



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE CANELA EN LOS PARÁMETROS QUÍMICOS Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE PALMA DURANTE UN TRATAMIENTO DE ALMACENAMIENTO ACELERADO

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN GESTION DE
LA SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA

ALUMNO/A:
CINTYA YANNET VERGARA GUTIÉRREZ

TUTOR/A ACADEMICO:
ANA FUENTES LÓPEZ

COTUTOR/A:
MARÍA JESÚS LERMA GARCÍA
ISABEL FERNÁNDEZ SEGOVIA

Curso Académico:
2016 - 2017

VALENCIA, Julio 2017

EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE CANELA EN LOS PARÁMETROS QUÍMICOS Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE PALMA DURANTE UN TRATAMIENTO DE ALMACENAMIENTO ACELERADO

Vergara Gutiérrez. C.¹, Fuentes López A.¹, Lerma-García M.J.¹, Fernández-Segovia I.¹

RESUMEN

En el presente trabajo se ha estudiado el impacto de la incorporación de aceite esencial de canela sobre la calidad del aceite de palma durante un tratamiento de almacenamiento acelerado, estudiando la composición química y la estabilidad oxidativa. Para ello se prepararon 3 lotes de aceite de palma, un primer lote se empleó como muestra control (aceite de palma sin aceite esencial), mientras que a los dos restantes se adicionó aceite esencial de canela al 0,1% y 0,25% (p/p), respectivamente. Las muestras fueron almacenadas en oscuridad a 60 °C durante 8 semanas, llevándose a cabo análisis a intervalos de 1 semana. Se comparó la resistencia a la oxidación de estos aceites aromatizados con respecto a la muestra control midiéndose la acidez libre, el índice de peróxido (IP), la absorbancia de UV a 232 y 270 nm, el contenido de ácidos grasos y tocoferoles. En general, el aceite de palma aromatizado con aceite esencial de canela tenía menor acidez libre, IP, K_{232} y K_{270} , que las muestras de control durante el almacenamiento. Sin embargo, los resultados obtenidos en el perfil de ácidos grasos no dieron lugar a diferencias significativas entre las distintas muestras, ni con el tiempo de almacenamiento, ni con la adición del aceite esencial. De igual forma sucedió con los tocoferoles, cuyos valores disminuyeron con el tiempo, no presentando diferencias significativas entre muestras. Los resultados indican que la incorporación de aceite esencial de canela en aceite de palma ayudó a mejorar su estabilidad térmica y en consecuencia, a extender su vida útil.

PALABRAS CLAVES: Aromatización de aceite de palma, Aceite esencial de canela, Estabilidad oxidativa, Cambios químicos.

RESUM

En el present treball s'ha estudiat l'impacte de l'incorporació de oli essencial de canella sobre la qualitat de l'oli de palma durant un tractament emmagatzamament accelerat, estudiant la composició química i l'estabilitat oxidativa. Per a aixó es van preparar 3 lots d'oli de palma, un primer lot es va emprar com a mostra control (oli de palma sense oli essencial), mentres que als dos restants es va adicionar oli essencial de canella al 0,1% i 0,25%

(p/p), respectivament. Les mostres van ser emmagatzemades en foscor a 60 °C durant 8 setmanes, duent se a terme anàlisi a intervals d'1 setmana. Es va comparar la resistència a l'oxidació d'estos olis aromatitzats amb la mostra control mesurant l'oxidació d'estos olis aromatitzats amb la mostra de control mesurant l'acidesa lliure, el index de peròxids (IP), l'absorbància d'UV a 232 i 270 nm, i el contingut d'àcids grassos i tocoferoles. En general, l'oli de palma aromatitzat amb d'oli essencial de canella tenia menor acidesa lliure, IP, K_{232} i K_{270} , que les mostres control durant l'emmagatzemament. No obstant això, els resultats obtinguts en el perfil d'àcids grassos no van donar lloc a diferències significatives entre les distintes mostres, ni amb el temps d'emmagatzemament, ni amb l'addició de l'oli essencial. De la mateixa manera va succeir amb els tocoferoles que si bé disminueixen amb el temps però no presentaren diferències significatives entre mostres. Els resultats indiquen que l'incorporació d'oli essencial de canella en oli de palma va ajudar a millorar la seua estabilitat tèrmica i, en conseqüència, a estendre la seua vida útil.

PARAULES CLAU: Aromatització d'oli de palma, Oli essencial de canella, Estabilitat oxidativa, Canvis químics

ABSTRACT

In the present work the impact of the incorporation of cinnamon essential oil on the quality of palm oil during an accelerated storage treatment has been evaluated, studying the chemical composition and the oxidative stability. For this purpose, 3 batches of palm oil were prepared, the first batch was kept as a control sample (non flavored palm oil), the other two portions being flavored with 0.1 and 0.25% (w/w) of cinnamon essential oil, respectively. Samples were stored in the dark at 60°C for 8 weeks, and analysis were performed at 1 week intervals. The oxidation resistance of these flavored oils was compared to the control sample by measuring the free acidity, the peroxide value (PV), the UV absorbance at 232 and 270 nm, and fatty acid and tocopherol contents. Palm oil aromatized with cinnamon essential oil had lower free acidity, PV, K_{232} and K_{270} than the control samples during storage. However, the results obtained in the fatty acid profile did not give rise to significant differences between the different samples, neither with the time of storage nor with the addition of the essential oil. Similarly happened to the tocopherols, those although they diminish with the time, there are no significant differences between samples. The results indicate that the incorporation of cinnamon oil into palm oil helped to improve its thermal stability and, consequently, to extend its shelf life.

KEYWORDS: Palm oil aromatization, Cinnamon essential oil, Oxidative stability, Chemical changes.

1.- INTRODUCCION

El aceite de palma (AP) se extrae del mesocarpio maduro del fruto de la palmera aceitera (*Elaeis guineensis*). Es el aceite vegetal de mayor producción mundial siendo los principales países productores Indonesia y Malasia. La producción global del AP en el 2015 fue de 62,56 millones de toneladas, lo que representa el 30% de la producción total mundial de grasas y aceites, seguido por el aceite de soja (24%), aceite de colza (13%) y el aceite de girasol (7%). En el mismo año, alrededor de 48,2 millones de toneladas de AP total fueron destinadas a la exportación, siendo India, la Unión Europea (UE), China y Pakistán los principales países importadores de AP. Más de 61,09 millones de toneladas de AP fueron consumidas mundialmente en el mismo periodo (CODEX, 2017).

El AP es la grasa más utilizada por la industria alimentaria, gracias a que es un sólido a temperatura ambiente y es más estable a altas temperaturas que otros aceites vegetales, además de poseer un precio en el mercado más bajo que otro tipo de aceites vegetales.

