

# UNIVERSIDAD DE SEVILLA

X  
/  
FOS

FACULTAD DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA



## **"Modificaciones producidas durante el proceso de refinación de los aceites comestibles."**

Memoria presentada por la licenciada M<sup>a</sup> VICTORIA RUÍZ MÉNDEZ  
para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas.

A handwritten signature in black ink that reads "Victoria Ruíz Méndez". The signature is written in a cursive style and is underlined.

*Fdo. / M<sup>a</sup> Victoria Ruíz Méndez*

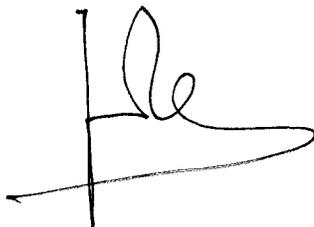
# UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA

**"Modificaciones producidas durante el proceso de refinación de los aceites comestibles."**

Vº Bº  
el Director- Tutor



Fdo./Dr. D. JUAN PEREDA MARÍN

Catedrático de Química Industrial del  
Departamento de Ingeniería Química.

VºBº  
la Directora



Fdo./Dra. Dña. Mª CARMEN DOBARGANES GARCÍA

Investigador Científico de  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

4

Presentado en

de la Universidad desde el día  
hasta el día

Sevilla de

de 19

EL DIRECTOR DE

del libro

202

168

El Jefe del Departamento de Tesis,

*Juan Pereda Marín*

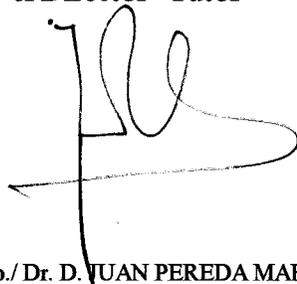
**JUAN PEREDA MARÍN**, Catedrático de Química Industrial del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Sevilla, y **M<sup>a</sup> del CARMEN DOBARGANES GARCÍA**, Investigador Científico del Instituto de la Grasa y sus Derivados de Sevilla, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

## CERTIFICAN:

Que esta Tesis Doctoral ha sido realizada en los laboratorios de la Unidad Estructural de Caracterización y Calidad de los Alimentos, del Instituto de la Grasa y sus Derivados de Sevilla.

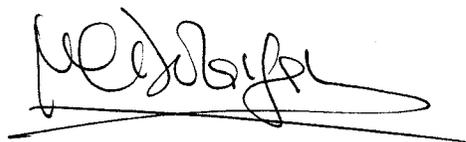
Y para que así conste, firman la presente en Sevilla a 7 de Julio de 1993,

Vº Bº  
el Director- Tutor



Fdo./Dr. D. JUAN PEREDA MARÍN

Vº Bº  
la Directora


Fdo./Dra. Dña. M<sup>a</sup> CARMEN DOBARGANES GARCÍA

**Antonio Roselló Segado, Director del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Sevilla.**

**CERTIFICA:**

**Que la licenciada en Química M<sup>a</sup> Victoria Ruíz Méndez ha realizado en el Instituto de la Grasa y sus Derivados de Sevilla su Tesis Doctoral, incluida en el Plan de Doctorado de Ingeniería Química, siendo su Tutor D. Juan Pereda Marín y su Directora Dña. M<sup>a</sup> del Carmen Dobarganes García, habiéndose cumplido todos los requisitos legales vigentes.**

**Y para que conste, firmo la presente en Sevilla a 7 de Julio de 1993,**



**Fdo./ Dr. D. Antonio Roselló Segado**

## **AGRADECIMIENTOS.**

Al Dr. D. Juan Pereda Marín por sus valiosas sugerencias y tener la gentileza presentar esta Tesis.

A la Dra. Dña. M<sup>a</sup> del Carmen Dobarganes por brindarme la oportunidad de trabajar con ella, dirigir esta Tesis y dedicar su valioso tiempo a enseñarme tanto la puesta en marcha y ejecución de un trabajo de investigación como el valor de la honradez y la amistad.

A D. Manuel Serrano por su inestimable asistencia y apoyo a lo largo de estos años.

Al Ministerio de Educación y Ciencias por concederme una beca para el Intercambio de Personal Investigador entre Industrias y Centros Públicos de Investigación y darme la ocasión de establecer una estrecha colaboración con la empresa ACEPROSA a la que quiero hacer extensivo mi agradecimiento, en particular al equipo técnico y directivo de la factoría de Sevilla, sin los que no hubiera sido posible la realización de esta Tesis.

Por último, quisiera expresar mi agradecimiento al Instituto de la Grasa y sus Derivados y a todos y cada uno de sus miembros que directa o indirectamente han colaborado en la realización de esta Tesis.

# INDICE

## 1. INTRODUCCIÓN.

<b>1.1. Antecedentes.</b> . . . . .	<b>3</b>
1.1.1. El proceso de refinación. . . . .	7
1.1.1.1. Desgomado. . . . .	8
1.1.1.2. Neutralización. . . . .	12
1.1.1.3. Decoloración. . . . .	14
1.1.1.4. Desodorización y Destilación de Ácidos Grasos. . .	16
1.1.2. Calidad de los aceites refinados. . . . .	20
1.1.2.1. Variables que influyen en la calidad de los aceites. . . . .	26
1.1.2.2. Normas de calidad para la comercialización de aceites refinados. . . . .	28
1.1.2.3. Control de calidad durante la refinación. . . . .	40
<b>1.2. Objetivos del trabajo.</b> . . . . .	<b>45</b>

## 2. PARTE EXPERIMENTAL.

<b>2.1. Desarrollo de nueva metodología analítica para la evaluación del proceso de refinación y de la calidad de los aceites refinados. . .</b>	<b>49</b>
2.1.1. Determinación cuantitativa de los componentes menores glicéricos. . . . .	51
2.1.1.1. Muestras. . . . .	53
2.1.1.2. Metodología analítica. . . . .	54
2.1.1.3. Resultados y discusión. . . . .	57
2.1.2. Determinación cuantitativa de componentes mayoritarios presentes en los destilados obtenidos en la desodorización. .	66
2.1.2.1. Muestras. . . . .	68
2.1.2.2. Metodología analítica. . . . .	70
2.1.2.3. Resultados y discusión. . . . .	71

<b>2.2. Modificaciones originadas durante el proceso de refinación. . . .</b>	<b>76</b>
2.2.1. Muestras y Tratamientos. . . . .	80
2.2.1.1. Refinación Química. . . . .	80
2.2.1.2. Refinación Física. . . . .	84
2.2.2. Determinaciones Analíticas. . . . .	85
2.2.2.1. Determinaciones Clásicas. . . . .	85
2.2.2.2. Determinación cuantitativa de los compuestos menores glicéricos. . . . .	91
2.2.2.3. Determinación cuantitativa de los compuestos menores del insaponificable. . . . .	91
2.2.3. Resultados y discusión. . . . .	95
2.2.3.1. Refinación Química. . . . .	95
2.2.3.2. Refinación Física. . . . .	116
<b>2.3. Estudio comparativo de la utilización de vapor de agua y     nitrógeno como gases de arrastre en la fase de     desodorización. . . . .</b>	<b>127</b>
2.3.1. Muestras y Tratamientos. . . . .	128
2.3.2. Determinaciones específicas. . . . .	129
2.3.3. Resultados y discusión. . . . .	133
2.3.3.1. Ensayos en sistemas de laboratorio. . . . .	133
2.3.3.2. Ensayos en planta industrial. . . . .	147
<b>3. RESUMEN Y CONCLUSIONES. . . . .</b>	<b>155</b>
<b>4. BIBLIOGRAFÍA. . . . .</b>	<b>161</b>



# 1. INTRODUCCIÓN.

## **1.1. ANTECEDENTES.**

Los aceites y grasas son alimentos fundamentales de la dieta ya que además de constituir la principal fuente energética del organismo, aportan elementos indispensables (ácidos esenciales, vitaminas liposolubles, esteroides precursores de hormonas, etc.), esenciales para su correcto funcionamiento.

La mayor parte de los aceites y grasas se consumen después de haber sido sometidos al proceso de refinación. La necesidad de la refinación surge por razones muy diferentes entre las que destacan la presencia de características organolépticas rechazables por el consumidor, la existencia de alteraciones en los frutos o semillas de los que proceden y la presencia de compuestos antinutritivos en cantidades minoritarias. Por ello, el objetivo fundamental de la refinación es eliminar todos los componentes menores que disminuyen su calidad y/o valor nutricional. Al mismo tiempo, tiene similar importancia el mantenimiento de la estructura natural de los glicéridos así como la cantidad y calidad de los componentes menores beneficiosos.

Los últimos datos disponibles sobre la producción mundial de aceites y grasas se recogen en la Tabla I. Como puede observarse, no sólo los aceites y grasas vegetales suponen un 75 % del total, sino que más de la mitad de la producción total se concentra en los aceites de soja, palma, colza y girasol. Por otra parte, el incremento

experimentado por la producción en los últimos cinco años se debe fundamentalmente al aumento de las grasas vegetales, ya que los aceites industriales, las grasas animales y los aceites de pescado experimentan fluctuaciones en el período considerado.

En lo que se refiere a España, la producción total actual es del orden de 1,1 millones de toneladas, correspondiendo aproximadamente un 90% a los aceites de oliva y girasol, que se producen en cantidades similares.

Con excepción del aceite de oliva, que es el único aceite que se consume en los países desarrollados sin ser refinado cuando su calidad lo permite, el resto de los aceites se consumen después de ser sometidos al proceso de refinación.

La importancia económica del proceso de refinación de aceites y grasas es, por tanto, indudable, como lo es el interés de todas las aportaciones dirigidas al diseño de equipos más eficientes, a un mejor conocimiento del proceso y a la optimación del mismo en relación con la calidad de los aceites obtenidos.

Con este estudio se pretende contribuir a una mejor evaluación de la calidad de los aceites crudos y refinados así como a un mayor conocimiento de las modificaciones minoritarias que tienen lugar en las diferentes etapas del proceso de refinación.

**Tabla I.**  
**Producción mundial de aceites y grasas.**  
 Cantidades en toneladas métricas.

	Campaña 1986/87	Campaña 1987/88	Campaña 1988/89	Campaña 1989/90	Campaña 1990/91
Soja .....	15.200.000	15.300.000	14.560.000	15.740.000	15.780.000
Girasol .....	6.660.000	7.300.000	7.200.000	8.000.000	7.700.000
Colza .....	6.900.000	7.760.000	7.600.000	7.600.000	8.680.000
Algodón .....	3.100.000	3.500.000	3.600.000	3.500.000	3.930.000
Cacahuete .....	3.100.000	3.000.000	3.800.000	3.500.000	3.230.000
Oliva .....	1.800.000	1.935.000	1.650.000	1.750.000	1.720.000
Sésamo .....	500.000	450.000	400.000	400.000	400.000
Maíz .....	1.200.000	1.300.000	1.350.000	1.300.000	1.200.000
Cártamo (alazor) .....	300.000	300.000	300.000	250.000	250.000
Palma .....	8.000.000	8.500.000	9.300.000	10.000.000	11.000.000
Coco .....	3.000.000	2.700.000	2.750.000	2.800.000	3.000.000
Palmiste .....	1.000.000	1.200.000	1.300.000	1.350.000	1.500.000
Babassú .....	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
<b>TOTAL .....</b>	<b>50.800.000</b>	<b>53.345.000</b>	<b>53.910.000</b>	<b>56.290.000</b>	<b>58.490.000</b>
<b>ACEITES INDUSTRIALES</b>					
Linaza .....	650.000	600.000	510.000	550.000	560.000
Ricino .....	400.000	375.000	450.000	450.000	425.000
Madera (tung) .....	90.000	80.000	80.000	70.000	70.000
Oiticica .....	15.000	15.000	15.000	15.000	15.000
<b>TOTAL .....</b>	<b>1.155.000</b>	<b>1.070.000</b>	<b>1.055.000</b>	<b>1.085.000</b>	<b>1.070.000</b>
<b>GRASAS ANIMALES</b>					
Sebos .....	5.900.000	5.800.000	6.000.000	5.500.000	5.250.000
Mantequilla (grasas) .....	4.900.000	5.200.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000
Manteca .....	4.720.000	4.800.000	5.000.000	5.200.000	5.800.000
<b>TOTAL .....</b>	<b>15.520.000</b>	<b>15.800.000</b>	<b>16.000.000</b>	<b>15.700.000</b>	<b>16.050.000</b>
Aceites de pescado .....	1.350.000	1.400.000	1.600.000	1.600.000	1.500.000
<b>TOTAL MUNDIAL ...</b>	<b>68.825.000</b>	<b>71.615.000</b>	<b>72.565.000</b>	<b>74.675.000</b>	<b>77.110.000</b>

### **1.1.1. El proceso de refinación.**

Los aceites son productos naturales procedentes del reino vegetal (semillas y frutos oleaginosos), o animal (tejido adiposo, vísceras, etc.) constituidos normalmente por triglicéridos en más de un 95%. Sus propiedades físicas y químicas vienen determinadas por la composición en ácidos grasos y por la distribución de los mismos en la molécula de glicerol.

Junto a los triglicéridos, también se encuentran una gran variedad de compuestos, presentes en cantidades minoritarias, entre los que destacan los de naturaleza glicerídica (monoglicéridos, diglicéridos y fosfolípidos), ácidos grasos y compuestos no saponificables de carácter lipófilo que, entre otras funciones, les confieren sus características de color, olor y sabor y modifican su resistencia a la oxidación.

El objetivo del proceso de refinación es obtener un aceite o grasa suave, casi insípida, muy ligeramente coloreada y estable. Para ello, es necesario someter al aceite a una serie de etapas donde se eliminen los compuestos presentes en el aceite crudo que influyen negativamente en la calidad o estabilidad del mismo.

Este proceso de refinación suele realizarse por dos métodos: la llamada refinación clásica o química y la refinación física. Las diferencias entre ambos procesos se muestran en la Figura 1. Dependiendo de la naturaleza del aceite, en algunos casos se introducen otras etapas en el proceso como son la winterización, fraccionamiento, hidrogenación, etc., que no están reflejadas en el esquema.

## REFINACIÓN DE ACEITES

CLÁSICA

FÍSICA

### COMPUESTOS QUE SE ELIMINAN

DESGOMADO

——»

*Fosfolípidos*

——»

DESGOMADO

NEUTRALIZACIÓN

——»

*Ácidos Grasos Libres*

DECOLORACIÓN

——»

*Pigmentos*

——»

DECOLORACIÓN

DESODORIZACIÓN

——»

*Olor y Sabor*

——»

DESODORIZACION-  
NEUTRALIZANTE

Figura 1.- Etapas características de la refinación química y física.

#### 1.1.1.1. Desgomado.

El objetivo de esta etapa, también llamada depuración y desmucilagínación, es la eliminación de los fosfolípidos, comúnmente denominados fosfátidos o gomas. Son compuestos constituidos por una molécula de glicerol esterificada en posición 1-2, con ácidos grasos y en posición 3 con el ácido fosfórico que, a su vez, está unido a un grupo amino o a un azúcar. Es decir, los fosfolípidos son moléculas polares anfífilas, lo que explica algunas de sus propiedades como su higroscopicidad, solubilidad en disolventes polares, unión con cationes (cobre, hierro, calcio, etc.), etc..

Su contenido varía según la naturaleza del aceite y se deben a la acción del disolvente sobre las membranas celulares durante la extracción. Ese contenido es muy alto en algunos aceites de semillas tales como: aceite de soja, de maíz y colza, donde pueden alcanzar hasta un 3% en el aceite crudo, o muy bajo en otras como el cacahuete y el coco, siendo casi nulo en los aceites procedentes de pulpas de frutos, como los de oliva y palma, donde no sobrepasa el 0,1% (Bailey, 1961).

Entre los fosfolípidos más importantes desde el punto de vista cuantitativo se encuentran la fosfatidil-colina, fosfatidil-etanolamina, fosfatidil-serina y fosfatidil-inositol (Segers y Van de Sande, 1989). Todos ellos tienen propiedades tensioactivas, lo cual da lugar a su capacidad emulsionante que interfiere negativamente en la refinación, aumentando las pérdidas de grasa neutra. Una propiedad común de todos estos compuestos es que forman hidratos con el agua, los cuales son insolubles en el aceite. Una parte importante de estos fosfátidos se eliminan mediante agitación en presencia de agua, aunque su velocidad de hidratación varía de forma substancial (Sen Gupta, 1986).

Junto a los fosfátidos hidratables, existe una parte significativa de fosfátidos no hidratables, normalmente sales de calcio o magnesio, que requieren un proceso químico para ser eliminados de forma completa (Hvolby, 1971).

La ventaja inmediata de eliminar los fosfátidos en el aceite crudo es que se depositan menos lodos durante el almacenamiento. En estos lodos se encuentran también algunos compuestos capaces de provocar la oxidación e hidrólisis del aceite. La eliminación de los fosfátidos es, según algunas investigaciones, la fase más importante cuando se pretende obtener una buena estabilidad del producto final, ya que actúan

como secuestrante de los metales que contiene el aceite (Mounts y col., 1978; Jaward y col., 1983; Erickson y Wiederman, 1991).

Si los fosfátidos permanecen antes de la desodorización o de la refinación física, el aceite resultará de un color más oscuro y tendrá peores caracteres organolépticos y estabilidad. Las especificaciones en fósforo propuestas para aceites que vayan a ser sometidos a refinación física establecen que su contenido no debe ser superior a 5 ppm (Ong, 1980).

El desgomado puede realizarse de forma discontinua o continua y generalmente se efectúa como paso previo a la neutralización, sea físico o químico el procedimiento empleado. Los tres principios básicos del proceso de desgomado (Segers y van Sande, 1990) se resumen a continuación:

a) Eliminación de fosfolípidos mediante formación de miscelas.

Este procedimiento aprovecha la formación de agregados moleculares de los fosfolípidos en disolventes no polares, efectuándose la separación de las miscelas formadas mediante ultracentrifugación o ultrasonido. El proceso se encuentra aún en fase experimental (Moulton y Mounts, 1990).

b) Hidratación rápida de los fosfolípidos.

Los fosfátidos, proteínas y otras sustancias que se encuentran disueltas o en suspensión en los aceites, precipitan en presencia de agua en forma de flóculos que pueden ser separados por simple decantación o bien por centrifugación.

El método normalmente utilizado es muy simple ya que basta agitar el aceite en una batidora durante 20 minutos, con un 2 a un 4% de agua, a 60°C (Denise, 1983). Este método sólo se emplea en la actualidad en las molturadoras, para evitar la precipitación de los fosfátidos hidratables en los depósitos de almacenamiento.

En el caso del aceite de soja, se ha introducido una innovación en la extracción para favorecer la eliminación posterior de los fosfolípidos. El procedimiento, conocido como proceso ALCON, consiste en un tratamiento de los copos de soja con humedad y calor para destruir los enzimas que causan el incremento de los fosfolípidos no

hidratables (Penk, 1985). En la práctica, el proceso es efectivo, ya que los fosfátidos son fácilmente separados por una simple hidratación, quedando un nivel de gomas inferior a 30 ppm (Erickson y Wiederman, 1991).

c) Eliminación de los fosfolípidos no hidratables mediante tratamiento con ácidos.

Si es necesario un desgomado más exhaustivo, como en el caso de la refinación física, el aceite procedente del desgomado anterior o aquellos cuyo contenido en fosfátidos sea inferior a 0,5%, se desgoman con ácido diluido.

Se puede emplear ácido clorhídrico y cítrico fosfórico, nítrico, sulfúrico y oxálico (Ohlson, 1976; Ramos, 1977; Smiles y col., 1989). En la industria alimentaria sólo se permite el uso del cítrico y del fosfórico, siendo este último el de utilización más extendida por su menor precio.

En síntesis, el proceso a seguir consiste en mantener el aceite en agitación en presencia de ácido fosfórico. Cuando aumenta la temperatura, tiene lugar la precipitación de los fosfátidos, que se separan mediante centrifugación.

Los principales factores que influyen en la eficacia del desgomado son la concentración de ácido, la temperatura y el tiempo de operación.

En la práctica se utiliza 0,1-0,2% de ácido fosfórico, de concentración entre el 20-60%. El uso de soluciones de ácido más concentradas origina un alto nivel de fósforo residual, bien por presencia de los fosfátidos originales no eliminados, o por la formación de productos de reacción entre el ácido fosfórico y ciertos compuestos presentes en el aceite (Dijkstra y van Opstal, 1989).

La mezcla se debe hacer a baja temperatura para conseguir un buen contacto entre el aceite y el reactivo, evitando la formación de emulsiones. Si se aumenta la temperatura de forma progresiva, la precipitación aumenta hasta un máximo, con la formación de flóculos más duros. Si la temperatura de la mezcla del aceite y de los fosfátidos hidratados es inferior a 40°C, los fosfátidos precipitados tienen una estructura semicristalina que permite su fácil eliminación, disminuyendo la pérdida de aceite neutro. Cuando la temperatura es superior a 60°C, aunque la separación es buena, las gomas suelen ser pardas o negras, con la consiguiente pérdida de calidad de los

fosfolípidos, lo que es de singular importancia cuando se van a utilizar posteriormente en la industria alimentaria. Sin embargo, en los sistemas continuos donde los fosfátidos se eliminan conjuntamente con los jabones en la etapa de neutralización alcalina, se consiguen muy buenos resultados realizando el desgomado alrededor de los 80°C (Carlson y Rubini, 1987).

En lo que se refiere al tiempo de tratamiento, la precipitación de los fosfátidos en la práctica alcanza el máximo entre 15 y 30 min (Carr, 1978). Sin embargo, la reacción entre el aceite y el ácido es inmediata y tiempos de tratamiento excesivamente largos originan la formación de compuestos no hidratables (Nilsson-Johanson y col. 1988).

#### **1.1.1.2. Neutralización.**

La neutralización tiene por objeto eliminar los ácidos grasos libres y otras impurezas presentes en los aceites brutos, minimizando las pérdidas de aceite neutro. La presencia de ácidos grasos libres en el aceite disminuye su estabilidad ya que son catalizadores de las reacciones de oxidación e hidrólisis de los triglicéridos (Patterson, 1989).

El procedimiento más utilizado es el tratamiento con álcali cáustico, que se practica aproximadamente desde hace un siglo y que origina una separación completa de los ácidos grasos libres, mediante la transformación en jabones insolubles en el aceite. Al mismo tiempo, facilita la eliminación de restos de fosfolípidos y trazas metálicas (Waters, 1971; Farhan y Rahmati, 1988).

El álcali más ampliamente usado es el hidróxido sódico, álcali fuerte que neutraliza de forma rápida y eficaz a los ácidos grasos y contribuye también a decolorar el aceite. Sin embargo, es inevitable que se originen además una serie de reacciones secundarias, como son la saponificación de una pequeña parte de los triglicéridos, que se favorece por el tiempo de contacto entre el aceite y el álcali y por la presencia de jabón formado (Denise, 1983). Por otra parte, se elimina también una cantidad significativa de compuestos minoritarios de interés, principalmente esteroides, y

tocoferoles (Niewiadomski, 1958; Vitagliano y Turri, 1958; Fedeli y col., 1971; Lanzón y col., 1987; Kochhar, 1983).

Se han utilizado también otros reactivos alcalinos más débiles, como el carbonato sódico y el hidróxido amónico, solos o combinados con hidróxido sódico. Sin embargo, su uso no está tan extendido debido a que no tienen un efecto decolorante tan acusado en el aceite y requieren una inversión adicional en equipos.

En un principio, el proceso se realizaba de manera discontinua en tanques agitados de 15 a 30 Toneladas de capacidad con calefacción interna y la separación de los jabones formados se hacía por decantación, lo que conllevaba enormes pérdidas (Bailey, 1961).

El proceso en continuo fue posible gracias al uso de separadores centrífugos de rotores tubulares. El primer proceso continuo constaba de cuatro componentes básicos: un sistema de control de la relación de flujos para proporcionar de una manera exacta el flujo continuo de cáustica en el seno del aceite; un mezclador mecánico; un cambiador de calor previo a la centrifugación para romper la emulsión y un separador centrífugo. Pronto se desarrolló el separador centrífugo de discos y se añadió un tanque de retención previo al cambiador de calor. Este proceso, conocido como sistema "Long-Mix", se desarrolló para refinar aceites no desgomados de soja y algodón en Estados Unidos, donde las refinerías se diseñan para grandes volúmenes de un único aceite. Se caracteriza principalmente por un tiempo largo de retención, 3 a 6 minutos, de la mezcla de NaOH con el aceite, un elevado exceso de sosa, (0,1-0,15%), y una temperatura de operación entre 20 y 40°C (Hendrix, 1990).

En Europa, sin embargo, es más usual la necesidad de procesar distintos aceites en la misma planta, de ahí que el sistema discontinuo estuviera ampliamente extendido hasta la introducción del sistema "Short-Mix". El nombre se refiere al corto tiempo que está el aceite y la sosa en contacto antes de la separación de los jabones (entre 15 y 30 segundos). Se basa en una mezcla más íntima de la sosa con el aceite en un mezclador de disco especial, a una temperatura comprendida entre 85 y 95°C. Junto a esta característica, destaca el hecho de utilizar de forma usual el desgomado junto con la neutralización y un exceso de sosa inferior al 0,3% (Hendrix, 1990).

### 1.1.1.3. Decoloración.

La decoloración es la etapa en la cual se reduce el color del aceite mediante la adsorción de los pigmentos sobre tierras decolorantes. Entre los colorantes presentes en los aceites vegetales destacan los pigmentos carotenoides y clorofílicos. Los primeros son, mayoritariamente, hidrocarburos con un gran número de dobles enlaces conjugados que se asocian a los colores rojos y amarillos de muchos aceites. Ciertas variedades pueden llegar a contener cantidades superiores al 0,1%, como ocurre en el caso de aceites de semillas de pimiento. La cantidad de clorofila y derivados en los aceites es mayor si estos proceden de materias oleaginosas vegetales que no han alcanzado su debida madurez. Se encuentran principalmente en los aceites de oliva, colza, pepita de uva y en menor proporción en el de soja (Bernardini, 1981).

Durante la decoloración se adsorben también productos primarios y secundarios de oxidación, metales, jabones, compuestos fosfatídicos y poliaromáticos (Mag, 1990) así como ciertos componentes menores, como es el caso de los tocoferoles (Jung y col., 1989).

Las tierras decolorantes, naturales o activadas, son las más usadas para decolorar (Richardson, 1978). Suelen ser normalmente montmorillonitas (silicatos aluminico-magnésicos) con un rango de partícula entre 20 y 80  $\mu\text{m}$ . Otros adsorbentes de importancia son el carbón activo, cada vez más en desuso (Eicke, 1985), y más recientemente, las sílices sintéticas, con una media de tamaño de partícula de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  y una mayor selectividad para la adsorción de compuestos fosfatídicos, jabones y productos secundarios de oxidación (Bogdanor y col., 1989). Estas sílices no adsorben directamente carotenoides y clorofilas aunque facilitan la adsorción de estos compuestos cuando se utilizan conjuntamente con tierras, puesto que eliminan previamente todos los compuestos que interfieren en su adsorción.

Las propiedades que hemos de considerar en las tierras desde el punto de vista de la adsorción son tanto físicas (área superficial, centros activos en la superficie, tamaño de poro) como químicas (acidez y humedad). Por otra parte, el tamaño de partícula afecta tanto a la filtrabilidad como a la retención de aceite (Mag, 1990). Los consumos normales pueden oscilar entre 0,3 % y 1%.

Los principales factores que influyen en la decoloración por adsorción se

expresan en la relación empírica conocida como "Ecuación Isoterma de Freundlich" que se aplica a la adsorción de soluto desde una disolución sobre una superficie sólida:

$$C^* = K[V (C_0 - C^*)]^n$$

siendo:

$C^*$ : masa de soluto en equilibrio/volumen de solución.

$C_0$ : masa de soluto inicial/volumen de solución.

$V$  : volumen de solución/masa de adsorbente.

$K$  y  $n$ : Factores dependientes de la naturaleza del adsorbente y temperatura de la operación.

La isoterma de Freundlich indica que la adsorción, a una temperatura fija y propiedades fijas de los adsorbente, depende de la concentración de soluto y de la concentración de adsorbente.

Para investigar la eficacia de distintos adsorbentes en las mismas condiciones de tratamiento, especialmente a la misma temperatura, se suelen utilizar gráficas de concentraciones de equilibrio de los compuestos adsorbidos en función de la cantidad de adsorbente usado. Para expresar la concentración se utilizan las unidades de rojo de la escala Lovibond, la concentración en mg/kg de clorofila o la absorbancia de luz que muestra el aceite en la longitud de onda apropiada (Boki y col., 1992).

La elección de la temperatura es importante ya que no sólo influye en el equilibrio, sino que su disminución aumenta la viscosidad del aceite. Esto implica que el contacto entre el aceite y la tierra es menos eficaz y aumenta, además, el tiempo de filtración (Richardson, 1978; Brat y Zajíc, 1992).

La decoloración se debe realizar siempre a vacío, para evitar en lo posible los efectos de la oxidación. Se realiza tanto en sistema en discontinuo, como en continuo. En el primer caso, se lleva a cabo en recipientes cilíndricos provistos de calefacción y sistema de agitación. La adición de tierras se realiza antes de que se alcance la temperatura máxima de la operación, mezcladas con un poco de aceite. Transcurrido el tiempo de operación, entre 10 y 20 minutos, pasa el aceite a filtración. Al comienzo de la operación, el aceite se recircula hasta conseguir que esté completamente exento de tierras, ya que estas suponen un serio riesgo para el aceite si pasan al desodorizador (Goebel, 1981).

Cuando la decoloración se realiza en continuo, en primer lugar se desairea el aceite, para evitar la oxidación; seguidamente, se hace pasar por un filtro con tierras parcialmente usadas para conseguir un ahorro de tierras y un mejor aprovechamiento de las utilizadas. De ahí, el aceite se envía a un mezclador con agitación y luego a un tanque de retención, donde completa el tiempo de contacto necesario. Por último, el aceite pasa a un filtro donde se separan las tierras (Butterworth, 1978).

#### **1.1.1.4. Desodorización y Destilación de Ácidos Grasos.**

La desodorización es la última etapa de importancia en el proceso de refinación química de los aceites y grasas comestibles. Todos los aceites contienen, además de triglicéridos, un elevado número de compuestos minoritarios, entre los que se encuentran los ácidos grasos libres. En mucha menor cantidad, se encuentran los compuestos responsables del olor y del sabor, como son aldehídos, cetonas, alcoholes e hidrocarburos, normalmente originados por descomposición térmica y autooxidativa de peróxidos, pigmentos y estabilizantes naturales del aceite (Cowan, 1976). El objetivo de la desodorización es eliminar estos compuestos que son responsable del olor y del sabor de los aceites. Si no se ha procedido previamente a eliminar los ácidos grasos mediante la neutralización con álcali, estos se eliminan por destilación conjuntamente en esta etapa, denominándose al proceso total refinación física.

