

Determinación cuantitativa de componentes mayoritarios presentes en los destilados obtenidos en la desodorización de aceites y grasas

Por M.V. Ruiz-Méndez, G. Márquez-Ruiz y M. C. Dobarganes

Instituto de la Grasa. C.S.I.C.

Avda. Padre García Tejero, 4 - 41012 Sevilla

RESUMEN

Determinación cuantitativa de componentes mayoritarios presentes en los destilados obtenidos en la desodorización de aceites y grasas.

Los destilados de desodorización son un subproducto valioso de la refinación de aceites comestibles, los cuales pueden tener características muy variables. El valor y las posibles aplicaciones dependen de su composición, la cual también es importante conocer para comparar procesos de refinación y determinar la influencia de las condiciones de desodorización.

En este trabajo, se aplica la cromatografía en capa fina acoplada al detector de ionización de llama para determinar la composición de los destilados de desodorización en un rápido y único análisis, distinguiendo hidrocarburos, ácidos grasos libres, triglicéridos y esteroides, con reproducibilidad similar a las de otras técnicas cromatográficas.

PALABRAS-CLAVE: *Acido graso libre — Cromatografía en capa fina/detector de ionización de llama — Destilado de desodorización — Esterol — Hidrocarburo — Triglicérido.*

SUMMARY

Quantitation of major compounds present in deodorizer distillates from fats and oils.

Deodorizer distillates are valuable by-products of edible oil refining and can have a wide range of characteristics. The value and uses clearly depend on their composition. A knowledge of their composition would allow refining processes, to be compared and the influence of deodorization conditions to be determined.

In this paper, TLC/FID is applied to determine deodorizer composition in a rapid, single step analysis, separating hydrocarbons, free fatty acids, triglycerides and sterols. This analysis had similar reproducibility to other chromatographic techniques.

KEY-WORDS: *Deodorizer distillate — Free fatty acid — Hydrocarbon — Sterol — TLC/FID — Triglyceride.*

1. INTRODUCCION

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; Fedeli y Gasparoli, 1977; Helme y col., 1981; Nogala-Kalucka y col., 1993; Ramamurthi y col., 1991; Ramamurthi y McCurdy, 1993; 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 desodorización y deducir si existe un desarrollo normal o incorrecto de la misma. La pérdida de grasa neutra, la existencia de hidrólisis del aceite o la excesiva disminución 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 y concentración de los compuestos de mayor valor añadido (Bondioli y col., 1993; Lanzani y col., 1988; Liebing y Karwiese, 1984; Marks, 1988; Nogala-Kalucka y Gogolewski, 1989; Sheabar y Neeman, 1987; Shishikura y col., 1988).

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. PARTE EXPERIMENTAL

a) 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
- Acido 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.

- 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 I.

Tabla I
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) 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. (IATRON Labs., Tokio, Japón).
 - Cubetas para el desarrollo de las varillas.
 - Horno (IATRON TK-8, IATRON Labs., Tokio, Japón) para el secado controlado previo a la evaluación de las muestras.
- Cromatógrafo (IATROSCAN MK-5) equipado con detector de ionización de llama (IATRON Labs., Tokio, Japón).

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 mediante la adición de Na₂SO₄ anhidro, y se enrasa el matraz con éter etílico. Con una jeringa de precisión, se toma 1 µl de disolución (20 - 25 µg 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/cm² y el flujo de aire 1500 mL/min. La velocidad de barrido de la varilla es 0.33 cm sg⁻¹.

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

c) Otras determinaciones analíticas

La evaluación de la acidez libre y el contenido total de insaponificable se realizan mediante las determinaciones clásicas normalizadas (Normas UNE 55-004 y UNE 55-011).

3. RESULTADOS Y DISCUSION

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 Etílico.
- 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 las 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 1 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).

La Tabla II 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 µg de muestra que contiene 2 µg de octadecano y colesterol y 8 µg de ácido oleico y trioleína y corresponden, por tanto, a los porcentajes que se indican en la primera fila de la tabla.

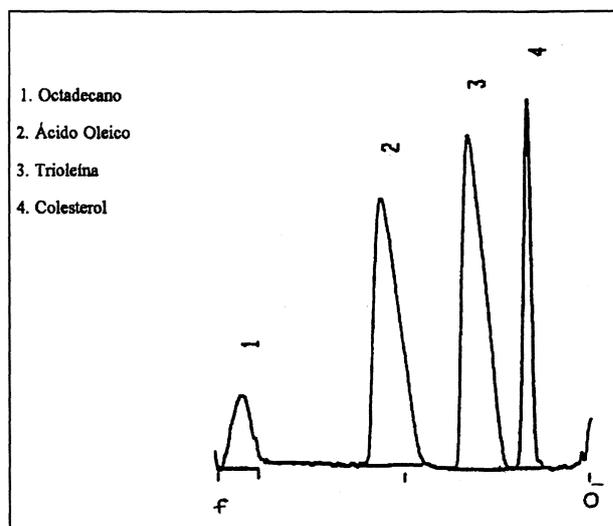


Figura 1
Eficacia de la separación de los compuestos de referencia

Tabla II
Evaluación de la reproducibilidad de la metodología analítica aplicada en la cuantificación de componentes mayoritarios de los destilados obtenidos en la desodorización