Uno de los problemas que presenta este tipo de grasas es que, durante el almacenamiento, los fitonutrientes que posee se pueden deteriorar debido a fenómenos oxidativos. La oxidación lipídica provoca olores rancios y sabores desagradables en los productos alimenticios, esto afecta a la calidad nutricional y a la seguridad del producto, debido a la formación de compuestos secundarios de la oxidación potencialmente tóxicos (Horuz y Maskan, 2015). Para prevenir las reacciones de oxidación en las grasas y aceites destinados a la fabricación de alimentos con tratamiento térmico se emplean aditivos antioxidantes (Reglamento 1129/2011). En este sentido, los antioxidantes sintéticos tales como butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA) y galato de propilo (GP) son habitualmente empleados por la industria alimentaria. Estos aditivos controlan la oxidación de los lípidos en los alimentos y funcionan, ya sea por barrido de radicales peróxidos o disminuyendo la formación de radicales lipídicos iniciadores, para evitar la pérdida de la calidad de los alimentos (Singh et al., 2006). Sin embargo, debido al rechazo por parte de los consumidores hacia los aditivos sintéticos, las investigaciones más recientes se han centrado en el uso de antioxidantes naturales como alternativa a los antioxidantes convencionales (Chen et al., 2014; Inanc y Maskan, 2012; Rodríguez et al., 2012; Taghvaei y Jafari, 2015).

Una de las alternativas a los antioxidantes sintéticos son los extractos naturales, aceites esenciales de plantas y sus componentes activos. Existen numerosas investigaciones sobre el efecto antioxidante de los derivados de plantas, en particular extractos de frutas (Khemakhem et al., 2015), hierbas y especias (Ayadi et al., 2009; Gambacorta et al., 2007; Sousa et al., 2015), y aceites esenciales (Arcoleo et al., 2009; Asensio et al., 2011 y 20012; Miguel et al., 2003; Moldao-Martins et al., 2004; Rached et al., 2014; Saavedra et al., 2015). Entre todos estos compuestos, son los aceites esenciales los que parecen mostrar un mayor efecto sobre la estabilidad de los aceites y grasas, especialmente durante el almacenamiento (Al-Jaber et al., 2011; Chen et al., 2014; Maestri et al., 2006; Tomaino et al., 2005). En particular,

diferentes investigaciones han demostrado que el aceite esencial de canela tiene propiedades antioxidantes, debido a su alto contenido en eugenol (Musa y Arslan, 2011) y trans-cinamaldehído (Singh et al., 2007), compuestos que ejercen un alto poder antifúngico y antibacteriano.

El objetivo del presente estudio es la evaluación del efecto de la incorporación del aceite esencial de la hoja de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en la composición y la estabilidad oxidativa del AP durante un tratamiento de almacenamiento acelerado.

2.- MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Preparación de la muestra

En el presente estudio se utilizó AP comestible, producido en Ghana (Ruker Ventures Ltd). La muestra de AP se dividió en tres porciones: una muestra control (AP no aromatizado), y dos porciones que fueron aromatizadas con 0,1% y 0,25% (p/p) de aceite esencial de hoja de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (Ventos S. A. Barcelona - España). Cada porción se dividió en nueve alícuotas de 75 g (85 mL, considerando una densidad de $0,89 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) que se introdujeron en botellas de vidrio topacio de 125 mL y se mantuvieron en oscuridad a 60 °C durante un máximo de 8 semanas. El contenido de oxígeno del espacio de cabeza en cada botella se estimó en 343,2 μmol considerando el volumen del espacio de cabeza de 40 mL ($8,58 \mu\text{mol}/\text{mL}^{-1} \text{ O}_2$). Se realizaron muestreos semanales durante 8 semanas de estudio. Cada día de muestreo se analizó una botella para cada tipo de muestra. Los análisis se llevaron a cabo por triplicado para cada determinación analítica en cada tiempo de almacenamiento.

2.2. Composición de aceite esencial de canela

La composición del aceite esencial de canela se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) usando un cromatógrafo de gases Agilent 6890/5975 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania). Para la separación cromatográfica se empleó una columna BPX5 capilar (30 m x 0,25 mm x 25 μm) suministrada por SGE (Analytical Science, Crownhill, Reino Unido). Se utilizó helio como gas portador a un caudal de $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La temperatura del horno se mantuvo a 60 °C durante 3 min y después se elevó hasta 100 °C a 10 °C/min. Después hasta 140 °C a 5 °C/min y finalmente a 240 °C a 20 °C/min. Las temperaturas del inyector y del detector de MS se fijaron en 250 °C y 230 °C, respectivamente. Los componentes del aceite esencial se identificaron por búsqueda de espectros de masas con los espectros de masas estándar de la NIST MS Search 2.0 library.

2.3. Determinación de los parámetros químicos

Cada día de muestreo se determinaron los valores de acidez libre, índice de peróxidos y absorbancia a 232 y 270 nm.

La determinación de la acidez libre indica el contenido de ácidos grasos libres del aceite y se expresa como el porcentaje de ácido palmítico en la muestra. Para ello, se pesaron 20 g de muestra y se adicionaron 100 mL de una disolución de éter dietílico y etanol, previamente neutralizada. La valoración de esta disolución se realizó con una solución etanólica de hidróxido potásico 0,1 M, empleando fenolftaleína como indicador.

Para la determinación del índice de peróxidos (IP) se empleó el método de la AOAC 965.33 (AOAC, 1997). En este procedimiento se pesaron 2 g de muestra y se añadieron 10 mL de cloroformo, 15 mL de ácido acético y a continuación 1 mL de solución de yoduro potásico; esta mezcla se mantuvo en oscuridad a 25 °C durante 5 min. La mezcla se valoró con una disolución de tiosulfato sódico 0,002 N, utilizando almidón como indicador. Los resultados se expresaron como miliequivalentes de oxígeno por kg de grasa ($\text{meq de O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$).

La absorbancia en el ultravioleta (UV) a 232 y 270 nm (K_{232} y K_{270}), proporciona información sobre la calidad de la materia grasa, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos (IUPAC, 1987). Las absorciones en las longitudes de onda indicadas se deben a la presencia de dienos y trienos conjugados. Para llevar a cabo esta determinación, se pesaron 0,1 g de aceite y se enrasaron a 10 mL con iso-octano. La absorbancia a las longitudes de onda de 232 y 270 nm se midieron empleando un espectrofotómetro Helios Zeta (Thermo Scientific, Estados Unidos).

2.4 Determinación de ácidos grasos mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC – FID)

Los ácidos grasos se convirtieron en ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) antes del análisis empleando un procedimiento de transmetilación básica en frío, los FAMES se determinaron usando un cromatógrafo de gases 8000-Top (CE Instruments Ltd., Wigan, Reino Unido) acoplado a un detector de ionización de llama (FID). La separación se llevó a cabo utilizando una columna capilar BP20 (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) SGE (Analytical Science, Crownhill, Reino Unido). Las temperaturas del inyector y del detector se fijaron a 250 °C. La temperatura inicial del horno fue de 200 °C. Esta temperatura se mantuvo durante 1 min y después se aumentó a una velocidad de 4 °C/min a 230 °C, y se mantuvo durante 2 min. Se utilizó nitrógeno como gas portador a una velocidad de flujo de 1,2 mL·min⁻¹. El volumen de inyección fue de 1 µL empleando una relación de split 1:20. Los resultados se expresaron como porcentaje de cada ácido graso, y también como porcentaje de ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI).