Es un proceso de destilación a vacío y a alta temperatura, que se lleva a cabo con arrastre con vapor de agua, normalmente, aunque en los últimos años ha surgido como alternativa el uso del nitrógeno (Huesa y Dobarganes, 1990; Graciani y col., 1991). En estas condiciones, la desodorización y destilación de ácidos grasos es posible por la gran diferencia de volatilidad entre los triglicéridos y las sustancias que los acompañan, como se deduce de la Figura 2. Las cetonas son las que presentan mayores presiones de vapor, entre 500 y 2200 Torr a 250°C, seguidas de algunos hidrocarburos insaturados, entre 100 y 600 Torr, mientras que los puntos de ebullición más altos corresponden a los ácidos grasos libres de cadena larga, pues a 250°C la presión de vapor de estos compuestos está entre 200 y 20 Torr. Sin embargo, como puede

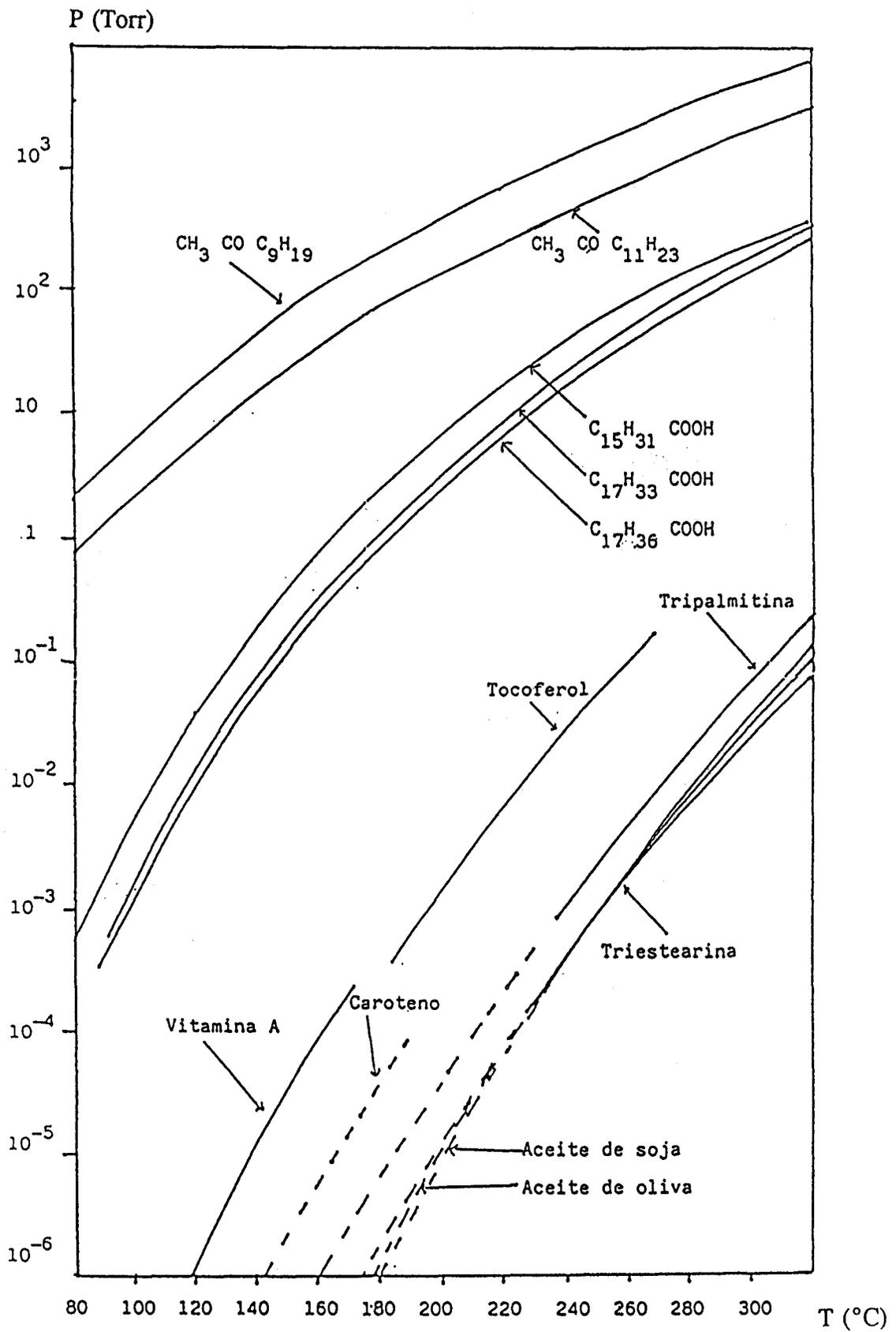


Figura 2.- Presiones de vapor de sustancias volátiles.

observarse en la misma figura, los triglicéridos a la citada temperatura muestran tan sólo valores entre  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  Torr (Stage, 1982). Dada la diferencia de volatilidad entre los compuestos menores, es inevitable una pérdida de parte de los componentes valiosos del aceite, bien por destilación, como es el caso de los tocoferoles, bien por arrastre mecánico, como ocurre en el caso de los triglicéridos (Faur, 1989).

Durante el arrastre con vapor tienen lugar complejos fenómenos físicos y químicos. Los principales efectos físicos son la destilación de volátiles y el arrastre de gotas de aceite neutro por el vapor. Entre las reacciones químicas implicadas se incluyen la descomposición térmica de productos de oxidación y pigmentos, hidratación de compuestos poliénicos conjugados e hidrólisis de los triglicéridos generando ácidos grasos libres (Norris, 1985). Tanto la hidrólisis como el arrastre mecánico del aceite neutro son las causas fundamentales de las pérdidas de rendimiento en la desodorización, mientras que la eliminación excesiva de antioxidantes naturales conlleva la pérdida de estabilidad del producto final. Los componentes aislados por destilación o arrastre, una vez condensados, pueden ser recuperados antes de alcanzar los equipos productores de vacío (Helme, 1981).

La desodorización es una destilación, es decir, es la separación de los componentes de una mezcla líquida, aceite, por vaporización parcial de la misma. La introducción de un gas de arrastre para desodorizar está justificada ya que la destilación comienza cuando la suma de las presiones parciales de los componentes alcanza la presión que hay en la superficie del aceite. Según la Ley de Raoult, a temperatura constante, la presión de vapor de un soluto volátil es proporcional a su fracción molar para un volumen dado de disolución, por tanto si introducimos una presión artificial, manteniendo constante la presión total, conseguimos que el resto de las presiones parciales se reduzcan y, por tanto, comience la destilación a menor temperatura.

La eficiencia de vaporización (E) es la relación que existe entre la presión parcial real del compuesto en los gases que escapan del desodorizador y la presión de equilibrio de dicho compuesto:

$$E = \frac{P_v}{P_{v_{eq}}}$$

Siendo:  $P_v$  la presión parcial real del componente volátil y  $P_{v_{eq}}$  la presión de vapor del componente volátil puro.

Para poder evaluar esta eficiencia con parámetros fácilmente medibles debemos realizar una serie de aproximaciones teóricas.

En primer lugar, la Ley de Raoult establece que la presión de vapor de cualquier compuesto volátil es igual a la presión de vapor de dicho compuesto en forma pura ( $P_v^0$ ), multiplicada por su fracción molar en el aceite:

$$P_{v_{eq}} = P_v^0 \frac{V}{A + V}$$

siendo V, los moles de componente volátil y A, los moles de aceite.

Puesto que la cantidad de sustancias a destilar es muy pequeña en comparación con la cantidad de aceite [ $V \gg (A + V)$ ], se puede considerar:

$$P_{v_{eq}} = P_v^0 \frac{V}{A}$$

Por tanto, según se desprende de la definición de eficiencia de vaporización:

$$P_v = E P_v^0 \frac{V}{A} \quad (1)$$

Matemáticamente la cantidad de gas de arrastre con respecto a la cantidad de sustancias arrastradas se relacionan, según la Ley de Raoult:

$$\frac{dG}{dV} = \frac{P_G}{P_v} \quad (2)$$

siendo:

- $P_G$  Presión parcial real del vapor de agua.
- V Moles de ácido graso a la salida del desodorizador.
- G Moles de gas de arrastre.

Sin embargo, la presión total en el sistema ( $P_T$ ) es la suma de las presiones parciales que ejercen los componentes de la mezcla gaseosa:

$$P_T = P_G + P_v$$

y dado que la presión del gas de arrastre es muy superior a la del componente volátil arrastrado, se puede aproximar la presión total a la ejercida por el gas de arrastre únicamente:

$$P_T = P_G \quad (3)$$

Sustituyendo el valor de  $P_V$  (1) y  $P_G$  (3) en la Ley de Raoult, (2), e integrando la ecuación diferencial, nos resulta, despejando el valor de la eficiencia:

$$E = \frac{P_T \times A}{P_v^0 \times G} \ln \left[ \frac{V_1}{V_2} \right]$$

El aceite vegetal no es una solución ideal y la eficacia de vaporización de los compuestos volátiles depende de su composición, de los parámetros de desodorización, tipo y condiciones del equipo y del procedimiento de operación. Por tanto, un cálculo teórico preciso de los parámetros óptimos de desodorización es difícil. Sin embargo, cuando se realizan una serie de ensayos en un único sistema de desodorización y utilizando las mismas condiciones de operación, el factor de eficiencia de vaporización es muy adecuado para comparaciones relativas (Loft, 1990).

También se han propuesto otros métodos de optimización basados en diseños estadísticos que establecen las variables principales de desodorización y sus interacciones. Estos estudios concluyen en que la calidad del aceite es el resultado de complejas interacciones, entre las cuales destacan las interacciones entre la temperatura y el tiempo y entre la presión y la cantidad de gas de arrastre (Maza y col., 1992).

Las temperaturas utilizadas para la desodorización se encuentran comprendidas entre 180°C y 270°C y dependen del tipo de aceite que se someta al proceso. Así, para los aceites de semillas oscilan entre 220°C y 260°C, para el aceite de palma suele ser superior a 260°C y para la manteca de cacao entre 180°C y 200°C. Estos límites de temperatura vienen establecidos por las reacciones químicas de descomposición e hidrólisis que se producen durante esta etapa (Sjöberg, 1991), aunque es recomendable utilizar temperaturas superiores a 200°C cuando se desea obtener un efecto decolorante adicional, ya a estas temperaturas tiene lugar una rápida descomposición de peróxidos y pigmentos (Ouyan y col. 1980; Ostric-Matijasevic y col., 1980).

El tiempo mínimo requerido depende normalmente del grado de decoloración térmica que se desea obtener. Este tiempo varía con el tipo de aceite y con la calidad inicial del mismo (Sjöberg, 1991) y está directamente relacionado, lógicamente, con la temperatura utilizada, ya que la presión de vapor de los constituyentes volátiles aumenta con la temperatura. Así, por ejemplo, la presión de vapor del ácido linoléico se incrementa de 32 Torr a 250°C a 67 Torr a 270°C, es decir, duplica su velocidad de eliminación durante la desodorización, lo que significaría que un incremento de temperatura de 20°C reduce a la mitad el tiempo de desodorización (Dudrow, 1983).

Existe una fuerte dependencia de la estabilidad del aceite con la relación de tiempo/temperatura de desodorización, debido fundamentalmente a la pérdida de antioxidantes naturales (Gümüşkesen y Çakaloz, 1992; Maza y col., 1992). En concreto, estudios realizados para el aceite de soja indican que se obtienen aceites estables entre 1-2 horas a 210°C y entre 0,5-1 horas a 230 y 250°C, mientras que 30 minutos a 270°C supone ya un tiempo excesivo (Moser y col., 1966).

La combinación óptima de la temperatura y el tiempo depende fundamentalmente de las características de diseño de las instalaciones, particularmente en lo que se refiere a la eficacia de la distribución del gas de arrastre en el seno del aceite (Athanasiadis, 1991).

Por otra parte, para aumentar la eficacia de la destilación se utiliza la combinación de vacío con arrastre de vapor. El vacío se realiza normalmente con el uso de eyectores de vapor de tres etapas, manteniendo un vacío entre 4-6 Torr en el desodorizador. Con cuatro etapas el desodorizador puede operar entre 1-3 Torr, pero debe realizarse un balance entre las ventajas que supone para la calidad del producto en comparación con el incremento en los costos debido al aumento de la cantidad de vapor motriz para los eyectores. También se ha estudiado la combinación de bombas mecánicas con eyectores para el ahorro de energía.

Teóricamente, un descenso en la presión absoluta y/o un incremento en el vapor de arrastre puede aumentar la velocidad de eliminación de componentes volátiles del aceite. Sin embargo, se ha comprobado que para el caso del vapor de agua en un rango de presiones absolutas entre 2 y 6 Torr, la cantidad total de destilados obtenidos es relativamente independiente de la presión, pero directamente proporcional a la temperatura y a la cantidad de vapor de arrastre. Además, el arrastre mecánico aumenta

en proporción directa al flujo volumétrico de vapor, o lo que es lo mismo, al descenso en la presión absoluta. La mayoría de los diseños de desodorizadores establecen entre sus parámetros que la relación entre el porcentaje de vapor y la presión debe estar entre 0,5 y 1. Así, las cantidades más comunes oscilan entre 3% de vapor a 6 Torr, (relación = 0.5) o 2% de vapor a 2 Torr (relación = 1.0) (Dudrow, 1983).

El proceso se realiza de manera discontinua, semicontinua y continua. Es siempre necesario preparar el aceite para la etapa, procediendo primero a desairearlo, ya que el oxígeno es muy reactivo en el aceite a las temperaturas de desodorización y puede afectar de manera muy nociva a la estabilidad del producto terminado; posteriormente, hay que calentar y mantener la temperatura del aceite durante el proceso mediante vapor a presión o aceites minerales y distribuir el gas de arrastre en su seno y, por último, enfriar a vacío, para impedir que el aceite se deteriore una vez desodorizado.

En los sistemas discontinuos, todas estas operaciones se realizan en un único recipiente de desodorización, normalmente tanques cilíndricos con capacidades entre 10 y 30 Ton de carga; se pueden obtener aceites de excelente calidad, sin embargo este sistema no permite un ahorro energético.

Los semicontinuos, consisten en un serie de desodorizadores discontinuos superpuestos con entradas y salidas continuas. La existencia de cambiadores de calor que utilizan la energía que pierde el aceite de salida para calentar el de entrada al desodorizador, permite disminuir los costes energéticos respecto a los sistemas discontinuos. Este diseño fuerza a operar con largos tiempos de residencia y, por consiguiente, a temperaturas más bajas.

La desodorización en continuo se realiza en torres cilíndricas donde el aceite entra por la parte superior y desciende a través de una serie de platos, o bien columnas empacadas, por donde circula el gas de arrastre en contracorriente, de abajo hacia arriba. La desodorización se efectúa a temperaturas análogas a la de desodorización discontinua, aunque el tiempo requerido es bastante menor, entre 45 y 80 minutos.

Las ventajas de la desodorización en contracorriente sobre el proceso discontinuo se basan en que la proporción de materias volátiles absorbidas por la corriente de vapor es función de la concentración de volátiles en el aceite. El vapor que asciende se encuentra cada vez con aceite más rico en materias volátiles y pasa finalmente a través

de una capa de aceite que no ha sufrido ninguna desodorización, por ello el proceso continuo presenta una considerable economía tanto de vapor, como de calorías al utilizar el aceite caliente que sale por la parte baja de la columna para calentar el aceite decolorado que penetra por la parte superior (Stage, 1982).

La oxidación provoca los peores efectos en detrimento de la calidad de los aceites terminados que se mantienen en almacenamiento, por lo que la exclusión del oxígeno durante este período es indispensable para evitar la pérdida de calidad. El procedimiento normal implica reemplazar el oxígeno por nitrógeno desde la salida del desodorizador hasta su almacenamiento en un tanque inertizado, manteniendo el sistema presurizado mediante un regulador.

### **1.1.2. Calidad de los aceites refinados.**

Una vez refinado, el aceite debe reunir unas especificaciones de calidad para su posterior comercialización. Las normas oficiales establecidas, tienen como objetivo fundamental garantizar la salubridad y bondad del producto dirigido al consumidor y regular las transacciones comerciales. Al margen del necesario cumplimiento de estas normas básicas, existe un control previo del aceite que se lleva a cabo durante el proceso de refinación, con el fin de garantizar que se cumplen los objetivos fijados en cada una de las etapas o fases del mismo. Los controles aplicados al aceite desodorizado son, en general, más exigentes que los establecidos en las normas oficiales y, por tanto, el refinador puede tener la certeza de que los aceites obtenidos cumplen los requisitos necesarios para su comercialización.

En ambos casos, los métodos analíticos aplicados proporcionan información muy útil sobre determinadas características de calidad de los aceites en el momento en que se realiza la evaluación, pero no permiten conocer si el nivel de calidad se mantendrá durante el tiempo que el producto permanece en el mercado antes de ser consumido. La determinación de la vida media de los productos alimentarios es uno de los aspectos que reciben mayor atención en los últimos años en el Área de Tecnología de los alimentos y es una idea cada vez más admitida que la evaluación de productos naturales debe ir dirigida a predecir y garantizar su calidad durante el período de almacenamiento y conservación.

En los apartados posteriores, se revisan los principales factores que influyen en la calidad de los aceites refinados, así como los aspectos fundamentales que caracterizan la evaluación de su calidad dirigida a la comercialización de aceites refinados, a la producción de los mismos y a propiciar un mejor conocimiento sobre la evolución de la calidad en el tiempo.

#### **1.1.2.1. Variables que influyen en la calidad de los aceites.**

Desde un punto de vista general, las principales alteraciones que experimentan las grasas durante su procesamiento y conservación se deben a la acción de la temperatura, del oxígeno atmosférico y la humedad. La acción de estas variables durante etapas anteriores al proceso de refinación, así como durante el mismo, determinan la calidad inicial del aceite refinado que, posteriormente, puede ser modificada durante su almacenamiento y conservación como consecuencia de la alteración oxidativa. La principal diferencia entre las tres variables es que mientras la humedad afecta al enlace éster del glicerol con la consiguiente formación de ácidos grasos libres y glicéridos parciales, la acción de la temperatura y el oxígeno tiene lugar, prioritariamente, en los restos acilos insaturados constituyentes de la molécula de triglicérido.

A continuación, se resume la información existente sobre los compuestos formados en condiciones de alteración oxidativa, térmica e hidrolítica, así como los métodos de análisis para su evaluación. Dada la diversidad de ácidos grasos presentes en los aceites y sus posibilidades de combinación en las moléculas de triglicéridos, la información más rigurosa se ha obtenido utilizando moléculas simples como los triglicéridos puros, los ácidos grasos puros o sus ésteres metílicos, en condiciones de alteración bien definidas. El uso de tales sistemas modelos ha supuesto y supone aún, una importante contribución al mejor conocimiento de los compuestos producidos y al desarrollo de métodos analíticos de posterior aplicación a grasas comestibles (Frankel, 1982).

### **a) Alteración Oxidativa.**

Aunque existen diferencias sustanciales entre la alteración oxidativa a baja y a elevada temperatura, en ambos casos la vía principal de obtención de compuestos de alteración incluyen la formación de hidroperóxidos (Frankel, 1988; Frankel, 1991).

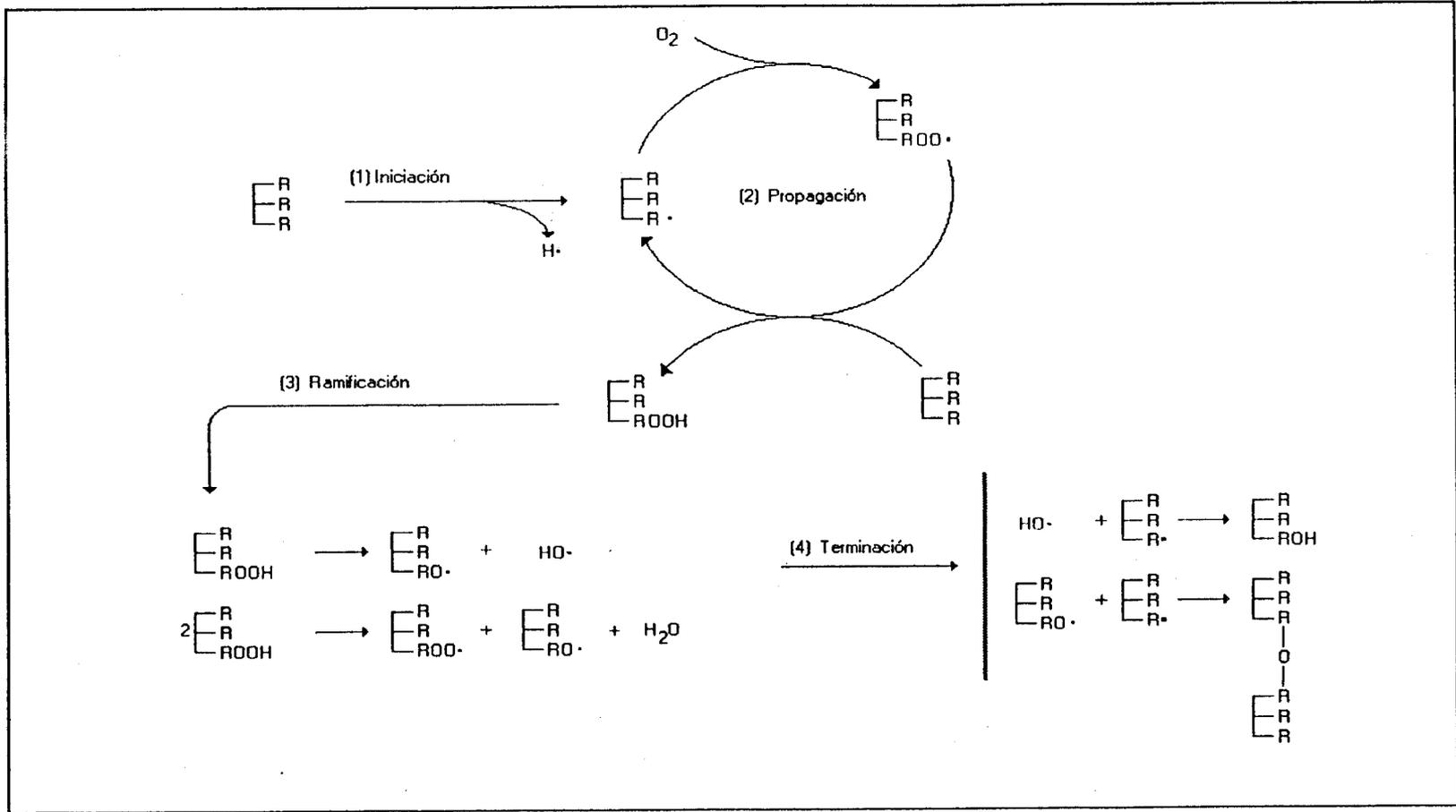
Es bien conocido hoy que la autoxidación tiene lugar a través de un proceso general que envuelve cuatro fases, las cuales explican toda la gama de compuestos nuevos formados y que se resumen a continuación:

- 1) **Iniciación:** Abstracción de un hidrógeno de un grupo metileno adyacente al doble enlace.
- 2) **Propagación:** Reacción del radical formado con el oxígeno atmosférico dando lugar a peróxidos y posterior interacción de estos con nuevas moléculas insaturadas para originar hidroperóxidos.
- 3) **Ramificación:** Descomposición de hidroperóxidos incrementando la concentración de radicales libres.
- 4) **Terminación:** Eliminación de radicales del sistema para formar compuestos estables.

La Figura 3 recoge sintéticamente algunas posibilidades de formación de radicales y compuestos entre los que destacan dos grupos: monómeros oxidados y compuestos de polimerización.

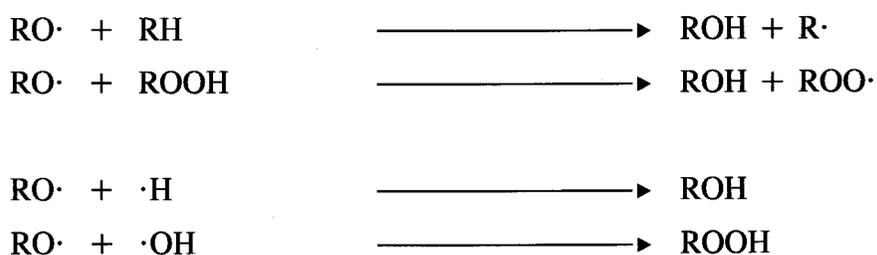
Es interesante destacar las principales diferencias que introduce la variable temperatura en tan complejo mecanismo, por su repercusión en los productos de degradación obtenidos:

a) A baja temperatura, la velocidad de formación de los hidroperóxidos es mayor que su descomposición que tiene lugar a través de la vía monomolecular y, por tanto, los compuestos son triglicéridos oxidados monómeros fundamentalmente



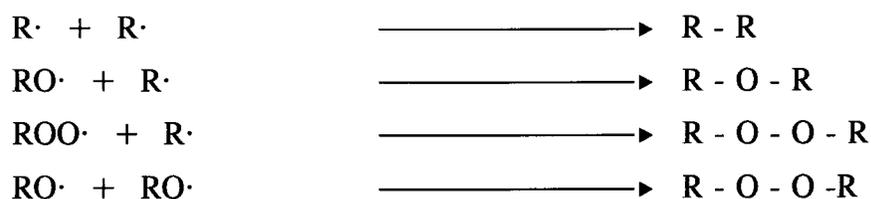
**Figura 3.**  
**Esquema general del proceso de autoxidación.**

(Tautorus y McCurdy, 1990), que se originan mediante las siguientes reacciones generales de propagación y terminación:



b) A elevada temperatura, la velocidad de ramificación de los ROOH a través de la descomposición bimolecular es mayor que su formación. La concentración de los hidroperóxidos es prácticamente cero y los principales compuestos originados son dímeros y polímeros, ya que los radicales con posibilidad de interaccionar son glicéricos (Paulose y Chang, 1973; Leonard, 1975; Miyashita y col., 1982; Nawar, 1984).

La dimerización constituye el primer paso de la polimerización y transcurre a través de cuatro reacciones mayoritarias que dan lugar a dímeros no polares (C-C), puente éter (C-O-C) y puente peróxido (C-O-O-C) (Leonard, 1975; Frankel, 1985) como se indica a continuación:



Un tercer grupo de compuestos originados en la alteración oxidativa se caracteriza, sin embargo, por su elevada volatilidad y bajo peso molecular. Los compuestos volátiles suponen sólo una pequeña parte del total de los compuestos de alteración. No obstante, su extraordinaria importancia desde el punto de vista sensorial ha contribuido al desarrollo de estudios por parte de los más importantes grupos de trabajo en el campo de las grasas (Forss, 1972).

Aún cuando no existe acuerdo sobre el término componente volátil, en este

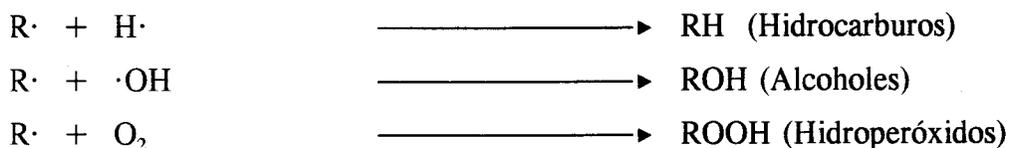
contexto se consideran como tales los obtenidos por escisión de restos acilos, es decir, compuestos de menor peso molecular que el del resto acilo del que proceden.

Una excelente revisión realizada por Frankel (1982) muestra que la composición cualitativa de los componentes volátiles originados depende, fundamentalmente, de los ácidos grasos insaturados implicados y que su esquema de formación se repite ya sea utilizando como base ácidos grasos, ésteres metílicos, hidroperóxidos o triglicéridos puros.

En síntesis, los componentes volátiles se originan a partir del radical alcoxilo, por escisión homolítica a ambos lados del citado radical que produce un aldehído estable:



El radical R· o R'· a su vez, dada su labilidad, puede reaccionar con otros radicales en juego para dar lugar a compuestos estables:



Estas cadenas más cortas de hidroperóxidos pueden iniciar el proceso de formación de volátiles para originar aldehídos ácidos de cadena corta como compuestos estables cuando se oxidan ácidos grasos, aunque en el caso concreto de los triglicéridos, R'· quedaría unido al glicerol formando parte de una molécula no volátil (Peers y Swoboda, 1979; Selke y Rohwedder, 1983; Hidalgo y col., 1991).

La importancia de los compuestos volátiles está prioritariamente relacionada con el mecanismo de autooxidación a baja temperatura ya que, aunque la cantidad de compuestos de oxidación total es muy pequeña, la formación de aldehídos y cetonas de umbrales de detección muy bajos, modifica sustancialmente las características organolépticas de la grasa, siendo su principal consecuencia la aparición de rancidez (Hamilton, 1989).

## **Evaluación del estado de oxidación.**

La oxidación constituye la principal vía de depreciación de la calidad de los aceites y de los alimentos grasos. Por ello, los dos factores de mayor importancia para mantener la calidad de los aceites son evitar la presencia de oxígeno, tanto durante el proceso de refinación como en su posterior conservación, y mantener los componentes menores que retardan el desarrollo del proceso autoxidativo. Entre los compuestos que interfieren activamente en la reacción en cadena se encuentran los tocoferoles como antioxidantes naturales y derivados fenólicos como los principales antioxidantes artificiales autorizados (Patterson, 1989).

La evaluación del estado de oxidación no es sencilla dada la complejidad de las reacciones implicadas, que dan lugar a los hidroperóxidos como compuestos primarios y a una amplia variedad de compuestos secundarios de oxidación. A pesar del elevado número de metodologías analíticas no existe un método universal que correlacione bien con todas las fases del proceso autoxidativo. Los métodos analíticos más utilizados se resumen en la Tabla II donde se incluyen los compuestos que interesa evaluar, las determinaciones analíticas más usuales y las técnicas correspondientes (Lölinger, 1989; Kanner y Rosenthal, 1992).

Entre las determinaciones más utilizadas se encuentra el Índice de Peróxidos, que refleja la concentración total de peróxidos e hidroperóxidos presentes en un cierto momento. Sin embargo, su utilidad para determinar por sí sólo el estado de oxidación es muy restringida dada la inestabilidad química de estos compuestos. Es un hecho conocido que la disminución del Índice de Peróxidos de un aceite tiene lugar tras un período de almacenamiento largo en ausencia de aire, durante un calentamiento a elevada temperatura o en procesos tales como la neutralización, que no implican una disminución del grado de oxidación del aceite. Por ello, establecer un juicio sobre el estado de oxidación del aceite basado únicamente en este índice puede llevar a conclusiones erróneas (Patterson, 1990).

Una buena alternativa y complemento para la determinación de la extensión de la oxidación es la medida de los productos de degradación de los hidroperóxidos. Se han desarrollado numerosos ensayos para evaluar los compuestos secundarios de oxidación, entre los que destacan el índice de carbonilos, el ensayo con ácido

**Tabla II.**

**Métodos generales para determinar el grado de oxidación**

- Compuestos primarios de oxidación.	Índice de Peróxidos	Iodometría(Swoboda y Lea, 1958)
	Cuantificación de hidroperóxidos	Cromatografía líquida de alta resolución (Chan y Levett, 1977)
- Compuestos secundarios de oxidación	Reacción con p-Anisidina	Espectrofotometría (visible) (Holm y Ekbon-Olsson, 1972)
	Evaluación Sensorial.	Panel de catadores (Normas UNE, 121 y 122)
- Compuestos volátiles.	Espacio de Cabeza.	Cromatografía Gas-Líquido (St Angelo y col., 1988)
	Pentano	Cromatografía gas-líquido (Lölinger, 1988)
- Malonaldehido	Ensayo del Ácido tiobarbitúrico	Espectrofotometría (visible) (Sinnhuber y col., 1958)
- Dienos y trienos conjugados.	Extinciones específicas a 232 y 270 nm	Espectrofotometría (ultravioleta) (Parr y Swoboda, 1976)
- Compuestos de Oxidación Total	Índice de Oxidación Total	Cálculo matemático a partir de los Índice de Peróxidos y de p-Anisidina (Patterson, 1989)
	Pérdida de Ácidos Grasos	Cromatografía de adsorción (Miyashita y Tokagi, 1988)

tiobarbitúrico y el índice de p-anisidina, siendo este último el de mayor aplicación por su simplicidad. Se basa en la reacción que se produce entre la p-anisidina y los aldehídos, en ausencia de altas temperaturas y de acidez, dando lugar a bases de Schiff con elevada absorción a 350 nm (Gray, 1978).

Por otra parte, entre los métodos físicos destacan el análisis espectrofotométrico en la región ultravioleta (232 y 270 nm) que ofrece también una información importante del estado de oxidación de un aceite. En primer lugar, la formación de hidroperóxidos conlleva un incremento en la absorción a 232 nm como consecuencia de la conjugación de enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados.

En segundo lugar, una de las rutas principales de degradación de los hidroperóxidos conduce a la formación del hidroxilo correspondiente en el tratamiento con tierras decolorantes. En esta fase, los dienos conjugados pasan a ser trienos, lo que produce una caída en la absorción a 232 nm y un aumento de la misma a 270 nm.

El resto de las determinaciones incluidas en la Tabla II, utilizan técnicas instrumentales más complejas que cuantifican de forma específica, compuestos originados en la oxidación. Aunque son de muy elevado interés en determinados estudios específicos y particularmente en el análisis del proceso oxidativo en sistemas modelo, no permiten en el momento actual una evaluación más completa del estado de oxidación que los índices analíticos y, por ello, no se utilizan como métodos de análisis rutinario.

### **Evaluación de la resistencia a la oxidación.**

La necesidad de conocer el comportamiento del aceite durante su almacenamiento y conservación y, consecuentemente, la posibilidad de predecir su vida útil, ha conducido al desarrollo de métodos acelerados para la determinación del período de inducción, que implican el uso de elevadas temperaturas, entre los que destacan: el Método del Oxígeno Activo (A.O.M.) y su forma automatizada (Rancimat), el Ensayo de Schaal (Schaal Oven Test) y el Ensayo de Sylvester y su forma automatizada (FIRA-Astell Aparatus) (Rossell, 1989).

El Método del Oxígeno Activo ha sido el más ampliamente utilizado y consiste en burbujear aire a través del aceite a 100°C y registrar la variación del Índice de

Peróxidos con el tiempo. El período de inducción se define como el tiempo necesario para alcanzar un valor del Índice de Peróxidos igual a 100. En la actualidad, está muy extendido el uso de la versión automatizada, que utiliza el aparato denominado Rancimat (Laübli y Bruttel, 1986; Gutiérrez, 1989). En este sistema, los productos volátiles generados en la oxidación de la grasa se recogen en agua destilada evaluándose la conductividad eléctrica de manera continua. Igual que ocurre con el Índice de Peróxidos, el incremento de la conductividad es lento hasta que termina el período de inducción en que la conductividad experimenta un crecimiento exponencial. Como resultado se obtiene una curva de conductividad, también llamada curva de período de inducción. El tiempo en horas correspondiente al punto de inflexión de la curva determina el período de inducción.

El ensayo de Schaal consiste en colocar una muestra de aceite en un horno, normalmente a 60°C, y seguir la evolución del Índice de Peróxidos o bien la aparición de rancidez. Algunos estudios tratan de establecer una correlación entre la aparición de rancidez a 60°C y el período de inducción (Goss y col., 1989), pero los resultados dependen del tipo de aceite y del control estricto de las condiciones de oxidación (cantidad de muestra, relación superficie/volumen del recipiente, etc.)(Rossell, 1989).

