

ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD TERMICA DEL ACEITE DE CRISALIDA DEL GUSANO DE SEDA BOMBYX MORI LINN

Thermal stability study of the pupa oil of *Bombyx Mori Linn* silk worm

RESUMEN

En el presente trabajo se utilizaron crisálidas frescas de gusano de seda, estas fueron sometidas a un proceso de sacrificio, secado y extracción. Para comparar la influencia del calentamiento sobre el aceite con y sin antioxidante se adicionó Vitamina E a una porción de la muestra, ambas se sometieron a las mismas temperaturas de calentamiento y se les realizaron los mismos análisis .

Se realizaron pruebas físicas: densidad e índice de refracción; y pruebas químicas: índice de peróxidos, acidez, conductividad y perfil de ácidos grasos, realizando el último análisis solo a dos de las temperaturas. Los análisis demostraron que la composición del aceite no varía notablemente haciéndolo apto para su utilización en procesos que involucren el calentamiento del mismo.

PALABRAS CLAVES: aceite, antioxidante, *Bombyx mori Linn*, crisálida, estabilidad térmica, oxidación.

ABSTRACT

Fresh pupa of the silk worm was used, it was subjected to sacrifice ,oil extraction and dried up process, to compare the influence of oil warming with and without antioxidant; E Vitamin was added to a part of the oil, it was subjected to the same analysis and temperature changes that oil without antioxidant.

Physic tests were evaluated: density and refraction index; and chemical tests were evaluated: peroxide index, acidity, conductivity and fatty acid profile, the last analysis was made just on two of temperature changes. The analysis proves that the oil composition doesn't have a remarkable change, making this suitable to its utilization in temperature change process.

KEYWORDS: Oil, antioxidant, *Bómbyx Mori linn*, pupa, thermal stability, oxidation.

1. INTRODUCCIÓN

El aceite de crisálida, es un bio-recurso resultante de la cría y cultivo del gusano de seda en la sericultura, no obstante, es desperdiciado debido al poco conocimiento que se posee respecto a sus características [1]. La Universidad Tecnológica de Pereira, a través del grupo de investigación de oleoquímica estudia el aceite de crisálida como biorecurso para la obtención de productos que brinden alternativas para su aplicación.

Uno de los principales controles de calidad de los aceites es su estabilidad térmica, la cual determina sus características de almacenamiento, transformación aplicación y comercialización para su uso en la industria [2].

En el presente trabajo se estudió la estabilidad térmica del aceite de crisálida del gusano de seda *Bómbyx Mori*

Linn para determinar su resistencia en los procesos que demanden incremento de temperatura.

Se utilizaron crisálidas del gusano de seda (*Bómbyx Mori Linn*) híbrido Pilamo 1 para la extracción y posterior estudio del aceite.

Se llevaron a cabo procesos de sacrificio, secado y extracción por método Soxhlet, calentamiento y análisis físicos y químicos.

Análisis físicos: Densidad, índice de refracción, conductividad.

Análisis químicos: Índice de peróxidos, Acidez, Degradación térmica, Perfil de ácidos grasos.

Se ha demostrado que los ácidos grasos oleico, linoleico y linoléico presentes en el aceite afectan su estabilidad térmica y oxidativa [3] y que la presencia de

JUAN PABLO ARRUBLA V.

Químico M.Sc.

Profesor Auxiliar.

Grupo de investigación
Oleoquímica.

Escuela de Química.

Universidad Tecnológica de Pereira.

Juanpablo77@utp.edu.co

CATALINA LONDOÑO G.

Tecnóloga Química.

Universidad Tecnológica de Pereira.

Catalinalondono_giraldo@yahoo.es

ANA CAROLINA TORO S.

Tecnóloga Química.

Universidad Tecnológica de Pereira.

Deep_science@hotmail.com

componentes tales como tocoferoles, fosfolípidos, carotenoides, escualeno y algunos esteroides benefician la estabilidad oxidativa de los aceites [4].

Para efectos de comparación en la estabilidad a la oxidación térmica se adicionó Vitamina E 0,1% a una porción de la muestra, la cual se sometió a las mismas temperaturas de calentamiento y a los mismos análisis que el aceite sin antioxidante.

Las muestras fueron sometidas a temperaturas de 125, 150, 175 y 200°C durante 2 horas, dejando una de las parejas sin someter a calentamiento.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 SACRIFICIO

Se realizó calentando los capullos hasta los 100°C en un horno durante 1h.

2.2 PROCESO DE SECADO

Las crisálidas fueron sometidas a un calentamiento suave en una incubadora, después de estar secas se pasaron a un desecador.

2.3 PROCESO DE EXTRACCION

Se maceraron las crisálidas secas y a temperatura ambiente. El método de extracción que se utilizó fue líquido-líquido (Soxhlet) por 2h. Una vez se terminó la extracción, se separó el hexano del aceite obtenido por medio de rotavaporación.