2.5. Determinación de tocoferoles y tocotrienoles mediante HPLC-UV

Para la determinación de tocoferoles y tocotrienoles se empleó un cromatógrafo de líquidos Hitachi La Chrom Elite (Hitachi Ltd., Tokio, Japón), dotado de una bomba cuaternaria modelo L-2130, un compartimento termostatzado de columnas modelo L-2300, y un detector UV-vis (modelo L-2420). La separación se llevó a cabo con una columna Kromaphase 100 C18 (150 m x 4.6 mm d.i., 5 μm) (Scharlab, Barcelona) termostatzada a 20 °C. Se utilizó como fase móvil una mezcla ternaria de acetonitrilo, metanol y 2-propanol (80:15:5, v/v/v). La elución se llevó a cabo en modo isocrático con un caudal de 0,8 mL·min⁻¹. El volumen de inyección fue de 20 μL . La detección se llevó a cabo a 292 nm. Para la adquisición de datos se utilizó el software EZChrom (v.3.3.2. SP1, Agilent Technologies, Santa Clara, California, EUA).

Para la extracción de los tocoferoles y tocotrienoles de las muestras de aceite, 0,5 g de aceite se disolvieron en 5 mL de una disolución de metanol conteniendo 0,1% de BHT (v/p). Esta mezcla se llevó a un baño de ultrasonidos durante 1 min y se centrifugó a 10000 rpm y 20 °C durante 10 min. El sobrenadante obtenido se filtró con un filtro de jeringa de teflón de 0,22 μm previo a su inyección en el HPLC.

Los picos de los tocoferoles y tocotrienoles fueron identificados mediante HPLC-MS. Para ello se empleó un HPLC Agilent 1290 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) acoplado a un sistema AB SCIEX TripleTOF™ 5600 LC/MS/MS. Las condiciones empleadas para la detección en MS fueron las siguientes: presión de gas de la fuente de ionización (GC1 y GC2), 50 psi; temperatura, 550 °C; voltaje del spray (ISVF), 5500; energía de colisión, 35 V; tiempo de acumulación, 100 ms. La adquisición de datos se llevó a cabo en modo positivo, empleando un rango de m/z entre 80 y 800. Los datos se evaluaron mediante el software PeakView™.

2.6. Análisis estadístico

Con el objeto de evaluar el efecto del aceite esencial de hoja de canela (AEC) sobre la estabilidad y la calidad del AP a lo largo del tiempo de almacenamiento, se llevó a cabo un ANOVA simple para cada uno de los parámetros evaluados. Se consideró como factor la incorporación de AEC y como variables los parámetros químicos analizados. El procedimiento LSD (Least significant difference) se utilizó para comprobar las diferencias a un nivel de significación del 5%. El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo mediante el programa Statgraphics Centurion XVI (Manugistics, Rockville, MD, USA).

3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Composición del aceite esencial de canela

El aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) empleado en este estudio se analizó por GC-MS. Los compuestos más abundantes encontrados en el aceite esencial fueron eugenol y trans-cinamaldehído, que representaron el 81,5 y 15,4%, respectivamente, de la composición total del aceite esencial. Estos porcentajes coinciden con los encontrados en otros estudios para la misma especie de canela (Wang et al., 2009). Estos componentes mayoritarios representan aproximadamente el 97% del aceite esencial, habiendo sido previamente relacionados con cierta actividad antioxidante y antimicrobiana (Jayaprakasha et al., 2007; Musa y Arslan, 2011).

3.2. Evaluación de los parámetros químicos durante el almacenamiento

3.2.1. ACIDEZ LIBRE

La acidez libre, es un criterio muy utilizado para determinar la calidad del AP, en este sentido el Codex establece que para que un AP virgen tenga una calidad adecuada su valor de acidez libre no debe superar el 5% expresado en ácido palmítico (Codex, 1999). En este trabajo, el valor de acidez libre de la materia prima fue inferior a lo establecido en esta norma (ca. 3,9%, Figura 1) lo que indicaría la buena calidad del AP empleado en el estudio. Este valor es superior a los obtenidos por otros autores para este mismo aceite en otros estudios (Gan, et al., 2005; Narasimhan, et al., 2001). La evolución de la acidez libre de las muestras de AP aromatizadas con AEC y la muestra control durante el tratamiento de almacenamiento acelerado se muestra en la Figura 1. Como se puede observar, la acidez libre aumentó con el tiempo de almacenamiento en todas las muestras. Sin embargo, la adición de AEC ralentizó este incremento, lo que podría ser debido a una acción antioxidante sobre la muestra. Estos resultados coinciden con los datos obtenidos en otros estudios donde se evaluó el efecto de extractos vegetales y sus principios activos en la calidad de aceites vegetales (Inanc y Maskan, 2014; Man et al., 2000). El AP aromatizado con el mayor contenido de AEC (0,25%) tuvo valores de acidez significativamente menores ($p < 0,001$) que el aceite con un 0,1% de AEC durante todo el período de almacenamiento. Por lo tanto, se demuestra que la adición de AEC retrasa el aumento de la acidez libre, siendo este efecto dependiente de la concentración de AEC.

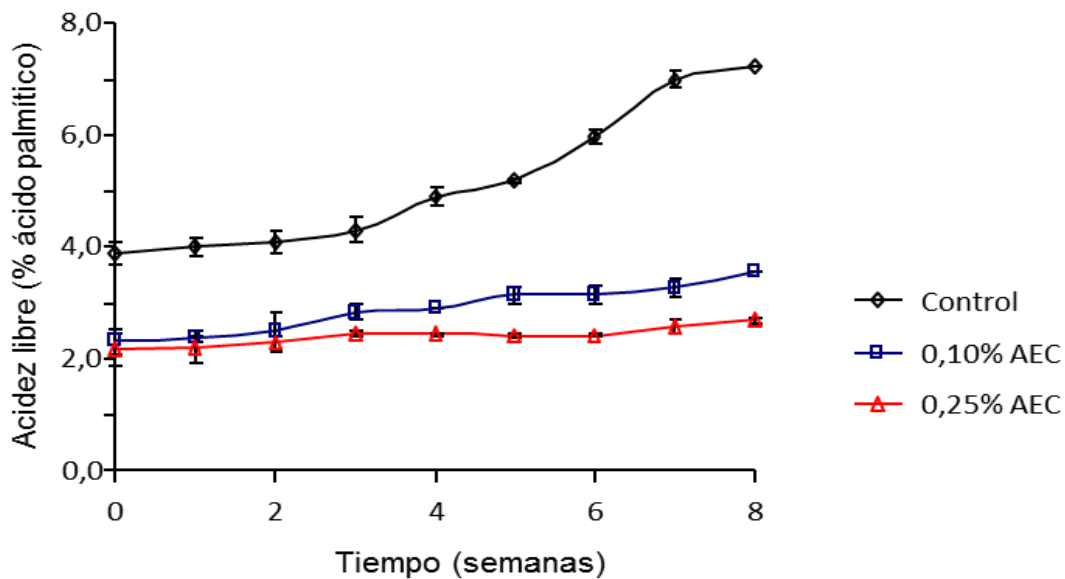


FIGURA 1. Acidez libre en las muestras de AP (control, con 0,1 y 0,25% de AEC) durante el almacenamiento acelerado.