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	40992	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		
$S_{\bar{x}}$	435	0.29	521	0.39	1060	0.24	391	0.21		
C.V. ¹ (%)	6.67	4.39	1.44	1.07	2.55	0.57	2.60	1.39		
F.C. ²	1.38		1		0.87		0.60			

1. Coeficiente de variación ($s_{\bar{x}} \cdot 100/\bar{x}$)

2. Factores de Corrección relativos al ácido oleico.

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 corrección relativos al ácido oleico (F.C. = 1) de los

compuestos de referencia que permiten mejorar significativamente la exactitud de la determinación.

La Tabla III 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 µg mientras que para los ácidos grasos y los triglicéridos, las muestras evaluadas contenían entre 0,5 y 10,0 µg. 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 corrección medios, deducidos de los valores de las pendientes, son muy similares a los que constan en la Tabla II confirmando de nuevo la buena reproducibilidad de la determinación.

La Figura 2 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 funda-

mentalmente a la relación Ácidos Grasos/Triglicéridos mucho más elevada en el caso de la refinación física. Aunque en el caso de la refinación química parece existir una elevada cantidad de grasa neutra, su importancia cuantitativa depende de la cantidad total de destilados obtenidos, mucho mayor en el caso de la refinación física. Por otra parte, en el cromatograma de los destilados de refinación química aparece un pico en el origen que corresponde a compuestos de elevada polaridad que se encuentran en proporción aceptable en este tipo de destilados.

Tabla III
Parámetros de las Rectas de Calibrado obtenidas para los patrones de referencia

$y = ax + b$	n	Pendiente (a)	Ordenada (b)	r	Factores de corrección
Octadecano	20	3710	316	0.988	1.23
Acido 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 = nº de determinaciones.

x = µg de compuesto.
r = coeficiente de correlación.

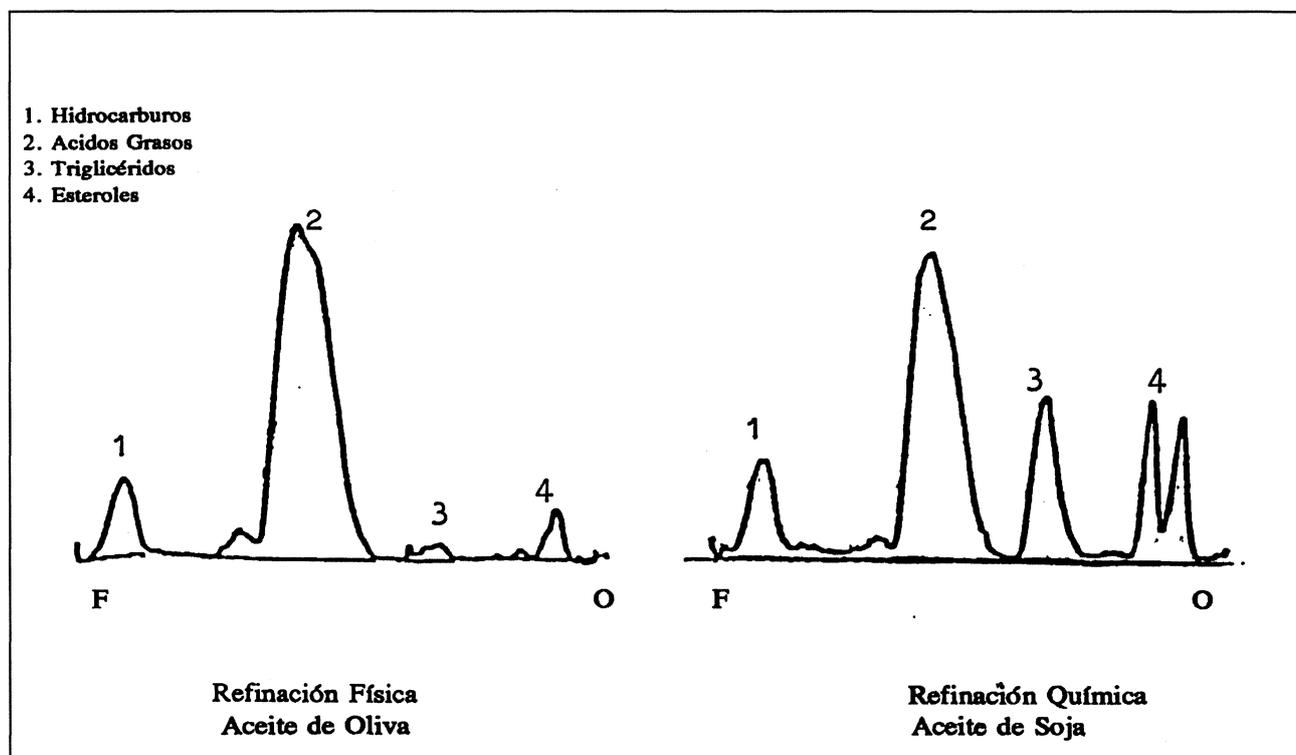


Figura 2
Cromatogramas de destilados de desodorización realizados con TLC-FID

Tabla IV
Determinación cuantitativa de los destilados obtenidos en la refinación física de aceite de oliva y en la desodorización de aceite de soja

	Oliva		Soja	
	\bar{x}	$S_{\bar{x}}$	\bar{x}	$S_{\bar{x}}$
Hidrocarburos (%)	8.6	0.6	11.6	0.5
Acido 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	

\bar{x} .- Media de tres determinaciones. $S_{\bar{x}}$ - Desviación Típica.

