criterios que más se ha extendido para el examen de las materias grasas, consiste en valorar el índice de peróxidos de las mismas. En primer lugar se determina el período de inducción de cada tipo de grasa y cual es el valor máximo de peróxido para el final de ese período. Se toma ese dato como índice de que la grasa ha comenzado a estar rancia. Construyendo curvas adecuadas, se puede en el futuro llegar a determinar fácilmente con nuevas muestras que se analicen, en que punto de la curva nos hallamos, determinando los respectivos índices de peróxidos y por consiguiente poderemos dictaminar cual es el estado de conservación de esa sustancia grasa.-

Nuestro trabajo lleva entre otros puntos, este objetivo para con la grasa de cerdo, así como también poner al alcance de quienes deseen trabajar en el tema, los elementos que la abundante bibliografía trae al respecto. Para ello hemos de dar un amplio desarrollo al examen de las importantes cuestiones que entran en juego en el proceso del enranciamiento de las materias grasas; y si bien este examen no es exhaustivo, pues es imposible encuadrar asuntos tan vastos en los límites de una tesis universitaria, hemos procurado establecer, tomando en cuenta los elementos de juicio más valiosos, los fundamentos de estos temas en sus puntos principales.-

CAPITULO I

PART E II

GENERALIDADES SOBRE LA GRASA DE CERDO

<u>Lípidos</u> <u>derivados</u>	}	Ácidos grasos
		Alcoholes superiores
		Esteroides
		Bases aminadas

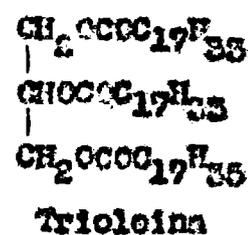
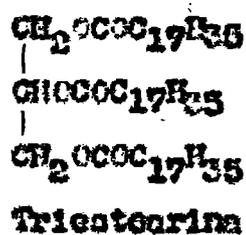
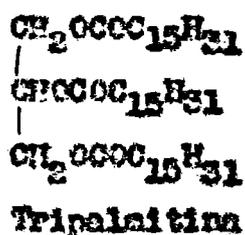
Los glicéridos son los más difundidos y dentro de ellos se realiza una división en aceites y grasas de acuerdo con su estado físico a la temperatura de 20°C. Es así que las grasas son sólidas a esa temperatura y los aceites líquidos. Ello en realidad se deriva de la distinta constitución química como luego vamos a considerar (17).-

Químicamente hablando los glicéridos son ésteres del alcohol trivalente glicerina con los ácidos grasos superiores y medios. En los reinos vegetal y animal aparecen los aceites y grasas extraordinariamente difundidos. En nuestro país los aceites más comunes son los de girasol, maíz, oliva, uva, algodón, soja, nabo, maíz, etc. y las grasas de vaca, cerdo y el sebo. Al lado de estos productos comestibles están los llamados aceites secantes, que bajo la influencia del oxígeno del aire se resinifican lentamente y llegan a solidificarse; pertenecen a este grupo los aceites de linaza, de cáñamo, etc.-

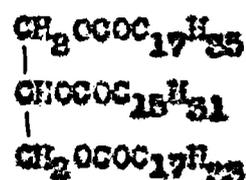
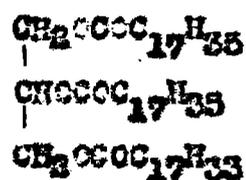
El punto de fusión o la consistencia de las grasas depende de la naturaleza de los ácidos que participan en su composición. Las grasas duras, es decir, aquellas que funden a temperatura alta son fundamentalmente glicéridos de los ácidos palmítico y estearico; mientras que los glicéridos del ácido oleico son los que predominan en aquellos aceites que funden a temperatura más baja.-

En los glicéridos es muy frecuente el fenómeno del doble punto de fusión, que consiste en que estas sustancias funden a una temperatura determinada, luego se solidifican para volver a fundir ahora definitivamente a una temperatura más elevada. Así por ejemplo los respectivos puntos de fusión de la tristearina son 55° y 73° y de la tripalmitina 43° y 65°. La interpretación correcta de este hecho aun no se ha po-

dido encontrar (18).-



Estos tres ejemplos que hemos dado forman parte de los llamados glicéridos simples, en los cuales los tres radicales ácidos son iguales. Sin embargo las grasas naturales son mezclas de diferentes glicéridos y casi siempre glicéridos mixtos en cuya molécula están contenidos dos o tres radicales ácidos diferentes. Glicéridos mixtos serían por ejemplo la oleostearina y la oleopalmitostearina:



Aunque los ácidos oleico, palmítico y estéarico, sean los que en mucha mayor proporción se encuentran formando parte de los glicéridos naturales, existen también otros ácidos carboxílicos. Así por ejemplo en la grasa de vaca encontramos la tributirina, que sería el glicérido del ácido butírico, además de los glicéridos de los ácidos caprílico, caprílico y caprílico. Lo mismo en el aceite de maíz el glicérido del ácido aráquico. A este respecto se puede consultar un tratado especializado (19).-

En definitiva podríamos decir que las grasas naturales están constituidas por la mezcla de distintos glicéridos en proporciones diferentes según su origen y acompañados de una pequeña cantidad de ácidos grasos al estado libre y de sustancias diversas: alcoholes, esteroides, hidrocarburos, etc., que constituyen lo que se llama el insaponificable de los aceites (20).-

El Reglamento Alimentario Nacional

en su Artículo N° 175 (21) define que es lo que en nuestro país de acuerdo al criterio bromatológico, se entiende por grasa comestible; dice al mismo:

"Se entenderá por grasas animales comestibles, las provenientes de animales vacunos, ovinos, porcinos, caprinos y aves, declarados aptos para el consumo humano por la Inspección Veterinaria Oficial en los establecimientos autorizados para su faena y que se ajusten a las condiciones sanitarias establecidas para su elaboración. Tales grasas, como las demás empleadas en la alimentación, deberán estar limpias, libres de rancidez, con una acidez máxima de 1 por ciento expresada en ácido oleico y un máximo de 1 por ciento de sustancias extrañas al producto, necesariamente incorporadas en el proceso de fusión. Se entenderá por sustancias extrañas, agua, cenizas e impurezas insolubles. El punto de fusión no excederá de 45°C.-"

Dentro de estas grasas naturales, a las cuales nos estamos refiriendo, encontramos la llamada grasa de cerdo, que hemos de utilizar en nuestro trabajo para el estudio de la rancidez. De acuerdo al Reglamento mencionado, (Artículo N° 176) esta grasa debe responder a las siguientes exigencias oficiales:

"Grasa de cerdo comestible (manteca de cerdo para la exportación), es la grasa resultante de la fusión de las materias primas porcinas declaradas aptas para fines comestibles. Debe presentar un índice de refracción a 45°C de 1,4550 a 1,4600; un índice de yodo de 30 a 70; un índice térmico de Tortelli de 38 a 42; un índice de saponificación de 192 a 210; un punto de turbidez de 33°C a 25°C.-"

Cuando la grasa de cerdo no reúne las condiciones establecidas precedentemente se considera como "grasa incomedible" y con razones para considerarla así, las siguientes: (Artículo 191):

"Toda grasa vacuna, ovina, porcina o caprina que reunido las condiciones de comestible, sea rancia o tenga un ácido mayor de uno por ciento expresado en ácido oleico o más del uno por ciento de sustancias extrañas.

"Toda materia grasa proveniente de animales o de subproductos ganaderos declarados inaptos para el consumo humano, por la Inspección Veterinaria Oficial.

"Toda grasa vacuna, ovina, porcina o caprina, cruda o fundida, que provenga de establecimientos no habilitados oficialmente. Tal grasa podrá ser recibida en establecimientos habilitados previa autorización del Jefe de la Inspección Veterinaria, bajo condición de entrega directa de la misma en la sección incombustible correspondiente y siempre que ello no constituya un peligro para la salud o produzca inconvenientes al control sanitario de la producción del establecimiento que la reciba".-

Originalmente la grasa de cerdo se extraía únicamente de los riñones e intestinos del animal, sin embargo al constante incremento en el consumo de este material ha ocasionado que actualmente se retire la grasa de todo el cuerpo del mismo.-

Las reglas del "Chicago Board of Trade" (22) definen las siguientes clases de grasa de cerdo comestible: a) Neutral lard N°1; b) Neutral lard N° 2 (Imitation Neutral lard); c) Leaf lard; d) Choice lard, Choice Kettle-rendered lard; e) Price Steam lard.-

Del animal abarato se quita la grasa de los riñones y de los intestinos, luego se le despoja de la carne y piel, se corta en pequeños trozos en una máquina especial, se lava con agua fría y se funde en calderas de doble fondo calentadas a vapor a una temperatura entre 40° y 50°C. La

grasa de cerdo así obtenida- a) Neutral Lard N° 1- es practicamente neutra y es usada casi exclusivamente en la preparación de la margarina. Por otra parte se le quita al animal la grasa del lomo (tocino), que se purifica, se tritura, se lava y se funde como la anterior. Esta grasa es llamada -b) Neutral Lard N° 2 ó Imitation Neutral Lard. Es la grasa comunmente usada para la preparación de bizcochos, dulces, etc., en reemplazo de la mantequilla.-

En la preparación del Neutral Lard N° 1 queda un residuo no fundido el cual se somete a un proceso más drástico a tal efecto. Se lo introduce en autoclaves en las cuales el vapor actúa a presión. En esas condiciones se obtiene un nuevo tipo de grasa denominada c) olicaf lard. Este tipo de grasa está definida como: "La grasa de cerdo hecha de la grasa interna del abdomen, excluyendo aquella que está adherida a los intestinos, y teniendo un número de iodo igual a 60".-

También se mezclan los residuos no fundidos de las grasas (a) y (b) y se colocan ya sea en calderas abiertas o en autoclaves en las cuales se funde y se obtiene así una llamada grasa selecta: d) Choice Lard ó Choice Fattig Rendered Lard que tiene un peculiar y agradable sabor a grasa frita de donde lo viene el nombre.-

Juntaudo todos los residuos y aquellas partes del animal que no han sido empleadas en las operaciones anteriores se procede a efectuar una fusión en una autoclave para producir así la manteca de vapor: e) Friar Stear Lard también llamada Standard Friar Stear Lard. En este caso toda la grasa es calentada en la autoclave mencionada mediante vapor de agua y luego se extrae la grasa fundida. Pero cuando se desea evitar que la grasa tome gusto a "chicharrones", entonces se elabora lo que se llama Drip-rendered Lard, que es la grasa de cerdo que se obtiene por goteo; es decir que se calienta toda la grasa extraída al animal en un gran recipiente que en su parte

inferior tiene una grilla, por la cual va goteando la grasa la medida que se va fundiendo.-

Todos estos tipos de grasas de cerdo se utilizan como comestibles, sin embargo existe también grasa de cerdo usada con fines industriales. Esta se obtiene de los intestinos, los residuos de las operaciones anteriores, las diversas partes de los cerdos muertos durante el transporte a los frigoríficos, etc., procediendo al calentamiento en autoclaves con vapor de agua. El producto es una mezcla de grasas más o menos coloreadas, que de acuerdo al color se clasifican en: blancas, amarillas, pardas, etc.-

Podemos agregar que en el orden industrial está también la fabricación de estearina de grasa y del aceite de lardo que se fabrican de esta manera: la grasa de cerdo fundida, generalmente a vapor, (Steam lard) se deja solidificar espontáneamente en grandes recipientes, a temperatura controlada cuidadosamente (entre 8° y 12°C en invierno y entre 12° y 15°C en verano). En esta forma se produce una fase cristalina, la estearina, que se puede separar fácilmente de la fase líquida, y se somete a un prensado lento y gradual. Lo que queda retenido en los filtros es la estearina, el líquido que queda es el llamado aceite de lardo y representa un 60% de la grasa que procede.-

Actualmente los métodos empleados en la preparación de la grasa de cerdo han sido perfeccionados, pero siempre sobre la base de los antiguos procedimientos que han sido descritos precedentemente (23). Así por ejemplo en los frigoríficos modernos la grasa de cerdo se prepara calentándola en calderas a vapor cerradas a 110°-125°C mientras se agita; algunas veces se agrega una pequeña cantidad de carbonato de sodio para blanquear. El calentamiento es continuado hasta que la humedad es expulsa y una espuma liviana, de color marrón (chicharrones) flota en la superficie. Esto requiere generalmente

unas tres horas de calentamiento.-

En este momento con el producto obtenido se pueden realizar dos operaciones. 1º) El contenido total de la caldera es colocada en un recipiente de hierro con un colador para extraer los chicharrones y la grasa de cerdo entonces filtrada a través de una estopilla de algodón o bombada a través de un filtro prensa. 2º) La grasa de cerdo permanece depositada en el tanque de derretimiento, donde se le agrega cloruro de sodio para favorecer la decantación. La grasa asentada es entonces sifonada y bombada a través de un filtro prensa.-

Para refinar la grasa de cerdo se procede a calentarla a 70°-80°C con 1-1,5% de tierra de botán y luego se filtra. La refinación es necesaria para producir un producto de sabor suave, buen color y libre de impurezas. Para obtener una grasa de cerdo homogénea, esta es calentada a 45°C y derramada en cilindros enfriados los cuales giran a 12-16 r. p.m.. Luego la grasa se puede someter a la texturación, la cual consiste en forzar el producto a un estado semifundido a través de un tazón giratorio perforado. Se obtiene así un producto blanco, con un grado grande de plasticidad.-

Desde el punto de vista comercial, la grasa de cerdo se presenta en el mercado en dos formas: en rama y fundida.-

Grasa de cerdo en rama es la llamada también "manteca en polla" o "polla en rama". Es la grasa tal cual se la extrae del animal, sin ninguna otra preparación. Solo requiere cuidados en enfriamiento y posterior congelación.-

La grasa de este tipo se prepara casi exclusivamente de la tela de los entresijos, que en los cerdos bien cebados proporciona gran cantidad. Para la buena presentación de este producto hay que tener algunas precauciones en su preparación: sacrificada la res y abierto el vientro, debe extraerse la tela antes de capezar la evisceración; con esto se

consigue que la grasa no corra peligro de ensuciarse de sangre u otros productos intestinales que le pueden dar mal aspecto, mal color y olor desagradable. Precisamente el mayor valor que tiene esta grasa, deriva de un color blanco, que no está sucio o empañado.-

Una vez extraída la grasa en esas condiciones, se deposita en recipientes de madera, de la forma adecuada al producto que luego ha de ser embalado para la venta.-

Para darle la debida consistencia se sala ligeramente; luego se expone a una temperatura baja y en ambiente seco, sin más cuidado que las atenciones de limpieza que requiere todo producto alimenticio. Cuando el producto se ha congelado, se entrega al comercio sin otra preparación.-

grasa de cerdo pura: El tejido adiposo que se extrae del cerdo contiene, además de la grasa, una cantidad variable de tejido conjuntivo, algunas fibras musculares, etc., que sirven de soporte y unión a las células grasas. Para separar la grasa de todos estos tejidos, es preciso recurrir a la fusión por el calor, como hemos visto antes, derretir la manteca y después el estrujamiento para completar la separación.-

El producto fundido está compuesto por grasa pura; los tejidos que la rodean forma el chicharrón. Todo el secreto de la fabricación de este producto radica en el hecho de conseguir una perfecta separación de estas dos partes: grasa y chicharrón.-

Actualmente la producción nacional se realiza exclusivamente en base a la grasa de cerdo pura y ha realizado notables progresos industriales y técnicos, que van en beneficio de la buena calidad del producto.-

Debemos también tener en cuenta que la alimentación tiene una cierta influencia en la composición de la grasa de cerdo, en el sentido de que algunos componentes de las grasas introducidos con los alimentos, pasan a la grasa del animal (24). Así por ejemplo, grasa de cerdos alimentados con pastos oleaginosos o con maíz, resultan más ricos en oleínas, y

por esto más blandas, que las de los mismos animales nutridos con otros alimentos. Cerdos alimentado con pescado dan un taci- no con el característico y desagradable olor del aceite de pe- cado y así ocurre en muchos otros casos.-

Recientemente se ha demostrado tam- bién (25), que la grasa de cerdo tiene diferente valor nutriti- vo, de acuerdo a la proporción de grasa que se le provee a los cerdos en su alimentación.-

En general podemos decir que la com- posición química de la grasa de cerdo en lo que respecta a ácidos grasos es la siguiente: (26)

T A B L A

<u>Acidos grasos</u>	<u>Por %</u>
Acido mirístico (C 14).	1,5
" palmitico (C16)	25,0
" esteárico (C 18).	11,5
" oleico (monocilénico, C 18).	51,5
" linoleico (dicilénico, C 18)	10,5

-----0-----

CAPITULO II

PART E I

DISTINTOS TIPOS DE RANCIDEX

como vimos en la introducción a nuestro estudio, el problema de la rancidez no ha sido dilucidado aun completamente. Sin embargo actualmente y debido a la división efectuada para diferenciar los distintos tipos de rancidez, podemos ubicar dentro de cada uno de ellos a todos los fenómenos que en este sentido ocurren en la Naturaleza. Esto no significa el conocer los cambios químicos que ocurren en el proceso pero sí señalar bastante el panorama en estudio.-

Sin embargo los alcances de nuestro trabajo no nos permiten dedicar mucho espacio a este tema, pues su desarrollo exhaustivo sería ya de por sí solo una larga monografía. Al respecto se puede consultar el trabajo de Ien (27); nosotros solo vamos a reducir la discusión a un estudio general de los principales cambios que pueden ocurrir en una grasa que sufre el proceso de enranciamiento.-

En uno de los primeros trabajos donde se trata de hacer una diferenciación entre los distintos tipos de rancidez, es en el de Stokes (28). Este autor llega a la conclusión de que existen tres tipos de enranciamiento, a saber:

- 1.- Se caracteriza por un considerable olor a rancio y el aumento de la consistencia de la grasa.-
- 2.- Enranciamiento aromático.-
- 3.- Enranciamiento común, en que la grasa pierde el color.-

Posteriormente este asunto fué extensamente estudiado en todo el mundo, y en la actualidad se considera que efectivamente, la rancidez puede ser de varios tipos; caracterizado cada uno de ellos por las diferentes condiciones que requiere para producirse y también por los distintos productos resultantes de la reacción. Actualmente agrupamos las formas en que las materias grasas se deterioran, en

tres grandes grupos (29):

- 1.- Hidrólisis de los glicéridos, dando ácidos grasos libres y glicerol.-
- 2.- Beta oxidación, oxidación de los ácidos grasos con producción de cetonas.-
- 3.- Oxidación de las dobles ligaduras de los glicéridos no saturados neutros o ácidos grasos.-

Las dos primeras nombradas son casi exclusivamente resultado de la acción enzimática; mientras que la última puede proceder, y usualmente lo es, de la exposición al oxígeno (aire) solo, pero también puede ser influenciada por la presencia de enzimas y otras condiciones.-

Naturalmente que la más importante de las tres es la rancidez oxidativa, pues ella es la que afecta a un mayor número de grasas y que más rápidamente las destruye. Y precisamente los mayores esfuerzos de los investigadores están dirigidos a eliminar sus efectos.-

Na obstante ello y a pesar de que nuestro trabajo llevará también como estudio base, la rancidez oxidativa que se produce en la grasa de cerdo, hemos de hacer un breve repaso sobre los otros tipos de rancidez que afectan también a las materias grasas.-

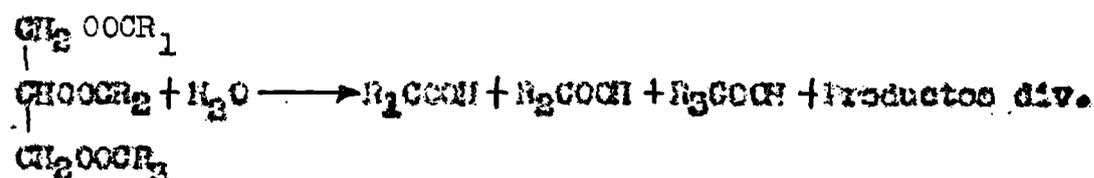
Rancidez hidrolítica

Es causada por la exposición de las grasas a la humedad en presencia de enzimas lipolíticas. En las semillas siempre está presente la lipasa y se puede considerar esencial en la madurez de la semilla; a causa de ello las semillas grasas se encuentran propensas a desarrollas ácidos grasos libres si ellas son colocadas bajo condiciones húmedas. Es por ello que si la semilla de algodón se mantiene seca aun en contacto con el aire, conserva en buenas condiciones su aceite. Similarmente ciertos aceites de frutos duros como los de palma y oliva sufren una hidrólisis muy rápida a menos

que toda la pulpa no grasa sea extraída completamente o el material calentado con vapor con el objeto de destruir todas las enzimas. El aceite de soja se oxida rápidamente cuando se lo expone al aire. Las semillas que mejor resisten el efecto son las oleaginosas quizá porque la enzima y el aceite se hallan en células separadas.-

Los microorganismos lipolíticos necesitan para poder proliferar un ambiental nitrogenado, es por ello que esto se realiza fácilmente en el aceite crudo, no así en el aceite refinado que debido al proceso a que se somete se ve privado de esas sustancias. En este caso entonces la rancidez es debida a alguna enzima que lleva el aceite sin refinar, las cuales son bastante resistentes al calor.-

Como dijimos, el primer paso en la producción de esta rancidez es la hidrólisis de la grasa, que se puede presentar así:



Por otra parte los ácidos grasos libres se oxidan más fácilmente, ello hace que la "rancidez hidrolítica" generalmente preceda a una rancidez oxidativa. En cuanto a los tejidos grasos de los animales no están tan usualmente sujetos a ser hidrolizados pues la lipasa contenida en ellos es relativamente pequeña. La rancidez hidrolítica en las grasas de reserva, cuando ocurre, es usualmente debida al amento de hongos (*Penicillium*, *Aspergillus*, etc.) en la superficie de la grasa; tales microorganismos contienen enzimas lipolíticas en abundancia.-

En ciertos casos la acidez de una grasa puede darnos una idea del tratamiento a que ha sido sometida la misma. Por ejemplo ella aumenta considerablemente cuando el tejido, después de muerto el animal, ha permanecido en contacto con otros tejidos de distinta naturaleza; lo mismo si las condiciones de almacenaje no han sido cuidadosas.

Ahora bien, en el caso de los aceites este dato no sirve para nada pues ellos son fácilmente neutralizados.-

Un producto que con relativa facilidad puede enranciaras debido a que suele transportarse en barriles de madera, es la margarina. En este caso se desarrolla la rancidez hidrolítica debido a la presencia de moho de mohos, los que gracias a los materiales sólidos que proporciona la leche desarrollan micelas que penetran dentro del material graso. En esas condiciones se produce entonces la hidrólisis de los glicéridos con producción de ácidos grasos libres.-

Un medio cómodo de preservar la grasa de este tipo de rancidez, sería dotando a la madera de la propiedad de destruir ese moho mediante el empleo de sustancias protectoras; ya que este mal no es de la grasa sino del envase. La prueba de ello es que la misma grasa colocada en distintos recipientes, en algunos casos desarrolla una muy pequeña proliferación de moho muy difícil de ser reconocida y en otros casos ella es abundantísima.-

En los aceites de animales marinos, especialmente aceite de hígado de ballena, los cuales son extraídos de las tripas o despojos del animal, también en ellos hay un peligro de contaminación con bacterias intestinales, algunas de las cuales son ricas en lipasa de gran potencia. Los aceites de animales marinos, extraídos de partes intestinales están por esto sujetos a soportar la hidrólisis con gran rapidez, a menos que la lipasa haya sido efectivamente destruida por calentamiento con vapor durante la extracción del aceite.-

Las bacterias en realidad son mucho menos activas que los mohos en el desarrollo de la rancidez hidrolítica, pues necesitan un medio especial para desarrollarse; en cambio estos últimos con mucha mayor facilidad proliferan. Los mohos que intervienen en la descomposición

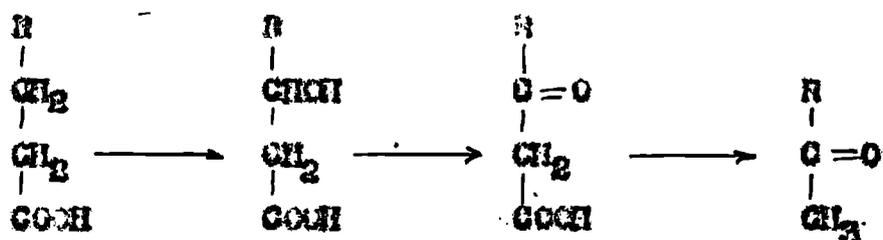
grasa se clasifican en dos tipos: 1°) Aquellos que por su acción no modifican la consistencia sólida de la grasa. 2°) Y aquellos que teniendo gran poder lipolítico desdoblan a la grasa y la tornan aceitosa por el ácido oleico puesto en libertad.-

Rancidez cetónica (β -oxidación)

La rancidez oxidativa no es tan común como lo es un ataque directo del oxígeno a las dobles ligaduras de los glicéridos no saturados. Además, mientras el tipo más usual de rancidez oxidativa solo afecta las grasas no saturadas, esta rancidez cetónica envuelve la β -oxidación de los ácidos grasos saturados.-

Se la encuentra generalmente en los aceites de coco y almendras, aunque no está estrictamente restringida a ellos. La acción es debida aparentemente a una peroxidasa presente en ciertos hongos (ej. *Penicillium glaucum*).-

A temperaturas moderadamente altas, en presencia de roscas de humedad y a causa de la luz, las enzimas oxidantes atacan los ácidos grasos saturados (con especial facilidad aquellos de peso molecular intermedio (C_8-C_{12}) y los convierten en metil-cetonas por el proceso de β -oxidación (30)-



En estos medios los ácidos láurico, cáprico y caprílico, producen respectivamente metil-n-nonil, metil-n-heptil y metil-n-pentil cetonas; todas las cuales poseen olores marcados y penetrantes, los cuales son la causa que a este tipo de rancidez se la denomina por los tecnólogos "rancidez perfurada".-

Algunos autores opinan que bajo ciertas condiciones aun en ausencia de microorganismos se

forman cetonas en ciertas grasas (31). Por irradiación se obtiene el desarrollo de cetonas en productos diversos como ser: grasas no saturadas, glicerina, colesterol, ácidos grasos saturados, excepto los ácidos fórmico y acético.-

para determinar la presencia de cetonas en las grasas se usó la reacción con el aldehído salicílico, aunque no es específica pues existen sustancias que dan positiva no obstante que la grasa no está rancia, como ocurre con el acetil-acetil-carbinol de las mantecas.-

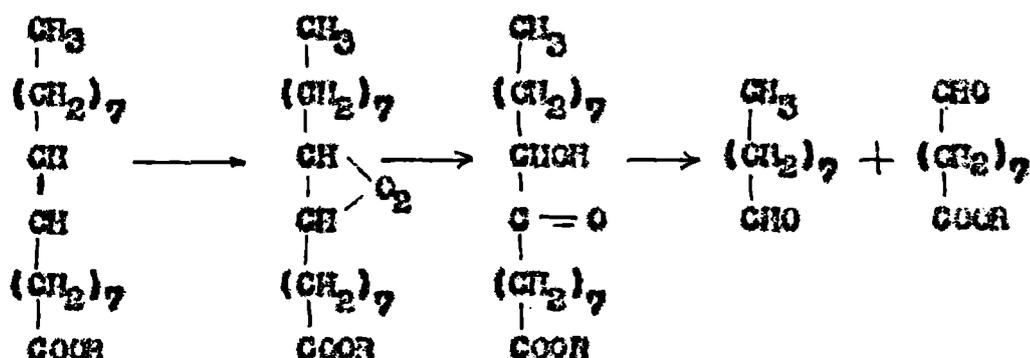
Rancidez oxidativa

Es probablemente la forma más común de rancidez y es la que usualmente se toma como término medio cuando se hace referencia al aroma rancio de una grasa comestible.-

Los primeros productos de oxidación de las grasas no saturadas expuestas al aire consisten en peróxidos más o menos lábiles, los cuales son capaces de liberar iodo de las soluciones de ácido yodhídrico en ácido acético glacial. Estos peróxidos se modifican además a derivados octohidroxilados del tipo general $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{COCH}_2-$ los cuales pueden polimerizarse o en un grado subordinado sufrir una disrupción con formación de compuestos aldehídicos.-

Debemos suponer que el oxígeno ha de fijarse sobre la doble ligadura del ácido graso, aunque esos peróxidos que se forman, no han podido ser aislados.-

El proceso sería por ejemplo:



Varios productos de descomposición han sido aislados de grasas rancias, por ejemplo: aldehidos, cetonas, ácidos grasos de bajo peso molecular, entre el fórmico y el pelargónico y el nonoico y el azelaico. Thufel y Muller (32) detectaron formaldehído, aldehidos pelargónico y heptico y varios ácidos grasos de bajo peso molecular. Fowick (33) estableció que solamente el heptil y el nonil-aldehído dan sabor y olor similar al de la grasa rancia y que solamente el epihidrin-aldehído da positivo el ensayo de Freiss. El epihidrin-aldehído no está libre, sin embargo, sino combinado como acetal-glicerol.-

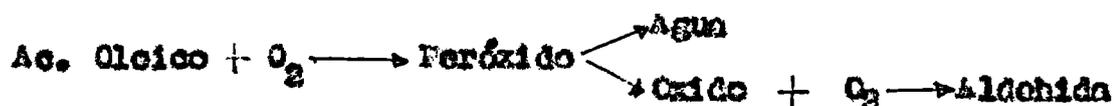
Las manifestaciones químicas de la rancidez oxidativa son en consecuencia la presencia de varios aldehidos y ácidos de bajo peso molecular y posiblemente también cetonas. La hidrólisis no es necesaria preliminarmente para desarrollar rancidez, pero los ácidos grasos se vuelven rancios más rápidamente que los glicéridos.-

Engler y Weinberg sugirieron en 1904 el siguiente mecanismo para la rancidez oxidativa:

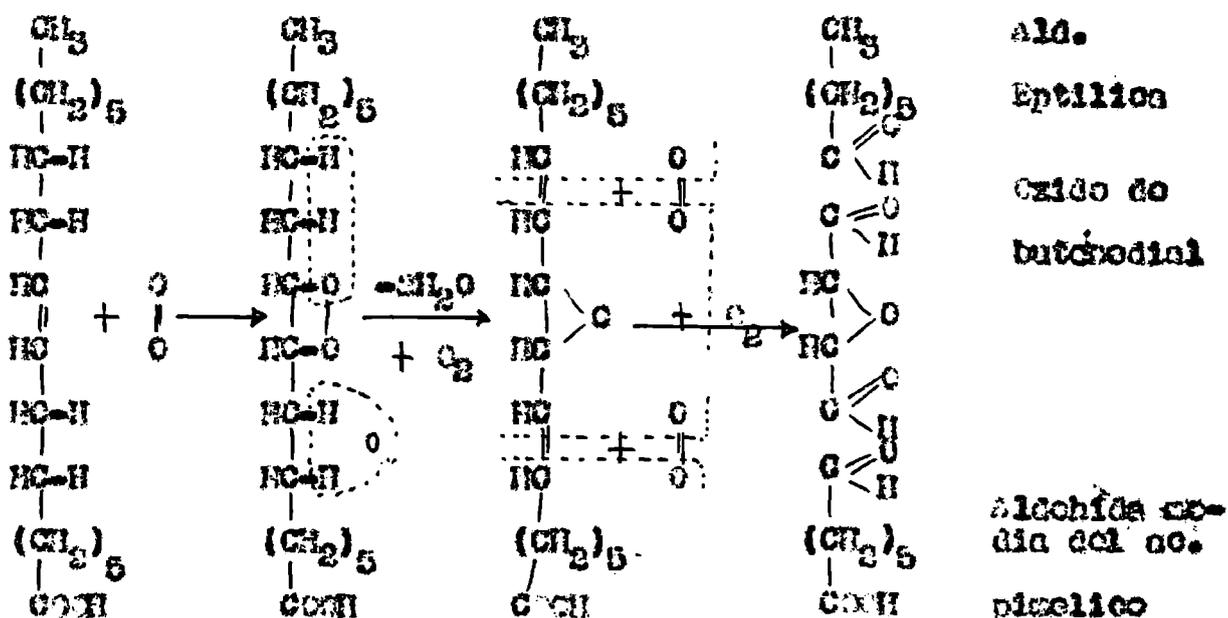


Esto es lo que generalmente hoy se acepta, pues los subsiguientes desarrollos son casi puramente especulativos.-

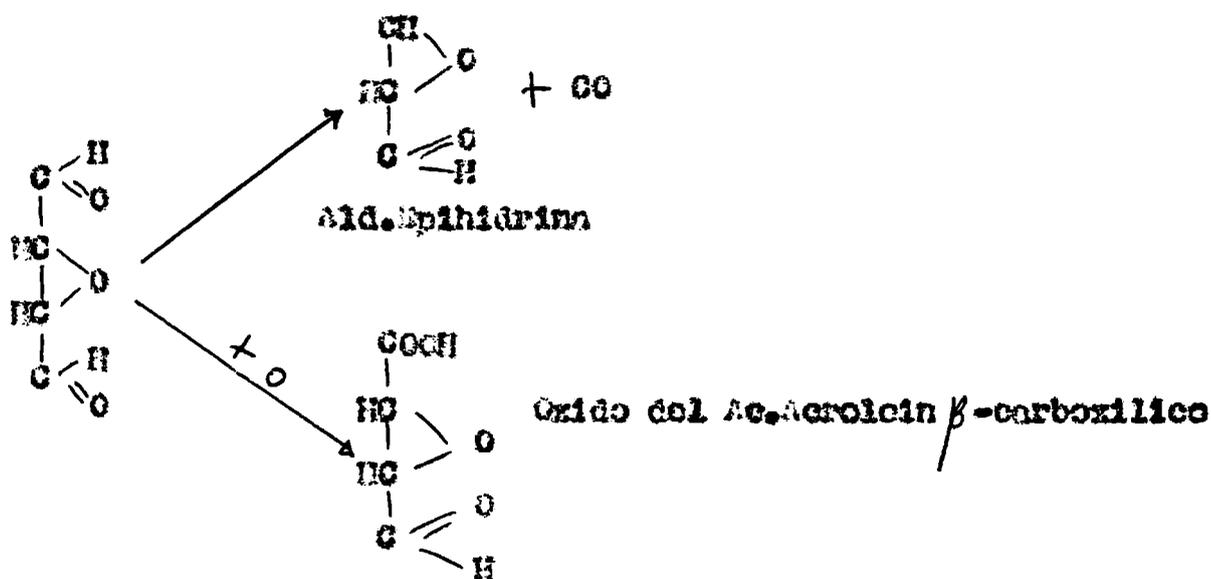
La teoría elaborada por Fowick respecto a la oxidación grasa puede considerarse así (34):



Sería en consecuencia lo siguiente:



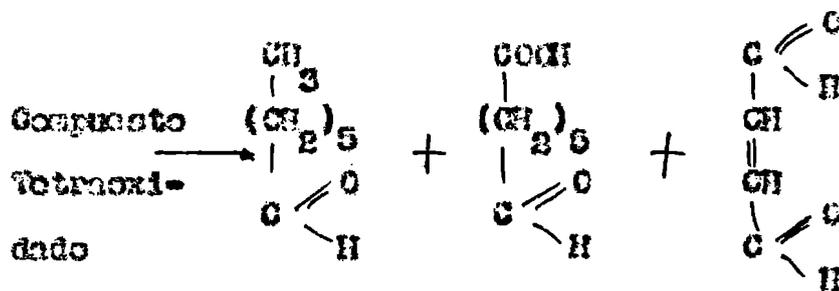
Además el oxido de butenedial daría:



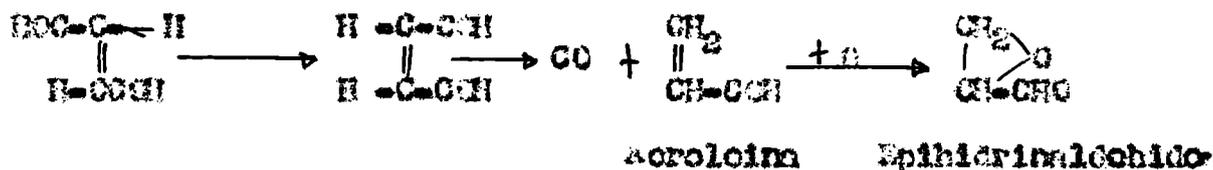
En este último paso no ha visto la formación del epihidrialdehído el cual daría positiva, como dijimos más arriba la reacción de Kreis; pero respecto a su formación difieren algunos autores con esta teoría. Así por ejemplo H. Mey (35) luego de una serie de pasos intermedios difíciles de comprobar, llega desde el ácido oleico a un compuesto tetraoxido, del cual obtiene lo mismo Lowie; las alcoholas, heptilica y del ácido pivalico, pero además la alcohola del ácido furárico.-

Es bien conocido que los ácidos málico y furárico poseen idéntica estructura (36) y sus diferencias están fundadas en la constitución de la molécula en el espacio; y exactamente lo mismo ocurre con los respectivos aldehídos, la teoría prevé dos formas estereoisómeras: cis y trans.

