

## Calorimetría diferencial de barrido. Influencia de la composición del aceite de oliva virgen en su perfil térmico

Por A. Jiménez Márquez\*, G. Beltrán Maza, M.P. Aguilera Herrera y M. Uceda Ojeda

Estación de Olivicultura y Elaiotecnia. C.I.F.A. 'Venta del Llano'  
Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria  
y de Agricultura Ecológica. C.I.C.E.-Junta de Andalucía  
Ctra. Bailén-Motril, km 18,4. 23620 Mengibar (Jaén)  
Telf.: 953 370150; \*antonio.jimenez.ext@juntadeandalucia.es

### RESUMEN

**Calorimetría diferencial de barrido. Influencia de la composición del aceite de oliva virgen en su perfil térmico.**

Muestras de aceite de las variedades 'Arbequina' y 'Picual', con diferentes contenidos en polifenoles, son analizadas mediante calorimetría diferencial de barrido a 1, 5 y 10 °C/min de velocidad de enfriamiento y de calentamiento, obteniéndose las diferencias entre duplicados más bajas cuando el análisis se efectúa a 5 °C/min.

Se observa un efecto varietal importante ( $p < 0.05$ ) en los perfiles DSC de estos aceites; estas diferencias son más apreciables en los perfiles y valores de temperaturas de los picos de transición, obtenidos durante proceso de calentamiento.

También se observa que aceites con niveles medio-altos en el contenido en polifenoles ( $> 250$  ppm) presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre valores de las temperaturas de los picos de transición.

**PALABRAS-CLAVE:** Aceite de oliva virgen – Calorimetría diferencial de barrido – Polifenoles – Variedades.

### SUMMARY

**Differential scanning calorimetry. Influence of virgin olive oil composition on its thermal profile.**

Samples of olive oil from the cultivars 'Arbequina' and 'Picual', with different contents in polyphenols, were analyzed by means of differential scanning calorimetry. Three speeds of cooling/heating (1, 5 and 10 °C/min) were analyzed with the differences between duplicates being lowest when the analysis was carried out at 5 °C/min.

An important varietal effect ( $p < 0.05$ ) was observed in the profiles DSC of these oils. These differences are more valuable in the profiles and values of the temperatures of the transition peaks, obtained during the melting process.

Oils with medium-high ( $> 250$  ppm) levels of polyphenol content showed a significant effect ( $p < 0.05$ ) in the values of the temperatures of the all transition peaks.

**KEY-WORDS:** Cultivars – Differential scanning calorimetry – Polyphenols – Virgin olive oil.

## 1. INTRODUCCIÓN

Como es conocido, la Calorimetría Diferencial de Barrido (Differential Scanning Calorimetry, DSC)

es una técnica de análisis térmico empleada en la medida de temperaturas y flujos de calor asociados tanto a transiciones de fases de la materia (cristalización, fusión y evaporación) como a las reacciones químicas de hidrólisis y oxidación, cuya evolución está en función del tiempo y de la temperatura.

Esta técnica viene utilizándose desde hace varias décadas en el sector de los aceites y grasas, ya que el perfil térmico, obtenido mediante análisis DSC, está relacionado con muchas propiedades físicas y químicas de estos productos.

Dentro de las aplicaciones dadas a la DSC se puede destacar su utilización para la caracterización de diferentes aceites de semillas a través de sus perfiles térmicos DSC (Tan y Che Man, 2002; Tan y Che Man, 2000; Nassu y Goç Alves, 1999), el estudio de la cinética de oxidación y medida de la estabilidad oxidativa de diversas grasas (Tan et al., 2002; Rudnik et al., 2001; Adhvaryu et al., 2000; Simon et al., 2000; Gupta y Jaworski, 1991), el estudio de adulteraciones (Marikkar et al., 2002; Coni et al., 1994), la determinación de componentes polares en aceites sometidos a altas temperaturas (Tan y Che Man, 1999), y la identificación de la procedencia de semillas (Dyszal y Pettit, 1990).

La particular forma de obtención del aceite de oliva virgen, hace que este aceite, cuando es de calidad (Virgen Extra o Virgen), sea, prácticamente, el único aceite de gran producción que puede consumirse directamente sin necesidad obligada de pasar por refinación. Esto proporciona al aceite de oliva virgen de calidad una consideración de zumo de fruto, obtenido de forma natural (Mataix y Martínez de Victoria, 1988).

La calidad de este producto depende de su composición y ésta puede verse influenciada por diversos factores que van desde los agronómicos, como la variedad, que pueden afectar a su composición intrínseca, a los industriales, derivados del proceso de elaboración, que afectan principalmente a parámetros de calidad (Uceda y Hermoso, 1998), por lo que es razonable pensar que estos pueden tener su reflejo en una modificación de ciertas características de los aceites, habitualmente analizadas mediante DSC, como son: el punto de congelación y el punto de fusión.