El ensayo de Sylvester está basado en la reducción en la presión de oxígeno que se produce en un recipiente cerrado donde se encuentra la grasa, como consecuencia de la formación de peróxidos. El aparato FIRA-Astell determina la absorción de oxígeno por la grasa mediante este método y registra la caída de la presión en función del tiempo, operando normalmente a 100°C. En un principio, la oxidación es lenta debido a la resistencia natural del aceite, pero cuando se agotan los antioxidantes, la oxidación aumenta rápidamente. La gráfica, como en el caso del Rancimat, muestra un punto de inflexión muy acusado al final del período de inducción.

En general, el principal inconveniente de estos ensayos es que, debido a la necesidad de obtener resultados en un tiempo razonable, la autooxidación tiene que ser acelerada artificialmente. En la práctica, ello implica el calentamiento de la muestra a elevada temperatura en condiciones controladas en las cuales el curso del proceso autoxidativo puede ser muy distinto al que tiene lugar durante la conservación a baja temperatura (Henderson y col., 1980; Lomanno y Nawar, 1982). Por otra parte, la aireación de las muestras en los ensayos más utilizados, método del oxígeno activo

automatizado o no, puede proporcionar resultados engañosos cuando están presentes antioxidantes o prooxidantes volátiles (Rossell, 1992). Todo ello hace difícil extrapolar los resultados obtenidos a la determinación de la vida media de los aceites refinados y justifica la necesidad de seguir desarrollando nueva metodología, particularmente estableciendo variables que permitan disponer de ensayos acelerados a temperatura ambiente (Hudson, 1989).

#### **b) Alteración Hidrolítica.**

La acción de la humedad tiene como consecuencia la formación de ácidos grasos libres y glicéridos parciales, fundamentalmente diglicéridos, siguiendo la reacción de hidrólisis. La alteración hidrolítica se produce principalmente en la semilla como consecuencia de la acción enzimática antes de la extracción de la grasa, así como en la etapa de neutralización (Patterson, 1989; Denise, 1983) y desodorización (Szabo, 1959; Naudet y Cecchi, 1970). La hidrólisis de las grasas es fácilmente evaluable tanto en los aceites crudos como en los refinados mediante la determinación del Índice de Acidez basado en la neutralización de los ácidos grasos libres con un álcali fuerte. La evaluación de la acidez libre, expresada como tanto por ciento de ácido oleico, es el mejor y más simple indicador de la alteración hidrolítica, particularmente en aceites comestibles cuyos ácidos grasos son mayoritariamente de peso molecular similar al del ácido oleico.

Aunque los ácidos grasos libres no se originan durante el almacenamiento y conservación de los aceites refinados, la presencia en ellos de acidez libre en una pequeña cantidad no puede ser menospreciada ya que tanto los ácidos grasos libres como los glicéridos parciales son compuestos más susceptibles a la oxidación que los triglicéridos de los que proceden y, por ello, pueden contribuir a la aceleración del proceso autoxidativo (Mistry y Min, 1988; Yoon y col. 1988; Warner y col. 1989).

#### **c) Alteración Térmica.**

Hay tres grupos de reacciones que se producen en la grasa como consecuencia de la acción de una elevada temperatura en ausencia de oxígeno:

a) Uniones entre cadenas insaturadas de ácidos grasos que dan lugar a la formación de dímeros y polímeros.

Los principales compuestos obtenidos en la alteración térmica son compuestos dímeros en cuya unión no participa el oxígeno y cuya formación se explica a través de reacciones Diels-Alder; es decir, reacciones entre un doble enlace y un dieno conjugado para formar un derivado ciclohexénico tetrasustituido.

Las reacciones de polimerización que conducen a la formación de estos compuestos han sido bien estudiadas en los ácidos grasos insaturados y exige la presencia de ácidos poliinsaturados así como su conjugación previa (Paschke y col., 1964; Wheeler y White, 1967; Otter, 1970; Leonard, 1975).

Una vez formado el dímero, la existencia de dobles enlaces disponibles en otros ácidos grasos de la molécula de triglicérido puede dar lugar a una posterior reacción produciendo trímeros que pueden, a su vez, continuar la polimerización.

Mediante estudios similares que envuelven el ácido oleico se ha demostrado que la adición Diels-Alder no es el único mecanismo posible en la polimerización térmica. En efecto, la obtención de dímeros ha sido también explicada sobre la base de la formación y combinación de radicales alilo producidos por pérdida de un hidrógeno activo adyacente al doble enlace (Paschke y col., 1964; Cowan, 1962).

La importancia relativa de ambas vías depende de la temperatura, de la concentración de ácidos grasos poliinsaturados y de la existencia de dobles enlaces conjugados.

b) Reestructuración intramolecular con formación de ácidos isómeros.

El tratamiento térmico conduce también a la formación de monómeros cíclicos, como se demostró a partir del linoleato de metilo por Michael (1966) y del aceite de soja parcialmente hidrogenado por Artman y Alexander (1968). El mecanismo por el que estos compuestos se originan, parece ser que implica la abstracción de un hidrógeno en posición alílica seguido de adición intramolecular del radical libre al doble enlace.

El interés por el estudio de estos compuestos se relaciona con su potencial toxicidad (Alexander, 1978; Damy-Zaramaud y Grandirard, 1981; Grandgirard y col., 1984), pero su formación sólo es significativa en aceites con alto contenido en ácido linolénico. Aunque los compuestos mayoritarios de este grupo son derivados

ortosustituidos de anillos de seis átomos de carbono, se han aislado también derivados ciclopenténicos y ciclopentadiénicos, identificados mediante resonancia magnético-nuclear y espectrofotometría de masas (Sebedio y col., 1987).

c) Descomposición termolítica del triglicérido con formación de ácidos grasos, aldehídos y cetonas.

Dada la importancia mayoritaria de las reacciones que afectan a las cadenas insaturadas en el conjunto de los compuestos originados por vía exclusivamente térmica, la información sobre las reacciones termolíticas se han obtenido a partir de triglicéridos puros constituidos por ácidos grasos saturados.

Los productos característicos producidos en el calentamiento de estos triglicéridos son los siguientes: series de alcanos y 1-alquenos normales predominando el alcano  $C_{n-1}$ , ácido graso  $C_n$ , cetonas simétricas  $C_{2n-1}$ , oxopropilésteres  $C_n$ , propeno y propanodiolésteres, diglicéridos  $C_n$ , acroleína, CO y  $CO_2$ ; siendo  $n$  el número de átomos de carbono del ácido graso saturado (Nawar y col., 1978; Nawar, 1985a). Desde el punto de vista cuantitativo, los compuestos mayoritarios son los ácidos grasos libres producidos por acción termolítica del triglicérido (Nawar, 1985b).

La formación de compuestos de alteración térmica tiene una importancia secundaria en la calidad de los aceites refinados, ya que una vez concluida la acción de la temperatura son, normalmente, compuestos hidrocarbonados estables cuya reactividad es del mismo orden que la de los triglicéridos de los que proceden.

La principal implicación desde el punto de vista de la calidad de los aceites es la formación de dímeros no polares o restos acilos isómeros que modifican la estructura natural de los triglicéridos y que, obtenidos en cantidades significativas, contribuyen a modificar las propiedades nutricionales de los aceites (Gottenbos, 1983; Grandgirard y col., 1989).

La alteración térmica tiene lugar fundamentalmente durante la etapa de desodorización de los aceites (Eder, 1982), por lo que es necesario un estricto control de la temperatura en la citada etapa cuando se someten a refinación aceites con elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados, a partir de los cuales pueden obtenerse cantidades importantes de ácidos grasos isómeros y compuestos de polimerización.

Puesto que para la obtención de la mayor parte de estos compuestos es necesaria

la conjugación previa de los dobles enlaces del sistema pentadiénico que poseen los ácidos grasos insaturados, el valor de la extinción específica a 232 nm evalúa también los compuestos no oxigenados producidos como consecuencia de la temperatura (Gray, 1978).

Otras determinaciones específicas como la cuantificación de monómeros cíclicos, la determinación de ácidos isómeros trans o la cuantificación de dímeros y polímeros son de elevada utilidad para evaluar la alteración térmica en aceites refinados, aunque debido a las complicadas metodologías y al papel secundario de estos compuestos en la evaluación de la calidad, no se utilizan como métodos analíticos de control (Sebedio y col., 1987; Perrin y col., 1984).

En resumen, la calidad de un aceite recién refinado depende de la alteración hidrolítica y oxidativa presentes en el aceite crudo, que influyen a su vez el contenido inicial de compuestos antioxidantes, así como la incidencia de las variables temperatura, oxígeno y humedad durante el propio proceso.

Durante su almacenamiento y conservación, sin embargo, es fundamental para mantener la calidad, minimizar los efectos del oxígeno atmosférico que podría conducir a la indeseable rancidez, a través de la ruta de formación de compuestos volátiles.

#### **1.1.2.2. Normas de calidad para la comercialización de aceites refinados.**

La evaluación de la calidad implica una comparación entre la composición de la grasa y lo que se le exige como mínimo para un uso determinado (Daun y Burch, 1986). Las normas de calidad para grasas y aceites establecidas oficialmente pretenden salvaguardar la salud pública, regular contratos comerciales o facilitar métodos de inspección, muestreo y análisis para cumplir los dos primeros objetivos.

La Reglamentación Técnico Sanitaria para aceites comestibles (B.O.E. 1983), tiene por objeto fijar las características de identificación y las especificaciones de calidad. Estas últimas se centran en tres aspectos fundamentalmente: apariencia,

características organolépticas y ausencia de sustancias extrañas y/o nocivas.

Con respecto a la apariencia, los aceites deben ser claros y brillantes, estableciéndose que a una temperatura de 20°C, durante un período de 24 horas, deberán mantenerse claros y libres de sedimento. Por tanto, todo aquello que cause turbiedad en el aceite deberá ser eliminado a lo largo del proceso de refinación. Claros ejemplos son las etapas de descerado o winterización para reducir las ceras y triglicéridos saturados de cadena larga, el secado a vacío para eliminar el agua y la filtración para eliminar restos de tierras decolorantes y otras de impurezas. Estos dos últimos requerimientos se controlan específicamente ya que la normativa establece que el contenido de humedad y materias volátiles en estufa de vacío debe ser inferior al 0,1% y el contenido en impurezas insolubles en éter de petróleo inferior a 0,05%.

Por su parte, las especificaciones del color dependen de cada tipo de aceite. Así, para el aceite de girasol se establece que no debe ser más intenso que el equivalente a una combinación de 25 unidades amarillas y 2 unidades rojas de la escala Lovibond, mientras que para el aceite de soja, especifica que no será superior a 3,5 unidades rojas.

Con respecto a los compuestos nocivos o extraños, el aceite refinado debe estar exento de jabones, su acidez debe ser inferior al 0,2% expresada en ácido oleico y el Índice de Peróxidos debe ser inferior a 10 meq O<sub>2</sub>/Kg.

Estas especificaciones se relacionan también con las características organolépticas, ya que el aceite deberá estar exento de olor y sabor a rancio, sin que manifieste contaminación por sustancias extrañas o presente síntomas de una desodorización imperfecta. Para ello, es esencial la eliminación de humedad, acidez libre y jabones puesto que son catalizadores de reacciones de oxidación e hidrólisis en la grasa. No obstante, no existe normalizada ninguna prueba de análisis sensorial y sólo el valor del Índice de Peróxidos (<10 meq O<sub>2</sub>/kg) garantiza una limitación en la cantidad de compuestos de alteración presentes.

Por otra parte, en las normas de etiquetado del producto, se establece un período de consumo preferente de un año, por lo que deben mantener sus características en el mercado durante el citado período.

### 1.1.2.3. Control de calidad durante la refinación.

El control de calidad durante el proceso comienza con la evaluación del aceite crudo para garantizar las especificaciones de compra y fijar las condiciones que deben aplicarse en las distintas etapas de la refinación para conseguir la mayor eficiencia global del proceso. El principal factor para asegurar la calidad del aceite refinado es partir de un aceite crudo de calidad que debe ser tratado y almacenado posteriormente en las mejores condiciones para minimizar la alteración (Podmore, 1992).

De acuerdo con estudios de mercado, el consumidor presta especial atención a la apariencia, sabor y olor, salubridad y adecuación del producto al uso que se destina (Vigneron y Georgin, 1990). Por ello, incluso actuando con objetivos distintos a la Administración, las normas de control de calidad establecidas en las refinerías son coincidentes con las oficiales en lo que al producto final se refiere. Más aún, las especificaciones de calidad recogidas en la Reglamentación Técnico Sanitaria son mínimos fáciles de conseguir cuando el proceso de refinación se realiza de forma eficaz, ya que, como puede observarse en la Tabla III, donde se resumen las especificaciones más típicas exigidas a los aceites refinados en la industria, el número de determinaciones analíticas es más elevado y los valores máximos de los índices comunes son iguales o inferiores a los establecidos en la citada Reglamentación.

No obstante, para obtener un aceite refinado de calidad, el refinador tiene que establecer otros puntos específicos de control durante el proceso si quiere asegurar que el aceite desodorizado reúne las especificaciones previamente exigidas.

Las principales determinaciones se recogen en la Tabla IV. Como puede observarse, el control de la calidad comienza con la evaluación del aceite crudo que es tanto o más completa que la que se realiza al aceite refinado. Los ensayos que se aplican no sólo confirman las especificaciones de compra sino que indican el mejor tratamiento a que se debe someter el aceite. Así, por ejemplo, la cantidad de ácido en la etapa de desgomado, o la concentración de cáustica más apropiada en la neutralización alcalina o si el aceite puede ser sometido a refinación física (Roden y Ullyot, 1984).

Previo a la etapa de decoloración, se comprueba en el aceite neutro y seco el

**Tabla III.**  
**Especificaciones Típicas en los aceites refinados.**

Acidez Libre residual	< 0,1%
Fósforo	< 2 ppm
Jabones	Trazas
Humedad	< 0,1%
Impurezas	No detectables
Color [Lovibond (5¼")]	Aceites vegetales: 2 u. rojas
Índice de Peróxidos	< 5 meq O <sub>2</sub> /kg
Caracteres Organolépticos	≥ 8 (Escala 0 - 10)

**Tabla IV.**  
**Análisis rutinarios en cada etapa del proceso de refinación.**

Etapa	Análisis
Aceite crudo.	Acidez Libre, Color, Humedad e Impurezas, Índice de Peróxidos, Índice de p- Anisidina, Coeficiente de Extinción Específica y Fósforo.
Desgomado y neutro.	Acidez Libre, Jabones, Color, Índice de Peróxidos y Fósforo.
Decolorado.	Acidez Libre, Jabones, Color, Índice de Peróxidos y Fósforo.
Desodorizado.	Caracteres organolépticos, Acidez Libre, Color, Índice de Peróxidos, Índice de p- Anisidina.

contenido en jabones, la acidez libre, la humedad y el color. Los principales objetivos son verificar que el aceite ha recibido el tratamiento adecuado y garantizar la acción efectiva de las tierras decolorantes. En este punto del proceso el contenido en jabones debe ser menor a 200 ppm, la humedad inferior al 0,1 %, la acidez libre no superior al 0,05 % y el fósforo 30 ppm como máximo. Si el aceite se va a someter a refinación física, el contenido en fósforo debe ser inferior a 80 ppm (Roden y Ullyot, 1984; Podmore, 1992).

En el aceite decolorado se comprueban de nuevo la cantidad de jabones, la acidez libre, el color, el fósforo y, además, el Índice de Peróxidos y el contenido en sólidos. Cuando el aceite neutro y seco se somete a decoloración mediante la adsorción de los pigmentos sobre tierras decolorantes, la estabilidad oxidativa del aceite disminuye. Aunque se eliminan las trazas de jabones y fosfátidos, en esta etapa tiene lugar la descomposición de los peróxidos y la deshidratación de los compuestos de oxidación. Para obtener un producto final que no presente problemas de reversión de olor y sabor se aconseja que, tras la decoloración y previo a la desodorización, el aceite presente un Índice de Peróxidos igual a cero, utilizando para ello tierras relativamente ácidas (Erickson y Wiederman, 1991). Si el aceite va a ser sometido a refinación física, es recomendable que tras la decoloración presente niveles de fósforo inferiores a 5 ppm (Foster y Harper, 1983).

El producto desodorizado es analizado antes de ser enviado para su almacenamiento, comprobando su acidez libre, que debe ser inferior a 0,10 %, el Índice de Peróxidos, que debe ser inferior a 5 meqO<sub>2</sub>/kg, color, inferior a 2.0 unidades rojas Lovibond en el caso de aceites vegetales distintos al palma que admite un máximo de 3.0 unidades rojas, y olor y sabor no detectables (Podmore, 1992). En algunos casos, estos límites son aún más rigurosos. Así, para el aceite de soja, el aceite desodorizado debe presentar como máximo 0,03 % de acidez libre y valores máximos de color en la escala Lovibond de 10 unidades amarillas y menos de 1 unidad roja (Gavin, 1981).

Finalmente, es interesante comentar que los controles internos durante el proceso incluyen, cada vez más frecuentemente, la utilización de métodos instrumentales de análisis aplicados al producto final como la determinación de la estabilidad frente a la oxidación y/o la cuantificación de compuestos menores, como tocoferoles, de importancia en el comportamiento posterior de la grasa. Tales evaluaciones permiten

aumentar la seguridad de que el aceite es el adecuado para utilizaciones específicas, como el uso a elevadas temperaturas.

## **1.2. OBJETIVOS DEL TRABAJO.**

El objetivo fundamental en el planteamiento de esta tesis fue contribuir a un conocimiento más objetivo de la calidad de los aceites crudos y refinados, aprovechando nuevas posibilidades analíticas que podían ser aplicadas al estudio del proceso de refinación.

Es bien conocido que en la definición objetiva de la calidad de los aceites refinado hay una laguna importante de conocimiento. La metodología analítica utilizada para su evaluación se basa, fundamentalmente, en índices que permiten asegurar que se han cumplido los objetivos de las distintas etapas del proceso de refinación. Así las determinaciones de fósforo, acidez libre, color y características de olor y sabor, responden a la eficacia de las etapas de desgomado, neutralización, decoloración y desodorización. Otros análisis complementarios para evaluar el estado de oxidación, como el índice de anisidina o la estabilidad A.O.M., son difíciles de interpretar puesto que dependen del grado de insaturación del aceite y pueden estar modificados por la adición al mismo de antioxidantes autorizados.

Por otra parte, es también conocido que el comportamiento del aceite refinado durante su conservación y en sus distintas aplicaciones, no siempre está justificados por

los valores de los parámetros antes citados y debe depender de las características del aceite crudo que se sometió a refinación. Los métodos existentes no permiten, sin embargo, conocer a partir del aceite refinado, cual fue la calidad del aceite crudo sometido a refinación.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, parecía especialmente interesante, desde un punto de vista teórico, estudiar las posibilidades de aplicación a los aceites crudos y refinados la determinación de los compuestos polares propuesta por la IUPAC para el análisis de las grasas de fritura (Waltking y Wessel, 1981), unido a la cuantificación de los principales grupos de compuestos glicerídicos presentes, mediante cromatografía de exclusión (Dobarganes y col., 1988). La puesta a punto de la metodología analítica adecuada para estos aceites ha permitido conocer tanto la calidad global de los aceites crudos y refinados, como establecer, a partir del aceite refinado, la calidad del crudo y viceversa.

La consecución de este primer objetivo ha permitido, posteriormente, abordar otros estudios de igual interés con los siguientes objetivos generales:

- 1.- Conocer las modificaciones que tienen lugar en las distintas etapas del proceso de refinación, lo que permite establecer criterios para el mejor tratamiento del aceite.
- 2.- Analizar las principales diferencias entre los procesos de refinación física y química.
- 3.- Profundizar en la influencia de las variables de la etapa de desodorización (temperatura, tiempo, presión y cantidad de gas de arrastre) con especial referencia a las diferencias que origina la sustitución del vapor de agua por gas inerte.

Las determinaciones analíticas inicialmente puestas a punto, constituyen al base de estos estudios, que se han completado con la cuantificación de otros componentes minoritarios del insaponificable que ayudan a explicar y justificar los resultados obtenidos.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL.**

## **2.1. DESARROLLO DE NUEVA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA EVALUACIÓN DEL PROCESO DE REFINACIÓN Y DE LA CALIDAD DE LOS ACEITES REFINADOS.**

Como se indicó en el apartado anterior, el objetivo inicial de esta tesis fue la investigación de nuevos métodos analíticos que contribuyeran a una mejor evaluación de la calidad de los aceites crudos y refinados así como a un conocimiento más profundo de las modificaciones que tienen lugar durante el proceso de refinación.

En este capítulo, se describen los estudios realizados para el desarrollo y puesta a punto de las siguientes determinaciones analíticas:

- 1.- La determinación cuantitativa de los componentes menores glicerídicos mediante la combinación de técnicas cromatográficas de adsorción y exclusión. El método desarrollado es de utilidad para establecer la calidad de los aceites crudos y refinados, así como la relación entre ambos.

2.- La determinación cuantitativa de los principales grupos de compuestos presentes en los destilados obtenidos en la etapa de desodorización, mediante cromatografía en capa fina y detección por ionización de llama. El método es de interés para el buen control del proceso ya que permite cuantificar en un mismo análisis la grasa neutra, los ácidos grasos, así como los hidrocarburos y esteroides eliminados en desodorización.

### **2.1.1. Determinación cuantitativa de los componentes menores glicerídicos.**

La evaluación de la calidad de los aceites refinados ha estado siempre ligada al control del proceso de refinación y está basada en la aplicación de numerosos métodos analíticos preferiblemente rápidos que contribuyen a un conocimiento global de la eficacia del mismo (Podmore, 1992).

En este estudio, sin embargo, se ha prestado más atención a la selección de métodos analíticos que cuantifiquen componentes menores de interés por su relación directa con la calidad de los aceites y grasas. Entre estos componentes caben destacar dos grupos:

a) Compuestos que se originan o eliminan durante las distintas etapas de la refinación, cuya cuantificación permitiría evaluar la calidad y la eficacia del proceso. Entre ellos se encuentran:

- fosfolípidos y ácidos grasos, eliminados durante las fases de desgomado y neutralización, respectivamente.

- pigmentos, cuya concentración depende de las variables de la etapa de decoloración.

- isómeros de los ácidos grasos insaturados, originados durante el tratamiento con tierras activadas.

- componentes volátiles, que desaparecen durante la etapa de desodorización y cuya naturaleza y composición depende de las condiciones utilizadas.

- dímeros y polímeros, originados como consecuencia de la elevada temperatura.

La relación de estos grupos de compuestos con la eficacia de las etapas del proceso, justifica el que los métodos analíticos existentes de mayor utilidad relacionados con la calidad de los aceites refinados, evalúen directa o indirectamente los compuestos citados.

b) Compuestos presentes en los aceites crudos, que permanecen mayoritariamente en los mismos después de una buena refinación. Entre ellos cabe destacar los triglicéridos oxidados, compuestos que contienen en su molécula algún resto acilo oxidado, y los diglicéridos. Ambos grupos de componentes menores están claramente relacionados con las alteraciones oxidativa e hidrolítica, respectivamente y dadas sus características de polaridad y volatilidad, son difíciles de eliminar durante la refinación.

Aunque no existen referencias previas sobre la cuantificación de estos grupos de compuestos en los aceites refinados, su importancia es enorme ya que permitirían establecer directamente una relación entre la calidad de los aceites crudos y sus correspondientes refinados. La determinación de los triglicéridos oxidados y diglicéridos constituyó, por tanto, el objetivo de las investigaciones analíticas desarrolladas en esta tesis.

Es indudable que la cromatografía de adsorción proporciona actualmente la mejor opción para separar y cuantificar los componentes menores glicéricos presentes en los aceites y grasas, ya que todos ellos sin excepción poseen mayor polaridad que los triglicéridos no alterados, que se encuentran normalmente en una proporción superior al 95%. Esta técnica es la base de la determinación más generalizada en el estudio de los aceites y grasas usadas en fritura (Waltking y Wessels, 1981), donde ha venido a sustituir a todas las medidas parciales que eran necesarias para el control de su calidad. El método consiste en la separación en columna de sílice de 1 gramo de grasa en condiciones bien normalizadas. Mediante la elución con éter de petróleo:éter etílico 87:13, se obtienen los triglicéridos no alterados y en una posterior elución con éter etílico se recogen los compuestos más polares, donde se encuentran los compuestos de polimerización, oxidación e hidrólisis de los triglicéridos y, por tanto, los triglicéridos oxidados y los diglicéridos, determinándose ambas fracciones gravimétricamente.

Posteriores estudios realizados en este área han profundizado en el conocimiento de los principales grupos de compuestos originados durante el tratamiento termoxidativo de los aceites y grasas, contribuyendo a un conocimiento más preciso de la fracción polar (Dobarganes y Pérez-Camino, 1988; Perrin y col., 1984). Los mejores resultados se han obtenido utilizando la cromatografía de exclusión para la separación de la fracción polar, ya que la principal diferencia entre los distintos grupos de compuestos se encuentra en su peso molecular (Dobarganes y col., 1988; Márquez y col., 1990; Shukla y Perkins, 1991; Hopia y col., 1992).

La metodología analítica que se describe en este apartado, desarrollada para la evaluación de los aceites refinados, está basada en la aplicación de una combinación de técnicas cromatográficas de adsorción y exclusión a muestras de aceites con bajo nivel de alteración. Ello permite determinar cuantitativamente, entre otros grupos de compuestos, los triglicéridos oxidados y los diglicéridos, objeto de nuestro interés.

#### **2.1.1.1. Muestras.**

Para el desarrollo de este estudio, se han utilizado las muestras que a continuación se relacionan:

a) Dos muestras, de aceite de oliva virgen y girasol refinado, utilizadas para la puesta a punto de la metodología analítica.

b) Muestras de compuestos polares de aceites de oliva y girasol, utilizadas para evaluar la respuesta cuantitativa de los compuestos menores glicéricos y para la construcción de la recta de calibrado, necesaria para mejorar la exactitud de la determinación.

c) Tres muestras, de aceites de oliva, girasol y soja, que fueron refinadas en el laboratorio con el objetivo de conocer la bondad del método en la evaluación de aceites crudos y refinados. Las características generales de estos aceites se recogen en la Tabla V y las condiciones de refinación se resumen a continuación:

1 kg de aceite crudo se introduce en un reactor tanque agitado de 2 l con fondo redondo y salida inferior, equipado con termómetro y agitador. El desgomado se realiza en atmósfera de nitrógeno a 40°C mediante la adición de 0,2% ácido fosfórico del 50%. Se mantiene bajo agitación a 120 rpm durante 20 minutos.

Sin separar las gomas, se procede a neutralizar el aceite añadiendo sosa de 18°Bé en un 10% de exceso sobre la cantidad necesaria para neutralizar los ácidos grasos y el ácido fosfórico añadido previamente y, agitando a 70 rpm, se aumenta la temperatura hasta alcanzar 60°C. Transcurrido 10 minutos desde que se alcanza esta temperatura, se eliminan los jabones formados por decantación, filtración y posteriores lavados con agua.

La decoloración de las muestras secas tiene lugar en las mismas condiciones de temperatura y agitación de la fase anterior, después de añadir un 0,5% de agente decolorante (Tierra de Gador). Tras 15 minutos de tratamiento, el aceite se filtra y enfría.

La desodorización se lleva a cabo en un equipo de laboratorio durante 2 horas a 220°C bajo un vacío inferior a 3 Torr. Al final de este período, se enfría el aceite y el vacío se reemplaza por atmósfera de nitrógeno.

#### **2.1.1.2. Metodología analítica.**

##### **Reactivos y material.**

- Disolventes: éter de petróleo, éter etílico, reactivos para análisis.
- Arena de mar, reactivo para análisis.
- Columna de vidrio de 45 cm de altura, 2,5 cm de diámetro interno y llave de teflón.
- Gel de sílice 60 (70-230 mallas), Merck. Se seca en una estufa a 160°C durante 4 horas y se enfría en un desecador a temperatura ambiente, ajustándose el contenido de agua al 5%.
- Placas para cromatografía.

##### **Procedimiento operatorio**

- Preparación de la columna.

Se pesan en un matraz 25 g de gel de sílice y se añaden 80 mL de éter de petróleo:éter etílico, 87:13. La mezcla se transfiere a la columna en cuyo fondo se ha

**Tabla V.**  
**Características generales de los aceites de oliva, girasol y soja crudos.**

	OLIVA	GIRASOL	SOJA
Fósforo (mg/kg)	<2	52	86
Acidez (% oleico)	6.38	1.58	1.30
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	30.0	16.6	17.0
K <sub>270 nm</sub> (1%,cm)	0.38	1.47	0.42
Estabilidad (horas)	8.3	9.5	14.4
<b>Ácidos Grasos</b> (%)			
16:0	11.2	7.4	11.2
16:1	0.7	-	-
18:0	2.6	4.4	3.3
18:1	71.4	31.0	26.7
18:2	11.4	55.8	50.5
18:3	0.8	-	7.2
Otros	1.9	1.4	1.1

colocado un tapón de lana de vidrio, eliminándose el disolvente en exceso sin que en ningún momento deje de cubrir la sílice y agregándose, finalmente, 2 gr de arena de mar para facilitar la posterior fijación de la muestra.

– Preparación de la muestra.

Se pesa exactamente 2,5 g de muestra en un matraz aforado de 50 mL y se enrasa con la mezcla de éter de petróleo:éter etílico. De esta disolución se toman con una pipeta 20 mL que se transfieren a la columna.

– Separación de las fracciones.

Los componentes no polares se eluyen con 150 mL de éter de petróleo:éter etílico 87:13 y se recogen en un matraz de 250 mL pesado con exactitud de mg, ajustándose el flujo para que los 150 mL pasen a través de la columna en 60-70 minutos.

Después de la elución, se lava cuidadosamente la salida de la columna para eliminar cualquier resto de la muestra.

La elución de los componentes polares se realiza con 150 mL de éter y se recogen en otro matraz previamente tarado. El disolvente de ambas fracciones se elimina utilizando un rotavapor con baño de agua de 60°C, bajo corriente de nitrógeno. Una vez evaporado el disolvente, se determinan gravimétricamente ambas fracciones.

– Eficacia de la separación

Una gran ventaja del método analítico es la posibilidad de controlar la eficacia de la separación mediante cromatografía en capa fina. Para ello, las fracciones no polar y polar obtenidas, se desarrollan en una placa de sílice de 0,25 mm de espesor y se eluyen con éter de petróleo:éter etílico:ácido acético 80:20:1. La visualización de las manchas se realiza con vapores de yodo o pulverizando con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 50% y carbonizando.

## **Determinación cuantitativa de los componentes menores glicerídicos mediante cromatografía líquida de exclusión.**

La fracción minoritaria eluida con éter etílico, que contiene todos los compuestos con mayor polaridad que los triglicéridos no alterados, se disuelve, una vez evaporado el disolvente, en 5 mL de tetrahidrofurano. Las muestras así preparadas se han analizado en un cromatógrafo líquido KONIK 500A utilizando las siguientes condiciones:

- Dos columnas 100 y 500 Å del PL-gel, de 30 x 0,75 cm d.i. conectadas en serie.
- Detector de Índice de Refracción (HP-1037A).
- Concentración de la muestra: 5-10 mg/mL.
- Muestra inyectada: 10  $\mu$ L.
- Fase móvil: Tetrahidrofurano.
- Flujo: 1 mL/min.

La cuantificación de los distintos grupos de compuestos se lleva a cabo a partir de su porcentaje sobre el área total obtenida, ya que cada uno de los picos cromatográficos corresponde a un complejo grupo de compuestos y se asume la igualdad de los factores de respuesta.

### **2.1.1.3. Resultados y discusión.**

La Figura 4 muestra el esquema analítico global para la determinación de compuestos menores glicerídicos donde puede observarse la excelente separación que se consigue utilizando la cromatografía de adsorción. La utilización de la cromatografía en capa fina es una garantía de que no existen compuestos polares en la fracción eluida en éter de petróleo:éter etílico y de la ausencia de triglicéridos no alterados en la fracción polar. La exactitud de la determinación es por ello muy elevada y depende fundamentalmente del error en la determinación gravimétrica.