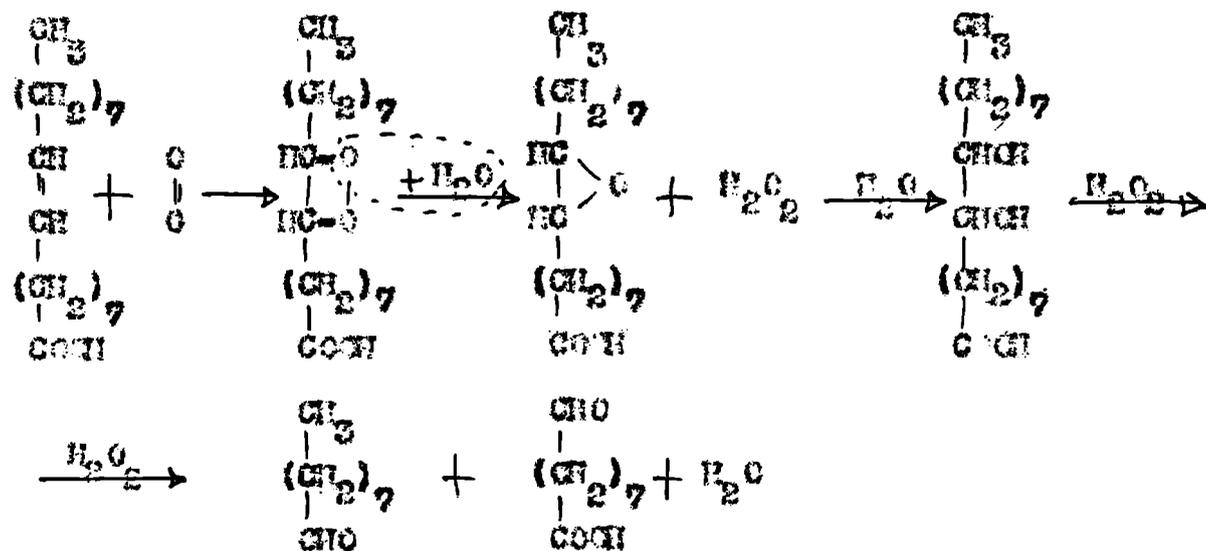
En base a ello Neu razona así:



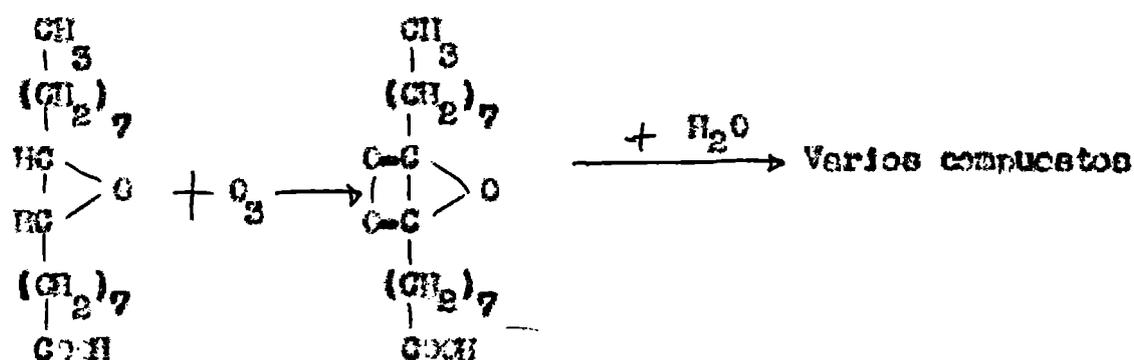
El compuesto formado sería trans inicialmente, pero inmediatamente pasa a cis:



Yacirich (37), dió la sugestión de que el peróxido es descompuesto por agua dando un óxido, ozono y peróxido de hidrógeno; este último es el que oxida los glicéridos adyacentes.-



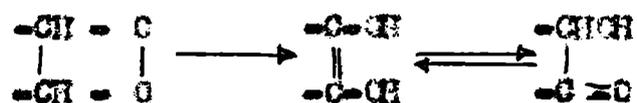
También el ozono formado podría actuar sobre el ácido del ácido oleico para dar la ozonida correspondiente, de la cual se obtendrían una gran variedad de compuestos, como son: aldehído nonílico y azelaico, cetona nonílica, ácidos polargónicos y azelaico, etc. Estos productos serían los responsables de los aromas que se perciben.-



Bromo (38) tiene una teoría parecida, pues hace originar la reacción del peróxido y agua, pero ahora con formación de un átomo de oxígeno activo la diferencia estaría entonces en esta parte:



La idea fué puesta en evidencia por Ellis (39), anticipada sin embargo en el trabajo realizado por Fahrion (40) veinte años antes, aunque actualmente se cree que el peróxido se reordena en la forma ceto-hidroxi:



Esto es sostenido por Merrel (41) quien estableció esa misma cosa en el aceite de tung oxidado.-

Sonla (42) obtuvo diversos ácidos a partir de los productos de descomposición de las grasas y los precipitó con sales de bario por lo que dedujo que la acidez que muchas veces se produce en las grasas rancias es debida a la presencia de los aldehídos que vienen en las diversas teorías; sin embargo no se ha comprobado que la acidez aumenta con la rancidez (43).-

También podemos agregar que la oxidación de los glicéridos puede realizarse independientemente de la hidrólisis pues no se ha podido encontrar glicerina libre en los grasas rancias.-

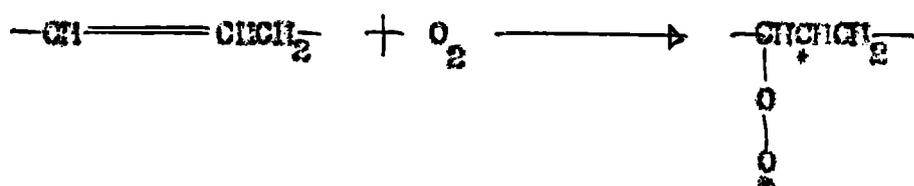
Formación de hidroperóxidos.- Durante estos últimos años la teoría de la autooxidación en cadena ha sido generalmente aceptada para los ácidos grasos no saturados de tipo

no conjugado; los cuales forman la gran mayoría de los alimentos grasos, tanto de origen vegetal como animal. De acuerdo a esta teoría, la oxidación tiene lugar, no en la doble ligadura misma, sino en el grupo metilénico adyacente a la misma, con producción de un hidropéroxido, el cual continúa reteniendo la original no saturación. Al mismo tiempo aparece un sistema de resonancia con los radicales libres, que lleva a la obtención de isómeros conjugados. Tenemos así en el primer estado no más de la autooxidación, una compleja mezcla de hidropéroxidos, con una innumerable cantidad de isómeros geométricos, con configuración "cis" ó "trans" en la doble ligadura.-

Naturalmente que la oxidación de este tipo ocurre más rápidamente cuando el grupo metilénico reactivo es doblemente activado por encontrarse entre dos dobles ligaduras. Además la reacción que se produce en los ácidos oleicos, como en los ácidos altamente no saturados, que contienen el grupo pentadieno, es mucho mayor que en los ácidos monocténicos o en aquellas que las dobles ligaduras están aisladas. Ridditch (44) sugiere que a temperaturas por debajo de 50°C, el ácido oleico no puede iniciar su propia reacción en cadena y por eso no puede autooxidarse totalmente. Otras veces la cadena es iniciada por traces de ácido policténico u otro tipo, entonces el ácido oleico llega al final de la oxidación.-

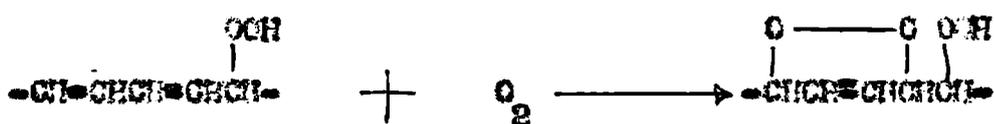
A pesar de la enorme evidencia que existe en favor de la reacción en cadena de este tipo general, menos en los últimos estadios de autooxidación y comparativamente a baja temperatura; muchos investigadores todavía sostienen la idea que los peróxidos cíclicos se forman por saturación de las dobles ligaduras y la mayoría de los que aceptan la teoría de los hidropéroxidos como la principal, hacen algunas reservas para condiciones particulares. Incluso la iniciación de la reacción en cadena se cree que co-

ciencia por la adición directa de una molécula de oxígeno en la doble ligadura, quizá en una forma parecida a la vieja teoría del peróxido, para proveer el radical libre necesario para atacar en el grupo metilénico α :



La rotación del birradical formado en esta forma, a la configuración "trans", mas estable, nos provee una de las muchas posibles explicaciones de la isomerización geométrica que ocurre durante la oxidación.-

Muchos trabajos analíticos se han realizado (45), tratando de demostrar que una segunda molécula de oxígeno puede atacar la molécula del linoleato, para formar un peróxido cíclico, por adición 1:4 en el nonhidroperoxido, después de lo cual la dimerización o polimerización, puede ocurrir.-



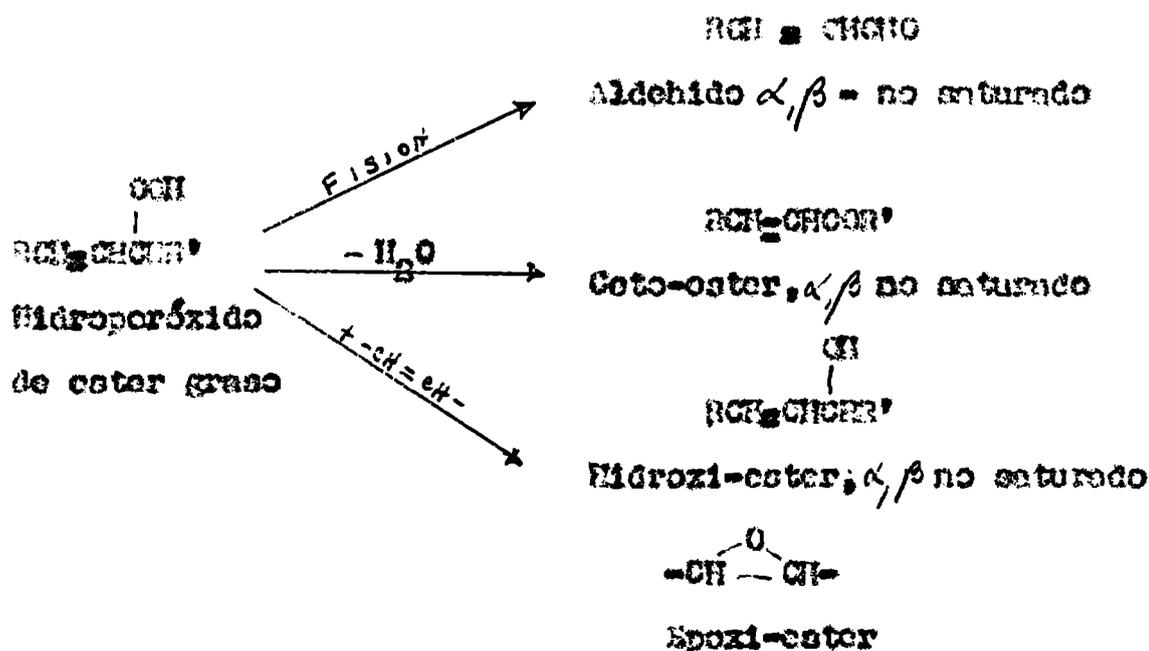
En los estados más avanzados de la autooxidación y a altas temperaturas, desaparece rápidamente la no saturación y la cuestión de si el ataque del oxígeno ha sido al grupo metilénico α , seguido por la reacción de los hidroperóxidos con dobles ligaduras o directamente a las dobles ligaduras, es mas bien un asunto académico.-

Ellis (46) quien estudió la autooxidación de los ácidos oleico y eláidico en papel de filtro a 50°C, encontró que el producto de la reacción bajo esas condiciones eran estos ácidos α/β no saturados, los cuales subsiguientemente se dimerizaban. Estos ácidos pueden ser derivados de los hidroperóxidos por pérdida de una molécula de H_2O .-

En vista de lo complicado de estas reacciones, durante los últimos años nuevas técnicas y técnicas se han desarrollado, que han permitido virtualmente separar los

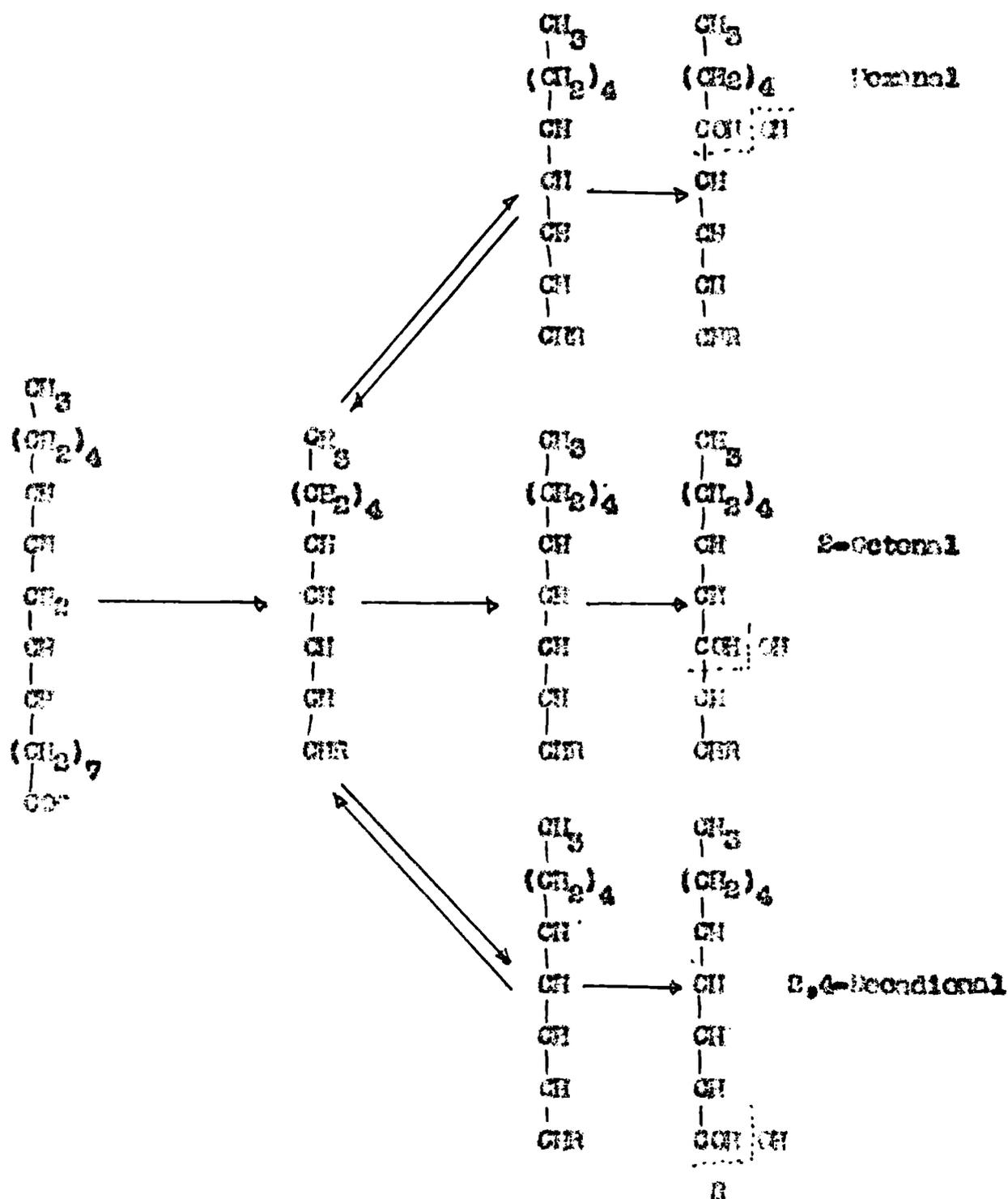
productos oxidados del resto no oxidado, mediante el uso de solventes polares y no polares (47) (48) (49) (50). Otros métodos utilizan el método de Farmer, de destilación molecular, incluyendo procedimientos cromatográficos, cristalización fraccionada con solventes a baja temperatura y ultimamente la precipitación de la porción no-peroxidada de las mezclas de autooxidación, mediante la formación de complejos con la urea (51).-

Descomposición de los hidroperóxidos.- También se ha estudiado intencionalmente en esta última década, la descomposición de los hidroperóxidos grasos por el calor, procurando encontrar en ello, las sustancias responsables del sabor y olor rancios. También se efectuó esta descomposición en presencia de catalizadores metálicos, álcalis y ácidos; encontrándose como resultado una compleja mezcla de productos de degradación, que incluyen, aldehidos, cetonas y alcoholes. Por la acción del calor se produce un aldehído α/β no saturado (52); del cual por pérdida de agua se obtiene el ceto-éster α/β no saturado. También los hidroperóxidos en estas condiciones producen epóxidos y compuestos dihidroxilados, por oxidación directa de la doble ligadura (53):



Existen numerosas evidencias de que muchos de estos productos de descomposición de los hidroperóxidos, especialmente los aldehidos y cetonas α/β no saturados, son los que contribuyen en forma principal para dar a las grasas oxidadas el desagradable olor y sabor que poseen.-

Ultimamente se han aislado diferentes aldehídos de las resacas rancias; debiendo mencionarse especialmente el 2,4,decaional, el 2-octenal y n-hexanal, los cuales fueron obtenidos cristalizados de la fracción volátil del aceite de algodón oxidado a 70°C (54). Estas sustancias parecen ser producidas, esto como explicación eminentemente teórica, de los hidroperóxidos lineales isoméricos, predichos por la teoría de la autooxidación α -metilénica.-



Por último diremos que actualmente se considera que el aroma a rancio que tiene la resaca almoco-

nada al calor, no es debido a su contenido en trimetilamina; sino por el contrario a la presencia de productos no nitrogenados, resultantes de la oxidación de los ácidos grasos no saturados. Entre estos productos los más notables son los compuestos carbonílicos α, β no saturados. Estos productos carbonílicos agregados a leche fresca en una proporción menor a 1 p.p.m. reproducen el aroma oxidado de la manteca.-



CAPITULO II

PART E II

FACTORES QUE AFECTAN EL DESARROLLO DE LA RANCIDEZ

Antes de considerar los diversos factores que intervienen en el desarrollo de la rancidez, diremos algunas palabras respecto a lo que se llama Período de inducción de una grasa. Se designa así al tiempo que una grasa permanece inalterada, es decir el lapso que va desde la fabricación de ella, hasta que comienza a enranciarse. Y este último término podría también designarse como "oxidarse", por cuanto la oxidación activa de una grasa, siempre va precedida por este período de inducción al finalizar el cual, la reacción ya se desenvuelve en forma abierta y rápida. Los diversos métodos que existen para determinar el período de inducción se verán en el capítulo siguiente. Y si hemos hecho esta aclaración es porque los factores que afectan el desarrollo de la rancidez, afectan también el período de inducción de una grasa.-

En este capítulo diremos que existen sustancias químicas diversas, factores físicos y agentes biológicos que favorecen el desarrollo de la oxidación de las sustancias grasas, son catalizadores positivos de ella, en consecuencia acortan el período de inducción. Así como también están aquellas que alargan este período y disminuyen la posibilidad de oxidación de las materias grasas. En este capítulo nos referiremos a los primeros, que son aquellas que van en contra de la buena conservación de este grupo de alimentos y son llamadas comúnmente "pro-oxidantes" (55), (56), (57), (58).-

metales: Debemos mencionar en primer lugar los metales que tantas veces hacen sentir su efecto acelerador en el desarrollo de la rancidez (59). Pequeñas trazas de metales, especialmente el cobre, actúan como poderosos catalizadores cuando se encuentran en contacto con grasas; esto se ha comprobado fácilmente cuando se prepara una misma grasa en un recipiente metálico y en uno de vidrio, pues se observa que la rancidez sobreviene mu-

cho más rápidamente en la muestra que ha estado en contacto con las paredes de metal.-

Es interesante citar un trabajo realizado sobre jabones en cuya composición no entraban casi ácidos grasos no saturados y los cuales se enranciaban muy rápidamente (60); fué por eso que se pensó en la presencia de catalizadores fuertemente positivos. Investigando las causas de ello, trabajando en diferentes condiciones, se comprobó que la causa de esa rancidez era la presencia de refugios trópicos de bronce de la matriz en la cual se hacían las pastillas de jabón. Además se comprobó que la rancidez se producía especialmente en uno de los componentes del jabón, la manteca de Mowrah que era el que contenía un cierto porcentaje de ácidos grasos no saturados.-

Los estudios realizados en este aspecto prueban que los metales que actúan como mejores catalizadores son Vanadio, Cobre, Hierro, Niquel y Manganeso. Y luego como menos activos el Sodio y Aluminio. Se han hecho diferentes ensayos agregando pequeñas cantidades de metales finamente divididos a grasas de distinto tipo y fué así como se obtuvo la clasificación anterior.-

Muy pequeñas cantidades de cobre y de hierro, favorecen grandemente el desarrollo de aromas rancios en grasas susceptibles. Cantidades menores de 1 p.p.m. (mucho menos en el caso del cobre), producen apreciables efectos en aceites refinados (61). Por esta razón es que se cuidan los mínimos detalles para evitar la contaminación metálica durante el proceso de elaboración de las grasas y se procura el uso de agentes químicos que inactivan los restos metálicos y proveen la necesaria estabilidad. Una de las últimas sustancias usadas en este sentido, con gran resultado, ha sido el inositol-hexafosfato (62), el cual es el constituyente natural de algunos cereales y

aceites de semillas. Es posible que esta substancia actúe como un sinérgico, favoreciendo la acción de los inhibidores de tipo fó-
fófico; los cuales de por sí no están en condiciones de inactivar
los pro-oxidantes metálicos (63).-

Todo esto nos demuestra la importancia que tiene en la conservación de una grasa evitar la utilización
de aparatos metálicos en su preparación así como también los reci-
pientes de esa misma naturaleza, para su envaso.-

Luz: La luz ejerce también un efecto acelerador el cual fué
prematamente reconocido, sin embargo una descripción de sus ef-
ectos cuantitativos no fué realizada hasta hace muy poco tiempo
(64).-

Antes de referirnos a su efecto debemo-
s decir que el mismo está muy relacionado con la presencia de
oxígeno (65). Es por ello que la oxidación de una grasa, por ejem-
plo, es acelerada aun por una débil luz artificial y una vez que
la oxidación ha comenzado, podemos retirar con fuente luminosa
que ella continúa, dependiendo en esas condiciones solamente de
la cantidad de oxígeno presente.-

Los aceites no son almacenados en va-
cío o en presencia de nitrógeno o hidrógeno, no se vuelven rancios
excepto cuando ellos contienen oxígeno disuelto. Esto prueba que
no hay rancidez en ausencia absoluta de oxígeno, aunque existan o-
tros factores favorables, como ser luz, metales etc. y lo mismo oc-
urre en sentido inverso; no hay rancidez en ausencia absoluta de
luz, aun existiendo los factores mencionados. Pero en cambio se
puede afirmar que si tenemos una materia grasa en presencia de luz
y oxígeno, entonces aun aquellos factores que solos no ejercen co-
ci ninguna influencia, ahora son poderosos catalizadores.-

Los trabajos realizados prueban que la
longitud de onda de la luz que mejor cataliza la rancidez es de
4900 A° y que las de mayor longitud son menos activas. Además fué
probado por Cox que la exclusión de esas longitudes de onda sobre

una grasa es más efectiva para prevenir la rancidez, que el agregado de un antioxidante en concentración por encima de 0.1% (66). Este autor ha obtenido algunos resultados interesantes con grasas expuestas a la luz y al aire, comparándolas con otras grasas protegidas de la luz; empleando como control la reacción de Kreis y el índice de peróxidos (67).-

Coe estableció que los aceites de semilla de algodón y maíz protegidos con una cubierta gris, pero expuestos al aire húmedo desarrollan un cierto valor de peróxidos, aunque la rancidez organoléptica se encuentra demorada. In posterior exposición de estos aceites a la luz causó el desarrollo de la rancidez en igual forma que si se tratara de un aceite fresco.-

Este autor realizó sus experiencias colocando distintas muestras del mismo aceite, en diferentes recipientes y dejando unas expuestas a la luz y otras no. Estas últimas permanecieron libres de rancidez hasta después de 7 meses, aunque el valor de peróxidos en ese tiempo fué superior al de las muestras que estuvieron en contacto con la luz y que ya se habían enranciado hacía cierto tiempo. La explicación puede ser dada en el sentido que los peróxidos de las muestras rancias son descompuestos fotoquímicamente para dar las sustancias responsables del aroma desagradable, pero que no son acusadas por la reacción de Kreis.-

Greenbank y Nola (68) estudiaron el efecto acelerador de la luz de diferentes partes del espectro visible sobre la oxidación del aceite de semilla de algodón y encontraron que el mayor efecto se consigue a la altura de la banda naranja. El azul fué el color menos efectivo (69).-

Dolliciano (70) midió los peróxidos de una grasa que es sometida a distintas intensidades de luz y comprobó el aumento notable que sufren ellos cuando la luz actúa de cierta potencia. Un ejemplo que cita este autor es:

Con mucha luz: N° de peróxidos = 25

Con poca luz: N° de peróxidos = 2

Con ausencia de luz: N° de peróxidos < 0.5

La exposición duró 40^h horas y la valoración de peróxidos se realizó después de ese tiempo. Esto se completó con pruebas efectuadas a la luz solar y a la luz ultravioleta, que es aun más activa. Las únicas longitudes de onda incapaces de producir rancidez, son las comprendidas entre 4,900 y 5,800 Å. Y precisamente estas longitudes son las únicas que pasan a través de un papel colofón verde clorófila; es por ello que si colocamos una grasa envuelta en ese tipo de papel o en un papel negro que no permite pasar ninguna radiación, veremos que aun sometidas a las peores condiciones, esas grasas no se vuelven rancias, aunque se presenten muy oxidadas.-

Además, dentro de ese límite amplio que hemos citado de longitudes de onda, el óptimo para que no se produzca rancidez es de 5461 Å que es la que corresponde al color verde.-

Es esta la causa que revela la importancia de la envoltura en los productos grasos o en aquellos que contienen una sustancia grasa componente, en lo que respecta a la luz; ya que por supuesto el papel deberá reunir otra serie de condiciones para que la grasa no se perjudique, entre las cuales las principales serían: ausencia de partículas sólidas, de sales, de productos solubles en agua y en fin, estar en buenas condiciones de higiene. Los papeles que generalmente reúnen estos requisitos son, aparte del papel de pergamino, los transparentes de celulosa.-

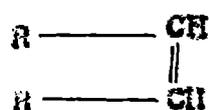
Respecto al color del papel que ha de utilizarse con estos fines, se ha hecho una larga serie de estudios que no vamos a entrar a considerar pues saldría de los límites de este trabajo, pero es interesante citar este hecho pues se trata de un asunto importante para la buena conservación de una grasa.-

Las extensas investigaciones de Coe (71) con referencia a la influencia de la luz en la rancidez de las grasas, ha probado que el color verde, si bien no es un antioxidante químico, como los que luego vamos a mencionar, actúa favoreciendo la buena conservación de las grasas y aceites envueltos en materiales de este color. Ya dijimos que las grasas absorben luz en los extremos ultravioleta y azul del espectro y en menor medida del extremo rojo; de allí que la exclusión de tales longitudes de onda retarda la formación de rancidez. No todos los tintos de verde son igualmente efectivos, el mejor color del papel a usarse debe tener un tinte aproximadamente igual al de la clorofila o espad verde (72).-

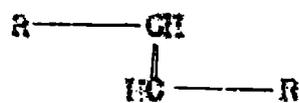
Aparte del color de los envases para detener los efectos oxidativos de la luz, podemos mencionar algunas sustancias que, cuando son agregadas a los aceites o grasas son efectivas en protegerlos contra la luz. Sin embargo esta protección en ningún caso fué tan buena como la que se provee por la total exclusión de la luz o su parcial exclusión por el uso de vidrios coloreados (73).-

Ácidos grasos libres: Estas sustancias tienen también mucho que ver en la aparición de rancidez en una grasa. La cantidad, la estructura y la no saturación de los ácidos grasos es importante considerarlos al estudiar la rancidez.-

Respecto a la configuración de los ácidos grasos no saturados mostró Ruffel (74) que el ácido oléico, tiene poca tendencia a volverse rancio, mientras que bajo las mismas condiciones, el ácido oleico rápidamente se torna rancio. El ácido erúico también muy lentamente desarrolla rancidez. Esto es atribuido actualmente a la disposición "cis" de la molécula del ácido oleico:



Fácilmente oxidable



Difícilmente oxidable

Además los ácidos grasos de cadena

más larga y menos saturada, como por ejemplo el linoléico, son catalizadores positivos de la rancidez. Es por ello que aceites como el de coco que está constituido casi completamente por ácidos grasos saturados, son difícilmente ranciables.-

Los ácidos polinsaturados se autooxidan muy rápidamente; y aunque ellos se encuentran presentes en muy pequeñas cantidades en los alimentos, incrementan mucho la susceptibilidad de los grasos a la oxidación. Sin embargo cuando existen en estas sustancias, apreciables cantidades de ácidos conteniendo 3 ó más dobles ligaduras, ellos pueden ser considerados como los responsables de la aparición de los aromas rancios, fenómeno que se conoce con el nombre de "reversión".-

El mecanismo por el cual estos aromas son producidos en los aceites de animales marinos y aceites vegetales, como el de nabo y de soja, aun no ha sido bien entendido. Pero la opinión de los autores en general es que el mismo se debe principalmente a la autooxidación del ácido linoléico y otros ácidos grasos altamente no saturados (75). A pesar de que Sims (76) en uno de sus trabajos, considera que no existe ninguna relación entre la estabilidad del aroma del aceite de soja hidrogenado y su estabilidad a la autooxidación o su contenido en glicéridos polinsaturados.-

Por último una gran cantidad de ácidos grasos libres también favorece la rancidez.-

Hongos, levaduras y bacterias: Producción ranciosa en grasas. Especialmente en la manteca y margarina, que son aquellas grasas que contienen agua y proteínas. En general en las grasas puras secas, los microorganismos son incapaces de permanecer vivos. Además, existen numerosas enzimas lipolíticas, elaboradas por ciertas bacterias, que en presencia de proteínas o carbohidratos, o en mezclas de ambos, causan la rotura de las grasas con producción de ácidos grasos y glicerol (77).-

Rosenitz, Vlascova y Livschitz (78), co-

tablecen que muchas bacterias que actúan sobre las grasas, causan primeramente la ruptura, aunque otras actúan directamente oxidando la grasa como ocurre con el *Bacterium lactis aerogenos*.-

El *Penicillium de Stokes* colocado en gelatina conteniendo aceite de coco produce varias metil-esteras, principalmente metil-amil-estera, junto con algunos alcoholes secundarios y ésteres la acción es más fuerte en presencia de ácido caprílico y declina cuando aumenta el peso molecular de los ácidos grasos.-

Davies (79) distingue dos clases de hongos en las grasas: Hongos "secos" tales como: *Penicillia*, *Aspergillus* y *Monilia*, los cuales no contienen lipasa y no causan hidrólisis y hongos "ácidos", como el *Oidia* y *Oöspora*, los cuales solamente liberan ácidos grasos.-

El célebre pintor Rembrand descubrió en sus cuadros ciertas manchas color púrpura debidas al aceite utilizando en los mismos. Efectivamente en las grasas suelen aparecer estas manchas y se cree que son producidas por la difusión de pigmentos solubles en grasas salidas de ciertas bacterias. Según Jensen y Grettie (80) la coloración púrpura puede aparecer a causa de:

a) Cierta producción de amarillo debido a un coco no patogénico y a algunas clases de bacilo amarillo. Este color aumenta bien en las grasas sólidas a temperaturas entre 7° C y 37° C.-

b) El pigmento amarillo formado por estas bacterias se difunde lentamente dentro del sustrato.-

c) Cuando las grasas se vuelven rancias y el peróxido desaparece, el pigmento toma un color verdoso, el cual en unas semanas se torna azul.-

Además de esto otros microbios, bacilos, levaduras y hongos son capaces de producir manchas rojizas en las grasas. Cuando se trata de grasas completamente puras y secas, esto no ocurre.-

En la composición de las grasas naturales además de los glicéridos grasos se encuentran pequeñas cantidades de: alcoholes de altos pesos moleculares, hidrocarburos, residuos de proteínas y otras materias nitrogenadas, fosfatidos y pigmentos carotenoides; todos los cuales no pueden ser extraídos por ningún proceso de refinamiento. Algunos de estos constituyentes intervienen en las reacciones y contribuyen al enranciamiento de las grasas. Por eso su presencia muchas veces obra para confundir el estudio de este proceso, ya que no solo contribuyen a formar sustancias odoríferas, sino que también actúan como catalizadores positivos o negativos de la reacción.-

Sin embargo Jensen y Grettie han estudiado los efectos que los microorganismos producen en las grasas, llegando a la conclusión que parecen ser de cuatro clases diferentes: a) rancidez oxidativa; b) hidrólisis; c) escabado; d) cambios de aroma debidos a la aparición de varios productos volátiles.-

Parece por esto que la rancidez debida a microorganismos es la más fuerte que se puede producir, especialmente en productos tales como la manteca, margarina, aceite de coco, tocino, etc.-

Ahora bien antes de terminar este punto es conveniente aclarar que en la manteca se distinguen dos tipos de rancidez: a) La que se produce en las capas superficiales de ella, al sacarla de los congeladores y colocarla en el mercado. Se debe posiblemente a la acción combinada de la luz y ciertos mohos. b) La alteración lenta y progresiva que se desarrolla en las cámaras frigoríficas y que se traduce en la pérdida del aroma y el sabor.-

Si las mantecas han sido preparadas con cremas maduras, se conservan mejor que si han sido hechas con cremas dulces; lo que probaría que el ácido láctico es un buen conservador de ellas. En cambio como ya dijimos antes, los

restos metálicos que puedan quedar de la fabricación de la manteca favorecen la producción de rancidez.-

Estos problemas han sido muy bien resueltos por Hilditch (81) quien termina recomendando que para las grasas cocostibles que deben ser almacenadas por un cierto tiempo, antes de ser consumidas, debe tenerse la precaución de hacerlas estériles, no exponerlas a la contaminación de organismos dañosos y excluir por completo el contacto con la atmósfera.-

Otros autores han propuesto para evitar este tipo de deterioración, las siguientes medidas (82):

- 1.- Llevar la temperatura de la grasa por encima de los 80-100°C, a fin de destruir el efecto de los microorganismos.-
- 2.- Agregar antioxidantes para evitar la acción del oxígeno del aire.-
- 3.- Agregar sustancias que paraliceen el efecto de los microorganismos.-

Humedad: En los factores que hemos visto hasta ahora, los autores en general están de acuerdo en que son aceleradores de la rancidez; pero en cambio no se han puesto de acuerdo en el papel que desempeña el agua cuando se encuentra presente.-

Así por ejemplo Smith (83) sostiene que las grasas que tienen bajo contenido en humedad se guardan mucho más tiempo que aquellas con alto contenido.-

En cambio Ryan y Marshall (84) sostienen que el agua y la luz tienen muy pequeña influencia en la producción de rancidez. Y así podríamos seguir enumerando una serie de autores que han ido trabajando en el tema y que han hallado resultados contradictorios, como ocurrió con Winkel quien en sus primeras publicaciones consideraba a la humedad como un acelerador de la rancidez, para que en sus últimos trabajos lo descuenta como factor.-

Por último mencionemos las conclusiones

nes a que ha llegado Greenbank y Holt (85) ya que no solo encontraron que una pequeña humedad no acelera la rancidez, sino que por el contrario haciendo pasar vapor de agua a través de la grasa puede ser incrementada la resistencia de la misma contra la rancidez. Pero es de hacer notar que si el calentamiento es prolongado o la cantidad de vapor que se pasa es elevada, la resistencia de la grasa disminuye considerablemente.-

Para explicar todo esto podemos decir que la humedad ejerce efectivamente un efecto retardador sobre la rancidez oxidativa, pudiendo esto ser debido a que en el agua se disuelven las sustancias catalizadoras de la rancidez o porque en presencia de agua la oxidación llega como estado final al de ácido, sin pasar por el característico estado de la rancidez que es el alcohólico. Pero además ya hemos visto que la humedad es indispensable para producir la rancidez hidrolítica.-

Temperatura: También es un efecto acelerador de la rancidez la elevación de la temperatura. Esto se puede comprobar precisamente al final de este trabajo, ya que hemos de utilizar un procedimiento de rancidez acelerada basado justamente en un aumento de temperatura.-

Es muy probable que a este respecto se pueda aplicar la regla que se aplica a las reacciones químicas de que la velocidad se duplica por cada aumento de 10°C en la temperatura. Así se podría calcular la estabilidad de una grasa a una temperatura determinada, conociendo el valor a otra temperatura.-

Ultimamente se han hecho muchos ensayos llamados de horno, en los cuales la rancidez sobreviene por efecto de la elevación de la temperatura (86). También se han estudiado las condiciones de almacenaje de aceites frescos, no expuestos a la luz, y elevando la temperatura (87). Se comprobó que el aceite fué preservado por un año a temperaturas de -13°C hasta 4°C . Por encima de los 4°C , la deterioración aumenta con el aumento de la temperatura. Entre 21° y 26°C la deterioración a los 12 meses



fué muy débil, pero a 30° la conservación del aceite fué de solo 5 meses.-

Lipinas: Respecto a estas factares, ya se ha dicho algo al hablar de los microorganismos. Jensen y Orettie (88) establecen que hay dos tipos importantes de enzimas que causan cambios en las grasas: lipasas y oxidásas. Ciertos microorganismos que producen enzimas de ambos tipos, son los responsables de la aparición de ácidos grasos libres y productos de oxidación.-

