

REQUISITOS BRASILEÑOS DE IDENTIDAD Y CALIDAD PARA EL CONTROL DE LA ADULTERACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA

Resumen / Abstract

El aceite de oliva virgen y extra virgen constituye un producto muy apreciado por los consumidores por sus características nutricionales y terapéuticas. Su escasa producción a nivel mundial y su elevado costo lo han convertido en un alimento que resulta propicio para ser adulterado. El Ministerio de Agricultura, Abastecimiento y Ganadería de Brasil (MAPA) publicó la Instrucción Normativa (IN) N° 1, que aprueba el Reglamento Técnico del Aceite de Oliva y Aceite de Baga-zo de Oliva, definiendo su norma de clasificación oficial, con requisitos de identidad y calidad, muestreo, presentación y etiquetado. En este trabajo se enumeran las pruebas físico-químicas indicadas como referencia para la identidad, pureza y calidad de estos aceites, con sus implicaciones e importancia y como base para estudios y comparaciones con los estándares de otros países.

Virgin and extra virgin olive oil are a product highly appreciated by consumers for its nutritional and therapeutic characteristics. Its low production worldwide and its high cost have made it a food that is prone to being adulterated. The Ministry of Agriculture, Supply and Livestock of Brazil (MAPA) published Normative Instruction (IN) No. 1, which approves the Technical Regulation of Olive Oil and Olive Bagasse Oil, defining its official classification standard, with requirements for identity and quality, sampling, presentation and labelling. This paper lists the physical-chemical tests indicated as a reference for the identity, purity and quality of these oils, with their implications and importance and as a basis for studies and comparisons with the standards of other countries.

Palabras claves / Key words

Aceite de oliva virgen; extra virgen; adulteraciones; técnicas analíticas.

Virgin olive oil; extra virgin; adulteration; analytical techniques.



Introducción y objetivo

Entre los aceites vegetales, el aceite de oliva tiene una de las características más llamativas, singulares y apreciadas en el mundo. Sus atributos sensoriales de olor y sabor están delicadamente equilibrados, su composición química es diferenciada, la presencia de sustancias funcionales le otorga propiedades terapéuticas, que actúan para proteger al cuerpo humano frente a enfermedades coronarias y reducir el estrés oxidativo celular (Miguel, 2012; Yubero-Serrano *et al.*, 2019). Estas características son las responsables del aumento de popularidad de este producto a nivel mundial, ya que los consumidores, en general, están mucho más atentos a la calidad de los alimentos que ingieren y buscan seguir dietas que preferiblemente

incluyan productos menos procesados, que brinden una ganancia en calidad de vida y mayor longevidad.

Si bien la producción mundial de aceite de oliva es relativamente pequeña y corresponde aproximadamente al 2% de las ventas totales de aceites vegetales comestibles (Statista, 2021; IOC News, 2021), su elevado precio en el mercado mundial y sus peculiares características hacen de este producto un objetivo constante de fraude, que genera problemas tanto para las instituciones reguladoras gubernamentales como para los productores de aceite de oliva y los consumidores. La adición de aceites vegetales de bajo valor comercial a los aceites de oliva virgen extra es la adulteración más común, aunque también se reportan fraudes más sofisticados.

dos en varios estudios (Fernandes, 2016; Agiomirgianaki *et al.*, 2010; Christopoulou *et al.*, 2004).

Según Sakazaki (2007) y Peixoto, Santana y Abrantes (1998), algunas de las causas más probables de la práctica de la adulteración del aceite de oliva son:

- Su fácil miscibilidad con otros aceites. Este tipo de adulteración incluye la adición de aceites vegetales y/o animales, aceites vegetales parcialmente hidrogenados, desterolizados (sometidos a eliminación de esteroides), reesterificados (que ya tienen una composición diferente), minerales, etc. Dependiendo del tipo de aceites, la detección se vuelve muy difícil;
- Gran diferencia de precio entre los aceites más comunes y los aceites de oliva;
- La falta de más laboratorios capaces de detectar estos fraudes, ya que se necesitan técnicas analíticas complejas y equipos sofisticados;
- La variabilidad de la composición de los aceites de oliva virgen extra, principalmente en función de las condiciones suelo-climáticas;
- La existencia de un mercado cautivo de aceites defraudados (al menos en Brasil), ejemplificado por restaurantes, centros mayoristas, cadenas de supermercados, donde se prioriza el precio sobre la calidad del producto.

Los fraudes más habituales se producen al mezclar aceite de oliva virgen con otros aceites vegetales (como soja, maíz, girasol, etc.) o con aceite refinado y comercializar el producto final como si fuera "aceite de oliva virgen extra", mezclando aceite de oliva con aceite de orujo y vendiendo el producto final como "aceite de oliva o aceite de oliva virgen extra", mezclando aceite de oliva lampante (no comestible) con aceites refinados de otros orígenes (girasol, soja, etc.) y comercializarlo como "aceite de oliva", por mezcla con aceite de almendra dulce, avellana, nuez y aguacate (que tienen una composición de ácidos grasos muy similar) o con aceites minerales (Aued-Pimentel, 2013; Fernandes, 2016).

Esta diversidad de posibilidades de adulteración es la gran dificultad a la que se enfrentan los científicos e investigadores, preocupados y comprometidos con el desarrollo de técnicas que permitan la detección

de sustancias características y marcadores de fraude y de pureza en los aceites.