En la Figura 5 se muestran los cromatogramas de la fracción polar obtenidas a partir de las muestras de aceites de oliva virgen y de girasol refinado indicadas en el

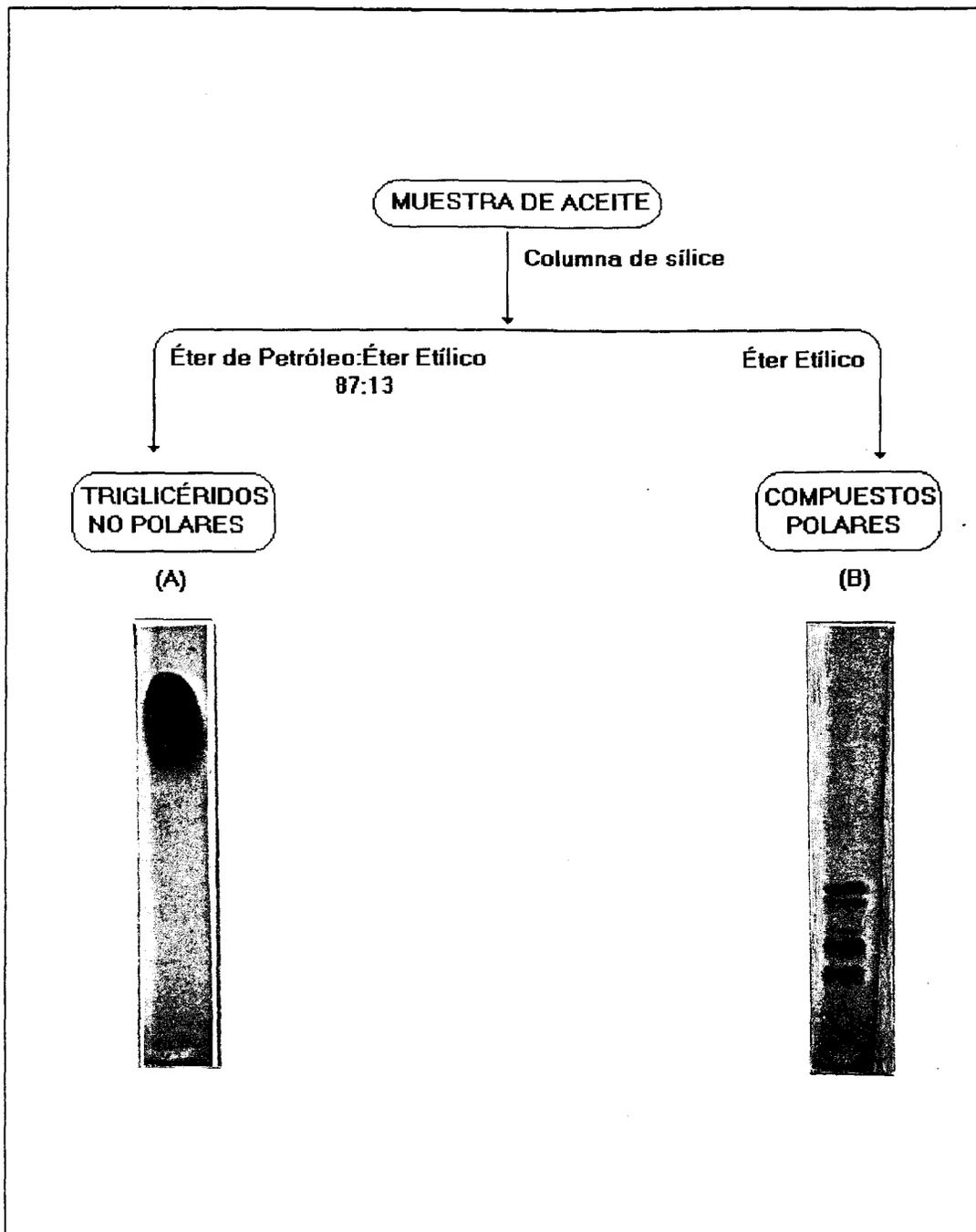


Figura 4.-

Esquema del procedimiento analítico utilizado para la separación de los compuestos menores glicerídicos.

apartado 2.1.1.1. Como puede observarse, la eliminación de la fracción mayoritaria de la grasa, permite determinar los principales grupos de compuestos menores presentes, debido al efecto de concentración de la muestra. Así pueden cuantificarse los siguientes grupos:

a) Dímeros de triglicéridos, que sólo se originan en cantidades apreciables cuando ha existido temperatura elevada.

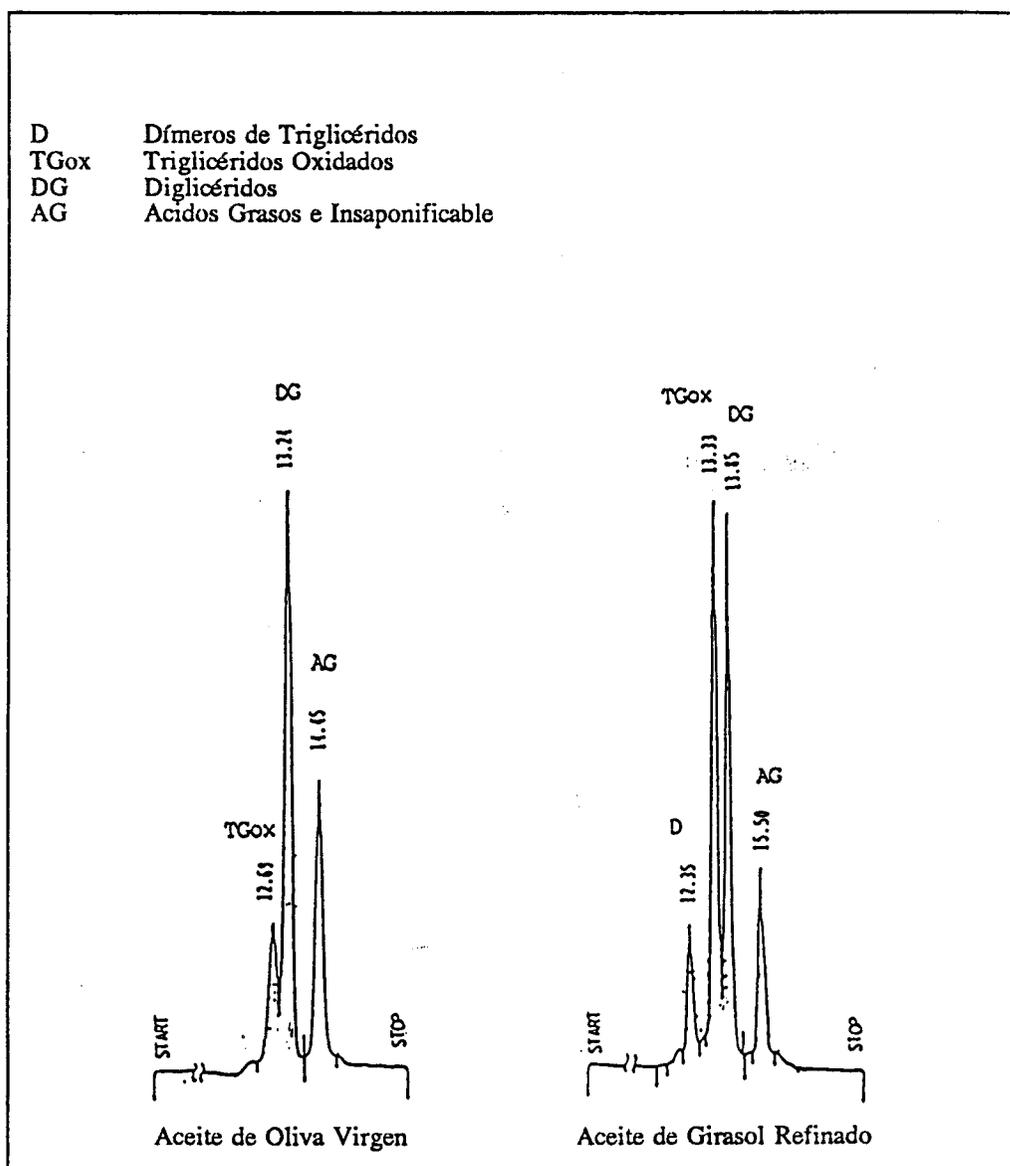
b) Triglicéridos oxidados, representativos del grado de oxidación total de la muestra, puesto que la oxidación tiene lugar en los ácidos grasos insaturados que se encuentran muy mayoritariamente incluidos en las moléculas de triglicéridos.

c) Diglicéridos, marcadores de la alteración hidrolítica.

d) Ácidos grasos y compuestos polares de la fracción insaponificable, que eluyen con similar tiempo de retención debido a sus pesos moleculares.

Es interesante comentar que no es posible utilizar la muestra completa para el análisis por cromatografía de exclusión. Por una parte no se obtendría suficiente concentración de los compuestos citados y, además, no sería posible la cuantificación de los triglicéridos oxidados, que eluyen con igual tiempo de retención de los triglicéridos no alterados (Dobarganes y col, 1988). Como se ha comentado, la evaluación de la eficacia de la separación mediante cromatografía en capa fina, garantiza que los triglicéridos monómeros presentes en la fracción polar son exclusivamente compuestos de oxidación.

No obstante, aunque la determinación cuantitativa de los compuestos polares posee una elevada reproducibilidad, (Waltking y Wessels, 1981), es indudable que el error relativo es mayor cuanto menor es la cantidad de compuestos polares, por estar el método basado en una determinación gravimétrica. Por ello, a partir de las fracciones de compuestos polares obtenidas de varios aceites de oliva y de girasol, se ha obtenido la recta de calibrado de la Figura 6, que permite obtener una medida alternativa e independiente de la cantidad de compuestos polares a partir del área total. Como puede observarse en la Figura, no sólo existe un coeficiente de correlación elevado, sino que se encuentra una respuesta prácticamente idéntica para ambos aceites a pesar de su distinta composición.



**Figura 5.-**  
**Eficacia de separación de los compuestos menores glicerídicos mediante**  
**cromatografía de exclusión.**

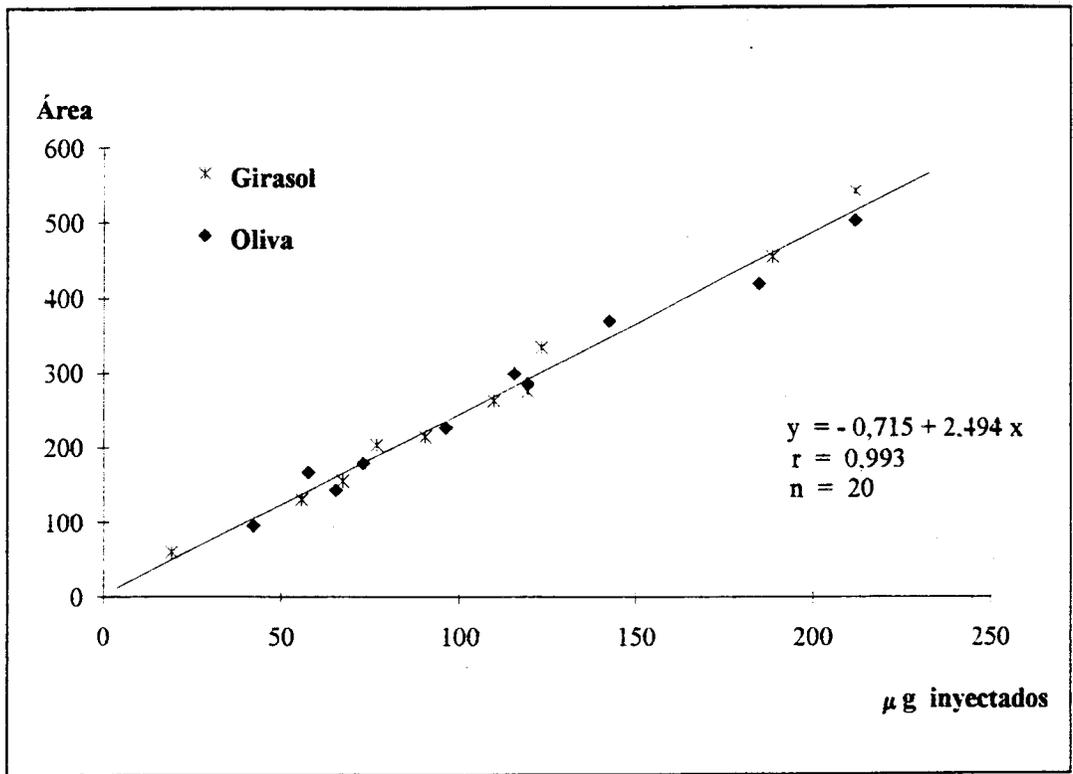


Figura 6.

Recta de calibrado para la cuantificación de compuestos menores glicerídicos mediante cromatografía de exclusión.

En la Tabla VI se encuentran los resultados obtenidos para dos muestras analizadas por cuadruplicado donde se comprueban que no existen diferencias significativas entre los valores medios encontrados para el porcentaje de compuestos polares, aunque la reproducibilidad es significativamente más elevada cuando se utiliza la recta de calibrado.

De los resultados obtenidos se deduce que la metodología propuesta es exacta y precisa para la evaluación de aceites con bajo contenido en compuestos polares, pero es necesario aún comprobar su eficacia en la evaluación del proceso de refinación.

Para ello se utilizaron tres aceites crudos de distinto grado de insaturación y calidad inicial, cuyas características iniciales se mostraron en la Tabla V. Como se indicó en el apartado 2.1.1.1., los aceites se sometieron a refinación en laboratorio, mostrándose en la Tabla VII las características físicas y químicas de los aceites refinados, que se encuentran dentro de los rangos normales.

Las posibilidades del procedimiento analítico propuesto para la evaluación de los componentes menores glicerídicos se pueden deducir de los resultados recogidos en la Tabla VIII correspondientes a las determinaciones cuantitativas realizadas en los aceites antes y después de la refinación.

En la Figura 7, donde se muestran cromatogramas obtenidos, se puede detectar visualmente las similitudes y diferencias entre aceites crudos y refinados. En primer lugar, se aprecia una clara disminución de la cantidad de compuestos polares debido fundamentalmente a la eliminación de ácidos grasos libres. No hay, sin embargo, cambios importantes en la cantidad de diglicéridos durante el proceso de refinación. En general, la cantidad de diglicéridos en el aceite refinado sería indicativa de la alteración hidrolítica en los aceites crudos.

Por otra parte, la determinación independiente de los triglicéridos oxidados tiene un especial interés, ya que permanecen en el aceite después de la refinación y su nivel en las muestras es indicativo de los compuestos de oxidación totales, tanto en el aceite crudo como en el refinado.

Además, la cantidad de compuestos de polimerización, aumenta significativamente. Como se puede observar, los triglicéridos dímeros son sólo detectables en los aceites iniciales cuando hay un alto nivel de triglicéridos oxidados, como es el caso del aceite de girasol.

**Tabla VI.**  
**Reproducibilidad de las técnicas utilizadas para la cuantificación**  
**de compuestos polares (%).**

	OLIVA		GIRASOL	
	G	R	G	R
1	3,5	4,1	4,8	4,7
2	3,1	3,8	4,7	4,6
3	3,7	4,2	3,9	4,4
4	2,8	3,9	4,3	4,4
$\bar{x}$	3,3	4,0	4,4	4,5
$s_x$	0,64	0,29	0,65	0,24

G.- Determinación gravimétrica  
R.- Recta de calibrado

$\bar{x}$ .- valor medio  
 $s_x$ .- desviación típica

**Tabla VII.**  
**Características generales de los aceites finales.**

	OLIVA	GIRASOL	SOJA
Fósforo (mg/kg)	<2	<2	<2
Acidez (% oleico)	0.04	0.13	0.10
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	2.5	2.4	1.4
K <sub>270 nm</sub> (1%, 1cm)	0.55	1.70	1.21
Estabilidad (horas)	17.2	8.3	10.5

**Tabla VIII.**  
**Determinación cuantitativa de los compuestos menores glicéricos**  
**en los aceites antes y después de la refinación.**

	Total (%)	Dímeros (mg/g)	Triglicéridos oxidados (mg/g)	Diglicéridos (mg/g)	Ácidos Grasos (mg/g)
<b>OLIVA</b>					
Crudo	14.0	-	16.5	57.9	65.6
Desodorizado	8.7	10.1	15.5	56.0	5.5
<b>GIRASOL</b>					
Crudo	13.9	1.6	107.1	12.5	17.8
Desodorizado	13.6	22.3	96.0	11.2	6.5
<b>SOJA</b>					
Crudo	5.8	-	28.6	13.5	15.9
Desodorizado	6.7	15.7	27.7	14.1	9.5

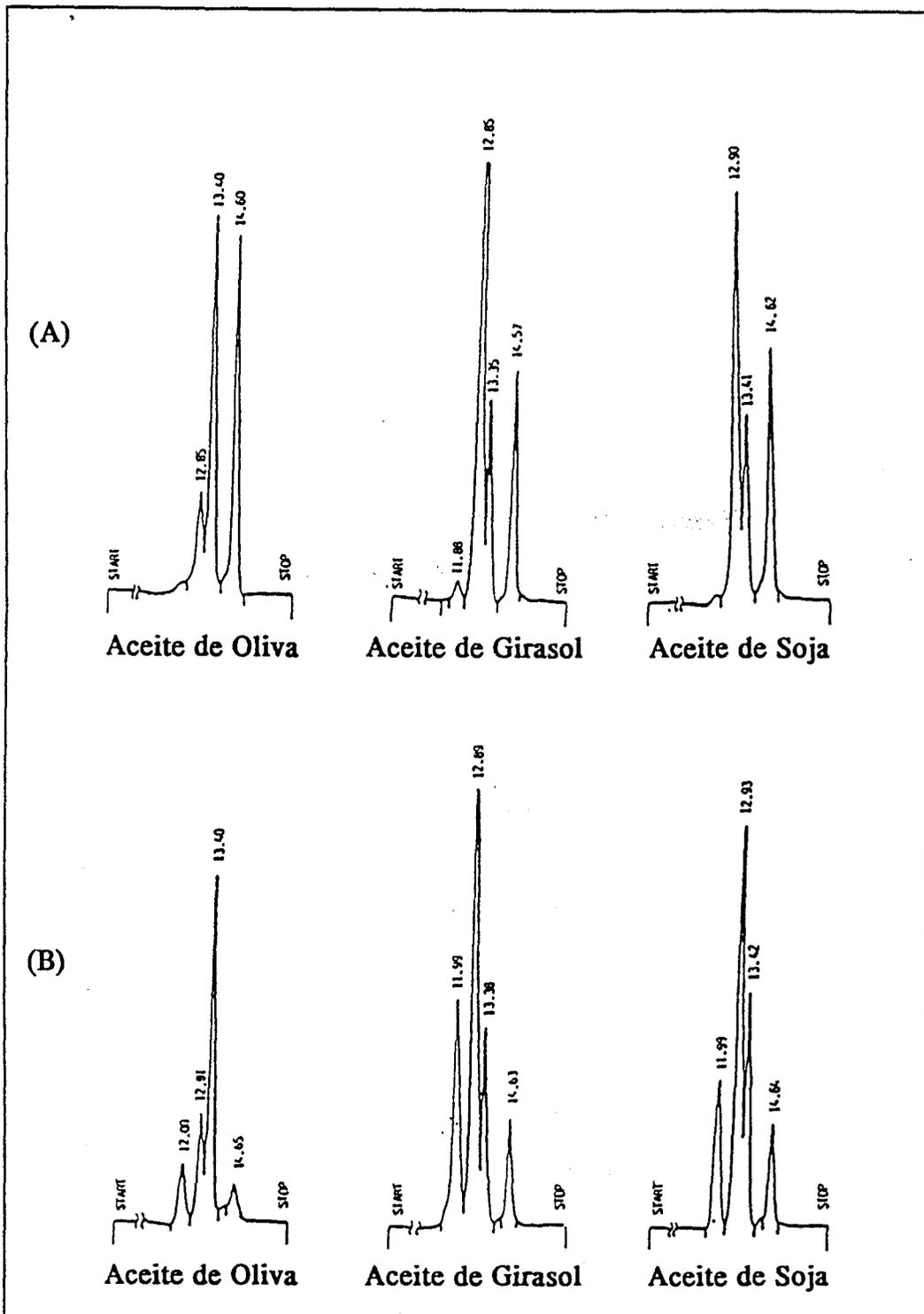


Figura 7.-  
 Cromatogramas de los compuestos menores glicéridicos  
 antes (A) y después (B) de la refinación.

Los resultados obtenidos en los aceites refinados tras la desodorización, aplicando las mismas condiciones para las tres muestras, sugieren que los triglicéridos oxidados pueden ser más fácilmente polimerizados a altas temperaturas que los triglicéridos no polares y, por tanto, el nivel de triglicéridos dímeros puede estar relacionado tanto con la composición en ácidos grasos como con la calidad inicial de los aceites.

En resumen, el método propuesto es fácilmente aplicable a la evaluación de los aceites crudos y refinados. A partir de la cuantificación de los compuestos glicerídicos menores se consiguen, entre otros, los siguientes objetivos:

- Evaluar el grado de oxidación global de las muestras a partir de la concentración de triglicéridos oxidados ya que, en este grupo de compuestos, están incluidos tanto los compuestos primarios como los secundarios originados en el complejo proceso autoxidativo.
- Conocer la alteración hidrolítica de los aceites crudos y refinados a partir de la cuantificación de los diglicéridos, que permanecen mayoritariamente en el aceite refinado.
- Obtener a partir de la cantidad total de compuestos polares una estimación directa de la calidad del aceite crudo o refinado ya que, a excepción de los compuestos polares del insaponificable, son compuestos de alteración.
- Deducir, a partir del aceite refinado, la calidad del aceite crudo y viceversa.

### **2.1.2. Determinación cuantitativa de componentes mayoritarios presentes en los destilados obtenidos en la desodorización.**

Dentro del proceso de refinación de los aceites y grasas, los condensados volátiles constituyen un subproducto de la etapa de desodorización con características muy variables. Estas diferencias se deben a distintas causas entre las cuales las de mayor importancia son el aceite sometido a proceso, el tipo de refinación (física o química), las condiciones de presión, temperatura, vacío y gas de arrastre utilizadas en la desodorización y las características del equipo (Winters, 1990).

Dependiendo de su composición, su utilización y precio son muy diferentes. Así, los obtenidos a partir de aceites vegetales de calidad sometidos a refinación química, se caracterizan por un elevado contenido en fracción insaponificable (15-30%), constituyendo una buena materia prima en la industria farmacéutica para la obtención de compuestos de elevado valor añadido, como son esteroides y tocoferoles (Balazs, 1987; Helme y col., 1981; Ramamurthi y col., 1991; Sheabar y Neeman, 1987). Por su parte, los que provienen de aceites refinados físicamente, que tienen normalmente una acidez superior al 70%, se utilizan principalmente en la preparación de ácidos grasos (Balazs, 1987; Hong, 1983).

Al margen del interés del análisis de los destilados para decidir su mejor aplicación, su composición es de gran utilidad para efectuar comparaciones entre los sistemas de refinación, analizar la influencia de las variables de la etapa de

de componentes beneficiosos del insaponificable, son muy fáciles de deducir del análisis de los volátiles obtenidos en la desodorización y muy difíciles o imposibles de detectar en el aceite refinado.

No existen métodos rápidos que permitan conocer la composición global de los volátiles obtenidos en la desodorización. El análisis actual es largo y tedioso ya que implica la aplicación de un conjunto de métodos (acidez, grasa neutra, insaponificable, etc.) para conocer sus características generales, antes de profundizar en la cuantificación de los compuestos de mayor valor añadido (Lanzani y col., 1988; Liebing y Karwiese, 1984; Marks, 1988; Nogala-Kalucka y Gogolewski, 1989; Sheabar y Neeman, 1987).

En este apartado, se resume el trabajo desarrollado para la puesta a punto de un método rápido y preciso para la cuantificación de los destilados obtenidos en la desodorización. La cromatografía en capa fina acoplada a un detector de ionización de llama constituye una excelente opción ya que permite determinar en un único análisis los principales grupos de componentes en un corto período de tiempo y con una reproducibilidad similar a la de otras técnicas cromatográficas (Ranny, 1987).

#### **2.1.2.1. Muestras.**

En el desarrollo de este estudio se han utilizado las siguientes muestras:

a) Compuestos de pureza cromatográfica (>99%) representativos de los principales grupos de componentes presentes en los volátiles:

- Octadecano
- Trioleína
- Ácido Oleico
- Colesterol

Los citados patrones se han utilizado para construir las rectas de calibrado y evaluar así los factores de respuesta de los grupos de compuestos de mayor interés.

Además, soluciones de concentraciones conocidas de los compuestos puros se utilizan como control de los factores de respuesta y de retención cada vez que se realizan análisis, como se indica en la metodología analítica.

**Tabla IX.**  
**Acidez inicial de los aceites y parámetros de la etapa de desodorización.**

	Aceite de Oliva Refinación Física	Aceite de Soja Refinación Química
Acidez Libre (% oleico)	2.06	1.08
Vapor (%/h)	2	2
Temperatura máx.(°C)	250	220
Presión (Torr)	3.0	2.8
Tiempo (h)	3	3

b) Muestras de volátiles obtenidos en la refinación física y química en sistema de laboratorio de aceites de oliva y soja, respectivamente. Las características de las muestras y de las variables de la etapa de desodorización se resumen en la Tabla IX.

#### **2.1.2.2. Metodología analítica.**

##### **Reactivos y material.**

- Disolventes: Éter de petróleo y éter etílico de calidad reactivo para análisis.
- Acido Fórmico.
- Material especial, necesario para el desarrollo de la cromatografía en capa fina:
  - . Varillas Chromarod S III.
  - . Cubetas para el desarrollo de las varillas.
  - . Horno (IATRON TK-8) para el secado controlado previo a la evaluación de las muestras.
- Cromatógrafo (IATROSCAN MK-5) equipado con detector de ionización de llama.

##### **Procedimiento Operatorio.**

Se pesan en un matraz aforado de 10 mL, con exactitud del miligramo, entre 200 y 250 mg de los volátiles obtenidos en la desodorización, a los que previamente se ha eliminado la humedad, y se enrasa el matraz con éter etílico. Con una jeringa de precisión, se toma 1  $\mu$ l de disolución (20 - 25  $\mu$ g de muestra) y se deposita cuidadosa y lentamente en la varilla para concentrar la muestra en la menor superficie posible. Dadas las características de la técnica que permite posteriormente el desarrollo simultáneo de 10 varillas, pueden disponerse tantos replicados o muestras distintas como el sistema permite. Es conveniente utilizar dos varillas dentro de cada grupo para la separación de una mezcla conocida de compuestos a separar y controlar, de esta forma, las posibles variaciones en los factores de respuesta y en los factores de retención.

Una vez preparadas las muestras, se desarrollan durante 40 minutos, en una mezcla de Éter de Petróleo:Éter Etílico:Acido Fórmico (98:2:1), tras lo cual se mantiene en el horno durante cinco minutos a 70°C, para una mejor eliminación del

disolvente. Las varillas se introducen en el analizador IATROSCAN MK-5, equipado con un detector de ionización de llama y se espera otros cinco minutos a que se estabilice la temperatura antes de la determinación cuantitativa. El flujo de hidrógeno es de 150 mL/min a una presión de 0.75 Kg/cm<sup>2</sup> y el flujo de aire 1500 mL/min. La velocidad de barrido de la varilla es 0.33 cm·sg<sup>-1</sup>.

Dada la distinta naturaleza de los componentes presentes, la exactitud de la determinación se aumenta significativamente mediante la construcción de rectas de calibrado.

### 2.1.2.3. Resultados y discusión.

La mezcla de desarrollo se seleccionó después de realizar un número elevado de ensayos previos con las dos mezclas más utilizadas para la separación de compuestos lipídicos:

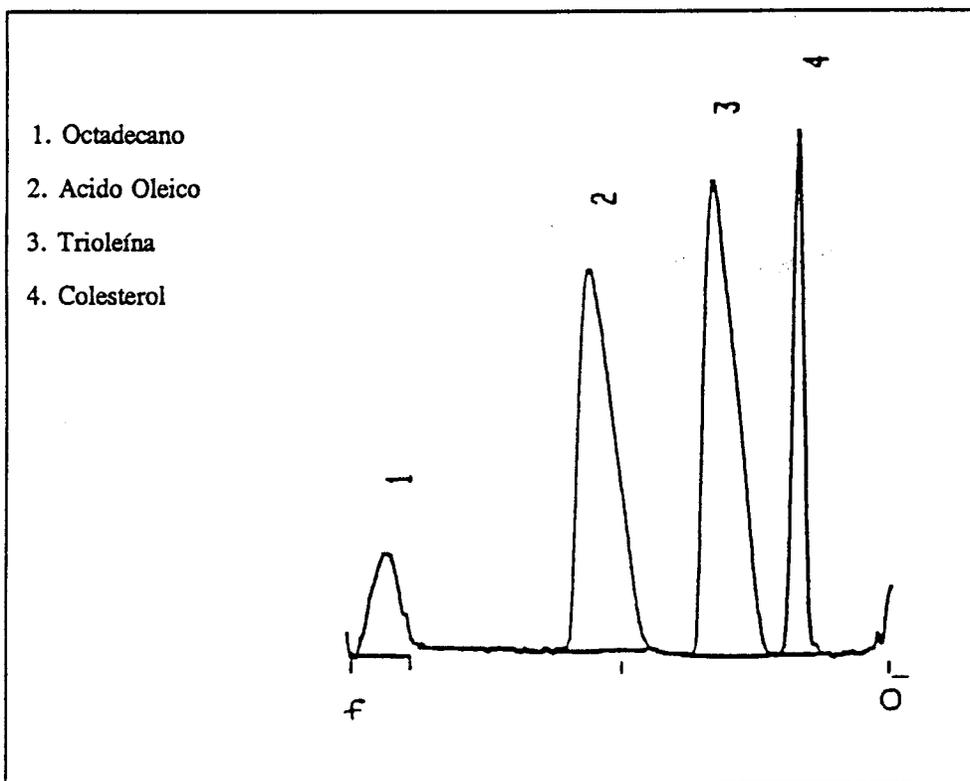
- Éter de Petróleo: Éter Etilico.
- Benceno: Acetato de Etilo.

En todos los ensayos se utilizó además un 1% de ácido fórmico, pues la adición de una pequeña cantidad (0,5-2%) de ácido acético o fórmico al líquido de desarrollo contribuye a disminuir la anchura de la bandas obtenidas, particularmente la correspondiente a los ácidos grasos (Ranny, 1987).

La mezcla Benceno: Acetato de Etilo fue desechada por la dificultad de cuantificar la fracción de hidrocarburos, ya que la citada fracción es muy difícil de separar de la fracción de triglicéridos.

Con la mezcla Éter de Petróleo:Éter Etilico es necesario sólo una pequeña cantidad del disolvente más polar para obtener una buena separación de los grupos de compuestos mayoritarios: triglicéridos, ácidos grasos, hidrocarburos y esteroides. El resto de los estudios se han realizado, por tanto, utilizando como líquido de desarrollo Éter de Petróleo:Éter Etilico:Acido Fórmico (98:2:1).

En la Figura 8 se muestra un cromatograma donde puede observarse, la excelente separación obtenida, aunque se produce una inversión en la elución de los ácidos grasos y triglicéridos, circunstancia característica que se produce cuando el disolvente más polar se encuentra en baja proporción (Kramer y col, 1980).



**Figura 8.**  
**Eficacia de la separación de los compuestos de referencia.**

La Tabla X muestra los resultados obtenidos en la evaluación de cantidades de patrones representativos de los que podrían encontrarse en los destilados, analizados por cuadruplicado. Se han depositado en las varillas 20  $\mu\text{g}$  de muestra que contiene 2  $\mu\text{g}$  de octadecano y colesterol y 8  $\mu\text{g}$  de ácido oleico y trioleína y corresponden, por tanto, a los porcentajes que se indican en la primera fila de la tabla.

En ella puede apreciarse la excelente reproducibilidad obtenida ya que el coeficiente de variación de la media sólo supera el 5% en el caso del octadecano. Además, las principales diferencias se deben a pequeñas variaciones en la cantidad de muestra depositada, ya que la respuesta porcentual tiene un coeficiente de variación inferior en todos los casos. Los resultados indican claramente que la precisión de la determinación es elevada aunque los porcentajes obtenidos no coinciden con los realmente existentes en la muestra, especialmente en el caso de los hidrocarburos y los esteroides. La última fila de la tabla incluye los factores de respuesta relativos al ácido oleico (F.R. = 1) de los compuestos de referencia que permiten mejorar significativamente la exactitud de la determinación.

La Tabla XI resume los parámetros de las rectas de calibrado obtenidas para los compuestos de referencia, el número de determinaciones en cada caso y los coeficientes de correlación obtenidos. En el caso de componentes del insaponificable se han utilizado concentraciones entre 0,2 y 5  $\mu\text{g}$  mientras que para los ácidos grasos y los triglicéridos, las muestras evaluadas contenían entre 0,5 y 10,0  $\mu\text{g}$ . Como puede observarse, los coeficientes de correlación son muy elevados, indicando que en todos los casos existe linealidad en la respuesta en el rango de concentraciones considerado. Por otra parte, los factores de respuesta medios, deducidos de los valores de las pendientes, son muy similares a los que constan en la Tabla X, confirmando de nuevo la buena reproducibilidad de la determinación.

