

ESTUDIO COMPARATIVO DEL PERFIL DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES EN ACEITES POLIINSATURADOS, MEDIANTE RANCIMAT Y OXIDÓGRAFO

Génesis Molina - Quijije¹, Erika Zamora -Meza¹, Diego Macías- Moreira¹, Iván Zambrano – Huerta²

Departamentos de Investigación y Desarrollo La Fabril S. A¹

¹Programa de Maestría en Agroindustria, Escuela Superior Politécnica de Manabí Manuel Félix-López. Sitio “El Limón” Calceta, Manabí, Ecuador.

² Departamento de Investigación y Desarrollo La Fabril S. A., km 5.5 vía Manta-Montecristi, Manabí, Ecuador.

diego_mac84@hotmail.com, genesismol1@hotmail.com, erikazamora-08@hotmail.com

Resumen

El estudio de la vida útil es fundamental para la industria alimentaria, en el desarrollo de productos es un punto crítico, ya que con el tiempo desciende el valor nutritivo. Los compuestos orgánicos volátiles (semi volátiles y ácidos ionizables) tienen influencia en los cambios de propiedades como olores y sabores, alteración del color, que pueden ser perjudiciales para la salud en función de la estabilidad a la oxidación, para esto han sido desarrollados numerosos métodos instrumentales. Los métodos del Oxidógrafo (O) y Rancimat (R) evalúan los períodos de inducción oxidativa, velocidades de oxidación, consumo de oxígeno, y permiten establecer las diferencias innatas de la susceptibilidad de los aceites con diferente composición de ácidos grasos y antioxidantes. El objetivo de este trabajo fue comparar mediante las concentraciones de semi-volátiles y ácidos ionizables como productos de oxidación de los aceites canola, girasol y maíz entre los métodos de estabilidad oxidativa acelerada Rancimat (Metrohm, Modelo 743, Switzerland) incluido en el método internacional de la AOCS Cd12b-92 S Cd 12b -92 y Oxidógrafo diseñado por Grindsted fabricado por Mikrolab Aarhus, Dinamarca. Las muestras para este ensayo fueron refinadas y desodorizadas, y la temperatura de análisis para los dos métodos fue de 110 °C. Se realizó un monitoreo de volátiles de las muestras oxidadas aplicando cromatógrafo de gases Modelo Trace GC MS2160 Marca Thermo con una columna cromatografica TG-Wax MS A, Método AOCS práctica recomendada Cg -4-94 y se aplicó un diseño experimental multifactorial. Se obtuvieron

diferencias significativas $P > 0.05$ en las diferentes concentraciones de semi-volátiles entre los métodos Rancimat y Oxidógrafo y los tipos de aceite con un coeficiente de correlación R^2 de 0,96.

Palabras claves: Oxidación, Semi-volátiles, Ácidos ionizables, Cromatografía gaseosa, Cabeza volátil.

Introducción.

La oxidación de los lípidos, es uno de los factores claves a controlar y prevenir, puesto que afecta propiedades químicas, sensoriales y nutricionales de los aceites vegetales. Numerosos métodos han sido desarrollados para determinar el grado actual de oxidación lipídica de una matriz determinada y evaluar su estabilidad a la oxidación. En la industria alimentaria es relevante y de mayor utilidad conocer la susceptibilidad a la oxidación futura, relacionada estrechamente con su vida útil, utilizando los llamados pruebas de estabilidad oxidativa. Los aceites de canola, maíz y girasol son importantes en una dieta nutricional equilibrada en el ser humano por su gran contenido de Omega 6 (ácido linoleico) y Omega 3 (ácido linolénico), ya que ambas sustancias pueden trabajar en conjunto para beneficio de la salud, considerados como ácidos esenciales ya que no son

producidos en nuestro organismo y debemos ingerirlos de los alimentos. Los aceites provenientes de semillas son muy susceptibles al deterioro por oxidación, debido a que la mayoría de ellos están compuestos por ácidos grasos insaturados (Frankel, 1998). La oxidación es una reacción en cadena muy acelerada de las sustancias sensibles, cambiando olores y sabores a rancio, alteración del color, cambio en la viscosidad, y desciende el valor nutritivo al perderse algunas vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados. Además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud (Navas, 2010).