3.2.2. ÍNDICE DE PERÓXIDOS (IP)

Otro parámetro importante empleado para evaluar la calidad del aceite de palma es el IP, siendo éste un indicador del nivel de oxidación incipiente de los lípidos o degradación oxidativa (Ngando, et al., 2011). Indirectamente, este parámetro también se emplea como medida del grado de oxidación inicial de grasas y aceites. La evolución del IP de las muestras con aceite esencial y la muestra control durante el almacenamiento acelerado se presenta en la Figura 2. Como se puede observar en esta figura, la adición del AEC reduce el proceso de oxidación del aceite durante el almacenamiento. Al inicio del estudio, los valores del IP fueron 0,71 y 0,55 meq de $O_2 \cdot kg^{-1}$ para las muestras aromatizadas con 0,1% y 0,25% respectivamente, mientras que para el control fue de 1,50 meq de $O_2 \cdot kg^{-1}$. Durante el periodo de almacenamiento, el valor del IP aumentó en todas las muestras, siendo los valores obtenidos al final del tiempo de almacenamiento cercanos a 3 meq de $O_2 \cdot kg^{-1}$ en el caso de las muestras aromatizadas y de 4 meq de $O_2 \cdot kg^{-1}$ en la muestra control. Durante todo el periodo de estudio las muestras con un 0,25% de AEC, presentaron los valores más bajos, indicando que el efecto protector del aceite esencial frente a la auto-oxidación depende de la cantidad de aceite esencial incorporado. Ninguna de las muestras superó los valores de 15 meq de $O_2 \cdot kg^{-1}$, valor establecido por el Codex como límite máximo para los aceites vegetales vírgenes y extraídos en frío (Codex, 1999). El efecto antioxidante que ejerció el AEC sobre el AP se acentuó especialmente a partir de la semana 4 de almacenamiento, momento a partir del cual las muestras control presentaron un incremento más pronunciado.

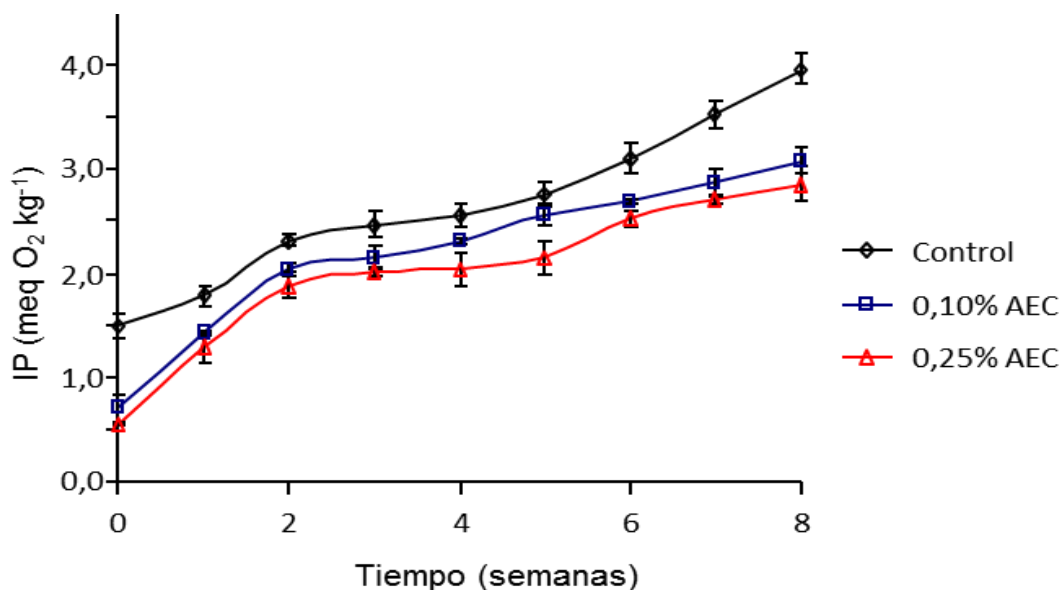


FIGURA 2. Evolución del IP en las muestras de AP (control, con 0,1% y 0,25% de AEC) durante el almacenamiento acelerado.

3.2.3. ABSORBANCIA ESPECÍFICA A 232 y 270 NM

La determinación de los dienos (K_{232}) y trienos (K_{270}) conjugados, es conocida por ser un método fiable para medir el deterioro oxidativo de aceites y se relaciona con la presencia de productos de oxidación primarios y secundarios, respectivamente. Como se puede observar en la Figura 3, ambos valores de K_{232} y K_{270} aumentaron significativamente durante el almacenamiento en todas las muestras. Sin embargo, la adición de AEC ralentizó la velocidad de la formación de los dienos y trienos conjugados; los resultados obtenidos coinciden con los obtenidos en otros estudios previos (Inanc et al., 2014; Man et al., 2000). Inanc et al. (2014) adicionaron extractos naturales y BHT (aditivo antioxidante) a AP durante un proceso de fritura. Los resultados obtenidos por estos autores muestran que hay una tendencia a aumentar el contenido de dienos con el tratamiento de fritura, pero en el caso de las muestras donde se incorporaron los extractos naturales y el BHT el incremento de los dienos fue lento en comparación con la muestra control. Además, estos autores observaron valores menores para las muestras que contenían los extractos naturales, ralentizándose la formación de los dienos y trienos por la acción de estos compuestos naturales.