2.4 APLICACIÓN DE TEMPERATURA A LA MUESTRA

La muestra fue dividida en 10 envases color ámbar; a cinco de ellos se les adicionó Vitamina E 0.1% con el fin de inhibir la oxidación y así garantizar la estabilidad del aceite, y se tomaron parejas formadas por una muestra con antioxidante y otra sin el, con el fin de comparar la estabilidad entre cada pareja al final del proceso.

Se sometió el contenido de cada pareja durante 2 horas a temperaturas de 125, 150, 175 y 200°C, mediante baño maría en aceite mineral, dejando una de las parejas fuera del proceso, con el fin de comparar las propiedades del aceite sometido a calentamiento con las del aceite sin calentar.

2.5 ALMACENAMIENTO

Luego de someterlas a tratamiento térmico, las muestras fueron guardadas en un refrigerador a 4°C, aisladas de la luz.

2.6 ANALISIS FISICOS DEL ACEITE

2.6.1 DENSIDAD

Este parámetro se determinó según Norma ICONTEC 336 [5].

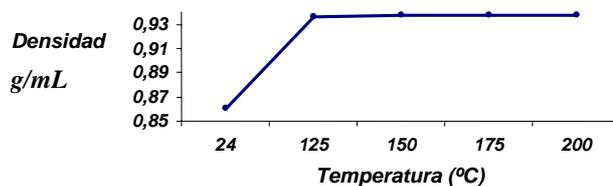


Figura 1. Densidad Vs. Temperatura Aceite con antioxidante

Luego del calentamiento a $200^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 2 h. El aceite sin vitamina E presentó aumento en promedio $8.24\% \pm 1\%$ en su densidad, mientras el aceite con antioxidante el $8.33\% \pm 1\%$ (Fig 1). Este valor es comparable a estudios de estabilidad térmica realizados al aceite de girasol, con variaciones del 7.13% en su densidad al ser calentado a 200°C en horno microondas, y que son atribuidos a fenómenos de polimerización, que hacen del aceite más denso [6].

2.6.2 INDICE DE REFRACCIÓN

Se determinó según Norma ICONTEC 289 [7] por medio de un refractómetro Fisher Scientific a una temperatura de $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Como puede observarse en la figura 2, la variación hasta los 200°C del aceite sin antioxidante fue 0.0155 ± 0.005 y en presencia del antioxidante 0.0097 ± 0.005 ; cifras despreciables, aunque estudios en aceites vegetales demuestran que si el proceso de calentamiento a temperatura similar es superior a las 4 horas, el índice puede cambiar hasta en 60%, y luego de las 26 horas hasta en un 300%, debido a la degradación química y el aumento en los compuestos carbonilo y no polares, con un fuerte incremento de color [8].

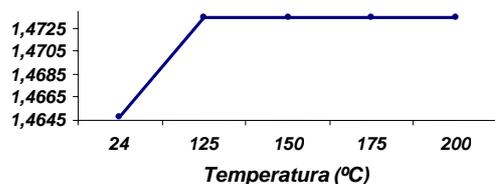
Índice refracción

Figura 2. Índice de refracción Vs. Temperatura Aceite con antioxidante.

2.7 ANÁLISIS QUÍMICOS DEL ACEITE**2.7.1 ACIDEZ**

Se determinó según Norma ICONTEC 218 [9], los resultados fueron expresados como porcentaje de ácido oleico.

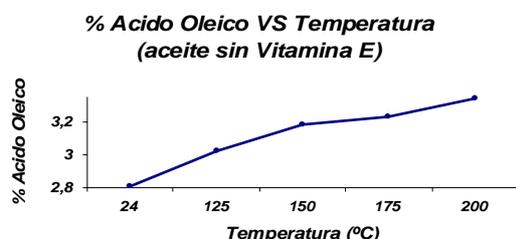


Figura 3. % de ácido oleico Vs. Temperatura Aceite con antioxidante.

Durante el proceso de calentamiento, el índice de acidez incrementa progresivamente con el proceso de hidrólisis. El índice de acidez se utiliza como parámetro para indicar el grado de hidrólisis de los aceites y no se permiten valores muy altos, porque las características de aceites de un alto índice huelen y saben mal debido a que los materiales presentan productos de degradación volátiles y no volátiles derivados de los ácidos grasos libres [9]. Como se observa en la figura 3 el índice de acidez varía entre 2.8 y 3.3 ± 0.1 unidades, para el aceite sin antioxidante, mientras para el aceite con vitamina E varía solo 0.2 ± 0.1 unidades. Estos valores son comparables al incremento del índice de acidez evaluado para el aceite de argán calentado 12 horas a temperatura de 200°C [8].