La mayoría de las investigaciones publicadas sobre este tema, se basan en el uso de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía gas-líquido (CGL), técnicas más utilizadas para cuantificar ácidos grasos, triglicéridos, esteroides, tocoferoles e hidrocarburos. Pero también se han mencionado otras metodologías más modernas como la cromatografía de fluidos supercríticos, la cromatografía quiral, la cromatografía de iones de plata, la espectrometría de masas, la resonancia magnética nuclear, la espectroscopia infrarroja, la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier, el análisis mediante marcadores moleculares y el análisis de relaciones de isótopos de carbono estables (Gimenez *et al.*, 2010; Maggio *et al.*, 2010; Willenberg *et al.*, 2019). La elección de cada una de estas técnicas depende del tipo y cantidad de sustancia a determinar y probar la supuesta adulteración del aceite de oliva a menudo requiere la aplicación de varias de estas técnicas juntas.

También es necesario enfatizar la importancia del análisis sensorial en este contexto. Las pruebas físico-químicas son excelentes herramientas para el control del fraude, además de ser imprescindibles para la clasificación de los aceites. Sin embargo, una respuesta final decisiva sobre la calidad y autenticidad de los aceites de oliva virgen extra tiene que pasar por el análisis de los atributos sensoriales del producto.

La normativa legal seguida por la Comunidad Europea y el Codex Alimentarius recomiendan metodologías estándar para cada uno de los análisis de identidad y calidad requeridos para los aceites de oliva. El Ministerio de Agricultura, Abastecimiento y Ganadería de Brasil (MAPA) publicó la Instrucción Normativa (IN) N° 1 que aprueba el Reglamento Técnico del Aceite de Oliva y Aceite de Bagaño de Oliva, definiendo su norma de clasificación oficial, con requisitos de identidad y calidad, muestreo, presentación y marcado o etiquetado (MAPA, 2012).

Esta Instrucción Normativa contempla límites máximos y mínimos para varios parámetros de identidad y calidad de aceites y características sensoriales, basados en los valores establecidos tanto en el COI (2019) como en el Codex Alimentarius (FAO. 2013). Su

directiva es prevenir la entrada de productos importados adulterados en Brasil.

Considerando que el alimento de aceite de oliva está conquistando su espacio en el mercado productor y consumidor nacional y necesita ser regulado y controlado en sus parámetros de pureza y calidad para evitar el fraude, es fundamental que se recopile información sobre las metodologías más utilizadas para la cuantificación de analitos importantes para la detección de problemas de adulteración y composición de estos productos.

Este trabajo tiene como objetivo aclarar estos aspectos y enumerar las pruebas físico-químicas mencionadas como referencia para la identidad, pureza y calidad de los aceites en la Instrucción Normativa del MAPA, con sus implicaciones e importancia, y que sirva de base para estudios y comparaciones con los estándares de otros países, considerando que el producto aceite de oliva virgen extra se vende a nivel mundial. No se comentarán los límites establecidos para las características sensoriales. Las terminologías utilizadas son las contenidas en esta norma.

Requisitos de calidad

Los requisitos de calidad generalmente se refieren a análisis que informan cómo se obtuvo y conservó la materia prima para obtener el aceite de oliva, cómo se desarrollaron los pasos del proceso y cómo se almacenó y empacó el producto final. En el Anexo I de la IN 01/12 (MAPA, 2012), se muestran ejemplos de la determinación del porcentaje de ácidos grasos libres, el índice de peróxido y la extinción específica en el ultravioleta (232 y 270 nm y delta K). En el Anexo IV se presentan los ésteres metílicos y etílicos de ácidos grasos, humedad y material volátil, impurezas insolubles y contenidos de Arsénico, Plomo, Hierro y Cobre. Cada uno de estos parámetros de control se resume a continuación (Vekiari *et al.*, 2002):

1. Porcentaje de ácidos grasos libres (Acidez libre): es la cuantificación de los ácidos liberados por hidrólisis / degradación de triglicéridos, principal estructura molecular en aceites, grasas y aceites de oliva. Esto ocurre por la acción de enzimas, microorganismos o por la presencia de agua, bajo ciertas condiciones de pH y temperatura.

Esta degradación puede ocurrir a lo largo de la cadena de producción del aceite de oliva, si no se realizan los controles necesarios. Los altos valores de acidez en el aceite de oliva virgen extra significan que no se mantuvo la estructura molecular básica de los triglicéridos, que las aceitunas procesadas no estaban tan frescas o que tenían daños en los tejidos antes de la extracción, que se almacenaron incorrectamente durante mucho tiempo, que el proceso de extracción no se realizó adecuadamente (se tuvo cuidado durante la separación de la fase sólida y otras etapas), que los paquetes utilizados no fueron los más adecuados y que el almacenamiento no estuvo bien controlado. El mantenimiento de niveles bajos de ácidos grasos libres es una garantía de que el proceso de obtención del aceite de oliva virgen extra en su conjunto fue adecuadamente controlado y exitoso, desde la cosecha de frutos sanos hasta el almacenamiento del producto final (Peixoto *et al.*, 1998).

