

Aspectos químico-físicos del aceite de girasol ozonizado

Rebeca Hernández Tápanes, Goitybell Martínez Téllez y Maritza F. Díaz Gómez.

Centro de Investigaciones del Ozono, Avenida 15 y 230, No. 1313, Apartado Postal 6412, Siboney, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 24 de octubre de 2003. Aceptado: 8 de diciembre de 2003.

Palabras clave: aceite de girasol ozonizado, ozono, índice de peróxidos, densidad relativa, viscosidad, RMN-¹H.
Key words: ozonized sunflower oil, ozone, peroxides index, relative density, viscosity, ¹H-NMR.

RESUMEN. El conocimiento de las propiedades químico-físicas de los aceites vegetales ozonizados es de gran importancia para su caracterización e identificación. En este estudio se realizó una correlación entre la densidad relativa y la viscosidad con el índice de peróxidos del aceite de girasol ozonizado, obtenido a diferentes dosis de ozono. Además, se identificaron algunos productos oxigenados formados después de la reacción de ozonización mediante Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN-¹H). El índice de peróxidos y la densidad relativa presentaron una relación lineal con un coeficiente de correlación de 0,9991 y un coeficiente de determinación del 99,82 %, mientras que el primero y la viscosidad mostraron una relación exponencial con un coeficiente de determinación del 98,52 %. Para el intervalo del índice de peróxidos de 230 a 759 mmol-equiv./kg aumenta la densidad relativa de 0,935 a 0,973 y la viscosidad de 0,037 a 0,190 Pa · s. Estos datos demuestran que a medida que avanza la reacción de ozonización en el aceite de girasol, aumenta la concentración de las especies oxigenadas, lo que incrementa a su vez, su densidad y viscosidad. Los compuestos oxigenados tales como ozónidos, hidroperóxidos y aldehídos fueron identificados por RMN-¹H. Los resultados sugieren que las propiedades químico-físicas del aceite de girasol ozonizado pueden proporcionar una información valiosa relacionada con el grado de ozonización. Este estudio puede ser la base de futuras investigaciones químicas de los aceites vegetales ozonizados.

ABSTRACT. The knowledge of the physical chemical properties of ozonized vegetable oils has a great importance for its characterization and identification. In this study a correlation of the relative density and viscosity with the peroxides index of the ozonized sunflower oil was carried out. Furthermore, main formed oxygenated products was identified after the ozonization by means of Proton Nuclear Magnetic Resonance (¹H-NMR) signals. The peroxide index and the relative density showed a linear relationship with a correlation coefficient of 0.999 1 and a determination coefficient of 99.82 %, while the peroxide index and the viscosity showed an exponential relationship with a determination coefficient of 98.52 %. For samples between 230 and 759 mmol-equiv./kg of peroxides index we obtained values in a range of 0.935 to 0.973 for the relative density, and values from 0.037 to 0.190 Pa · s for the viscosity. An increase in peroxides index, in viscosity and in relative density were observed during the course of ozonization reaction. ¹H-NMR technique was used for identification of oxygenated compounds such as ozonides, hydroperoxides and aldehydes. These results suggest that physical chemical properties can provide valuable information about the ozonization degree of sunflower oil. This study could be the basis of future chemical researches of ozonized vegetable oils.

INTRODUCCION

El aceite de girasol ozonizado (OLEOZON[®]) presenta carácter germicida por lo que es muy utilizado en diferentes patologías de la piel tales como epidermofitosis, piodermatitis y herpes simples.