Las enzimas pueden ser tanto de origen vegetal como animal y ambas ejercen su acción a temperatura moderada siendo destruidas cuando esta se eleva mucho o cuando se les pone en contacto con ciertas sustancias químicas.-

Se han estudiado algunos vegetales que enteros o en forma de harina, son masticados con mucha facilidad, sin embargo destruyendo las enzimas que contienen, hasta tienen efectos antioxidantes. Así ocurre por ejemplo con el germen de trigo y el aceite extraído del mismo y también con la harina de soja.-

Una de estas enzimas ha sido aislada en su forma cristalina hace algunos pocos años, de la semilla de soja y ha demostrado encontrarse en otras plantas y en algunas bacterias. Esta cataliza en lugar de acelerar la peroxidación de las grasas y ácidos grasos no saturados, únicamente de la forma "cis"; como el linoleico, linolónico y otros ácidos grasos naturales; en cambio no cataliza la peroxidación del oleico ni tampoco de los ácidos de la forma "trans".-

Recientemente Tappol y colaboradores (89) han vuelto a examinar el mecanismo de acción de la catalisis de oxidación del ácido linoleico, por la lipoxidasa de la soja y han llegado a la conclusión que esta reacción no ocurre en cadenas como las reacciones normales de oxidación. Una explicación de esto está dada por el alto coeficiente de extinción observado en la absorción débil conjugada por los peróxidos formados en presencia

de la lipoxidasa. Ellos sugieren la formación en la superficie de la enzima, entre el linoleato y el oxígeno, de un birradical, el cual puede entonces aceptar electrones del antioxidante o reaccionar para dar el hidroperóxido del linoleato.-

Igual interés tienen, desde el punto de vista de la conservación de los alimentos, aunque no están tan bien explicadas; las lipoxidasas de origen animal, que fueron encontradas hace ya algunos años por Banks (90), en los arenques y por Lee (91) en el cerdo. Estas enzimas muestran marcada sensibilidad al calor, pH y contenido salino. Tiempo después Watts y Fong (92) llegan a la conclusión que la actividad catalítica del extracto de músculo de cerdo, era debido a los pigmentos respiratorios, hemoglobina y mioglobina, lo cual también fué confirmado por Reiser (93).-

Khan (94) pretendió demostrar que la lipoxidasa de los arenques contenía dos componentes, uno labil al calor, que era la enzima propiamente dicha, y otro estable al calor, que era el activador. Sin embargo los últimos trabajos sobre este asunto (95) parecen indicar que no hay enzimas presente en esos extractos y que la parte labil al calor es un derivado de la hemoglobina y mioglobina presentes. Pero aun faltan muchas cosas por aclarar respecto a la verdadera y completa explicación de estas reacciones.-

Influencia de la dieta: A menudo puede variar la composición de la grasa de los animales y por consiguiente varía también su capacidad de resistir el desarrollo de la rancidez. Y ello es debido a varios factores entre los cuales se cuentan la dieta del animal y el grado de crecimiento. Esta influencia puede tener como consecuencia un cambio en la composición de los ácidos grasos de la grasa o un cambio en el contenido de antioxidantes naturales. Este último es mucho más importante que el anterior. Por ejemplo la grasa de la leche de vacas alimentadas con pastos de verano, posee un contenido en ácidos

grasos no saturados mucho mayor que la leche de aquellas vacas que se alimentan con pastos de invierno. Sin embargo la leche de verano es más resistente al desarrollo de aromas rancios.-

Si se alimentan puercos con aceites ricos en ácidos grasos no saturados, se observa que la acumulación de grasa en los tejidos es sumamente blanda, la cual generalmente es muy susceptible a la oxidación. Sin embargo no ocurre así y ello probablemente es debido a que la dieta ha provisto también los antioxidantes naturales que los aceites contenían (96).-

El grado de variación de la composición de los ácidos grasos de la grasa del cuerpo de los animales, en relación con la influencia de la dieta, difiere en mucho de las distintas especies animales, de manera que no podemos generalizar mucho en estas cuestiones (97).-

Radiaciones iónicas: Algunas evidencias tras la más moderna literatura en el sentido que las radiaciones iónicas, producen la peroxidación de las grasas de los tejidos de animales vivos que son sometidos a ellas. Aunque esto ocurre en muy pequeña proporción, el hecho llamó mucho la atención por la circunstancia que esas mismas radiaciones producían la inactivación de muchas enzimas de los tejidos y ello es un campo interesante para la conservación de los alimentos. Así se pensó entonces en esterilizar alimentos mediante el uso de corrientes electrónicas, rayos X y radiaciones α de los productos radiactivos de la pila atómica. Este proceso es en la actualidad objeto de numerosos estudios, sobre todo en los E. E. U. U.-

La dificultad más grande para aplicar este método de esterilización, son precisamente las reacciones de oxidación que se producen en el material irradiado, las cuales causan la rápida destrucción de constituyentes susceptibles, como son pigmentos, vitaminas, etc. y desarrollan aromas rancios. La irradiación de manteca con electrones, lleva a la casi completa desaparición del período de inducción (98).-

Actualmente se está tratando de efectuar las irradiaciones a baja temperatura y en ausencia completa de oxígeno, pues estos son dos factores importantísimos para el desarrollo de la rancidez.-

Pero en este campo es necesario un largo período de investigaciones cuidadosas, con el objeto de eliminar todos los factores adversos que tiene esta práctica y dejar claramente establecidas sus ventajas.-

-----0-----

CAPITULO II

PARTE III

MÉTODOS PARA ESTABLECER LA PUREZA DE LAS MATERIAS GRASAS

Al comienzo de nuestra exposición dijimos algo acerca de la dificultad que se presenta en la determinación del estado rancio, y ello precisamente se debe a que no existe ningún método adecuado para este objeto; y si por ejemplo, el índice de peróxidos sería el más conveniente, nos encontramos con la dificultad de que los distintos autores no se han puesto de acuerdo acerca de cual es el valor que presenta encontrarnos frente a una grasa rancia.-

Naturalmente que desde tiempos inmemoriales existió el criterio organoléptico, como método simple y de fácil acceso para determinar la rancidez. Y es triste reconocer, ya que esto va en contra de la investigación en el campo de la química, que aun hoy, el criterio más acertado para reconocer una grasa rancia es el olfato y gusto de una persona especializada; esto por supuesto con todas las reservas que presupone una apreciación personal.-

Esto lo expresamos luego de consultar la abundantísima bibliografía que existe al respecto y después de encontrarnos con criterios tan dispares como los que a continuación transcribimos:

"La prueba organoléptica es un criterio que debe abandonarse cuando se quiere estudiar la marcha progresiva de un proceso de enranciamiento. Por el contrario son seguras las conclusiones que se derivan aplicando las reacciones para el reconocimiento del estado rancio que han sido primeramente propuestas por A. Schmid y H. Kreis y luego por T.L.V. Follenberg" (99).

"El ensayo organoléptico es únicamente de algún valor para determinar la rancidez en una materia grasa" (100).-

Aparte de este criterio volvemos a citar la determinación del número de peróxido que es el método usado oficialmente en E.E.U.U. y Reino Unido, con tablas convencionales para cada tipo de materia grasa, a las cuales ellos se ajustan.

Aclarando que esa determinación debe ser hecha siempre por el mismo método, ya que sino se pueden obtener resultados contradictorios.-

Es decir entonces que una oficina especializada en el control bromatológico de materias grasas debería utilizar un método adecuado para determinar el índice de peróxidos, ello acompañado con el criterio de personal adiestrado en el examen organoléptico para poder confeccionar tablas que sirvieran luego para clasificar el material que debe ser consumido por la población. Esta operación será efectuada con materiales perfectamente elaborados de cada uno de los tipos de materias grasas que circulan en el comercio.-

Las dificultades que se les presentan a los investigadores derivan, como bien lo expresa el Dr. Romano Yalour en su trabajo sobre este tema (101); "de la gran variedad de productos derivados de la oxidación de los grasas, que no es posible reconocerlos de una manera general y con una sola reacción". Y agrega el mismo autor:

"Así por ejemplo los peróxidos pueden testarse con el ioduro de potasio (Método de Wheeler); con el 2-7 diaminofluoreno o con sulfato de titanio en medio sulfúrico.-"

"Los oxíácidos se reconocen con difenilcarbazida simétrica disuelta en tetracloroetano.-"

"Los aldehídos se ponen en evidencia por su acción reductora sobre soluciones de sales de plata, con derivados de la anilina (metafenilenediamina) o con fucsina bisulfúrica (reacción de Schiff).-

"El método más importante para el reconocimiento de aldehídos es el de Kreis, basado en el complejo "fenol-aldehído-ácido", conocido con el nombre de "Tríadas de Levine".-

"Las cetonas, según Taufel y Thaler,

"se identifican con aldehído salicílico o con metadinitroben-
"como en presencia de soda caústica".-

Como vemos son numerosas las substan-
cias a investigar y más numerosas aun los métodos propuestos
para hacerlo.-

Para mejor ilustrar este capítulo pe-
saremos a describir los distintos métodos que se han ideado pa-
ra determinar la rancidez de las grasas. Estos métodos no deben
ser confundidos con los que se efectúan para determinar la ap-
titud de los aceites y grasas, para resistir el desarrollo de
la rancidez (122).-

Estos últimos ensayos se realizan a-
colorando la oxidación de la grasa, de tal manera que en un
tiempo relativamente corto, podemos tener la grasa suficiente-
mente enranciada. Es por ello que se conocen con el nombre de:
"ensayos de oxidación acelerada"; mientras que los otros los
llamaremos "ensayos de deterioración".-



I.- ENSAYOS DE EXTRACCIÓN AQUEZADA

1.- Reacción de Mantequilla (123)

Se pesan 30 g. de grasa que se in-
troducen en un vaso de 120 ml con tapa. El mismo se coloca en
una estufa de secado, manteniendo la temperatura constante a
63°, CC.-

El vaso se retira de la misma cada 24
horas, agitando durante 15 segundos y tomando el olor por ver
si se encuentra el producto rancio.-

El tiempo transcurrido hasta que la
grasa se perciba rancia por el olfato, se considera como índi-
co de estabilidad de la misma.-

Es un ensayo empírico que debe considerarse con todas las reservas del caso y las precauciones necesarias para no incurrir en mayores errores que el factor personal.-

2.- Método de Emile y Ebert (104)

Mediante este método se airea en un tubo, un papel de filtro impregnado con la grasa. Los productos resultantes son recogidos con fucsina decolorada (reactivo de Schiff). El tiempo requerido para llevar el reactivo al color rosado es que se toma como índice de la capacidad de conservación de la grasa.-

3.- Método volumétrico de Grettie y Howton (105)

Este método es una modificación del anterior, se trabaja igualmente impregnando papel de filtro con la grasa, calentando con un baño a 100°C y haciendo pasar una corriente de aire a una velocidad de 1-ml por segundo. Los productos arrastrados se recogen en tubos de condensación conteniendo 10 ml de solución 0.01 N de permanganato de potasio. Se agrega un exceso medido de ácido oxálico 2.0M y se titula el mismo con la solución anterior de permanganato.-

4.- Ensayo de Lehnal (106)

Consiste en coagular la grasa en un vaso de precipitación a una temperatura elevada, generalmente 60°C. El ensayo se da por terminado cuando organolépticamente se considera que la grasa está rancia. La capacidad de conservación de la misma, se expresa por el número de días que dura el ensayo, hasta que la misma se ha enranciado.-

5.- Ensayo de estabilidad Swift ó A.O.M. (Active Oxygen Method) (107)

Este método es uno de los más usados en los Estados Unidos y se conoce también por el nombre de sus autores: King, Roseben e Irwin. Se usa bajo la siguiente técnica-

ca: Se coloca grasa en un tubo de ensayo especial y se hace pasar aire a través de ella a una velocidad conocida de tal manera de tenerla siempre saturada con el mismo; manteniendo la temperatura constante en 27°C. La grasa es examinada a intervalos regulares hasta que se produzca un cambio definido en su color. Cuando ello ocurre, se retira del termostato, se toma una alícuota, se disuelve en una mezcla ácido acético-cloroformo, se agrega 1 a 2 ml de solución saturada de yoduro de potasio y un volumen de agua destilada igual al disolvente. Se titula el yodo liberado y se toma el tiempo requerido para que la grasa llegue a un determinado valor de miliequivalentes de peróxidos, que se fijan para cada materia grasa como valor máximo de rancidez.-

Para evitar el factor personal en la parte organoléptica, que siempre es causa de error, se ha pensado en poner un indicador coloreado, que sufra un cambio cuando se llega al punto requerido. Los resultados en este sentido no han sido del todo concluyentes.-

En estos últimos años (193), se ha procurado efectuar una modificación para determinar el punto final de la reacción; es decir, cuando la grasa está rancia; se utiliza para ello la determinación rancimétrica del contenido de peróxidos de la misma, aprovechando el dispositivo especial que el aparato lleva adjunto; en esa forma se elimina el factor personal que está sujeto a errores. Se considera que la muestra está enranciada, cuando el valor de peróxidos sufre un brusco incremento; es decir cuando termina el período de inducción de la misma.-

6.- Método de Ica (109)

Ica ha tratado de simplificar la técnica de King y colaboradores, por cuanto considera que la misma representa métodos complicados y que requirieron una atención muy cuidadosa. Es por ello que propone trabajar con discos de papel impregnados en la grasa, en los cuales esta última se

encontrada extendida en una capa bien fina y es fácil de oxidar.-

La técnica consiste en colocar los papeles con la grasa colgando de la tapa de un frasco especial, todo dentro de la estufa a temperatura constante. A un tiempo conveniente se retira uno de los frascos y el papel se pasa a un tubo de ensayo Pirox; se agrega yoduro de potasio en polvo y una mezcla de ácido acético glacial y cloroformo. Se valora el yodo liberado en la forma habitual con tiosulfato.-

7.- Método de Barcroft-Warburg (110)

El método en sí es similar al método del oxígeno activo, sin embargo existe una notoria diferencia en el aparato que se propone, que es precisamente el de Barcroft Warburg. El mismo consiste, de acuerdo a la descripción de For-kins (111) en un manómetro provisto de vasos neoviales y un equipo de calentamiento, que es un baño de agua con un eficiente termostato. Además lleva un agitador y un mecanismo de agitación para los vasos.-

Este método fue muy usado en un principio en Química Biológica para estudiar reacciones de autooxidación de diferentes tipos. Más tarde fue aplicado para estudiar la rancidez de las materias grasas y demostró ser altamente eficiente a estos fines.-

Consiste en calentar la grasa a una temperatura determinada y medir el oxígeno absorbido. El tiempo transcurrido hasta que ella se torne rancia, es el ensayo de estabilidad de la misma. Para la grasa de cerdo, de acuerdo a los ensayos de Nagy y colaboradores (112) este método se ajusta más a la realidad de lo que le ocurre a la grasa en el ambiente, que el método A.C.H.-

II.- ENSAYOS DE ESTABILIDAD

1.- Reacción de Inoué y Stahlman (113)

Ha sido uno de los primeros en ensayar-

se y practicamente no tiene otro valor que su antigüedad (año 1890-). Se funda en la acción del ácido sulfúrico o nítrico sobre los distintos aléhdidos que se forman en las grasas rncias, dando coloraciones diversas.-

2.- Método de Issoglio (114)

consiste en destilar por arrastre con vapor de agua los productos volátiles contenidos en 20 g. de grasa exactamente pesados. Se toman 10 ml del destilado a los cuales se añaden 50 ml de permanganato de potasio 0.01 N y se titula el permanganato que no se ha combinado con ácido oxálico 0.01 N en medio sulfúrico.-

Se efectúa una operación similar, pero sin el aceite, por ver si el agua reduce el permanganato.-

Se denomina coeficiente de oxidación, el número de miligramos de oxígeno necesarios para oxidar las partes volátiles de 100 g. de grasa.-

Representando por O el coeficiente de oxidación; por N los ml de permanganato gastados en el ensayo con la muestra; por n los gastados en el ensayo en blanco y por P el peso de la grasa, tenemos:

$$O = \frac{(N-n) \cdot 80}{P}$$

3.- Modificación de Kerr (115)

Según este autor no es necesaria la destilación por arrastre, sino que basta con calentar a baño maría 25 g. de la grasa con 100 ml de agua durante dos horas; filtrando luego la parte acuosa y llevando a 100 ml con agua destilada. Se toman 10 ml de esta solución y se titula operando según el método original.-

Sin embargo esta modificación no puede aplicarse para todos los casos, como bien lo demuestra el mismo Issoglio para el caso de la manteca; pues existen sustancias solubles en agua que reducen el permanganato y conducen a erro-

res.-

4.- Reacción de Kreis (116)

Es quizá el ensayo que ha sido más usado a través del tiempo y el que más modificaciones ha sufrido; según el trabajo original la reacción se efectúa colocando 2 ml de la grasa fundida en un tubo de ensayo y se le agregan 2 ml de ácido clorhídrico concentrado y 2 ml de solución eterea al 0.1% de floroglucinol; agitando vigorosamente. Si la grasa se encuentra rancia, al dejar el tubo en reposo, debe aparecer una coloración roja o rosada; cuya intensidad da una idea, aunque muy burda del grado de rancidez.-

Kreis atribuyó la reacción a la presencia de un aldehído o una cetona. Más tarde Fowick (117) demostró que la substancia responsable del color era el epihidrinaldehído; que según lo considera Tyke (118) es producido a partir del ácido oleico, que comienza por dar un peróxido doble, para luego romperse y formar por un lado alcoholido epifílico, (que es el aldehído medio del ácido pinálico) y por otro, ácido acroleico β -carboxílico, que se convierte por sí solo en el epihidrinaldehído.-

Este método tal como fuera propuesto por Kreis, fué muy criticado. Sin embargo, como hemos dicho antes, ha sufrido numerosas modificaciones que lo han hecho de utilidad en la búsqueda de la rancidez por las oficinas encargadas de ello.-

5.- Modificación de Ferr (119)

En un tubo de ensayo (de 13.4 x 2.3 cm. se vierten 10 ml de la grasa fundida, se añaden 10 ml de ácido clorhídrico concentrado, se tapa con un tapón de goma y se agita vigorosamente durante 30 segundos. Se adicionan 10 ml de la solución eterea al 0.1% de floroglucinol, se tapa y se agita vigorosamente durante otros 30 segundos. Se deja en reposo y se observa el color. Si la grasa estuviese rancia, la capa déica

tomaría un color rojo o rosado.-

Para hacerla semicuantitativa, puede diluirse la grasa con querosene con cantidades progresivamente mayores, hasta que continúe dando el color rosado. Debe descartarse el color anaranjado o amarillo que no es signo de rancidez.-

6.- Modificación de Tufford, Sadler y Russov (120)

En un tubo de ensayo se coloca 1 g. de la grasa fundida y 1 ml de ácido clorhídrico concentrado, cuidando de no humedecer las paredes del tubo. Luego se introduce en el mismo una mata de algodón cuya parte inferior esté humedecida con 1 ml de floroglucinol al 1% en etar y con 10 gotas de ácido clorhídrico al 20%. Se mezcla la grasa con el ácido con un movimiento suave, cuidando que el líquido no calpique el algodón. Luego de 1 a 2 minutos de con agitación, se calienta el tubo a baño maría a una temperatura que no exceda los 60°. La presencia de epihidrinaldéhidó se constata por la aparición de una mancha roja en el algodón.-

7.- Modificación de Frohden (121)

Este investigador efectúa la reacción mezclando partes iguales de la muestra y ácido clorhídrico concentrado en un micro crisol, el cual cubre con un disco de papel de filtro humedecido con una solución de floroglucinol al 0.1% en etanol y unas gotas de ácido clorhídrico al 20%. Al calentar ligeramente el crisol, en el caso que la grasa esté rancia, aparece en el papel una coloración roja definida.-

8.- Modificación de Ica (122)

3 g. de la grasa se disuelven en 6 ml de benzol; se agregan 3 ml de ácido clorhídrico concentrado y se agita fuertemente durante 1 minuto. A esta mezcla se añaden 5 gotas de solución de floroglucinol al 5% en alcohol y se agita nuevamente durante 1 minuto. Se centrifuga, separando aproximadamente 2 ml de la capa acuosa, que se colocan en la cubota de vidrio del tintómetro de Lovibond y se observa la coloración.-

9.- Modificación de Aas (123)

Se utiliza para los ensos que la reacción deba efectuarse con grasas no saturadas. Se realiza tomando una parte de grasa y una parte de ácido clorhídrico concentrado y agitando durante 30 segundos. Se adiciona una parte de solución alcohólica de floroglucinol al 0.5% y se agita otra vez por 30 segundos. Se añaden tres partes de éter etílico y se agita durante el mismo tiempo; se deja en reposo durante cuatro minutos y se toma la capa inferior que está formada por una mezcla de ácido clorhídrico, alcohol y éter, y que se encontrará coloreada de rojo. Este líquido se coloca en el tintómetro de Rosenheim-Lichter y los resultados se expresan en unidades Lovitond. La cifra obtenida representa el llamado índice de Kreis. Cuando esta cifra es superior a 10, se diluye la capa coloreada con agua y se calcula su verdadero valor en base a esa dilución.-

10.- Reacción de Frenken (124)

En un papel de filtro se coloca una gota del reactivo de Frenken; que se prepara disolviendo 0.1 g de 2-7-dimetilfluoreno en 5 ml de ácido acético glacinal y añadiéndole luego 5 mg de hexina. Sobre el mismo papel se coloca una pequeña cantidad de la muestra, la cual, en caso de encontrarse rancia, en virtud de los peróxidos que contiene, dará un producto de color azul y naturaleza quinoido.-

11.- Reacción de Stann (125)

Se utiliza para efectuar esta reacción el reactivo que su autor propone y que consiste en una solución de 0.1 g de difenilcarbazida en 10 ml de aceite de vaselina.-

5 gotas de este reactivo se mezclan con unas 10 gotas de la grasa fundida y se calientan durante 3 minutos. Si la muestra está en trance de volverse rancia en poco tiempo, aunque en el momento se encuentre normal, dará con el reactivo una coloración roja.-

12.- Modificación de Kormaczy (126)

Este investigador propone utilizar te-

tetracloroetano o bien tetracloruro de carbono, en lugar de la vasolina líquida. Luego compara las coloraciones obtenidas con soluciones testigo preparadas con Bordeaux S.-

13.- Reacción de Fellenberg (127)

Se utiliza un reactivo que se prepara disolviendo 5 g de fucsina en 800 ml de agua, a los cuales se añaden 12 g de hiposulfito de sodio y 100 ml de ácido clorhídrico concentrado; se completa el litro con agua destilada, dejándose en reposo durante un día.-

Para efectuar la reacción se toma 1 ml de la grasa derretida y se disuelve en 1 ml de éter de petróleo, agregando luego 1 ó 2 ml del reactivo anterior. Si la grasa se encuentra rancia, el reactivo se colorea intensamente en rojo. Si el color es débil, conviene probar el olor y sabor del producto.-

14.- Reacción de Tüffel y Thaler (128)

En un balón de destilación se colocan 50 a 60 g de grasa, 150 ml de agua destilada y 1 ml de solución de cloruro férrico. Se destila recogiendo 25 a 30 ml en una probeta con tapa. Se añaden 0.4 g de aldehído salicílico y se agita vigorosamente durante 3 minutos. Se centrifuga, se decanta con precaución y se separa la parte acuosa hasta dejar un volumen de unos 4 ml. Se vuelve a agitar y se añaden a la emulsión formada 2 ml de ácido sulfúrico concentrado; se agita y se deja en reposo.-

Si la grasa se encuentra enranciada, la capa alcohólica que ocupa la parte superior toma un color que va desde el rosado al rojo intenso, de acuerdo al grado de rancidez; la capa inferior queda turbia lechosa. En ausencia de rancidez la coloración de la capa superior es amarilla.-

15.- Reacción de Vitulencia y Faresca (129)

Se funden unos 10 g de grasa en un tubo de ensayo grande, a los cuales se agregan 5 gotas de solución de hemoglobina al 3%, 10 gotas de tintura de ginseng al 5% y 10 ml de agua destilada o solución saturada de cloruro de sodio.

Si se produce de inmediato una coloración azul más o menos intensa, queda demostrada la presencia de oxígeno labil y por consiguiente se trata de una grasa rancia. Si la grasa está muy poco enranciada, la coloración aparece muy débil; entonces, conviene agregar a la mezcla 10 ml de alcohol etílico, que disuelve los productos de oxidación y la coloración se hace más intensa.-

16.- Reacción de la nercleina (130)

En un tubo de ensayo se colocan 1 ó 2 gotas de la grasa y 1 gota de agua oxigenada al 3%. Luego de transcurridos 5 minutos se añaden 5 ml de ácido clorhídrico y 5 ml de solución etérea de floroglucina. Cuando la reacción es positiva, aparece en el líquido un tinte rojo oscuro, que al espectro presenta una banda de absorción muy nota en el verde.-

17.- Reacción de Inyies (131)

Aprovecha la oxidación del azul de metileno, proveniente producido por H_2 producida por las oxidases presentes en la grasa rancia. Esta reacción en su relación con el período de inducción de las grasas, fué puntualizada primero por Greenbank y Holm (132), quienes lo hicieron en base a un ensayo de estabilidad fotoeléctrico.-

Las posibilidades de adaptar este método a determinaciones de rutina para comprobar el poder de conservación de las grasas, fué empleado por Royce (133) incluyendo algunas modificaciones al aparato empleado.-

18.- Reacción del sulfato de titanio (134)

Permite investigar los peróxidos formados en una grasa, por agregado a la misma de una solución de sulfato de titanio en ácido sulfúrico diluido. Se centrifuga y en caso de encontrarse la grasa rancia, la fase acuosa se colorea de amarillo. El titanio sufre una oxidación, pasando de tri a pentavalente.-

19.- Reacción de Sulix (135)

Investiga los peróxidos de las grasas rancias, agregando a la misma una solución alcohólica de yoduro de potasio y reconociendo el yodo liberado por adición de engrudo de almidón.-

En un Erlenmeyer se introduce 1 g. de la grasa en ensayo y se disuelve la misma en 10 ml de éter de petróleo. Se agregan inmediatamente 2 ml de solución alcohólica de yoduro de potasio al 20% y 15 ml de agua destilada. Se agita vigorosamente y luego se deja reposar hasta que el yodo pase a la fase acuosa. Con unas gotas de engrudo de almidón confirmamos su presencia por el intenso color azul que se produce.-

20.- Método de Taffel y Lewis (136)

Este método se basa en que los peróxidos formados en la grasa rancia, liberan yodo de los yoduros (de bario o potasio). Los resultados obtenidos se expresan en gramos de oxígeno reducidos por una cantidad determinada de materia grasa.-

Los autores indican tres técnicas, según que la rancidez sea debida a:

1º) Exposición al aire a temperaturas moderadas

a).- Rancidez moderada

b).- " fuerte

2º) Exposición al aire a temperaturas elevadas

Para efectuar esta valoración, se colocan 10 g. de la grasa en un frasco pequeño con tapa, se añaden 40 ml de ácido acético glacial y 2 g de yoduro de bario ó 2 ml de solución de yoduro de potasio al 50% en agua. La mezcla se agita durante 4 minutos, con 2 minutos de intervalo de reposo, y se vierte en un Erlenmeyer conteniendo 100 ml de agua destilada. Se lava el vaso con 30 ml de esta última y se procede a la titulación del yodo liberado con solución de tiosulfato de sodio 0.1 N.-

Cuando la rancidez es elevada, la reacción se practica sobre una pequeña cantidad de muestra, 1 a 2 g.

y los reactivos a agregar están en mayor proporción; 100 ml de ácido acético glacial y 10 a 20 g de yoduro de bario.-

21.- Método de Gancl y Ruappel (137)

En un frasco de 200 ml provisto de tapón de vidrio, se pesan 5 a 10 g de la grasa, de acuerdo al grado de rancidez de ella. Se añaden 5 ml de solución de yoduro de potasio en propanol al 0.44% y 2 gotas de ácido acético. Se calienta a 50°C en un baño maría durante 10 minutos, agitando vigorosamente de vez en cuando; luego se agregan 20 ml de ácido clorhídrico 1/1 y se agita como antes.-

Se deja en reposo unos minutos y se filtra a través de papel humedecido. Se lava el frasco y el filtro con varias porciones del ácido, cuidando que la grasa no pase a través del filtro. Se incorpora al filtrado 10 ml de solución de cloruro de potasio al 10% y 3 ml de engrudo de almidón. Se valora con solución 0.01 N de yodato de potasio; estando indicado el punto final por la desaparición del color.-

La titulación podría efectuarse en presencia de la grasa; sin embargo el punto final no sería tan definido, a causa de la eliminación lenta del yodo absorbido por la grasa.-

22.- Método de Szahleand (138)

Se pesa 1 g de la sustancia grasa y se disuelve en una mezcla formada por 1 ml de tetracloruro de carbono y 2 ml de ácido acético. Se agregan luego de la disolución, 10 g de yoduro de potasio finamente dividido. Se agita durante 5 minutos y se procede a la titulación del yodo liberado con solución de tiosulfato de sodio 0.01 N.-

El autor propone que el grado de enranciamiento sea expresado por el número de miligramos de yodo puestos en libertad por un gramo de materia grasa.-

23.- Método de Ehrhgen (139)

Se saponifican 3 g de grasa con potasa alcohólica; por evaporación se elimina el alcohol y se disuelve el

residuo en 50-70 ml de agua destilada, en caliente. Se transvase la solución acuosa a una ampolla de decantación, se enfría y se extrae con éter de petróleo en exceso clorhídrico. Luego se agitar enérgicamente precipitan los ácidos insolubles en éter de petróleo, los cuales se solubilizan en alcohol; se coloca esto en una cápsula taracea, se evapora y pesa el residuo.-

24.- Método de Lea (140)

Se disuelve la grasa a investigar en bencol agitando con una solución de bisulfito de sodio 0.5 N durante un cierto tiempo, en un frasco con cierre hermético en la oscuridad. La emulsión formada se centrifuga durante 5 minutos a 2000-3000 revoluciones por minuto. Se retiran 15 ml de la solución límpida y se titula el exceso de bisulfito con solución de yodo valorada. La reacción se produce en presencia de yoduro de potasio, bicarbonato de sodio y engrudo de almidón como indicador. Es necesario hacer ensayos en blanco con los reactivos, con la misma cantidad titulando con yodo 0.002 N y con un tiempo de agitación determinado.-

25.- Método de Schibatov (141)

Se disuelve la grasa a investigar en éter de petróleo puro y se la hace reaccionar con bisulfito de rosanilina. Se produce una coloración roja, que se compara con una solución standard 0.001% de Rojo cresol, tamponada con una solución "buffer" de un pH 8.5, preparada con borato de sodio, ácido bórico y cloruro de sodio.-

Por las tablas que muestra este autor, el ensayo es unas 20 veces más sensible que los otros reactivos para ácidos, tales como el de Hollenberg, Kreis, etc.-

26.- Reacción de Antenor (142)

Las cetonas y los ácidos dan con el α -dinitrotolueno, en presencia de soda cáustica, coloraciones rojas o violetas. La reacción puede servir para identificar grasas raras

27.- Índice de carbonilo (143)

Determina la cantidad de grupos C=O que

existen en una grasa, al transformarlos totalmente en oxinas, mediante el clorhidrato de hidroxilamina, en presencia de piridina.-

28.- Método de Wheeler (144)

Este autor fué el primero que investigó y confeccionó un método para la valoración de peróxidos en la grasa suncia en el año 1933 y afirma en su trabajo que la cantidad de peróxido no constituye un índice infalible de las características de conservación de una grasa, sin embargo el mismo permite observar hasta donde ha llegado la oxidación. Además este índice está generalmente de acuerdo con la reacción de Kreis; a pesar de que los responsables de esta última no son precisamente los peróxidos, sino los aldehydos.-

La técnica de la reacción consiste en disolver de 3 a 10 g de grasa en 50 ml de mezcla 6/4 de ácido acético-cloroformo; se añade luego 1 ml de solución saturada de yoduro de potasio y se agita mediante un movimiento de rotación. Al cabo de 1 minuto se adicionan 100 ml de agua y se titula el yodo liberado con solución 0.1 ó 0.01 N de tiosulfato de sodio, usando engudo de almidón como indicador. Los resultados se expresan como milieles de peróxido por kilo de grasa.-

29.- Método de Greenbank y Hohn (145)

Se pesan 0.25 a 0.75 g de grasa en un frasco de boca ancha y tapa esmerilada. Se disuelve con una mezcla de dos partes de ácido acético y una parte de cloroformo. Se adiciona 1 ml de solución saturada de yoduro de potasio y se agita durante 3 minutos. Se agregan 50 ml de agua destilada y se titula el yodo puesto en libertad con solución de tiosulfato de sodio 0.002 N. El número de ml de tiosulfato gastado, por gramo de grasa, nos da directamente el peróxido en milieles por kilo de material.-

-----0-----

Para terminar la consideración de este tema, diremos que en los últimos años prácticamente no se han creado reacciones o métodos nuevos para la investigación y evaluación de las grasas rancias. No obstante ello, se han perfeccionado mucho las técnicas anteriores, sobre todo en relación con la determinación del momento exacto del estado rancio.-

Así por ejemplo Chirgwin (146) utiliza el ensayo de estabilidad Swift y en lugar de titular los peróxidos, determina el índice de refracción de la grasa en el refractómetro de Leiss. Esto tiene por objeto eliminar del uso las soluciones, pesadas y titulaciones, que llevan mucho tiempo. La desventaja del método es que para cada tipo de grasa hay que hacer una determinación de peróxidos y ver en qué lugar la curva de refracción coincide con el valor del final del período de inducción, a fin de conservarlo para determinaciones subsiguientes.-

Gule y Wilson (147) han descrito un método para titular peróxidos en gasolina, basado en la oxidación del hierro ferroso por peróxidos, en presencia de tiocianatos. French y colaboradores (148) han hecho una tentativa por aplicar este método a la determinación colorimétrica de los peróxidos en las grasas, el cual no dió resultado pues el tiocianato férrico se decolora en presencia de la grasa. Sin embargo años después este método es aplicado con buenos resultados (149) trabajando en la siguiente forma:

Método de tiocianato férrico

En un matras pequeño se colocan 10 g de la muestra y se procede a calentar la misma en un baño de aceite a 125°C, semejante al ensayo de Swift haciéndole burbujear aire a razón de unas 100 burbujas por segundo. Con intervalos de media hora y sin dejar de calentar, se saca 0.5 g de muestra por vez y se colocan en tubos de ensayo numerados. Una vez que se tienen 4 ó 5 bot, se calientan los mismos a 70°C y se les agregan 5 ml de solución

de tiocianato ferrroso preparada en forma especial de acuerdo al método original. Se desaloja el aire con una corriente de anhídrido carbónico, se tapan y se agitan a rxas durante 15 segundos.-

La formación de peróxidos en las muestras se reconoce por el desarrollo del color rosado hasta el rojo sangre. Se toma el primer tubo que denote olor rancio y un cambio notorio del rosado al rojo. El tiempo de burbujes que corresponde a dicho tubo, se considera como punto de descomposición de la grasa.