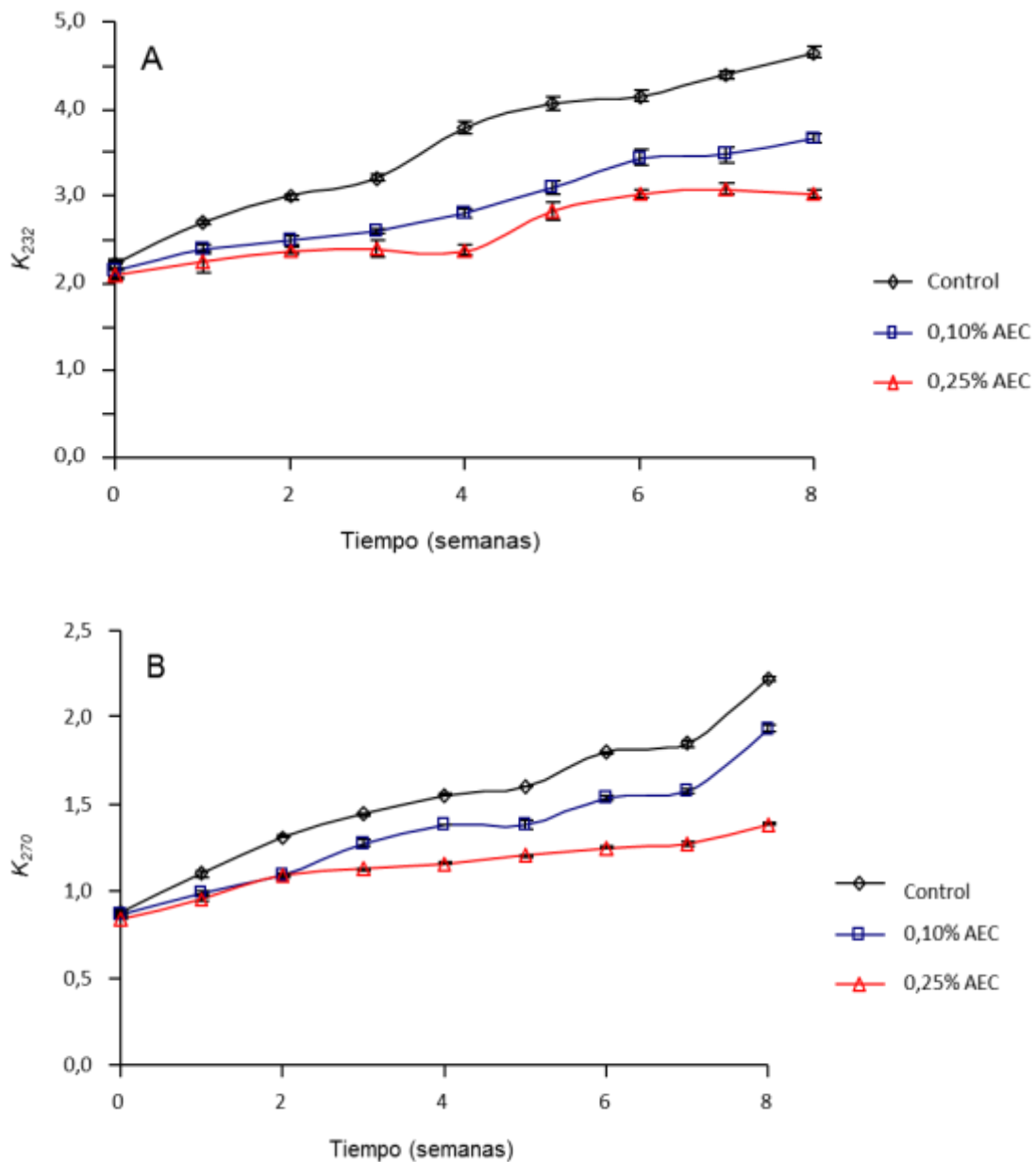


FIGURA 3. Evolución del contenido de dienos (A) y trienos (B) conjugados en las muestras de AP (control, con 0,1% y 0,25% de AEC) durante el almacenamiento acelerado.

3.3 Determinación de ácidos grasos mediante GC-FID)

Todas las muestras de AP control y aromatizadas con AEC fueron analizadas para determinar el contenido de ácidos grasos. En la Figura 4 se muestra, a modo de ejemplo, un cromatograma para una muestra de AP aromatizada con 0,1% de AEC a tiempo 0 de almacenamiento. El perfil obtenido fue similar para todas las muestras analizadas. En todos los casos, se detectó la presencia de ácido mirístico ($C_{14:0}$), ácido palmítico ($C_{16:0}$), ácido palmitoleico ($C_{16:1}$), ácido esteárico ($C_{18:0}$), ácido oleico ($C_{18:1}$), ácido linoleico ($C_{18:2}$), ácido linolenico ($C_{18:3}$) y ácido araquídico ($C_{20:0}$).

Una vez registrados los cromatogramas de todas las muestras, se calcularon los porcentajes obtenidos para cada uno de los ácidos grasos de todas las muestras durante el almacenamiento (Tabla 1). Los valores obtenidos fueron similares a los descritos previamente en la bibliografía para AP (Nagendran et al., 2000; Ogan, et al. 2017; Ong y Goh, 2002).

La incorporación de AEC no dio lugar a cambios significativos en el perfil de ácidos grasos ($p > 0,5$), ni tampoco se observaron diferencias significativas respecto al tiempo de almacenamiento ni en el nivel de aromatización ($p > 0,5$).

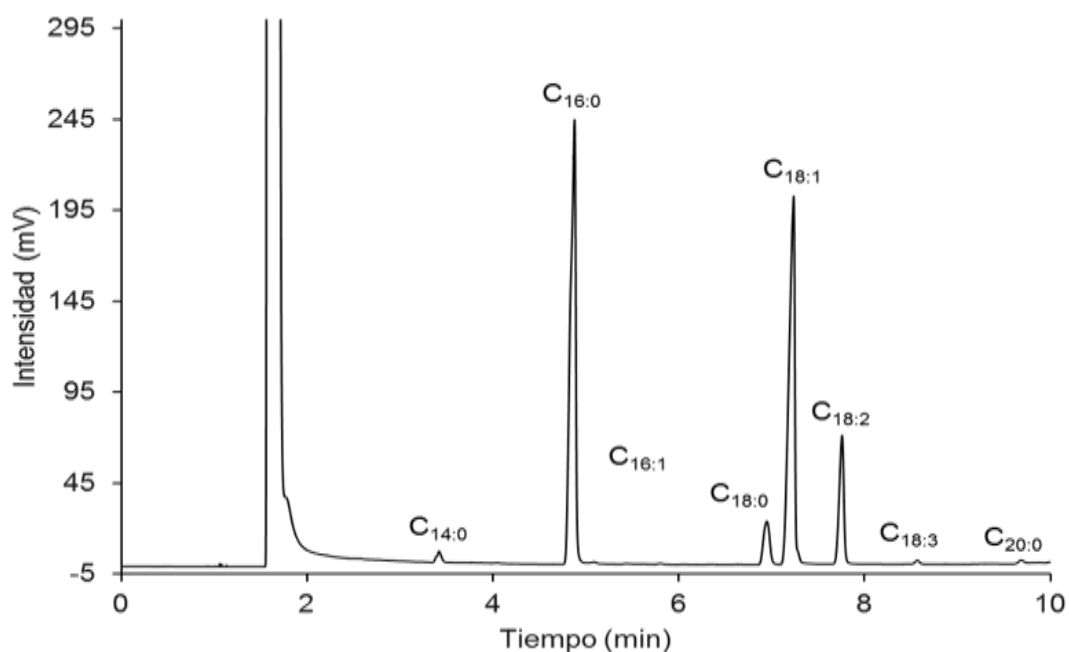


FIGURA 4. Cromatograma de los FAMES de una muestra de AP aromatizada con 0,1% de AEC a tiempo 0 de almacenamiento. Identificación de los picos: ácido mirístico (C_{14:0}), ácido palmítico (C_{16:0}), ácido palmitoleico (C_{16:1}), ácido esteárico (C_{18:0}), ácido oleico (C_{18:1}), ácido linoleico (C_{18:2}), ácido linolenico (C_{18:3}), ácido araquídico (C_{20:0}).