Las propiedades químico-físicas de los aceites vegetales refinados son de gran importancia para su caracterización, entre las cuales, la densidad y la viscosidad son índices importantes para su identificación.¹ Otro valioso aspecto es el índice de peróxidos, el cual puede ser considerado como un indicador químico de calidad.²

Por otro lado, un método utilizado en la caracterización estructural de los aceites vegetales, lo constituye la técnica espectroscópica de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN-¹H), la cual ofrece una visión espectral completa del aceite vegetal de una forma rápida y sencilla.³⁻⁷

Al reaccionar el ozono con el aceite de girasol refinado se forma un conjunto de productos oxigenados tales como hidroperóxidos, ozónidos y aldehídos, los cuales modifican las propiedades químico-físicas del aceite.⁸

La caracterización químico-física de los aceites vegetales ozonizados ha sido poco estudiada, siendo el estudio de la densidad, la viscosidad y el índice de peróxidos aspectos de gran utilidad para la determinación del grado de ozonización de estos aceites. Además, la RMN-¹H puede identificar las señales pertenecientes a los productos oxigenados formados después de la reacción de ozonización.⁹⁻¹³

El objetivo de este estudio fue determinar la posible correlación existente entre la densidad y la viscosidad y el índice de peróxidos del aceite de girasol ozonizado, obtenido a diferentes dosis de ozono y además, identificar por RMN-¹H algunos de los compuestos oxigenados formados en la reacción.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Se utilizó aceite de girasol, calidad comestible, marca Ideal, de procedencia Argentina.

Procedimiento general de ozonización

Para la obtención de aceite de girasol ozonizado a diferentes índices de peróxidos (IP), se realizó la ozonización de 200 mL de aceite de girasol en un reactor de borboteo a temperatura ambiente. La reacción fue seguida durante 2,5 h. Se tomaron cinco muestras de 10 mL a diferentes tiempos de reacción (0,5; 1; 1,5; 2 y 2,5 h). A continuación, se les determinó el índice de peróxidos y luego, fueron almacenadas en frascos de cristal a (5 ± 3) °C.

Generación de ozono

El ozono fue generado mediante el paso del oxígeno a un flujo constante de 72 L/h, a través de un ozonizador modelo TRAILIGAZ (Labo, Francia) 12-02 a un voltaje fijo de 120 V. La concentración inicial de ozono fue de 81,6 mg/L según el equipo medidor de ozono OZOMAT (Anseros, Alemania).

Determinación del índice de peróxidos

Se pesaron 0,5 g de muestra y se mezclaron con una disolución de ácido acético glacial-cloroformo 3:2 v/v. Se añadieron 0,5 mL de una disolución saturada de yoduro de potasio. La mezcla se dejó reposar durante dos minutos, después, se añadieron 30 mL de agua destilada y se valoró lentamente con una disolución de tiosulfato de sodio 0,1 mol/L, agitando de forma continua hasta la casi desaparición del color amarillo. Se añadieron 5 mL de una disolución indicadora de almidón y se continuó la valoración hasta la desaparición del color azul. El resultado se calculó mediante la expresión:

$$IP = \left(\frac{M \cdot V}{Pm} \right) \cdot 1\ 000$$

donde:

M Concentración del tiosulfato de sodio (0,1 mol/L).

V Volumen consumido de tiosulfato de sodio en la valoración (mL).

Pm Peso de la muestra.^{2,14}

Esta determinación se realizó por triplicado para cada muestra de aceite de girasol ozonizado.

Determinación de la viscosidad

Se determinó la viscosidad dinámica a 30 °C en un viscosímetro rotatorio Rheomat Mettler RM 180.¹⁵ Las mediciones fueron realizadas cinco veces para cada muestra de aceite de girasol ozonizado.

Determinación de la densidad relativa

La densidad relativa del aceite vegetal se determinó con respecto al agua, para ello, se utilizó un picnómetro y el cálculo se realizó mediante la razón entre la masa de un volumen de la sustancia (aceite girasol ozonizado) a 20 °C y la masa de un volumen igual de agua a 4 °C.¹⁶ Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Obtención de espectros de RMN-¹H

Los espectros de RMN-¹H fueron registrados en un espectrómetro Bruker AC-250 F. Se utilizó CDCl₃ como disolvente y TMS como referencia interna. Se empleó un ancho espectral de 5 kHz pulsos de 60° (5 µs), 8 s de repetición de pulsos y una memoria interna de 32 kbytes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al ozonizar aceite de girasol con diferentes dosis de ozono y distintos tiempos de reacción, aumenta el índice de peróxidos (Tabla 1), resultado que coincide con lo reportado por Díaz y col.^{9,10} para la reacción del ozono con los ácidos grasos insaturados.