La diferencia entre el aceite de crisálida con y sin antioxidante puede ser atribuido a la capacidad de los antioxidantes para estabilizar los radicales libres que es la vía más probable de oxidación térmica de los aceites [8].

Las normas ICONTEC 1529 y 3758 [10,11] para aceite de germen de trigo y de castor para uso cosmético exigen valores máximos de 3.5 y 5 unidades de índice de acidez, por lo que se considera que los resultados

obtenidos tanto para el aceite sin antioxidante como para el aceite con el mismo son aptos para uso cosmético.

2.7.2 PERÓXIDOS

Se realizó siguiendo la metodología descrita en la Norma ICONTEC 236 [12], reportando los resultados en miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de grasa.

El valor reportado para el aceite de crisálida sin calentar fue cero (teniendo en cuenta las limitaciones del método), tanto para el aceite con Vitamina E como para el aceite sin antioxidante, al cabo de dos horas a 200°C solo varió a 1.0 ± 0.2 esto indica que el aceite es estable, comparable con los valores obtenidos en el aceite de argán sometido a calentamiento [8], los valores también son aptos para aceites de uso cosmético según las exigencias de las normas técnicas colombianas [10,11].

2.7.3 PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

Para el análisis del perfil cromatográfico de los ácidos grasos, debido a su baja volatilidad, se convirtieron previamente en sus ésteres metílicos a través de una reacción de esterificación, la reacción ocurrida se muestra en la figura 4 [13].

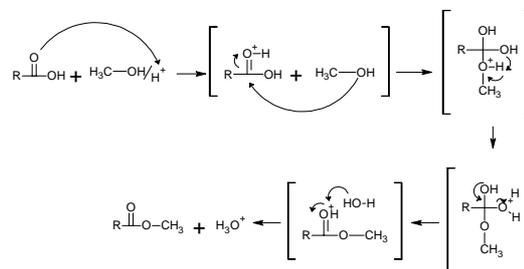


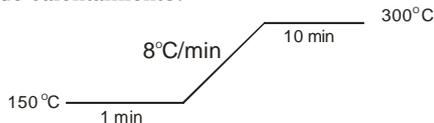
Figura 4. Mecanismo de reacción de transesterificación realizada al aceite de crisálida.

El análisis se llevó a cabo por medio de la técnica HRGC- MSD .

Las condiciones cromatográficas fueron:

- Columna capilar HP-5 (5% polimetilsiloxano)
- D.i. 0.25mm
- Temperatura de inyección: 280°C
- Modo de inyección: Split 10:1
- Modo de control de flujo: Velocidad lineal
- Presión: 87.0 kPa
- Flujo total: 11.3 mL/min
- Flujo de la columna: 0.94 mL/min
- Velocidad lineal: 36.8 cm/sec
- Flujo de purga: 1.0 mL/min

Rampa de calentamiento:



- Temperatura de la fuente de ionización: 210°C
- Temperatura de interfase: 280.00 °C
- m/z Inicial: 70.00
- m/z final : 400.00

Los cromatogramas del aceite recién obtenido y sometido a calentamiento fueron analizados por estándar externo.

En la figura 5, se observa el perfil cromatográfico estándar de los esteres metílicos de los ácidos grasos obtenido del estándar externo, mientras en las figuras 6 y 7 se observa el perfil cromatográfico obtenido de los aceites de crisálida sin calentar y calentado respectivamente.

En la tabla 1, se pueden identificar los ácidos grasos presentes en el aceite de crisálida, encontrándose en mayor proporción el ácido oleico con un 49,8 % del total de los ácidos grasos, además se encontraron ácido palmitoleico, palmítico, linoleico y esteárico.

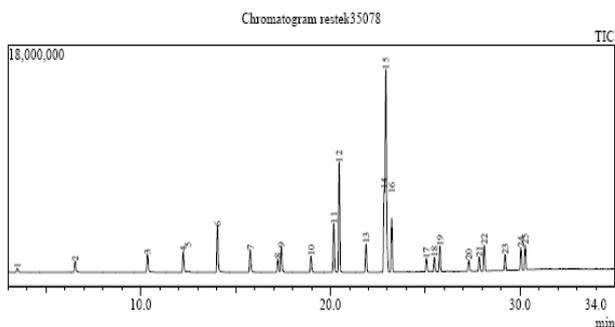


Figura 5. Perfil cromatográfico estándar de los esteres metílicos de los ácidos grasos.