La rancidez oxidativa, se trata de la reacción de oxígeno atmosférico en los ácidos grasos insaturados que son los que tienen doble enlace. Esta reacción en cadena genera los productos primarios de la oxidación (peróxidos e hidroperóxidos), y los compuestos secundarios

continuamente por una acelerada reacción, sean estos volátiles, como aldehídos, cetonas y ácidos o no volátiles como dímeros, trímeros y polímeros, característicos de productos rancificados (Barrera, 1998). La estabilidad oxidativa se define como la resistencia de una matriz lipídica a la oxidación por efecto de la temperatura, luz, oxígeno, presencia de metales etc., lo que genera el deterioro de un aceite o grasa en un periodo de tiempo razonablemente corto (Frankel, 1998). Para nuestra investigación fijamos dos métodos para su correlación y optimización, uno el método Rancimat, incluido en los estándares nacionales e internacionales (OSI, AOCS Cd 12b-92), y el método del Oxidógrafo. El Rancimat es la prueba automatizada del AOM, que mide el grado en el que un aceite se oxida cuando se hace burbujear aire a través de él. El producto de desdoblamiento, que es el ácido fórmico, es conducido hacia el agua destilada que se encuentra en una celda. El instrumento monitorea en forma continua la conductividad eléctrica del agua al momento en que la conductividad aumenta agudamente indica en forma inmediata el momento

final de la prueba. En este método la estabilidad oxidativa se define como el tiempo (en horas) necesario para que la reacción de oxidación alcance el punto de inflexión en la representación gráfica de la conductividad vs Tiempo (Navas, 2010). El Oxidógrafo es un instrumento que acelera el proceso de oxidación y funciona con un principio similar. La muestra se coloca en una celda presurizada que se llena con oxígeno. La celda se mantiene a temperatura elevada (normalmente 110 ° C) y a medida que el aceite se oxida, consume oxígeno y la presión disminuye. Hay una disminución rápida de la presión, y este punto se correlaciona con la rápida oxidación de la muestra y el aumento de la ranciedad o "tiempo de inducción" cuando se supera la resistencia a la oxidación. El consumo de oxígeno produce una caída de presión en el recipiente a presión durante la prueba. El estudio de los métodos Rancimat y Oxidógrafo permite evaluar el grado de oxidación futura y tener una estimación de la vida útil de los aceites. El objetivo se centró en comparar los métodos de estabilidad oxidativa acelerada mediante las concentraciones de semi-volátiles y ácidos ionizables en los aceites evaluados.

Materiales y Métodos.

Se utilizaron muestras refinadas y desodorizadas de aceite de maíz, girasol y canola sin antioxidante procedentes de la planta de refinación de La Fabril S.A.

Estabilidad Oxidativa en Rancimat.

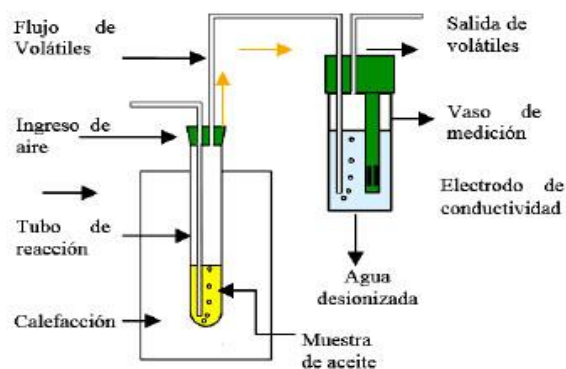


Figura 1. Principio del método rancimat

Equipo en el cual se determinó la estabilidad oxidativa Rancimat (Metrohm, Modelo 743, Switzerland) incluido en el método internacional de la AOCS Cd12b-92 S Cd 12b -92. con un flujo de aire de 10L/h filtrado y seco que burbujea a través de la muestra de $5,0 \pm 0,1$ g de aceite contenida en un tubo de reacción posteriormente fijada en un bloque de calefacción a 110°C . El aire efluente que contiene los ácidos orgánicos volátiles de la muestra se receptan en un recipiente de policarbonato con 50 ml de agua des

ionizada con conductividad inicial 0, la conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) del agua se registró continuamente hasta llegar a obtener el índice de estabilidad oxidativa en horas de forma automatizada para cada uno de los aceites utilizados en este estudio.

Estabilidad Oxidativa en Oxidógrafo.