La densidad relativa (d 20 °C/4 °C) del aceite de girasol virgen se encuentra en el intervalo de 0,918 a 0,923.¹ Los resultados de las pesadas para las muestras de aceite de girasol ozonizado a 20 °C y para el agua a 4 °C, demostraron que cuando el

aceite de girasol es ozonizado, la densidad relativa aumenta en dependencia del grado de ozonización del aceite (Tabla 2). Este incremento de la densidad puede ser debido a que aumenta la cantidad de compuestos peroxídicos en el medio. Las determinaciones de la densidad hechas al aceite de girasol ozonizado y al agua presentaron un coeficiente de variación inferior al 0,04 %.

La relación entre la densidad relativa y el índice de peróxidos reveló la existencia de una correlación lineal entre ambos (Fig. 1), con un coeficiente de correlación de 0,999 1 y un coeficiente de determinación del 99,82 %. Ambos coeficientes resultaron superiores a los reportados para una recta de ajuste de modelo lineal, los cuales son de 0,99 para el coeficiente de correlación y del 98 % para el coeficiente de determinación, respectivamente.¹⁷ Este resultado indicó una correspondencia entre los valores predichos por las rectas de ajuste y los obtenidos en los ensayos.

Por otra parte, a medida que aumenta la concentración de compuestos peroxídicos se incrementa la viscosidad del medio en el intervalo de IP estudiado (230 a 759 mmol-equiv./kg) (Tabla 3). Este aumento de la viscosidad pudiera ser una medida de la polimerización por condensación que tiene lugar de los peróxidos que se van formando durante la ozonización del aceite de girasol o por la formación de compuestos de mayor peso molecular que los triglicéridos originalmente presentes en el aceite.¹⁸

El análisis de la viscosidad del aceite de girasol ozonizado con respecto al contenido de peróxidos, medidos a través del IP, reveló una relación exponencial (Fig. 2), con un coeficiente de determinación adecuado (mayor de 98 %) según lo establecido por González y col.¹⁷

En el espectro de RMN-¹H del aceite de girasol (Fig. 3) se pudo observar un multiplete entre δ = 5,4 y

Tabla 1. Parámetros relacionados con la ozonización del aceite de girasol e índices de peróxidos respectivos.

Tiempo de ozonización (h)	Dosis de ozono (mg de O ₃ /g de muestra)	Índice de peróxidos (mmol - equiv./kg)
0,5	15,79	230
1,0	31,25	400
1,5	46,38	510
2,0	61,20	615
2,5	75,71	759

5,3 ppm perteneciente a los protones olefínicos de los ácidos grasos; una señal dobleto de dobleto entre $\delta = 4,1$ y $4,4$ de los protones del glicerol; una señal triplete en $2,77$ ppm del grupo metilénico que se encuentra entre los protones olefínicos; una señal triplete en $2,3$ perteneciente al grupo metilénico en posición α con respecto al grupo

carbonilo; un multiplete a $\delta = 2,0$ ppm de los grupos metilénicos que se encuentran a ambos lados de los protones olefínicos; una señal multiplete en $\delta = 1,62$ ppm perteneciente al grupo metilénico que se encuentra en posición β con respecto al grupo carbonilo; una señal en $\delta = 1,3$ ppm de los grupos metilénicos de las cadenas de ácidos grasos y por últi-

mo, una señal triplete en $\delta = 0,89$ ppm del grupo metilo terminal. El espectro de RMN- ^1H correspondiente al aceite de girasol ozonizado con un índice de peróxidos de 615 mmol-equiv./kg (Fig. 4) mantuvo las mismas señales comentadas para el aceite de girasol (Fig. 3), aunque debido a la ozonización aparecieron otras señales tales como un multiplete entre $\delta = 5,1$ y $5,2$ ppm perteneciente a los ozónidos, un triplete en $\delta = 9,5$ ppm de los protones aldehídicos y un multiplete en $\delta = 2,45$ ppm de los protones de los hidroperóxidos originados. La formación de estos productos de ozonización depende de la concentración de ozono utilizada, del medio empleado y del tiempo de ozonización.⁹⁻¹¹