La Tabla IV 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 I. Los picos minoritarios o no resueltos se han incluido en la columna "Otros". Las determinaciones se han realizado por triplicado y los resultados que se muestran incluyen la aplicación de los factores de corrección 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 puede ser de gran utilidad para profundizar en el conocimiento del proceso de refinación, especialmente en la influencia de la cantidad de gas utilizado en la desodorización.

AGRADECIMIENTO

Los autores quieren expresar su agradecimiento a la CICYT (Proyecto ALI 91-0544) por la financiación aportada.

BIBLIOGRAFIA

- Balazs, I.L. (1987).- "Refining and use of byproducts from various fats and oils."- J. Am. Oil Chem. Soc. **64**, 1126-1128.
- Bondioli, P., Mariani, C., Lanzani, A., Fedeli E. y Muller, A. (1993).- "Squalene recovery from olive oil deodorizer distillates."- J. Am. Oil Chem. Soc. **70**, 763-766.
- Fedeli, E. y Gasparoli, A. (1977).- "Composizione dei distillati industriali di deodorazione."- Riv. Ital. Sostanze Grasse **54**, 494-501.
- Helme, J.P. (1981).- "Debouches des constituants non glyceridiques des corps gras industriels- Tocopherols."- Colloque sur lipochemie industrielle, L' Institut des Corps Gras, Talence, p. 165-177.
- Hong, W.M. (1983).- "Quality of by-products from chemical and physical refining of palm and other oils."- J. Am. Oil Chem. Soc. **60**, 268A- 273A.
- Kramer, J.K.G.; Fouchard, R.C. y Farnworth, E.R. (1980).- "Effect of solvents on the resolution of neutral lipids on Chromarods."- J. Chromatog. **198**, 279-285.
- Lanzani, A., Bondioli, P., Allevi, C., Baretteau, P., Bertini, C.G. (1988).- "Tecnologie di recupero di componenti di pratico ed economico interesse dalle frazioni di condensazione della deodorazione industriale dell'olio di soia."- Riv. Ital. Sostanze Grasse **65**, 607-611.
- Liebing, H. y Karwiese, R. (1984).- "Möglichkeit der Gewinnung von Sterol-Tocopherol-Konzentraten bei der Desodorierung Pflanzenölen." - Seifen-Öle-Fette- Wachse **110**, 573- 575.
- Marks, Ch. (1988).- "Determination of free tocopherols in deodorizer distillate by capillary gas chromatography."- J. Am. Oil Chem. Soc. **65**, 1936-1939.
- Nogala-Kalucka, M. y Gogolewski, M. (1989).- "Brüdenöl aus Soja- und Rapsöl als Tocopherolen-Quelle."- Fat Sci. Technol. **91**, 39-41.
- Nogala-Kalucka, M., Gogolewski, M. y Swiatkiewicz, E. (1993).- "Changes in the composition of tocopherols and fatty acids in postdeodorisation condensates during refining of various oils."- Fat Sci. Technol. **95**, 144-147.
- Norma UNE 55-004.- "Determinación del Insaponificable."
- Norma UNE 55-011.- "Determinación de la acidez libre."
- Ramamurthi, S., Bhirud, P. R. y McCurdy, A.R. (1991).- "Enzymatic methylation of canola oil deodorizer distillate."- J. Am. Oil Chem. Soc. **68**, 970-975.
- Ramamurthi, S. y McCurdy, A.R. (1993).- "Enzymatic pretreatment of deodorizer distillate for concentration of Sterols and Tocopherols."- J. Am. Oil Chem. Soc. **70**, 287-294.
- Ranny, M. (1987).- "Thin Layer Chromatography with Flame Ionization Detection." Ed. D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holanda.
- Sheabar, F.Z. y Neeman, I. (1987).- "Concentration of tocopherols from soy oil deodorization scum."- Riv. Ital. Sostanze Grasse **64**, 219-222.
- Shishikura, A., Fujimoto, K., Kaneda, T., Arai, K. y Saito, S. (1988).- "Concentration of tocopherols from soybean sludge by supercritical fluid extraction."- Yukagaku, **37**, 9.
- Winters, R.L. (1990).- "Deodorizer Distillates" - "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices." Ed. D.R. Erickson, Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Illinois, p. 402-405.

Recibido: Agosto 1994
Aceptado: Febrero 1995