Modificación de Lea (150)

Actualmente este autor usa un solvente orgánico para el tiocianato férrico formado y lo valua colorimétricamente. Este método da resultados consistentes y reproducibles; pero varía en el mismo grado en que varía la composición de la grasa. Los valores de peróxido hallados por este método se reducen mucho, si se elimina la atmósfera de oxígeno de alrededor de los reactivos.-

Método de Hartmann y Glavind (151)

En este método se hacen reaccionar los peróxidos con una solución de 2-6-diclorofenolindofenol. Influye también así en forma muy notoria el oxígeno presente, que oxida la leuco forma del 2-6-diclorofenolindofenol en su forma coloreada. Los valores de peróxido obtenidos por este método son superiores a los hallados con el tiocianato.-

Ensayo del ácido tiobarbitúrico (T.B.A.) (152)

Este es uno de los métodos que más usado ha sido en estos últimos años. Es un ensayo muy semejante a la reacción de Kreis y se cree que las sustancias responsables del color, son las mismas en ambos casos.-

Consiste en hacer reaccionar la grasa rancia con ácido tiobarbitúrico, reacción que desarrolla en hervores color rojo. Responsable de la reacción se considera el epihidrinaoldehído, siendo este ensayo de una mayor sensibilidad que el de Kreis

Método de Holm, Wedo y Thone (153)

Estos autores han estudiado las sustancias responsables del sabor rancio de las mantecas, llegando a interesantes conclusiones.-

La manteca se extrae con éter de petróleo y se adsorben los productos oxidados sobre alúmina. Luego se valoran las sustancias carbonílicas no saturadas presentes por una reacción coloreada con el clorhidrato de *n*-fenilenediamina.-

Método de Erozdov (154)

Este autor ruso junto a sus colaboradores ha propuesto un nuevo método para valorar los peróxidos en grasas rancias.-

La técnica es la siguiente: en un vaso de 150-200 ml se colocan 2 ml de ácido sulfúrico 60% y 1 ml de dietil-anilina. Se mezclan enfriando y se le agrega la solución de 1 g de la grasa en ensayo en 5 ml de cloroformo y 1 ml de solución saturada de yoduro de potasio. Se mezcla por 1 minuto, se añaden 50 ml de agua y una cantidad en exceso de tiosulfato de sodio 0.01N. Se mezcla muy bien y se titula el exceso de tiosulfato con solución 0.01 N de yodo, usando almidón como indicador.-

Este método fue usado por varios investigadores (155) japoneses, quienes afirman que ha sido el que mejores resultados les ha dado para seguir el desarrollo de la rancidez en varios aceites vegetales.-

No obstante todos los métodos descritos en la actualidad continúan usándose como más adecuada la valoración de los peróxidos por el método yodométrico y el método del oxígeno activo; puesto que son los ensayos que más se ajustan a la realidad y están en más concordancia con las observaciones organolépticas. Solamente que las técnicas más adelantadas utilizan en la oxidación métodos espectrofotométricos ultravioletas e infrarrojos (156).-

CAPITULO III

PART E I

PROCEDOS DE ACCION ANTIOXIDANTE

Ha sido reconocido desde hace mucho tiempo que es deseable y en algunos casos esencial, mejorar la estabilidad de los aceites y grasas, animales y vegetales, frente a la rancidez oxidativa.-

En este sentido podemos decir que tres han sido los métodos usados (157).-

1.- Control cuidadoso de las condiciones del proceso utilizado para retener las máximas cantidades de la estabilidad natural.-

2.- Hidrogenación, con el objeto de reducir el grado de saturación de los componentes más susceptibles al ataque oxidativo.-

3.- Adición a la grasa de antioxidantes y sinérgicos.-

Cada uno de estos tres métodos posee de por sí méritos para lograr el objetivo deseado; sin embargo el grado de mejoramiento que se consigue con los dos primeros es limitado por la naturaleza de la grasa y por las propiedades que debe reunir el producto final. Es por ello que los mayores esfuerzos del hombre han sido encaminados a obtener los mejores antioxidantes, los más accesibles y baratos. De allí que, también nuestro trabajo esté encaminado a brindar al país, la contribución de un estudio más o menos intensivo de los productos que están más al alcance de nuestra economía.-

Un antioxidante es entonces una substancia química que, agregada a las grasas, inhibe el deterioro resultante del desarrollo de la rancidez. Las propiedades que debe reunir un antioxidante para ser realmente efectivo, son las siguientes (158):

1.- Exhibir efectiva acción inhibitoria. Productos tratados con el mismo no deberán presentar traces de rancidez después de un almacenamiento de por lo menos un año a 25-30°C en recipientes abiertos.-

2.- Debe ser soluble en las grasas.-

3.- Ser efectivo en bajas concentraciones.-

4.- No debe exhibir efectos fisiológicos perjudiciales.-

5.- No debe impartir ningún olor, sabor o color extraño, aunque esté un tiempo largo en almacenaje.-

6.- No experimentará cambios cuando se calentado.-

7.- Debe poseer la virtud de retardar la rancidez de los productos hormonales, en los cuales se han empleado grasas que lo contienen.-

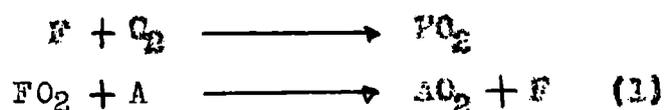
8.- Ser obtenido en cantidad y a un costo económico.-

Pocas antioxidantes que reúnan estas condiciones han sido halladas para productos alimenticios. Y muchas veces estas sustancias son de un costo tan elevado, por su elaboración, que se consideran prohibitivas para estos fines.-

En verdad el problema de los antioxidantes no es un asunto moderno; muy por el contrario, la preocupación de los príncipes farmacéuticos por conservar las pomadas que preparaban en buen estado, hacía que procurasen agregar a las mismas, sustancias que evitaran su enranciamiento. Así por ejemplo, hace ya más de 100 años (1843), Deschamps (159), demostró que la grasa de cerdo que contenía benzoina, no se enranciaba tan rápidamente como la grasa ordinaria.-

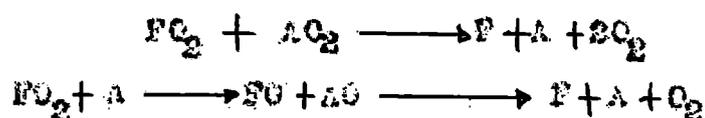
Antes de entrar a considerar las características de los antioxidantes más comunes, diremos algunas palabras acerca de cual es el mecanismo de acción de estas sustancias. Si bien las generalizaciones son siempre peligrosas, y más aun en este terreno, no obstante ello hemos de dar una idea resumida de las principales teorías en este aspecto.-

Una de las primeras explicaciones del fenómeno considera que el antioxidante (A) está reduciendo el peróxido graso (F), de esta manera:

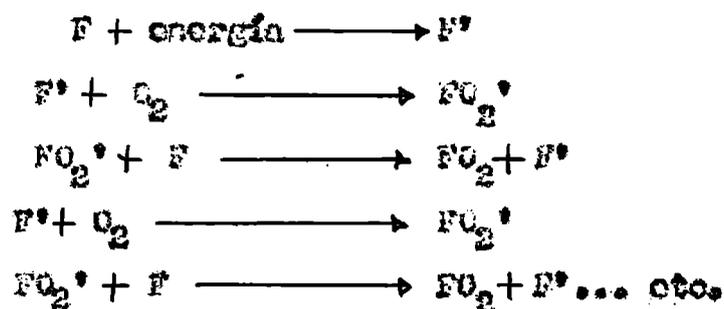


Otra posibilidad sería que el antioxidante fuera primero oxidado directamente o por la interacción de un peróxido de acuerdo a la ecuación (1) y entonces los peróxido-

dos de \underline{F} y \underline{A} , mutuamente reducen el uno al otro, en una manera similar al peróxido de hidrógeno y ozono:



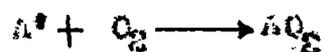
Estas reacciones no están muy de acuerdo con lo que ocurre en la realidad. Es por ello que las modernas explicaciones se basan en reacciones en cadena. Según esas, moléculas activadas de grasa (F^*) son las que reaccionan con el oxígeno para producir peróxidos activados los cuales transfieren luego su energía a otras moléculas grasas, formando una larga reacción en cadena:



Cuando los peróxidos activados se encuentran en presencia de un inhibidor son eliminados de la reacción, por la liberación de su energía, que pasa así al antioxidante:



Las moléculas activas del antioxidante son oxidadas en su turno a moléculas inactivas y se inutilizan al transferir cualquier energía a las moléculas grasas:



Suponiendo que la longitud de la cadena normal, asociada con la autooxidación de una grasa, es de 10.000 moléculas y que por adición de 0.1 mM de un inhibidor, una molécula de cada mil en la cadena será inactivada; la longitud de la cadena será reducida a 1.000 y la velocidad de la reacción de autooxidación será disminuida por un factor de 10. Si la eficiencia de transferir energía a \underline{A} es mayor que a \underline{F} , la reducción en la velocidad de reacción puede ser también más grande. La teoría de la reacción en cadena, parece estar muy de acuerdo con los hechos establecidos cuando sobre una grasa se

tían aceleradores, tales como la luz y catalizadores metálicos, los cuales también producen reacciones en cadena.-

La eficiencia de un inhibidor es considerablemente reducida si se agregan a grasas en las cuales los peróxidos ya estaban formados; puesto que en ese caso, los peróxidos ya presentes, oxidan muy rápidamente la pequeña cantidad de inhibidor agregada. La presencia de catalizadores metálicos, puede destruir la eficiencia de un antioxidante, por la rápida catalización de su oxidación.-

Restaría considerar una última forma de la inhibición, llamada "oxidación selectiva". En este caso la sustancia agregada puede aceptar oxígeno, de tal manera que previene la oxidación de las sustancias que se intenta proteger. Así por ejemplo estas sustancias tienen acción oxidante sobre el ácido *D*-ascorbico; protegiendo en cambio el ácido *L*-ascorbico de la oxidación en jugo de frutas (100). Ninguna vitamina es oxidada hasta que todo el ácido *D*-ascorbico lo haya sido, el cual no tiene actividad vitamínica. Este tipo de actividad antioxidante no es de una protección tan eficiente como en el caso de los inhibidores en cadena.-

-----0-----

Clasificación de los antioxidantes

Aunque la correlación entre la estructura química y la actividad antioxidante es un asunto que todavía no está bien dilucidado, igualmente se han intentado dar algunas clasificaciones en base a ello, sin embargo debemos decir que la primera clasificación que fué hecha, lo ha sido no precisamente basándose en la composición química, sino en el origen de los antioxidantes. Así tendríamos:

- 1.- Antioxidantes naturales
- 2.- Antioxidantes artificiales

Antioxidantes naturales

Los antiguos daban gran importancia

a los procedimientos de elaboración de las grasas y aceites; pues suponian con todo fundamento que ellos influían en la posterior conservación de dichos alimentos. Actualmente el progreso que se ha producido en este campo, con el objeto de llevar al público productos altamente refinados, ha traído como consecuencia el grave problema de que las grasas actuales se curan mucho más rápidamente que años atrás. Este hecho ha sido especialmente notorio con los aceites vegetales, que a raíz de los esfuerzos por quitarles su sabor y olor naturales, han perdido sus antioxidantes propios y se vuelven rancios muy rápidamente. Precisamente en los aceites sin refinar se encuentran antioxidantes naturales, los cuales pueden ser eliminados, calentando el aceite con ácidos minerales diluidos o tratándolos con carbón activado, pues en esta forma se destruyen. Con estas operaciones que se efectúan para refinar los aceites, en consecuencia al llevarlas a la práctica, eliminamos la protección que la naturaleza ha conferido a estas sustancias grasas.-

Cleott y Mattill (161) estudiando el insaponificable de los aceites vegetales, encontraron que el mismo contiene compuestos con una marcada acción antioxidante sobre la grasa de cerdo (162). Continuando con sus estudios consiguieron obtener un aceite amarillo, brillante y viscoso, con las propiedades mencionadas, de diferentes y muy variadas sustancias, como son: tomate, zanahoria, alfalfa, espinacas, insaponificable de los aceites de germen de trigo, algodón, cáscara, pisa, soja, arafé, maíz, etc. De la lechuga consiguieron obtener el producto cristalizado. Prosiguiendo con sus trabajos determinaron algunas propiedades químicas y físicas de estas sustancias. Así por ejemplo la acilación de esta fracción destruye completamente su actividad; pero ella es subsiguientemente recuperada por hidrólisis. En consecuencia se puede establecer así que ellos contienen grupos oxihídricos. Se pueden también hidrogenar y halogenar con toda facilidad; lo que demuestra que tienen una doble ligadura por lo menos.

No se trata de esteroides, pues las sustancias de este tipo no actúan como antioxidantes (163).-

También fué estudiada la relación que existe entre estas sustancias y las vitaminas y E. Precisamente la primera demostración experimental de la presencia de los inhibidores en ciertos aceites, fué hecha reemplazando las grasas animales que contenían vitaminas A y E, por aceites vegetales. En estas condiciones la destrucción oxidativa de las vitaminas se retardaba grandemente (164). Más tarde se observó que esa protección era debida a los antioxidantes presentes en esos aceites vegetales (165).-

Se demostró también, que los inhibidores se encuentran presentes solamente en los aceites originales; puesto que, si destilamos los ácidos grasos y luego resintetizamos los glicéridos, estos últimos son mucha menos resistentes a la oxidación que los primitivos (166).-

Posteriormente los mismos investigadores que los descubrieron, Clecott y Mattill, propusieron para estas sustancias el nombre de "inhibidores", considerando que en esta forma daban una idea de su carácter antioxidante y de la naturaleza de la función responsable de esa acción, el oxidarilo (167) (168).-

Por último llegó a descubrirse que las sustancias responsables de todos estos efectos antioxidativos eran los tocoferoles. Primero fué Emerson quien los aisló de la vitamina E (169) y más tarde el mismo autor, junto con Clecott, que demostró el poder antioxidante de estas sustancias (170). En consecuencia podemos afirmar que los principales antioxidantes que contiene la porción insaponificable de los lípidos vegetales, son los tocoferoles.-

Sin embargo hay también otros tipos de antioxidantes, aunque no tan numerosos. Así por ejemplo, la estabilidad del aceite de sésamo es probablemente debida a la grande cantidad puesta en libertad del sesamol, que es una sustancia fo-

nólica, con un grupo oxhidrilo en posición "para" con respecto al oxígeno (171). El aceite de algodón crudo debe su estabilidad particularmente al gossipol, el cual tiene dos pares de oxhidrilos en posición orto (172).-

Antioxidantes artificiales

La acción antioxidante de ciertos compuestos químicos, comenzó a estudiarse a partir de los trabajos de Moureu y Duffraisse (173), quienes ensayaron la hidroquinona como factor protector de la oxidación de la acroleína y el benzaldehído. Más tarde se utilizó esa misma sustancia para proteger el caucho y el latex en las operaciones técnicas; para pasar por último a usarse como antioxidante de las materias grasas.-

A partir de ese momento comenzó una carrera casi podríamos decir mundial en procura de obtener las mejores sustancias con este objeto y al más bajo costo. Sobre todo cuando los requerimientos de materias grasas para las fuerzas armadas durante la última guerra, era realmente un problema muy grande para las naciones en lucha. Especialmente por los largos períodos que las grasas debían soportar, antes de ser consumidas y por los factores tan adversos a los cuales se veían sometidas durante mucho tiempo.-

Por ello es que también se hace dificultosa la clasificación. Sin embargo citaremos la efectuada en primer término por Clcott y Mattill (174) que era la siguiente:

- 1.- Inhibidores de tipo ácido
- 2.- Inhibidores e hidroquinona
- 3.- Inhibidores de tipo fenólico

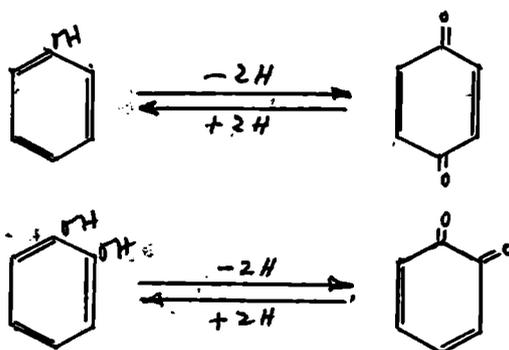
Experiencias posteriores, que han explicado sobre todo el efecto sinérgico de diversas sustancias, permite dejar la clasificación reducida a dos grandes grupos, dentro de los cuales se incluyen tanto a los productos naturales como artificiales (175).-

1.- Antioxidantes: Son sustancias que tienen acción antioxidante primaria sobre los ácidos grasos. Con unas pocas excepciones, son compuestos orto y para, di y polifenólicos o sustancias

que tienen una configuración electrónica similar.-

2.- Sinérgicos: Todas las otras sustancias, las cuales retardan o inhiben en forma secundaria la autooxidación de las grasas. Se llaman así porque simplemente refuerzan el efecto de los compuestos fenólicos presentes y tienen poca o ninguna actividad aparte de ellos.-

La actividad de estos antioxidantes de tipo fenólico está muy probablemente ligada a un fenómeno de oxidación-reducción entre quinoles y quinonas. De este modo los *o*- y *p*-hidroxifenoles (catecol o hidroquinonas ó *o*-quinol y *p*-quinol respectivamente), son poderosos antioxidantes; en cambio los meta-compuestos (resorcinol), los cuales no pueden ser oxidados a las correspondientes quinonas, no lo son.-



La introducción de un tercer grupo oxhidrílico dentro de la estructura quinólica, hace resaltar aún más la actividad antioxidante, por la producción de una posición adicional orto ó para. En cambio la adición de nuevos grupos de este tipo, produce una marcada reducción en la actividad antioxidante. También se mencionan en la literatura otros antioxidantes del tipo fenólico, en los cuales la estructura quinólica aparece modificada por varias otras adiciones funcionales.-

En verdad los inhibidores que mencionamos más arriba, pueden considerarse antioxidantes fenólicos; a pesar de que en algunas clasificaciones se los considera separados para hacer notar la diferencia estructural que existe entre unos y otros. Los tocoferoles, especialmente el γ , son los precursores de las oxoano-quinonas, sustancias que se producen oxidando a los primarios (176).-

Ultimamente ha aparecido una clasificación más especializada de los antioxidantes, a pesar de lo cual todavía parece ciertos reparos, desde el punto de vista del sincronismo.-

- 1.- Polihidroxi alifáticos
- 2.- Hidroxi-ácidos "
- 3.- " " polibásicos
- 4.- Amino ácidos alifáticos
- 5.- Proteínas
- 6.- Ácidos orto y pirofosfórico

Vamos a dar algunas características de los antioxidantes más comúnmente usados y que mejores resultados dan cuando se emplean.-

Tocoferoles: Como dijimos tanto los tocoferoles como sus ésteres son efectivos antioxidantes, sobretudo para grasas animales, en especial la de cerdo (177) (178).-

En un principio se descubrieron solo 3 tocoferoles: α , β y γ (179), los cuales, según los trabajos de Fisher (180) tenían un poder antioxidante que crecía en el orden mencionado; es decir que el más activo antioxidante es el γ . Más tarde, sin embargo, se descubrió el δ -tocoferol (181); el cual ha probado ser el más efectivo antioxidante de todos los tocoferoles (182). Debemos hacer notar, que esta actividad antioxidante no es paralela a su actividad biológica como vitamina E. Pues el tocoferol es el que biológicamente tiene mayor actividad.-

Volvamos a repetir que la actividad antioxidante de estas sustancias depende de la presencia de grupos oxhidrilo libres. Así fué mostrado por Columbus (183), que el cromano, el cual está relacionado químicamente con los tocoferoles y derivados de la cumarina; los cuales tiene grupo fenólico, pero no cadena lateral, son efectivos antioxidantes. Además el hecho de que haya una concentración óptima para los tocoferoles, por encima de la cual la eficacia decrece (184) (185); prueba lo complicado de las reacciones.-

Fosfolípidos: Se ha demostrado que el aceite de germen de trigo tiene un mayor poder antioxidante que los tocotrienoles puros, en virtud de ciertos fosfolípidos que contiene (186). También se han aislado ciertos fosfolípidos del aceite de soja, como por la cefalina, la cual ha demostrado tener acción inhibitoria. Porciones separadas de la molécula de cefalina han sido usadas y patentadas como antioxidantes (187). Otros fosfolípidos son componentes de harina de avena (Avenax), otros cereales, granos, sólidos de leche, aceites, levaduras, tejidos animales, longambros, etc. Sin embargo estas sustancias están en un plano intermedio con los antioxidantes y pueden considerarse mejor como sinérgicos.-

Goma de gwyaco. Este material fue propuesto por Newton y Grotto en el año 1933 (188). Es la secreción de un árbol tropical, el *Goniacum officinalis*, el cual crece en la India Occidental.-

Esto es un antioxidante práctico y efectivo para grasas de cerdo especialmente y posiblemente para ciertos alimentos deshidratados (189). La forma más conveniente de usarlo ha sido incorporando la goma de gwyaco a los papeles con los cuales se han de envolver las grasas. Ello se debe a que esta sustancia es poco soluble en las grasas y solo puede ser incorporada a ellas por derretimiento o con ayuda de un solvente en el cual ambos fueran solubles; pudiendo luego eliminarse este último por vaporización. Es una sustancia estable al calor y no proporciona color apreciable a la grasa.-

Estereos del ácido gálico: De acuerdo a los trabajos de Leu-rou y Dufraisse (190) y Lutz (191) se ha demostrado que el tanino es un antioxidante energético. Más tarde Lee (192) ha señalado que el ácido gálico está grandemente distribuido en los tejidos presentes en varios alimentos vegetales, particularmente el te. Se pensó entonces en usar esta sustancia directamente como antioxidante, pero se tropezó con el inconveniente de su baja solubili-

dad en las grasas y además porque todavía no se ha probado su no toxicidad. Por lo tanto comenzaron a usarse los galatos de octilo, (193), propilo (194), etc., para también estas tenían esa misma dificultad. Se llegó entonces a la síntesis de los altos galatos, de octilo, dodecilo, hexadecilo y octadecilo (195); los cuales son muy solubles en grasas y de acuerdo a los trabajos de Morris y colaboradores (196) han demostrado tener un excelente poder antioxidante.-

Sin embargo el que más usado ha sido en E.E.U.U. por su bajo costo y facilidad de elaboración, es el galato de propilo. Tiene el inconveniente que se destruye cuando la grasa se agrega a productos que luego deben ser horneados. En numerosos trabajos se ha comparado el poder antioxidante de esta sustancia frente a los más comunes inhibidores (197), (198), (199).-

Butilhidroxianisol: Una mezcla de 2- y 3-terbutil-4-hidroxianisol, es conocida como hidroxianisol butilado ó BHA. Es un efectivo retardador del desarrollo de la rancidez en alimentos hechos con grasa de cerdo (200). Su actividad es grandemente aumentada cuando se usa en combinación con otros antioxidantes, por ej. con galato de propilo. Entre los productos para los cuales se aconseja su adición está la grasa de cerdo y otras grasas animales. También para los aceites que se usan en frituras, como ser aceite de maíz, maíz, etc. Es interesante también porque su actividad es transportada a los productos horneados.-

Acido hexahidroascorbóico o H.D.G.A.: Fue el descubrimiento de esta sustancia lo que determinó un notable avance en el campo de los antioxidantes.-

Miller en su trabajo de tesis (201) descubrió la presencia de este compuesto en el extracto alcohólico de la "Jarrea divaricata", arbusto muy desarrollado en el continente americano y que se conoce vulgarmente como "cresoseta bush" en el norte y "jarilla" en los países sudamericanos. Tiempo des-

pudo este mismo autor conseguir aislar el ácido, junto con algunas impurezas de este extracto mencionado (202). Y por último Girvold en el año 1947 consigue cristalizar el NDOA, separándolo así de las impurezas que generalmente lo acompañan, usando diferentes solventes orgánicos (203). Las propiedades antioxidativas de esta sustancia fueron ensayadas por Lundberg y colaboradores, quienes las encontraron excelentes (204).-

En nuestro país Rey estudió la composición química de ciertas variedades de jarilla (205). Tiempo más tarde Ruth confirmó que las especies argentinas contienen NDOA (206). Y Faladino prueba que el extracto alcohólico de estas plantas posee marcada acción antioxidante sobre grasas de origen animal (207). También en Chile, Schmidt Hebbel y colaboradores (208) han intentado cristalizar este ácido de la extracción alcohólica de la jarilla, sin conseguirlo; pero demostraron su poder antioxidante.-

Por último diremos que actualmente esta sustancia es posiblemente la que mejores resultados ofrece como antioxidante para la grasa de cerdo y numerosos trabajos realizados en ese sentido, así lo confirman. Con referencia a su estructura química, diremos que está estrechamente relacionada con el ácido guayarético, uno de los constituyentes activos de la goma de guayaco. Si lo consideramos derivado del pirocatecol sería: 4,4'- (2-5 dimetiltetrametilen)-dipirocatecol y como derivado del butano: β, γ , dimetil α, δ bis (3,4-dihidroxifenil)-butano.-

Ácido ascórbico y derivados: En el año 1939 el ácido ascórbico fué propuesto como antioxidante para emulsiones grasas (209). Aunque es un débil antioxidante para grasas anhidras, especialmente en grasas animales, por su insolubilidad; igualmente asociado con otros antioxidantes es bastante efectivo (210). Sin embargo en recientes trabajos se procuró obtener los derivados de este ácido, que son solubles en grasas y que tienen un alto poder antioxidante (211).-

Nuevos antioxidantes: No podemos en verdad estudiar todos los antioxidantes que han sido propuestos, sobre todo en estos últimos tiempos, sin embargo mencionaremos a aquellos que más han llamado la atención por las posibilidades que ofrecen a la industria alimenticia.-

Así diremos que la dihidroqueritina (212) que es una sustancia de tipo fenólica que se encuentra ampliamente distribuida, ofrece amplias posibilidades de ser obtenida en cantidad y a bajo costo. Se encuentra en un 6% en la corteza del "pino Douglas", de la cual puede ser obtenida con agua caliente. Esta sustancia tiene una actividad que es del mismo orden que los mejores antioxidantes fenólicos y la misma puede ser incrementada por los sinérgicos ácidos. No presenta olor, ni sabor, y es muy resistente al calor.-

Muchas otras maderas resinosas contienen polifenoles que son buenos antioxidantes y precisamente de una conifera, el abeto occidental, fué aislada una sustancia de activas propiedades antioxidantes, llamada condendrina, partir de la cual y muy rápidamente se puede llegar a uno de los nuevos antioxidantes, la norcondendrina (213). Esta sustancia tiene una estructura química muy semejante al N.D.G.A., de allí también sus propiedades muy parecidas. Ambos asociados, tienen un gran poder antioxidante; mayor aun que cada uno de ellos por separado.-

También en los últimos años se han patentado muchos lipóidicos como antioxidantes de grasas y aceites; entre ellos podemos citar el ácido β β . dicloropropiónico y sus ésteres. Que aparentemente tienen un gran valor para ser usados aun en grasas que han comenzado a ponerse rancias; pues hacen disminuir el número de peróxido.-

Fueron probados con éxito algunas nuevas sustancias fenólicas, entre ellas el 1,5-dihidroquinotoleno (214) y la hexatolilina (215) con dos anillos benzoícos

cada uno y un par de cadáveres en posición orto. También se ha ensayado con éxito la adición a los nucleos aromáticos de cadenas alifáticas, lo cual incrementa grandemente su estabilidad, así como también su solubilidad en las grasas (216).-

Pero lo que más se ha popularizado en los E. E. U. U. en estos últimos años, para uso en grasas y alimentos que las contienen, es una considerable cantidad de mezclas de antioxidantes. Así por ejemplo los antioxidantes fenólicos dan gran resultado cuando se los mezcla con glicato de propilo. El hidroxianisol butilado (HIA) junto con el ácido cítrico, usando el propileno glicol como vehículo de dispersión, constituyen un excelente antioxidante para comidas preparadas (217).-

El uso tan grande que se ha hecho últimamente de los antioxidantes y la aparición de una tan numerosa variedad de sustancias, ha llevado al amplio desarrollo de las técnicas para su identificación y valoración, en los substractos grasos en los cuales han sido usados. Y a raíz de esto mismo se han realizado interesantes observaciones en relación con la desaparición de los antioxidantes fenólicos, por la oxidación de las grasas que los contienen (218).-

Para mejor ilustrar este capítulo, damos una tabla publicada por el U. S. Dept. Agr. en 1944 y que contiene hasta esa fecha todos los antioxidantes usados y propuestos para usar en alimentos (219).-

T A B L A

Aceites vegetales, incluyendo aceites de palma, kapoc, cáscara hidrogenada, soja hidrogenada, algodón crudo y soja crudo.

Extracto-solvente de aceite de germen de trigo mas ácido cítrico.

Destilado de la desodorización con vapor del aceite de cáscara.

lecitina o fosfátidos del aceite de soja.

Fosfátidos del aceite de maíz y algodón.

Fosfátidos del aceite de soja.

- Fosfatidos de tejidos animales.
- Producto de reacción de una grasa, un compuesto fosforoso tal como la lecitina, o ácido fosfórico y un azúcar.
- Goma de guayaco.
- Goma dulce del sur (cocoal).
- Resinas de reguliz.
- Residuo de la destilación de aceite de clavo u otras especies.
- Acido gálico, galato de propilo, galato de etilo y otros galatos.
- Acido nordihidrogumarático.
- Harina de avena y otras harinas de cereales y semillas de tierra, y materiales vegetales.
- Catalasa (como la del queso maduro).
- Substitutos del ácido β -mercaptopropiónico.
- Ácidos tie-di-grasos y sus ésteres.
- Tocoferoles en combinación con enzimas.
- Compuestos fenólicos tales como alcohol vainílico y alcohol castoreólico.
- Ester etílico u otros ésteres orgánicos de la tirocina.
- Taninos.
- Tocoferoles.
- Hidroxicromanos, hidroxicumaranos y otros compuestos relacionados, con los tocoferoles (en combinación con el ácido ascórbico).
- Naftoles, quinoles y quinonas (más ácido ascórbico y/o los compuestos nombrados bajo hidroxicromanos, etc.)
- Acido cafeico (solo o en combinación con uno o más de los siguientes: ácido ascórbico, ácido tartárico, ácido fosfórico, y los compuestos nombrados bajo hidroxicromanos, etc.).
- Ácidos hexurónicos, como por ejemplo: ácidos galacturónico y glucurónico (más uno o más de los compuestos mencionados bajo hidroxicromanos, etc. y bajo naftoles, etc.).
- Acido fosfórico.
- Acido fosforoso o sales ácidas.
- Ésteres de ácido fosfórico-ácido graso con glicérol.

Esteros de ácido fosfórico-ácido graso con glicol, poliglicoles y poligliceroles.

Producto de reacción de monoglicéridos, ácido fosfórico y β -amino etanol.

Esteros del ácido fosfórico de fenoles polihídricos.

Ácidos orgánicos, incluyendo oxálico, tartárico, málico, malónico, cítrico, pirúvico, succínico, fumárico, acético, etc.

Ácido ascórbico.

Monocésteres de ácidos grasos de ácidos L-ascórbico y D-isoascórbico

Producto de reacción del aceite de castor con ácidos cítrico, tartárico u otros ácidos orgánicos, o anhídrido málico.

Producto de condensación de un polifenol (como el pirogalol) con cetonas, aldehídos, ac. grasos, etc.

Derivados del fenol, tales como metil vanilato, metil siringato, etc.

Compuestos fenólicos, tales como por ejemplo catecol monododecil éter.

Compuestos de alto peso molecular o- y p-polihidroxibenzeno compuestos, como dodeciloateol y dodecilhidroquinona.

Amino azúcares o amino sales, como glucosamina, metilglucosamina.

Ácidos hidroxámicos.

-----0-----

CAPITULO III

PARTE II

PRODUCTOS DE ACCION SINERGICA

La acción combinada de dos o más sustancias, para producir un efecto más amplio que la simple función aditiva, es llamado sinérgico. Cada sustancia puede actuar individualmente como antioxidante o puede no serlo. Es precisamente en este último caso el más común. En consecuencia, podemos definir un sinérgico como una sustancia que agregada a otra que actúa como antioxidante, refuerza su acción para prevenir la rancidez de las materias grasas.-

El mecanismo del sinérgico es relativamente complicado, puesto que en él mismo interviene tres factores, a saber: antioxidante, sinérgico y sustrato graso. De manera que la interpretación no se refiere solo a las relaciones entre un antioxidante y una grasa; sino por lo menos a los tres mencionados o aun más, pues es muy corriente en la actualidad usar varias sustancias mezcladas para obtener los mejores resultados con las menores concentraciones.-

El fenómeno del sinérgico tiene importancia práctica en la estabilización tanto de las grasas vegetales como animales. En las primeras existen naturalmente apreciables cantidades de antioxidantes, cuya efectividad puede ser grandemente incrementada por la adición de sinérgicos. En las grasas animales, la importancia práctica reside en la posibilidad de efectuar una reducción en el costo y en la cantidad de los inhibidores agregados para lograr la estabilidad deseada. Así por ejemplo se ha demostrado en muchas cosas que 0.01% de un antioxidante fenólico costoso, junto con 0.01% de un sinérgico relativamente barato, es tan efectivo para estabilizar una grasa, como 0.1% del antioxidante fenólico solo.-

La mayoría de los sinérgicos son de tipo ácido y los más comúnmente usados son los ácidos orgánicos débiles, como el málico, málico, cítrico, etc., los cuales refuerzan notablemente la acción de los antioxidantes fenólicos, como ocurre naturalmente en los aceites vegetales. Sin

embargo un aceite vegetal extraído por solventes, puede ser estabilizado tanto por el agregado de estos sinérgicos como de inhibidores fenólicos, lo cual es bastante difícil de explicar (220).-

El ácido oxálico se diferencia del resto de los ácidos activos, pues de por sí, sin la presencia de inhibidores fenólicos, estabiliza bien, tanto grasas animales como vegetales. Esta acción posiblemente sea debida a la naturaleza de la unión entre los dos carbonos, la cual, de acuerdo a los trabajos de Robertson y Woodwar (221), participa de las propiedades de la doble ligadura; por lo que la distancia entre ambos carbonos es más corta que en los compuestos alifáticos. Además, debido a las dos moléculas de agua que puede fijar, el ácido oxálico se comporta como los compuestos fenólicos con dos oxhidrilos en posición orto.-

También se ha tratado de demostrar el poder antioxidante del ácido málico y fumárico solos (222); sin embargo esta acción es muy pequeña y solo cuando el aceite usado tiene de por sí inhibidores del tipo fenólico, esta acción demuestra ser interesante.-

Uno de los sinérgicos más usados es el ácido ascórbico y su acción fué extensamente estudiada por Columbia, Calkins y Matill (223) (224); quienes han demostrado que el potencial de oxidación del ácido ascórbico es más bajo que el de los inhibidores fenólicos; sin embargo no es apreciablemente oxidado durante el período de inducción de las grasas. Más tarde el mismo Matill (225) demuestra que la oxidación del ácido ascórbico es un proceso lento que transcurre en dos etapas y requiere un intermediario (226).-

Cuando un inhibidor fenólico dona hidrógeno a un peróxido graso, resulta un radical fenoxilo; el cual vuelve a tomar su estructura inicial, pues el ácido ascórbico restaura el hidrógeno perdido transfiriéndose a sí mismo en ácido dihidroascórbico. Mientras el ácido pueda ir proporcionando los hidrógenos necesarios no se produce la acumulación de peróxidos. Es decir que esta sustancia actúa como receptáculo de hidrógeno para mantener a la

grasa estable. Pero el ácido ascórbico no puede provocar directamente el hidrógeno a los peróxidos, sino que necesita para ello un intermediario.-

Existen también una serie de ácidos orgánicos di y polibásicos, los cuales también son interesantes sinérgicos, aunque es muy difícil de explicar su acción. Uno de ellos es que en todos los ácidos activos, adyacente al grupo carboxilo hay un grupo funcional no saturado. El grupo activante en posición alfa, aumenta el poder de ligazón de los hidrógenos de los oxhidrilos; en cambio tiende a repeler sus propios hidrógenos hacia los radicales fenoxilo, los cuales son aceptores ávidos de este elemento.-

Están también los ácidos di y polifenólicos, entre los cuales quizá el más importante es el ácido gálico (227). Estos ácidos de por sí son inhibidores, pues se trata de sustancias fenólicas que fácilmente pueden ejercer esa acción. De manera entonces que, en los aceites vegetales actúan como sinérgicos, debido a su carácter ácido; mientras que en las grasas animales lo hacen como antioxidantes por su estructura fenólica. Es por ello que, si los oxhidrilos se encuentran esterificados o convertidos en grupos acetoxilo, el ácido gálico no es más efectivo para las grasas animales. En cambio los ésteres de este ácido, como ser gálico de propilo, son buenos antioxidantes para estos tipos de grasas (228).-

De los sinérgicos ácidos, quizá los más interesantes son el ácido sulfúrico y especialmente el fosfórico, por tratarse de sustancias inorgánicas. El ácido fosfórico es muy bastante con estos fines y así fué demostrado por ejemplo, que este ácido aumenta la actividad antioxidante de las hidroquinonas y tocoferoles en la autooxidación de las grasas. (229). En estos medios las p-quinonas son parcialmente reducidas a hidroquinonas; siendo esta acción promovida por el ácido fosfórico con las tocoquinonas ocurre tanto la ciclización como la reducción, y en esta forma se puede regenerar el tocoferol. Los resultados obtenidos por

Columbio, sugieren el hecho de que el sistema quinona-hidroquinona es excitado tanto por la acción de un antioxidante como de un reductor a una grasa que se está oxidando y que el equilibrio es desviado en favor del reductor por el ácido fosfórico.-

También se estudió el efecto que tiene el ácido fosfórico para estabilizar una grasa que contiene tocoferol y que ha sido sometida al proceso de desodorización. En este caso el ácido es mucho más efectivo si se agrega antes del proceso mencionado (230). La cantidad óptima de ácido a agregar es de 0.004% y la misma no tiene efecto adverso en el color. Aunque el ácido fosfórico es más efectivo agregándolo antes de la desodorización, ello no es ninguna evidencia de que haya regeneración de los tocoferoles a partir de las tocoquinonas en el desodorizador.-

Galkin ha hecho un estudio sobre la acción del ácido fosfórico, por el cual parece demostrar que su eficiencia es debida a la facilidad con que cede hidrógeno (231); sin embargo no debemos dejar pasar por alto el fenómeno de la adsorción.