TABLA 1. Porcentaje de ácidos grasos obtenidos para las muestras de AP (control, con 0,1 y 0,25 % de AEC) durante el almacenamiento acelerado a 60 °C (media ± desviación estándar; n = 3)

| Compuesto | Control | | | 0,10 % AEC | | | 0,25 % AEC | | |
|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| | 0 semana | 4 semana | 8 semana | 0 semana | 4 semana | 8 semana | 0 semana | 4 semana | 8 semana |
| C14:0 | 0,93±0,03 | 0,93±0,02 | 0,98±0,13 | 0,84±0,14 | 0,91±0,02 | 0,95±0,001 | 0,91±0,002 | 0,96±0,02 | 0,93±0,03 |
| C16:0 | 42,57±1,05 | 42,92±0,59 | 44,01±0,88 | 43,58±0,43 | 43,12±0,05 | 43,91±0,03 | 43,54±0,06 | 44,41±0,73 | 43,74±1,03 |
| C16:1 | 0,11±0,01 | 0,11±0,01 | 0,10±0,003 | 0,11±0,01 | 0,10±0,001 | 0,10±0,01 | 0,11±0,003 | 0,12±0,01 | 0,11±0,001 |
| C18:0 | 5,13±0,19 | 5,11±0,06 | 4,96±0,38 | 5,09±0,09 | 5,19±0,03 | 5,11±0,01 | 5,08±0,02 | 5,07±0,07 | 5,13±0,13 |
| C18:1 | 39,45±0,68 | 39,41±0,41 | 38,69±1,06 | 38,86±0,33 | 39,19±0,04 | 38,71±0,01 | 38,83±0,11 | 38,28±0,56 | 38,83±0,67 |
| C18:2 | 11,14±0,18 | 10,86±0,09 | 10,53±0,50 | 10,85±0,12 | 10,79±0,04 | 10,56±0,01 | 10,84±0,02 | 10,51±0,09 | 10,54±0,16 |
| C18:3 | 0,32±0,01 | 0,30±0,01 | 0,29±0,03 | 0,30±0,01 | 0,30±0,002 | 0,29±0,001 | 0,30±0,002 | 0,29±0,005 | 0,29±0,0002 |
| C20:0 | 0,35±0,06 | 0,36±0,03 | 0,45±0,04 | 0,37±0,03 | 0,39±0,01 | 0,38±0,01 | 0,37±0,02 | 0,37±0,01 | 0,43±0,10 |
| AGS | 48,97±1,34 | 49,32±0,70 | 50,40±1,42 | 49,88±0,69 | 49,61±0,11 | 50,35±0,04 | 49,91±0,10 | 50,80±0,83 | 50,23±1,28 |
| AGMI | 39,56±0,68 | 39,52±0,42 | 38,79±1,07 | 38,97±0,34 | 39,30±0,04 | 38,81±0,01 | 38,94±0,12 | 38,39±0,57 | 38,94±0,67 |
| AGPI | 11,47±0,19 | 11,16±0,10 | 10,81±0,53 | 11,15±0,13 | 11,09±0,04 | 10,85±0,01 | 11,14±0,02 | 10,80±0,09 | 10,82±0,16 |

AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados

3.4. Determinación del contenido de tocoferoles y tocotrienoles mediante HPLC-UV

En primer lugar, se procedió a la optimización de las condiciones de separación de los tocoferoles y tocotrienoles. Para ello, se empleó una mezcla de patrones comerciales de tocoferoles (α -T, γ -T y δ -T) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) y un extracto de AP para discriminar los picos de los tocotrienoles y otros picos presentes en la matriz. Las condiciones cromatográficas iniciales de separación de tocoferoles y tocotrienoles fueron tomadas a partir del trabajo de Tsochatzis y Tsitouridou (2015). A partir de las condiciones establecidas en este trabajo, se evaluó inicialmente una fase móvil compuesta por acetonitrilo, metanol y 2-propanol en una proporción 40:55:5 (v/v/v) con elución isocrática con un caudal de $0,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y una temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Si bien los picos de los patrones de los tocoferoles fueron resueltos a línea base, los picos tentativamente asignados a los tocotrienoles y otros picos de la matriz salían solapados. Por ello, se procedió a la optimización de la fase móvil y de la temperatura de la columna.

Manteniendo en todos los casos un porcentaje de 2-propanol del 5%, los porcentajes de acetonitrilo se variaron entre un 40 y un 90%. Los mejores resultados se obtuvieron para una fase móvil compuesta por 80% acetonitrilo, un 15% de metanol y un 5% de 2-propanol. Por último, la temperatura de la columna se varió entre un 15 y un $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Los mejores resultados se obtuvieron para una temperatura de $20 \text{ }^\circ\text{C}$, por lo que se seleccionó para los próximos análisis. En la Figura 5 (A) se muestra un cromatograma de la mezcla de tocoferoles patrón y de una muestra de AP control a tiempo 0 de almacenamiento en las condiciones óptimas de separación.

Los picos de los tocoferoles y tocotrienoles que se observan en esta figura fueron confirmados mediante HPLC-MS. Para ello, se monitorizaron las siguientes m/z en modo positivo: 431/165 (α -T), 417/151 (γ -T), 403/137 (δ -T), 425/165 (α -T₃), 411/151 (γ -T₃) y 397/137 (δ -T₃).

Una vez optimizadas las condiciones de separación e identificados todos los picos de la muestra, se procedió a la inyección de todos los extractos de todas las muestras. En todas las muestras analizadas, se identificaron los siguientes compuestos: δ -T₃, γ -T₃, α -T₃ y α -T, siendo el compuesto mayoritario el γ -T₃ (ver Figura 5 (B) a modo de ejemplo).

A continuación, se prepararon rectas de calibrado de los 3 patrones de tocoferoles disponibles (α -T, γ -T y δ -T). Las rectas de calibrado se construyeron mediante la inyección de seis disoluciones estándar de cada uno de los patrones en el intervalo de concentración comprendido en 5 y $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En todos los casos, se obtuvieron líneas rectas con $r^2 > 0,996$. La recta de cada tocoferol se empleó para cuantificar su correspondiente tocotrienol. El contenido de tocotrienoles y de α -T encontrado en el AP control y aromatizado a tiempo 0 de almacenamiento se muestra en la Tabla 2. Los valores obtenidos para los AP estudiados concuerdan con los previamente publicados en la bibliografía para aceites de palma (Ogan et al., 2017; Tsochatzis y Tsitouridou, 2015).