Estos compuestos oxigenados formados a partir de la ozonización del aceite de girasol e identificados mediante RMN- ^1H , son responsables de los cambios en las propiedades químico-físicas de este aceite y de su efecto germicida.^{8,19} Se conoce que al aumentar las especies oxigenadas se incrementa el índice de peróxidos en sistemas modelos como el oleato⁹ y linoleato¹¹ de metilo ozonizados. En este trabajo se demuestra que para el aceite de girasol ozonizado el proceso ocurre de forma similar, es decir, al aumentar el índice de peróxidos se incrementa de forma lineal la densidad relativa y exponencial la viscosidad.

Estos resultados sugieren, que si se continúa el proceso de ozonización del aceite de girasol hasta un índice de peróxidos de 759 mmol-equiv./kg, aumentará la concentración de especies oxigenadas y conjuntamente, la densidad relativa y la viscosidad del medio.

CONCLUSIONES

Propiedades químico-físicas tales como el índice de peróxidos, la densidad y la viscosidad del aceite de girasol ozonizado se modifican a

Tabla 2. Pesos de las muestras de aceite ozonizado a $20\text{ }^\circ\text{C}$ y del agua a $4\text{ }^\circ\text{C}$ y densidad relativa respectivas.

IP (mmol-equiv./kg)	Aceite de girasol ozonizado a $20\text{ }^\circ\text{C}$				
	PM (g)	PM- P _o (g)	d($20\text{ }^\circ\text{C} / 4\text{ }^\circ\text{C}$)	DE	CV (%)
230	19,479 0	9,510 4	0,935 7	0,006 8	0,03
400	19,582 7	9,614 1	0,945 9	0,008 1	0,04
510	19,672 0	9,703 4	0,954 7	0,005 0	0,00
615	19,761 3	9,792 1	0,963 5	0,005 0	0,02
759	19,858 8	9,890 2	0,973 1	0,001 3	0,01
Agua					
Peso (g)	20,133 5	20,132 4	10,163 8	0,007 8	0,04
20,124 1					
20,139 5					

PM Media aritmética del peso de los picnómetros. PM-P_o Promedio del peso de los picnómetros menos el peso del picnómetro vacío. d($20\text{ }^\circ\text{C} / 4\text{ }^\circ\text{C}$) Densidad relativa. Peso (g) Peso del picnómetro con agua a $4\text{ }^\circ\text{C}$. DE Desviación estándar. CV Coeficiente de variación.

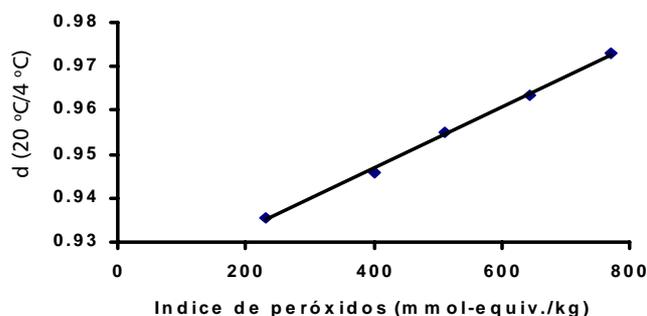


Fig. 1. Relación lineal entre el IP y la densidad relativa de las muestras de aceite de girasol ozonizado.

Tabla 3. Viscosidad del aceite de girasol ozonizado con diferentes índices de peróxidos.

