

Método rápido para la determinación de escualeno en aceites vegetales

Por A. Lanzón, A. Guinda*, T. Albi y C. de la Osa

Instituto de la Grasa y sus Derivados. C.S.I.C. Avda. Padre García Tejero, 4. 41012 - Sevilla.

RESUMEN

Método rápido para la determinación de escualeno en aceites vegetales.

Se describe un método analítico, sencillo y rápido, para la cuantificación de escualeno en aceites comestibles. El método consiste en realizar primero una metilación alcalina en frío de la muestra grasa disuelta en hexano y, posterior análisis de la disolución de hexano por cromatografía gaseosa usando patrón interno. Se presentan una recta de calibrado con patrones cromatográficos puros, así como, los coeficientes de variación de muestras de aceites con alto, medio y bajo contenido en escualeno.

PALABRAS—CLAVE: *Aceite Vegetal — Cromatografía gaseosa — Escualeno (determinación).*

SUMMARY

A rapid method for squalene determination in vegetable oils.

A simple and rapid analytical method for the quantification of squalene in vegetable oils is described. The method consists of a cold alkaline methylation of the oil sample diluted with hexane followed by quantitation by gas chromatography with internal standard. A calibration curve obtained using different standard solutions, and coefficients of variation for three different samples with high, medium and low content of squalene, are reported.

KEY-WORDS: *Gas chromatography — Squalene (determination) — Vegetable oil.*

1. INTRODUCCIÓN

Es conocido que el escualeno (2,6,10,15,19,23 - hexametil 2,6,10,14,18,20 - tetracosahexaeno) es un hidrocarburo triterpénico que se encuentra presente abundantemente en los aceites de hígado de pescados y, también es un constituyente de la fracción insaponificable de numerosos aceites vegetales, entre los que destaca por su mayor contenido el de oliva, (aproximadamente el 0,5% del aceite).

En los trabajos publicados durante los últimos 10 años (Bondioli et al., 1993; Colell et al., 1985) para la cuantificación del escualeno en aceites comestibles, incluyen la saponificación previa de la muestra grasa, extracción de la materia insaponificable y fraccionamiento de la misma por cromatografía en capa fina para obtener la fracción correspondiente a los hidrocarburos y, posterior análisis por cromatografía gaseosa.

Estos métodos resultan laboriosos y además en el proceso de saponificación se produce una alteración de cierta cantidad de escualeno (Lanzón, 1992), lo que da lugar a un falseamiento de los resultados.

En este trabajo se presenta un método analítico sencillo y preciso para determinar escualeno en aceites vegetales.

2. PARTE EXPERIMENTAL

En un tubo con tapón roscado de unos 15 ml de capacidad se pesan aproximadamente 0,2 g de muestra grasa con exactitud del miligramo, se le añaden 5 ml de hexano para disolverlo, posteriormente 1 ml de disolución patrón de escualano (1 mg/ml) agitando para homogeneizar, a continuación se le añade 1 ml de KOH metanólica aproximadamente 2N, agitando vigorosamente durante 1 minuto. Se deja en reposo durante unos 10 minutos y con ayuda de una pipeta Pasteur se pasa la mayor parte de la disolución de hexano a otro tubo de ensayo de iguales características. Se lava dos veces con 4 ml cada vez, con una mezcla Etanol: Agua 1:1, dejando reposar en cada lavado al menos 10 minutos antes de volver a lavar. Al final de los lavados y una vez decantada la disolución de hexano, se toma de la parte superior de la misma, 1 μ l aproximadamente para inyectar en el cromatógrafo operando bajo las siguientes condiciones: columna capilar SGL - 5 (5% de difenilmetilsilicona) 25 m de longitud, 0,25 mm ϕ interno y 0,25 μ , ligada químicamente. Temperatura del horno 250°C, isoterma; temperatura del detector e inyector de 300°C; gas portador de He con presión en cabeza de 120 KPa y relación de división de flujo 20:1.

En la Figura 1 se muestra un esquema general del proceso.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se representa la recta de calibrado obtenida con patrón interno (escualano), sus márgenes de confianza de $\pm 0,34$ mg/g al 95% y coeficiente de correlación de 0,9997 obtenida para seis puntos (se incluye el cero).

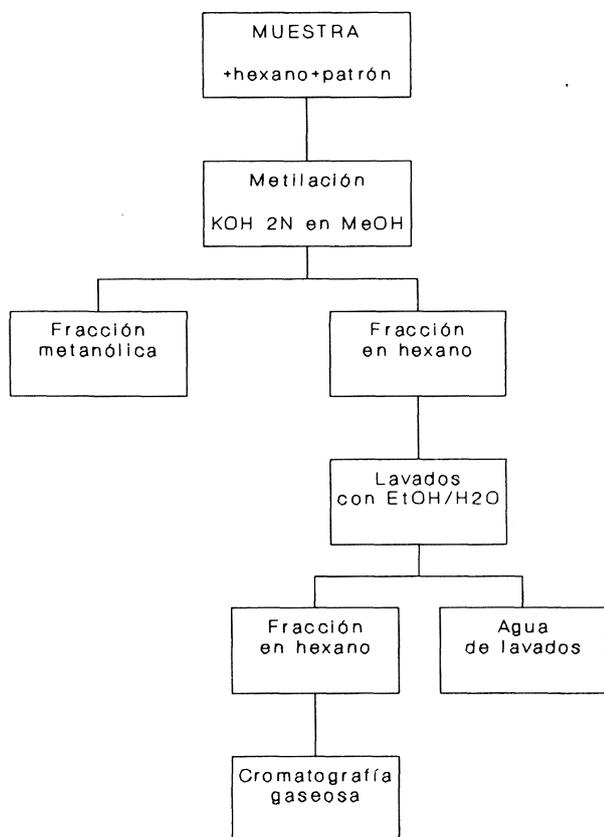


Figura 1
Esquema analítico para la determinación de escualeno

En la Figura 3 se muestra un registro cromatográfico de una grasa comestible enriquecida, con 20.000 ppm de escualeno.