Equipo utilizado en este ensayo, es un método diseñado por Grindsted fabricado por Mikrolab Aarhus, Dinamarca. En el procedimiento se colocaron $5,0 \pm 0,1$ g de cada aceite en sus respectivos tubos de reacción, a 110°C con un volumen de 150 mL de O_2 con 99% de pureza, a presión atmosférica hasta evidenciar la medición de caída de presión por consumo de oxígeno en sobre los dobles enlaces de los aceites poliinsaturados en la oxidación dando un resultado en horas al término de la prueba.

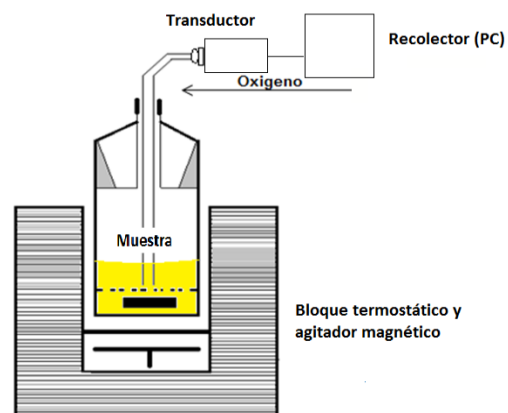


Figura 2. Principio del método Oxidógrafo

Compuestos orgánicos volátiles.

La comparación de los períodos de inducción en Rancimat y Oxidógrafo por perfil de compuestos orgánicos volátiles (VOC) – semi-volátiles y ácidos ionizables como productos de oxidación contenidos al término de las pruebas en Rancimat y Oxidógrafo en los aceites evaluados se analizaron usando un cromatógrafo de gases Modelo Trace GC MS2160 Marca Thermo con una columna cromatográfica TG-Wax MS A, 30 m x 0.32 mm ID y película de 1 um. Thermo P/N-26087-2970; aplicando una metodología optimizada de cromatografía gaseosa (GC) (Método AOCS práctica recomendada Cg-4-94) con inyección directa de la cabeza volátil (SHS), mediante incubación de muestra a 150 °C por 8 minutos, un divisor mínimo de flujo y una inyección de 2 ml, detección por Ionización en Llama de Hidrogeno (FID) y MSD, 220 °C, Impacto Electrónico 70 eV, Modo Barrido (35-290 amu), Librería Wiley. El procedimiento implica pesar 2 g de aceite de cada muestra en sus respectivos viales de 20 ml para cabeza volátil.

Diseño experimental.

Se aplicó un diseño experimental multifactorial, se realizó el estudio estadístico en Statgraphics Centurión versión prueba y SPSS versión 21 libre. Con dos factores de estudio A Métodos de estabilidad oxidativa con dos niveles (Rancimat y Oxidógrafo) y B Tipos de aceites con tres niveles (canola, girasol y maíz), realizando 4 réplicas, con dos variables respuestas las concentraciones de semi-volátiles y ácidos ionizable.

Resultados y discusión.