Así Columbio en el trabajo mencionado antes, muestra que la tocoferil quinona, que es inactiva, permanece inactiva aun en presencia de ácido ascórbico; en cambio se vuelve un antioxidante activo en presencia del ácido fosfórico. Esto puede efectuarse únicamente por el cierre de la cadena, con pérdida de una molécula de agua; lo cual puede realizarlo el ácido fosfórico y no el ascórbico. Este hecho fue demostrado también en el ensayo diodigoscopia vitamina E, formada de la tocohidroquinona por acción del ácido fosfórico. Quizá ocurre que el radical tocoferil-hidroquinona, viniendo a ser más soluble en agua con pérdida de hidrógeno, es adsorbido sobre una partícula de ácido fosfórico, el cual le cede un nuevo hidrógeno, rompe el anillo por sustracción de una molécula de agua y se oxideran. Vuelve a perderse el hidrógeno por unión con el peróxido graso y se inicia de nuevo el ciclo. La adsorción vino a ser de este modo, fundamental para explicar la acción sinérgica del ácido fosfórico. Recientemente se estudió la acción sinérgica del

ácido fosfórico en grasa de cerdo, (232) encontrándose los autores con el inconveniente que en los ensayos de estabilidad acelerados a elevada temperatura, el ácido reacciona con los peróxidos grasos en tal manera que invade su valoración por los métodos volumétricos usuales.-

La cefalina es también una sustancia sinérgica para los inhibidores fenólicos; aunque no lo es tanto como el ácido fosfórico, pues es soluble en las grasas. Según un primer trabajo de Elcott y Nuttall (233), la lecitina pura no es un sinérgico. Los resultados favorables que se obtienen con la lecitina comercial se deben, según estos autores, a que ella contiene siempre una cierta cantidad de cefalina, que es la que actúa como inhibidor. Sin embargo la lecitina misma por aquello que contiene en su constitución el radical del ácido fosfórico, puede actuar también como sinérgico, especialmente en grasas que contienen tocoferoles y que son sensibles a la desodorización (234). Tiene el inconveniente que ni se usa en concentraciones superiores a 0.02% en la grasa.-

También se ha procurado demostrar el efecto antioxidante que ejerce la harina de soja (235). El cual depende de las condiciones de la grasa a la cual ha sido agregada, siendo mayor para las grasas con un gran período de inducción inicial. El incremento en el período de inducción no es proporcional a la concentración de la harina de soja. La estabilización de las grasas por la harina de soja se debe a los fosfolípidos y ellos cuando son extraídos para hacerlos actuar solos, llevan trazas de tocoferoles, es por ello que también en esta forma tienen efectos antioxidantes (236).-

En consecuencia podemos afirmar con toda seguridad, que si un ácido como el ascórbico, cítrico o fosfórico, es efectivo en una grasa natural, la misma contiene por su origen un inhibidor de tipo fenólico en ella. Y todavía más aun, podríamos decir que es posible identificar la naturaleza de un inhibidor no conocido, conociendo las características y origen de la grasa en la cual es efectivo.-

En estos últimos años se ha estudiado intensamente la composición de muchas vegetales y se han ensayado numerosas reacciones con el objeto de obtener nuevos síndrgicos, que puedan ser luego aplicados en la industria. Así es como se han presentado numerosas sustancias cuya verdadera acción es todavía desconocida; entre ellas se encuentra un producto liberado de las tartas de ciertas semillas por la acción del ácido acético (237), otro encontrado en extractos de afrecho de arroz (238), como también los productos de polimerización en azúcares calentados (239), etc.-

En cuanto a los últimos trabajos realizados para probar la efectividad de los síndrgicos ácidos para incrementar la actividad de los antioxidantes fenólicos, ha resultado que ella es muy importante sobre todo en los sistemas (graso-ácidos) (240). En cambio las mezclas de antioxidantes y síndrgicos ha tenido una muy pobre protección para la vitamina A, proveniente del aceite de hígado de halibut (241).-

El estudio intensivo de los síndrgicos, especialmente en su relación con los antioxidantes de tipo fenólico, ofrece en la actualidad un campo muy vasto y promisorio. Sin embargo es interesante aclarar que las observaciones en este sentido deben ser muy cuidadosas, pues ya dijimos que son varios los factores que hay que tener en cuenta y por consiguiente son también numerosos los detalles que hay que cuidar, para evitar que errores en la preparación de los reactivos o substractos, ocasionen interpretaciones equivocadas.-

Como lo hemos hecho en el caso de los antioxidantes, hemos de dar también una tabla con los principales síndrgicos que se usan en la actualidad. En este caso se clasifican estos síndrgicos, de acuerdo al trabajo de Clausen y colaboradores (242), por su índice protectorio. Este índice está dado por la relación que existe, entre el número de horas que la grasa tarda en volver rancia, cuando se le ha agregado 0.01% de antioxidante fenólico y 0.01% del síndrgico, y el tiempo que tarda, también en horas,

cuando solo se le ha agregado 0.01% de antioxidante.-

Los antioxidantes fenólicos usados fueron tres: α -tocoferol, hidroquinona y ácido ortodihidroquinoyáico. Los sinérgicos son numerosos y figuran en la tabla en orden decreciente de su protección. Al substrato usado fue grasa cerda.

T A B L A

<u>Acción I:</u>	antioxidante primario α -tocoferol
<u>Grupo I:</u>	sinérgicos con índice protectorio 4,0 a 3,1 ninguno
<u>Grupo 2:</u>	I.P.: 3,0 a 2,1
	ácido ascórbico, metionina
<u>Grupo 3:</u>	I.P.: 2,0 a 1,6
	Treonina, leucina, proteína de leche hidrolizada, norvalina, palmitato de ascorbilo, fenilalanina, cisteína.-
<u>Grupo 4:</u>	I.P.: 1,5 a 1,1
	Triptófano, isoleucina, prolina, alanina, ácido α -amino-ácobutírico, metil, asparagina, serina hidrolizada, tripsina, arginina, ácido barbitúrico, asparagina, valina, tripsina y proteína de suero de vaca, propanidina, histidina, peptonas, ácido glicero-fosfórico, hidroxiprolina.
<u>Grupo 5:</u>	I.P.: 1,0 ó menos
	caseína y caseína hidrolizada, suero globulínico de vaca, dihidrotirosina, diisifenilalanina, ácido nicotínico, serina, lisina, norleucina, citrulina, ácido glicólico, alanina, colina, cistina, caseína, papaína, ácido glucónico, ácido úrico, succinilo, urea, creatinina, ácido levulínico, mentano, hidroxifenilalanina.-
<hr/>	
<u>Acción II:</u>	antioxidante primario: Hidroquinona
<u>Grupo I:</u>	I.P.: 4,0 a 3,1
	Metionina
<u>Grupo II:</u>	I.P.: 3,0 a 2,1
	ácido ascórbico, proteína hidrolizada de leche, triptófano
<u>Grupo III:</u>	I.P.: 2,0 a 1,6
	leucina, proteína hidrolizada de leche, palmitato de ascorbilo,



prolina, fenilalanina, cisteína, ácido glutámico, valina, digesto
prótico de proteínas pancreáticas, asparagina, serina, ácido
barbitúrico, argemina, amidarina, propilidina, cistidina, nor-
leucina, ácido glicerofosfórico, tripsina, caseína hidrolizada
con HCl.

Grupo IV: I.P.: 1,5 a 1,1

Tripsina hidrolizada de suero globulina de vaca, tripsina hidroliza-
da de suero albúmina de vaca, treonina, isoleucina, ácido alfa
amino isobutírico; precipitado ácido de suero proteico de vaca
enzima hidrolizada con ácido sulfúrico, suero proteico de vaca
tratada con álcali, hidrolizado de la enzima del pancreas con
ácido sulfúrico, hidrolizado de suero proteico de vaca con ácido
sulfúrico, erualina, proteína de leche hidrolizada, ácido leu-
cínico, diiodotirosina, idoi, hidroxiprolina, crepina hidroliza-
da de suero globulina de vaca, casina hidrolizada con hidró-
bario.

Grupo V: I.P.: 1,0 ó mas

Tripsina hidrolizada del suero de vaca, tripsina hidrolizada de
suero albúmina de vaca, ácido nicotínico, melonina, dimetilamino-
lanina, pepsina hidrolizada de suero de vaca, serina, lisina, cis-
tina, albúmina de huevo, caseína, pepsina, urea, pepsina hidroliza-
da de suero globulina de vaca, ácido glicólico, ácido aspártico,
crepina hidrolizada de suero albúmina de vaca, creatinina, oxa-
rida, colina, alfa esuloglobulina bovina, hidroxileucina, péptos,
crepina hidrolizada de suero de vaca, tirosina, citrulina, casei-
nada, ácido glucónico, ácido úrico.-

Sección III: antioxidante primario: ácido nordihidroquagárico

Grupo I: I.P.: 4,0 a 3,1

ingano

Grupo II: I.P.: 3,0 a 2,1

ctionina

Grupo III: I.P.: 2,0 a 1,0

Fenilalanina, leucina, triptofano, alanina, norleucina, proteína de leche hidrolizada, norvalina, valina, ácido ascórbico.

Grupo IV: I.P.: 1,0 a 1,1

Proteína de leche hidrolizada, troonina, isoleucina, prolina, ácido alfa-aminoisobutírico, dióxido de fenilalanina, ninhidrina, ácido glutámico, propanoína, cistina, caseína, proteína hidrolizada de leche, cisteína, palmitato de ascorbilo, arginina, histidina, colina, ácido levulínico, alfa globulina bovina, corina, asparagina, ácido glicero fosfórico, hidroxiprolina, dihidroxirosina, citrulina, ácido úrico, urea, creatinina.-

Grupo V: I.P.: 1,0 ó mas

Tripsina, hidrolizada de suero de vaca, amido, caseína hidrolizada con ácido sulfúrico, tripsina hidrolizada de suero albúmina de vaca, peptona, tirosina, erepsina hidrolizada de suero globulina de vaca, melanina, ácido aspártico, albúmina de huevo, pepsina, ácido glucónico, digestión pepticotriptica del pancreas, digestión peptica de proteína pancreatica, precipitado ácido de suero proteína de vaca, tripsina, ácido nicotínico, lisina, erepsina hidrolizada de suero albúmina de vaca, succinida, caseína hidrolizada con hidróxido de bario, caseína, ácido barbitúrico hidrolizado de suero proteína de vaca con ácido sulfúrico, ácido glicólico, tripsina hidrolizada de suero globulina de vaca, suero proteína de vaca tratada con álcali, hidrolizado de proteína pancreatica con ácido sulfúrico, arsfenamina, caseína hidrolizada con ácido clorhídrico, erepsina hidrolizada de suero de vaca, pepsina hidrolizada de suero albúmina de vaca, pepsina hidrolizada de suero globulina de vaca, pepsina hidrolizada de suero de vaca, hidroxilamina.-

-----0-----

PARTE EXPERIMENTAL

CAPITULO IV

PARTE I

PREPARACION DE ANTICORPANTES

Nuestro trabajo tiene por objeto en lo que se refiere a la parte experimental, tratar de encontrar para el uso en las grasas de cerdo argentinas, los mejores antioxidantes, los de más bajo costo y aquellos que puedan obtenerse a partir de las materias primas accesibles en el país.-

Para ello nos propusimos en primer lugar proceder a la síntesis de estos antioxidantes y luego ensayarlos en grasas; no solo utilizándolos puros, sino también mezclados con aquellos sintéticos que refuerzan más poderosamente su acción; siempre desde el punto de vista de la economía nacional.-

Haciendo un estudio exhaustivo de los mejores antioxidantes que se conocen para la grasa de cerdo y poniendo cada uno de ellos frente a las posibilidades de obtención en el país, llegamos a la conclusión que los de más actividad y más accesibles son: el ácido nordihidroguayardílico y los diferentes galatos. (Los tocoferoles los descartamos por las dificultades de obtención y conservación que involucran).-

El ácido nordihidroguayardílico, como vimos en el capítulo respectivo, es uno de los constituyentes del arbusto que crece tan abundantemente en tierras argentinas, llamado vulgarmente "jarilla" (*Larrea divaricata*). La consecuencia su aprovisionamiento no constituiría ninguna dificultad, a no ser por el hecho de que, hasta la fecha y en nuestro país, no se ha podido obtenerlo en forma cristalizada del mencionado arbusto. Sin embargo existe la patente americana (263) que ofrece grandes posibilidades y con la cual pueden obviarse las dificultades mencionadas. Actualmente nos encontramos trabajando en la separación de este producto de las variedades argentinas de jarilla y las conclusiones se han de publicar separadamente, pues constituyen un trabajo que excede los alcances de esta tesis.-

El ácido nordihidroguayardílico ha sido

usado en numerosos trabajos como antiácido de la grasa de estero (244), (245), (246) y ha demostrado ser el mejor de los conocidos hasta ahora con estos fines (247). Por ello lo hemos elegido también como punto de comparación, para las otras sustancias probadas. El producto que se utilizó en este trabajo fue el NDCS, elaborada por Nordigard Corporation, Chicago 12, Illinois.-

Con respecto a los diferentes galatos, se intentó sintetizarlos por las técnicas originales, pero ello en algunos casos no fue posible debido a las dificultades de conseguir algunas drogas en el orden nacional, teniendo muy especialmente en cuenta que pensamos aconsejar la preparación a estas sustancias en escala industrial. Fue por ello que dedicamos un cierto tiempo de nuestro trabajo al estudio de los métodos que presentaban esas dificultades, consiguiendo un resultado muy satisfactorio; pues si bien disminuyó algo el rendimiento en el producto final, ello se vio suplido por el más bajo costo de las drogas empleadas y la facilidad de adquirirlas en el mercado local.-

Los galatos sintetizados fueron los de etilo, propilo, butilo y dodecilo. Las técnicas empleadas y respectivas modificaciones, fueron las siguientes:

Galato de etilo: Esta sustancia fue preparada originalmente por Bojwiencky y Harbutt (243) de la siguiente manera:

Se calienta a reflujo 15 g de ácido gálico, juntamente con 40 g de alcohol etílico y 3 g de ácido sulfúrico, durante 4 ó horas. Luego de enfriar el líquido, se neutraliza el ácido con carbonato de bario y se elimina el exceso de alcohol empleando por simple evaporación. El residuo se extrae con éter (empleando 100 g de éter cada vez). La solución éterea del éster se evapora a sequedad y el éster es recristalizado luego por agua caliente.-

Originalmente se obtuvieron 13 g de éster y un rendimiento de un 76%. -

Modificaciones: las cantidades empleadas fueron: 10 g de ácido gálico, 100 ml de alcohol etílico y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se calentó a reflujo durante 5 horas, se dejó enfriar y se eliminó el exceso de alcohol a baño maría. Se tomó luego el ester con agua caliente, se enfrió con hielo y se filtró por Buchner.-

Se obtuvieron 7 g de ester, con un rendimiento del 61% P.F. = 150°C.-

Galato de propilo: Clarke y colaboradores (249) prepararon esta substancia operando de la siguiente manera: Una mezcla de alcohol propílico (50 ml), ácido sulfúrico (1 ml) y ácido gálico (17 g.) fué calentada a reflujo durante 4 horas y luego concentrada bajo presión reducida. El residuo fué luego cristalizado con agua y secado a 60° C.-

Modificaciones: Es un ester bastante soluble en agua, fué por ello que no creímos necesaria ninguna modificación, puesto que su cristalización es buena. P.F. = 146° C.-

Galato de butilo: el método original de Christensen (250) consiste en saturar con cloruro de hidrógeno ex. co, una suspensión de 25 g de ácido gálico en polvo en 100 ml de alcohol butílico, enfriando todo el sistema con hielo. La mayor parte del sólido se disuelve y queda solo un precipitado blanco. Se deja en esta forma durante una noche y al otro día se reflujo durante 4 horas; el sólido se disuelve completamente. Se vuelve a enfriar y saturar con cloruro de hidrógeno y vuelve a aparecer el precipitado.-

Al día siguiente el solvente se elimina por evaporación, el sólido se suspende en 25 ml de agua y se extrae con éter en tres porciones de 50 ml cada vez. La solución éterea se trata con carbonato de bario y se evapora a sequedad. Se obtienen 30 g. de galato de butilo puro, que con una posterior purificación con cloroformo forma cristales blancos.-

Modificaciones: se procuró eliminar el éter de las operaciones, tomando el producto con agua caliente y luego enfriando, y

filtrando por Buchner. Así se consiguió obtener el producto cristalizado que era bastante ligero. Por ello se purificó luego, de acuerdo a la técnica que propone el autor, tomando con acetona en caliente y agregado luego este extracto, con agitación cuidadosa, a un gran volumen de agua-hielo. El producto así formado tiene agua de hidratación que pierde a 100° C. P.F. 142°C.-

Estere de dodecilo: Ault y colaboradores (251) prepararon los esteres del ácido gálico correspondientes a los alcoholes que van del n-etil al n-otodocil (C_2-C_{12}). Entre todos ellos eligieron el ester dodecilo, pues este alcohol es fácilmente accesible en el país; se conoce también como alcohol láurico.-

51 g de ácido gálico anhídrido y 112 g de alcohol n-dodecílico, se refluxan lentamente en 335 ml de anisol y 31 ml de nitrobeneno, en presencia de 2,5 g de ácido β -naftaleno sulfónico durante 20 hs. El refluxo se hace de manera tal de poder separar el agua que se forma. En las condiciones usadas el ácido gálico no se disuelve completamente.-

La mezcla de solventes es luego eliminada por corriente de vapor hasta que una considerable cantidad de alcohol sin reaccionar sea arrastrada. La eliminación del catalizador es innecesaria. El producto se disuelve en un litro de beneno, se lava con agua para eliminar el exceso de gálico y catalizador y se precipita por adición de eter de petróleo. Se obtiene un rendimiento de 73,6 g de ester crudo. Una cristalización adicional de la mezcla beneno-eter de petróleo produce 67,8 g (66,8% del teórico).-

Modificaciones: En este caso hemos debido extraer los cuidados y efectuar una serie grande de modificaciones, para poder eliminar todos los inconvenientes surgidos. En primer lugar debimos elegir otro solvente, por cuanto el anisol es un producto casi inaccesible en el mercado local; luego de probar con varios solventes se prefirió el xilol, por tener el punto de ebullición más próximo. Luego como catalizador utilizamos el ácido sulfúrico, ya que, en las condiciones de trabajo puede andar perfectamente sin

mayores inconvenientes de carbonización y de esta manera eliminamos otro producto difícil de conseguir, como es el ácido naftaleno-sulfónico.-

En consecuencia el método quedó de esta manera: se colocan en el balón 25 g de ácido gálico, 55 g de alcohol dodecílico, 200 ml de xilol, 15 ml de nitrobeneno y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se calienta a reflujó durante 20 horas, separando el agua, evitando el uso de un tubo de ancluzat. Se elimina el solvente por arrasto con vapor de agua y el producto que queda en el balón en forma de una masa gruesa, se vuelca sobre un gran volumen de agua. Se separa el gel por filtración y se evapora en estufa a 60-65°C. Se extrae el ester con benzol en caliente hasta solubilización total. Se filtra, siempre en caliente y se recoge en un Erlemeyer que se enfría para hacer reaparecer el gel. Se filtra por Buchner, se lava varias veces con eter de petróleo y se seca al vacío.-

En esta forma hemos obtenido un producto muy puro (P.F. = 95°C) aunque el rendimiento fué bastante escaso debido a las dificultades en algunas etapas de la operación (43%).-

Acido gálico: En todas las preparaciones anteriores, y luego también en las pruebas del poder antioxidante, se usó un ácido gálico puro, que a su vez fué purificado por recristalización de la solución acuosa, decolorada con carbón. Los cristales se trituraron a polvo y se calentaron en estufa a 120°C durante 4 hs. para eliminar el agua de cristalización. P.F. = 140°C.-

Acido cítrico: El sinérgico elegido por ser también el más barato y que mejor acción tiene sobre los antioxidantes preparados fué el ácido cítrico. Se utilizó la droga preparada por Mallinckrot Chemical Works, triturada en mortero a polvo fino y secada en secador sulfúrico durante varios días. P.F. = 165°C.-

----- (-----)

CAPITULO IV

PARTE II

DETERMINACION DE LA ACCION ANTIOXIDANTE

Para llegar a determinar la acción antioxidante de las sustancias que habíamos preparado, podíamos haberlo agregando dichas sustancias al sustrato elegido (en este caso grasa de cerdo). Y luego esperar el tiempo necesario, dejando la grasa en las condiciones normales de almacenamiento, hasta que la misma se enranciera. Sin embargo este procedimiento no es el más aconsejable en este caso, pues el ensayo llevaría varios años y se perdería el objetivo en la gran demora que implica llegar a tener una grasa rancia a la cual se le ha agregado un antioxidante. Por ello es que, las técnicas modernas sugieren la conveniencia de los ensayos acelerados, para provocar en esta forma la oxidación de la grasa y medir así el poder antioxidante de las sustancias elegidas.-

La oxidación de la grasa puede ser acelerada de varias maneras, como ser elevando la temperatura, incrementando la velocidad del oxígeno suministrado a ella, sometiéndola a una fuerte irradiación o añadiéndole sustancias prooxidantes. El curso de la oxidación puede entonces ser seguido por medida del oxígeno absorbido, detectando o midiendo el desarrollo de los productos de oxidación químicamente o detectando el desarrollo de la rancidez organolépticamente.-

Nuestro trabajo lleva también como objetivo brindar a las oficinas encargadas del control bromatológico de las materias grasas, un criterio rápido, exacto, sencillo y exacto que les permita comprobar si una sustancia de este tipo que se expone para el consumo de la población, se encuentra ranciada. Fue por ello que elegimos como método de oxidación acelerada el calentamiento de la grasa a la temperatura de 100°C, en una estufa común de laboratorio con termostato. Y como medida de la rancidez la determinación de peróxidos por el método de Aholor modificado, acompañado de pruebas organolépticas de olor y sabor, como simple dato ilustrativo.-

Este método de enranciamiento acelerado se eligió, como hemos dicho anteriormente, a los efectos de poder

completar el trabajo en un tiempo prudencial y luego de haber constatado, de acuerdo a la bibliografía consultada (239) (243), que el mismo da resultados aceptables y que pueden compararse con lo que se obtienen en las condiciones normales de almacenaje de la grasa.-

No obstante ello y para poder tener la seguridad de que el método elegido estaba de acuerdo con lo que ocurre en la realidad, se efectuaron también determinaciones con muestras de grasas que se conservaron en las condiciones que comúnmente se observan en los locales de venta; como vamos a ver más adelante, los resultados obtenidos fueron completamente satisfactorios.-

Se procuró también, y para mayor seguridad en la adopción del método en estudio, efectuar un ensayo de acelerado bajo otras condiciones.-

De entre los mejores métodos que se mencionan en la literatura a tal efecto, se procuró utilizar el de King, Roschen, Irwin, detallado en la página 59 y practicado en nuestro país por Romano Yelour y Szabo (234) sin embargo el mismo tiene la gran dificultad de su instalación costosa y sobretodo la calibración de los tubos para poder dar una cantidad de burbujas de aire siempre uniforme. Con tal motivo nos trasladamos al laboratorio del Frigorífico Swift donde este método fué modificado y es usado en la actualidad para determinar las grasas en forma acelerada.-

El método continúa siendo bastante complicado, en virtud de los numerosos detalles que hay que cuidar, para obtener resultados reproducibles. Además es un aparato costoso y que requiere una instalación que constantemente hay que vigilar.-

La modificación adoptada ha dado resultados satisfactorios, para los investigadores de poca fábrica; sin embargo el método no permite efectuar mayores comparaciones con los otros métodos comunes, más que en los resultados generales, ya que la observación se realiza, no por la medida de las pérdidas, sino por la lectura de la presión negativa en el interior del aparato.-

A pesar de esta circunstancia efectuamos

algunas determinaciones con la grasa que utilizamos en nuestro trabajo, obteniendo la curva que se acompaña. En este caso, aunque la rancidez se produjo mucho antes que en nuestro método, en virtud de operarse en una atmósfera de oxígeno y con constante agitación; hemos podido observar que la curva obtenida tiene un tracado similar a la que se construye con el método elegido por nosotros. En virtud de ello podemos concluir que los resultados, si bien obtenidos con otras magnitudes, son concordantes.-

En consecuencia, y teniendo en cuenta los trabajos efectuados utilizando el método de absorción de oxígeno, ya se comprobó el efecto antioxidante de algunas sustancias (255), considerando que nuestro trabajo ensaya una técnica mucho más sencilla e igualmente exacta, adoptamos el método ya detallado, de calentamiento en estufa a 100°C.-

Substrato: Se trabajó con grasa de cerdo recientemente preparada, marca "Swift" y elaborada fundiéndola con vapor, la cual, de acuerdo a las especificaciones registradas oportunamente, corresponde a "Prime Standard Lard". Ahora bien ajustándonos a la designación establecida por las "Normas IRAM", este producto se conoce en nuestro mercado con el nombre de "grasa de cerdo comestible" (256). Efectuamos también el análisis de cata gram, a los efectos de tenerla perfectamente caracterizada. El mismo día el siguiente resultado:

Peso específico a 25°C.	0.9150
Humedad %	0.10
Ácidos grasos libres %	1.00
Titer	59°C
Punto de fusión	36°C
Índice de iodo	88
" " saponificación	190

El índice de peróxidos inicial de esta grasa, fué de 3 milímetros por kilo de material. Al comenzar las experiencias, se tomaron 5 Kg. del producto que se conservaron durante

te todo el tiempo que duró el trabajo, en la heladera, en oscuridad, fuera del contacto del aire y a la temperatura de 10°. A medida que fue necesario se fueron tomando las muestras requeridas evitando que el resto del producto sufriera alguna variación en sus condiciones de conservación.-

Antioxidantes: Fueron usadas las sustancias que se mencionaron anteriormente; a saber: ácido nordihidroguayurúico, elaborado por la Nordigard Corporation, Chicago 18, Illinois. Ácido gálico, purificado en la forma mencionada, galatos de etilo, propilo, butilo y docéilo preparados por nosotros, también en la forma descripta.-

Emulsificación: Las muestras de grasa se colocaron en cristalizadores con pico de 4 cms. de altura y $7\frac{1}{2}$ cms. de diámetro, siempre en la misma cantidad, que se fijó en 50 g. por vez. Estos cristalizadores se colocaron en la estufa calentada a $100^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. A intervalos regulares de tiempo se retiraron 2 ml de la grasa fundida, siempre con la misma pipeta, los esboles se colocaron en un Erlenmeyer con tapa, tarado y se controló el peso de la muestra. Se determinó el contenido en peróxidos, como se verá seguidamente. Al mismo tiempo dos o tres gotas de la grasa fundida se colocaron en un vidrio de reloj y se tomó el sabor y olor de la misma.-

Determinación de peróxidos: Se utilizó el método de Wheeler que se detalla en la página 71 adaptado a los mejores resultados de este trabajo. En definitiva el método quedó de esta manera: 2 ml de la grasa fundida (aproximadamente 1,50 g) se colocaron en un Erlenmeyer con tapa y se disolvió con 50 ml de una mezcla de ácido acético-cloroformo (6 + 4). Se agregó 1 ml de solución saturada de yoduro de potasio y se agitó con un suave movimiento de rotación. Luego de 1 minuto, se adicionó 100 ml de agua destilada y se tituló el yodo liberado con solución valorada 0.002 N de tiosulfato de sodio, usando engrudo de almidón como indicador. El número de ml de tiosulfato por gramo de grasa, nos da directamente el peróxido en miligramos por kilo de material.-

Al mismo tiempo se practicó un ensayo en

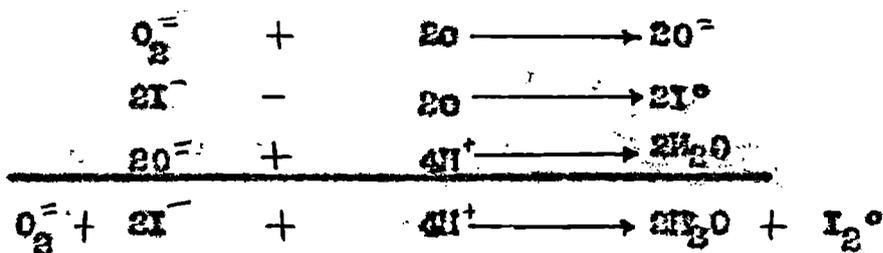
blanco, colocando todos los reactivos en las mismas cantidades de la experiencia, pero sin la grasa. Trabajando en las condiciones descritas, con reactivos suficientemente libres de sustancias reductoras no se obtuvo ninguna coloración con el engrudo de almidón en el ensayo en blanco.-

No obstante ello, en el caso que el ácido acético esté impurificado por algún reductor puede purificarse de acuerdo a las técnicas corrientes para estas cosas con una columna de destilación fraccionada (257).-

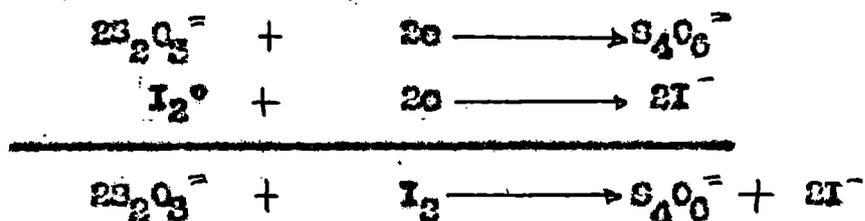
Transcribamos a continuación la serie de reacciones que se producen cuando se pone en presencia de una grasa peroxidada, una solución de yodo alcalino en medio ácido.-

El yodo de la sal es oxidado a yodo libre y el oxígeno reducido del peróxido, se combina con el hidrógeno del ácido para darnos agua.-

Las reacciones serían:



Luego el yodo es nuevamente reducido por el tiosulfato, que a su vez pasa a tetratiónato:



De acuerdo a estas reacciones, observamos que cada mol de tiosulfato se corresponde a medio mol de peróxido. En consecuencia cada ml de solución 0.003 N de tiosulfato gastado, cuando se toma 1 g de grasa, da directamente por kilo de material, el número de milímetros de peróxido que contiene.-

Preparación de soluciones: Se utilizó como solución patrón el dicromato de potasio 0.1N, el cual se preparó en esta manera:

Dicromato de potasio 0.1N: Se pulverizó 5 g de dicromato de potasio, de la mayor pureza posible, y se lo extendió luego en un vidrio de reloj, para secarlo en estufa a 130°C durante 4 horas. Se enfrió en desecador sulfúrico y se pesó al miligramo la cantidad requerida: 4,904 g. Llevando luego exactamente a volumen, cuidando antes de disolver toda la droga por agitación vigorosa.-

Tiosulfato de sodio 0.1N: Se pesó 25 g. de tiosulfato puro y se diluyó exactamente a 1 litro con agua destilada. Antes de completar el volumen se agregó a esta solución para poder conservarla en buen estado, 0,5 g de hidróxido de sodio y 1 g de benzoato de sodio. En esta forma la solución no perdió título por varias veces. Se dejó la solución en reposo durante 2 semanas y se procedió a titularla directamente con la solución de dicromato, en esta forma:

Se disolvieron 5 g de yoduro de potasio y 4 g de bicarbonato de sodio en 300 ml de agua destilada a temperatura ambiente y en un Erlenmeyer de 500 ml con tapa. Se agregó ácido clorhídrico concentrado, lentamente hasta que no hubo más desprendimiento de anhídrido carbónico al agitar; luego se añadieron 10 ml en exceso. Con una bureta se dejó caer en el Erlenmeyer 25 ml del dicromato 0.1N, exactamente medidos, mezclando luego las soluciones. Las paredes del frasco se lavaron con agua destilada, en tal forma de dejar una capa por encima de la solución. Se tapó el frasco y se dejó en reposo 10 minutos. Luego con constante agitación y utilizando la misma bureta que se menciona más arriba, se agregó el tiosulfato hasta que la solución quedó de color amarillo; se añadió en ese momento 0,5 ml de amoníaco de almidón y se continuó la lenta adición hasta desaparición del color azul, que es el índice del punto final, pues solo queda un pálido color verde del cloruro de cromo.

Tiosulfato de sodio 0.025N: Esta solución se preparó siempre en el día, partiendo de la solución anterior. Con una pipeta de doble afero se tomaron 20 ml de tiosulfato, 0.1N y se llevó a 1 litro con agua destilada.-

Amoníaco de almidón: 1 g de almidón soluble se colocó en un vaso

de precipitación y se le añaden 100 ml de agua destilada; se calentó suavemente para favorecer la total disolución, se enfrió y se envasó con el agregado de un cristalito de yoduro de mercurio (rojo) como conservador.-

Yoduro de potasio: En un vaso de precipitación se colocó 300 g de yoduro de potasio puro y se agregaron 210 ml de agua destilada. Se agitó hasta disolución. En esta forma se obtuvieron 300 ml de solución saturada de yoduro de potasio a 25°C.-

Agregado de antioxidantes: Cada una de las sustancias que se usó fue disuelta en 1 a 3 ml de alcohol etílico absoluto y en esta forma se agregó a la grasa. Una cantidad equivalente de alcohol fue agregado a la muestra de control. El solvente se eliminó calentando muy suavemente la grasa durante unos minutos a presión reducida.-

Discusión de resultados: En primer lugar procuramos determinar para las grasas que se elaboran en nuestro país, de acuerdo a las normas IRAM ya mencionadas, cual es el valor máximo de peróxidos que corresponde al estado rancio. Este hecho es muy necesario realizarlo pues en pesar de todos los trabajos que se puedan haber realizado en el extranjero, ellos tienen solo un valor relativo y comparativo, pero no absoluto. Al respecto así lo establece la "Comisión de grasas y jabones" del Instituto Argentino de Racionalización de Materiales, la cual está formada por distinguidos especialistas en el tema, cuando dice (258) "Aunque existen antecedentes extranjeros, estos solo pueden servir de orientación, ya que es necesario determinar el "valor de peróxidos para las grasas de nuestro país con características especiales".-

Esta misma comisión estudió la valoración de peróxidos y considera que es el método más adecuado para definir el estado rancio de una grasa. Sin embargo aun no fueron dadas conclusiones definitivas. Solo considera que la ingestión de grasa de cerdo con un número de peróxido máximo de 3, determinado según la norma IRAM 5551, no es peligrosa para la salud (259). En consecuencia consideramos de utilidad práctica para el país llegar a fijar

claramente cual es el valor mínimo de peróxidos, que la grasa de cerdo argentina posee cuando comienza a enranciarse.-

Para llegar a las conclusiones que luego se verán utilizamos dos caminos: Primero dejar varias muestras en almacenaje en condiciones similares a las que aproximadamente debe soportar en el comercio o en los lugares de consumo y en segundo lugar mediante el procedimiento de oxidación acelerada elegido. En el primer caso la grasa envuelta en el papel celofán con que sale a la venta se conservó en estantes de madera al abrigo de la luz y periódicamente se tomaron muestras y se determinó el índice de peróxidos de acuerdo a la técnica indicada. Los resultados obtenidos estuvieron en un perfecto acuerdo con las determinaciones que se efectuaron con las muestras sometidas al ensayo acelerado.-

Efectivamente, la grasa posee un largo período de inducción durante el cual el valor de peróxidos crece muy lentamente; sin embargo cuando finaliza este período, se inicia un brusco ascenso en el contenido de ciertos peróxidos y la grasa comienza a enranciarse. Podemos decir en consecuencia que el final del período de inducción de la grasa coincide con el comienzo del estado rancio. nuestras determinaciones, tanto para el ensayo acelerado como para el caso del almacenaje a temperatura ambiente, hemos encontrado que la grasa de cerdo argentina tiene como valor mínimo de peróxidos en el estado rancio, la cantidad de 15 milímetros por kilo de material.-

En los respectivos cuadros se podrá apreciar la correlación que hemos obtenido entre los dos métodos utilizados; pues si bien hay una diferencia extraordinaria en el tiempo que tarda la misma grasa en enranciarse, -en un caso alrededor de 180 minutos y en el otro 243 días-; observamos que la curva tiene un trazado semejante y las pruebas organolépticas fueron muy similares para fijar el valor mínimo de peróxidos que mencionamos para el estado rancio.-

Con respecto a los cuadros se se trans-

eriben, ellos corresponden a diferentes muestras de una misma partida que se conservó con las debidas precauciones hasta el final de la experiencia. Ensayos realizados con muestras correspondientes a otras elaboraciones del mismo frigorífico, dieron resultados completamente similares.-

Con referencia a los ensayos con antioxidantes solo se estudió su efecto mediante la aplicación del método de oxidación acelerada, pues como hemos dicho antes, cuando se agregan algunas de estas sustancias a las materias grasas, ellas tardan a veces varios años antes de enranciarse. No obstante ello y considerando los resultados obtenidos con la grasa natural, podemos afirmar que las determinaciones realizadas deben ajustarse a la realidad de lo que ocurre en el uso corriente en el comercio.-

Además debemos aclarar, que habiendo almacenado grasas, conteniendo los antioxidantes preparados, en las distintas proporciones usadas en el ensayo acelerado; dejando esas muestras a la temperatura ambiente, ninguna de ellas sufrió alteraciones en el sabor y olor, ni tampoco se llegó en ningún caso al final del período de inducción en todo el transcurso de la experiencia que duró 250 días en consecuencia los antioxidantes preparados fueron efectivos aun usándose en las condiciones normales de almacenaje y a la temperatura ambiente. Este ensayo fue realizado únicamente con carácter ilustrativo y de simple comparación.-