La Figura 9 muestra cromatogramas que ilustran la eficacia de las separaciones obtenidas en las muestras reales y las diferencias que introduce el tipo de refinación. Desde el punto de vista cualitativo se aprecia, en primer lugar, una diferencia acusada entre los destilados procedentes de refinación física y química que afecta fundamentalmente a la relación Ácidos Grasos/Triglicéridos mucho más elevada en el caso de la refinación física. Aunque en el caso de la refinación química existe una gran diferencia en la cantidad de grasa neutra, su importancia cuantitativa depende de la

**Tabla X.**  
**Evaluación de la reproducibilidad de la metodología analítica aplicada.**

Replicados	Octadecano (10 %)		Ac. Oleico (40 %)		Trioleína (40 %)		Colesterol (10 %)		Total Area	Total (%)
	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%		
1	6596	6.6	36338	36.2	41898	41.8	15491	15.4	100323	100
2	6541	6.6	36325	36.8	40955	41.5	14908	15.1	98729	100
3	5953	6.2	35398	36.7	40492	42.0	14577	15.1	96420	100
4	7010	6.9	36578	36.0	42882	42.2	15193	14.9	101663	100
$\bar{x}$	6525	6.6	36160	36.4	41557	41.8	15042	15.1		
$s_x$	435	0.29	521	0.39	1060	0.24	391	0.21		
CV <sup>1</sup> (%)	6.67	4.39	1.44	1.07	2.55	0.57	2.60	1.39		
F.R. <sup>2</sup>		1.38		1		0.87		0.60		

1. Coeficiente de Variación ( $s_x \cdot 100 / \bar{x}$ ).

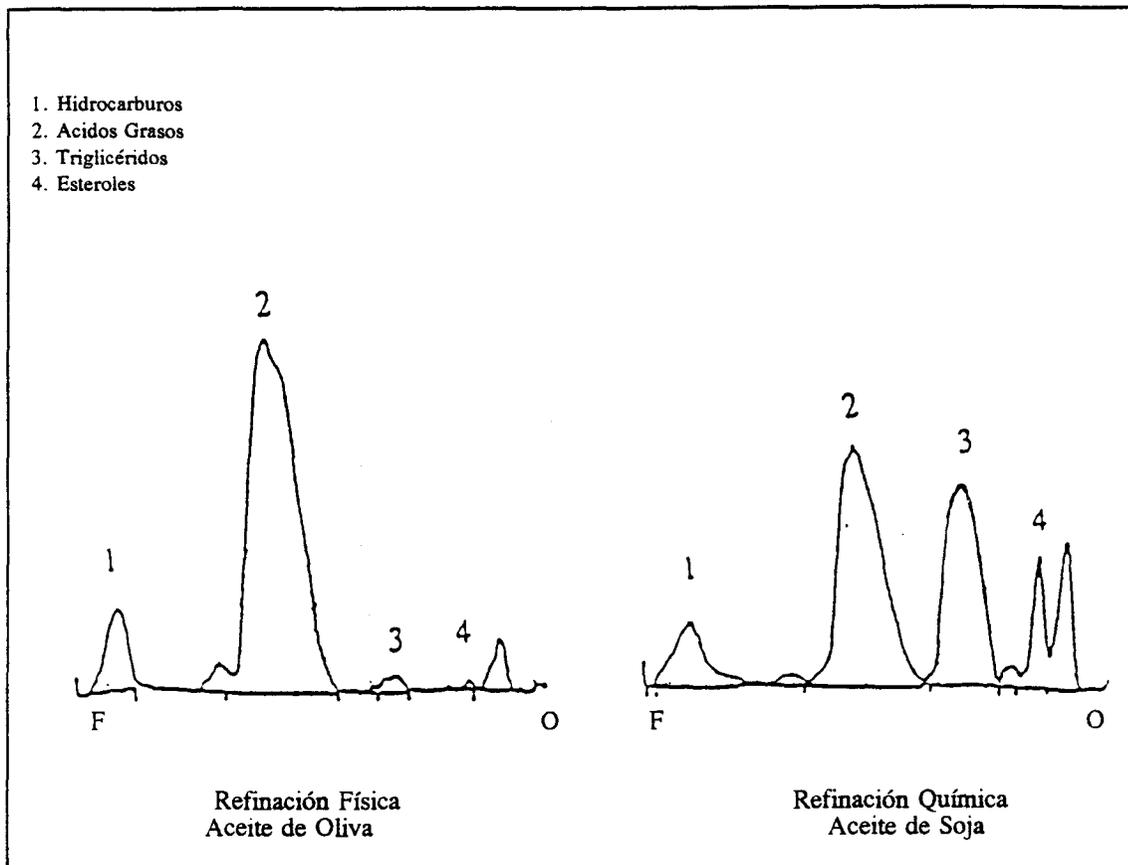
2. Factor de Respuesta.

**Tabla XI.**  
**Parámetros de las Rectas de Calibrado obtenidas para**  
**los patrones de referencia.**

$y = ax + b$	n	Pendiente (a)	Ordenada (b)	r	Factores de respuesta
Octadecano	20	3710	316	0.988	1.23
Ácido Oleico	20	4576	-475	0.997	1.00
Trioleína	20	5272	-682	0.999	0.87
Colesterol	20	6729	1319	0.993	0.68

$y$  = Área en el registro.  
 $n$  = n° de determinaciones.

$x$  =  $\mu\text{g}$  de compuesto.  
 $r$  = coeficiente de correlación.



**Figura 9.**  
**Cromatogramas de destilados de desodorización realizados**  
**con TLC-FID.**

cantidad total de destilados obtenidos.

La Tabla XII recoge finalmente los resultados obtenidos en la evaluación de las muestras de destilados de aceites de oliva y de soja refinados en las condiciones descritas en la Tabla IX. Los picos minoritarios o no resueltos se han incluido en la columna "Otros" e incluyen entre otros a los tocoferoles, monoglicéridos y diglicéridos. Las determinaciones se han realizado por triplicado y los resultados que se muestran incluyen la aplicación de los factores de respuesta correspondientes. En las dos últimas filas de la tabla se detallan los valores de acidez e insaponificable obtenidos aplicando las determinaciones clásicas normalizadas (Normas UNE 55-004 y UNE 55-011).

Los resultados indican que el coeficiente de variación de la media es, como era de esperar, superior al encontrado para los compuestos de referencia.

No obstante, la reproducibilidad es excelente ya que se obtienen valores del coeficiente de variación inferiores al 5% para todos aquellos picos cuyos porcentajes son superiores al 5%.

Es importante resaltar la coherencia entre los resultados obtenidos mediante la determinación propuesta y los valores encontrados para la acidez y el insaponificable. Como puede observarse, las cantidades de ácidos grasos encontradas son muy similares a los valores de acidez de las muestras. Por otra parte, la suma de porcentajes de hidrocarburos y esteroides - ambos grupos de compuestos incluidos en la fracción insaponificable - es inferior al tanto por ciento encontrado para la citada fracción utilizando el método normalizado. En este último caso, las diferencias son mayores ya que existen grupos de compuestos del insaponificable que no han sido cuantificados y están incluidos en la fila "Otros".

En resumen, el método desarrollado permite una cuantificación rápida y precisa de los principales grupos de compuestos incluidos en los destilados obtenidos en la desodorización y ha sido de gran utilidad en este estudio para profundizar en el conocimiento del proceso de refinación, especialmente en la influencia de la cantidad de gas utilizado en la desodorización.

**Tabla XII.**  
**Determinación cuantitativa de los destilados obtenidos en la refinación física de aceites de oliva y en la desodorización de aceites de soja.**

	Oliva		Soja	
	Refinación Física		Refinación Química	
	x	s <sub>x</sub>	x	s <sub>x</sub>
Hidrocarburos (%)	8.6	0.6	11.6	0.5
Ácidos Grasos (%)	82.6	2.0	50.8	0.9
Triglicéridos (%)	3.3	0.3	17.2	0.2
Esteroles (%)	0.7	0.2	8.0	0.2
Otros (%)	4.7		12.3	
Acidez (%)	84.6		50.4	
Insaponificable (%)	11.7		23.7	

x .- Media de tres determinaciones.  
s<sub>x</sub>.- Desviación Típica.

## **2.2. MODIFICACIONES ORIGINADAS DURANTE EL PROCESO DE REFINACIÓN.**

La determinación cuantitativa de componentes menores glicerídicos puesta a punto, permite profundizar en el análisis de las modificaciones que tienen lugar durante el proceso de refinación desde un nuevo punto de vista.

En este capítulo se realiza un estudio sistemático de los cambios que se originan en los aceites de oliva, girasol y soja sometidos a refinación en sistema discontinuo de laboratorio. Se ha profundizado especialmente en la influencia de las variables de mayor importancia - temperatura y tiempo - de la etapa de desodorización, así como en las diferencias entre los procesos de refinación química y física.

Junto con las determinaciones analíticas clásicas, la cuantificación de compuestos polares se complementa con la determinación cuantitativa del insaponificable y de los dos grupos principales constituyentes: esteroides y tocoferoles. Otras determinaciones complementarias, cuando ha sido necesario, han ayudado a obtener igualmente una información más precisa sobre la influencia de las distintas etapas en la calidad de los aceites obtenidos.

## **2.2.1. Muestras y Tratamientos.**

Se han utilizado seis muestra de aceites de oliva girasol y soja, de distinto grado de insaturación calidad inicial, cuyas características generales se recogen en la Tabla XIII. Los aceites seleccionados se someten a un proceso discontinuo de refinación, física y química, a escala de laboratorio. El proceso consta de las siguientes etapas:

### **2.2.1.1. Refinación Química.**

#### **a) Desgomado.**

Aproximadamente 1 kg de aceite crudo se introduce en un reactor tanque agitado de 2 l con fondo redondo y salida inferior, equipado con un termómetro y un agitador de paletas. El contenido es purgado con nitrógeno. Se agita a 120 rpm y se calienta hasta 40°C. Se añade ácido fosfórico (calidad alimentaria) en una proporción en peso del 0,2%, agregando la misma cantidad de agua destilada. Se mantiene bajo agitación a 40°C durante 20 minutos. Las gomas no son separadas.

#### **b) Neutralización.**

Se calienta el aceite bajo agitación hasta alcanzar 60°C, en atmósfera de nitrógeno. Se añade sosa de 18°Bé en cantidad suficiente para neutralizar los ácidos grasos libres, el ácido fosfórico añadido en la fase anterior y un 10% de exceso, y se agita a 70 rpm.

Una vez alcanzado los 80°C de temperatura, se mantiene durante 10 minutos. Transcurrido este tiempo, se separan los jabones formados por decantación y filtración.

A continuación se lava el aceite con agua a 80°C, en una proporción del 20% en peso, para quitar las últimas trazas de jabón. Finalmente se seca.

**Tabla XIII.**  
**Características generales de los aceites de Oliva, Girasol y Soja crudos.**

	Oliva		Girasol		Soja	
	Muestra n°1	Muestra n°2	Muestra n°1	Muestra n°2	Muestra n°1	Muestra n°2
Fósforo (ppm)	<2	<2	52	54	86	163
Acidez (% oleico)	6.38	1.17	1.58	0.76	1.30	1.31
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	30.0	6.0	16.6	26.0	17.0	7.0
K <sub>270 nm</sub> (1%,cm)	0.38	0.16	1.47	0.44	0.42	0.52
Estabilidad (horas)	8.3	29.4	9.5	9.1	14.4	10.7
Ácidos Grasos (%)						
16:0	11.2	11.1	7.4	6.7	11.2	10.9
16:1	0.7	1.2	-	-	-	-
18:0	2.6	2.1	4.4	5.1	3.3	3.9
18:1	71.4	80.6	31.0	31.2	26.7	22.8
18:2	11.4	4.4	55.8	56.8	50.5	55.4
18:3	0.8	-	-	-	7.2	6.6
Otros	1.9	0.6	1.4	0.2	1.1	0.4

### **c) Decoloración.**

El aceite lavado y seco se calienta en atmósfera de nitrógeno hasta 80°C. La muestra se somete a agitación usando un agitador magnético y se añade un 0,5% en peso del agente decolorante (Tierra de Gador) y se mantiene a la temperatura indicada durante 15 minutos. A continuación el aceite se filtra y se enfría.

### **d) Desodorización.**

El sistema que se utiliza en laboratorio es similar a los descritos en la bibliografía (Pardum, 1988) y se muestra en la Figura 10. El aceite decolorado se introduce en el matraz (A) del esquema, el cual es calentado mediante una manta calefactora semiesférica con un termorregulador.

El tubo (B) dirige el vapor de agua hacia el fondo del matraz desodorizador, cuyo flujo se regula mediante una válvula.

El tubo de salida (C) dirige los vapores hacia las trampas (D) que recogen el material condensable y evitan que pase a la bomba de vacío (E) unida al sistema mediante la última trampa.

La fuente de vapor de agua son probetas de 50 mL que se introducen en un baño de agua a temperatura constante de 25°C. Las probetas con agua, previamente taradas, se introducen en el baño y se mantienen durante 15 minutos para estabilizar la temperatura. Se conectan al frasco (F) mediante una llave de tres vías que permite el cambio de probeta durante la operación sin que se pierda el vacío. Este sistema permite cuantificar gravimétricamente la cantidad de vapor de agua que se ha introducido en el sistema en un período de tiempo determinado.

El frasco (F) se introduce en un baño de aceite térmico a 100°C y conecta el tubo (B) con la válvula de tres vías del sistema de probetas. Así se evita que gotas de agua se introduzcan en el matraz desodorizador provocando salpicaduras y arrastre mecánico del aceite.

La toma de muestras durante el proceso se realiza mediante el sistema (M): el matraz (M), de 25 mL de capacidad y con salida inferior, se conecta mediante una válvula con el tubo (G) que está introducido en el seno del aceite. Por otra parte, dicho matraz consta de una válvula de tres vías que permite conectarlo a la bomba de vacío

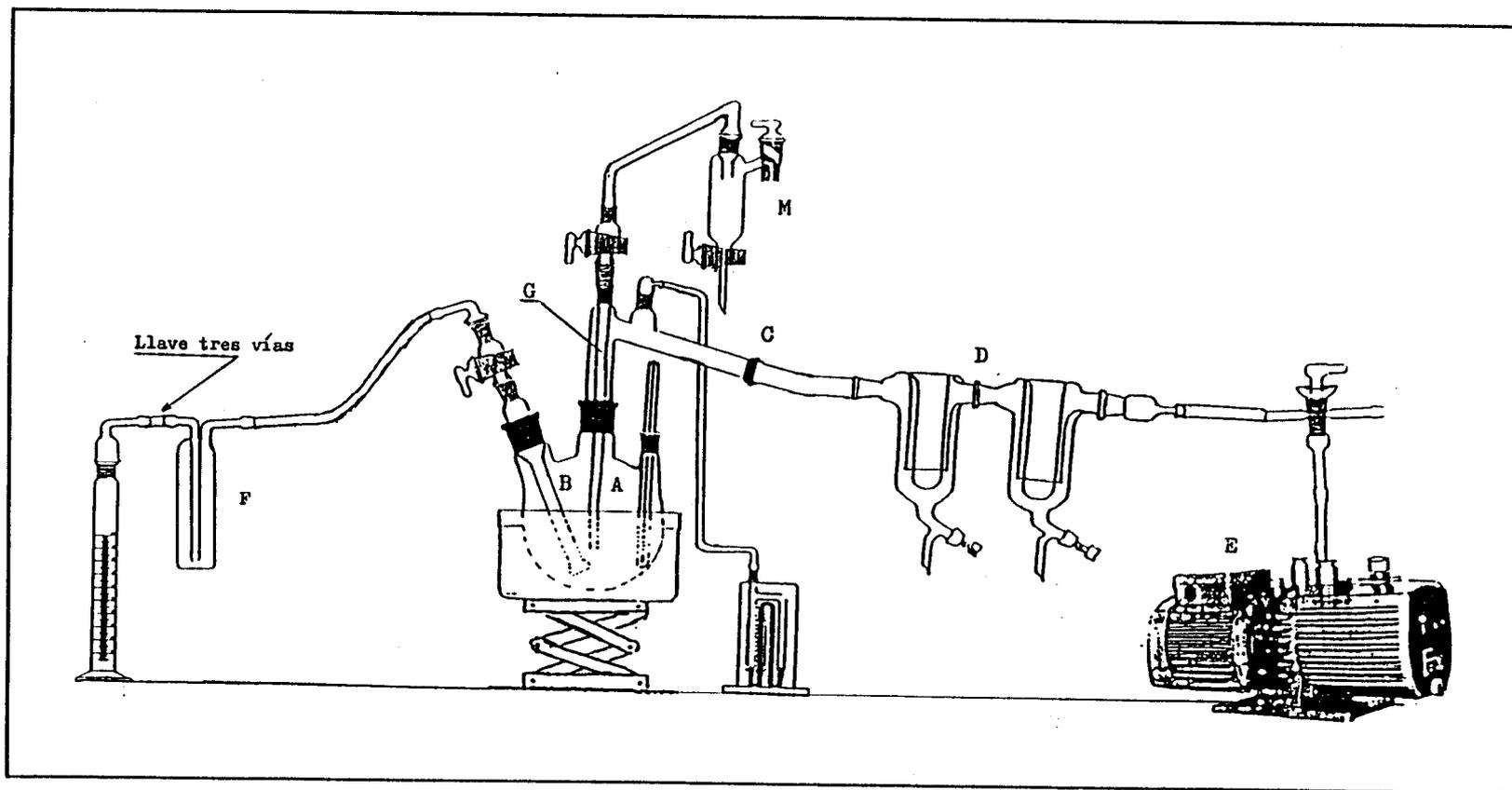


Figura 10.

Esquema del equipo de desodorización utilizado en el laboratorio.

y reemplazar el vacío logrado con atmósfera de nitrógeno. Este sistema permite la toma de muestras sin interrumpir la operación.

El calentamiento hasta dicha temperatura se realiza de la forma más rápida posible y la desodorización se lleva a cabo bajo un vacío inferior a 3 Torr durante tres horas contadas a partir del momento en que se alcanza la temperatura de operación tomando una muestra de aceite cada hora. Al final del tiempo estipulado, se enfría el aceite y el vacío se reemplaza por atmósfera de nitrógeno.

Las temperaturas utilizadas han sido 180°C, 220°C y 260°C y la cantidad de vapor del 2 %/h.

#### **2.2.1.2. Refinación Física.**

Se procede de forma similar a la refinación química salvo que se suprime la etapa de neutralización alcalina, ya que la desacidificación se realiza mediante destilación de los ácidos grasos libres durante la etapa de desodorización.

##### **a) Decoloración.**

El procedimiento operatorio y las condiciones de temperatura y tiempo son las mismas, salvo que en este caso se añade un 1,5% de tierra decolorante (Tierra de Gador Tipo C) y se mantiene a la temperatura indicada durante 15 minutos. A continuación el aceite se filtra y se enfría.

##### **b) Desodorización-neutralizante.**

El sistema que se utiliza en laboratorio es el mismo que se describió anteriormente. La desodorización se lleva a cabo bajo un vacío inferior a 3 Torr durante tres horas contadas a partir del momento en que se alcanza 260°C, temperatura de operación para todos los aceites sometidos a refinación física en el laboratorio. La cantidad de vapor utilizado ha sido del 2 %/h en todas las experiencias.

## **2.2.2. Determinaciones Analíticas.**

### **2.2.2.1. Determinaciones Clásicas.**

#### **Determinación de la acidez.**

Se sigue el método expuesto en la norma UNE 55011.

Se denomina "grado de acidez" al porcentaje de ácidos grasos libres que contiene un aceite, expresados como ácido oleico. La acidez deberá referirse a la grasa seca y filtrada.

El método de ensayo es el siguiente: en un matraz erlenmeyer de 250 mL, se colocan 50 mL de una mezcla en partes iguales de alcohol etílico de 96° y éter etílico, adicionándole 5 mL de disolución alcohólica de fenolftaleína al 1%. Se neutraliza con NaOH 0,1 N. En otro matraz erlenmeyer igual al anterior se pesan de 2 a 20 g de la grasa filtrada, con exactitud de 1 mg, de forma que el consumo de disolución alcalina no deberá exceder en la valoración de 20 mL. Esto es para evitar el riesgo de añadir agua en cantidad tal que se pudieran formar dos fases con el disolvente.

El disolvente neutralizado se vierte en el matraz y se agita hasta la disolución completa de la grasa. Seguidamente se valora con la solución de NaOH 0,1 N, agitándose constantemente, dándose por terminada la valoración cuando la adición de una sola gota produce un viraje débil pero definido.

El grado de acidez se calcula utilizando la siguiente expresión:

$$\text{Grado de acidez} = 28.2 \times V \times N / P$$

siendo: V, Volumen de NaOH gastado en mililitros, N, Normalidad exacta de la sosa y P, Peso de la muestra en gramos.

### **Determinación de la Estabilidad frente a la Oxidación (Método Rancimat.)**

Se denomina Estabilidad de una grasa o aceite, al tiempo, expresados en horas, que se requiere para completar el período de inducción característico del proceso autoxidativo.

Se ha utilizado el equipo Rancimat mod. 679 (Läubli y Bruttel, 1986) siguiendo el procedimiento que se resume a continuación :

2,5 g de muestra se pesan en el tubo de ensayo normalizado, perfectamente limpio y seco. El recipiente donde se introduce el electrodo es un frasco con 60 mL de agua desionizada donde se recogen los volátiles que se desprenden del tubo de ensayo donde se coloca la muestra. La determinación se realiza a 100°C con un flujo de aire de 20 mL/min. Cuando la temperatura del calefactor se estabiliza, comienza la evaluación de la conductividad que se registra de forma continua frente al tiempo. El punto de inflexión de la curva de conductividad registrada coincide con el final período de inducción del proceso de oxidación de la muestra grasa y se expresa en horas.

### **Determinación del Índice de Peróxidos.**

Se denomina Índice de Peróxidos a los miliequivalentes de oxígeno activo contenidos en un kilogramo de materia ensayada, calculados a partir del yodo liberado del yoduro potásico, operando en las condiciones que se indican en la metódica propuesta en la norma UNE 55-023-73.

El procedimiento operatorio se describe a continuación:

En un matraz con cierre esmerilado de unos 250 mL, se introduce la muestra de aceite que se desea ensayar. (El peso de la muestra a ensayar se toma según el índice de peróxidos que se presupone y que viene tabulado en la misma norma). Se agregan 10 mL de cloroformo, en el cual se disuelve rápidamente la grasa por agitación, y, por último, se añaden 15 mL de ácido acético glacial y 1 mL de solución acuosa saturada de yoduro potásico.

Se cierra el matraz y se mantiene en agitación durante un minuto, conservándolo después en la oscuridad durante cinco minutos. Al cabo de este tiempo se agregan 75

mL de agua, se agita vigorosamente y se valora el yodo liberado con una disolución de tiosulfato sódico 0,002 N, para los aceites de índices inferiores o iguales a 20, y 0.01 N para los índices más elevados.

El Índice de Peróxidos se calcula según la siguiente fórmula:

$$\text{I.P.} = \frac{V \times N \times 1000}{P}$$

siendo: V, mL de tiosulfato consumidos en la valoración, N, la normalidad del tiosulfato y P, los gramos de grasa tomados.

### **Determinación del color.**

Se sigue el procedimiento descrito en la norma UNE 55-069, mediante comparación con vidrios de un color característico conocido, utilizando un Tintómetro Lovibond.

El procedimiento operatorio consiste en llenar con el aceite filtrado una cubeta de 133,35 mm, (5,25 pulgadas), que se coloca en el tintómetro donde se iguala el color mediante el empleo de los vidrios. Para determinar el color de los aceites neutralizados y decolorados, se debe emplear la relación de amarillo a rojo siguiente:

- 10 unidades amarillas por cada unidad roja, hasta 3,5 unidades rojas.
- 70 unidades amarillas a partir de 3,5 unidades rojas inclusive.

Algunos aceites tienen unos tintes que no pueden ser igualados, ni aún aproximadamente, empleando el amarillo fijado o la relación de amarillo a rojo indicada anteriormente. En tales casos, se dará el amarillo y rojo que más se asimile al color del aceite.

### **Medida espectrofotométrica de la absorción en la región ultravioleta.**

Para la determinación se ha seguido la norma UNE 55-047-73. El equipo utilizado es un espectrofotómetro Perkin-Elmer, modelo Coleman 55.

El procedimiento operatorio es el siguiente: la muestra filtrada se pesa, con precisión de 0,5 mg, en un matraz aforado de 10 mL. La cantidad pesada se disuelve

en ciclohexano y se completa hasta su enrase.

La cantidad de muestra de establecerá en función de su absorción en el ultravioleta. La disolución debe tener una concentración tal que la extinción leída en el espectrofotómetro se encuentre entre 0,2 y 0,8; en el caso de situarse fuera de estos límites, debe repetirse la medida, bien diluyendo en la relación conveniente o procediendo a una nueva pesada.

Para el cálculo se utiliza la siguiente fórmula:

$$K_1 = e_1 \times 100 / p$$

Siendo:  $K_1$  Extinción específica a la longitud de onda  $\lambda$ ,  $e_1$ , la extinción leída en el aparato y  $p$ , el peso de la muestra en mg

### **Determinación de fósforo.**

Se sigue el método normalizado UNE 55108 que determina el contenido de fósforo por calcinación de la muestra en presencia de ZnO, seguida de medida colorimétrica como fosfomolibdato amónico.

El procedimiento seguido requiere, en primer lugar, la construcción de una curva patrón. Para ello, se prepara una disolución de Potasio fosfato monobásico que contiene 0,01 mg/mL. De esta solución se toman, mediante pipeta, 1,2,4,6,8 y 10 mL, se introducen en matraces aforados de 50 mL y se completa el volumen hasta 10 mL. Seguidamente, se añaden 8 mL de sulfato de hidracina y 2 mL de molibdato sódico. Se calienta en un baño de agua hirviente durante 10 minutos. Se enfría y se enrasa con agua destilada.

Se mide la extinción a 650 nm utilizando como blanco agua destilada, en cubetas de vidrio óptico de 10 mm de paso de luz. Los valores de absorbancia se representan gráficamente frente a los contenidos de fósforo, expresados en mg, resultando una recta cuya ecuación es:

$$\text{Extinción} = 0,0052 + 5,90 \times [n^\circ \text{ mg}_{\text{fósforo}}]$$

Para la preparación de la muestra se procede de la siguiente manera: se pesa de 3.0 a 3.2 g de la muestra, con precisión de 1 mg, en un crisol de porcelana y se añaden 0,5 g de ZnO. Se calienta la muestra hasta que espese y entonces se coloca el crisol en

un horno de mufla a 500-600°C durante dos horas. Se deja enfriar a temperatura ambiente.

Se añaden a las cenizas 5 mL de agua destilada y 5 mL de HCl concentrado. Se cubre el crisol con un vidrio de reloj y se calienta a ebullición durante 5 minutos.

Se filtra la disolución caliente recogiendo el filtrado en un matraz aforado de 100 mL. Se lava el vidrio, el crisol y el papel de filtro con 25 mL de agua destilada caliente en varias porciones. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se neutraliza con KOH al 50%. Se añade el HCl gota a gota hasta que el precipitado de ZnO se solubilice y se añaden 2 gotas más. Se diluye hasta 100 mL con agua destilada y se agita.

Se pasan 10 mL a un matraz aforado de 50 mL y se sigue el mismo procedimiento utilizado para la determinación de la recta de calibrado, es decir, se añaden 8 mL de sulfato de hidracina y 2 mL de molibdato sódico. Se calienta en un baño de agua hirviente durante 10 minutos. Se enfría, se enrasa con agua destilada y se mide la extinción a 650 nm utilizando como blanco agua destilada.

La cantidad de fósforo se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Fósforo (mg/kg)} = \frac{[E - B] \times 0,17 \times 10^4}{P}$$

Siendo: E la extinción medida a la disolución de la muestra, B la extinción medida al blanco y P, peso de la muestra.

### **Determinación del insaponificable.**

Se designa con la denominación de insaponificable a un grupo de sustancias solubles en la materia grasa las cuales, después de efectuada la saponificación, son insolubles en el agua y solubles en éter etílico. La determinación se realiza según el procedimiento operatorio descrito en la norma UNE 55-004-73 que se resume a continuación.

Se pesan, con exactitud del miligramo, 5 g de materia grasa en un matraz de 250 mL y se añaden 50 mL de potasa alcohólica 1N. Se adapta a la boca del matraz un

refrigerante de reflujo y se calienta a ebullición durante 1h agitando de vez en cuando. Se retira el matraz del baño, se separa el refrigerante y se traspasa el contenido del matraz a una ampolla de extracción de 500 mL. Se lava con 100 mL de agua.

Se realizan tres extracciones de la fracción jabonosa con 100 mL de éter etílico cada vez y se reúnen las tres fases etéreas en una ampolla donde se lavan con potasa acuosa 0.5N dos veces y con agua hasta que esté totalmente exenta de jabones. Se traspasa la fase orgánica a un matraz previamente tarado, se elimina el disolvente en un evaporador rotatorio a vacío y se termina el secado en estufa de vacío a 45°C hasta peso constante.

El porcentaje de insaponificable se determina aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Insaponificable (\%)} = \frac{P_1}{P_0} \times 100$$

Siendo:  $P_0$ , el peso de la materia en gramos y  $P_1$ , el peso del residuo en gramos. Este residuo se utiliza para la determinación de esteroides.

#### **Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa.**

El método seguido es el propuesto en la correspondiente norma UNE 55037 basado en la separación y determinación por cromatografía gaseosa de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

El procedimiento operatorio seguido es el siguiente: se pesa 1 g de grasa en un matraz de 100 mL al que se le añaden 25 mL de disolución de metilato sódico 0,2 N en metanol. Después de hervir a reflujo durante 5 minutos hasta la obtención de una sola fase, se interrumpe la calefacción y se agregan al matraz unas gotas de fenolftaleína y disolución de HCl al 2% en metanol hasta viraje del indicador, manteniendo la muestra en ebullición otros 5 minutos. A continuación se agregan 3 o 4 mL de hexano, se agita para una mejor extracción de los ésteres metílicos y se añade una disolución acuosa saturada en NaCl en cantidad suficiente para la fase de hexano quede en el cuello del matraz. Esta disolución de hexano se inyecta en el cromatógrafo.

El cromatógrafo utilizado ha sido Hewlett Packard mod 5890, con detector de ionización de llama en las siguientes condiciones de trabajo:

Temperatura del inyector: 250°C  
Temperatura del detector: 250°C  
Temperatura del horno: 180°C  
Columna capilar: Relleno: sílice fundida (SUPELCOWAX 10)  
30 m l. x 0,32 mm d.i.

El contenido de cada ácido ( $C_x$ ) en la muestra viene dado por la expresión:

$$C_x (\% \text{ en peso}) = \frac{\text{Área de } C_x}{\text{Área Total}} \times 100$$

#### **2.2.2.2. Determinación cuantitativa de los compuestos menores glicerídicos.**

El procedimiento analítico utilizado para la evaluación de los compuestos menores glicerídicos ha sido desarrollado en el apartado 2.2.1. de esta tesis.

#### **2.2.2.3. Determinación cuantitativa de los compuestos menores del insaponificable.**

##### **Análisis de la fracción esterólica.**

Para el aislamiento de la fracción esterólica y la separación de sus componentes se sigue la norma UNE 55019. El procedimiento descrito consta de tres fases:

- a) Saponificación de la grasa y extracción de la materia insaponificable. Se pesan 5 g de grasa en un matraz de 250 cc y se añade 1 mL de una disolución patrón de colesterol de pureza cromatográfica que contiene 0,1 mg/mL. Se continúa el procedimiento operatorio descrito previamente para la obtención de la fracción insaponificable.
- b) Aislamiento de esteroides por cromatografía en capa fina.
- c) Separación de los componentes de la fracción esterólica por cromatografía gaseosa.



El procedimiento operatorio se resume a continuación:

Una vez extraída la fracción insaponificable de la materia grasa, se disuelve en 1,5 mL de éter etílico y se extiende en una placa cromatográfica de gel de sílice 60 G de 0,25 mm de espesor. Se deposita como referencia una cantidad aproximada de 35  $\mu\text{g}$  de colesterol.

La placa sembrada se introduce en un tanque de desarrollo que contiene una mezcla hexano:éter etílico 70:30. Una vez finalizado el desarrollo, se seca la placa al aire y la fracción de la placa donde se ha colocado la referencia se revela con yodo para localizar la posición de los esteroides. Se aísla la banda y se introduce en una columna de elución. Se recogen los esteroides en un matraz con forma de pera de 20 mL, eluyéndolos con 10 mL de éter isopropílico.

1  $\mu\text{l}$  de esta solución se inyecta en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890, equipado con columna capilar utilizando las siguientes condiciones:

Temperatura del inyector: 300°C

Temperatura del detector: 300°C

Temperatura del horno: 275°C

Columna capilar: Relleno: 5% difenil 95% dimetilpolisiloxano (HP 5)  
25 m x 0.32 mm d.i. Espesor: 0.17  $\mu\text{m}$ .

El contenido de cada esteroide (E) en la muestra viene dado por la expresión:

$$E (\% \text{ en peso}) = \frac{\text{Área de E}}{\text{Área Total}} \times 100$$

### **Determinación de tocoferoles en aceites vegetales y grasas mediante cromatografía líquida de alta eficacia.**

Para la determinación de estos compuestos menores se ha seguido la norma propuesta por la IUPAC (Standard Methods, 1991), cuyo objeto es la determinación de tocoferoles y tocotrienoles en aceites vegetales y grasas. La disolución de la grasa en el disolvente orgánico se introduce directamente en la columna de cromatografía para la separación individual de los tocoferoles, obteniéndose previamente los factores de respuestas mediante soluciones patrón de cada uno de los tocoferoles.

El procedimiento seguido es el siguiente:

Se pesan aproximadamente 0,5 g de muestra, con exactitud de mg, en un matraz aforado de 25 mL, se disuelve en hexano y se enrasa. Se inyectan 20  $\mu$ l en el cromatógrafo líquido, utilizando las siguientes condiciones:

- Columna analítica de cromatografía líquida (25 cm x 4 mm d.i.) rellena de micropartículas de sílice de 5  $\mu$ m de tamaño medio de partícula.
- Detector de fluorescencia a 290 nm de longitud de onda de excitación y 330 nm de emisión.
- Concentración de la muestra: 20-30 mg/mL.
- Muestra inyectada: 20  $\mu$ l.
- Fase Móvil de cromatografía: hexano:isopropanol (99:1).
- Flujo: 1 mL/min

Para la identificación y cuantificación de los picos se utiliza una mezcla patrón de tocoferoles. El contenido de cada tocoferol en la muestra se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\text{Tocoferol } (\mu\text{g/g}) = \frac{C \times a \times D}{A \times m}$$

siendo: C, concentración del tocoferol en la mezcla patrón ( $\mu\text{g/l}$ ); A, área del pico correspondiente a dicho tocoferol en la mezcla patrón; a, área del pico correspondiente a dicho tocoferol en la muestra; m, peso de la muestra en g; D, volumen total de solución de muestra en mL.