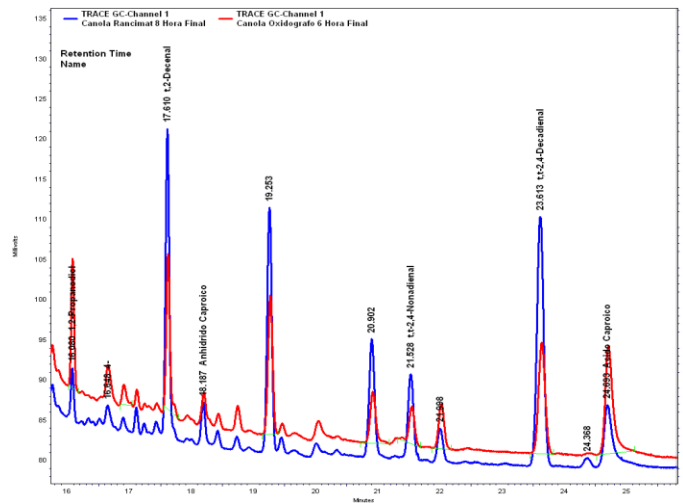


Gráfico 1. Cromatograma VOC canola Rancimat vs Oxidógrafo

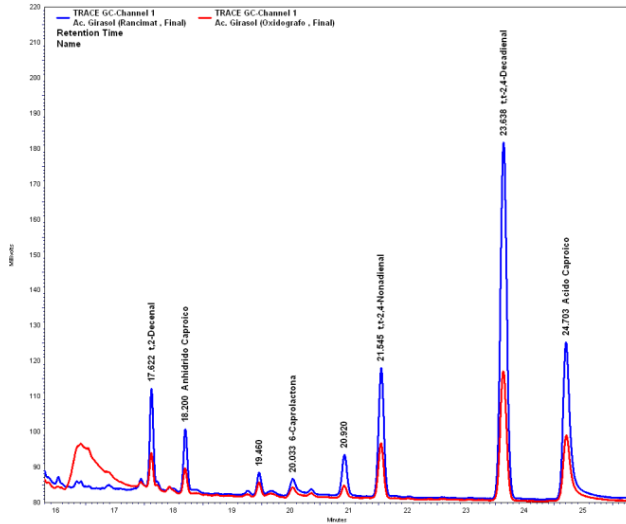


Gráfico 2. Cromatograma VOC girasol
110°C
Rancimat vs Oxidógrafo

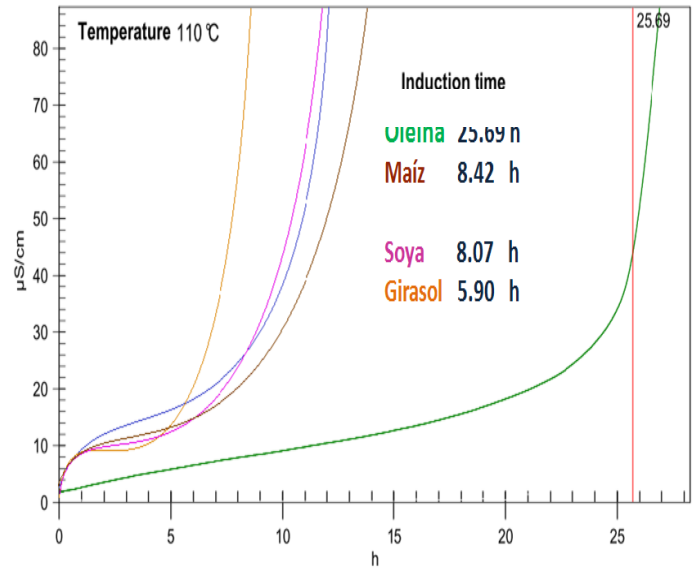


Gráfico 4. Curvas de oxidación en
Rancimat a 110°C

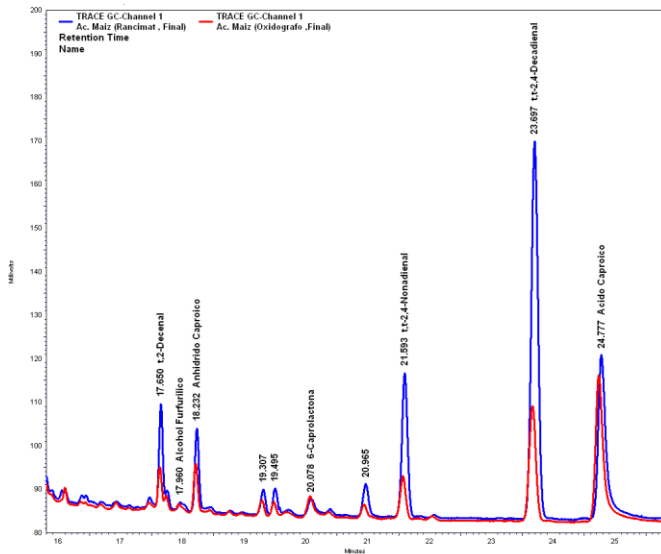


Gráfico 3. Cromatograma VOC maíz
Rancimat vs Oxidógrafo

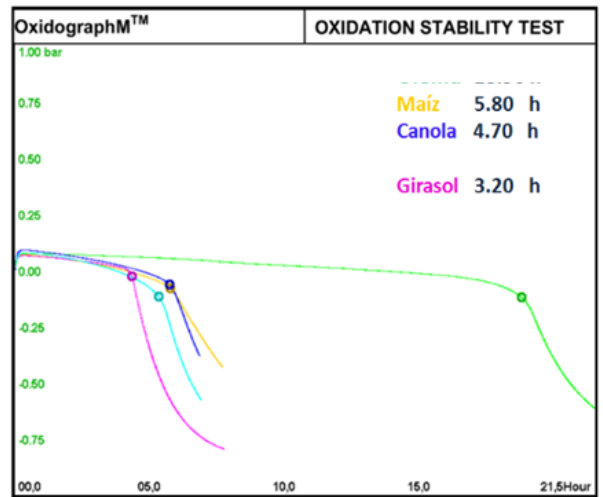


Gráfico 5. Curvas de oxidación en
Oxidógrafo a 110°C

En los gráficos 1, 2 y 3 se observa con claridad en los cromatogramas las diferencias en cuanto a las concentraciones de t,2-Nonenal, t,2-Decenal, t,t-2,4-Nonadienal y t,t-2,4-Decenal correspondientes a semi-volátiles y las concentraciones de los ácidos fórmico, acético y caproico en cuanto a los ácidos ionizables, entre los aceites de canola, girasol y maíz sometidos previamente a pruebas de estabilidad oxidativa acelerada, evidentemente las concentraciones de semi-volátiles son muy superiores en los aceites analizados en Rancimat que los analizados en el Oxidógrafo; contrastando de esta forma los principios diferente de los métodos de oxidación acelerada en cuanto a los productos de oxidación característicos de las etapas oxidativas en aceites y grasas; según Rudnik, *et,al* (2001) los datos de periodos de inducción obtenidos en rancimat son superiores a métodos analíticos como calorimetría diferencial de barrido (DSC) obteniendo cantidades elevadas de compuestos orgánicos volátiles; de esta forma al ser el DSC relativo al segundo método en estudio (Oxidógrafo) ya que mide compuestos de oxidación primaria (peróxidos) se puede evidenciar esta

diferencia entre métodos en los gráficos 4 y 5 ; de la misma forma (Barriuso, Astiasarán, & Ansorena, 2013) indican que la oxidación lipídica en los alimentos constituye una compleja cadena de reacciones que en primer lugar produce productos (peróxidos) que, cuando se exponen a condiciones de oxidación prolongadas, dan lugar a productos secundarios de oxidación, incluidos aldehídos, cetonas, epóxidos, compuestos hidroxi-oligómeros y polímeros. La mayoría de ellos produce efectos sensoriales y biológicos indeseables de esta