Uno de los grupos de componentes, característicos en los aceites de oliva virgen, son los polifenoles con valores que oscilan ampliamente entre 50 – 1000 ppm dependiendo de la variedad, estado del fruto y factores industriales de elaboración. El aceite de oliva virgen de calidad, presenta un elevado contenido de estos compuestos (Vazquez et al., 1973; Uceda y Hermoso, 1997) y confieren al aceite una serie de propiedades químicas, sensoriales y nutricionales que han originado un interés reciente en el estudio de la influencia de estos componentes en las propiedades físico-químicas y organolépticas del aceite de oliva virgen.

El objetivo de este trabajo es, en primer lugar, establecer las condiciones óptimas de trabajo de la DSC para su utilización con este tipo de aceite vegetal, empleando muestras genuinas y, en segundo lugar, analizar los efectos, que la variedad junto a los componentes menores que se eliminarán por lavados del aceite con agua, principalmente polifenoles, tienen sobre los perfiles DSC y parámetros por ésta determinados.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Muestras de aceite

Se han utilizado muestras de aceite de oliva procedentes de dos variedades de olivo (*Olea europaea* L.) cultivadas en el campo de experimentación del Centro, localizada en Mengibar (Jaén): 'Arbequina'(Ar) y 'Picual'(Pi). Para este estudio, se ha utilizado una muestra de cada variedad.

El aceite ha sido obtenido en laboratorio, a partir de aceitunas recogidas directamente del árbol, mediante el sistema ABENCOR (Martinez-Suárez et al., 1975), en el cual, la aceituna se muele mediante un molino de martillos y la masa originada se bate a 28 °C durante 30 minutos sin adición de coadyuvante de extracción (talco o agua). Inmediatamente, la masa batida es centrifugada durante 4 minutos, a la misma temperatura de batido. El aceite separado es recogido en una probeta y dejado reposar hasta decantación. Finalmente, el aceite decantado es filtrado y almacenado a -25 °C hasta el momento de su análisis.

Para obtener diferentes niveles de contenido en compuestos polifenólicos en los aceites, una fracción de éstos es sometida a un lavado con agua. 500 g de aceite original es sometido a una extracción líquido-líquido, repetida durante cuatro veces, con agua a 30 °C y una relación 1:1. Los aceites extraídos son finalmente filtrados a través de filtro de tipo jarabe con sulfato sódico para eliminar el resto de agua. Estos aceites constituyen las muestras de bajo contenido en polifenoles y otros componentes del aceite solubles en agua.

### 2.2. Determinaciones analíticas

#### 2.2.1. Composición en ácidos grasos

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos, preparados mediante transmetilación básica en calien-

te con metilato sódico seguida de metilación ácida con metanol sulfúrico. Los ésteres metílicos se analizan en un equipo cromatográfico Perkin-Elmer Autosystem (Perkin-Elmer LTD) dotado con una columna capilar de sílice fundida BPX-70 de 25m × 0.25mm d.i y 0.25µm de diámetro de partícula (SGE Scientific Pty Ltd. Australia), utilizando helio como gas portador. La temperatura del horno fue de 190 °C (isoterma). El inyector (tipo split/splitless) y el detector de ionización de llama (FID) se mantuvieron a 250 °C. Se inyectó, mediante sistema automático, un volumen de 0.5µL.

Los resultados se expresan como porcentaje de área normalizada, para los principales ácidos grasos: Palmítico (C16:0), Palmitoleico (C16:1), Esteárico (C18:0), Oleico (C18:1), Linoleico (C18:2) y Linolénico (C18:3) (CEE 2568/91).

#### 2.2.2. Composición en triacilgliceroles

La composición en triacilgliceroles es determinada por análisis directo del aceite de oliva virgen, disuelto en acetona al 1%, mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un equipo Perkin-Elmer (Perkin-Elmer Ltd) dotado de una bomba isocrática, un horno de termostatación de la columna y un refractómetro diferencial. La columna utilizada fue de fase reversa RP-18 de 250 mm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno, rellena de Spherisorb ODS-2 de 5 mm de tamaño de partícula (Merck). La separación se realizó utilizando como fase móvil Acetona:Acetonitrilo (55:45 v/v) a un flujo de 1.5 mL/min y una temperatura de columna de 40 °C.

Los resultados se expresan como porcentaje de área normalizada respecto a los triacilgliceroles obtenidos en las condiciones de análisis HPLC (CEE 2568/91).

#### 2.2.3. Contenido en polifenoles totales

Los compuestos fenólicos se han evaluado mediante espectrometría a 725 nm por medida de la absorción producida, en medio básico con reactivo de Folin-Ciocalteu, por los extractos hidroalcohólicos obtenidos al tratar tres veces una solución de aceite-hexano con metanol-agua (60:40). Los resultados se han expresado en mg kg<sup>-1</sup> de ácido cafeico (Vazquez et al., 1973).

## 2.3. Análisis DSC

Para el análisis térmico de las muestras se ha utilizado un calorímetro diferencial de barrido DSC-SOQ de Shimadzu (Shimadzu Corporation, Japón).

Las muestras de aceite, entre 10 – 14 mg, han sido pesadas con precisión de ± 0.002 mg en un crisol de aluminio que se coloca en el calorímetro, donde se deja estabilizar en corriente de nitrógeno (a 20 mL/min.) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Como referencia se utiliza un crisol de aluminio vacío de la misma capacidad.