La técnica más común para la determinación de ácidos grasos libres es la titulación. El porcentaje de ácidos grasos libres se calcula considerando que el ácido oleico predomina en términos de composición del producto (Collison, 2017; Zenebon, 2005). Según el IN de MAPA, los aceites de oliva virgen extra deben tener un porcentaje de ácidos grasos libres $\leq 0,8\%$ y los aceites vírgenes $\leq 2\%$. Esta norma también establece límites para los aceites de oliva virgen lampante, aceite de oliva, aceite de oliva refinado, aceite de orujo de oliva y aceite de orujo de oliva refinado.

2. Índice de peróxidos: Sustancias denominadas peróxidos (o hidroperóxidos) son los compuestos primarios formados por la reacción de oxidación o rancidez, que se produce por el contacto del aceite con el oxígeno atmosférico (o disuelto en la muestra) y que se acelera por la presencia de luz, calor y metales pro-oxidantes como hierro y cobre. Es una reacción de degradación que altera las características sensoriales y nutricionales de los aceites y debe minimizarse al máximo. Valores altos de peróxidos pueden significar el uso de materia prima de baja calidad, falta de control de temperatura durante la molienda y batido de la masa para la extracción de aceite, falta de ajuste de la centrifuga durante la separación de fases sólidas y líquidas, uso de empaque y almacenamiento inadecuado (que permiten el paso de la luz y no protegen el aceite del contacto con el calor externo).

Los aceites más verdes, aunque más ricos en compuestos funcionales, pueden tener más peróxidos debido a la presencia de otras sustancias con dobles enlaces, que también reaccionan con el oxígeno (Moreda, 2010). Los aceites de oliva con altos índices de peróxido tienen sus características sensoriales alteradas, ya que estos compuestos son inestables y se descomponen en sustancias volátiles perceptibles por el olfato humano.

La determinación del índice de peróxido también se realiza mediante la técnica de titulación (Collison, 2017). Según el IN de MAPA, los aceites de oliva virgen extra y virgen deben presentar valores de peróxido ≤ 20 miliequivalentes por kilogramo de muestra. Esta norma también establece límites para el aceite de oliva, el aceite de oliva refinado, el aceite de orujo de oliva y el aceite de orujo de oliva refinado.

3. Extinción específica en ultravioleta:

3.1. 232 y 270 nm: esta determinación es espectrofotométrica y tiene en cuenta la detección de la presencia de productos de degradación del hidroperóxido, a partir de la reacción de oxidación del aceite, a dos longitudes de onda específicas. A 232 nm se evalúan sistemas conjugados más estables, con dos dobles enlaces (dienos - productos de reacción secundarios), que absorben preferentemente a esta longitud de onda; y a 270 nm, los trienos conjugados (productos de reacción terciaria). Valores de extinción elevados a 270 nm indican la presencia de sustancias provenientes de la oxidación o refinado del aceite (que sirven para la detección de mezclas de aceite de oliva virgen extra o virgen con aceite de oliva refinado) (Continas *et al.*, 2008; Santos, 2009). Los resultados de estas medidas, si se evalúan por sí mismos, aunque importantes, no representan mucho en términos de detección de fraude, ya que solo dan una indicación de que puede haber habido manipulación. Según la IN de MAPA, los aceites vírgenes extra deben tener valores de extinción específicos a 270 nm $\leq 0,22$ y a 232 $\leq 2,50$. Los aceites vírgenes deben presentar extinción a 270 nm $\leq 0,25$ y a 232 $\leq 2,60$.

3.2. ΔK (delta K): Corresponde a la variación de extinción específica medida entre longitudes de onda 4 nm por encima y por debajo de 270, es decir, 264 y 274 nm (Collison, 2017).

Delta K también se ha considerado como un parámetro de pureza, ya que la mezcla de otros aceites vegetales con aceites de oliva aumenta su valor. Pero aún existen muchas controversias al respecto y el Codex Alimentarius, a través de sus grupos de estudio electrónicos internacionales, viene promoviendo discusiones sobre el tema, para definir el uso de los valores delta K como parámetros sólo de calidad o también de pureza. El resultado final de estas discusiones convergerá con la publicación de una nueva revisión de Stan 33 - Norma para Aceites de Oliva y Aceite de Orujo de Oliva. Según la IN de MAPA, para aceites vírgenes extra y vírgenes, el ΔK debe ser $\leq 0,01$. El límite más alto permitido por la misma legislación, es para el aceite de orujo de oliva refinado y corresponde a $\leq 0,20$.

Estos tres requisitos de calidad, ácidos grasos libres, índice de peróxidos y extinción específica en ultravioleta, suelen aparecer en las etiquetas de los aceites. La acidez es lo que más llama la atención del consumidor en el momento de la compra, pero lamentablemente, en la mayoría de los casos, la acidez declarada no se corresponde con la acidez real del producto.

4. Ésteres metílicos y etílicos de ácidos grasos: Durante la maduración de las aceitunas se produce la formación natural de metanol. Si el almacenamiento de los frutos, antes de la extracción del aceite, no se realiza correctamente, puede ocurrir una fermentación aeróbica con la producción de otro alcohol, el etanol. Durante la producción de aceites, la formación de ésteres metílicos debe ser mayor que la de ésteres etílicos, ya que los primeros son normales para el fruto y sirven como prueba de que no se incorporaron defectos de fermentación debidos al etanol. El análisis de ésteres metílicos y etílicos es otra herramienta que sirve para distinguir los aceites vírgenes extra de los procedentes de orujo de oliva. Pero también es un parámetro de calidad, en la medida en que permite diferenciar los aceites vírgenes extra de todos los demás (Moreda, 2010). Esta determinación se realiza mediante la técnica de cromatografía de gases, con separación previa de las fracciones mediante cromatografía en columna y utilizando un patrón interno de heptadecanoato de metilo. Según el IN de MAPA, la relación entre ésteres etílicos (EE) y ésteres metílicos (ME) debe ser $EE/EM \leq 1,5$ para los aceites vírgenes extra.