IP (mmol-equiv./kg)	Viscosidad (Pa · s)					Media (Pa · s)	DE	CV (%)
	1	2	3	4	5			
230	0,037	0,037	0,037	0,036	0,037	0,037	0,000 4	1,22
400	0,058	0,060	0,059	0,059	0,059	0,059	0,000 7	1,20
510	0,082	0,083	0,082	0,082	0,082	0,082	0,000 4	0,54
615	0,101	0,103	0,103	0,102	0,095	0,101	0,003 3	3,32
759	0,189	0,191	0,190	0,191	0,191	0,190	0,000 9	0,47

IP Índice de peróxidos. DE Desviación estándar. Media Media aritmética de los valores de viscosidad. CV Coeficiente de variación.

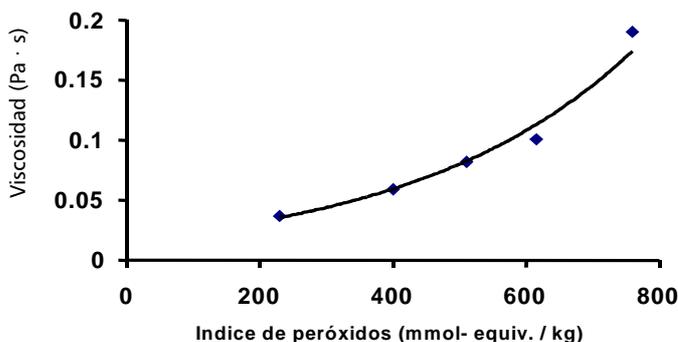


Fig. 2. Correlación entre la viscosidad y el índice de peróxidos para el aceite de girasol ozonizado.

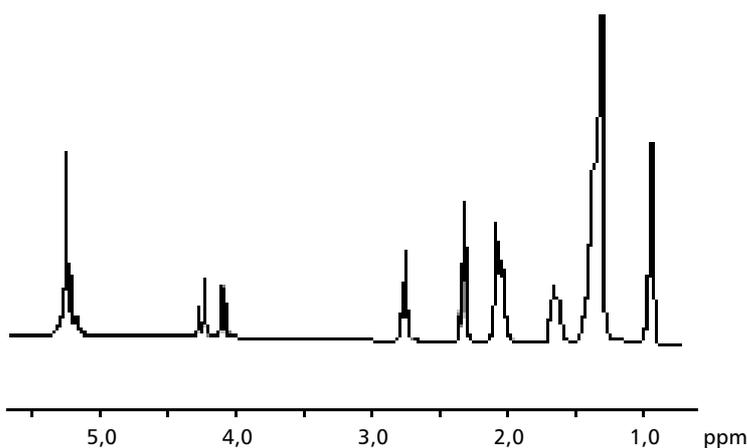


Fig. 3. Espectro de RMN-¹H 250 MHz del aceite de girasol virgen.

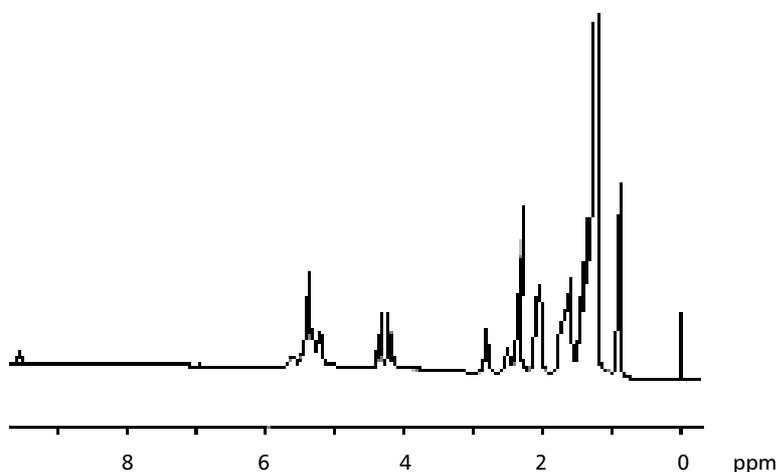


Fig. 4. Espectro de RMN-¹H 250 MHz del aceite de girasol ozonizado con un índice de peróxidos de 615 mmol-equiv./kg.

medida que aumenta en él, el contenido de especies oxigenadas.