## **2.2.3. Resultados y discusión.**

### **2.2.3.1. Refinación Química.**

Las Tablas XIV, XV y XVI recogen las características generales de los aceites utilizados en este estudio después de las distintas etapas del proceso. En el caso de la etapa de desodorización, los resultados corresponden a un tiempo total de tres horas, ya que a tiempos intermedios de una y dos horas se obtiene sólo una pequeña cantidad de muestra. La composición en ácidos grasos se ha omitido en las Tablas por no ser significativamente distinta en ninguno de los casos respecto a las que tienen los respectivos aceites originales, teniendo en cuenta la reproducibilidad de la determinación (Ackman, 1972).

Los resultados obtenidos indican que se han conseguido los objetivos de las etapas del proceso. Por una parte, el contenido en fosfolípidos se encuentra en todos los casos por debajo del límite de detección del método (2 ppm). La acidez libre se ha reducido drásticamente en todos los casos como consecuencia de la neutralización y el color de los aceites disminuye tanto en la neutralización como en la etapa de decoloración propiamente, donde se eliminan las clorofilas. Sin embargo, es en la etapa de desodorización donde los aceites alcanzan su punto final de color, ya que el tratamiento térmico destruye los carotenos que son termolábiles (Faur, 1989).

En primer lugar hay que indicar que todas las medidas de color, incluidos los aceites iniciales, se realizaron en cubetas de 5,25 pulgadas para apreciar de una forma homogénea las variaciones producidas en el color durante el proceso. En las muestras de aceites de oliva se observan diferentes comportamientos. Así mientras que en la Muestra nº2 se aprecia menos intensidad de color, tanto en el aceite decolorado (15 unidades amarillas) como en el desodorizado (3 unidades amarillas), en

Tabla XIV.

Características Generales de las muestras de aceite de Oliva refinadas en el laboratorio y desodorizadas a distintas temperaturas.

	Muestra n°1						Muestra n°2					
	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C
Acidez (% oleico)	6.38	0.06	0.06	0.05	0.04	0.05	1.17	0.14	0.09	0.11	0.08	0.24
Estabilidad (h)	8.3	13.4	14.8	17.1	16.1	9.7	29.4	-	27.7	29.1	22.7	13.6
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	30.1	24.3	4.2	1.8	1.0	1.2	6.0	3.4	1.6	0.9	1.3	1.2
Color*	79/1.7	40/1.0	20/0.5	9/0.5	9/0.3	10/0.5	70/3	30/1.0	15/n.d.	3/n.d.	3/n.d.	3/n.d.
K <sub>270</sub> (1%,1cm)	0.38	0.40	0.27	0.58	0.55	0.35	0.15	0.17	0.17	0.17	0.16	0.15
Insaponificable (%)	1.18	1.15	1.12	1.14	1.09	0.77	1.45	1.37	1.42	1.29	1.33	1.16
Fósforo (ppm)	6.5	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2

Color\*: Unidades Lovibond (amarillas/rojas)

Tabla XV.

Características Generales de las muestras de aceite de Girasol refinadas en el laboratorio y desodorizadas a distintas temperaturas.

	Muestra n°1						Muestra n°2					
	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C
Acidez (% oleico)	1.58	0.22	0.12	0.15	0.12	0.12	0.76	0.17	0.15	0.05	0.08	0.05
Estabilidad (h)	9.5	8.4	8.8	9.1	8.8	6.8	9.1	7.4	7.6	8.9	8.0	7.4
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	16.6	14.2	9.3	1.8	1.0	1.2	26.0	12.5	7.9	1.1	1.6	2.2
Color*	35/3.5	30/3.0	21/1.2	10/1.2	10/0.9	10/1.3	30/3.0	25/2.7	10/0.9	10/0.5	10/0.6	10/0.7
K <sub>270</sub> (1%, 1cm)	1.47	1.37	1.28	1.94	1.53	1.36	0.44	0.95	1.38	1.89	1.63	1.29
Insaponificable (%)	1.17	1.04	0.96	0.93	1.06	0.81	0.98	0.92	0.93	0.97	0.87	0.72
Fósforo (ppm)	52	9	<2	<2	<2	<2	54	7	<2	<2	<2	<2

Color\*: Unidades Lovibond (amarillas/rojas)

Tabla XVI.

Características Generales de las muestras de aceite de Soja refinadas en el laboratorio y desodorizadas a distintas temperaturas.

	Muestra n°1						Muestra n°2					
	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C
Acidez (% oleico)	1.19	0.06	0.07	0.03	0.02	0.02	1.31	0.12	0.15	0.09	0.05	0.02
Estabilidad (h)	5.0	5.8	6.7	13.0	12.2	10.4	10.7	7.3	7.5	12.3	10.5	9.1
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	10.2	5.2	5.8	0.8	1.5	0.6	7.1	5.3	5.2	1.8	0.6	0.5
Color*	70/8.6	70/6.2	20/2.8	20/2.1	10/0.4	10/0.6	70/9.2	70/7.0	30/3.2	20/2.0	10/0.9	10/0.9
K <sub>270</sub> (1%, 1cm)	0.52	0.46	0.46	1.25	1.24	1.22	0.52	0.49	0.56	1.13	1.07	1.02
Insaponificable (%)	0.78	0.72	0.75	0.75	0.76	0.65	0.88	0.76	0.71	0.71	0.73	0.61
Fósforo (ppm)	548	14	<2	<2	<2	<2	163	10	<2	<2	<2	<2

Color\*: Unidades Lovibond (amarillas/rojas)

la Muestra n°1 aparecen dificultades en la pérdida de color, a pesar de recibir el mismo tratamiento. Después de la desodorización, aún se encuentran tonalidades rojas, lo que es propio de aceites cuya coloración se debe a compuestos alterados con dobles enlaces conjugados (Maclellan, 1983).

En los aceites de semillas son las unidades rojas las que mejor definen las variaciones de color que se producen en los aceites. Al igual que en el aceite de oliva, en el aceite de girasol es la Muestra n°1 la que presenta mayor intensidad de color en todos los casos, debido también su grado de alteración, y es a 220°C donde se obtienen mejores resultados para ambas muestras. En el aceite de soja se observa un comportamiento similar en ambas muestras; a 180°C no se alcanza el límite de color exigido en la normativa de 10 unidades amarillas y 3 unidades rojas, ya que ambas muestras presentan 20 unidades amarillas si se desodorizan a esta temperaturas, además de ligeros tonos rojizos, próximos a 2 unidades rojas. Ello se debe a que los carotenos se destruyen a temperaturas superiores a 210°C (Ouyan, 1980), por lo cual a 220°C y a 260°C se alcanzan los valores deseados.

En cuanto a los parámetros indicativos del grado de oxidación de los aceites, se observan valores muy bajos del Índice de Peróxidos, inferiores a 2,2 meqO<sub>2</sub>/kg en todos los casos, consecuencia de la elevada temperatura de desodorización. Como es bien conocido, a temperaturas elevadas la velocidad de destrucción de peróxidos para a dar lugar a productos secundarios de oxidación es mucho mayor que la de formación y, por tanto, el índice de peróxidos tiende a cero.

En lo que se refiere a los valores de extinción específica a 270 nm, indicativa de la presencia de trienos conjugados y cetonas  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas, los resultados son muy variables ya que dependen del grado de insaturación de los aceites. Por ello, se encuentran valores más elevados para los aceites de girasol y soja que, sin embargo, están dentro de los límites normales para los aceites refinados.

En cuanto a la medida de la estabilidad oxidativa, se observa un aumento claro en el aceite de Oliva, Muestra n°1, después de la neutralización, lo que sin duda es debido a su elevada acidez inicial. Las modificaciones de la estabilidad son siempre difíciles de interpretar puesto que dependen de pequeñas concentraciones de compuestos antioxidantes y prooxidantes que pueden ser eliminados en parte durante las etapa del proceso. Parece, no obstante, significativa la disminución de la estabilidad con la

temperatura de desodorización, en particular a 260°C, que puede ser atribuida a la disminución de tocoferoles, los cuales presentan una elevada tensión de vapor en estas condiciones.

Finalmente, los valores obtenidos para la fracción insaponificable de los aceites experimentan pequeñas variaciones. Sólo en el caso de muestras desodorizadas a 260°C parece existir una disminución que sería consecuencia de la pérdida de las sustancias más volátiles incluidas en la citada fracción.

Es importante comentar que aunque no ha sido posible realizar el análisis sensorial de las muestras utilizando el panel analítico, los aceites finales y las muestras intermedias obtenidas después de una y dos horas de desodorización han sido evaluadas por cuatro jueces con experiencia en la apreciación de la calidad de los aceites refinados. La Tabla XVII resume el número de respuestas que indican una calidad aceptable para los aceites analizados.

Como puede observarse, no existe unanimidad en las muestras nº1 de los aceites de oliva y girasol, probablemente debido a la baja calidad del aceite inicial. Sin embargo, en general los resultados indican que, como era de esperar, cuanto más elevada es la temperatura, menor es el tiempo necesario para obtener un aceite refinado de calidad aceptable. Así, son necesarias tres horas cuando la desodorización tiene lugar a 180°C, mientras que la mayor parte de las muestras se encuentran desodorizadas después de dos horas a 220°C y después de una hora a 260°C. Ello significa que resultados negativos como la pérdida de estabilidad o la disminución de la fracción insaponificable que se obtienen a 260°C cuando el aceite se desodoriza durante tres horas, no se encontrarían en la práctica normal.

### **Compuestos Menores Glicerídicos.**

La determinación de compuestos menores glicerídicos ha incluido también a todas las muestras intermedias, obtenidas después de una y dos horas de desodorización a las distintas temperaturas ensayadas. Los resultados obtenidos, que se recogen en las Tablas XVIII a XXIII, se han resumido para cada muestra de aceite para facilitar el análisis de las modificaciones que suceden en las diferentes etapas del proceso de refinación.

**Tabla XVII.**

**Evaluación sensorial de los aceites desodorizados realizados por cuatro jueces: número de respuestas que indican calidad aceptable.**

Muestras	OLIVA		GIRASOL		SOJA	
	nº 1	nº2	nº 1	nº2	nº 1	nº2
1h	0	0	0	0	0	0
180°C 2h	0	0	0	1	1	2
3h	3	4	3	4	4	4
1h	0	1	0	0	0	1
220°C 2h	3	4	2	4	4	4
3h	3	4	3	4	3	4
1h	3	4	2	4	4	4
260°C 2h	3	4	3	4	4	3
3h	3	4	3	2	3	3

Tabla XVIII.

Compuestos Glicerídicos Menores de la muestra n°1 de aceite de Oliva sometido a refinación química en el laboratorio y desodorizado a distintas temperaturas.

	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C			220°C			260°C		
				1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
Total (%)	13.9	7.5	7.2	7.5	7.5	7.7	7.3	7.6	7.7	7.1	7.4	7.8
Dímeros (mg/g)	-	-	-	10.8	12.7	14.6	12.4	14.5	16.1	13.1	16.4	18.9
Triglicéridos oxidados (mg/g)	16.5	15.2	15.0	14.8	14.2	14.5	14.3	14.2	14.3	14.8	14.6	14.4
Diglicéridos (mg/g)	57.5	55.7	53.4	45.3	44.2	43.9	42.6	43.4	43.1	40.7	40.4	41.8
Acidos Grasos (mg/g)	65.0	4.1	3.6	4.1	4.0	4.0	3.7	3.9	3.5	2.4	2.6	2.9

Tabla XIX.

Compuestos Glicerídicos Menores de la muestra nº2 de aceite de Oliva sometido a refinación química en el laboratorio y desodorizado a distintas temperaturas.

	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C			220°C			260°C		
				1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
Total (%)	4.0	2.9	3.0	2.7	2.8	2.7	3.0	3.1	3.0	2.9	3.4	3.5
Dímeros (mg/g)	-	-	-	1.9	2.3	2.8	3.4	4.1	4.8	4.5	5.1	6.5
Triglicéridos oxidados (mg/g)	6.3	6.1	7.2	5.4	5.2	5.2	5.7	6.1	5.8	5.6	6.4	5.9
Diglicéridos (mg/g)	22.0	18.2	18.7	15.6	17.4	16.2	18.0	17.0	17.0	15.3	17.9	18.9
Acidos Grasos (mg/g)	11.7	4.7	4.1	4.1	3.1	2.8	2.9	3.8	3.4	3.6	4.6	3.7

Tabla XX.

Compuestos Glicerídicos Menores de la muestra n<sup>o</sup>1 de aceite de Girasol sometido a refinación química en el laboratorio y desodorizado a distintas temperaturas.

	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C			220°C			260°C		
				1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
Total (%)	13.9	12.8	12.4	2.7	13.5	13.9	13.4	13.6	13.4	13.9	14.0	15.2
Dímeros (mg/g)	1.6	2.6	2.7	1.9	18.2	20.3	19.7	22.3	26.2	26.7	34.3	43.7
Triglicéridos oxidados (mg/g)	107.1	109.2	105.4	5.4	99.9	101.0	95.5	96.0	89.8	93.7	88.4	88.3
Diglicéridos (mg/g)	12.5	11.1	11.0	15.6	11.7	12.2	11.4	11.2	11.7	11.9	11.2	12.2
Acidos Grasos (mg/g)	17.8	5.1	4.9	4.1	5.2	5.5	7.3	6.5	6.3	6.7	6.1	7.8

**Tabla XXI.**

**Compuestos Glicerídicos Menores de la muestra n°2 de aceite de Girasol sometido a refinación química en el laboratorio y desodorizado a distintas temperaturas.**

	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C			220°C			260°C		
				1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
Total (%)	5.5	5.2	5.2	5.6	6.0	6.2	5.8	6.1	6.5	6.3	6.8	7.1
Dímeros (mg/g)	0.9	1.2	1.3	7.9	10.9	12.5	10.1	12.8	15.2	14.9	19.9	23.6
Triglicéridos oxidados (mg/g)	32.1	33.1	33.4	32.9	33.0	33.2	32.9	33.1	33.6	32.6	32.8	32.2
Diglicéridos (mg/g)	11.5	10.4	10.8	9.3	9.8	10.2	9.3	10.1	10.3	10.2	10.4	10.9
Acidos Grasos (mg/g)	10.5	6.3	6.5	6.0	6.4	6.1	5.3	5.4	5.8	5.5	4.8	4.8

Tabla XXII.

Compuestos Glicerídicos Menores de la muestra n°1 de aceite de Soja sometido a refinación química en el laboratorio y desodorizado a distintas temperaturas.

	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C			220°C			260°C		
				1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
Total (%)	7.1	5.8	5.8	6.1	6.2	6.6	6.2	6.4	6.7	6.9	7.2	7.5
Dímeros (mg/g)	1.5	1.7	2.8	5.6	6.5	8.7	7.8	8.4	12.1	11.5	14.0	18.2
Triglicéridos oxidados (mg/g)	37.0	38.9	38.4	37.3	38.0	39.5	36.7	38.4	36.7	37.8	38.3	36.1
Diglicéridos (mg/g)	15.2	13.3	13.5	13.7	13.5	13.2	13.4	13.6	13.9	14.1	14.7	15.0
Acidos Grasos (mg/g)	17.0	4.2	4.3	4.4	4.1	4.6	4.0	3.7	4.2	5.6	5.0	5.7

**Tabla XXIII.**

**Compuestos Glicerídicos Menores de la muestra n°2 de aceite de Soja sometido a refinación química en el laboratorio y desodorizado a distintas temperaturas.**

	Crudo	Neutro	Decolorado	180°C			220°C			260°C		
				1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
Total (%)	7.9	6.0	5.9	6.9	7.3	7.3	7.3	7.7	7.9	7.9	8.1	8.7
Dímeros (mg/g)	1.0	1.2	2.1	14.6	19.0	21.9	17.9	20.9	23.8	17.6	20.0	28.7
Triglicéridos oxidados (mg/g)	44.9	43.5	41.6	40.6	39.6	40.2	40.7	42.0	41.3	41.7	39.4	40.1
Diglicéridos (mg/g)	15.0	10.9	10.9	10.3	10.7	11.0	10.4	10.3	10.3	12.9	13.8	14.3
Acidos Grasos (mg/g)	18.1	4.4	4.3	3.5	3.7	3.9	4.0	3.7	3.6	4.8	4.8	3.8

Los aceites crudos muestran características de calidad muy diferentes para los aceites de oliva y girasol seleccionados, siendo más homogéneas las muestras de aceites de soja. Las diferencias fundamentales entre los aceites iniciales se resumen en los siguientes puntos:

1) En el caso de los aceites de oliva, independientemente del tanto por ciento total de compuestos polares, los componentes mayoritarios son los diglicéridos y ácidos grasos, debido tanto a la menor susceptibilidad a la oxidación, como a la existencia de una alteración hidrolítica significativa. Ello es lógico, ya que mientras los aceites de girasol y soja se refinan independientemente de su calidad inicial, el aceite de oliva se refina únicamente cuando, debido a sus características químicas y sensoriales, no es apto para consumo directo, lo que es paralelo, en la mayoría de los casos, a una elevada acidez libre.

2) En los aceites más insaturados - girasol y soja - los compuestos mayoritarios son los triglicéridos oxidados que suponen más del 50% de los compuestos menores.

3) En los aceites de oliva iniciales destaca la ausencia de dímeros de triglicéridos que aparecen como consecuencia del tratamiento térmico y/u oxidativo. Aunque en cantidades mínimas, su presencia es ya perceptible en los aceites más insaturados.

En las mismas tablas se recogen los resultados obtenidos para los aceites neutros y decolorados que, con respecto a los iniciales, experimentan las siguientes modificaciones de carácter general:

1) Existe una disminución, en todos los casos, de la cantidad de compuestos glicéricos menores, claramente relacionada con la eliminación de los ácidos grasos libres en la etapa de neutralización, ya que, como puede observarse, la fila correspondiente a los ácidos grasos libres es la que experimenta una mayor disminución. Por otra parte, es importante recordar que aunque las cantidades después de la neutralización son más elevadas que las correspondientes a la acidez libre de las muestras, se debe a que en la fracción cuantificada como ácidos grasos se incluyen también compuestos menores polares de la fracción insaponificable, de similar peso molecular.

2) Debido a la baja temperatura de la fase de desgomado, neutralización y decoloración, no se observa una modificación apreciable en la cantidad de compuestos de peso molecular superior a los triglicéridos.

3) Los diglicéridos permanecen en niveles similares, aunque en todos los casos se observa una disminución consistente debido al tratamiento alcalino.

4) La cantidad de triglicéridos oxidados no experimenta modificación, ya que las variaciones se encuentran dentro de los límites de error de la determinación.

Es interesante destacar que todas las modificaciones apreciables se dan en la etapa de neutralización sin que se observe ninguna diferencia entre los aceites neutros y decolorados. Ello era de esperar, ya que el objetivo fundamental de la fase de decoloración es la eliminación de compuestos que se encuentran en cantidades del orden de mg/kg, muy inferiores a las detectadas con esta técnica analítica. Análisis más específicos, como la determinación cuantitativa de pigmentos clorofílicos (Garrido y col., 1990) o la determinación de ácidos grasos isómeros (Ackman y col., 1974) eliminados u originados como consecuencia del tratamiento con tierras ácidos, serían necesarios para un conocimiento más detallado de los cambios minoritarios que tienen lugar en esta etapa.

Respecto a la etapa de desodorización, en este estudio se ha realizado un análisis de la influencia de las variables temperatura y tiempo, manteniendo constante la cantidad de vapor (2 %/h) y la presión (3 Torr). Las temperaturas utilizadas, 180°C, 220°C y 260°C, son representativas de las utilizadas en desodorización, mientras que el tiempo máximo de tratamiento se definió en ensayos previos con el objeto de obtener un aceite bien refinado a la temperatura menor.

Los resultados obtenidos muestran un comportamiento similar de los tres aceites en lo que se refiere a la formación de compuestos de polimerización. En primer lugar, se observa un aumento significativo de la cantidad de dímeros como consecuencia de la elevada temperatura, aunque teniendo en cuenta la igualdad de las condiciones establecidas para los tres aceites, los resultados no son fáciles de explicar. Así, resulta sorprendente que el mayor incremento en la cantidad de dímeros, desde el aceite decolorado, tenga lugar en la primera hora, lo cual indicaría que la fase inicial de calentamiento del aceite hasta la temperatura de tratamiento tiene una importancia fundamental en la formación de compuesto de polimerización. Ello podría ser debido a la presencia de mayores cantidades de oxígeno durante el período de calentamiento.

Por otra parte, la formación de compuestos de polimerización no parece estar

sólo relacionada con la temperatura y el grado de insaturación del aceite, sino también con la calidad del aceite crudo sometido a proceso. Los valores particularmente elevados obtenidos para el aceite de girasol (Muestra n°1) que contiene un 10% de triglicéridos oxidados indica una mayor tendencia a la formación de dímeros oxidados, coherente con la aparente disminución de los triglicéridos oxidados monómeros. La situación opuesta se da en el caso del aceite de oliva (Muestra n°2) donde la cantidad de compuestos de polimerización es muy baja, incluso en condiciones drásticas de 260°C y tres horas de tratamiento.

El resto de los grupos de compuestos de interés no experimenta cambios importantes. Como se observa en la Tablas, las cantidades de triglicéridos oxidados y diglicéridos existentes en los aceites crudos se mantienen sustancialmente a lo largo del proceso de refinación, persistiendo como marcadores de las alteraciones oxidativa e hidrolítica.

En resumen, del análisis de las modificaciones de los compuestos glicerídicos durante el proceso de refinación se deducen las siguientes conclusiones de carácter general:

- los aceites experimentan una disminución significativa de la cantidad de compuestos glicerídicos menores durante la fase de neutralización.
- la formación de compuestos de polimerización depende tanto del grado de insaturación del aceite como de la calidad del mismo.
- los triglicéridos oxidados monómeros y diglicéridos, experimentan cambios cuantitativos minoritarios, lo que permite establecer una relación entre el aceite crudo y el obtenido después de cualquiera de las fases del proceso.

### **Componentes menores de la fracción insaponificable.**

Las modificaciones que tienen lugar durante la refinación de aceites y grasas, afectan también a la fracción insaponificable. Así, el objetivo fundamental de la desodorización es la eliminación de compuestos que comunican al aceites olores indeseables, la mayoría de los cuales pertenecen a la citada fracción. Entre ellos, los de mayor importancia desde el punto de vista sensorial son los aldehídos y cetonas

originados en la escisión de los hidroperóxidos, todos ellos volátiles y con umbrales de percepción muy bajos (Hamilton, 1983). Como se ha comentado previamente, no sólo es fundamental conseguir una completa eliminación de estos compuestos, sino que es igualmente importante el mantenimiento de los componentes de la citada fracción que tienen efectos positivos sobre la calidad y la estabilidad del aceite. En este estudio, se ha procedido a la cuantificación de la fracción insaponificable total, así como a los dos grupos de compuestos más representativos: los esteroides, de baja volatilidad e inhibidores de las reacciones de polimerización y los tocoferoles, de reconocido poder antioxidante (Patterson, 1989).

La Tabla XXIV recoge las cantidades y composiciones en esteroides y tocoferoles de todos los aceites iniciales utilizados en este estudio. Como se puede apreciar, las cantidades y composición son muy variables como corresponden a las diferencias entre los aceites utilizados, destacando la práctica ausencia de antioxidantes naturales en la Muestra nº1 de aceite de oliva.

La evaluación cuantitativa se ha realizado de forma similar para todas las muestras obtenidas después de las diferentes etapas de la refinación, aunque en la Tabla XXV, XXVI y XXII se recogen exclusivamente los resultados cuantitativos totales, por no haberse encontrado diferencias significativas en los porcentajes de los componentes individuales en ninguno de los dos grupos de compuestos, lo que está de acuerdo con los resultados previos obtenidos en otros estudios (Kochhar, 1983; Serani y Piacenti, 1992).

En relación con la cantidad total de fracción insaponificable, no se observan cambios relevantes con excepción de una disminución en la etapa de desodorización cuando esta tiene lugar a la temperatura más elevada (260°C).

La eliminación de esteroides durante la refinación ha sido establecida en estudios previos (Niewiadowski, 1958; Vitagliano y Turri, 1958; Fedeli y col., 1971; Leone y col., 1976). Aunque algunas referencias previas indican que las mayores pérdidas se producen en la etapa de decoloración (Johanson, 1979), la mayoría de los autores coinciden en que la mayor disminución en el contenido en esteroides se registra durante la neutralización y la desodorización (Gutfinger y Letan, 1974; Serani y Piacenti, 1992). Los resultados obtenidos coinciden más con los últimos estudios citados e indican que no existen cambios significativos en la etapa de decoloración, mientras que

Tabla XXIV.

Cantidad y composición porcentual de esteroides y tocoferoles de los aceites iniciales utilizados.

	Oliva		Girasol		Soja	
	Muestra n°1	Muestra n°2	Muestra n°1	Muestra n°2	Muestra n°1	Muestra n°2
Esteroides Totales (mg/100g)	180	152	326	539	436	365
Campesterol (%)	2.4	3.1	8.4	8.3	18.5	18.3
Stigmasterol (%)	3.1	3.4	7.4	7.6	17.1	17.4
$\beta$ -Sitosterol (%)	87.1	82.4	63.3	56.7	55.3	55.4
$\Delta$ -5 Avenasterol (%)	4.8	10.0	1.8	1.1	3.5	3.4
$\Delta$ -7 Stigmastenol (%)	0.1	0.2	11.8	17.6	2.9	2.8
$\Delta$ -7 Avenastenol (%)	0.3	0.2	2.8	3.9	1.7	1.6
Otros (%)	1.1	0.8	4.5	4.8	1.0	1.1
Tocoferoles Totales (mg/kg)	<15	208	987	1012	1001	1089
$\alpha$ -Tocoferol (%)	-	78.6	92.2	91.4	7.6	7.1
$\gamma$ -Tocoferol (%)	-	-	-	-	66.0	62.2
$\delta$ -Tocoferol (%)	-	21.4	7.7	8.6	26.4	30.6

**Tabla XXV.**

**Cantidad de insaponificable, esteroides y tocoferoles de las muestras de aceite de Oliva refinadas en el laboratorio y desodorizados a distintas temperaturas.**

		Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C
Muestra nº1	Insaponificable (%)	1.18	1.15	1.12	1.14	1.09	0.77
	Esteroides (mg/100g)	180	151	141	128	136	118
	Tocoférols (mg/Kg)	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15
Muestra nº2	Insaponificable (%)	1.45	1.37	1.42	1.29	1.33	1.16
	Esteroides (mg/100g)	124	105	112	103	107	97
	Tocoférols (mg/Kg)	208	171	170	174	168	122

Tabla XXVI.

Cantidad de insaponificable, esteroides y tocoferoles de las muestras de aceite de Girasol refinadas en el laboratorio y desodorizados a distintas temperaturas.

		Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C
Muestra n°1	Insaponificable (%)	1.17	1.04	0.96	0.93	1.06	0.81
	Esteroides (mg/100g)	361	310	308	292	296	280
	Tocoférols (mg/Kg)	987	898	887	820	802	597
Muestra n°2	Insaponificable (%)	0.98	0.92	0.93	0.97	0.87	0.72
	Esteroides (mg/100g)	593	529	513	515	509	469
	Tocoférols (mg/Kg)	1012	904	873	849	810	734

**Tabla XXVII.**

**Cantidad de insaponificable, esteroides y tocoferoles de las muestras de aceite de Soja refinadas en el laboratorio y desodorizados a distintas temperaturas.**

		Crudo	Neutro	Decolorado	180°C	220°C	260°C
Muestra n°1	Insaponificable (%)	0.78	0.72	0.75	0.75	0.76	0.65
	Esteroides (mg/100g)	436	402	380	377	368	291
	Tocoférols (mg/Kg)	1001	881	853	809	811	621
Muestra n°2	Insaponificable (%)	0.88	0.76	0.72	0.71	0.73	0.61
	Esteroides (mg/100g)	365	317	308	303	289	268
	Tocoférols (mg/Kg)	1089	975	945	935	897	676

las pérdidas registradas en la etapa de neutralización oscilan entre un 8% para la muestra n°1 de aceite de soja y el 16% aproximadamente para la muestra n°1 de aceite de oliva. No obstante, las pérdidas son inferiores si se tiene en cuenta que los resultados se expresan como mg/100g de grasa y en la neutralización la cantidad de grasa disminuye debido a la eliminación de los ácidos grasos libres.

Respecto a la etapa de desodorización, la disminución de esteroides depende, como era de esperar, de la temperatura de operación, siendo importantes sólo cuando se utiliza la temperatura máxima de 260°C.

En cuanto a los tocoferoles, la situación es similar a la ocurrida con los esteroides, registrándose las mayores pérdidas en la etapa de neutralización, entre el 9% y el 18%, y en la etapa de desodorización cuando esta se realiza a 260°C, donde las pérdidas rondan entre el 16 y el 33%. La mayoría de los autores cifran las mayores pérdidas de tocoferoles en la etapa de desodorización (Gutfinger y Letan, 1974; Hernandez y Boatella, 1987; Jung, 1989), sin especificar la influencia de las condiciones, aunque, en algún caso (Ludwicki y col. 1986), indican que la etapa más drástica para los tocoferoles es la de neutralización. Sin duda la diferencia se debe a la temperatura de desodorización utilizada en los distintos estudios.

#### **2.2.3.2. Refinación Física.**

Las características generales de los aceites utilizados en este estudio después de las distintas etapas del proceso, se recogen en las Tablas XXVIII, XXIX y XXX.

Se han omitido los resultados obtenidos de las muestras desgomadas, ya que no había diferencias con respecto a los aceites iniciales salvo en el color, cuya intensidad disminuye en todas las muestras, y en la cantidad de fósforo, pues en esta etapa se lleva a cabo la eliminación prácticamente completa de los fosfátidos.

Al igual que en la refinación química, se presentan los resultados que corresponden a un tiempo total de tres horas, ya que a tiempos intermedios de una y dos horas se obtiene sólo una pequeña cantidad de muestra.

**Tabla XXVIII.**

**Características de las muestras de aceite de Oliva sometido a refinación física en el laboratorio.**

	Muestra n°1			Muestra n°2		
	Crudo	Decolorado	Refinado	Crudo	Decolorado	Refinado
Acidez (% oleico)	6.38	6.45	0.04	1.17	1.01	0.05
Estabilidad (h)	8.3	5.4	8.4	29.4	11.0	13.4
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	30.1	50	1.6	6.0	10.1	0.7
Color*	79/1.7	35/1.6	35/1.2	70/3.0	20/1.7	10/0.4
K <sub>270</sub> (1%,1cm)	0.38	0.35	0.74	0.15	0.15	0.15
Insaponificable (%)	1.18	1.11	0.83	1.45	1.38	1.31
Fósforo (ppm)	6.5	<2	<2	<2	<2	<2

\*.- Unidades Lovibond (Amarillas/Rojas)

Tabla XXIX.

Características de las muestras de aceite de Girasol sometidas a refinación física en el laboratorio.

	Muestra n°1			Muestra n°2		
	Crudo	Decolorado	Refinado	Crudo	Decolorado	Refinado
Acidez (% oleico)	1.58	1.46	0.17	0.76	0.76	0.06
Estabilidad (h)	9.5	4.0	5.6	9.1	6.6	7.3
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	16.6	13.8	0.6	26.0	24.1	1.5
Color*	35/3.5	20/1.9	10/0.4	30/3	20/2.9	10/0.4
K <sub>270</sub> (1%,1cm)	1.47	2.30	10.22	0.44	0.61	1.42
Insaponificable (%)	1.17	1.20	0.99	0.98	0.91	0.79
Fósforo (ppm)	52	<2	<2	54	<2	<2

\*.- Unidades Lovibond (Amarillas/Rojas)

Tabla XXX.

Características de las muestras de aceite de Soja sometido a refinación física en el laboratorio.

	Muestra n°1			Muestra n°2		
	Crudo	Decolorado	Refinado	Crudo	Decolorado	Refinado
Acidez (% oleico)	1.19	0.81	0.14	1.31	1.32	0.11
Estabilidad (h)	5.0	3.5	7.8	10.7	9.1	12.2
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	10.2	5.5	1.2	7.1	5.1	1.0
Color*	70/8.6	35/3.8	10/1.9	70/9.2	20/2.8	10/1.5
K <sub>270</sub> (1%,1cm)	0.52	0.47	1.63	0.52	0.53	1.55
Insaponificable (%)	0.78	0.74	0.66	0.88	0.86	0.75
Fósforo (ppm)	548	<2	<2	163	<2	<2

\*.- Unidades Lovibond (Amarillas/Rojas)

Todos los ensayos de desodorización se han realizado a 260°C, temperatura que permite comparar los resultados obtenidos en la refinación física y química y que garantiza la eliminación de los ácidos grasos libres en la última etapa del proceso.