Este requisito ya ha sido modificado en la normativa del COI (2019), que ahora solo considera los ésteres de alquilo con un límite ≤ 35 mg / kg, para el aceite de oliva virgen extra.

5. Humedad y material volátil: Parámetro más sencillo de determinar, relacionado con todas las etapas del proceso de obtención del aceite, desde la recolección de la aceituna hasta el almacenamiento del producto final. La presencia de humedad en valores superiores a los especificados, puede inducir la ocurrencia de reacciones de hidrólisis de ácidos grasos, resultando en un aumento del contenido de ácidos grasos libres del producto (O'Brien, 2009). La determinación se realiza generalmente en un horno de vacío, a una temperatura no superior a 70 °C. Según el IN de MAPA (MAPA, 2012), los aceites vírgenes extra y vírgenes deben tener humedad y volátiles $\leq 0,2\%$ y los demás aceites, $\leq 0,1\%$.

6. Impurezas insolubles: Son básicamente los restos del propio producto, procedentes de la materia prima y que son insolubles en éter de petróleo o hexano. Pueden cambiar la calidad de los aceites cuando están presentes en cantidades excesivas e incluso comprometer la apariencia del producto (O'Brien, 2009). La metodología utilizada en esta determinación se basa en filtrar la muestra diluida en solvente calentado, utilizando un filtro de microfibras. Según la IN de MAPA, los aceites vírgenes extra y vírgenes no deben contener más del 0,1% de impurezas insolubles y los demás aceites no deben contener más del 0,05%.

7. Contenido de arsénico, plomo, hierro y cobre: la mayoría de los aceites vegetales contienen trazas de metales pesados, incluidos los aceites de oliva. Estos metales pueden provenir del suelo o del procesamiento y almacenamiento. Los metales de transición como el hierro y el cobre son potentes prooxidantes, incluso en concentraciones tan bajas como 0,1 ppm, y pueden acelerar la aparición de la reacción de oxidación, provocando la degradación química y sensorial de los aceites. El plomo y el arsénico, por otro lado, se consideran contaminantes inorgánicos; tienen el mismo origen que el hierro y el cobre y su presencia en aceites y grasas no es deseable por razones de seguridad ali-

mentaria, ya que, si se ingieren en ciertas concentraciones, son tóxicos. La determinación de estos metales involucra la técnica de espectrometría de emisión con una fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP OES) (ASTM, 2018; Latimer, 2012). La preparación de la muestra se suele realizar con una solubilización de aceite de oliva en disolvente orgánico y la cuantificación de metales, mediante el uso de un patrón organometálico (Dijkstra y Meert, 1982).

Según MAPA, todos los grupos y tipos de aceite de oliva deben tener límites $\leq 0,1$ mg/kg para Arsénico, Plomo y Cobre y $\leq 0,3$ mg/kg para Hierro.

Requisitos de identidad o pureza

Los criterios de identidad o pureza están relacionados con los métodos que detectan algún tipo de adulteración en los aceites, debido a la presencia o ausencia de sustancias características, deseables o no. Ejemplos son la determinación de la composición de ácidos grasos, el contenido de estigmastadienos, ceras, la composición de esteroides, el contenido de eritrodilol y uvaol, la diferencia en ECN 42, los índices de refracción, saponificación y yodo y la materia insaponificable. Estos criterios de pureza son generalmente investigados cuando los aceites de oliva o los aceites de orujo de oliva ya han sido aprobados en términos de calidad (Moreda, 2010).

Los siguientes parámetros están contenidos en los Anexos III y IV de la IN 01/12 del MAPA y generalmente se utilizan juntos, tanto para la correcta clasificación de los aceites de acuerdo con esta directiva, como para la detección de posibles fraudes.

1. Composición de ácidos grasos: es el análisis que representa la huella de los aceites y aceites de oliva, mostrando la cantidad de cada ácido graso específico presente, incluidos los ácidos trans. Cada aceite tiene una composición de ácidos grasos muy característica que ya es bien conocida y publicada en la literatura (O'Brien, 2009), por lo que esta determinación ayuda a identificar posibles fraudes. La presencia de ácidos grasos trans también indica el refinado del aceite. La técnica utilizada es la cromatografía de gases, con detección por ionización de llama; la cuantificación de cada ácido graso se realiza comparando los cromato-

gramas obtenidos para las muestras con los de estándares conocidos (% área relativa) (Collison, 2017). Los aceites de oliva deben tener entre 55 a 83% de ácido oleico (C 18: 2) y $\leq 1\%$ de ácido linolénico (C 18: 3).