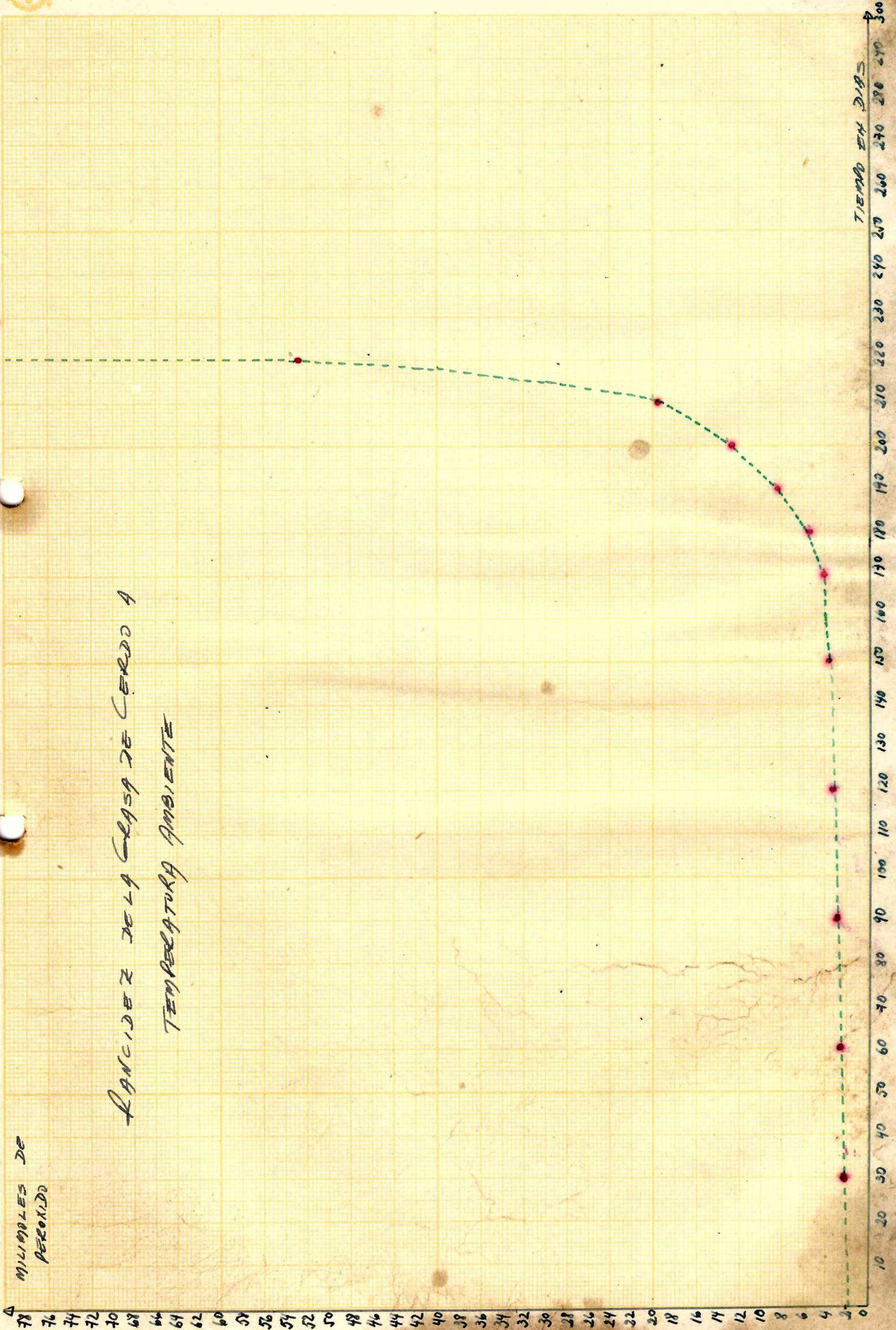
Para terminar, volvamos a destacar la importancia de estos ensayos a pesar de la que pueda haberse hecho en otros países; por cuanto los resultados obtenidos en estas experiencias nunca pueden generalizarse a las materias grasas de animales de otras naciones, aliadas en otra forma, y sometidas a procesos de elaboración muchas veces diferentes. Aunque siempre son interesantes las comparaciones, a los efectos de verificar las coincidencias y diferencias de los resultados.-

T A B L A N º 1EVOLUCIÓN DE LA GRASA DE CERDO A SU INTERACCIÓN AMBIENTE

<u>Tiempo en días</u>	<u>Miligramos de porcino %</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
0	2.00	Normal
30	2.30	"
60	2.66	"
90	2.73	"
120	3.00	"
150	3.42	"
170	4.00	"
180	5.10	"
190	8.22	"
200	12.00	"
205	16.00	Rancio
210	19.74	"
220	52.80	"

MILIMOLES DE
PEROXIDO

RANCIDEZ DE LA CLASA DE CERDO A
TEMPERATURA AMBIENTE



T A B L A N º 8REACCIÓN DE LA GRASA EN CIERNO A 100°CEXPERIMENTO N º 1

<u>Tiempo en minutos</u>	<u>Milímetros de</u> <u>porfido 50</u>	<u>Caracteres organolep-</u> <u>ticos (olor y sabor)</u>
15	3.00	Normal
30	3.70	"
45	3.97	"
60	4.06	"
75	4.23	"
90	4.43	"
105	5.00	"
120	5.90	"
135	6.00	"
150	6.00	"
165	9.03	"
180	12.10	"
195	14.03	lig. rancio
210	19.32	Rancio
225	23.07	"
240	31.37	"
255	43.90	"
260	73.16	"

TABLA N° 3REACCIÓN DE LA CENISA DE CSEDO A 107°2MUESTRA N° 2

<u>Tiempo en minutos</u>	<u>Milisecos de peróxido H_2O_2</u>	<u>Caracteres organolepticos (olor y sabor)</u>
15	2.70	Normal
30	5.20	"
45	3.32	"
60	3.97	"
75	4.06	"
90	4.23	"
105	5.79	"
120	7.10	"
135	8.09	"
150	10.82	"
165	13.14	"
180	10.00	Parcial
195	19.20	"
210	24.13	"
225	37.22	"
240	54.14	"

TABLA N° 4RANCIDEZ DE LA GRASA DE CERDO A 100°CMUESTRA N° 3

<u>Tiempo en minutos</u>	<u>Milimoles de peróxido %</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
15	2.08	Normal
30	3.07	"
45	3.20	"
60	3.30	"
75	3.82	"
90	4.00	"
105	4.60	"
120	5.07	"
135	6.12	"
150	7.23	"
165	8.96	"
180	11.00	"
195	13.15	"
210	16.23	Rancio
225	23.30	"
240	35.30	"
255	61.19	"

T A B L A N° 3RANCIEZ DE LA GRASA DE CERDO A 100°CMUESTRA N° 4

<u>Tiempo en minutos</u>	<u>Milicoles de peróxido Go</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
15	2.40	Normal
30	2.83	"
45	2.93	"
60	3.40	"
75	3.72	"
90	4.20	"
105	5.60	"
120	6.13	"
135	8.16	"
150	10.00	"
165	12.13	"
180	14.73	Hig. rancio
195	17.73	Rancio
210	21.00	"
225	31.16	"
240	46.17	"
245	71.33	"

TABLA N° 6TRANSICIÓN DE LA CLASA DE CERDO A 100°CMUESTRA N° 6

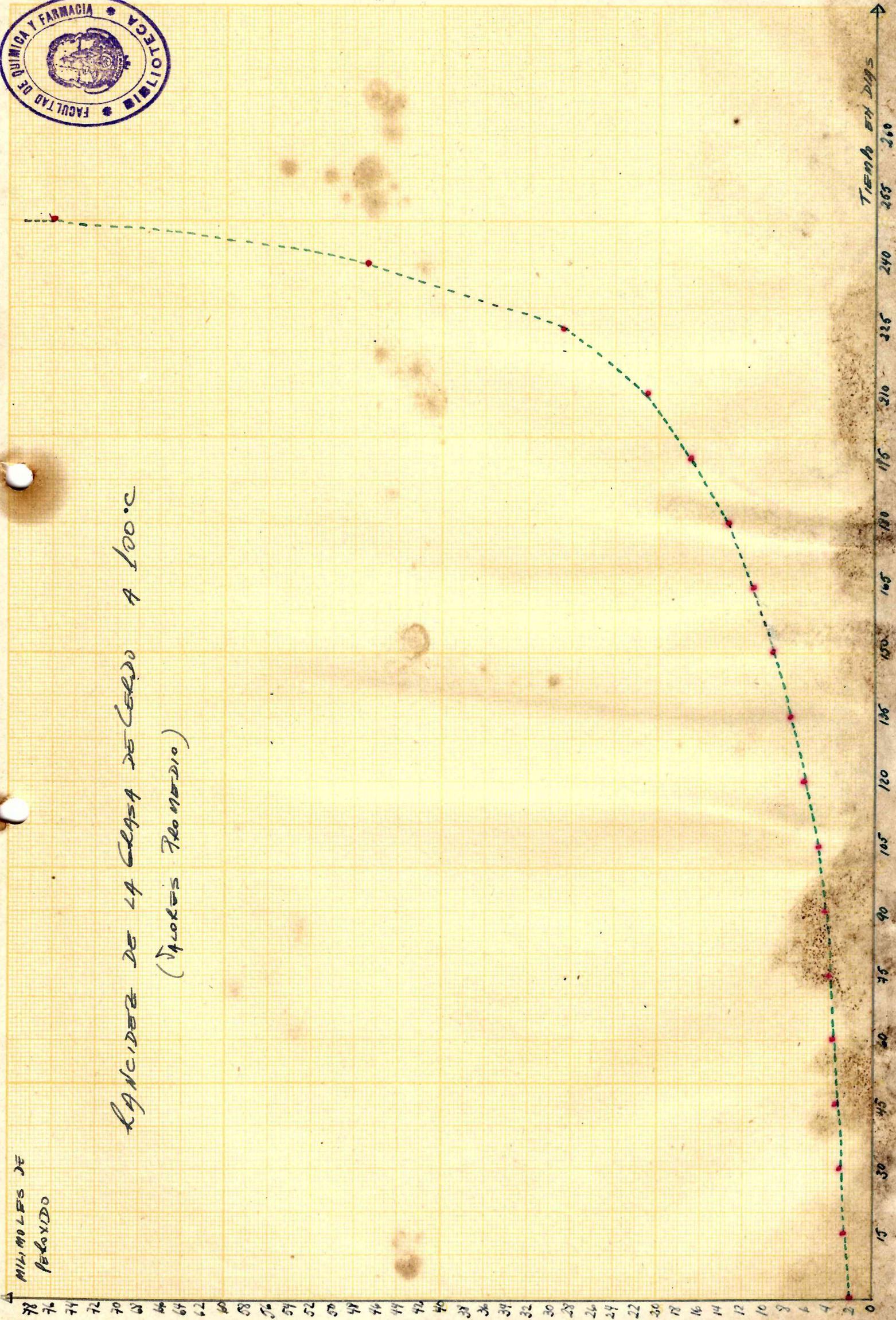
<u>Tiempo en minutos</u>	<u>Milímetros de</u> <u>peróxido %</u>	<u>Caracteres organolep-</u> <u>ticos (olor y sabor)</u>
15	2.70	Normal
30	2.96	"
45	3.23	"
60	3.53	"
75	3.81	"
90	4.03	"
105	4.32	"
120	5.00	"
135	6.73	"
150	9.00	"
165	11.03	"
180	13.19	"
195	16.00	Inicio
210	19.92	"
225	26.14	"
240	33.03	"
245	70.03	"

TABLA N° 7VARIACION DE LA GRASA DE CERDO A 100°CEXPERIENCIA N° 6

<u>Tiempo en minutos</u>	<u>Milímetro de parafina %</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
15	2.03	Normal
30	3.54	"
45	3.73	"
60	4.00	"
75	4.35	"
90	5.00	"
105	5.43	"
120	7.70	"
135	9.43	"
150	11.57	"
165	14.00	lig. rancio
180	16.73	rancio
195	20.07	"
210	20.14	"
225	33.73	"
240	43.16	"
245	62.13	"



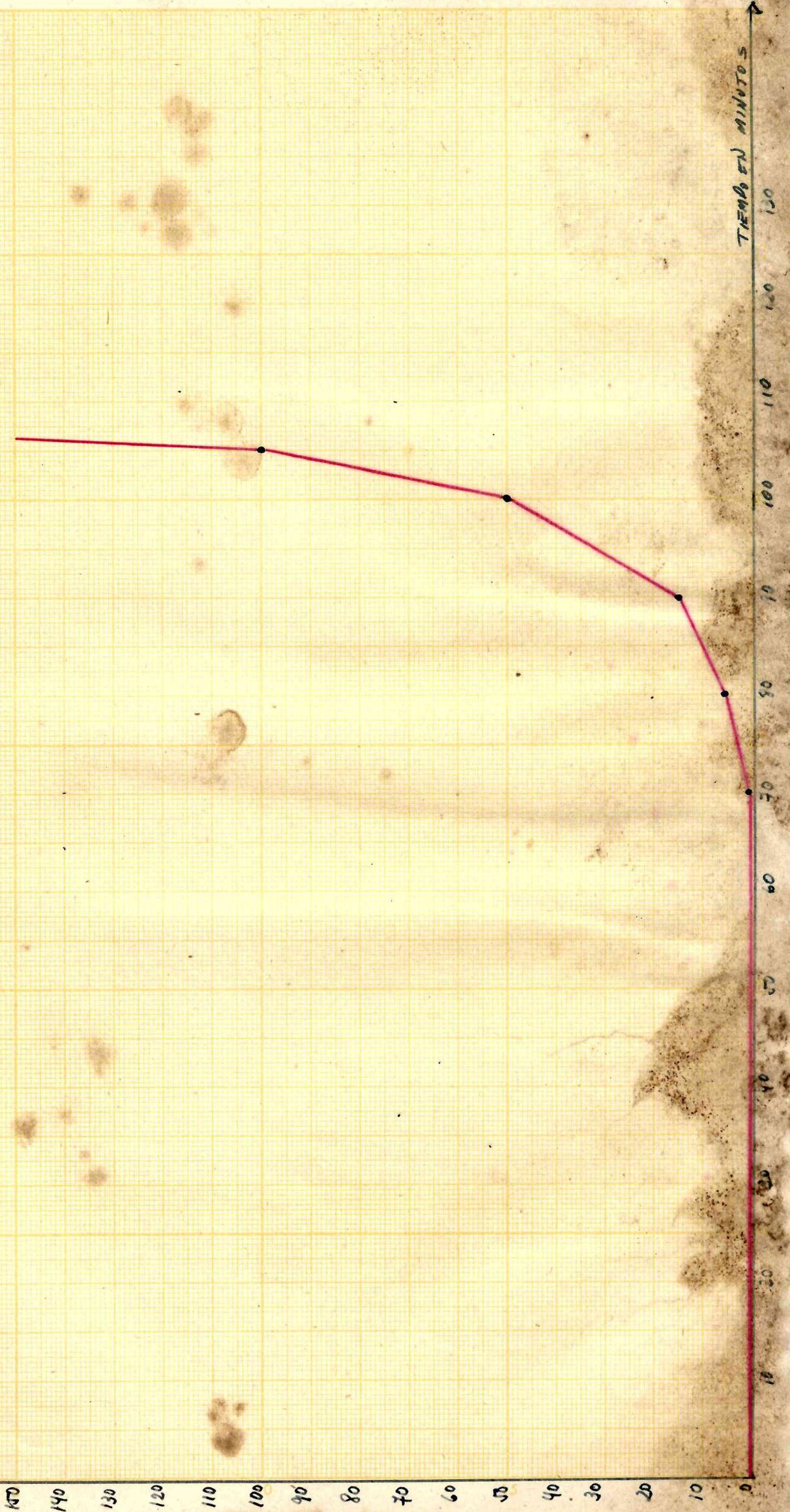
OPACIDAD DE LA CLASA DE CERDO A 100°C
(Valores Promedio)





METODO DE ABSORCION DE OXIGENO
GLASA DE CELDO

Presion negativa
mm de Hg.



TIEMPO EN MINUTOS

T A B L A N º 8ACCION ANTIOXIDANTE DEL ACIDO NORRHIDROGUAYARBITICOConcentraci3n: 0.01%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milimetros de per6xido %</u>	<u>Caracteres organolep- ticos (olor y sabor)</u>
5	2.70	Normal
10	3.23	"
15	4.05	"
20	6.33	"
25	6.65	"
30	9.79	"
35	10.23	"
40	10.98	"
50	11.07	"
60	12.23	"
70	13.00	"
80	15.13	Lig. Rancio
85	17.71	Rancio
90	20.14	"
92	42.00	"
95	77.33	"

TABLA N° 9ACCION ANTIGRIETICA DEL ACIDO NORRHIDROQUINAZOLICOConcentración: 0.05%

Tiempo en horas	Milímetros de deformación %	Caracteres organolep- ticos (olor y sabor)
5	3.00	Normal
10	4.03	"
15	5.70	"
20	7.23	"
25	9.29	"
30	10.59	"
35	11.23	"
40	12.00	"
50	12.33	"
60	13.00	"
70	13.93	Hg. rancio
80	15.23	E
90	18.79	Rancio
100	23.14	"
105	29.19	"
110	35.23	"
120	52.16	"
122	70.19	"

T A B L A N º 10ACCION ANTIOXIDANTE DEL ACIDO NORDIETILPICOINAMINICOConcentración: 0,1%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>milimoles de peróxido %</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
5	2.50	Normal
10	3.07	"
20	4.06	"
30	4.70	"
40	5.63	"
50	6.23	"
60	7.03	"
70	7.93	"
80	8.20	"
90	8.63	"
100	10.16	"
110	11.29	"
120	13.00	"
130	17.12	Rancio
140	23.30	"
145	35.15	"
150	54.33	"
155	71.20	"



MILIMILES DE
PEROXIDO

ACCION ANTIOXIDANTE DEL
ACIDO NORDIHIDROGUAYARETICO

- - - 0.01 %
 - - - 0.05 "
 - - - 0.1 "



TIEMPO EN HORAS

TABLA N° 21ACCION ANTIOXIDANTE DEL ACIDO GALICOConcentración: 0,01%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Millimoles de peróxido %</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
2	2.38	Normal
4	3.00	"
6	3.75	"
8	4.16	"
10	5.00	"
12	5.33	"
14	6.40	"
16	7.06	"
18	8.00	"
20	10.08	"
22	11.73	"
24	13.18	"
26	16.08	Rancio
28	19.96	"
30	27.90	"
32	41.18	"
34	75.00	"

T A B L A N º 23ACCION ANTIOXIDANTE DEL ACIDO GALICOConcentraci3n: 0.031

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Millimoles de oxígeno %</u>	<u>Caracteres organolep- ticos (olor y sabor)</u>
5	2.70	Normal
10	3.92	"
15	4.68	"
20	5.70	"
25	6.73	"
30	8.05	"
35	9.30	"
40	10.45	"
45	12.00	"
50	13.30	"
55	15.12	Lig. Rancio
60	16.68	"
65	19.13	Rancio
70	24.03	"
75	33.97	"
77	42.50	"
79	73.16	"

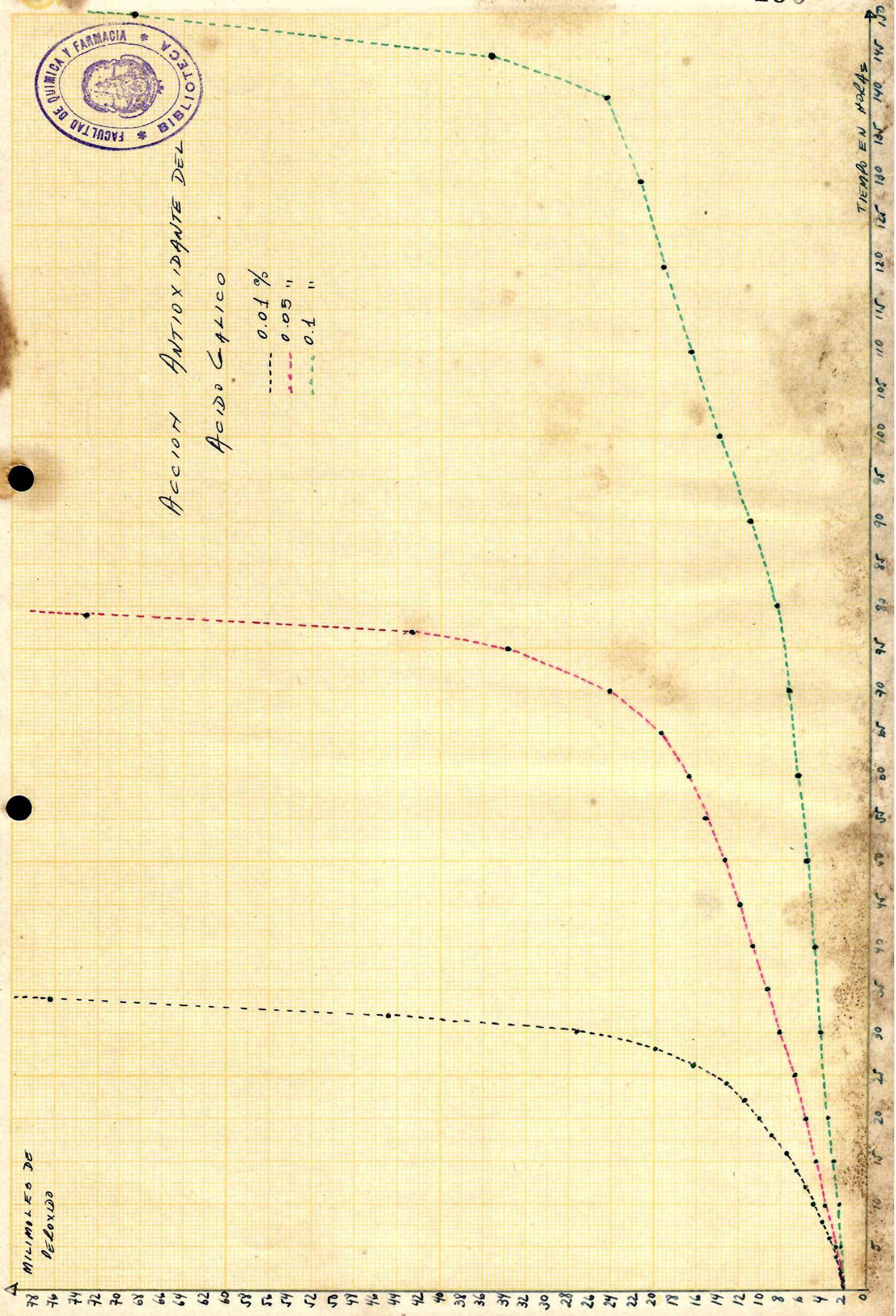
T A B L A N° 13ACCION ANTIOXIDANTE DEL ACIDO GALICOConcentración: 0.1%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milliecos 60 poróidos 60</u>	<u>Caracteres organolepticos (olor y sabor)</u>
5	2.15	Normal
10	2.74	"
15	3.16	"
20	3.03	"
30	4.13	"
40	5.00	"
50	5.97	"
60	6.55	"
70	7.33	"
80	8.57	"
90	11.02	"
100	14.00	lig. Rancio
110	16.39	"
120	19.23	Rancio
130	21.70	"
140	24.23	"
145	25.12	"
150	23.23	"



ACCION ANTIOXIDANTE DEL
ACIDO GALICO

--- 0.01 %
- - - 0.05 "
- - - 0.1 "



MILIMOLES DE
PEROXIDO

TIEMPO EN HORAS

78
76
74
72
70
68
66
64
62
60
58
56
54
52
50
48
46
44
42
40
38
36
34
32
30
28
26
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0

T A B L A N º 24ACCION ANTIOXIDANTE DEL CALATO DE BILLOConcentración: 0.01%

<u>Tiempo en horno</u>	<u>Milimoles de peróxido de</u>	<u>Caracteres organolepticos (olor y sabor)</u>
5	2.50	Normal
10	2.65	"
15	3.33	"
20	4.33	"
25	6.00	"
30	6.80	"
35	7.95	"
40	8.64	"
45	10.00	"
50	11.75	"
55	14.12	Lig. rancio
60	17.90	Rancio
65	23.22	"
70	31.00	"
75	41.99	"
80	60.00	"
85	74.92	"

T A B L A N ° 15

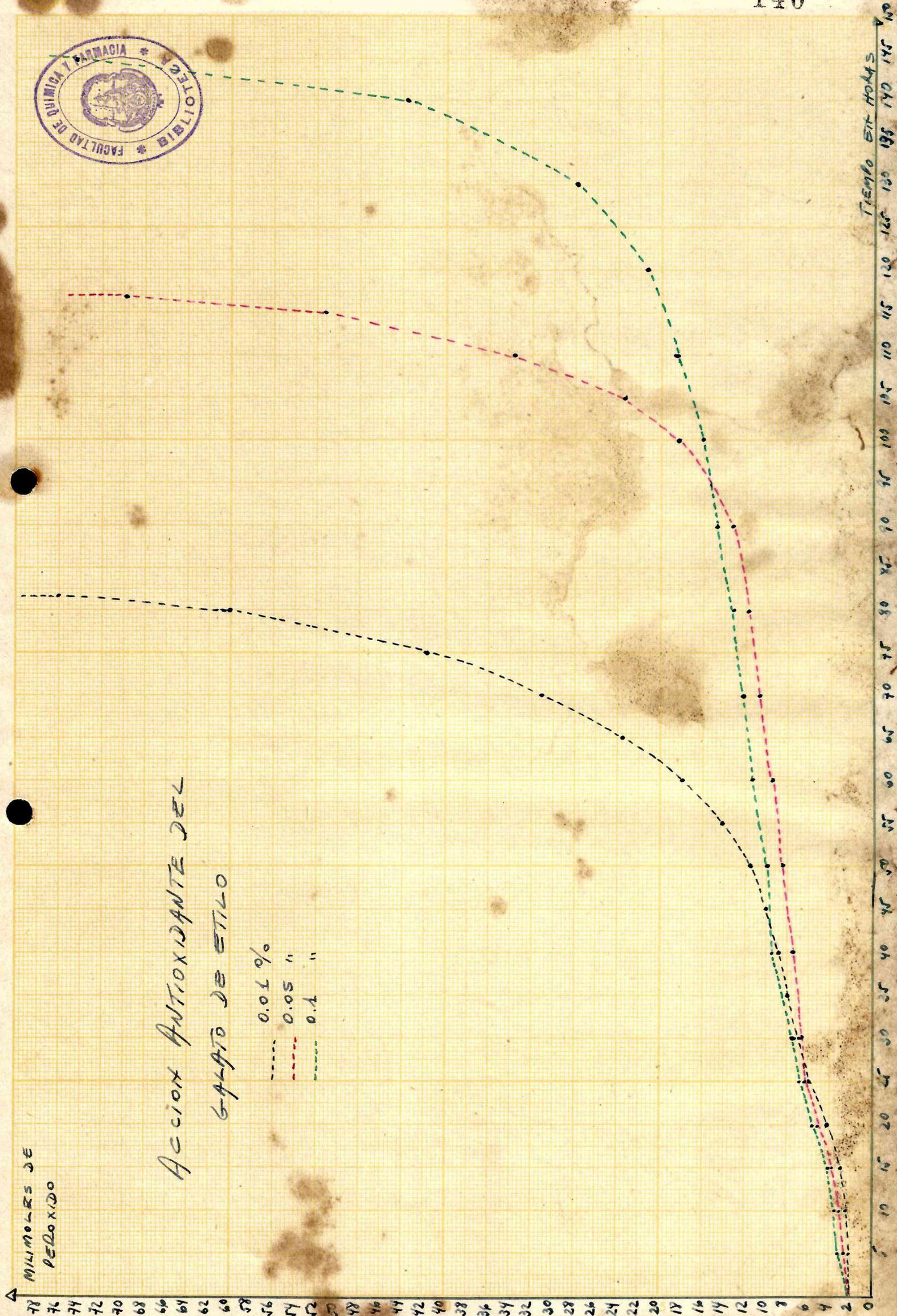
o

ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE ETILOConcentración: 0.05%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Hilicales en porcentaje</u>	<u>Caracteres orgánicos tiempos (olor y sabor)</u>
5	2.80	Normal
10	3.23	"
15	4.00	"
20	5.12	"
25	6.16	"
30	6.60	"
40	7.80	"
50	8.33	"
60	9.70	"
70	10.60	"
80	11.33	"
90	12.00	"
100	12.16	Falso
105	13.03	"
110	13.80	"
115	14.00	"
117	13.80	"

T A B L A N° 16ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE BUTILOConcentración: 0.1%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Millimoles de peróxido por litro</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
5	3.00	Normal
10	3.62	"
15	4.00	"
20	5.03	"
25	6.30	"
30	7.34	"
40	9.00	"
50	10.03	"
60	11.00	"
70	12.00	"
80	13.14	"
90	14.23	lig. rancio
100	16.03	"
110	19.25	"
120	20.90	Rancio
130	27.30	"
140	43.00	"
145	74.20	"



T A B L A N º 17ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE PROPILOConcentraci3n: 0.01%

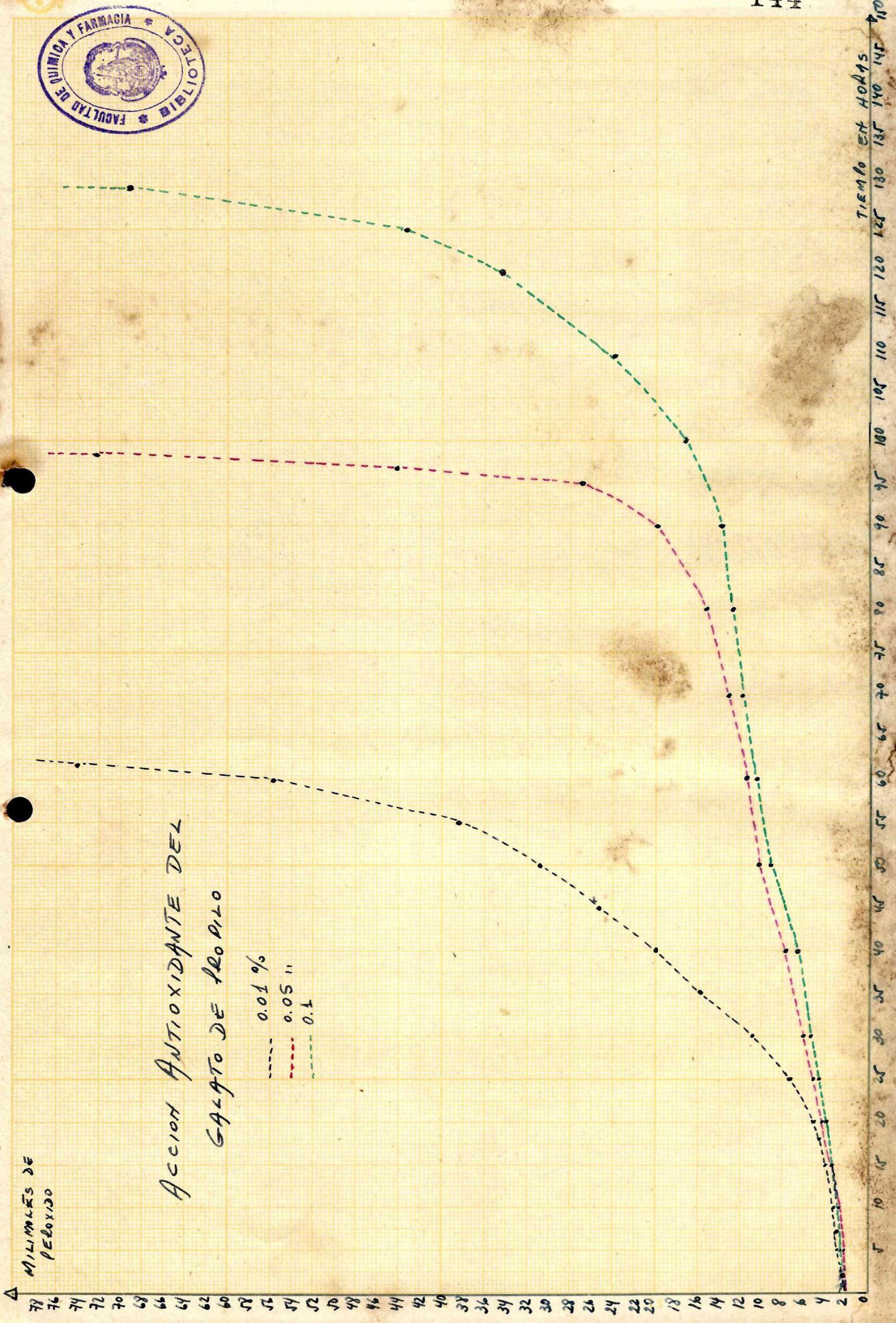
<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milimoles de per3xido %</u>	<u>Caracteros organoleu- ticos (olor y sabor</u>
3	2.16	Normal
5	2.52	"
7	2.88	"
10	3.00	"
15	3.90	"
18	4.40	"
20	5.00	"
25	7.30	"
30	10.95	"
33	13.60	Lig. Rancio
40	20.00	Rancio
45	25.05	"
50	30.05	"
55	33.15	"
60	55.27	"
63	73.00	"

T A B L A N° 15ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE PROPILOConcentraci3n: 0,03%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milimoles de per3xido 2o</u>	<u>Caracteres organolep- ticos (olor y sabor)</u>
5	2.33	Normal
10	2.90	"
15	3.53	"
20	4.00	"
25	4.60	"
30	5.90	"
40	8.00	"
50	10.12	"
60	11.33	"
70	12.66	"
80	15.26	Lig. Rancio
90	20.00	Rancio
95	27.12	"
97	44.15	"
99	72.12	"

T A B L A N° 19ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE PROPILOConcentración: 0.1%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milliecos de peróxido %</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
5	8.87	Normal
10	2.85	"
15	3.40	"
20	8.82	"
25	4.33	"
30	5.12	"
40	7.07	"
50	9.20	"
60	10.57	"
70	12.00	"
80	13.99	"
90	14.29	Lig. Rancio
100	17.63	Rancio
110	23.85	"
120	34.23	"
125	43.47	"
130	60.24	"



T A B L A N° 30ACCION ANTICOLEANTE DEL GALATO DE BUTILOConcentración: 0.02%

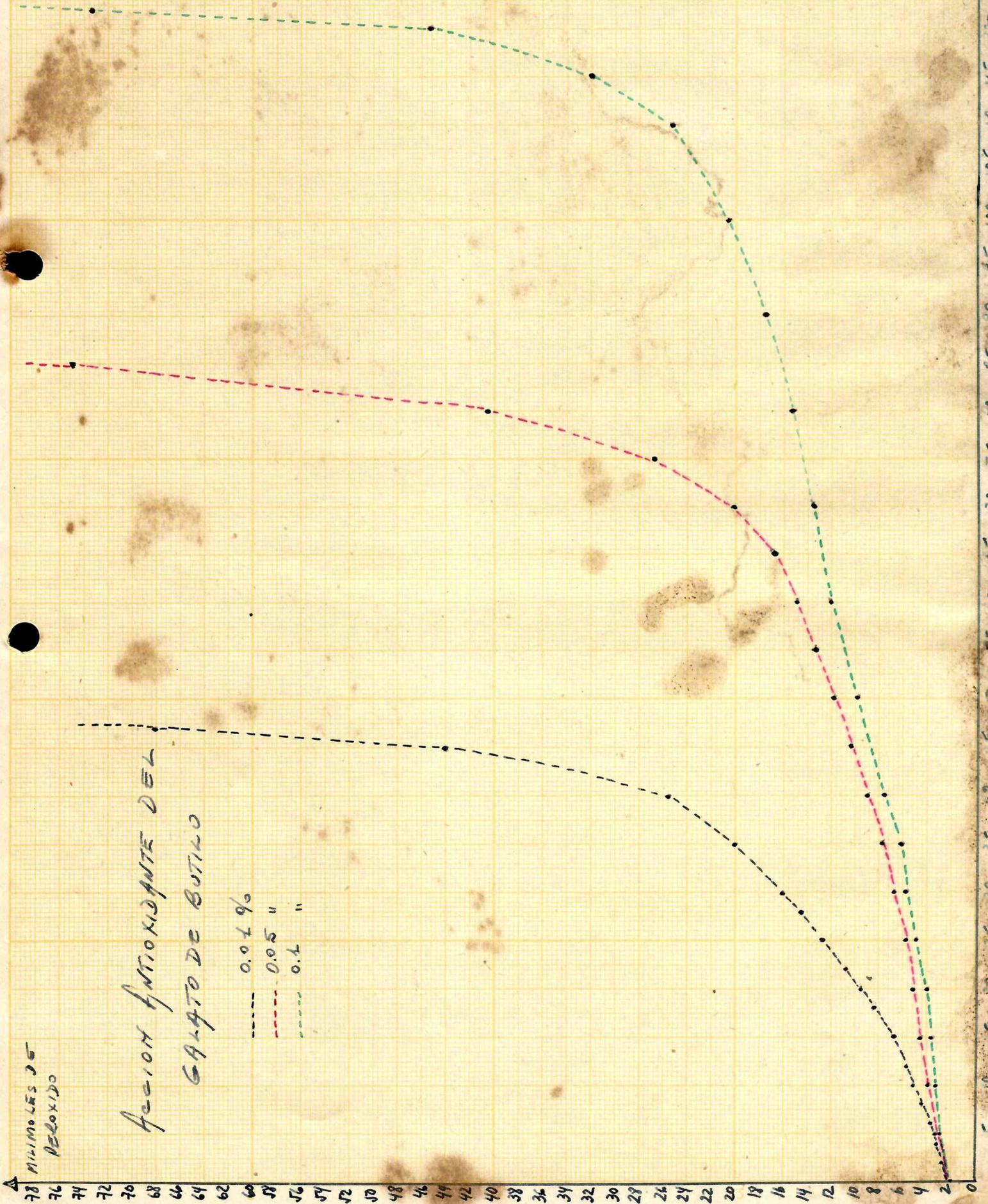
<u>Tiempo en horas</u>	<u>milímetros de recorrido %</u>	<u>Caracteres organolepticos (olor y sabor)</u>
2	2.65	Normal
4	3.00	"
6	3.55	"
8	4.04	"
10	4.90	"
13	5.38	"
15	6.25	"
18	8.00	"
20	9.14	"
23	10.43	"
25	12.52	"
28	14.63	Lig. Rancho
30	16.00	"
35	19.07	Rancho
40	23.14	"
45	44.10	"
47	63.16	"