Los resultados obtenidos indican que, de forma similar a los obtenidos en refinación química, se han conseguido los objetivos de las etapas del proceso. Por una parte, el contenido en fosfolípidos se encuentra en todos los casos por debajo del límite de detección del método (2 ppm), el color de los aceites disminuye en la decoloración y en la etapa de destilación, ya que, como se dijo anteriormente, los pigmentos experimentan una rápida descomposición a partir de 200°C. Sin embargo, aunque todas las muestras cumplen la normativa vigente para los aceites refinados, los aceites tienen un color ligeramente más intenso que las refinadas mediante el proceso químico, a pesar de que se utilizó una mayor cantidad de tierra en la decoloración. Los resultados demuestran la importancia del efecto decolorante obtenido durante la fase de neutralización.

Con respecto al grado de oxidación de los aceites, se observan valores muy bajos del Índice de Peróxidos, inferiores a 1,6 meq O<sub>2</sub>/kg en todos los casos. En lo que se refiere a los valores de extinción específica a 270 nm, son también más elevados para los aceites de girasol y soja, aunque están dentro de los límites normales para los aceites refinados.

En cuanto a la medida de la estabilidad oxidativa, se obtienen, en general, valores algo más bajos que para las muestras sometidas a refinación química, valores que no se justifican por los niveles de acidez libre de los aceites, que son del mismo orden. Mientras que en la refinación química el aumento de la estabilidad se origina en la neutralización y sólo disminuye en la desodorización cuando la temperatura es de 260°C debido a la pérdida de antioxidantes naturales, las muestras sometidas a refinación física experimentan una disminución apreciable en la fase de decoloración donde paradójicamente se mantiene el nivel de antioxidantes. Los resultados sugieren que en la fase de neutralización tendría lugar la eliminación de compuestos de carácter prooxidante no volátiles que permanecen en el aceite en el caso de la refinación física y que haría compatible la presencia de mayores niveles de antioxidantes naturales y menores o similares estabilidades frente a la oxidación.

Por último, las variaciones sufridas por la cantidad de insaponificable son muy

pequeñas. En la mayoría de los casos, los contenidos en fracción insaponificable son superiores cuando las muestras se someten a refinación física. Ello es debido a la inexistencia de la fase de neutralización donde, como se ha comentado, se retienen con los jabones, cantidades significativas de la citada fracción.

### **Compuestos glicerídicos menores.**

Las Tablas XXXI, XXXII y XXXIII resumen los resultados de la cuantificación de los compuestos glicerídicos menores para los aceites de oliva, girasol y soja respectivamente.

Los resultados son paralelos a los obtenidos en el caso de la refinación química e indican la inexistencia de modificaciones apreciables durante la etapa de decoloración, así como la formación de compuestos de polimerización durante la etapa de desodorización neutralizante a 260°C.

Las principales diferencias encontradas en la cantidad de compuestos glicerídicos menores entre ambos sistemas de refinación se justifican claramente si se consideran las características diferencias de la Refinación Física: la inexistencia de la fase de neutralización y la eliminación de los ácidos grasos libres en la etapa final del proceso.

En primer lugar, se observa un incremento en la cantidad de diglicéridos de las muestras, ya que una parte significativa de los mismos se eliminaban durante la refinación química en la etapa de neutralización. En todos los casos, su nivel es del mismo orden del que se encuentra en los aceites crudos, lo que permite establecer una relación aún más clara con la alteración hidrolítica existente en los aceites iniciales.

Por otra parte, las cantidades cuantificadas como "ácidos grasos libres" tienen niveles superiores a la una y dos horas de tratamiento lo que indicaría que aún no se ha terminado la eliminación de los ácidos grasos libres. Además, los resultados muestran que aún después de tres horas, las cantidades son superiores a las obtenidas en la refinación química aunque los valores de acidez libre son del mismo orden.

Como se ha comentado previamente, en la cantidad cuantificada como "ácidos grasos" se encuentran también compuestos polares del insaponificable que eluyen con igual tiempo de retención dado su similar peso molecular. La existencia de mayores cantidades en la refinación física está justificada, por tanto, por la cantidad superior de

Tabla XXXI.

Compuestos glicéricos menores de las muestras de aceite de Oliva sometido a refinación física en el laboratorio.

	Muestra n°1					Muestra n°2				
	Crudo	Decolorado	Refinado			Crudo	Decolorado	Refinado		
			1 h	2 h	3 h			1 h	2 h	3 h
Total (%)	13.9	13.1	8.5	9.0	8.6	4.0	3.8	3.4	3.8	3.6
Dímeros (mg/g)	-	1.9	11.3	13.6	14.1	-	-	4.2	4.6	5.4
Triglicéridos oxidados (mg/g)	16.5	17.0	10.4	11.0	10.0	6.3	6.0	5.5	5.1	5.1
Diglicéridos (mg/g)	57.5	53.4	52.4	54.6	53.6	22.0	20.7	19.2	22.8	20.9
Acidos Grasos (mg/g)	65.0	58.7	10.9	10.8	8.3	11.7	12.1	5.6	5.5	5.5

**Tabla XXXII.**

**Compuestos glicerídicos menores de las muestras de aceite de Girasol sometido a refinación física en el laboratorio.**

	Muestra n°1					Muestra n°2				
	Crudo	Decolorado	Refinado			Crudo	Decolorado	Refinado		
			1 h	2 h	3 h			1 h	2 h	3 h
Total (%)	13.9	13.8	13.9	14.2	14.2	5.5	5.4	6.1	6.3	6.4
Dímeros (mg/g)	1.6	19.2	27.1	38.5	47.9	0.9	1.7	13.8	17.6	20.0
Triglicéridos oxidados (mg/g)	107.3	90.1	88.0	82.0	76.5	31.5	31.1	30.1	29.0	27.3
Diglicéridos (mg/g)	12.5	13.6	13.2	13.3	12.5	11.5	11.0	10.7	10.7	11.5
Acidos Grasos (mg/g)	17.8	15.0	10.7	8.1	5.2	10.5	10.3	6.4	5.8	5.1

Tabla XXXIII.

Compuestos glicéricos menores de las muestras de aceite de Soja sometido a refinación física en el laboratorio.

	Muestra n°1					Muestra n°2				
	Crudo	Decolorado	Refinado			Crudo	Decolorado	Refinado		
			1 h	2 h	3 h			1 h	2 h	3 h
Total (%)	7.1	7.5	8.0	8.2	8.5	7.9	6.8	8.1	8.3	8.6
Dímeros (mg/g)	1.5	1.1	17.7	22.2	29.3	1.0	1.9	16.5	19.0	23.2
Triglicéridos oxidados (mg/g)	37.0	39.2	39.1	36.9	34.7	44.9	37.6	39.9	36.7	36.5
Diglicéridos (mg/g)	15.2	15.7	16.1	16.1	16.8	15.0	14.8	15.2	18.8	19.9
Acidos Grasos (mg/g)	17.0	13.1	7.2	6.7	4.2	18.1	13.7	9.4	8.5	6.4

compuestos de la fracción insaponificable.

Ambas circunstancias, mayor cantidad de diglicéridos y mayor cantidad de ácidos grasos, contribuyen a que la cantidad de compuestos glicerídicos menores sea superior en el caso de refinación física.

### **Compuestos menores de la fracción insaponificable.**

La Tabla XXXIV resume los resultados obtenidos en la cuantificación de los esteroides y tocoferoles presentes en las muestras refinadas físicamente.

Los resultados indican una disminución en las cantidades de ambos grupos de compuestos en todos los casos, aunque las pérdidas son menores que las que tienen lugar en la refinación química. La diferencia fundamental es que los aceites tienen prácticamente la misma composición que los iniciales después de la decoloración y, por tanto, las únicas pérdidas tienen lugar durante el tratamiento térmico a 260°C. La disminución es superior en el caso de los tocoferoles, oscilando entre el 8 y el 25% a las tres horas de tratamiento y correspondiendo la pérdida más elevada a la Muestra nº 1 de aceite de girasol, que se caracteriza por un alto contenido en compuestos de oxidación. Los resultados son más favorables que los encontrados en estudios previos donde se detectan pérdidas de hasta 35% en condiciones similares (Jung y col., 1989). Posiblemente, las diferencias en las cantidades de vapor utilizadas, en la calidad de los aceites iniciales y en el diseño del equipo son las variables que justifican las diferencias entre distintos estudios.

En resumen, los resultados globales obtenidos en la refinación física indican menos pérdidas en el proceso global debido a la eliminación de la etapa de neutralización, donde no sólo es inevitable la pérdida de una pequeña parte de grasa neutra, sino de compuestos glicerídicos menores y de la fracción insaponificable. No obstante, dada la elevada temperatura que es necesaria para la destilación de los ácidos grasos libres, su aplicación puede tener inconvenientes en el caso de los aceites más insaturados debido a la formación de isómeros no polares de los ácidos grasos que modifican las propiedades nutricionales de las grasas (Grandgirard y col., 1989).

Tabla XXXIV.

Cantidad de insaponificable, esteroides y tocoferoles de los aceites sometidos a refinación física en el laboratorio.

		Muestra n°1			Muestra n°2		
		Crudo	Decolorado	Refinado	Crudo	Decolorado	Refinado
Oliva	Insaponificable (%)	1.18	1.11	0.83	1.45	1.38	1.31
	Esteroides (mg/100g)	180	193	163	124	122	116
	Tocoférols (mg/kg)	< 15	< 15	< 15	208	198	176
Girasol	Insaponificable (%)	1.17	1.20	0.99	0.98	0.91	0.79
	Esteroides (mg/100g)	361	352	303	593	541	460
	Tocoférols (mg/kg)	987	841	637	1012	984	878
Soja	Insaponificable (%)	0.78	0.74	0.66	0.88	0.86	0.75
	Esteroides (mg/100g)	436	398	359	365	361	345
	Tocoférols (mg/kg)	1001	915	804	1089	1029	952

### **2.3. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA UTILIZACIÓN DE VAPOR DE AGUA Y NITRÓGENO COMO GASES DE ARRASTRE EN LA FASE DE DESODORIZACIÓN.**

La utilización de gas inerte incondensable como alternativa al vapor de agua durante la desodorización de aceites y grasas, ha sido sugerida desde hace muchos años aunque no ha sido aplicada en la práctica (Bailey, 1961; Vián y Ocón, 1964). Ello se debe, muy posiblemente, a los mayores costos que implicaba la utilización de gas inerte y a la necesidad de modificar el sistema de vacío empleado para conseguir la eliminación del gas incondensable.

Recientemente, sin embargo, se ha propuesto la utilización del nitrógeno en condiciones competitivas (Huesa y Dobarganes, 1990), una vez solucionados los problemas de eliminación completa del gas incondensable mediante la modificación de los eyectores clásicos o mediante bombas de vacío. Las cantidades de nitrógeno que se sugieren son entre 5 y 10 veces menores que las de vapor de agua utilizadas en la práctica normal de las refinerías y entre las ventajas dignas de consideración se citan las siguientes:

a) Eliminación de la contaminación ambiental cuando la evacuación del gas incondensable se realiza mediante bombas de vacío.

- b) Obtención de condensados volátiles no alterados dada la naturaleza inerte del nitrógeno.
- c) Importante ahorro energético y menor consumo de agua.
- d) Disminución de reacciones secundarias de hidrólisis.

El procedimiento es aplicable tanto a la refinación química como física y especialmente recomendado en la desodorización de aceites altamente insaturados donde es necesaria una menor temperatura para mantener sin alteración la estructura glicerídica de la grasa.

En este apartado se realiza un estudio comparativo del uso del vapor de agua y nitrógeno durante la desodorización. El estudio inicial comprende la refinación en sistema de laboratorio de los aceites de oliva, girasol y soja utilizados en el apartado precedente. Posteriormente se realiza una aplicación específica a la refinación física del aceite de oliva, para evaluar no sólo la calidad de los aceites obtenidos sino también la influencia de las variables de mayor interés: cantidad de gas de arrastre y tiempo de desodorización. Finalmente, se analizan los resultados obtenidos en una planta discontinua de 10 Ton en la refinación física de aceite de oliva y en la refinación química de aceites de girasol y soja.

### **2.3.1. Muestras y Tratamientos.**

- a) Aceites de oliva, girasol y soja utilizados en los estudios precedentes.

Las seis muestras de aceites, cuyas características se mostraron en la Tabla XIII, se sometieron a refinación física y química a 260°C utilizando como gas de arrastre nitrógeno. Las condiciones fueron similares a las descritas en el apartado anterior para la desodorización con vapor de agua (3 Torr de presión absoluta y 3 horas de tratamiento) y con un flujo de nitrógeno variable, de 0.2%/h en el caso de las refinaciones químicas y 0.3%/h en el caso de las refinaciones físicas.

Para la realización de las pruebas de laboratorio se utilizó el equipo de laboratorio con el ajuste de un rotámetro (Gilmont Mod.F1200) que regula con precisión de  $\pm 0,5$  mL/min la cantidad de nitrógeno que se introduce en el sistema. Se conecta la válvula del tubo (B) del esquema de la Figura 10 con la válvula micrométrica

del rotámetro. Se utiliza el mismo tubo difusor en ambos casos para no modificar ninguno de los factores de diseño del equipo que pudiera conllevar una variación en los resultados ajena a la naturaleza del gas de arrastre.

b) Cuatro muestras de aceites de oliva de distintos grados de acidez.

Las muestras se someten a refinación física utilizando vapor y nitrógeno en el equipo de desodorización de laboratorio anteriormente descrito. El objetivo que se pretende es profundizar en el estudio de la eficiencia de ambos gases de arrastre en la vaporización de ácidos grasos y justificar, en su caso, las diferencias obtenidas. Se mantiene, en todos los casos, la temperatura de 260°C en la etapa de desodorización neutralizante, detallándose en el apartado de resultados las cantidades de vapor y de nitrógeno utilizada en los diferentes ensayos.

c) Tres muestras de aceites de oliva, girasol y soja cuyas características se detallan en la Tabla XXXV, utilizadas en los ensayos industriales realizados en planta discontinua de 10 Ton de capacidad. El aceite de oliva se somete a refinación física y los aceites de girasol y soja a refinación química, realizando los ensayos por duplicado para los tres aceites. Las condiciones utilizadas se resumen en la Tabla XXXVI. Para mantener la misma relación de reparto que en el caso del vapor de agua, en las entradas de gas se colocaron diafragmas en relación de diámetros 4/5. El equipo de vacío se modificó de forma provisional instalando en paralelo dos eyectores de cola con un condensador barométrico intermedio.

### **2.3.2. Determinaciones específicas.**

La mayor parte de las técnicas analíticas utilizadas para la realización de este estudio fueron descritas en el apartado 2.2.2. Por ello, en este apartado se incluyen sólo las técnicas específicas que han sido necesarias para la comparación de los gases de arrastre.

**Tabla XXXV.**

**Ensayos realizados en planta discontinua: Características generales de los aceites.**

	OLIVA	GIRASOL	SOJA
Acidez (% oleico)	2.30	1.70	1.20
Estabilidad (h)	9.0	3.7	6.7
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	35.2	15.3	30.1
K <sub>270</sub> (1cm 1%)	0.09	0.67	0.44
Insaponificable (%)	1.52	0.94	0.97
Acidos Grasos (%)			
16:0	8.6	7.0	10.9
18:0	2.6	3.8	3.5
18:1	75.2	27.1	24.8
18:2	11.3	61.9	53.5
Otros	2.2	0.2	7.3

**Tabla XXXVI.**

**Ensayos realizados en planta discontinua:  
Acidez inicial de los aceites y parámetros de la etapa de desodorización.**

	<u>OLIVA</u>	<u>GIRASOL</u>	<u>SOJA</u>
Acidez Libre (% oleico)	2.06	0.16	0.25
Kg de aceite	10.000	10.000	10.000
Kg gas/ Ton aceite:			
Vapor	23.75	23.75	23.75
Nitrógeno	5.25*	4.75	4.75
Temperatura (°C)	250	250	250
Presión (Torr)	3.0	2.8	2.0
Tiempo (h)	4.5	4.5	4.5

\* En la primera prueba se utilizaron 4.75 kg gas/ Ton aceite.

### **– Análisis cuantitativo de los destilados obtenidos en la desodorización.**

Se ha utilizado la determinación puesta a punto en el apartado 2.1.2. de esta tesis, que utiliza la cromatografía en capa fina acoplada a la detección mediante ionización de llama.

### **– Determinación cuantitativa de los ácidos grasos libres mediante metilación con diazometano.**

La metilación selectiva de los ácidos grasos libres utilizando diazometano permite cuantificar los ésteres metílicos sin interferencia de los triglicéridos o glicéridos parciales presentes en la muestra. El procedimiento seguido se resume a continuación (Darbre, 1977):

Una corriente de nitrógeno saturada de éter etílico se hace fluir al interior de un tubo que contiene 3 mL de éter etílico, 3 mL de 2-(3-etoxi-etoxi)etanol, 3 mL de KOH 60% y 1 g de N-metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida. El diazometano generado "in situ" es transportado por la corriente de nitrógeno hasta el tubo que contiene la muestra disuelta en éter etílico. La aparición de un color amarillo brillante, debido al exceso de diazometano, indica el punto final de la metilación. Los ésteres metílico se separan y cuantifican mediante cromatografía gaseosa en las mismas condiciones que se describen en el apartado 2.2.2.1.

### **Eficacia de destilación de los ácidos grasos.**

Al margen de las determinaciones analíticas, la comparación de los dos gases de arrastre se realiza mediante el cálculo de la eficacia de ambos en la destilación de los ácidos grasos libres. Se realiza aplicando la ecuación:

$$E = \frac{P_T \times A}{P^0_v \times G} \ln \left[ \frac{V_1}{V_2} \right]$$

donde :

E            Eficiencia de vaporización.

P<sub>T</sub>          Presión total en el sistema.

$P_v^0$	Presión Parcial de ácido oleico.
A	Moles de aceite.
G	Moles de gas de arrastre.
$V_1$	Acidez libre inicial (% en ácido oleico).
$V_2$	Acidez libre final (% en ácido oleico).

Para la obtención de resultados reproducibles es necesario, además de un control riguroso durante la experiencia de la temperatura, la presión y la cantidad de gas de arrastre utilizado, una cuantificación exacta y precisa de los componentes volátiles que se eliminan por destilación. Por ello, la ecuación se ha aplicado a la variación del contenido de ácidos grasos libres que son los componentes mayoritarios cuando se realizan ensayos de refinación física. El resto de los componentes volátiles no se pueden evaluar cuantitativamente con precisión dada su variedad y baja concentración en el aceite, por lo cual no se presentan resultados de eficacia en los ensayos de refinación química.

### **2.3.3. Resultados y discusión.**

#### **2.3.3.1. Ensayos en sistemas de laboratorio.**

##### **a) Refinación de aceites de oliva, girasol y soja.**

En las Tablas XXXVII a XLI se recogen las características generales de los compuestos menores glicerídicos y de la fracción insaponificable para todas las muestras sometidas a refinación química y física utilizando nitrógeno como gas de arrastre.

En todos los casos se obtienen aceites bien refinados desde el punto de vista organoléptico, aunque en general el valor de acidez libre al final del tratamiento se encuentra por encima del 0,1% establecido como límite en la práctica normal de las refinerías.

Tabla XXXVII.

Características de las Muestras de aceite de Oliva, Girasol y Soja sometidas a refinación química.

	Oliva		Girasol		Soja	
	Muestra n°1	Muestra n°2	Muestra n°1	Muestra n°2	Muestra n°1	Muestra n°2
Acidez (% ácido oléico)	0.14	0.21	0.16	0.23	0.24	0.21
Estabilidad (h)	18.3	33.0	4.0	7.3	9.4	8.3
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	5.6	2.0	17.4	0.9	0.8	0.2
Color	8/0	5/0	10/1.6	9/0.5	30/2.7	10/1.8
K <sub>270</sub> (1%, 1cm)	0.62		1.81	1.22	1.34	1.07
Insaponificable (%)	0.86	1.24	0.97	0.87	0.63	0.62
Esteroles (mg/100g)	107	106	305	551	183	284
Tocoferoles (mg/Kg)	15	120	721	817	932	831

\*.- Unidades Lovibond (Amarillas/Rojas)

Tabla XXXVIII.

Características de las muestras de aceite de Oliva, Girasol y Soja sometidas a refinación física.

	Oliva		Girasol		Soja	
	Muestra n°1	Muestra n°2	Muestra n°1	Muestra n°2	Muestra n°1	Muestra n°2
Acidez (% ácido oleico)	0.08	0.10	0.20	0.12	0.07	0.07
Estabilidad (h)	15.4	19.5	3.2	7.0	7.3	10.1
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	9.5	2.2	9.8	3.4	2.3	1.2
Color*	10/1.6	10/0.6	30/3.1	20/0.6	10/1.0	10/1.9
K <sub>270</sub> (1%,1cm)	0.73	0.19	8.27	1.05	1.53	1.55
Insaponificable (%)	0.78	0.91	0.94	0.78	0.59	0.83
Esteroles (mg/100g)	175	142	328	388	251	322
Tocoferoles (mg/Kg)	< 15	212	503	774	700	727

\*.- Unidades Lovibond (Amarillas/Rojas)

**Tabla XXXIX.**  
**Compuestos menores glicerídicos de las muestras de aceite de Oliva**

	Muestra n°1		Muestra n°2	
	Química	Física	Química	Física
Total (%)	8.9	9.3	3.3	3.7
Dímeros (mg/g)	27.2	17.6	4.4	5.9
Triglicéridos oxidados (mg/g)	15.7	17.0	5.3	5.7
Diglicéridos (mg/g)	42.3	57.7	19.4	21.8
Acidos Grasos (mg/g)	3.6	3.7	3.9	3.6

**Tabla XL****Compuestos menores glicéricos de las muestras de aceite de Girasol.**

	Muestra n°1		Muestra n°2	
	Química	Física	Química	Física
Total (%)	15.9	14.0	7.8	6.6
Dímeros (mg/g)	43.6	47.8	27.8	21.9
Triglicéridos oxidados (mg/g)	94.8	78.9	32.4	28.5
Diglicéridos (mg/g)	13.7	18.9	11.6	10.1
Acidos Grasos (mg/g)	6.8	4.4	6.2	5.4

**Tabla XLI.**  
**Compuestos menores glicerídicos de las muestras de aceite de Soja.**

	Muestra n°1		Muestra n°2	
	Química	Física	Química	Física
Total (%)	7.5	7.3	7.1	7.6
Dímeros (mg/g)	22.7	20.9	14.9	15.4
Triglicéridos oxidados (mg/g)	36.8	28.2	38.7	37.6
Diglicéridos (mg/g)	12.6	19.4	13.4	18.6
Acidos Grasos (mg/g)	4.9	4.5	3.9	4.4

Los resultados generales son muy similares a los obtenidos en el caso de la refinación con vapor de agua, tanto en las modificaciones que experimentan los índices químicos como los compuestos glicerídicos menores, reproduciéndose el mismo esquema en lo que se refiere a diferencias entre refinación física y química. La discusión de los resultados efectuadas en el apartado precedente, es por tanto aplicable a los aquí obtenidos. Existen, sin embargo, ciertas diferencias que merecen ser destacadas:

1) Los valores más elevados de acidez libre obtenidos en los aceites refinados indican la necesidad de aumentar la cantidad de nitrógeno inyectado para favorecer la destilación de los ácidos grasos o, lo que es lo mismo, que el gas de arrastre se encuentra en defecto.

2) Se obtienen igualmente valores más elevados para la fracción insaponificable así como para los dos grupos cuantificados de la citada fracción, esteroides y tocoferoles. El hecho se atribuye igualmente a la menor cantidad de nitrógeno inyectado que tiene como consecuencia un efecto positivo, dado el interés en mantener estos compuestos en el aceite. No obstante, sólo en el caso del aceite de oliva se encontraron valores significativamente más elevados.

Con respecto a los resultados obtenidos para los compuestos glicerídicos menores de las muestras, en comparación con las que se obtienen utilizando vapor de agua, la cantidad total de estos compuestos resulta ligeramente superior en las muestras de aceite de oliva, mientras que en las restantes muestras son prácticamente iguales.

#### **b) Refinación Física de aceite de oliva.**

En la comparación de ambos gases, destacan, por encima de cualquier consideración de tipo analítico, los valores de eficacia de destilación obtenidos en el caso de la refinación física de las muestras. Estos valores se recogen en la Tabla XLII.

Al margen de la naturaleza de los gases, posible origen de sus distintos comportamientos, existen dos causas a las que pueden ser atribuidos los resultados obtenidos:

1) En los ensayos sobre aceites de oliva, girasol y soja se han inyectado distintas cantidades de nitrógeno y de vapor de agua. La acidez libre final resultante en

los ensayos con nitrógeno indican que se ha utilizado en defecto sobre la cantidad necesaria. Pudiera haber ocurrido que el vapor de agua estuviera en exceso sobre el necesario para eliminar la acidez libre y que un incremento en la cantidad inyectada no sea capaz de producir una diferencia apreciable en la acidez residual. Ello ocasionaría, de acuerdo con la fórmula de cálculo de la eficacia, una disminución aparente apreciable de la misma.

2) También sería factible que el vapor de agua originara productos de hidrólisis en cantidades significativas, suficiente para provocar una disminución de la eficacia por la necesidad de destilar, en igualdad de condiciones, una mayor cantidad de ácidos grasos. En efecto, la determinación de la eficacia de vaporización considera las cantidades iniciales y finales de ácidos grasos libres en el aceite, aunque los que han sido destilados de forma efectiva son la suma algebraica de los iniciales, los formados durante el propio proceso y los que permanecen en el aceite al final de la destilación.

Los ensayos de refinación física con aceite de oliva que se presentan a continuación, tienen como objetivo fundamental profundizar en las causas que originan diferencias tan acusadas en la eficacia de destilación entre el vapor y el nitrógeno, puestas de manifiesto en los ensayos previos.

Los estudios básicos se han realizado partiendo de un aceite de oliva refinado al que se ha añadido ácido esteárico en un 2%. Estos ensayos incluyen:

1.- Ensayos de refinación física en igualdad de cantidades molares de vapor y de nitrógeno. Se han seleccionado para ello cantidades de nitrógeno superiores a las establecidas en los estudios previos y cantidades de vapor inferiores a las utilizadas normalmente con vapor. La obtención de menores diferencias en los valores de eficacia, respecto a los obtenidos previamente, sugerirían que la primera causa indicada, el exceso de vapor de agua, habría contribuido a obtener un valor más bajo.

2.- Ensayos de refinación física inyectando iguales cantidades molares de vapor y de nitrógeno en diferentes períodos de tiempo. Puesto que los valores de eficacia son independientes del tiempo, la disminución de la eficacia con esta última variable indicaría la formación de ácidos grasos libres durante la desodorización.

**Tabla XLII.****Eficacias de destilación de los ácidos grasos obtenidas en la refinación física en laboratorio.**

Aceite		Acidez Inicial (% oleico)	Vapor		Nitrógeno	
			Acidez Final (% oleico)	Eficacia (%)	Acidez Final (% oleico)	Eficacia (%)
Oliva	Muestra n°1	6.45	0.04	15.1	0.08	135.3
	Muestra n°2	1.01	0.05	8.8	0.10	71.3
Girasol	Muestra n°1	1.46	0.17	6.5	0.20	61.3
	Muestra n°2	0.76	0.06	7.5	0.12	56.9
Soja	Muestra n°1	0.81	0.14	5.2	0.07	75.5
	Muestra n°2	1.32	0.11	7.3	0.07	90.5

Condiciones de operación: Presión, 3 Torr; Temperatura, 260°C; Tiempo, 3 horas; Flujo de vapor, 2 %/h; Flujo de nitrógeno, 0.3%/h.

Paralelamente, se ha completado el estudio con el análisis directo de la posible formación de ácidos grasos libres. Cuando se trata el aceite con vapor de agua, la formación de ácidos grasos se atribuye a reacciones de tipo hidrolítico (Szabo, 1959), siendo favorecida por la presencia de acidez libre en el medio, produciéndose además reacciones de interesterificación (Gracián y Mancha, 1979; Amelotti, 1987). Por ello, se ha prestado especial atención a la cuantificación de ácidos grasos libres, tanto en los aceites, como en los condensados obtenidos.

La Tabla XLIII muestra la acidez y composición en ácidos grasos del aceite refinado utilizado en estas experiencias, antes y después de la adición de ácido esteárico. El aceite final es sometido a distintos ensayos, utilizando 700 g de muestra, con una temperatura de 260°C, durante media, una y dos horas, bajo una presión absoluta en el sistema de 2 Torr. En cada ensayo se inyecta un mol de gas de arrastre, es decir, 18 g de agua y 28 g de nitrógeno. Los condensados volátiles obtenidos se recogen cuidadosamente, lavando las trampas con éter etílico que contiene una concentración conocida de ácido heptadecanoico. La acidez final y valores de eficacia en los ensayos comparativos se resumen en la Tabla XLIV.

Los resultados indican que, a pesar de que se invierte la situación de ambos gases de arrastre con respecto a las experiencias previas, los valores de eficacia de destilación de los ácidos grasos siguen siendo superiores en el caso del nitrógeno, aunque los valores de acidez final indican un exceso del mismo. Los valores obtenidos demuestran claramente que el exceso de vapor no es la causa que explique los distintos valores de eficacia obtenidos en el estudio. Puede comprobarse igualmente que los valores de eficacia disminuyen con el tiempo de desodorización, sobre todo cuando se utiliza el gas de arrastre en defecto sobre la cantidad necesaria para la disminución de los ácidos grasos libres por debajo del 0,1%, lo que sería congruente con un mayor desarrollo de las reacciones de hidrólisis.

Se ha realizado un ensayo paralelo en las mismas condiciones pero sin la adición de ácido esteárico, para simular la situación que se produciría en el caso de una refinación química.

**Tabla XLIII.**  
**Características los aceites de oliva refinados antes y después de la adición de ácido esteárico.**

	Inicial	+ C <sub>18:0</sub>
Acidez Libre (% oleico)	0.07	2.15
Ácidos Grasos (%)		
16:0	12.1	11.8
16:1	1.6	1.4
18:0	3.4	5.4
18:1	77.5	75.9
18:2	5.0	5.3
Otros	0.4	0.3

**Tabla XLIV.**  
**Acidez final y eficacia de destilación de los ácidos grasos en la refinación física del aceite de oliva desodorizado al que se ha añadido ácido esteárico.**

Tiempo (h)	Vapor			Nitrógeno		
	Moles de gas	Acidez Final	Eficacia	Moles de gas	Acidez Final	Eficacia
0.5	1	0.20	11.0	1	0.03	19.8
1	1	0.29	9.3	1	0.04	18.4
2	1	0.34	8.5	1	0.04	18.4

Condiciones de operación: 700 g de aceite; Temperatura 260°C (Pv = 35 Torr); Presión = 2 Torr.

La Tabla XLV resume el balance de materia correspondiente a los ácidos grasos cuantificados en el aceite inicial y final en los destilados. Como puede observarse, en ambos casos tiene lugar la formación de ácidos grasos libres, tanto con nitrógeno como con vapor, siendo en este último caso donde se presentan los valores superiores. La sorprendente formación de ácidos grasos libres en presencia de nitrógeno se justifica por la elevada temperatura utilizada (260°C), ya que en estas condiciones es posible el desarrollo de reacciones termolíticas (Nawar, 1985).

La mayor diferencia en la formación de ácidos grasos se encuentra, sin embargo, cuando se comparan los dos métodos de refinación, físico y químico. La presencia de acidez libre en el medio favorece la formación de este tipo de compuestos, como ya se había puesto de manifiesto por otros autores (Gracián y Mancha, 1971), sin embargo, la extensión en que se produce depende del gas de arrastre utilizado en la desodorización, como demuestran los resultados obtenidos.

Los estudios realizados permiten acotar las cantidades de gas de arrastre máximas y mínimas para una eliminación eficaz de los ácidos grasos libres. De las experiencias realizadas con los aceites de oliva, girasol y soja se deducía que un 6 % (2 %/h) de vapor de agua era excesivo, mientras un 0,9 % (0,3 %/h) de nitrógeno era insuficiente para conseguir el objetivo de disminuir la acidez por debajo del 0,1%. Los ensayos realizados con aceite de oliva refinado indican, por el contrario que un 4% de nitrógeno es una cantidad muy elevada, mientras un 2,6% de agua es claramente insuficiente.

La Tabla XLVI resume los resultados de los ensayos realizados con tres aceites de oliva de distinta acidez, utilizando cantidades variables de vapor y de nitrógeno entre los límites previamente definidos. En las muestras 1 y 2, se obtienen valores de acidez final dentro de los límites establecidos tanto para el nitrógeno como para el vapor, aunque este último está en ambos casos en exceso, como indica el valor obtenido para la tercera muestra, donde, por otra parte, se corrobora que un 0,9% de nitrógeno resulta insuficiente para alcanzar los límites de acidez exigidos, aún consiguiendo que el resto de los parámetros evaluados se mantengan en valores aceptables.

**Tabla XLV.**  
**Formación de ácidos grasos libres durante la**  
**desodorización de aceite de oliva.**

Acidos Grasos Libres	Iniciales	Finales			Formados
		Aceite	Destilados	Total	
<b>Aceite Refinado</b>					
Vapor	<b>0.07</b>	0.06	0.26	<b>0.32</b>	<b>0.25</b>
Nitrógeno	<b>0.07</b>	0.03	0.21	<b>0.24</b>	<b>0.17</b>
<b>Aceite Refinado + ácido esteárico.</b>					
Vapor	<b>2.15</b>	0.34	2.97	<b>3.31</b>	<b>1.16</b>
Nitrógeno	<b>2.15</b>	0.04	2.67	<b>2.68</b>	<b>0.53</b>

Condiciones de operación: 260°C, 2 horas, 1 mol de gas de arrastre.