La composición de ácidos grasos es una de las pruebas más utilizadas para detectar adulteraciones con aceite de soja (que ocurre con mayor frecuencia en Brasil), ya que esta adición aumenta el contenido de ácido linolénico (C 18: 3). La mezcla con aceite de maní aumenta el ácido behénico (C 22: 0), la mezcla con algodón, palma y aceite de palmiste aumenta el ácido mirístico (C 14: 0). Sin embargo, las mezclas de aceites de oliva con aceites de semillas de girasol modificados y cacahuets con alto contenido de oleico, o con aceite de almendras y aceite de aguacate, que tienen una composición similar, pueden no detectarse en esta prueba (Antoniassi *et al*, 1998).

2. Contenido de estigmastadieno: el estigmastadieno es un hidrocarburo de estructura esteroidea, que no está presente de forma natural en el aceite de oliva virgen extra, pero que se forma en el proceso de refinado mediante la deshidratación del beta sitosterol, debido al uso de altas temperaturas. Funciona como un marcador de la ocurrencia del refinado, denunciando la mezcla de aceites de oliva virgen extra y virgen con aceites de oliva u otros aceites vegetales refinados (García-González *et al*, 2008). Es un análisis mucho más complejo, que requiere extraer materia insaponificable de la muestra, obtener fracciones de hidrocarburos por cromatografía en columna y cuantificar el estigmastadieno por cromatografía de gases. Según el IN de MAPA, los aceites vírgenes extra y vírgenes deben tener un contenido de estigmastadieno $\leq 0,15$ mg/kg (en la Norma COI, 2019, este valor ya se ha cambiado a $\leq 0,05$ mg/kg). Para otros tipos de aceite, este parámetro no se aplica.

Con el desarrollo tecnológico de los procesos de refinación de petróleo se han utilizado temperaturas mucho más bajas y, en consecuencia, no se forma el estigmastadieno, lo que puede generar confusión en la detección de posibles fraudes.

3. Contenido de cera: es un parámetro tanto de pureza como de calidad. Las ceras son alcoholes grasos que básicamente forman la

piel de las aceitunas y que pasan poco a los aceites virgen extra y virgen durante el prensado. Por tanto, la ausencia de ceras con un número de átomos de carbono entre 40 y 46 caracteriza a estos aceites. Pero la extracción de aceite crudo residual, presente en el bagazo de aceituna y elaborado por solvente, arrastra estos compuestos, que pasan a formar parte de la composición del producto. La determinación de ceras funciona, entonces, como detector de la presencia de aceite de bagazo (que contiene alcoholes grasos con un número de átomos de carbono entre 40 y 46) mezclado con aceites de oliva virgen extra (que contiene alcoholes grasos con un número menor de carbonos, entre 36 y 38), lo cual está prohibido si no se informa en el empaque (García-González *et al.*, 2008). El aceite de orujo de oliva debe comercializarse como tal, a un precio acorde con esta situación y sin engañar al consumidor.

La metodología utilizada en este análisis es la cromatografía de gases, con separación previa de las fracciones mediante cromatografía en columna y utilizando un patrón interno de araquidato de laurilo. La IN de MAPA (Brasil, 2012) prevé y exige que los aceites vírgenes extra y vírgenes tengan valores de 250 mg/kg de ceras (en la norma COI, 2019, este valor ya se ha cambiado a ≤ 150 mg/kg). Los aceites de orujo de oliva pueden tener un contenido de cera superior a 350 mg/kg.

4. Composición en esteroides: los esteroides son sustancias presentes de forma natural en los aceites y que confieren características saludables al producto (compuestos bioactivos que actúan en el control de las enfermedades cardiovasculares). La composición de esteroides es específica para cada tipo de aceite o aceite de oliva, por lo que se ha utilizado ampliamente para identificar fraudes, aprovechando alguna ventaja sobre la determinación de la composición de ácidos grasos porque no cambia en semillas modificadas. Así, mediante este análisis se puede detectar la mezcla de un aceite vegetal procedente de semillas (como el girasol, por ejemplo) con aceite de oliva virgen extra, pero no mediante la composición de ácidos grasos. Los esteroides más importantes presentes en los aceites son el beta sitosterol (cerca del 93% del total de esteroides), campesterol, estigmasterol y brassicasterol. En menores cantidades, se pueden encontrar delta-5-avenasterol, beta-sitostanol y delta-

7-estigmasterol entre otros (Moreda, 2010). Según Gutfinger y Letan (1974) grandes cantidades de estigmasterol pueden denunciar la mezcla de aceite de oliva con aceite de soja y alto contenido de delta-7-estigmasterol, presencia de aceite de girasol. Aparicio y Aparicio-Ruiz (2000) mencionan que los altos niveles de brassicasterol en los aceites de oliva pueden indicar fraude con el aceite de canola.

La determinación de esteroides se realiza mediante cromatografía de gases, previa separación de la materia insaponificable de la muestra, con posterior cuantificación de esteroides totales y de cada uno de estos compuestos individualmente. Según IN de MAPA, la suma de beta sitosterol, delta-5,23-estigmastadienol, cleroesterol, beta sitostanol, delta-5-avenasterol y delta-5,24-estigmastadienol debe ser superior al 93% del total de esteroides, para todo tipo de aceite.