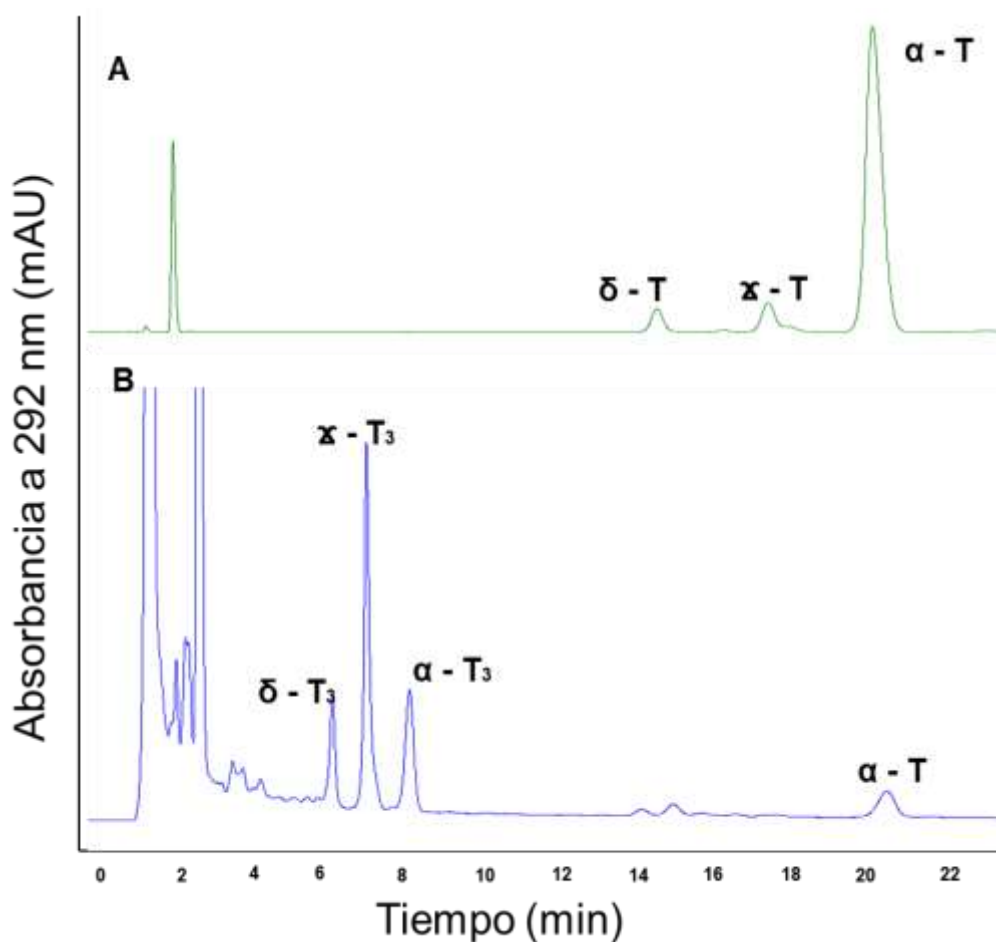


FIGURA 5. Cromatogramas de mezcla de tocoferoles patrones (A) y de una muestra de AP control a tiempo 0 de almacenamiento en las condiciones óptimas de separación (B)

TABLA 2. Contenido de α -tocoferol y α -, γ -, δ -T₃ en las muestras de AP control y aromatizado con 0,1% y 0,25% de AEC a tiempo de almacenamiento 0 y porcentaje de pérdida observado durante el almacenamiento.

| Compuesto | Concentración (mg kg ⁻¹) (t = 0) | % pérdida (t = 2) | % pérdida (t = 9) |
|---------------------------|--|-------------------|-------------------|
| δ - T ₃ | 60-65 | 25-28 | 44-46 |
| γ - T ₃ | 277-318 | 40-42 | 70-72 |
| α - T ₃ | 138-164 | 55-58 | 70-73 |
| α - T | 103-118 | 52-55 | 66-68 |

Una vez determinado el contenido de estos compuestos para todos los tiempos de almacenamiento, se observó una reducción significativa del mismo conforme aumentaban las semanas de almacenamiento ($p < 0,001$),

produciéndose principalmente durante las 2 primeras semanas de almacenamiento, tal y como se observa en la Tabla 2, donde se perdió una media aproximada comprendida entre un 80% (para el α -T) y un 58% (para el γ - y δ -T₃s). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los contenidos de estos compuestos para el AP control y los aceites aromatizados para cada tiempo de almacenamiento, lo que indicaría que la adición de AEC no tuvo un efecto protector en la oxidación del AP durante el proceso de almacenamiento.

4.- CONCLUSIONES

En el presente estudio, se utilizó el aceite esencial de canela para mejorar la estabilidad oxidativa del aceite de palma durante un tratamiento de almacenamiento acelerado. La adición de aceite esencial de canela en ambos niveles de concentración mejoró la estabilidad del aceite de palma durante su almacenamiento, de forma que su incorporación en el aceite redujo el impacto de las condiciones de almacenamiento sobre la acidez libre, el IP y los valores de K_{232} y K_{270} . Sin embargo, el uso del aceite esencial de canela no modificó el perfil de ácidos grasos libre y ni el de tocoferoles. A partir de los resultados obtenidos en este estudio se puede concluir que la incorporación de aceite esencial de canela mantiene la calidad y retrasa el proceso de oxidación de lípidos en el aceite de palma, prolongando la vida útil de este producto. Es por ello que este aceite esencial podría ser utilizado como un antioxidante natural en aceite de palma y también en otros productos alimenticios con un alto contenido en grasas saturadas, sustituyendo los antioxidantes sintéticos que son cuestionados por su seguridad en la salud humana.

5.- REFERENCIAS

- Al-Jaber, N. A., Awaad, A. S., y Moses, J. E. 2011. Review on some antioxidant plants growing in Arab world. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(4), 293-307.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1997. *Official Methods of Analysis*, 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia, USA.
- Arcoleo, G., Indovina, M., Varvara, G., Lanza, C., y Mazzaglia, A. 2009. Improving olive oil shelf life with lemon essential oil. *Chem Eng Trans*, 17, 849-854.
- Asensio, C. M., Nepote, V., y Grosso, N. R. 2011. Chemical Stability of Extra-Virgin Olive Oil Added with Oregano Essential Oil. *Journal of food science*, 76, S445–S450.
- Asensio, C. M., Nepote, V., y Grosso, N. R. 2012. Sensory attribute preservation in extra virgin olive oil with addition of oregano essential oil as natural antioxidant. *Journal of food science*, 77(9). S294–S301.
- Ayadi, M. A., Grati-Kamoun, N., y Attia, H. 2009. Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and chemical toxicology*, 47(10), 2613-2619.
- Chen, X., Zhang, Y., Zu, Y., Yang, L., Lu, Q., y Wang, W. 2014. Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 385-391.
- CODEX (Codex Alimentarius Commission). 1999. *Codex standards for specified vegetable oils: CODEX STAN 210* (última revisión 2005). Rome FAO / OMS.
- CODEX (Codex Alimentarius Commission). 2017. Documento de debate sobre la sustitución del índice de acidez por ácidos grasos libres en los aceites de palma virgen en la norma