Las muestras son sometidas a procesos de congelación y de fusión bajo tres programas de temperatura diferentes consistente en: calentamiento de las muestras desde la temperatura ambiente hasta los 50 °C, bajo una corriente de nitrógeno a 20 mL/min., isoterma a esta temperatura durante 5 minutos e inicio de las rampas de enfriamiento desde los 50°C a -80 °C con velocidades de 1, 5 y 10 °C/min; isoterma a -80 °C durante 5 minutos e inicio de las rampas de calentamiento a 1, 5 y 10 °C/min., hasta los 50 °C, momento en que finaliza el análisis.

Se han recogido los datos de flujo de calor, en mW, en función del tiempo y de la temperatura, a partir de los cuales se han obtenido los valores de las temperaturas de los picos de transición:  $P_T$  y  $p_i$ , de la temperatura de inicio:  $T_o$  y  $t_o$ ; y de la temperatura de finalización:  $T_e$  y  $t_e$ ; de las transiciones durante la evolución de los procesos de congelación y fusión, respectivamente.

Durante cada uno de estos procesos se define el inicio y fin de la transición como el punto de temperatura al cual la extrapolación de la línea base y la extrapolación de la pendiente en el estado de transición se cortan.

## 2.4. Análisis estadísticos

Los datos son analizados aplicando el análisis de la varianza de una vía mediante el software Statistix 7.0 (Analytical Software). Para determinar la significancia entre las medias, a nivel de  $p < 0.05$ , se utiliza el test de Tukey.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Caracterización de los aceites

En la Tabla 1, se exponen los datos de la composición en ácidos grasos y contenido en polifenoles totales de las muestras de aceite de oliva virgen empleadas en el trabajo.

Como puede observarse en dicha tabla, las dos variedades empleadas presentan unos perfiles de ácidos grasos muy diferenciados, siendo el aceite de la variedad Picual el de mayor contenido en ácido oleico, con más de un 80% y menor contenido

en linoleico, inferior al 3%, frente a los valores proporcionados por el aceite de la variedad Arbequina con valores por debajo del 70%, para el ácido oleico y por encima del 10%, para el linoleico.

Respecto a los compuestos polifenólicos, los valores más elevados en cada variedad corresponde a los aceites originales, antes de ser sometidos al proceso de lavado, mientras que los valores menores pertenecen a los mismos aceites tras el proceso de extracción líquido-líquido a que son sometidos para reducir el contenido de estos compuestos. Los valores de polifenoles de los aceites originales se sitúan dentro de lo que puede considerarse habitual, para estas variedades, en aceites de principios de campaña (Beltrán G, 2000), siendo los valores más altos los de la variedad Picual. El proceso de lavado consigue reducir los contenidos entre un 60 – 75%, obteniéndose, para cada variedad, diferentes niveles de polifenoles bajo una misma estructura glicerídica.

Respecto a los ácidos grasos, estos se distribuyen en los diferentes triacilgliceroles que se reflejan en la Tabla 2 y a partir de los cuales se observan, también, importantes diferencias entre estas dos variedades. Los dos principales triacilgliceroles de los aceites de la variedad Picual son la trioleína (OOO) y la dioleilpalmitina (OOP), con valores del orden del 52% y del 26%, respectivamente. En la variedad Arbequina, junto a estos dos triacilgliceroles, adquieren importancia otros triacilgliceroles con ácido linoleico en su estructura como la dioleil-linoleína (OOL), palmítol-oleil-linoleína (POL) y oleil-dilinoleína (OLL), con valores del 17%, 10.6% y 4%, respectivamente. La presencia de mayor contenido en palmítico en los aceites de la variedad Arbequina, también se deja notar por el incremento en el contenido de triacilgliceroles con este ácido graso saturado. De hecho, esta variedad es la que presenta el mayor porcentaje de triacilgliceroles mono y disaturados.

### 3.2. Efecto de la velocidad de enfriamiento y contenido en polifenoles en las características de las curvas de cristalización del aceite de oliva virgen.

Las curvas de flujo de calor obtenidas a diferentes velocidades del proceso de enfriamiento, en el

Tabla 1  
Caracterización de las muestras de aceite de oliva virgen. Composición en ácidos grasos (% de área normalizada) y contenido en polifenoles totales. ArSL, arbequina sin lavar; ArL, arbequina lavada; PiSL, Picual sin lavar; PiL, Picual lavada.

Variedad	Ácidos grasos (% relativo)						Polifenoles totales (mg kg <sup>-1</sup> A. Cafeico)
	P	Po	S	O	L	Ln	
ArSL	15.35	1.57	1.77	69.22	10.57	0.45	153
ArL	14.99	1.51	1.80	69.56	10.57	0.46	36
PiSL	11.30	0.85	2.88	80.68	2.95	0.54	521
PiL	11.23	0.85	2.90	80.79	2.93	0.52	191

(P, palmítico; Po, palmítolico; S, esteárico; O, oleico; L, linoleico; Ln, linolénico.)