forma se establece la diferencia de los principios de funcionamiento de cada método, el primero en mención nos provee estimaciones de vida útil de un aceite hasta su etapa final de oxidación al obtener en mayor cantidad compuestos de oxidación secundaria y terminación (semi-volátiles), mientras que en el Oxidógrafo se obtuvieron cantidades menores de semi-volátiles contrastando de esta forma su principio de funcionamiento, al ser un método que solo indica productos de oxidación primaria, Estas diferencias se muestran en los gráficos 6 y 7 de este estudio.

En este caso, los métodos de estabilidad Rancimat y Oxidógrafo, los tres tipos de aceites y la interacción entre ambos factores tienen valores $P < 0,05$, lo que indica que son significativamente diferentes de cero en el nivel de confianza del 95,0%. La estadística R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica el 96,4064% de la variabilidad en Semi-Volátiles. El error estándar de la estimación muestra que la desviación estándar de los residuos es 47,8397.

FV	Σ cuadrados	Gl	Cuadrados medios	F- Ratio	P- Value
A:Métodos de Estabilidad Oxidativa	1117,94	1	1117,94	0,98	0,3379
B:Tipos de Aceites	11771,2	1	11771,2	10,28	0,0055
AB	2440,85	1	2440,85	2,13	0,1637
Total error	18327,1	16	1145,44		
Total (corr.)	33699,6	23			

FV	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrados medios	F- Ratio	P- Value
A:Métodos de Estabilidad Oxidativa	393075,	1	393075,	171,75	0,0000
B:Tipos de Aceites	249750,	1	249750,	109,13	0,0000
AB	75056,8	1	75056,8	32,80	0,0000
Total error	36618,1	16	2288,63		
Total (corre.)	1,01897E6	23			

Tabla 1. ANOVA para semi-volátiles

Tabla 2. ANOVA para ácidos ionizables

Para los ácidos ionizables, solo los tres tipos de aceites tienen valores $P < 0,05$, lo que indica que son significativamente diferentes de cero en el nivel de confianza del 95,0%. En cuanto a las diferencias en las concentraciones en ppm de ácidos ionizables, mientras que en los métodos los ácidos producidos en la oxidación entre uno y otro no presentan diferencias significativas. La estadística R-Cuadrada indica que el modelo según corresponde explica el 45,6162% de la variabilidad en Ácidos Ionizables.