5. Contenido en eritrodio y uvaol: estos compuestos son di-alcoholes triterpénicos que, junto con las ceras, son arrastrados por el disolvente durante la extracción del aceite de orujo de oliva. Por este motivo, funcionan como detectores de la presencia de aceite de bagazo mezclado con aceites de oliva vírgenes. Su determinación se realiza separando la materia insaponificable de la muestra, seguida de cromatografía en capa fina y cromatografía de gases de las fracciones separadas (Aparicio y Aparicio-Ruiz, 2000). Los estándares de eritrodio y alfa colestanol (patrón interno) deben utilizarse como referencia. El IN de MAPA cita que la suma de eritrodio y uvaol no debe ser superior al 4,5% para los aceites vírgenes, el aceite de oliva y el aceite de oliva refinado.

6. Diferencia ECN 42: corresponde a la determinación de la diferencia entre el valor real y el valor teórico de triglicéridos cuantificados, con un número de carbonos equivalente igual a 42, como la trilinoleína. La trilinoleína está presente en grandes cantidades en girasol, canola, semilla de uva, etc., pero no es común en los aceites de oliva. Entonces, este es un parámetro muy importante que detecta el fraude del aceite de oliva con aceites provenientes de semillas (Aued-Pimentel *et al.*, 2008). Agregar 1% de aceite de soja al aceite de oliva puro cambia por completo el valor de ECN 42 y denuncia

la adulteración. El cálculo de esta diferencia requiere la determinación de la composición de triglicéridos de la muestra (por cromatografía líquida) y la composición de ácidos grasos, como se mencionó anteriormente. La legislación brasileña establece que los aceites vírgenes extra y vírgenes deben tener una diferencia de $42 \leq 0,2$ ECN (MAPA, 2012).

7. Índice de refracción: generalmente se define como la relación entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad de la luz en la sustancia que se está probando. Es característico de cada aceite o grasa, dentro de ciertos límites y está relacionado con la longitud de la cadena de hidrocarburos, su peso molecular y el grado de insaturación de los ácidos grasos que componen los triglicéridos en la muestra (Moretto y Alves, 1986). La prueba se lleva a cabo en un refractómetro, con lecturas generalmente tomadas a 20°C para los aceites. No es un análisis que aporte información sobre fraude y, según Moreda (2010), ya se está discutiendo en algunos organismos reguladores, por lo que se retira de la normativa sobre aceites. Según el IN del MAPA el índice de refracción de los aceites vírgenes, aceite de oliva y aceite de oliva refinado debe estar entre 1,4677 y 1,4705.

8. Índice de saponificación: es una medida de los grupos reactivos alcalinos presentes en aceites y grasas y se ha utilizado para predecir el tipo de triglicérido presente en la muestra evaluada. Los triglicéridos que contienen ácidos grasos de cadena corta dan valores de índice de saponificación altos en comparación con los de cadena larga (O'Brien, 2009). Esta prueba tampoco se considera eficaz para el análisis de la adulteración del aceite de oliva. Su determinación corresponde a una reacción de la muestra con álcali y titulación final con ácido clorhídrico y los resultados se expresan como el número de miligramos de hidróxido de potasio (KOH) necesarios para saponificar un gramo de muestra (Collison, 2017). El índice de saponificación también se puede obtener mediante cálculo a partir de la composición de ácidos grasos. El IN de MAPA cita el intervalo entre 184 y 196 para el índice de saponificación de aceites vírgenes, aceite de oliva y aceite de oliva refinado.

9. Índice de yodo: es una constante química para aceites y grasas, valor característico

que cuantifica las insaturaciones presentes, pero que no permite especificar el componente ácido graso de la muestra ni la posición del doble enlace. Es una determinación muy utilizada para el control de procesos y debe expresarse como el número de centigramos de yodo absorbidos por gramo de muestra (Moretto y Alves, 1986). La prueba consiste básicamente en la reacción de la muestra con una solución de Yodo-Cloro, con titulación posterior que detecta el yodo liberado (Collison, 2017). El índice de yodo también se puede obtener mediante cálculo a partir de la composición de ácidos grasos. Según Moreda (2010) es un parámetro obsoleto tanto para los aceites de oliva como para otros tipos de aceites vegetales, no aportando nada en cuanto a detección de adulteraciones. Según el IN de MAPA, se establecen valores entre 75 y 94 para aceites vírgenes, aceite de oliva y aceite de oliva refinado.

10. Materia insaponificable: La materia insaponificable incluye aquellas sustancias que a menudo se encuentran disueltas en aceites y grasas, que no están saponificadas con álcalis cáusticos, pero que son solubles en disolventes de grasas y aceites comunes. Incluidos en este grupo están los alcoholes alifáticos, esteroides, pigmentos e hidrocarburos. Cada aceite o grasa tiene un valor de materia insaponificable característico y aunque esta determinación no contribuye a detectar la adulteración en el aceite de oliva, es muy importante porque es la base para la cuantificación del estigmastadieno, sustancia que funciona como marcador de la ocurrencia de refinado, denunciando la mezcla de aceites de oliva virgen extra y virgen con aceites de oliva u otros aceites vegetales refinados (García-González *et al.*, 2008). Es una prueba más larga que incluye la saponificación de la muestra y la extracción de la fracción insaponificable con los solventes apropiados (Collison, 2017). La IN de MAPA establece que los aceites vírgenes, el aceite de oliva y el aceite de oliva refinado deben contener valores ≤ 15 mg/kg de materia insaponificable.