Tabla 2  
Composición en triglicilgliceroles de las muestras de aceite de oliva virgen, dispuestas según su orden de elución mediante HPLC, de acuerdo con su número de carbonos equivalentes (ECN). Resultados en porcentaje normalizado.

ACEITES**				
Triglicéridos*	ArSL	Ar	PiSL	PiL
ECN 42				
LLL	—	—	—	—
OLLn	—	—	—	—
PLLn	—	—	—	—
ECN44				
OLL	3.9	4.4	1.4	1.4
PLL	1.6	1.8	—	—
POLn	—	—	—	—
ECN 46				
OOL	16.8	17.8	8.2	8.7
POL	10.6	10.7	2.7	2.7
PPL	1.5	1.2	—	—
ECN48				
OOO	32.4	33.2	52.5	52.9
OOP	24.6	23.8	26.1	25.2
PPO	5.1	4.0	2.6	2.2
ECN 50				
SOO	2.7	2.4	5.6	5.8
POS	0.9	0.7	1.0	1.1
ENC52				
SOS	—	—	—	—
Ms	39.5	38.6	34.3	33.7
Ds	7.5	5.9	3.5	3.3
Ti	53.1	55.5	62.1	62.9

\*ECN = N- 2i; N= número de átomos de carbono de los ácidos grasos del triglicilglicerol; i= número de insaturaciones del triglicilglicerol. Ms, porcentaje de triglicilgliceroles monosaturados. Ds, porcentaje de triglicilgliceroles disaturados. Ti, porcentaje de triglicilgliceroles triinsaturados.)  
\*\* Nomenclatura de los aceites igual que en Tabla 1.

paso desde los 50 a los -80 °C, presentan una evolución respecto de la temperatura tal y como se refleja en las Figuras 1 y 2. A partir de estas curvas DSC se observa, en primer lugar, la presencia de una gran transformación exotérmica que ocurre a bajas temperaturas, cuya intensidad y valor depende, principalmente, de la velocidad con que se conduce el proceso de cristalización. En la Tabla 3, se presentan los valores de estos picos de temperatura.

A mayor velocidad de enfriamiento, el pico de temperatura de la principal transformación exotérmica se desplaza hacia temperaturas más bajas. Por otro lado se observa, también, que las curvas DSC obtenidas a la velocidad más baja están más suavizadas que las obtenidas a las otras dos velocidades. Tan and Che Man (2002) indican que, a bajas velocidades, el aceite tiene más tiempo para alcanzar el equilibrio térmico necesario para que la congelación se efectúe sin grandes transiciones térmicas, de ahí que la intensidad del pico de temperatura sea menor a esta velocidad. A mayores velocidades de enfriamiento aparecen en las cur-

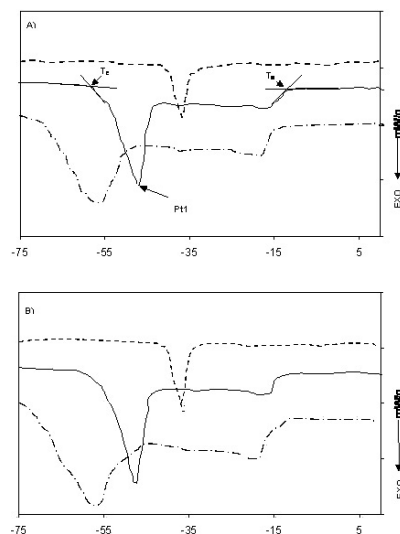


Figura 1  
Curvas de congelación DSC, obtenidas a diferentes velocidades de enfriamiento, de aceites de la variedad Arbequina con diferentes contenidos de polifenoles. A) Aceite original, ArSL. B) Aceite lavado, ArL. Rampas: 1 °C/min. —; 5 °C/min, - - -; 10 °C/min, . . . Eje de ordenadas en °C.

vas DSC más manifestaciones exotérmicas. El inicio de la congelación del aceite (T<sub>0</sub>) se manifiesta gráficamente a las velocidades de 5 y 10 °C/min, de cuyas curvas se deduce que hay un inicio de ésta a partir de los -14 y -16 °C, respectivamente y a partir de los cuales los aceites se van congelando gradual y paulatinamente, con una manifestación exotérmica más o menos constante, hasta alcanzar la congelación completa, manifestada ésta por una gran cesión de calor que es registrada mediante el pico de transformación exotérmica.

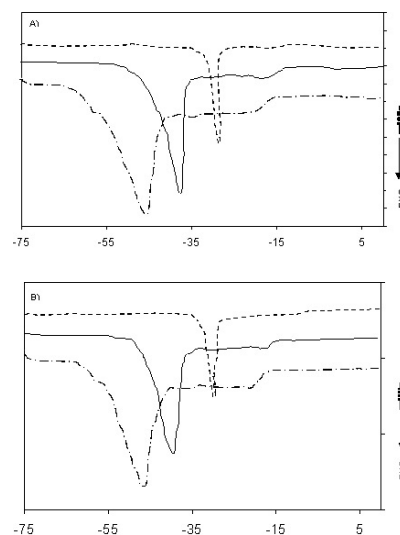


Figura 2  
Curvas de congelación DSC, obtenidas a diferentes velocidades de enfriamiento, de aceites de la variedad Picual con diferentes contenidos de polifenoles. A) Aceite original, PiSL. B) Aceite lavado, PiL. Identificación de las curvas como en Figura 1. Eje de ordenadas en °C.