Tabla XLVI.

Características de las muestras de aceite de Oliva sometido a refinación física en el laboratorio.

	Muestra n°1			Muestra n°2			Muestra n°3		
	Inicial	Vapor	Nitrógeno	Inicial	Vapor	Nitrógeno	Inicial	Vapor	Nitrógeno
Acidez (% oleico)	3.52	0.04	0.08	1.60	0.04	0.07	1.01	0.07	0.12
Estabilidad (h)	8.3	9.7	9.0	8.1	13.1	15.6	10.5	14.4	20.5
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	30	0.8	0.5	4.9	0.5	0.7	17.6	0.2	0.6
K <sub>270</sub> (1%, 1cm)	0.38	0.74	0.73	0.35	0.41	0.52	0.74	0.35	0.39
Insaponificable (%)	0.98	0.83	0.78	1.01	1.11	0.91	0.83	0.58	0.63
Flujo de gas (%/h)		1.8	0.5		1.5	0.5		1.2	0.3
Eficacia (%)		9.9	46.7		9.7	38.6		8.8	43.8

### **2.3.3.2. Ensayos en planta industrial.**

Los estudios en sistemas de laboratorio se completaron con pruebas realizadas a nivel industrial en un desodorizador discontinuo de 10 Ton de carga útil, realizando los ensayos sobre aceites de oliva, girasol y soja. Las características iniciales de los aceites y las condiciones de operación se detallaron en el apartado 2.3.1.

En las Tablas XLVIII a L se resumen los resultados obtenidos para los tres aceites, que incluyen la evaluación de las características generales y la cuantificación de componentes menores glicerídicos y del insaponificable. En el caso del aceite de oliva, sometido a refinación física, se ha incluido en la tabla correspondiente a las características generales, una última fila que muestra los valores de eficacia de la vaporización de los ácidos grasos en las cuatro pruebas realizadas.

En general, los resultados obtenidos no permiten apreciar la influencia del gas de arrastre en la calidad de los aceites, ya que se obtienen valores paralelos independientemente del tipo de refinación y del grado de insaturación de aceite. Incluso, desde el punto de vista sensorial, expertos en la evaluación de aceites refinados no encontraron diferencias entre los aceites procesados con vapor y con nitrógeno.

La principal diferencia en los resultados analíticos se encuentra en los valores obtenidos para la fracción insaponificable, que ya se observaron en el laboratorio, y que se atribuyen a las diferencias en las cantidades de gas utilizadas.

En el caso de la refinación física del aceite de oliva se aprecia, sin embargo, un resultado anómalo en lo que respecta a la cantidad de tocoferoles, ya que sufre una importante disminución con respecto a la que presentaba el aceite decolorado, tanto en las pruebas realizadas con vapor como con nitrógeno. Este hecho no puede ser atribuido al elevado tiempo de desodorización (4,5 horas) ya que en las refinaciones químicas,

**Tabla XLVIII.-** Ensayos realizados en planta discontinua: Comparación del uso del vapor de agua y del nitrógeno como gases de arrastre en la refinación física de aceite de oliva.

			Vapor		Nitrógeno	
	Crudo	Decolorado	Prueba n°1	Prueba n°2	Prueba n°1	Prueba n°2
Acidez (% oleico)	2.30	2.06	0.04	0.04	0.12	0.08
Estabilidad (h)	9.0	8.1	12.0	9.8	11.0	7.42
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	35.2	4.9	1.1	1.7	1.2	1.0
K <sub>270</sub> (1%, 1cm)	0.09	0.56	0.36	0.35	0.35	0.35
Insaponificable (%)	1.52	1.38	0.94	0.85	1.17	1.13
Esteroles (mg/100g)	176	158	133	122	147	139
Tocoferoles (mg/kg)	151	94	26	30	29	28
Eficacia (%)			29.6	29.6	166.1	152.0

			Vapor		Nitrógeno	
	Crudo	Decolorado	Prueba n°1	Prueba n°2	Prueba n°1	Prueba n°2
Total (%)	7.3	7.3	4.6	4.5	4.3	4.2
Dímeros (mg/g)	1.9	1.7	3.1	3.0	2.9	3.1
Triglicéridos oxidados (mg/g)	11.9	12.8	5.6	5.5	4.3	4.8
Diglicéridos (mg/g)	33.5	33.3	32.6	31.4	29.8	27.9
Acidos Grasos (mg/g)	25.7	25.2	4.7	5.1	6.0	5.7

**Tabla XLIX.-** Ensayos realizados en planta discontinua: Comparación del uso del vapor de agua y del nitrógeno como gases de arrastre en la refinación química de aceite de girasol.

			Vapor		Nitrógeno	
	Crudo	Decolorado	Prueba n°1	Prueba n°2	Prueba n°1	Prueba n°2
Acidez (% oleico)	1.70	0.16	0.04	0.04	0.07	0.05
Estabilidad (h)	3.7	3.1	3.6	3.9	3.53	3.9
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	12.8	7.3	2.0	1.7	2.3	1.9
K <sub>270</sub> (1%, 1cm)	0.67	7.50	6.04	5.02	5.05	4.98
Insaponificable (%)	0.94	0.82	0.72	0.82	0.91	0.83
Esteroles (mg/100g)	345	254	238	243	250	256
Tocoferoles (mg/kg)	593	572	385	477	566	497

			Vapor		Nitrógeno	
	Crudo	Decolorado	Prueba n°1	Prueba n°2	Prueba n°1	Prueba n°2
Total (%)	6.4	4.7	5.6	5.6	5.6	5.5
Dímeros (mg/g)	0.5	5.6	14.1	13.7	15.9	16.6
Triglicéridos oxidados (mg/g)	33.8	24.1	24.1	25.1	23.1	23.0
Diglicéridos (mg/g)	13.5	11.3	15.1	14.3	12.0	12.6
Acidos Grasos (mg/g)	16.2	6.0	2.7	2.8	4.9	2.7

**Tabla L.-** Ensayos realizados en planta discontinua: Comparación del uso del vapor de agua y del nitrógeno como gases de arrastre en la refinación química de aceite de soja.

			Vapor		Nitrógeno	
	Crudo	Decolorado	Prueba n°1	Prueba n°2	Prueba n°1	Prueba n°2
Acidez (% oleico)	1.20	0.25	0.07	0.06	0.05	0.09
Estabilidad (h)	6.7	6.2	6.4	6.0	6.9	5.7
I. Peróxidos (meq O <sub>2</sub> /kg)	30.1	2.8	1.2	1.6	1.0	1.3
K <sub>270</sub> (1%, 1cm)	0.44	2.94	1.83	1.87	1.86	2.00
Insaponificable (%)	0.97	0.99	0.62	0.69	0.78	0.74
Esteroles (mg/100g)	348	278	257	238	258	262
Tocoferoles (mg/kg)	761	579	433	404	570	523

			Vapor		Nitrógeno	
	Crudo	Decolorado	Prueba n°1	Prueba n°2	Prueba n°1	Prueba n°2
Total (%)	6.6	5.5	6.0	6.0	6.6	6.1
Dímeros (mg/g)	2.4	3.3	11.8	12.6	15.0	13.6
Triglicéridos oxidados (mg/g)	30.3	25.1	22.8	22.1	25.1	23.1
Diglicéridos (mg/g)	19.3	20.5	22.8	21.9	21.6	20.3
Acidos Grasos (mg/g)	13.6	6.1	3.5	3.3	4.2	4.0

se obtienen resultados muy similares a los que se encuentran en las pruebas de laboratorio; es decir, menores pérdidas cuando disminuye la cantidad de gas de arrastre.

Es interesante, sin embargo, destacar ciertos resultados específicos de la refinación a nivel industrial si se comparan con los obtenidos en el laboratorio. Por una parte, dado que en la planta se trabaja con vapor de agua, se establecieron para estas pruebas las condiciones usuales de trabajo e inicialmente para el nitrógeno se estableció la quinta parte de la cantidad de vapor. Los resultados de la primera experiencia con aceite de oliva indican que esta cantidad en el caso de la refinación física con nitrógeno, no era suficiente para disminuir la acidez libre del aceite por debajo de 0,1%. Un incremento del 10% en la cantidad de nitrógeno inyectado consigue reducir la acidez a niveles similares a los obtenidos con vapor. Ello indicaría que la cantidad mínima para obtener aceites bien desacidificados es del orden del 0,5% en la planta utilizada para las experiencias, cantidad sensiblemente menor que la necesaria para obtener el mismo objetivo en las pruebas realizadas en el laboratorio.

Por otra parte, los valores de eficacia de destilación de los ácidos grasos son muy superiores a los obtenidos en el laboratorio, tanto cuando se utiliza vapor de agua, como nitrógeno. En el caso del vapor de agua, los resultados de acidez libre indican, además, que el gas de arrastre se utiliza en exceso.

Al margen de la similar calidad de los aceites obtenidos, desde las primeras experiencias se observó una notable diferencia en los volátiles condensados o destilados obtenidos en las desodorizaciones. Estas diferencias afectaban no sólo a la calidad total sino también a las características físicas de los mismos. La mayor cantidad de destilados obtenidos en las experiencias realizadas con vapor de agua, significaría una ventaja relativa del nitrógeno, que originaría menos mermas.

Aunque no ha sido posible realizar una cuantificación exacta de los destilados producidos en cada una de las pruebas, un análisis de la composición de los mismos permite obtener conclusiones claras.

La Tabla LI resume los resultados de la evaluación de los destilados obtenidos en todos los ensayos. La parte superior de la Tabla corresponde a las determinaciones cuantitativas obtenidas mediante cromatografía en capa fina acoplada a un detector de ionización de llama.

Los picos minoritarios o no resueltos se han incluido en la columna "Otros" e incluyen entre otros: tocoferoles, monoglicéridos y diglicéridos. Las determinaciones se han realizado por triplicado y los resultados que se muestran incluyen la aplicación de los factores de respuesta correspondientes como se indicó en el apartado 2.2.3.. En las dos últimas filas de la tabla se detallan los valores de acidez e insaponificable obtenidos aplicando las determinaciones clásicas normalizadas (Normas UNE 55-004 y UNE 55-011).

Desde el punto de vista cualitativo se aprecia, en primer lugar, una diferencia acusada entre los destilados procedentes de refinación física de aceite de oliva y los procedentes de refinación química de aceite de girasol y de soja. La diferencia afecta fundamentalmente a la relación Ácidos Grasos/Triglicéridos mucho más elevada en el caso de la refinación física.

Con respecto a la influencia del gas utilizado en la desodorización se observa que la cantidad de grasa neutra es muy inferior cuando se utiliza nitrógeno. Dado que los triglicéridos obtenidos en los destilados se deben a la existencia de arrastre de pequeñas gotas de grasa, las diferencias encontradas se atribuyen a las distintas cantidades de gas inyectado.

Como puede observarse, las cantidades de ácidos grasos encontradas son muy similares a los valores de acidez de las muestras, como ya sucedió en las muestras de destilados obtenidas en el laboratorio. Cuando se trabaja con nitrógeno, los valores de acidez de las muestras son más altos. Por otra parte, la suma de porcentajes de hidrocarburos y esteroides -ambos grupos de compuestos incluidos en la fracción insaponificable -es inferior al tanto por ciento encontrado para la citada fracción utilizando el método normalizado.

Cabe destacar que el porcentaje de destilados recuperados cuando se trabaja con nitrógeno es mayor que el recuperado en caso de utilizar vapor de agua, ya que naturaleza de este último y la cantidad en que se inyecta provoca un mayor arrastre de materia hacia las balsas donde descargan los condensadores del sistema de vacío. Por tanto, se podrían eliminar compuestos de interés, que además pueden sufrir modificaciones (Nogala\_Kalucka y col., 1993).

**Tabla LI.-** Determinación cuantitativa de los destilados obtenidos en la desodorización de aceites de oliva, girasol y soja.

	OLIVA				GIRASOL				SOJA			
	VAPOR		NITRÓGENO		VAPOR		NITRÓGENO		VAPOR		NITRÓGENO	
	nº1	nº2	nº1	nº2	nº1	nº2	nº1	nº2	nº1	nº2	nº1	nº2
Hidrocarburos (%)	15.3	14.2	12.2	10.0	5.2	10.3	11.6	13.9	5.8	4.1	12.3	9.3
Ácidos Grasos (%)	70.7	63.6	76.0	79.4	35.0	25.3	45.6	44.9	34.2	29.6	54.1	55.1
Triglicéridos (%)	4.1	10.7	1.6	1.0	42.7	48.0	16.3	21.0	40.7	44.3	9.7	14.6
Esteroles (%)	0.6	0.6	0.5	0.3	4.1	2.3	7.0	5.8	6.7	6.3	5.8	7.5
Otros (%)	9.3	10.9	9.7	9.3	13.0	14.1	19.5	14.4	12.6	15.7	16.4	28.1
Acidez (%)	71.6	64.3	79.6	80.4	34.3	27.6	47.6	46.7	36.1	30.4	57.4	59.9
Insaponificable (%)	16.8	15.0	12.6	11.7	15.8	15.8	23.0	21.5	14.2	10.7	21.5	16.2

### **3. RESUMEN Y CONCLUSIONES.**

1.- Se desarrollan dos métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los aceites refinados y de los condensados volátiles obtenidos en la etapa de desodorización del proceso de refinación de aceites comestibles. Las principales ventajas de las metodologías puestas a punto se resumen a continuación:

a) La determinación de compuestos menores glicerídicos mediante combinación de técnicas cromatográficas de adsorción y exclusión permite cuantificar cuatro grupos de compuestos: dímeros de triglicéridos, triglicéridos oxidados, diglicéridos y ácidos grasos.

El método es fácilmente aplicable a la evaluación de aceites crudos y refinados y permite conseguir los siguientes objetivos:

- Evaluar el grado de oxidación global de las muestras a partir de la concentración de triglicéridos oxidados.
- Conocer la alteración hidrolítica a partir de la cuantificación de los diglicéridos.
- Obtener a partir de la cantidad total de compuestos polares una estimación directa de la calidad del aceite crudo o refinado.
- Deducir, a partir del aceite refinado, la calidad del aceite crudo y viceversa.

b) El análisis de los destilados obtenidos en la etapa de desodorización mediante cromatografía en capa fina acoplada a detector de ionización de llamas, permite cuantificar los grupos de compuestos mayoritarios: ácidos grasos, triglicéridos, hidrocarburos y esteroides.

El método es de gran utilidad para conocer de forma rápida y precisa el valor de los destilados y decidir su posterior utilización, así como detectar si existe un desarrollo correcto o anormal del proceso de desodorización.

2.- Se realiza un estudio sistemático de los cambios que se originan durante el proceso de refinación en las características físico-químicas de los aceites, en los compuestos en los compuestos menores glicerídicos y en los principales grupos de compuestos de la fracción insaponificable: esteroides y tocoferoles.

Para ello, se evalúan los aceites después de cada etapa del proceso, profundizando específicamente en la influencia de las variables de mayor importancia en la desodorización (temperatura y tiempo), así como en las diferencias entre el proceso de refinación físico y químico.

De la evaluación global de los resultados destacan las siguientes conclusiones:

- a) El análisis de los características físicas y químicas demuestran en todos los casos un correcto desarrollo del proceso de refinación.
- b) La mayor disminución de componentes menores tiene lugar durante la etapa de neutralización y afecta no sólo a los ácidos grasos libres, sino también a cantidades significativas de tocoferoles y esteroides.
- c) Durante la etapa de desodorización aumenta significativamente la cantidad de triglicéridos dímeros. La velocidad de formación depende de la temperatura, tiempo de tratamiento, grado de insaturación del aceite y calidad del aceite crudo. Por otra parte, la disminución de los componentes del insaponificable en esta fase sólo es detectable a la temperatura más elevada (260°C).
- d) Los triglicéridos oxidados y diglicéridos no experimentan cambios apreciables a lo largo del proceso, lo que permite establecer una relación clara entre el aceite crudo y el obtenido después de las distintas etapas.
- e) El proceso de refinación física origina inferiores pérdidas globales de componentes menores debido a la supresión de la etapa de neutralización.

3.- Se realiza un estudio comparativo de la utilización del vapor de agua y nitrógeno como gases de arrastre durante la etapa de desodorización. De los ensayos realizados, tanto en sistema de laboratorio como en planta industrial discontinua, se deducen las siguientes conclusiones generales:

- a) La eficacia de la vaporización de los ácidos grasos libres es mayor cuando se utiliza nitrógeno como gas de arrastre, en parte debido a la menor formación de ácidos grasos libres durante el tiempo de tratamiento.
- b) La calidad de los aceites obtenidos es similar utilizando cantidades de nitrógeno entre tres y cinco veces inferiores a los de vapor.
- c) La utilización de nitrógeno tiene como consecuencia un significativo menor arrastre de grasa neutra en los condensados volátiles y un mayor porcentaje de recuperación de los compuestos de mayor valor añadido.

## **4. BIBLIOGRAFÍA.**

- Ackman, R.G., S.N. Hooper y D.L. Hooper (1974).- J. Am. Oil Chem. Soc., **51**: 42
- Alexander, J.C. (1978).- J. Am. Oil Chem. Soc., **55**:711.
- Artman N.R. y J.C. Alexander (1968).- J. Am. Oil Chem. Soc., **45**: 643.
- Athanassiadis, A. (1991).- Rev. Franç. Corps Gras, **38**: 305.
- Bailey A.E. (1961).- en "Aceites y Grasas Industriales 2ª Ed.", Ed. Reverte S.A., Barcelona.
- Balazs, I.L. (1987).- J. Am. Oil Chem. Soc., **64**:1126.
- Bernardini, E. (1981).- "Tecnología de Aceites y Grasas" Ed. Alhambra
- Bogdanor, J. M., F. Griselli y F. Foschi (1989).- Riv. Ital. Sostanze Grasse, **66**:7.
- Boki, K., M. Kubo, T. Wada y T. Tamura (1992).- J. Am. Oil Chem. Soc., **69**: 232
- Brat, J. y J. Zajíc (1992).- Fat. Sci. Technol., **94**: 273
- Butterworth, E. R. (1978).- J. Am. Oil Chem. Soc., **55**: 781
- Carlson, K. y A. Rubini (1987).- Riv. Ital. Sostanze Grasse, **64**: 481.
- Carr, R. (1978).- J. Am. Oil Chem. Soc., **55**: 765.
- Chan, W..S. y G. Levett (1977).- Lipids, **12**: 99.
- Cowan, J.C. (1976).- J. Am. Oil Chem. Soc., **53**: 334
- Cowan, J.C. (1962).- J. Am. Oil Chem. Soc., **39**: 534

- Damy-Zarambaud, A. y A. Grandgirard (1981).- *Reprod. Nut. Develop*, **121**: 1563
- Darbre, A. (1977).- en "*Handbook of Derivatives for Chromatography*", ed. K. Blaud y G. King, p.39
- Daun, J.K. y L.D. Burch (1986).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**: 1117
- Denise, J. (1983) en "*Le raffinage des Corps Gras*" Ed. Westhoek - Editions, Dunkerque
- Dijkstra A.J. y M. van Opstal (1989).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**: 1002
- Dobarganes M.C. y M.C. Pérez Camino (1988).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**: 101
- Dobarganes, M.C., M.C. Pérez-Camino y G. Márquez-Ruiz (1988).- *Fat Sci. Technol.*, **90**: 308
- Dudrow, F. A. (1983).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**: 272
- Eder, S.R. (1982).- *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **84**: 136
- Eicke, A. (1985).- *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **87**: 355
- Erickson, D.E. y L. Wiederman (1991).- *Inform*, **2**: 200
- Farhan, F. M. y H. Rahmati (1988).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**: 1961
- Faur, L. (1989).- *Rev. Franç. Corps Gras*, **36**: 293
- Fedeli, E. , F. Camurati, N. Cortesi, G. Favini, V. Verri y G. Jacini (1971).- *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **48**: 481

Forss, D. A. (1972).- en "Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids" Ed. R.T. Holman, Pergamon Press, Oxford, **13**: 177

Foster, A. y A. J. Harper (1983).- J. Am. Oil Chem. Soc., **60**: 265

Frankel, E.N. (1982).- Prog. Lipid Res., **22**: 1-33

Frankel, E.N. (1985).- en "Flavor Chemistry of Fats and Oils" Ed. D.B. Min y T. H. Smouse, Am. Oil Chem. Soc., 1-37.

Frankel, E.N. (1988).- en "Oxygen Radicals in Biology and Medicine" Ed. M.G. Simic, K.A. Taylor, J.F. Ward y C. Sonntag, Plenum Press, Nueva York, 265-282.

Frankel, E.N. (1991).- J. Sci. Food Agric., **54**: 495-411.

Garrido, J., B. Gandul, L. Gallardo y M.I. Mínguez (1990).- Grasas y Aceites, **41**: 404.

Gavin, A.M. (1981).- J. Am. Oil Chem. Soc., **53**: 175

Goebel, E.H. (1981).- J. Am. Oil Chem. Soc., **53**: 199

Goss G.R., D.D. Brooks, S.K. Brophy y B.L. Hayden (1989).- A.O.C.S. Meeting Chicago

Gottenbos, J.J. (1983).- en "Dietary Fats and Health" Ed. E.G. Perkins y W.J. Visek, A.O.C.S., Champaign, Illinois, 375-

Graciani, E., F.Rodríguez-Berbel, A. Paredes y J. Huesa (1991).- Grasas y Aceites, **42**: 286

Grandgirard, A., J.L. Sebedio y J. Fleury (1984).- J. Am. Oil Chem. Soc., **61**: 1563

Grandgirard, A., A. Piconneaux, J.L. Sebedio, S.F. O'Keefe, E. Semon y J.L. Le Quére (1989).- *Lipids*, **24**: 799

Gray, J.I. (1978).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **55**: 539

Gümüşkesen, A.S. y T. Çakaloz (1992).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**: 382

Gutfinger, T. y A. Letan (1974).- *J. Food Sci. Agric.*, **25**: 1143

Gutiérrez, F. (1989).- *Grasas y Aceites*, **40**: 1

Hamilton, R.J. (1989).- en "Rancidity in Foods" Ed. I. Allen y R.J. Hamilton, Elsevier Sci. Publishers, Barking, Essex, 1-

Helme, J.P. (1981).- Colloque sur lipochemie industrielle, L' Institut des Corps Gras, Talence, 165-

Henderson, S. K., A. Whitchwoot y W.W. Nawar (1980).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**: 409.

Hendrix, B. (1990).- "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices" Ed. por D.R. Erickson, Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Illinois: 94

Hidalgo, F.J., R. Zamora y M. Alaiz (1991).- *Grasas y Aceites*, **42**: 379-386

Holm, U., K. Ekbom y G. Wode (1957).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **34**: 606.

Hong, W.M. (1983).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**: 268A

Hopia, A. I., I.P. Vieno, E.K. Pekka y E.T. Lea (1992).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**: 772

Hudson, B.J.F. (1989).- en "Rancidity in Foods" Ed. I. Allen y R.J. Hamilton, Elsevier Sci. Publishers, Barking, Essex: 53

Huesa, J. y M.C. Dobarganes (1990).- Patente ES 2.013.206.

Hvolby, A. (1971).- J. Am. Oil Chem. Soc., **48**: 503

Jaward, I.M., S.P. Kochhar y B.G. Hudson (1983).- J. Food Techn., **18**: 353

Jung, M.Y., S.H. Yoon y D.B. Min (1989).- J. Am. Oil Chem. Soc., **66**: 118

Kanner J. y I. Rosenthal (1992).- Pure and Applied Chemistry, **64**: 1959

Kocchar, S.P. (1983).- Lipid Research, **22**: 161

Kramer, J.K.G.; Fouchard, R.C. y Farnworth, E.R. (1980).- Journal of Chromatography, **198**: 279

Lanzani, A., P. Bondioli, C. Allevi, P. Baretteau y C.G. Bertini (1988).- Riv. Ital. Sostanze Grasse, **65**: 607

Lanzón, A., T. Albi y J. Gracián (1987).- Grasa y Aceites, **38**: 203

Laübli, M.W. y P.A. Bruttel (1986).-J. Am. Oil Chem. Soc., **63**: 792

Leonard, E.C. (1975).- "The Dimer Acids". Ed. Homko Sheffield Chemical, Connecticut

Liebing, H. y R. Karwiese (1984).- Seifen - Öle - Fette - Wachse, **110**: 573.

Loft, S. C. (1990).- en "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices" Ed. por D.R. Erickson, Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Illinois: 117

Löliger, J. (1988).- Resumen de la conferencia presentada en el Simposio Internacional "Food Safety New Methods for Research and Control", Milán.

Löliger, J. (1989).- Rev. Franç. Corps Grass, **36**: 301.

Lomanno, S.S. y W.W. Nawar (1982).- J. Food Sci., **47**: 744.

Ludwicki, J., I.B. Tayed y J.C. Dillon (1986).- Sci. Alim., **6**: 287

Maclellan, M. (1983).- J. Am. Oil Chem. Soc., **60**: 368

Mag, T.K. (1990).- "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices" Ed. por D.R. Erickson, Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Illinois: 107-116

Marks, Ch. (1988).- J. Am. Oil Chem. Soc., **65**: 1936

Márquez-Ruiz, G., M.C. Pérez-Camino y M.C. Dobarganes (1990).- J. Chromatography, **514**: 37

Maza, A., R.A. Ormsbee y L.R. Strecker (1992).- J. Am. Oil Chem. Soc., **69**: 1003

Michael, W.R. (1966).- Lipids, **1**: 365.

Mistry B.S. y D.B. Min (1988).- J. of Food Sci., **53**: 1896

Miyashita, K., K. Fujimoto y T.Kaneda (1982).- Agric. Biol. Cem., **46**: 2293

Miyashita, K., y T. Tagaki (1988).- J. Am. Oil Chem. Soc., **65**: 1156-1159.

Moser, H.A., P.M. Coonney, C.D. Evans y J.C. Cowans (1966).- J. Am. Oil Chem. Soc., **46**: 632

- Moulton, K.J. y Mounts, T.L. (1990).- J. Am. Oil Chem. Soc., **67**: 33
- Mounts, T.L.; G.R. List y A.J. Heakin (1978).-J. Am. Oil Chem. Soc., **55**: 277.
- Naudet, M. y G. Cecchi (1970).- Rev. Franç. Corps Grass, **17**: 529-535.
- Nawar, W.W., S.J. Bradley, S.S. Lommano, G.G. Richardson y Witman (1978).- en "Lipids as a source of Flavors" Ed. Am. Chem. Soc.: 42-45.
- Nawar, W.W. (1984).- J. Chem. Educ., **61**: 299-303
- Nawar, W.W. (1985a).- en "Chemical Changes in Food during Processing" Ed. Richardson, T. y J.W. Finley AVI, Westport, Connecticut: 79-103
- Nawar, W.W. (1985b).- en "Flavor Chemistry of Fats and Oils" Ed. min, D.B. y T.H. Smouse, Am. Oil Chem. Soc., 39-60.
- Niewiadomski, H. (1958).- Oleagineux, **13**: 175
- Nilsson-Johanson, L., U. Brimberg y G. Haraldsson (1988).- Fett Wiss. Tech., **90**: 447
- Nogala-Kalucka, M. y M. Gogolewski (1989).- Fett Wiss. Technol., **91**: 39
- Nogala-Kalucka, M. y M. Gogolewski y E. Swiatkiewicz (1993).- Fett Wiss. Technol., **95**: 144-147
- Norma UNE 55-004.- Determinación del Insaponificable.
- Norma UNE 55-011.- Determinación de la Acidez Libre.
- Norma UNE 55-121.- Análisis Sensorial. Copa para la degustación de aceites.
- Norma UNE 55-122.- Análisis Sensorial. Metodología.

Norris, F.A. (1985).- en "Bailey's Industrial Oil and Fat Products". Ed. T. H. Applewhite, John Wiley and Sons, Nueva York.

Ohlson, J.S.R. (1976).- J. Am. Oil Chem. Soc., **53**: 299

Ong, J.T.L. (1980).- Fette, Seifen, Anstrichm., **82**: 169

Ostic-Matijasevic, (1980).- J. Am. Oil Chem. Soc., **57**: 323

Otter, A. M. (1970).- Fette, Seifen, Anstrichm., **72**: 667; 875; 1056

Ouyan, H., S. Daun, S.S. Chang y C.T. Ho (1980).- J. Food Sci., **45**: 1214

Pardum, H. (1988).- Fett Wiss. Technol., **90**: 5

Parr, L.J. y P.A.T. Swoboda (1976).- J. Food Technol., **11**: 1.

Paschke, R.F., L.E. Petterson, S.A. Harrison y D.H. Wheeler (1954).- J. am. Oil Chem Soc., **41**: 56.

Patterson, H.B.W. (1989).- en "Handling and Storage of Oilseeds, Oils, Fats and Meal", Ed. Elsevier Applied Sci., Londres.

Paulose, M.M. y S.S. Chang (1973).- J. Am. Oil Chem. Soc., **50**: 147

Peers, K.E. y P.A.T. Swoboda (1979).- Food Agri. **30**: 876

Penk, G. (1985).- Fette Seifen Anstrichm., **87**: 499

Perrin, J.L., F. Redero y A. Prevot (1984).- Rev.Franç.Corps Grass, **31**: 131-133

Podmore, J. (1992).- Inform, **3**: 317

- Ramamurthi, S., P.R. Bhirud y A.R. McCurdy (1991).- J. Am. Oil Chem. Soc., **68**: 97
- Ramos Ayerbe, F. (1977).- Grasas y Aceites, **28**: 1-4
- Ranny, M. (1987).- "Thin Layer Chromatography with Flame Ionization Detection." Ed. D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holanda.
- Richardson, L. (1978).- J. Am. Oil Chem. Soc., **55**: 777
- Roden, A. y G. Ullyot (1984).- J. Am. Oil Chem. Soc., **61**: 1109
- Rossell B. (1989).- en "Rancidity in Foods" Ed. I. Allen y R.J. Hamilton, Elsevier Sci. Publishers, Barking, Essex: 23
- Rossell, B. (1992).- Lipid Technology, **2**: 39
- Sebedio, J.L., J. Prevost y A. Grandgirard (1987).- J. Am. Oil Chem. Soc., **64**: 1026
- Sebedio, J.L., J.L. Le Quere, E. Semon, O. Morin, J. Prevost y A. Grandgirard (1987).- J. Am. Oil Chem. Soc., **64**: 1324
- Segers, J.C. y R.L.K.M. van Sande (1990).- "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices" Ed. por D.R. Erickson, Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Illinois, pág.88
- Selke, E. y W.K. Rohwedder (1989).- J. Am. Oil Chem. Soc., **69**: 1853
- Sen Gupta, A. (1986).- Fette, Seifen Anstrichmittel, **88**: 79
- Serani, A. y D. Piacenti (1992).- Riv. Ital. Sostanze Grasse, **69**: 311
- Sheabar, F.Z. e I. Neeman (1987).- Riv. Ital. Sostanze Grasse, **64**: 219

- Shukla, V.K.S. y E.G. Perkins (1991).- *Lipids*, **26**: 23
- Sinnhuber, R.O. y T.C. Yu (1958).- *Food Res.*, **23**: 626.
- Sjöberg, P. (1991).- *Lipid Tecnology*, **1**: 52
- Smiles, A., Y. Kakuda y B.E. McDonald (1989).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**: 348
- Stage, H. (1982).- *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **10**: 377
- St. Angelo, A.J., H.P. Dupuy y G.J.F. Flick (1988).- *J. of Food Quality*, **10**: 393.
- Standard Method for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, IUPAC (1992).- 1º Suplemento de la 7ª edición. Ed. IUPAC, Pergamon Press, Oxford. Método 2.432.
- Szabo Sarkadi, D. (1959).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **36**: 143
- Swoboda, P.A.T. y C.H. Lea (1958).- *Chem. and Ind.*, **2**: 1090.
- Tautorus, D.J. y A.R. McCurdy (1990).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **67**: 525
- Vián, A. y Ocón, J. (1964).- en "Elementos de Ingeniería Química" Ed. Aguilar S.A.
- Vigneron, P.Y. y R. Georjin (1990).- "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices" Ed. por D.R. Erickson, Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Illinois: 380
- Vitagliano, M. y E. Turri (1958).- *Olearia*, **12**: 145
- Waltking, A.E. y H. Wessels (1981).- *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**: 1329.
- Warner, K., E.K. Frankel y T.L. Mounts (1989).- *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**: 558.

Waters, W.A. (1971).- J. Am. Oil Chem. Soc., **48**: 424

Wheeler, D.H. y J. White, (1967).- J. Am. Oil Chem. Soc., **44**: 298.

Winters, R.L. (1990).- "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices" Ed. por D.R. Erickson, Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Illinois: 402

Yoon, S.H., M.Y. Jung y D.B. Min, (1988).- J. Am. Oil Chem. Soc., **65**: 1652.

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

Resolución de Tesis de Grado en el área de Ciencias Exactas  
en el día de la fecha, se ha acordado:

a) M<sup>a</sup> Victoria Ruiz Méndez  
Título: Modificaciones producidas durante el proceso  
de refinación de los aceites comestibles.

acordó con el título y con el contenido de la tesis apto cum laude

21

Septiembre

93

El Presidente

El Decano

El Doctorado



500432636