La RMN-¹H es una técnica muy útil para la identificación de compuestos oxigenados, por lo que podría utilizarse en futuras investigaciones químicas relacionadas con los aceites vegetales ozonizados.

BIBLIOGRAFIA

1. NC 5 Aceites vegetales refinados comestibles. Especificaciones, 1998.

2. NC 85-04, Aceites y grasas comestibles. Métodos de ensayo, 1981.

3. Lie M. and Mustafa J. High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Applications to fatty acids and triacylglycerols. **Lipids**, **32**, 1019, 1997.

4. Vlahov G. Use of ¹³C Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy to study the triglyceride fraction of vegetable oils. **Recent Res. Devel. In Oil Chem.**, **2**, 189, 1998.

5. Vlahov G. Application of NMR to the study of olive oils. **Progress in Nuclear**

Magnetic Resonance Spectroscopy, **35**, 341, 1999.

6. Mannina L., Luchinat C., Emanuele M.C. and Segre A. Acyl positional distribution of glycerol tri-esters in vegetable oils: a ¹³C NMR study. **Chemistry and Physics of Lipids**, **103**, 47, 1999.

7. Zamora R., Alba V. and Hidalgo F. Use of High-Resolution ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for the Screening of Virgin Olive Oils. **JACOS**, **78**, 89, 2001.

8. Díaz M., Lezcano I., Molerio J. and Hernández F. Spectroscopic characterization of ozonides with biological activity. **Ozone Science & Engineering**, **23**, 35, 2001.

9. Díaz M., Alvarez I., Vélez H., Hernández F., Ledea O. and Molerio J. ¹H NMR studies of the ozonation of methyl oleate. **Boletín Sociedad Chilena de Química**, **42**, 349, 1997.

10. Díaz M., Hernández F., Alvarez I., Vélez H., Ledea O., y Molerio J. La espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear Protónica en el seguimiento de la reacción del ozono con los ácidos grasos insaturados. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **29**, 89-93, 1998.

11. Díaz M., Hernández F., Gavin J. and Ledea O. ¹H NMR study of methyl linoleate ozonation. **Ozone Science & Engineering**, **25**, 121-126, 2003.

12. Ledea O., Díaz M., Jardines D., Rosado A., Correa T. and Molerio J. ¹H NMR Spectroscopy of Oleic Acid and Methyl Oleate in diferente reaction conditions. **Rev. CENIC Ciencias Químicas**, **34**, 3-8, 2003.

13. Miura T., Suzuki S., Sakurai S., Matsumoto A. and Shinriki N. Structure elucidation of ozonated olive oil. **Proceedings of the 15th World Congress London 2001. Medical Therapy Conference**, 72, 2001.

14. British Pharmacopeia. Peroxide Value, **Appendices XF**, 2000.

15. British Pharmacopeia. Determination of Viscosity, **Appendices VH**, 2000.

16. British Pharmacopeia. Determination of weight per millilitre, density, relative density and apparent density, **Appendices VG**, 2000.

17. Castillo B. y González R. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. **Rev. Cubana de Farmacia**, **30**, 43, 1996.

18. Ledea O. Estudio de la Composición Química del Aceite de Girasol Ozonizado OLEOZON®. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Químicas. Ciudad de La Habana, Cuba, julio, 2003.

19. Lezcano I., Molerio J., Gómez M., Contreras R., Roura G., y Díaz W. Actividad *in vitro* del OLEOZON frente a agentes etiológicos de infecciones de la piel. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **29**, 209, 1998.