Después de revisar todos estos métodos se comprende que controlar estos requisitos de calidad, identidad y pureza es extremadamente importante para detectar fraudes en los aceites. Pero es fundamental recordar que estos fraudes también deben considerarse cuestiones de seguridad alimentaria. Varias publicaciones ya han demostrado la

presencia de compuestos cancerígenos y genotóxicos que contaminan los aceites de oliva fraudulentos. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (Tfouni *et al.*, 2017) y los ésteres de monocloropropanol y glicidol (Kamikata *et al.*, 2019) son algunos de estos compuestos.

Conclusiones

El cultivo de olivos y la producción de aceite de oliva en Brasil están experimentando un rápido desarrollo y se han producido productos de muy alta calidad en Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo, Espírito Santo, Bahía y otros estados. Aun así, todavía no se cuenta con producción propia en cantidad suficiente para abastecer el mercado interno. El rápido crecimiento de las importaciones y la expansión del consumo nacional, especialmente de aceites de oliva virgen extra, justifican la existencia de directivas reguladoras que establecen parámetros de control de calidad e identidad, lo suficientemente críticos como para garantizar la autenticidad de estos productos, manteniendo sus atributos positivos dentro de toda la cadena de producción y considerando tanto la perspectiva comercial como la de salud pública.

La publicación de la Instrucción Normativa IN MAPA 01/12 (2012) supuso un gran avance, ya que incluye los criterios de calidad, pureza e identidad mencionados en esta publicación. Están casi completamente alineados con las directivas internacionales del COI (2019) y el Codex Alimentarius (FAO, 2013).

Pero la continuidad del proceso de garantizar la autenticidad de los aceites importados y comercializados en el país y de los producidos en Brasil, depende de la cuidadosa inspección mencionada en esta Instrucción Normativa para la clasificación del MAPA, a fin de asegurar su cumplimiento.

La discusión y revisión de las metodologías más adecuadas para la detección del fraude, considerando los analitos mencionados en la legislación nacional e internacional, es también un factor preponderante para asegurar la compra de productos con calidad asegurada. Y debe ocurrir de manera continua y planificada a través de acciones impulsadas por las instituciones y Ministerios responsables de la elaboración y revisión de normas de control y clasificación de productos.

Es fundamental, por tanto, que exista una expresión positiva de los Gobiernos Estatales y del Gobierno Federal, incentivando y promoviendo la financiación de proyectos de investigación, que aún deben desarrollarse para mejorar la cadena productiva del aceite de oliva en su conjunto, preparando personal técnico y dotando a los laboratorios de instrumentación analítica moderna y adecuada, de manera que puedan ser considerados un referente en cuanto a su capacidad para cuantificar los parámetros establecidos como fundamentales, para la caracterización de aceites puros con calidad asegurada.

Todo el mundo tiene algo que ganar y el futuro es muy prometedor.

Bibliografía

- Agiomyrgianaki, A.; Petrakis, P.V.; Dais, P. (2010) Detection of refined olive oil adulteration with refined hazelnut oil by employing NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. *Talanta* 80: 2165 - 2171.
- Antoniassi, R.; Pereira, D.A.; Szpiz, R.R.; Jablonkas, F.H.; Lago, R.C.A. (1998) Avaliação das características de identidade e qualidade de amostras de azeite de oliva. *Brazilian J. Food Tech.* 1 (1-2): 32-43.
- Aparício, R.; Aparício-Ruiz, R. (2000) Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *J. of Chrom. A* 881: 93-102.
- ASTM - American Society for Testing and Materials (2018) D5185 - 18: Standard Test Method for Multielement Determination of Used and Unused Lubricating Oils and Base Oils by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES).
- Aued-Pimentel, S.; Silva, S.A.; Takemoto, E.; Cano, C.B. (2013) Stigmastadiene and specific extinction (270 nm) to evaluate the presence of refined oils in virgin olive oil commercialized in Brazil. *Food Sci. Tech.* 33 (3): 479 - 484, July- Sept.
- Aued-Pimentel, S.; Takemoto, E.; Kumagai, E.E.; Cano, C.B. (2008) Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicérido ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. *Rev. Química Nova.* 31 (1): 31-34.
- Christopoulou, E.; Lazaraki, M.; Komaitis, M.; Kasilimis, K. (2004) Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oils with vegetable oils. *Food Chem.* 84: 463-474.
- COI. (2019) International Olive Council. Trade Standard Applying to Olive Oils and Olive-Pomace Oils. COI/T.15/NC N° 3/Rev.13. Madrid, June 2019. Disponible en <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/COI-T.15-NC.-No-3-Rev.-13-2019-Eng.pdf>. Acceso en 15/06/2021.
- Collison, M. W. (Ed.) (2017) Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society. 7th ed., Urbana: AOCS.
- Continas, A.; Martínez, S.; Carballo, J.; Franco, I. (2008) Detección de adulteraciones y/o contaminaciones del aceite de oliva virgen extra con aceites de semillas y aceite de orujo de oliva. *Grasas y Aceites* 59 (2): 97-103.
- Dijkstra, A.J.; Meert, D. (1982) Determination of trace elements in oils by plasma emission spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59 (4): 199 - 204.