Tabla 3  
**Datos de temperatura, en °C, del pico de temperatura exotérmico (P<sub>tt</sub>) y del inicio y fin de la transición (T<sub>o</sub> y T<sub>e</sub>) en las curvas de congelación DSC de las Figuras 1 y 2.**

Muestras	Rampas (°C/min)	Temperaturas (°C)						
		Onset(T <sub>o</sub> )		Transición 1(P <sub>tt</sub> )*		Endset(T <sub>e</sub> )		
		Media±SD	C.V.(%)	Media±SD	C.V.(%)	Media±SD	C.V.(%)	
ArSL	1	-33.7±0.7	2.0	-37.0±0.4	C	1.0	-41.6±0.2	0.4
	5	-14.5±0.4	2.5	-47.9±0.9		1.8	-60.6±0.1	0.2
	10	-16.1±0.3	1.7	-56.8±0.1		0.1	-71.2±1.3	1.8
ArL	1	-33.6±1.8	5.3	-37.7±1.3	C	3.4	-43.1±0.5	1.2
	5	-14.1±0.2	1.4	-47.9±0.2		0.5	-61.2±0.1	0.2
	10	-15.9±0.3	2.0	-56.7±0.5		0.8	-71.8±1.5	2.1
PiSL	1	-27.8±0.4	1.4	-28.8±0.2	A	0.8	-34.3±1.3	3.7
	5	-14.9±0.1	1.2	-37.5±0.3		0.8	-51.6±0.5	1.0
	10	-16.4±0.4	2.6	-45.9±0.1		0.2	-68.3±0.7	1.1
PiL	1	-29.2±0.4	1.2	-29.7±0.4	B	1.5	-35.4±0.7	2.0
	5	-16.0±0.1	0.7	-39.6±0.2		0.5	-51.4±0.4	0.8
	10	-17.0±0.5	2.7	-44.5±3.3		3.5	-65.0±3.0	4.6

(Letras diferentes indican diferencias significativas a p = 0.05.)

Bajo el punto de vista de la técnica instrumental, la velocidad de enfriamiento de 5°C/min, parece la más adecuada ya que a esta velocidad, las diferencias entre duplicados, en los valores de temperatura de T<sub>o</sub>, P<sub>T</sub> y T<sub>e</sub> e indicadas mediante los correspondientes coeficientes de variación, son en general los más bajos y constantes, con valores que van desde 0.2 al 2.5%, frente a los rangos de 0.4 – 5.3% y 0.1 – 4.6% de las rampas de 1 y 10 °C/min, respectivamente. La elección de esta rampa permite, a su vez, comparar curvas DSC obtenidas por diferentes autores con otros tipos de aceites vegetales, al ser la velocidad de cristalización más utilizada por éstos.

A partir de los datos proporcionados a esta velocidad de enfriamiento, un análisis de las medias de las temperaturas del pico de transición P<sub>T</sub>, indica la existencia de diferencias significativas en el punto de congelación, entre variedades y dentro de la variedad Picual, entre muestras con diferente contenido en polifenoles.

La presencia de ácidos grasos poliinsaturados, como C18:2 (L) y C18:3(Ln), produce un descenso del punto de congelación de los aceites (Tan y Che Man, 2000). En los aceites analizados, la composición ácida de las variedades se diferencia, fundamentalmente, por su contenido en C18:1 y C18:2, lo que condiciona su composición triacilglicérica, como se aprecia en la Tabla 2 y por tanto su comportamiento DSC. Así, el aceite de la variedad Picual (tabla 3) congela a temperaturas más elevadas, entre -28.8 a -45.9 °C para el aceite sin lavar y -29.7 a -44.5 °C para el aceite lavado, según la rampa de trabajo, solidificándose completamente antes que el aceite de la variedad Arbequina cuyos picos de temperatura se sitúan a temperaturas más bajas, en torno a los -37.0 a -56.8 °C para el aceite sin lavar y -37.7 a -56.7 °C para los aceites la-

vados. Este efecto varietal también se deja entrever en las diferencias de temperatura entre el punto de inicio de la transformación T<sub>o</sub> y el punto final T<sub>e</sub>, menor para la variedad Picual que para la Arbequina, lo que indica que es necesaria una mayor cantidad de energía para congelar completamente al aceite de esta última, que al de la variedad Picual, de menor contenido en triacilglicerol con Ln en su estructura.

Respecto a los polifenoles y dentro de una misma estructura triacilglicérica, no tienen efecto significativo cuando estos se encuentran a niveles bajos, como ocurre en el caso de la variedad Arbequina (tabla 3). Sin embargo, cuando estos se encuentran en niveles medios-altos, como es el caso de la variedad Picual, se pueden producir diferencias significativas en los perfiles DSC de estos aceites respecto de los que poseen niveles más bajos; en este caso, se observa que la presencia de polifenoles en el aceite adelanta ligeramente su punto de congelación y el inicio del proceso de congelación; con valores de T<sub>o</sub>, para una rampa de trabajo de 10 °C/min, de -27.8 °C y -29.2 °C en los aceites de la variedad Picual sin lavar y lavado, respectivamente.