El error estándar de estimación muestra que la desviación estándar de los residuos es 33,8444.

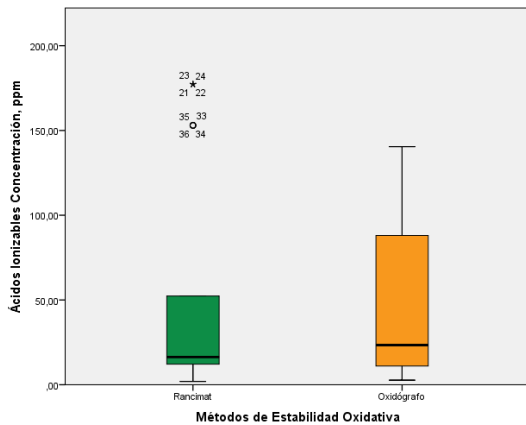


Gráfico 6. Comparativo de métodos de estabilidad y ácidos ionizables

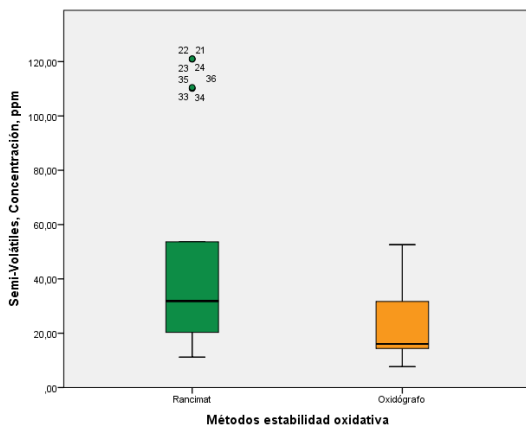


Gráfico 7. Comparativo de métodos de estabilidad oxidativa y semi-volátiles.

Conclusiones

El método Rancimat provee la estimación de la vida útil hasta la etapa final de oxidación, mientras que el método Oxidógrafo indica exclusivamente hasta

la etapa primaria de oxidación cantidades menores de semi-volátiles.

La cantidad de semi-volátiles generados en los aceites analizados por el método Rancimat, fueron significativamente superiores a los obtenidos en los analitos resultantes del Oxidógrafo.

El coeficiente de determinación indica que el modelo ajustado es 96,4% de la variabilidad en Semi-Volátiles.

Los ácidos ionizables no presentan variación significativa entre los métodos rancimat y Oxidógrafo.

Citas Bibliográficas.

Barriuso, B., Astiasarán, I., & Ansorena, D. (2013). A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *European Food Research and Technology*, 236(1), 1-15. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1866-9>

RudniRudnik, E., Szczucinska, A., Gwardiak, H., Szulc, A., & Winiarska, A. (2001). Comparative studies of oxidative stability of linseed oil. *Thermochimica Acta*, 370(1-2), 135-140.

[https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(00\)00781-4](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(00)00781-4)

Barrera Arellano, Daniel. «Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas.» *Grasas y Aceites* 49, no 1 (28 de febrero de 1998): 55-63.

<https://doi.org/10.3989/gya.1998.v49.i1.709>.

F. Shahidi and Y. Zhong "Lipid Oxidation: Measurement Methods". Canada, 2005, Ch.8, *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume Set*.

R. Griffiths "Importance of Oxidative Stability in the Shelf Life of Foods and Ingredients ". *RSSL White Paper*. (England 2016).

J. Velasco and C. Doborganes "Oxidative stability of virgin olive oil". *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104, 661-676. (Germany, 2002).

E. Rudnik, A. Szczucinska "Comparative studies of oxidative stability of linseed oil". *Thermochemical Acta* 370 (2001) 135-140.

S.M. Marcus, R.L. Blaine "Estimation of Bias in the Oxidative Induction Time Measurement by Pressure DSC". *T.A. Instruments, TA-228*.

M.Pignitter, V.Somoza. "Critical Evaluation of Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils" *J.of Food and Drug Analysis* ,Vol.20 N0.4, 2012 .p772-777

C. Gertz, S.P. Kochhar. "A new method to determine oxidative stability of vegetable fats and oils at simulated frying temperature". *Oleagineux, Coprs Gras, Lipides*. Volumen 8, Número 1, 82-8. (France, 2001).