- FAO; WHO. (2013) Codex Alimentarius - STAN 33. Standard for Olive Oils and Olive Pomace Oils. Adopted in 1981. Revised in 1989, 2003, 2015, 2017. Amended in 2009, 2013. Disponible en www.codexalimentarius.org. Acceso en 15/06/2021.
- Fernandes, G. D. (2016) Detecção de Fraudes Sofisticadas em Azeite de Oliva Utilizando Metodologias Oficiais e Marcadores Moleculares de DNA. Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). UNICAMP, Campinas, pp:216.
- Garcia-González, D.L.; Aparício-Ruiz, R.; Aparício, R. (2008) Virgin olive oil- Chemical implications on quality and health. *European J. Lipid Sci. Tech.* 108: 602-607.
- Gimenez, M.J.; Pistón, F.; Martín, A.; Atienza, S.G. (2010) Application of real-time PCR on the development of molecular markers and to evaluate critical aspects for olive oil authentication. *Food Chem.* 118: 482-487.
- Gutfinger, J.; Letan, A. (1974) Studies of unsaponifiables in several vegetable oils. *Lipids* 9: 658 - 663.
- IOC NEWS – International Olive Council. April 2021. Disponible en <https://www.internationaloliveoil.org>.
- Kamikata, K.; Vicente, E.; Ariseto-Bragotto, A.P.; Miguel, A.M.R.O.; Milani, R.M.; Tfouni, S.A.V. (2019) Occurrence of 3-MCPD, 2-MCPD and glycidyl esters in extra virgin olive oils, olive oils and oil blends and correlation with identity and quality parameters. *Food Control* 95: 135-141.
- Latimer Jr, G.W. (Ed) (2012) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 19th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 50:15-18.
- Maggio, R.M.; Cerretani, L.; Chiavaro, E.; Kaufman, T. S.; Bendini, A. (2010) A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils. *Food Control* 21: 890-895.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2012) Instrução Normativa 1, Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva. Diário Oficial da União, Brasília, DF.
- Miguel, A.M.R.O.; Sakazaki, N.B. (2012) Índices de qualidade para azeite de oliva e azeitonas de mesa e legislação brasileira e internacional. En: Oliveira, A.F. (Ed.). *Oliveira no Brasil: Tecnologias de Produção*. 1ª Ed. Belo Horizonte. EPAMIG. 21: 673-725.
- Moreda, W. (2010) Aceite de oliva: Caracterización, calidad y control de fraude. SBQG- Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras. *Actas del V Simpósio Internacional Tendências e Inovações em Tecnologia de Óleos e Gorduras*. Campinas.
- Moretto, E.; Alves, R.F. (1986) *Óleos e Gorduras Vegetais – Processamento e Análises*. Ed. UFCS, Florianópolis, pp: 179.
- O'Brien, R. (2009) *Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications*. 3ª Ed., CRC Press, Boca Raton, pp: 744.
- Peixoto, E.R.M.; Santana, D.M.N.; Abrantes, S. (1998) Avaliação dos índices de identidade e qualidade do azeite de oliva – proposta para atualização da legislação brasileira. *Ciência e Tecn. Alimentos*. Campinas. 18 (4): 444-452.
- Santos, M.A.J. (2009) A influência da utilização de gás inerte na estabilidade oxidativa dos azeites virgens nos depósitos de armazenamento. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Produtos Vegetais). Universidade Superior de Agronomia, Lisboa pp: 67.
- STATISTA - Statista Research Department. *Vegetable Oil Production Worldwide (2000-2021)*. January 27th. Disponible en <https://www.statista.com/statistics/263978/global-vegetable-oil-production-since-2000-2001/>.
- Sakazaki, N.B. (2007) Qualidade dos azeites no mercado brasileiro. *Actas del I Expoazeite*. São Paulo.
- Tfouni, S.A.V.; Reis, R.M.; Amaro, N.P.L.; Pascoal, C.R.; Camargo, M.C.R.; Baggio, S.R.; Rauen-Miguel, A.M.R.; Furlani, R.P.Z. (2017) Adulteration and Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Extra Virgin Olive Oil Sold on the Brazilian Market. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 94: 1351-1359.
- Vekiari, S.A.; Papadopoulou, P.; Koutsaftakis, A. (2002) Comparison of different olive oil extraction and the effect of storage conditions on the quality of the virgin olive oil. *Grasas y Aceites*, 53 (3): 324-329.
- Willenberg, I.; Matthäus, B.; Gertz, C. (2019) A New Statistical Approach to Describe the Quality of Extra Virgin Olive Oils Using Near Infrared Spectroscopy (NIR) and Traditional Analytical Parameters. *European J. Lipid Sci.Tech.* 121: 280-291.
- Yubero-Serrano, E.M.; Lopez-Moreno, J.; Gomez-Delgado, F.; Lopez-Miranda, J. (2019) Extra virgin olive oil: More than a healthy fat. *European J. Clin. Nut.* 72: 8-17.
- Zenebon, O.; Pascuet, N. S. (2005) *Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos*. 4ª. ed. Brasília: Ministério da Saúde/ANVISA; São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.



CAGSA

CARLOS ALBERTO GARCIA S.A.

Planta Químicos - Sauce Viejo

- SOLVENTES ALIFATICOS
- SOLVENTES AROMATICOS
- SOLVENTES OXIGENADOS
- ALCOHOLES
- THINNERS
- DILUYENTES



www.cagsaweb.com

info@cagsaweb.com



Planta YPF Agro - Santo Tomé

- GASOL
- LUBRICANTES
- FERTILIZANTES
- AGROQUÍMICOS
- SEMILLAS
- CANJE DE GRANOS