### 3.3. Efecto de la velocidad de calentamiento y contenido en polifenoles en las características de las curvas DSC de fusión del aceite de oliva virgen

Los perfiles característicos de los termogramas obtenidos mediante DSC en el proceso de fusión desde los -80 °C a los 50 °C, para las muestras analizadas en este trabajo, se presentan en las Figuras 3 y 4, a partir de las cuales se observa una clara diferencia de comportamiento entre las dos

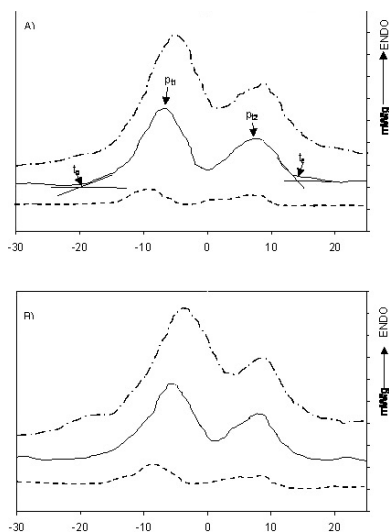


Figura 3

Curvas de fusión DSC, obtenidas a diferentes velocidades de enfriamiento, de aceites de la variedad Arbequina con diferentes contenidos de polifenoles. A) Aceite original, ArSL. B) Aceite lavado, ArL. Eje de ordenadas en °C. Identificación de las curvas como en Figura 1.

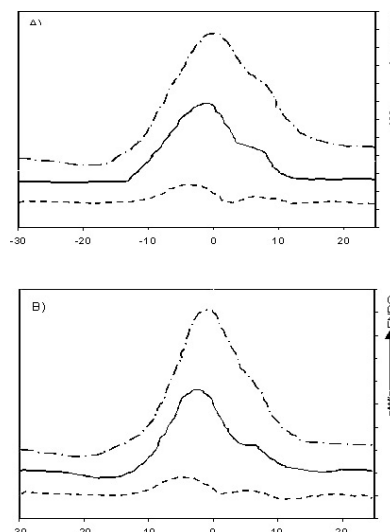


Figura 4

Curvas de fusión DSC, obtenidas a diferentes velocidades de enfriamiento, de aceites de la variedad Picual con diferentes contenidos de polifenoles. A) Aceite original, PiSL. B) Aceite lavado, PiL. Eje de ordenadas en °C. Identificación de las curvas como en Figura 1.

variedades durante este proceso de calentamiento. Las muestras de la variedad Arbequina presentan dos picos endotérmicos importantes, mientras que las muestras de la variedad Picual presentan un pico endotérmico principal y otro secundario solapado a éste, configurando un pequeño hombro.

De manera similar a lo observado en el proceso de congelación, la velocidad con que se conduce el proceso de fusión tiene una incidencia notable en el perfil de las curvas y en la posición e intensidad de las transformaciones endotérmicas registradas. Así, en las muestras de aceite de la variedad Picual, a 1 °C/min se observa dos transiciones endotérmicas alrededor de los -3.5 y 6.0 °C, al aumentar la velocidad de este proceso la primera transformación va creciendo en magnitud más rápidamente que la segunda originando su difuminación sobre la primera y manifestándose, finalmente, como un pequeño hombro de ésta. En el caso del aceite de la variedad Arbequina, las dos transformaciones endotérmicas observadas a 1 °C/min, se mantienen cuando se trabajan con velocidades más altas, si bien se produce una mejor definición de éstas. En general se aprecia que al incrementar la velocidad del proceso de fusión, se produce un aumento en la magnitud de las transformaciones y un desplazamiento de los picos de temperatura hacia temperaturas más altas, si bien este desplazamiento es menos espectacular que en el caso del proceso de congelación.

En la Tabla 4 se detallan los valores de temperatura de estos picos ( $p_{t1}$  y  $p_{t2}$ ), así como del inicio ( $t_o$ ) y fin de la transformación ( $t_e$ ). De nuevo la rampa de 5 °C/min es la que produce, en general, coeficientes de variación más bajos y constantes, con un rango entre 0.2 y 12.1%, frente a los rangos

de 0.1-22.8% y 0.5-50.6% de las rampas 1 °C/min y 10 °C/min, respectivamente.

La influencia de la variedad se deja entrever claramente a partir de los perfiles DSC de estos aceites. El análisis de las medias de los picos de temperatura  $p_{t1}$  y  $p_{t2}$ , en la tabla 4, indica diferencias significativas entre los valores obtenidos para las muestras de Arbequina respecto de las muestras de la variedad Picual y dentro de esta variedad, aparecen diferencias significativas en los valores de temperatura del segundo pico endotérmico según el contenido en polifenoles.