En la Tabla I se presenta algunos parámetros estadísticos y los coeficientes de variación para tres muestras con diferentes contenidos en escualeno. Identificadas como 1, 2 y 3 y que se corresponden con contenidos bajo, medio y alto en escualeno respectivamente. Se efectuaron 4 análisis de cada muestra y dos inyecciones en el cromatógrafo por cada análisis. La media, el mínimo y máximo están representados en ppm de escualeno.

Tabla I
Resultados obtenidos para tres muestras con
diferente contenido en escualeno y 20
determinaciones por muestra

MUESTRA	MEDIA	MINIMO	MAXIMO	CV%
1	520	505	535	1,97
2	3.616	3.552	3.758	1,49
3	18.469	18.092	19.046	1,37

1, 2 y 3 representan a tres diferentes muestras de bajo, medio y alto contenido en escualeno respectivamente. La media, el mínimo y máximo están representados en ppm de escualeno.

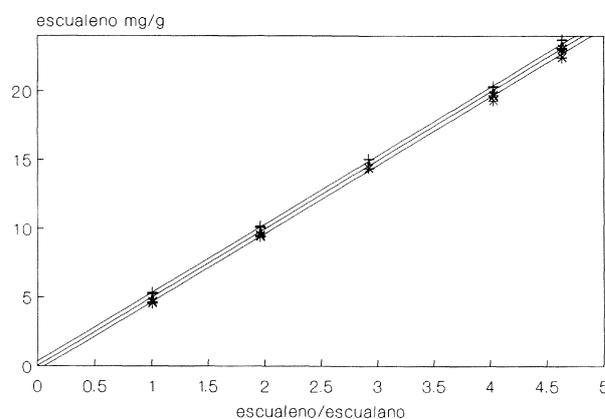


Figura 2
Recta de calibrado obtenida con patrón interno y márgenes de confianza del 95%

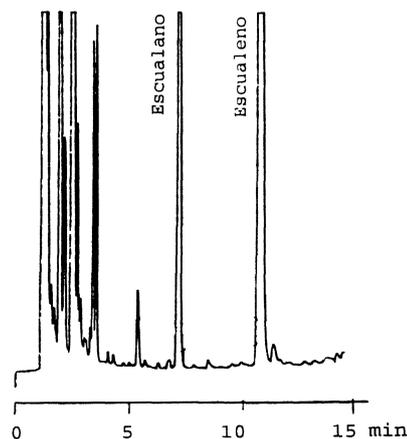


Figura 3
Registro gas-cromatográfico característico de un aceite vegetal con un gran contenido de escualeno.

Se realizó un análisis de los triglicéridos en la disolución de hexano, confirmando que la metilación es completa y, por tanto, la imposibilidad de introducir triglicéridos en la columna cromatográfica es total.

Se constató la no existencia de un pico cromatográfico con el mismo tiempo de retención del patrón (escualano), realizando el análisis en las mismas condiciones cromatográficas y sin patrón interno, empleando los aceites vegetales más usuales (oliva, girasol, soja, maíz, colza y cacahuete).

Se comprobó que ni los ésteres metílicos formados ni el resto de los componentes minoritarios disueltos en el hexano, interfieren en el análisis gas-cromatográfico, ya que los primeros son mucho más volátiles y, por tanto, salen al principio del registro cromatográfico y los segundos se posicionan bastante detrás del escualeno. No obstante con el objeto de limpiar la columna de algunos de estos componentes minoritarios menos volátiles, es conveniente aumentar la temperatura del horno unos 10°C, durante 15 min, después de realizar 5 ó 6 inyecciones cromatográficas.

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento a Dña. Carmen Arévalo Mendoza, Ayudante Diplomada de Investigación, por su eficiente colaboración en la parte experimental de este trabajo; y a D. Jacinto Espejo, de la Empresa Espejo S.A. por el suministro de las muestras de escualeno de gran pureza.

BIBLIOGRAFIA

- Bondioli, P., Mariani, C., Lanzani, A., Fedeli, E. y Muller, A. (1993).- "Squalenè recovery from olive oil deodorizer distillates".- J. Am. Oil Chemists' Soc. **70**, 763-766.
- Colell, J., López-Sabater, M.C. y de la Torre, M.C. (1985).- "Evolution de la teneur en squalene pendant le mûrissage des olives".- Riv. Ital. Sostanze Grasse **62**, 423-426.
- Lanzón, A. (1992).- "Alteraciones producidas en los componentes del insaponificable de los aceites de oliva como consecuencia de los procesos de refinación".- Tesis Doctoral - ISBN 84-7405-773-6.- Universidad de Sevilla.

Recibido: Enero 1995

Aceptado: Junio 1995