T A B L A N° 31ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE BUTILOConcentración: 0.03%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milimoles de peróxido H_2O_2</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
5	5.20	Normal
10	5.80	"
15	4.14	"
20	4.00	"
25	5.70	"
30	6.22	"
35	7.93	"
40	9.00	"
45	10.13	"
50	11.65	"
55	13.16	"
60	14.64	Lig. Rancio
65	17.00	Rancio
70	20.13	"
75	23.02	"
80	40.33	"
85	74.93	"

T A B L A N° 22ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO EN LUSTROConcentración: 0.15

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Millioles de peróxido So</u>	<u>Caracteres organolepticos (olor y sabor)</u>
5	2.70	Normal
10	3.00	"
15	3.60	"
20	3.93	"
25	4.30	"
30	5.42	"
35	6.13	"
40	7.05	"
50	9.03	"
60	12.00	"
70	13.57	"
80	15.59	Lig. Rancio
90	17.84	"
100	21.00	Rancio
110	23.73	"
115	22.14	"
120	43.19	"
122	73.74	"



TIEMPO EN HORAS

MILIMOLES DE PEROXIDO

T A B L A N° 23ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE DORTICOLOConcentración: 0.01%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Millimoles de peróxido %</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
2	2.75	Normal
4	3.80	"
6	4.53	"
8	5.20	"
10	7.00	"
12	8.15	"
15	10.37	"
18	12.24	"
20	14.33	Lig. rancio
22	16.00	"
25	18.07	"
28	20.50	Rancio
30	22.10	"
35	26.12	"
40	30.19	"
45	45.00	"
47	73.10	"

TABLE N° 24ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE DODECILOConcentración: 0.05%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milimoles de peróxido G₂</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
5	3.00	Normal
10	3.70	"
15	4.37	"
20	5.03	"
25	6.17	"
30	7.96	"
35	9.29	"
40	11.43	"
45	12.97	"
50	14.63	Lig. Rancio
55	16.39	"
60	19.00	Rancio
65	20.84	"
70	23.15	"
75	33.00	"
78	31.24	"

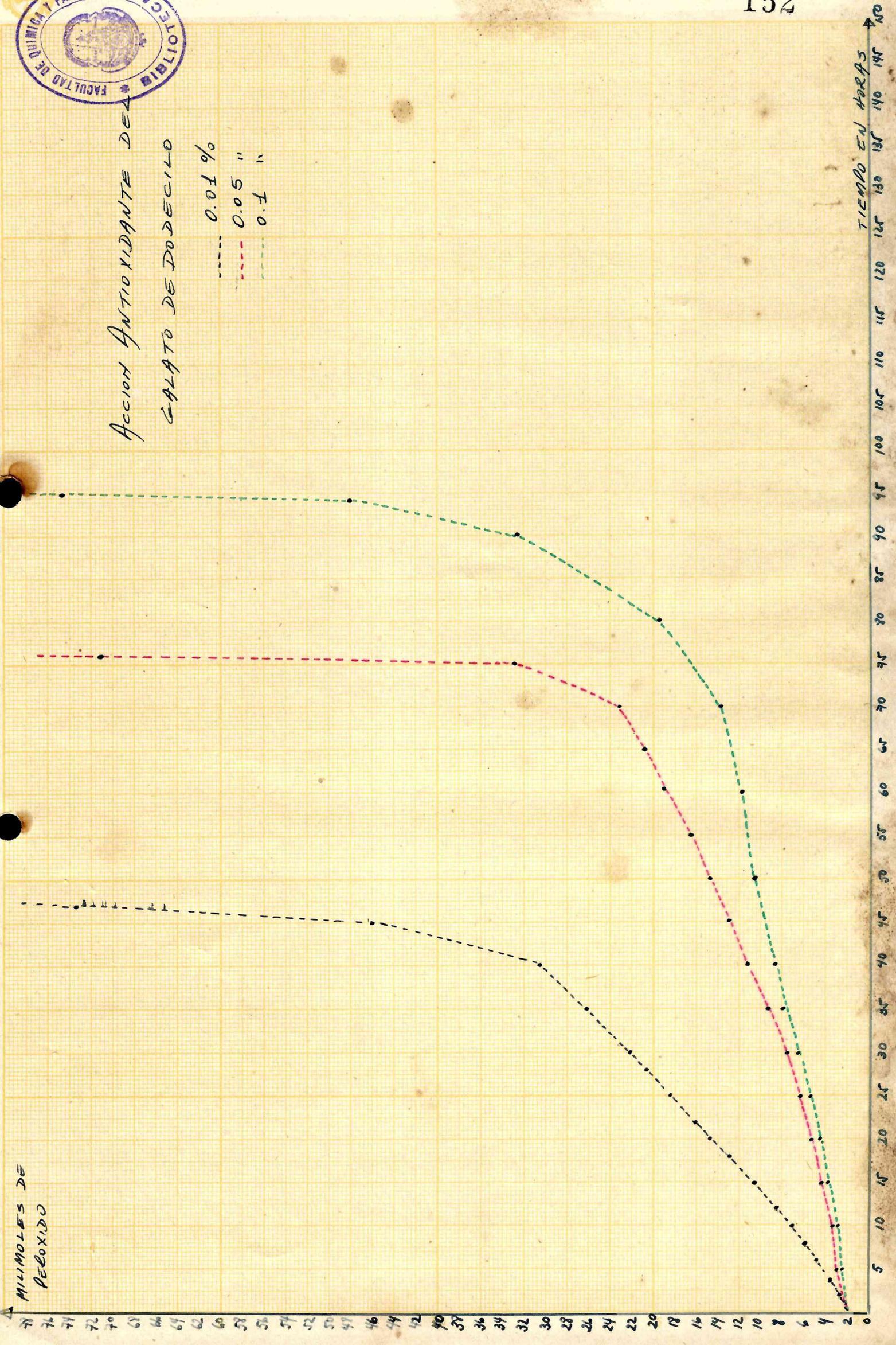
T A B L A N° 25ACCION ANTIOXIDANTE DEL GALATO DE DODECILIOConcentración: 0.1%

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milimoles de peróxido de</u>	<u>Caracteres organolep-</u>
		<u>ticos (olor y sabor)</u>
5	2.80	Normal
10	3.00	"
15	3.02	"
20	4.40	"
25	5.30	"
30	6.33	"
35	8.00	"
40	8.50	"
50	10.14	"
60	11.05	"
70	13.33	Lig. Rancio
80	19.80	Rancio
85	25.00	"
90	32.70	"
94	43.13	"
95	74.42	"



ACCION ANTIOXIDANTE DEL
GALATO DE DODECILO

0.01 %
0.05 "
0.1 "



T A B L A N º 20ACCION ANTIOXIDANTE COMPARADA DE LAS SUBSTANCIAS UTILIZADASConcentración: 0.01%

Tiempo en horas	MILIMOLES DE PEROXIDO POR KILO.					
	H.D.G.A.	Ag. Clórico	Galato de			
			Etilo	Propilo	Butilo	Dodecilo
5	2.70	3.46	2.50	2.52	3.23	4.35
10	3.23	5.00	2.63	3.00	4.00	7.00
15	4.65	7.22	3.22	3.90	6.25	10.37
20	6.33	10.00	4.33	5.00	9.14	14.53
25	8.66	14.90	6.00	7.30	12.32	19.07
30	9.73	27.00	6.80	10.93	16.00	22.10
35	10.23	33.16	7.95	15.60	19.97	26.12
40	10.96		8.64	20.00	25.14	30.19
45	---		10.00	25.00	44.10	40.00
50	11.67		11.73	30.53		
55	---		14.12	36.15		
60	12.23		17.00	55.27		
65	---		23.22			
70	13.00		31.00			
75	---		41.98			
80	15.15		60.00			
85	17.71					
90	26.14					
95	77.32					

T A B L A N° 37ACCION ANTICEDANTE COMPARADA DE LAS SUSTANCIAS UTILIZADASConcentraci6n: 0.05%

Tiempo en horas	MILIEGROS DE PEROXIDO POR KILO					
	H.D.G.A.	Ac. Gálico	Galato 60			
			Etilo	Propilo	Butilo	Dodecilo
5	3.00	2.70	2.80	2.33	3.20	3.00
10	4.03	3.82	3.23	2.90	3.80	3.70
15	5.70	4.00	4.00	3.53	4.14	4.37
20	7.23	5.70	5.13	4.00	4.00	5.03
25	9.29	6.73	6.13	4.00	5.73	6.17
30	10.50	6.03	6.63	5.90	6.22	7.96
35	11.23	9.30	----	----	7.93	9.29
40	12.00	10.43	7.30	6.00	9.00	11.43
45	---	12.00	-----	----	10.10	12.97
50	12.33	13.30	8.33	10.12	11.63	14.02
55	---	15.12	-----	---	13.16	16.33
60	13.00	16.03	9.70	11.33	14.64	19.00
65	---	19.13	-----	---	17.00	20.84
70	13.93	24.02	10.00	12.84	20.13	23.13
75	---	33.97	---	---	26.03	33.00
80	15.23	97.16	11.63	15.26	40.33	
85	---		---	---	74.03	
90	19.70		13.00	20.00		
95	---		---	27.12		
100	23.14		13.14	93.70		
105	29.19		23.43			
110	33.23		33.00			
120	52.16		112.30			

T A B L A N ° 29ACCION ANTIOXIDANTE COMPARADA DE LAS SUSTANCIAS UTILIZADASConcentración: 0.1%

Tiempo en horas	MILIMONES DE PEROXIDO POR KILO					
	H.D.G.A.	Ac. Gálico	Galato de			
			Etilo	Propilo	Dutilo	Dodecilo
5	2.50	2.15	3.00	2.27	2.70	2.60
10	3.00	2.74	3.63	2.63	3.00	3.00
15	—	3.13	4.00	3.40	3.60	3.95
20	4.00	3.33	5.03	3.62	3.98	4.40
25	—	—	6.30	4.38	4.90	5.30
30	4.70	4.12	7.34	5.13	5.42	6.30
40	5.63	5.00	9.00	7.07	7.93	8.50
50	6.23	5.97	10.03	9.20	9.63	10.14
60	7.03	6.35	11.80	10.57	12.00	11.85
70	7.95	7.23	12.00	12.00	13.57	13.93
80	8.29	8.37	13.14	12.99	15.59	15.86
90	8.85	11.03	14.33	14.19	17.04	18.70
100	10.14	14.00	16.02	17.63	21.00	
110	11.39	16.59	18.25	23.95	25.79	
120	13.00	19.23	20.90	34.25	43.19	
130	17.12	21.70	27.30	69.24		
140	23.60	24.23	43.03			
150	54.23	29.23				

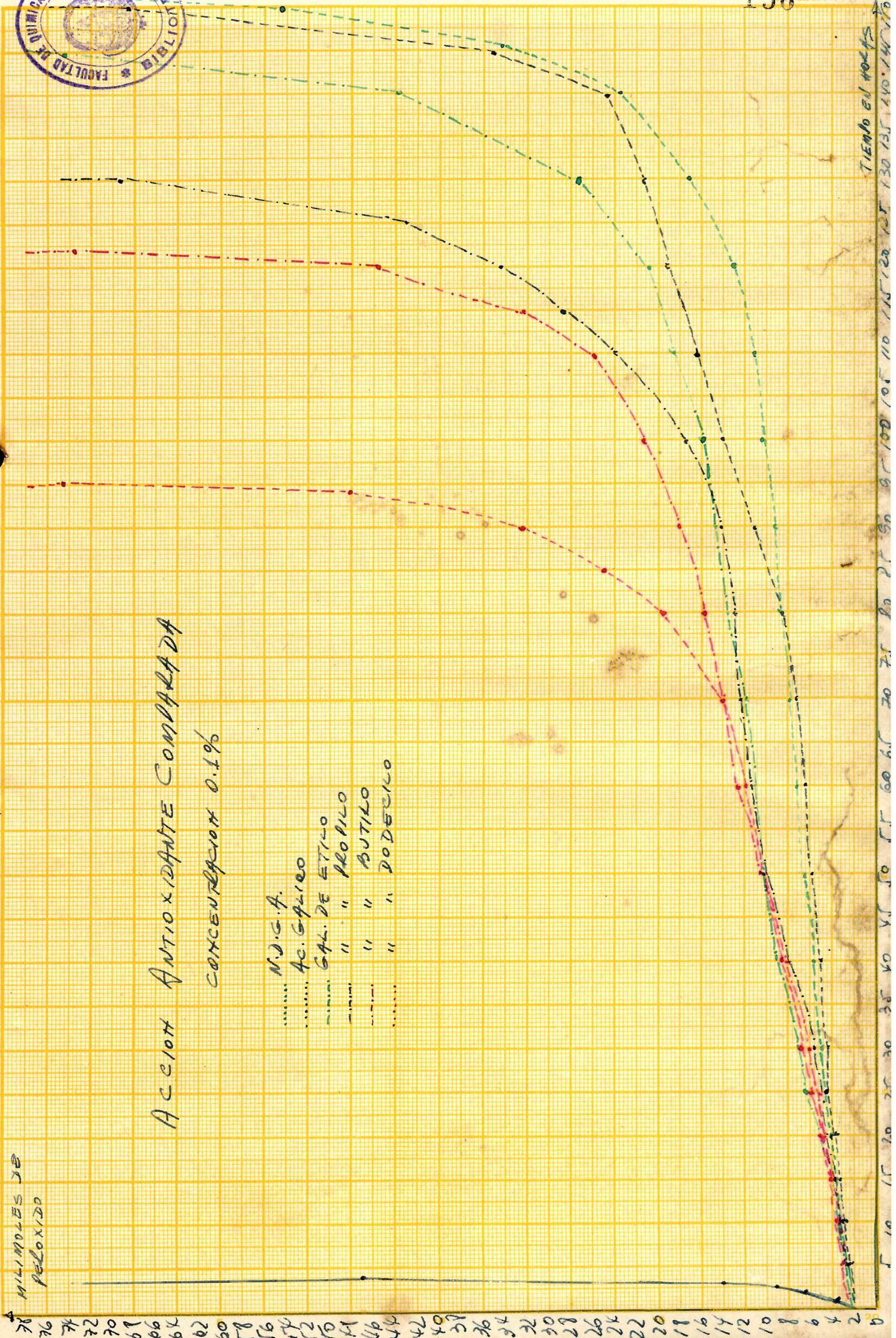


MILIMOLES DE
PELOXIDO

ACCION ANTIOXIDANTE COMPARADA

CONCENTRACION 0.1%

- N.D.C.A.
- AC. GALICO
- GAL. DE ETILO
- " " PROPILO
- " " BUTILO
- " " DODECILO



Tiempo en horas
15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145

T A B L A N° 29ACCION SINERGICA DEL ACIDO CITRICO (0.1%) SOBRE EL ACIDO BORTOHIDRO-
GUAYARSICO (0.1%)

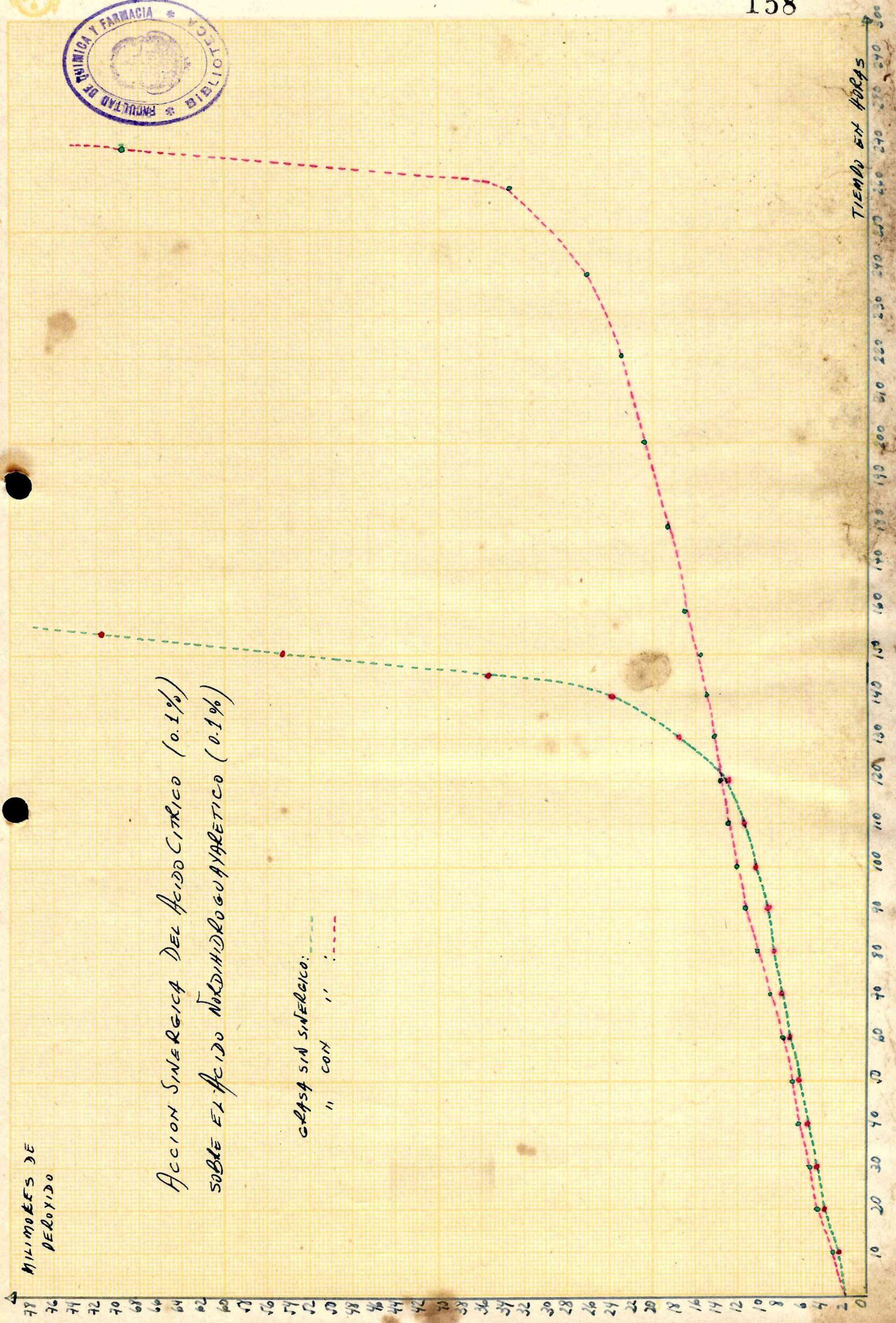
<u>Tiempo en horas</u>	<u>Hilicilos de peróxido %</u>	<u>Caracteres organolepticos (olor y sabor)</u>
10	3.20	Normal
20	4.62	"
30	5.13	"
40	5.07	"
50	6.93	"
60	7.90	"
70	8.70	"
80	10.00	"
90	11.13	"
100	12.03	"
110	12.86	"
120	13.40	"
130	14.00	Hg. Rancio
140	14.53	"
150	15.70	"
160	17.00	"
180	18.30	"
200	20.42	Rancio
220	23.19	"
240	26.10	"
260	33.57	"
270	69.10	"

MILIMETROS DE
DECOYIDO

ACCION SINERGICA DEL ACIDO CITRICO (0.1%)
SOBRE EL ACIDO NORDI-HIDROGUAYARETICO (0.1%)

GRASA SIN SINERGICO:

" CON " :

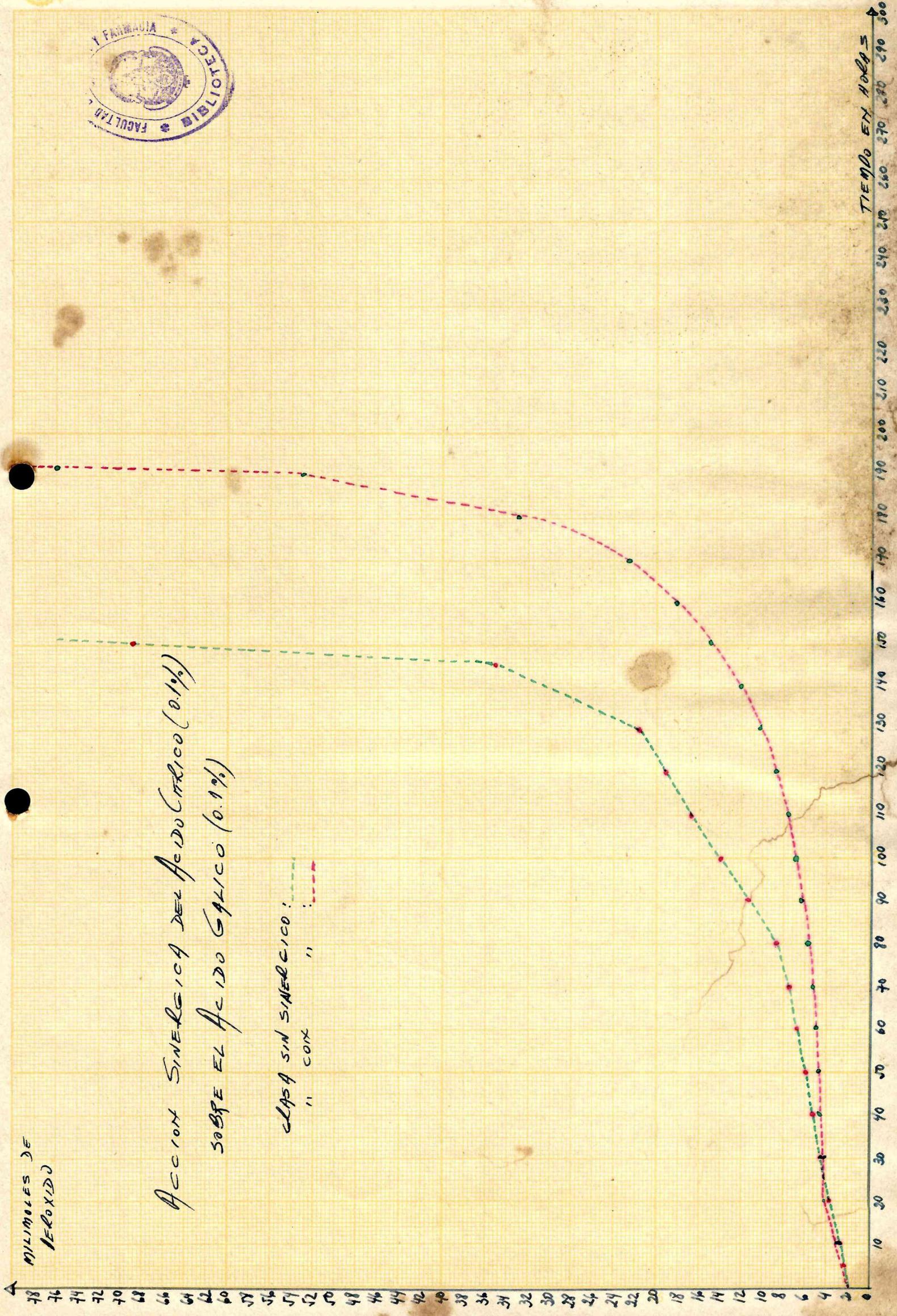


TIEMPO EN HORAS



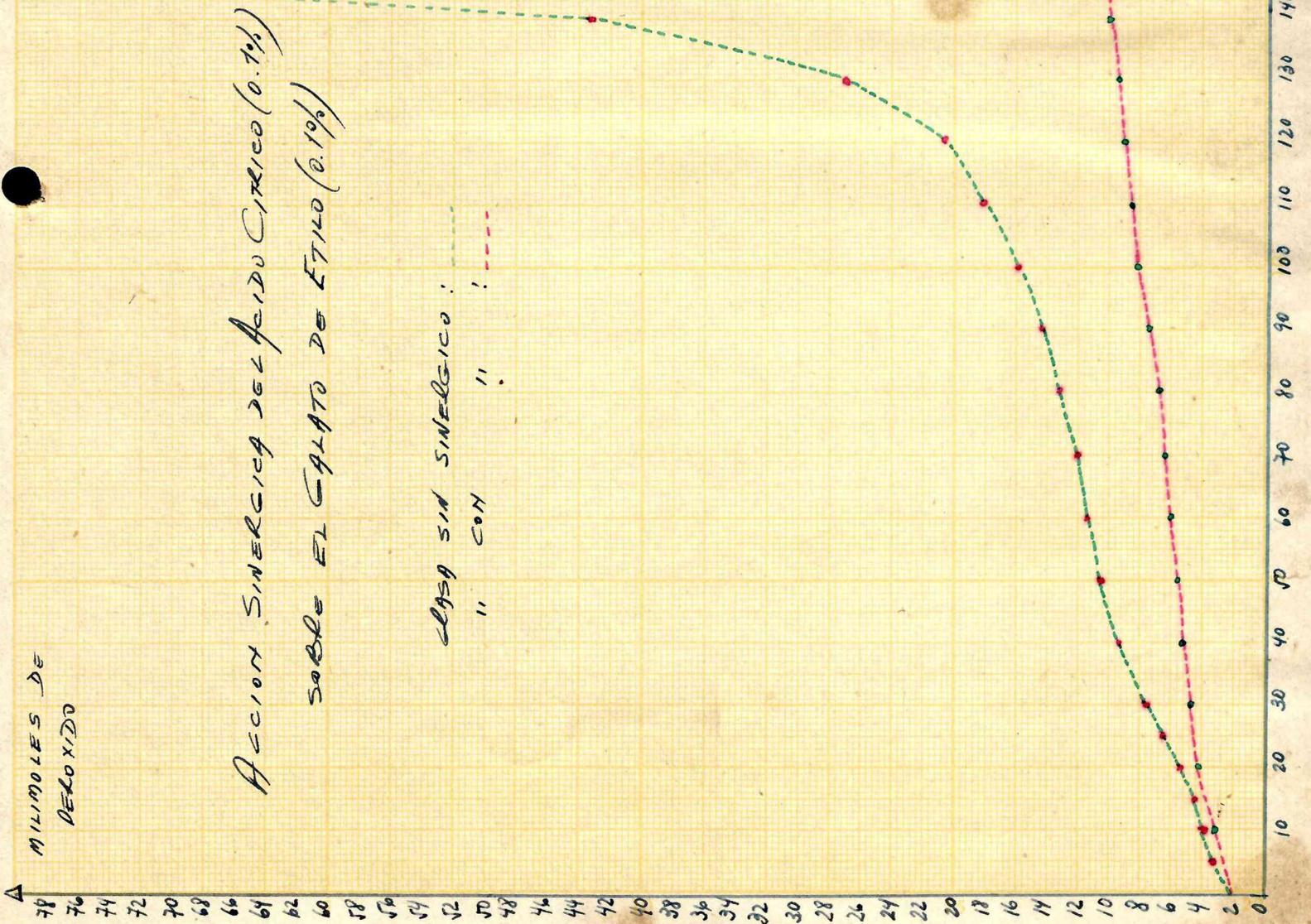
T A B L A N° 30ACCION SINERGICA DEL ACIDO CITRICO (0.1%) SOBRE EL ACIDO GALICO (0.1%)

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milímetros de recorrido %</u>	<u>Caracteres organolepticos (olor y sabor)</u>
10	2.90	Normal
20	4.00	"
30	4.22	"
40	4.60	"
50	4.82	"
60	5.14	"
70	5.63	"
80	6.00	"
90	6.39	"
100	7.02	"
110	7.25	"
120	8.79	"
130	10.33	"
140	12.03	"
150	15.00	Lig. Rancio
160	18.12	Rancio
170	22.95	"
180	33.00	"
190	53.14	"
192	73.29	"



T A B L A N º 51ACCION SINERGICA DEL ACIDO CITRICO (0.1%) SOBRE EL GUATO DE ESTILO (0.2%)

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milímetros de refracción</u>	<u>Caracteres organolépticos (olor y sabor)</u>
10	3.00	Normal
20	3.90	"
30	4.30	"
40	4.70	"
50	5.33	"
60	5.92	"
70	6.30	"
80	7.00	"
90	7.82	"
100	8.10	"
110	8.84	"
120	9.83	"
130	9.90	"
140	10.16	"
150	11.00	"
160	11.93	"
170	13.02	"
180	14.00	Lig. Rancio
190	17.30	Rancio
200	20.16	"
210	23.12	"

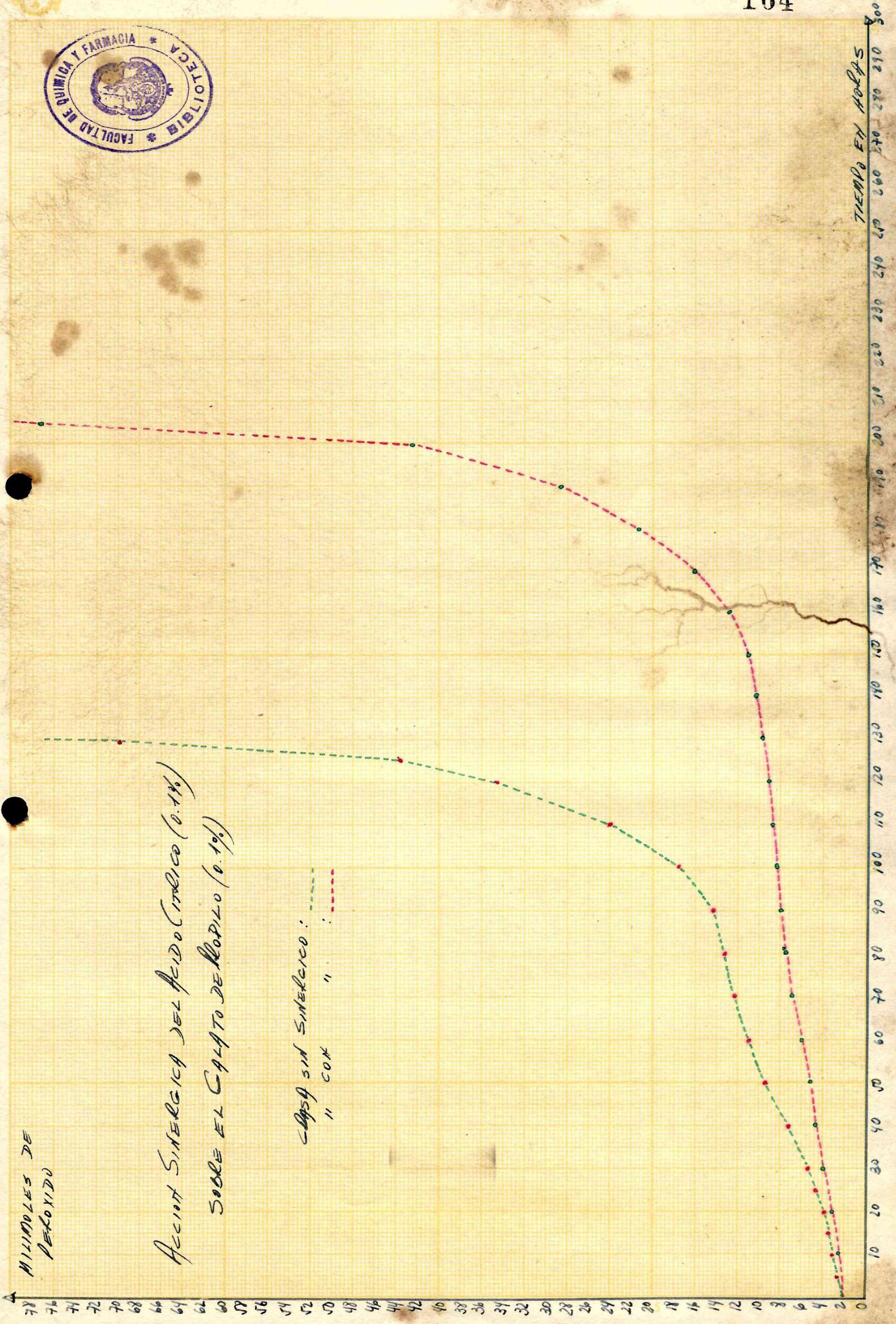


MILIMOLES DE DELOXIDO

TIEMPO EN HORAS

T A B L A N° 32ACCION SINERGICA DEL ACIDO CITRICO (0.15) SOBRE EL GALATO DE FROPILO
(0.15)

Tiempo en horas	Milimoles de peróxido %	Caracteres organolepticos (Olor y sabor)
10	2.50	Normal
20	3.00	"
30	3.20	"
40	4.50	"
50	5.00	"
60	5.67	"
70	6.40	"
80	7.23	"
90	7.60	"
100	8.00	"
110	8.33	"
120	8.90	"
130	9.57	"
140	10.00	"
150	11.22	"
160	12.57	"
170	14.80	lig. Rancio
180	21.74	Rancio
190	23.67	"
200	42.14	"
205	76.97	"



MILIMOLES DE PEROXIDO

ACCION SINERGICA DEL ACIDO CINICO (0.1%)
SOBRE EL GALATO DE KOPULO (0.1%)

capsa sin sinerisco :
" " con :

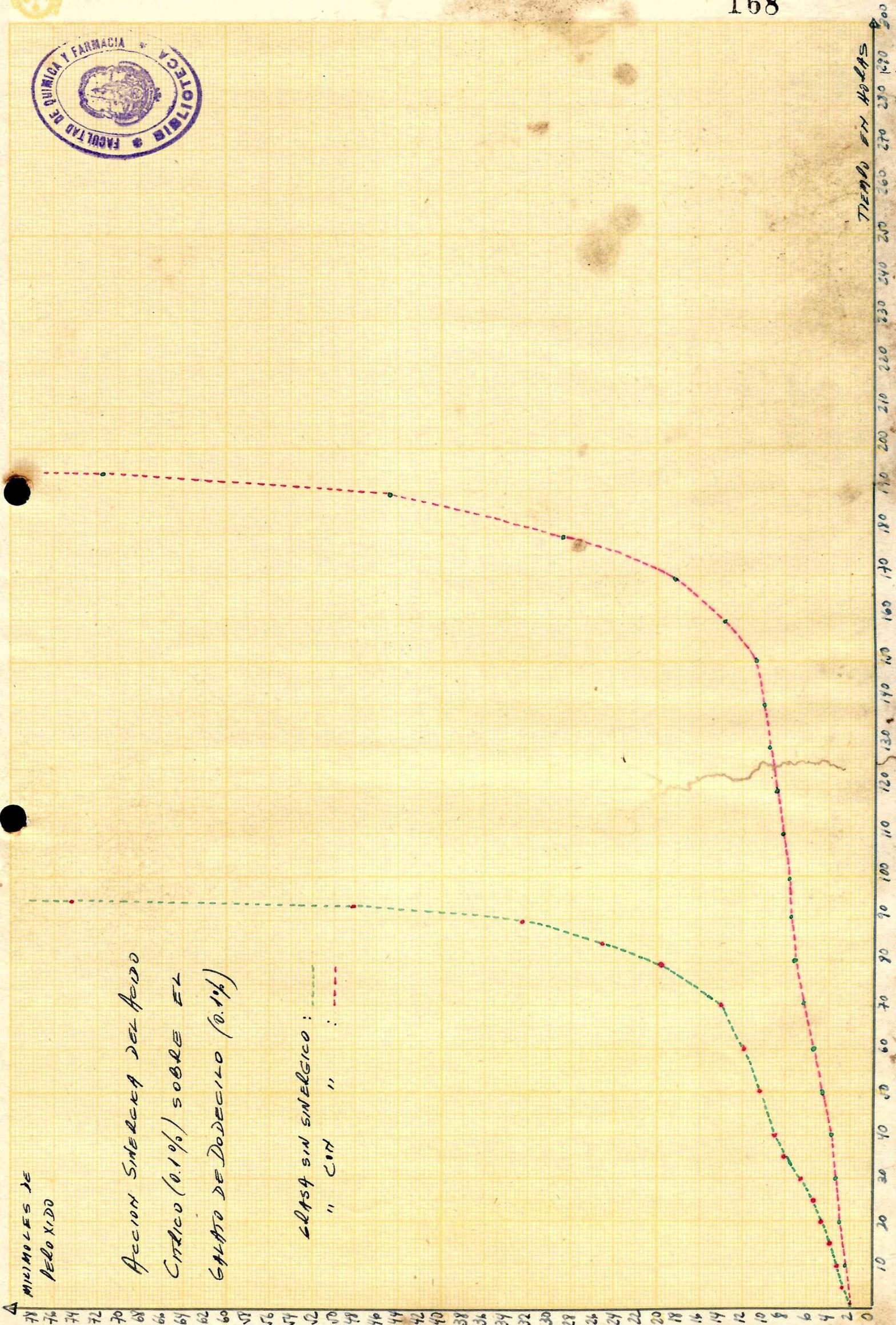
TIEMPO EN HORAS

T A B L A N° 33.ACCION SINERGICA DEL ACIDO CITRICO (0,1%) SOBRE EL GALATO DE BUTILO (0,1%)

<u>Tiempo en horas</u>	<u>Milimoles de peróxido %</u>	<u>Caracteres organolep- ticos (olor y sabor)</u>
10	2.40	Normal
20	2.96	"
30	3.30	"
40	3.50	"
50	4.12	"
60	4.70	"
70	5.28	"
80	5.96	"
90	6.19	"
100	6.57	"
110	7.37	"
120	8.00	"
130	8.59	"
140	9.12	"
150	10.71	"
160	12.00	"
170	14.24	Lig. Rancio
180	22.10	Rancio
190	37.00	"
200	70.14	"

T A B L A N° 54ACCION SINERGICA DEL ACIDO CITRICO (0.1%) SOBRE EL GALATO DE DOCE-
CILO (0.1%)