Utilizando los trazos obtenidos a 5 °C/min, se observa como los picos de temperatura ( $p_{t1}$ ) y el punto de inicio de la transformación ( $t_o$ ), aparecen a temperaturas más altas en los aceites con menor contenido en ácidos grasos poliinsaturados; así, la variedad Arbequina, de mayor contenido en C18:2 (10.57%) es la que empieza a fundir antes, con valores de  $t_o$  y  $p_{t1}$  en torno a los -22 °C y -6 °C, respectivamente, mientras que la variedad Picual inicia este proceso alrededor de los -15 °C, con un primer pico de transición endotérmica a -1.6 °C, aproximadamente. Esta primera transformación endotérmica se ve influenciada por el contenido de triacilgliceroles triinsaturados y de la presencia, en estos, del ácido graso L. Los aceites de la variedad Picual, con mayor contenido en trioleína (OOO), presentan los valores del primer pico de temperatura próximos a los que presenta la trioleína pura. Che Man et al. (1999) obtienen para este triacilgliceroles puro un único pico endotérmico a 2,98 °C.

Por otro lado, los aceites de la variedad Arbequina son los que poseen el mayor contenido en triacilgliceroles disaturados, como puede apreciarse en la Tabla 2 y en los que la suma de los triacil-

Tabla 4  
 Temperaturas, en °C, de los picos de temperatura ( $p_{t1}$ ) y ( $p_{t2}$ ), inicio de la transición ( $t_o$ ) y final de la transición ( $t_e$ ) de las curvas de fusión de las Figuras 3 y 4.

Muestras	Rampas (°C/min)	Temperaturas (°C)							
		Onset( $t_o$ )		Transición 1 ( $p_{t1}$ )*		Transición 2 ( $p_{t2}$ )*		Endset( $t_e$ )	
		Media±SD	C.V.(%)	Media±SD	C.V.(%)	Media±SD	C.V.(%)	Media±SD	C.V.(%)
ArSL	1	-15.8±0.4	2.3	-9.3±0.3	2.9	8.1±0.2	2.4	10.5±0.1	1.1
	5	-21.6±0.9	4.4	-6.9±0.0	B 0.2	7.8±0.2	A 2.0	12.8±0.3	2.0
	10	-26.8±0.8	3.1	-5.1±0.1	1.7	8.5±0.1	1.2	14.7±0.4	2.5
ArL	1	-16.4±1.8	11.2	-8.8±0.7	7.5	-8.0±0.4	4.8	11.2±0.2	2.1
	5	-22.7±0.8	3.7	-6.0±0.7	B 12.1	8.2±0.1	A 1.6	13.2±0.1	0.8
	10	-27.0±0.2	0.6	-4.1±0.6	13.6	8.6±0.5	5.7	15.9±0.3	2.2
PiSL	1	-13.4±0.7	5.3	-3.6±0.1	2.4	6.1±0.0	0.5	14.6±3.3	22.8
	5	-14.9±0.8	5.2	-1.3±0.1	A 3.7	6.7±0.2	B 3.1	14.4±0.3	2.3
	10	-21.0±0.1	0.5	0.2±0.1	50.6	7.0±0.2	2.3	23.7±0.1	0.5
PiL	1	-12.4±0.4	3.4	-3.8±0.1	1.7	6.1±0.0	0.1	10.5±0.7	6.3
	5	-16.1±0.1	0.5	-1.9±0.1	A 7.4	5.6±0.1	C 1.1	13.4±0.2	1.4
	10	-20.2±3.0	15.0	-0.5±0.1	15.7	6.2±0.3	4.8	20.3±1.2	6.1

(Letras diferentes indican diferencias significativas a  $p = 0.05$ .)

glicerol monosaturados: POL+POO y disaturados: PPL+PPO presenta un peso importante en su composición triacilglicéridica, siendo estos los más implicados en la transformación de fase que origina el segundo pico de temperatura ( $p_{t2}$ ), que toma valores en estos aceites en torno a 8.0 °C, frente a los 6.0 °C a los que aparece un hombro en los aceites de la variedad Picual. Che Man et al. (1999), encuentran picos de temperatura de fusión entre 12.12 y 15.05 °C, para la dioleilpalmitina (OOP). Estos mismos autores (Tan y Che Man, 2000) encuentran, para una muestra de aceite de oliva, dos picos endotérmicos a -6.32 °C y 2.21 °C. Perfiles similares han sido obtenidos en trabajos preliminares de aplicación de la DSC en aceite de oliva (Jiménez, 2003; Jiménez y Beltrán, 2003), confirmando el efecto varietal observado en este trabajo.

Respecto al contenido en polifenoles, se observa, de manera similar al proceso de congelación, un efecto significativo cuando estos se encuentran a niveles medios-altos, como es el caso de los aceites de la variedad Picual. En la variedad Arbequina no se observa efecto alguno. En la variedad Picual, el primer pico no muestra diferencias significativas aunque presenta una tendencia similar a la del segundo pico, donde si aparecen estas diferencias. La presencia de polifenoles a niveles medios-altos retrasa el proceso de fusión en los aceites analizados.