- de aceites vegetales especificados (CODEX STAN 210-1999). Dirección URL:<
<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius>> [Consulta: 29 Jun.2017].
- Comité del Codex sobre grasas y aceites. 2017. Documento de debate sobre la sustitución del índice de acidez por ácidos grasos libres en los aceites de palma virgen en la norma de aceites vegetales especificados (Codex Stan 210-1999). Kuala Lumpur, Malasia, 27 de febrero - 3 de marzo 2017, 25ª Sesión, Tema 12 del programa.
- Gan, H. L., Tan, C. P., Man, Y. C., NorAini, I., Nazimah, S. A. H. 2005. Monitoring the storage stability of RBD palm olein using the electronic nose. *Food Chemistry*, 89(2), 271-282.
- Gambacorta, G., Faccia, M., Pati, S., Lamacchia, C., Baiano, A., y La Notte, E. 2007. Changes in the chemical and sensorial profile of extra virgin olive oils flavored with herbs and spices during storage. *Journal of Food Lipids*, 14(2), 202-215.
- Horuz, T. İ., y Maskan, M. 2015. Effect of the phytochemicals curcumin, cinnamaldehyde, thymol and carvacrol on the oxidative stability of corn and palm oils at frying temperatures. *Journal of food science and technology*, 52(12), 8041.
- IUPAC, Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. 1987. 7th edn, Ed by Paquot C and Hautfenne A. Blackwell Scientific, Oxford.
- Inanç, T., Maskan, M. 2012. The potential application of plant essential oils/extracts as natural preservatives in oils during processing: a review. *Journal of Food Science and Engineering*, 2(1), 1.
- Inanç, T., Maskan, M. 2014. Effect of carvacrol on the oxidative stability of palm oil during frying. *Grasas y Aceites*, 65(4), 042.
- Jayaprakasha, G. K., Negi, P. S., Jena, B. S., Rao, L. J. M. 2007. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3), 330-336.
- Khemakhem, I., Yaiche, C., Ayadi, M. A., y Bouaziz, M. 2015. Impact of aromatization by Citrus limetta and Citrus sinensis peels on olive oil quality, chemical composition and heat stability. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(5), 701.
- Maestri, D. M., Nepote, V., Lamarque, A. L., y Zygadlo, J. A. 2006. Natural products as antioxidants. *Phytochemistry: Advances in research*, 37(661), 105-135.
- Man, Y. B. C., Jaswir, I. 2000. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 69(3), 301-307.
- Miguel, M. G., Figueiredo, A. C., Costa, M. M., Martins, D., Barroso, J. G., y Pedro, L. 2003. Effect of the essential volatile oils isolated from *Thymbra capitata* (L.) Cav. on olive and sunflower oils. *Grasas y Aceites*, 54(3), 219-225.
- Moldao-Martins, M., Beirao-da-Costa, S., Neves, C., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., Beirao-da-Costa, M. L. 2004. Olive oil flavoured by the essential oils of *Mentha piperita* and *Thymus mastichina* L. *Food quality and preference*, 15(5), 447-452.
- Musa, Mehmet y; Arslan, Derya 2011. Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. *Food Chemistry*, 129, 171-174.
- Nagendran, B., Unnithan, U. R., Choo, Y. M. y Kalyana Sundram. 2000. Characteristics of red palm oil, a carotene- and vitamin E-rich refined oil for food uses. *Food and Nutrition Bulletin*, vol. 21, n°. 2.
- Narasimhan, S., Rajalakshmi, D., Chand, N., Mahadeviah, B., Indiramma, A. R. 2001. Palm oil quality in different packaging materials sensory and physicochemical parameters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(3), 257-265.
- Ngando Ebongue Frank, Mpondo Mpondo Albert, Dikotto Ekwe Laverdure, Koono Paul. 2011. Assessment of the quality of crude palm oil from smallholders in Cameroon. *Journal of Stored Products and Postharvest Research*, 2, 52-58.
- Ogan, I., Mba, Marie-Josée Dumont, Michael Ngadi. 2017. Thermostability and degradation kinetics of tocopherols and carotenoids in palm oil, canola oil and their blends during deep-fat frying. *LWT - Food Science and Technology* 82, 131-138.
- Ong, A. S. H. y Goh S. H. 2002. Palm oil: A healthful and cost-effective dietary component. *Food and Nutrition Bulletin*, vol. 23, n°. 1
- Rached, M. B., Abdallah, M., & Guerfel, M. 2014. Compositional quality of Zalmati virgin olive oil: Effect of the aromatization process with rosemary essential oils (*Rosmarinus officinalis* L.). *African Journal of Agricultural Research*, 9(44), 3276-3282.

- Reglamento (UE) N o 1129/2011 de la comición de 11 de noviembre de 2011 por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo para establecer una lista de aditivos alimentarios de la Unión.
- Rodrigues, N., Malheiro, R., Casal, S., Manzanera, M., Asensio, S., Bento, A, Pereira, J. 2012 Influence of spike lavender (*Lavandula latifolia* Med.) essential oil in the quality, stability and composition of soybean oil during microwave heating. *Food Chem Toxicol* 50:2894–2901.
- Saavedra, T., Dandlen, S. A., Neves, M. A., Martins, D., Antunes, M. D., Figueiredo, A. C. Miguel, M. G. 2015. Stability of olive oils during storage in the presence of *Thymbra capitata* essential oil. *Agro FOOD Industry Hi Tech*, 26, 2. 61–65.
- Singh, G., Maurya, S., deLampasona, M. P., y Catalan, C. A. 2006. Chemical constituents, antimicrobial investigations and antioxidative potential of volatile oil and acetone extract of star anise fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86:111–121.
- Singh, G., Maurya, S., Catalan, C. A. 2007. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and chemical toxicology*, 45(9), 1650-1661.
- Sousa, A., Casal, S., Malheiro, R., Lamas, H., Bento, A., Pereira, J. A. 2015. Aromatized olive oils: Influence of flavouring in quality, composition, stability, antioxidants, and antiradical potential. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 22-28.
- Taghvaei, M., Jafari, S. M. 2015. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *Journal of food science and technology*, 52(3), 1272.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A., Saija, A. 2005. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food chemistry*, 89(4), 549-554.
- Tsochatzis Emmanouil D. y Tsitouridou- Tzimou Roxani 2015. Validated RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Whole Grain Barley Using Matrix Solid-Phase Dispersion. *Food Anal. Methods* 8:392–400.
- Wang, R., Wang, R., Yang, B. 2009. Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 289–292.