<u>Tiempo en horas.</u>	<u>Milimoles de</u> <u>peróxido %</u>	<u>Caracteres organolo-</u> <u>gicos (olor y sabor</u>
10	2.30	Normal
20	2.20	"
30	3.20	"
40	3.60	"
50	4.30	"
60	5.12	"
70	6.00	"
80	6.70	"
90	7.14	"
100	7.60	"
110	8.00	"
120	8.52	"
130	9.12	"
140	9.72	"
150	10.30	"
160	13.62	Lig. Rancio
170	15.00	Rancio
180	23.12	"
190	44.70	"
200	71.24	"

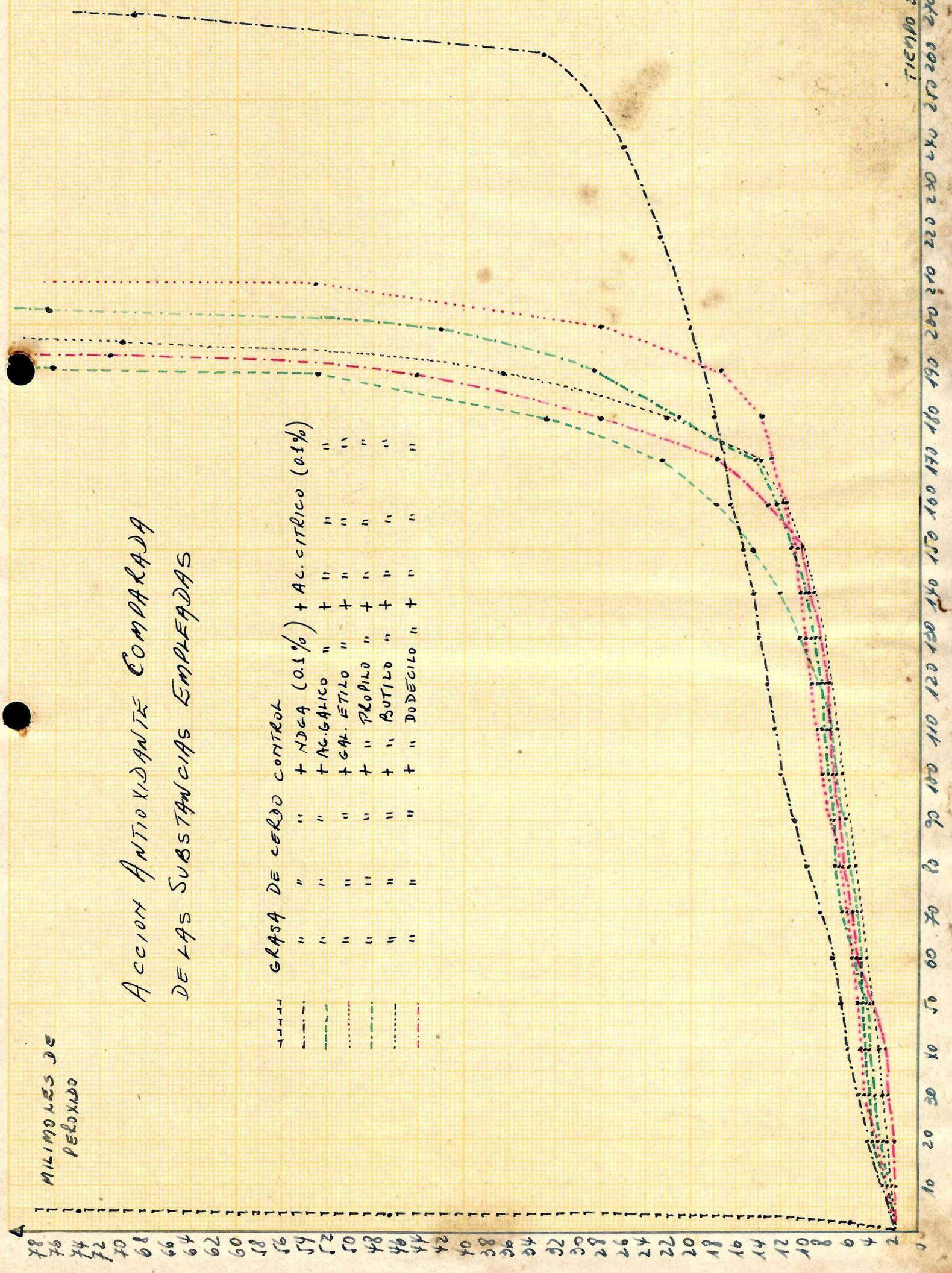


T A B L A N º 23ACCION SINERGICA DEL ACIDO CITRICO (0.1%) SOBRE LOS ANTIOXIDANTESUTILIZADOS (0.1%)

Tiempo en Horas	MILIMOLAS DE PEROXIDO POR KILO					
	N.D.G.A.	Ac. Gálico	Galato de			
			Etilo	Propilo	Butilo	Dodecilo
10	3.20	2.90	3.00	2.50	2.40	2.50
30	5.18	4.22	4.30	3.90	3.30	3.20
50	6.93	4.82	5.30	5.00	4.12	4.30
70	8.79	5.03	6.30 ²	6.40	5.22	6.00
90	11.16	6.32	7.62	7.60	6.19	7.14
110	12.66	7.96	8.84	8.33	7.37	8.00
130	14.00	10.53	9.90	9.57	8.53	9.12
150	15.70	15.00	11.00	12.22	10.71	10.30
170	---	22.93	13.02	14.80	14.24	13.00
180	18.30	33.00	14.00	21.74	22.19	23.12
190	---	53.14	17.30	23.64	37.00	44.70
200	20.42		23.16	42.14		
210	---		33.12			
240	26.10					
260	33.57					
270	69.10					



ACCION ANTIOXIDANTE COMPARADA
DE LAS SUSTANCIAS EMPLEADAS



TIEMPO EN HORAS

MILIMOLES DE PEROXIDO

0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48 50 52 54 56 58 60 62 64 66 68 70 72 74 76 78

CONCLUSIONES

Trabajando en las condiciones que se han descrito y utilizando la grasa de cerdo de producción nacional, que oportunamente no ha especificado, llegamos a las siguientes conclusiones:

- 1.- La grasa de cerdo almacenada a temperatura ambiente y en condiciones semejantes a las que generalmente se observan en los locales de venta de la misma, se enranció alrededor de los 205 días. El valor de peróxidos hallado en esos instantes osciló alrededor de los 15 milimoles por kilo de material.-
- 2.- En el caso de la oxidación acelerada por el método utilizado en la experiencia, la grasa se enranció término medio entre los 120 y 210 minutos; observándose el mismo valor mínimo de peróxidos que en el caso anterior.-
- 3.- Cuando se agregaron a la grasa de cerdo los antioxidantes elegidos -ácido nordihidroguayaráctico, ácido gálico, y los glicoles de etilo, propilo, butilo y docéscilo-, aumentó el período de inducción de la misma, de tal manera que el valor de peróxidos al llegar al enranciamiento, osciló alrededor de los 20 milimoles por kilo de material.-
- 4.- La acción antioxidante de las sustancias empleadas fue mayor cuanto mayor lo fue la proporción de ellas utilizada.-
- 5.- Se consideró oportuno no emplear los antioxidantes en una proporción mayor de 0.1%, debido a que algunos de ellos coloreaban las grasas y en otros casos no se solubilizaban totalmente en ellas.-
- 6.- El mejor efecto antioxidante se observó con el ácido nordihidroguayaráctico, cuando se lo usó al 0.1%.-

7.- El ácido cítrico se comportó como un excelente antioxidante, especialmente cuando lo usó en la misma proporción que el antioxidante.-

Además, se recurrió a los estudios y experiencias realizadas creyéndose oportuno presentar las siguientes proposiciones correlacionadas:

1.- No para determinar la pureza de la goma de corcho que circula en comercio, se valore el índice de peróxidos de la misma y se compare ese dato con gráficos elaborados con gomas elaboradas en perfectas condiciones y corroboradas por un método de oxidación acelerada.-

2.- No es conveniente el agregado de potabilizadores de la pureza a la goma de corcho de producción nacional, por razones de índole industrial, económica y bromatológica.-

3.- No es conveniente en nuestro país la elaboración sintética o extracción de los productos naturales, de excelentes antioxidantes para la goma de corcho de producción nacional, como es el caso de los utilizados en el presente trabajo.-

Juan Sepúlveda

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ROUZANT, R., *Industria y química*, 8,39,1936.
- 2.- CERIOFFI, A. y SANGUINETTI, A., *Primer Congreso Nacional de Química*, 3,108,1919.
- 3.- *Actas y trabajos del quinto Congreso Sudamericano de Química*, 1, 585,1931.
- 4.- CERIOFFI, A. y SANGUINETTI, A., *Op. Cit.*, pag. 106.
- 5.- *Reglamento Alimentario Nacional*, 1953, 60.
- 6.- LEA, C.H., *Chemistry and Industry*, 1953, 1303.
- 7.- BURN, O.C. and BURR, H.M., *J. Biol. Chem.*, 23,545,(1959).
- 8.- BURR, O.C., *Federation Proc.*, 1, 224,(1942).
- 9.- CATTANEO, P., *Ciencia e Investigación*, 9, 258,(1953).
- 10.- CATTANEO, P., *Ciencia e Investigación*, 9, 308,(1953).
- 11.- KRIS, H., *Chem. Ztg.*, 26,1014,(1902).
- 12.- KERN, R.H., *Ind. Eng. Chem.*, 10,471,(1918).
- 13.- BRUNER, P., of FOCHMONT, A., *Annales des falsifications*, 20,91,(1938).
- 14.- *Reglamento Bromatológico de la Provincia de Buenos Aires*, 1942, 104.
- 15.- HANROW, H., *Tratado de Bioquímica*, 1950, 29.
- 16.- BLOOR, W.R., *Biochemistry of the Fatty Acids*, 1961, 1.
- 17.- DELOREN, V. y MARSHALL, A.D., *Curso de Química Biológica*, 1951, 99.
- 18.- KARRER, P., *Tratado de Química Orgánica*, 1944, 846.
- 19.- HILMICH, T.P., *The Chemical Constitution of Natural Fats*, 1941.
- 20.- RONDINI, P., *Biochimica*, 1943, 119.
- 21.- *Reglamento Alimentario Nacional*, 1963, 66.
- 22.- LEFKOWITZ, and WARBURTON, *Chemical Technology and Analysis of Oils, Fats and Waxes*, 1928, V II, 700.
- 23.- LECHMERE, H.W., *Food Technology*, 1942, 303.
- 24.- LEA, C.H., *Op. Cit.*, pag. 1303.
- 25.- HOAGLAND, R., GIBSON, C.G. and ZWIET, C.H., *J. Nutrition*, 47, 599,(1958).
- 26.- HARBERTY, W.C., *Co. Inc.*, New York, 1946.
- 27.- LEA, C.H., *Panacity in Edible Fats*, U.S.F.R., *Food Investigation Special Report N° 49*, London 1939.
- 28.- STORCE, S.W., *J. Soc. Chem. Ind.*, 40, 75,(1921).

- 29.- HILDITCH, T. P., The Chemical Constitution of Natural Fats, 1941, 298.
- 30.- STOKES, W. W., Op. Cit., pag. 75.
- 31.- DELLESTANTE, M., Tercer Congreso Sudamericano de Químicos, 1937, V, VI, 253.
- 32.- TAUFEL, K. and MULLER, J., Biochem. Z., 219, 341, (1930); C. A., 24, 3123, 1930
- 33.- FOWLE, W. C., Ind. Eng. Chem., 15, 63, (1923).
- 34.- FOWLE, W. C., J. Agr. Research, 26, 323, (1923); C. A., 18, 1500, (1924).
- 35.- HSU, R., Chimie et Industrie, 51, 1167, (1933).
- 36.- HARRIS, P., Op. Cit., pag. 523.
- 37.- GOSCHING, A. and BARNER, A., Schweiz. Apoth. Ztg., 63, 261, (1924) C. A., 19, 2970, (1924).
- 38.- BROWN, C. A., Ind. Eng. Chem., 17, 635, (1925).
- 39.- ELLIS, G. H., Biochem. J., 26, 701, (1932)
- 40.- FARRICH, I. F., S. angew. Chem., 4, 172, (1901); C. A., 15, 1226, (1921).
- 41.- MORRELL, R. S., Ind. Chemist, 1, 15, (1926); C. A., 19, 901, (1923)
- 42.- GOALA, A., Stan. sper. agrar. Ital., 50, 618, (1907).
- 43.- CRISTO, C., Acidos y Rancidos de las Materias Grasas, Tesis, 1944.
- 44.- HILDITCH, T. P., Nature, 106, 503, (1930).
- 45.- GANNON, J. A., ZILCH, K. T., BURDET, S. C. and DUTTON, H. J., J. Am. Oil Chem. Soc., 29, 447, 1952.
- 46.- ELLIS, G. H., Biochem. J., 40, 129, (1950).
- 47.- HOJMAN, R. T., Arch. Biochem., 15, 463, (1947).
- 48.- FUDGER, J., GANNON, J. A., ZILCH, K. T. and DUTTON, H. J., J. Am. Oil Chem. Soc., 28, 206, (1951).
- 49.- GANNON, J. A., ZILCH, K. T., BURDET, S. C. and DUTTON, H. J., Op. Cit., pag. 447.
- 50.- PRIVETT, O. S., LINDBERG, S. O. and NICHOLI, C. J. Am. Oil Chem. Soc., 17, 30, (1953).
- 51.- COLEMAN, J. E., KNIGHT, E. B. and SMITH, D., J. Am. Chem. Soc., 74, 6936, (1952)
- 52.- SWIFT, C. E., DOLLEAR, F. O., BROWN, L. E. and O'CONNOR, R. T., J. Am. Oil Chem. Soc., 28, 39, (1951).
- 53.- SWIFT, C. E. and DOLLEAR, F. O., J. Am. Oil Chem. Soc., 28, 52, (1951).
- 54.- SWIFT, C. E., O'CONNOR, R. T., BROWN, L. E. and DOLLEAR, F. O., J. Am. Oil Chem. Soc., 26, 397, (1949).
- 55.- SMITH, J. and WELBY, R. R., Ind. Eng. Chem., 14, 937, (1922).
- 56.- GREENBANK, O. and ROHM, G. E., Ind. Eng. Chem., 16, 503, (1924).

- 57.- GREENBANK, G. and HOLM, G.E., Ind. Eng. Chem., 17, 625, (1925).
- 58.- HOLM, G.E., GREENBANK, G. and DEYSHER, R., Ind. Eng. Chem., 19, 156, (1927)
- 59.- EMERY, J. and HENLEY, R.R., Op. Cit., pag. 940.
- 60.- DELLEPIANE, M., Op. Cit., pag. 263.
- 61.- EVANS, G.D., COONEY, P.M., MOSER, H.A., HAWLEY, J.E. and MELVIN, E.H., J. Am. Oil Chem. Soc., 29, 61, (1952).
- 62.- EVANS, G.D., COONEY, P.M., MOSER, H.A. and SCHWAB, A.W., J. Am. Oil Chem. Soc., 30, 143, (1953).
- 63.- MORRIS, S.S.G., MYERS, J.S., FIP, M.L. and RIEMENSCHNEIDER, R.W., J. Am. Oil Chem. Soc., 27, 105, (1950).
- 64.- EMERY, J. and HENLEY, R.R., Op. Cit., pag. 939-
- 65.- STERNITZ, W.C. of SCHEM, H.H., Chimie et Industrie, 39, 771, (1936)
- 66.- COE, M.R., Science, 75, 585, (1932)
- 67.- COE, M.R. and LE CLERC, J.A., Ind. Eng. Chem., 26, 245, (1934).
- 68.- GREENBANK, G. and HOLM, G.E., Ind. Eng. Chem., 25, 167, (1933).
- 69.- GREENBANK, G. and HOLM, G.E., Ind. Eng. Chem., 33, 1053, (1941).
- 70.- DELLEPIANE, M., Op. Cit., pag. 264.
- 71.- COE, M.R., Oil and Soap, 14, 171, (1937).
- 72.- COE, M.R. and LE CLERC, J.A., Oil and Soap, 12, 231, (1935).
- 73.- MC CONNELL, J.E. and ESSELEN, W.D., J. Am. Oil Chem. Soc., 24, 6, (1947).
- 74.- TAUFEL, K. and SPIEGELBERG, E., Chem. Umschau. Fette, Cole, Wachse u Harze, 37, 923, (1930); C.A., 25, 426, (1931).
- 75.- LEE, C.H., Chem. and Ind., 1953, (1303)½
- 76.- SIMS, R.T., J. Am. Oil Chem. Soc., 29, 347, (1952).
- 77.- JENSEN, L.B. and ORTTIE, D.P., Food Research, 2, 97, (1937); C.A., 32, 6295, (1938).
- 78.- HOROWITZ-VLASSOVA, L.M. and LIVSCHITZ, M.J., Zentr. Bakt. Parasitenk., 92, 424, (1935); C.A., 30, 4243, (1936).
- 79.- DAVIES, W.L., Chimie et Industrie, 31, 903, (1934).
- 80.- JENSEN, L.B. and ORTTIE, D.P., Meeting of Soc. Am. Bacteriologists, Indianapolis, 1936.
- 81.- HILDITCH, T.P., Fat and Waxes, London, 1927.
- 82.- GINSBERG, A.A., Progorkanie Zhirov i Masel, Pishchepromizdat, 1939, 73, C.A., 30, 3977, (1943).
- 83.- SMITH, F.H., Pharm. J., 95, 4, (1915).
- 84.- RYAN, L.A. and MARSHALL, J., A., J. Pharm., 79, 308, (1907); C.A., 3, 2311, (1909).

- 85.- GREENBLANK, G. and HOHN, G.E., *Ind. Eng. Chem.*, **16**, 598, (1924).
- 86.- LUNBERG, W.O., HALVORSON, H.O. and BURR, G.O., *Oil and Soap*, **21**, 33, (1944).
- 87.- MC CONNELL, J.E. and ESSELEN, W.B., *Op. Cit.*, pag. 6.
- 88.- JENSEN, L.B. and GRETTE, D.P., *Op. Cit.*, pag. 97.
- 89.- TAPPEL, A.L., BOYER, P.D. and LUNDBERG, W.O., *J. Biol. Chem.*, **199**, 267, (1952).
- 90.- BARKS, A.J., *Soc. Chem. Ind., Lond.* **56**, 137, (1937).
- 91.- LEA, C.H., *Soc. Chem. Ind. Lond.*, **56**, 3767, (1937).
- 92.- WATTS, B.M. and PENG, D., *J. Biol. Chem.*, **170**, 441, (1947).
- 93.- REISSER, R., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **26**, 116, (1949).
- 94.- KHAN, H.R., *Rep. Canad. Comm. Fd. Pres.*, **C (16) I**, (1940).
- 95.- TAPPEL, A.L., *Food Res.*, **17**, 550, (1952).
- 96.- GANTON, G.A., HILDITCH, T.P. and MEARA, M.L., *Biochem. J.*, **50**, 517, (1952).
- 97.- KLOSS, A.A., MEGHI, E.P., HANSON, H.L. and LINEWEAVER, H., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **28**, 163, (1951).
- 98.- LEA, C.H., *Chem. and Ind.*, **1953**, 1303.
- 99.- TAUFEL, K. y GERSZO, J., *Amicos Soc. Esp. Fis. Quim.*, **1927**, V. XXV, pag. 559.
- 100.- COE, H.R., *Oil and Soap*, **13**, 140, (1936).
- 101.- ROMANO YALOUR, J.G., *la Industria Lechera*, **22**, 787, (1940).
- 102.- JACOBS, M.B., *Food and Food Products*, **1951**, 1147.
- 103.- MANGELS, C.E., Accelerated rancidity test. *Cereal Laboratory Methods*. **1935**, 111.
- 104.- BAILEY, H.S. and EBERT, H., *Cotton Oil Press*, **7**, 35, (1923); *C.A.*, **18**, 336, (1924).
- 105.- GRETTE, D.P. and NEWTON, R.C., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **3**, 171, (1931).
- 106.- JOYNER, N. and MC INTYRE, L., *Oil and Soap*, **15**, 184, (1938).
- 107.- KING, A., ROSCHEN, H. and IRWIN, W., *Oil and Soap*, **10**, 105, (1933).
- 108.- ANZALDI, O., Acción antioxidante del aceite de germen de trigo. *Tesis (1943)*.
- 109.- LEA, C.H., *Rancidity in Edible Fats*, London, **1939**.
- 110.- JOHNSON, W.R. and FRY, C.H., *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **13**, 479, (1941).
- 111.- PENKINS, J.J., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **15**, 61, (1943).
- 112.- NACK, J.J., VIERANS, F.C. and KRAYBILL, R.H., *Oil and Soap*, **21**, 349, (1944).
- 113.- BRUERE, P. et FOURMONT, A., *Ann. des Fals.*, **25**, 91, (1932).
- 114.- ISSOGLIO, G., *Ann. Chim. Applicata*, **1916**, T. VI, fasc. 1 y 2.

- 115.- KERR, R. H., *Analyst*, 43, 327, (1918).
- 116.- KREIS, H., *Chem. Ztg.*, 26, 1014, (1902).
- 117.- POWICK, W. C., *J. Agr. Research*, 26, 323, (1923).
- 118.- PIKE, R. D., *Analyst*, 60, 515, (1935).
- 119.- KERR, R. H., *Ind. Eng. Chem.*, 10, 471, (1918).
- 120.- TAUFEL, K., SADLER, P. and RUSSOW, F. H., *Z. angew. Chem.*, 44, 873, (1931).
C. A., 26, 863, (1932).
- 121.- FREHSEN, O., *Mikrochim. Acta*, 2, 214, (1937); C. A., 32, 11254, (1939).
- 122.- LEA, C. H., *Rancidity in Edible Fats*, London, 1939.
- 123.- AAS, G. M., *Chimie et Industrie*, 34, 1539, (1933).
- 124.- FREHSEN, O., *Op. Cit.*, pag. 214
- 125.- STALEM, J., *Bull. Soc. Pharm. Estonie*, 5, 181, (1925). C. A. 21, 2909, (1927)
- 126.- KONFACZY, I., *Chimie et Industrie*, 31, 1405, (1934).
- 127.- FALKENBERG, Th. von, *Mitt. Lebensm. Hyg.*, 15, 196, (1923); C. A., 19, 3731, (1924)
- 128.- TAUFEL, K. et THALER, R., *Chimie et Industrie*, 31, 910, (1934).
- 129.- VITULESCO, J. et POPESCU, A., *J. Pharm. Chim.*, 12, 318, (1915).
- 130.- POWICK, W. C., *Ann. des Fals.*, 16, 615, (1923).
- 131.- DAVIES, W. L., *Ann. des Fals.*, 25, 91, (1932).
- 132.- GREENBLANK, G. R. and HOHN, G. E., *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 2, 9, (1930).
- 133.- ROYCE, H. D., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 5, 244, (1933).
- 134.- SOTHEKER, R., VAUBEL, R. et TENAR, A., *Chimie et Industrie*, 39, 332, (1938)
- 135.- BRUERE, P. et FOURMONT, A., *Ann. des Fals.*, 25, 91, (1932).
- 136.- TAUFEL, A. and REVIS, G., *J. Soc. Chem. Ind.*, 50, 87, (1931).
- 137.- GANGL, J. and RUMPEL, W., *Z. Untersuch. Lebensm.*, 68, 533, (1934); C. A., 29, 1693, (1933).
- 138.- SZARLENDIS, L., *Chimie et Industrie*, 27, 3143 (1932).
- 139.- KERR, R. et SORBER, P., *Chimie et Industrie*, 19, 264, (1924)
- 140.- LEA, C. H., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 6, 241, (1934).
- 141.- SCHIBSTED, H., *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 4, 204, (1932).
- 142.- ANTENER, I., *Chimie et Industrie*, 40, 319, (1933).
- 143.- LUNDOZA GALINDO, S., *Tratado de Químicos-Farmacéuticos*, Chile, 3, 23, (1945)
- 144.- WHEELER, D. H., *Oil and Soap*, 9, 59, (1932); C. A., 26, 3193, (1932).
- 145.- GREENBLANK, G. R. and HOHN, G. E., *Rev. Quim. Farm. Chil.*, 1945, 1
- 146.- CHIRGWIN, L. D., *Oil and Soap*, 22, 254, (1945).

- 147.- YULE, J.A.C. and WILSON, C.P., *Ind. Eng. Chem.*, 23, 1254, (1931).
- 148.- FRENCH, R.B., OLCOTT, H.S. and MATTILL, H.A., *Ind. Eng. Chem.* 27, 724, (1935).
- 149.- GOLDEN WILTON, J., *J. Am. Pharm. Ass.*, 40, 119, (1951).
- 150.- LEA, C.H., *J. Soc. Chem. Ind.*, 64, 106, (1945).
- 151.- HARTMANN, S. and GLAVIND, J., *Chem. and Ind.*, 1953, 1303.
- 152.- DUNKLEY, W.L., *Food Tech.*, 5, 342, (1951).
- 153.- HOLM, V., FODE, C. and THOM, K.E., *Chem. and Ind.*, 1953, 1303.
- 154.- DROZDOV, N. and STARIKOVA, L., *Kyasnaya Ind. S.S.S.R.*, 22, 52, (1951) *C.A.* 43, 9291d, (1951).
- 155.- SEIMI SATO, MASAMI HOJO and YOSHITO TAZANA, *Jushi Kagaku Kyokai* 1, 157, (1952); *C.A.*, 47, 6155c, (1953).
- 156.- TAPPEL, A.L., BOYER, F.D. and LUNDBERG, W.O., *Op. Cit.* pag. 267.
- 157.- FISHER, G.S., KYAME, L. and BICKFORD, W.G., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 24, 340, (1947).
- 158.- HIGGINS, V.N. and BLACK, H.C., *Oil and Soap*, 21, 277, (1944).
- 159.- DESCHAMPS, J., *J. Pharm. et Chim.*, 4, 201, (1845).
- 160.- ESSELEN, W.B., *Ind. Eng. Chem.*, 37, 393, (1945).
- 161.- OLCOTT, H.S. and MATTILL, H.A., *J. Am. Chem. Soc.*, 69, 1627, (1936).
- 162.- OLCOTT, H.S. and MATTILL, H.A., *J. Biol. Chem.*, 93, 65, (1941).
- 163.- MATTILL, H.A., *Ind. Eng. Chem.*, 22, 341, (1930).
- 164.- ANDEREGG, I.T. and NELSON, V.E., *Ind. Eng. Chem.*, 18, 620, (1926).
- 165.- OLCOVICH, H.S. and MATTILL, H.A., *J. Biol. Chem.*, 91, 105, (1931).
- 166.- HILDITCH, T.P. and SLEIGHTHOLINE, J., *J. Soc. Chem. Ind.*, 39, 51, (1932)
- 167.- OLCOTT, H.S. and MATTILL, H.A., *J. Am. Chem. Soc.*, 58, 2204, (1936).
- 168.- OLCOTT, H.S., *Oil and Soap*, 18, 77, (1941).
- 169.- EVANS, H.M., EMERSON, O.H. and EMERSON, G., *J. Biol. Chem.*, 113, 319, (1936).
- 170.- OLCOTT, H.S. and EMERSON, O.H., *J. Am. Chem. Soc.*, 59, 1003, (1937).
- 171.- OLCOTT, H.S., *Op. Cit.* pag. 77.
- 172.- MATTILL, H.A., *J. Biol. Chem.*, 90, 141, (1931).
- 173.- MOUREU, C. et DUPRAISSE, C., *Compt. rend.*, 174, 253, (1922).
- 174.- OLCOTT, H.S. and MATTILL, H.A., *Op. Cit.* pag. 2204.
- 175.- MATTILL, H.A., *Oil and Soap*, 22, 1, (1945).

- 176.- SWIFT, C. E., MANN, S. E. and FISHER, G. S. Oil and Soap, 21, 317, (1944).
- 177.- OLCOTT, H. S. and EMERSON, O. H., Op. Cit. pag. 1008.
- 178.- HOVE, E. L. and HOVE, Z., J. Biol. Chem., 156, 623, (1944).
- 179.- EVANS, H. K., EMERSON, O. H. and EMERSON, O. A., Op. Cit. pag. 319.
- 180.- FISHER, G. S., Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 17, 224, (1945).
- 181.- STERN, M. H., ROBESON, C. D., WEISLER, L. and BAXTER, J. C., J. Am. Chem. Soc., 69, 869, (1947).
- 182.- GRIEWANN, Y. and DAUBERT, D. F., J. Am. Oil Chem. Soc., 25, 26, (1948).
- 183.- COLUMBIC, C., J. Am. Chem. Soc., 63, 1142, (1941).
- 184.- COLUMBIC, C., Oil and Soap, 20, 105, (1943).
- 185.- SINGLETON, W. S. and BAILEY, A. E., Oil and Soap, 21, 161, (1944).
- 186.- ANZALDI, O., Acción antioxidante del aceite de germon de trigo Tesis 1949.
- 187.- MITCHELL, H. S. and BLACK, H. C., Ind. Eng. Chem., 35, 50, (1943).
- 188.- NEWTON, R. O. and GRETTE, D. P., U. S. Patent, 1,903,126, (1933).
- 189.- DOEGEY, J. L., U. S. Patent, 2,308,912, (1943).
- 190.- MOURU, C. et DUFRAISSE, C. Op. Cit., Pag. 258.
- 191.- LUTZ, H., Compt. rend., 194, 1493, (1927).
- 192.- IEA, C. H., J. Soc. Chem. Ind., 63, 107, (1944).
- 193.- HILDITCH, T. P., Chem. and Ind., 1944, 67.
- 194.- COLUMBIC, C. and MATFILL, H. A., Oil and Soap, 19, 144, (1942).
- 195.- MORRIS, S. G., KRAEDEL, I. A., HAMMER, D., MYERS, J. S. and RIEMENSCHNEIDER, R. W., J. Am. Oil Chem. Soc., 24, 300, (1947).
- 196.- MORRIS, S. G. and RIEMENSCHNEIDER, R. W., J. Am. Chem. Soc., 69, 300, (1946).
- 197.- MENDOZA CALINDO, S., Acción antioxidante del NDOA y el galato de propilo. Tesis chilena, 1951.
- 198.- BOEHM, K. and WILLIAMS, R., J. Phar. and Pharmacol., 16, 232, (1943).
- 199.- BOEHM, K. and WILLIAMS, R., Pharm. J., 151, 53, (1943).
- 200.- KRAYBILL, H. R., DUGAN, L. R., HEADLE, B. W., VIBRANS, V., SWARTZ, J. and REZABEK, H., J. Am. Oil Chem. Soc., 26, 449, (1949).
- 201.- WALLER, C. W., Thesis, Univ. of Minnesota, 1942.
- 202.- WALLER, C. W. and GISVOLD, O., J. Am. Pharm. Ass. (Sc. Ed.), 34, 73, (1945).
- 203.- GISVOLD, O., J. Am. Pharm. Ass. (Sc. Ed.), 37, 194, (1948).
- 204.- LUNDBERG, W. O., HALVORSON, H. O. and BARR, C. O., Oil and Soap, 21, 33, (1944).
- 205.- REY, P. F., Rev. Col. Farm. Nac., Rosario, 13, 55, (1946).
- 206.- RUTH, E., Anal. Asoc. Quim. Arg., 34, 167, (1946).
- 207.- PALADINO, A. G. Rev. Farm., 94, 212, (1952).

- 208.- SCHMIDT HEBBEL, H., RICHMOND, P. H. y APUD, E., Quinto Congreso Sudamericano de Química, Perú, 1951, 159.
- 209.- CHAY, P. P. and STONE, I., Food Ind., 11, 626, (1939).
- 210.- COLUMBIC, C. and MATTILL, H. A., J. Am. Chem. Soc., 63, 1279, (1941).
- 211.- RIEMENSCHNEIDER, R. W., TURNER, J., WELLS, P. A. and AULT, W. C., Oil and Soap, 21, 47, (1944).
- 212.- KURTH, E. F. and CHAN, F. L., J. Am. Oil Chem. Soc., 28, 433, (1951).
- 213.- FISHER, G. S., KYAME, L. and BICKFORD, W. C., Op. Cit., pag. 340.
- 214.- LEA, C. H., J. Soc. Chem. Ind., 63, 55, (1944).
- 215.- LEA, C. H., J. Soc. Chem. Ind., 23, 107, (1944).
- 216.- MORRIS, S. G. and RIEMENSCHNEIDER, R. W., J. Am. Oil Chem. Soc., 26, 639, (1949).
- 217.- BENTZ, R. W., O'GRADY, T. J. and WRIGHT, S. B., Food Tech., 6, 362, (1952).
- 218.- MAHON, J. H. and CHAMMAN, R. A., J. Am. Oil Chem. Soc., 30, 34, (1953).
- 219.- U. S. Dept. Agr., Southern Regional Research Laboratory Compilation, 1944.
- 220.- WILLIAN, K. T., BICKOFF, E. and LOWEMORE, B., Oil and Soap, 21, 161, (1944).
- 221.- ROBERTSON, F. H. and WOODWARD, I., J. Chem. Soc., 1936, 1817.
- 222.- GLIMM, E. and ROSACK, H., Fette u Seifen, 50, 217, (1943); C. A., 38, 2515, (1944).
- 223.- COLUMBIC, C. and MATTILL, H. A., J. Am. Chem. Soc., 63, 1279, (1941).
- 224.- GALKINS, V. P. and MATTILL, H. A., J. Am. Chem. Soc., 66, 839, (1944).
- 225.- MATTILL, H. A., Op. Cit., pag. 1.
- 226.- MICHAELIS, S. L., Chem. Reviews, 16, 243, (1936).
- 227.- COLUMBIC, C. and MATTILL, H. A., Oil and Soap, 19, 144, (1942).
- 228.- HILDITCH, T. P., Chem. and Ind., 1944, 67.
- 229.- COLUMBIC, C., Oil and Soap, 19, 181, (1942).
- 230.- BAYLEY, A. E. and FEUGE, R. O., Oil and Soap, 21, 286, (1944).
- 231.- MATTILL, H. A., Op. Cit., pag. 1.
- 232.- FRIVETT, O. S., and QUACKENBUSCH, F. W., J. Am. Oil Chem. Soc., 31, 225, (1954).
- 233.- OLCOTT, H. S. and MATTILL, H. A., Oil and Soap, 13, 98, (1936).
- 234.- BAULKY, A. S. and FEUGE, R. O., Op. Cit., pag. 286.
- 235.- SYLVESTER, B. D., LAMPITT, L. A. and AIRSWORTH, A. N., J. Soc. Chem. Ind., 61, 165, (1942).
- 236.- RIEMENSCHNEIDER, R. W., TURNER, J., WELLS, P. A. and AULT, W. C., Oil and Soap 21, 47, (1944).
- 237.- HILDITCH, T. P. and PAUL, S., J. Soc. Chem. Ind., 53, 21, (1939).

- 238.- BERGEL, F., Chem. and Ind., 1944, 127.
- 239.- GEORGY, P. and TOMARELLI, R.N., *Biol. Chem.*, 154, 317, (1944).
- 240.- LEFEMANN, B.T. and WATTS, B.M., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 28, 475, (1951).
- 241.- DASSOW, J.A. and STANSEY, M.E., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 28, 475, (1949).
- 242.- CLAUDEN, D.F., LINHARG, J.O. and BURR, G.O., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 24, 403, (1947).
- 243.- GISVOLD, O., U.S., Patent., 2, 409, 924, (1946).
- 244.- HIGGINS, V.N. and BLACK, H.C., *Oil and Soap*, 21, 277, (1944).
- 245.- STIRTON, A.J., TURNER, J. and RIEMENSCHNEIDER, R.W., *Oil and Soap*, 22, 81, (1945).
- 246.- FORE, S.P., MOORE, R.N. and BICKFORD, W.G., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 28, 73, (1951).
- 247.- MOORE, R.N. and BICKFORD, W.G., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 29, 1, (1952).
- 248.- BOJOWLENSKY, A. and NARBUYT, J., *Berichte*, 38, 3344, (1905).
- 249.- CLARKE, J., ROBINSON, R. and SMITH, J.C., *J. Chem. Soc.*, 1927, 2649.
- 250.- CHRISTIANSEN, W.G., *E. Am. Chem. Soc.*, 40, 1353, (1926).
- 251.- AULT, W., WELLS, J.E., NUTTING, G.D. and COWAN, J.C., *E. Am. Chem. Soc.*, 69, 2603, (1947).
- 252.- RIEMENSCHNEIDER, R.W., TURNER, J., WELLS, P.A. and AULT, W.C., *Op. Cit.*, pag. 40.
- 253.- RIEMENSCHNEIDER, R.W., LUDDY, F.E., HERB, S.F. and TURNER, J., *Oil and Soap*, 22, 174, 1945.
- 254.- ROMANO YALOUR, J.G. y SZABO, E., *Tecnocímicos*, 1, 23, (1941).
- 255.- ANZALDI, O., *Op. Cit.* pág. 17 a 24.
- 256.- Instituto Argentino de Racionalización de Materiales. Norma IRAM N° 5550, 1952, modificada en 1954.
- 257.- Instituto Argentino de Racionalización de Materiales. Norma IRAM N° 5551, 1952.
- 258.- Instituto Argentino de Racionalización de Materiales. Norma IRAM N° 5551, 1952.
- 259.- Instituto Argentino de Racionalización de Materiales. Norma IRAM N° 5550, 1952.