#### 4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos, en las condiciones desarrolladas en este trabajo para el aceite de oliva virgen, indican, de manera similar a lo obtenido por Tan and Che Man (2002), una importante influencia de la velocidad con que se conducen los procesos de congelación y de fusión en este tipo de

aceite sobre las características de las curvas DSC obtenidas, especialmente en cuanto a la posición y magnitud de las transformaciones endotérmicas y exotérmicas registradas.

La elección de una rampa de trabajo adecuada es necesaria, pues, para poder llevar a cabo comparaciones entre distintos tipos de aceites de oliva u otros tipos de grasas analizadas por diferentes autores, eligiéndose la rampa de 5 °C/min por ser la que produce resultados más repetitivos.

Por otro lado, el perfil de las curvas DSC de los aceites de oliva virgen depende, principalmente, de la composición en triacilglicerol, siendo las curvas obtenidas durante el proceso de fusión las que permiten obtener una información más diferenciada entre variedades.

La presencia de componentes menores en el aceite de oliva virgen, los polifenoles en este caso, inciden ligeramente en la posición de las transformaciones producidas en cualquiera de los procesos cuando se encuentran en unos niveles medios-altos. Se observa que la descongelación de los aceites se efectúa antes en aquellos con poca presencia de polifenoles.

En general, la calorimetría diferencial de barrido puede constituirse en una técnica útil y complementaria en la caracterización del aceite de oliva virgen, siendo, además, una técnica rápida, no destructiva, que no utiliza reactivos y perfectamente automatizable.

#### AGRADECIMIENTOS

A la unidad DSC, UV-NIR de los servicios externos de la Universidad de Granada. Trabajo financiado mediante el proyecto PIA03-005.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adhvaryu A; Erhan SZ; Liu ZS. y Perez JM. 2000. Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Thermochim. Acta* **364**, 87-97.
- Beltran Maza G. 2000. Tesis Doctoral. Universidad de Jaén.
- Che Man YB; Haryati T; Ghazali HM, Asbi BA. 1999. Composition and thermal profile of crude Palm Oil and its products. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **76**, 237-242.
- Coni E, Di Pasquale M, Coppolilli P, Bocca A. 1994. Detection of Animals Fats in Butter by Differential Scanning Calorimetry: A Pilot Study. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **71**, 807-810.
- Dyszal SM, Pettit BC. 1990. Determination of the country origin of Pistacho Nuts by DSC and HPLC. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **67**, 947-951.
- Gupta SK, Jaworski RJ. 1991. An evaluation of the efficacy of antioxidants in soap by Differential Scanning Calorimetry (DSC). *J. Am. Oil Chem. Soc.* **68**, 278-279.
- Jiménez A. 2003. Resultados preliminares en la caracterización de mezclas de aceite de oliva por Calorimetría Diferencial de Barrido. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* **4** (1) 47-54.
- Jiménez Márquez A, Beltrán Maza G. 2003. Aplicación de la calorimetría diferencial de barrido (DSC) en la caracterización del aceite de oliva virgen. *Grasas y Aceites* **54**, 403-409
- Marikkar JMN; Lai OM; Ghazali HM and Che Man YB. 2002. Compositional and thermal analysis of RBD palm oil adulterated with lipase-catalyzed interesterified lard. *Food Chem.* **76**, 249-258.
- Mataix J, Martínez-Victoria E. 1988. El aceite de oliva. Bases para el futuro. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Martínez-Suárez JM, Muñoz E, Alba J, Lanzón A. 1975. Informe sobre utilización del analizador de rendimientos Abencor. *Grasas y Aceites* **26**, 379-385.
- Nassu RT, Goncalves LAG. 1999. Determination of melting point of vegetable oils and fats by differential scanning calorimetry (DSC) technique. *Grasas y Aceites* **50**, 16-21
- Rudnik E; Szczucinska A; Gwardiak H; Szulc A, Winiarska A. 2000. Comparative studie of oxidative stability of linseed oil. *Thermochim. Acta* **370**, 135-140.
- Reglamento CEE nº 2568/91. Características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis. Anexo VIII y Anexo X.
- Simon P; Colman L; Niklová I, Schmidt S. 2000. Analysis of the period of oxidation of edible oils by Differential Scanning Calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **77**, 639-642
- Tan CP, Che Man YB. 1999. Quantitative Differential Scanning Calorimetry Analysis for determining total polar compounds in heated oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **76**, 1047-1057.
- Tan CP, Che Man YB. 2000. Differential Scanning Calorimetry Analysis of edible oils: comparison of thermal properties and chemical composition. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **77**, 143-155
- Tan CP, Che Man YB. 2002. Differential scanning calorimetry analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation. *Food Chem.* **76**, 89-102.
- Tan CP, Che Man YB; Selamat J, Yusoff MSA. 2002. Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chem.* **76**, 385-389.
- Uceda M y Hermoso M (1998). La calidad del aceite de oliva en El cultivo del olivo. Ed. Barranco D; Fernández-Escobar R., Rallo L. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Vázquez Roncero A, Janer del Valle C y Janer del Valle ML. 1973. Determinación de polifenoles totales en el aceite de oliva. *Grasas y Aceites* **24**, 350-357.

Recibido: 31/1/06  
 Aceptado: 22/12/06