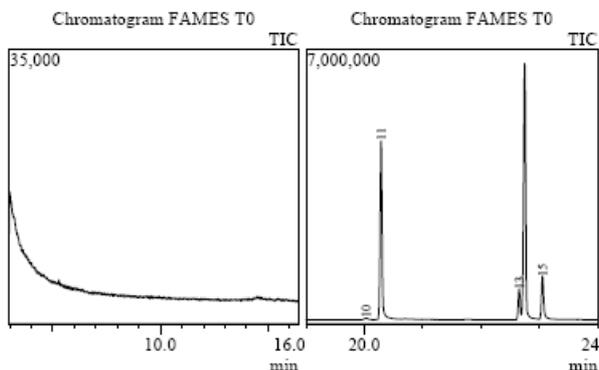


Figura 6. Perfil cromatográfico aceite de crisálida sin calentar .

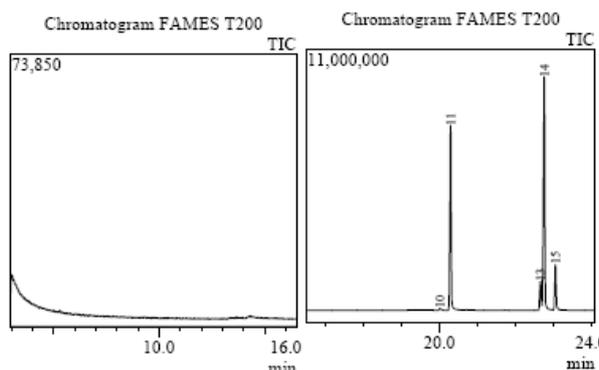


Figura 7. Perfil cromatográfico aceite de crisálida calentado a 200 °C sin antioxidante.

ID#	Tiempo de ret.estándar	Nombre	Area relativa T amb	Area relativa T 200°C
10	20.012	ácido palmitoleico	1.082	1.321
11	20.292	ácido palmítico	33.405	34.145
13	22.658	ácido linoleico	7.182	7.076
14	22.761	ácido oleico	49.870	49.312
15	23.058	ácido esteárico	8.452	8.145

Tabla 1. Resultados cuantitativos comparativos del aceite de crisálida a temperatura ambiente y calentado.

Los espectros de masas del estándar y de las muestras fueron comparados con la biblioteca de espectros Wiley, dando la identificación concordante con las reportadas en los certificados de los estándares.

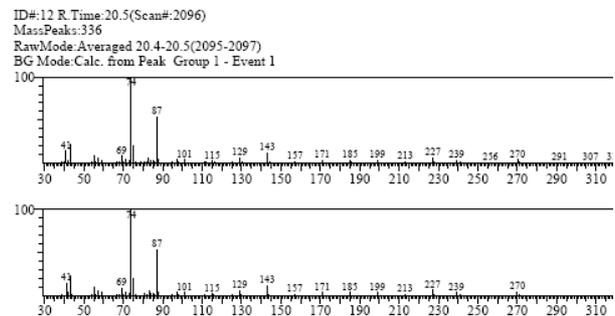


Figura 8. Espectro de masas típico de un metiléster de ácido graso.

En el análisis de los espectros de masas que se muestra en la figura 8, se observaron dos picos característicos de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, el pico base de los espectros de masa de cada uno de los metilésteres siempre presenta el mismo ion, m/z 74. Según McLafferty la fórmula para el m/z 74 es $C_3H_6O_2$ y postuló el siguiente mecanismo para demostrar dicha formación ver figura 9 [14].

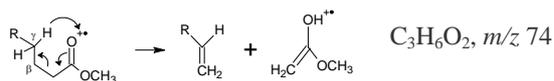


Figura 9. Mecanismo de reacción rearrreglo de Mc Lafferty.

Este mecanismo puede ocurrir en cualquier metil éster que posea una cadena de por lo menos tres átomos de carbono.

Para el segundo pico, La β -escisión de la cadena acilica para obtener los iones inicia con m/z 87 en los metil ésteres, como lo muestra la figura 10.

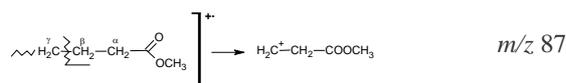


Figura 10. Mecanismo de reacción rompimiento beta de metilésteres de ácidos grasos.

De los resultados obtenidos, se puede notar que no existe una variación superior al 1% en las áreas relativas de los metilésteres de ácidos grasos del aceite de crisálida sin calentar y calentado. Aunque se documentan estudios de análisis de estabilidad térmica para el aceite de semilla de soya, donde al calentar se encuentran disminuciones en el contenido de ácido linolénico 18:3n-3 del 3% y del linoléico 18:2n-6 24.42%, respectivamente, comparado con el aceite fresco, es de anotar que los aceites de fritura se evalúan a 185°C entre 10 y 50h [15].

2.7.4 ÍNDICE DE ESTABILIDAD TÉRMICA

Este parámetro se determinó según el método oficial Cd 12b-92 de la OSI, del AOCS [16].

El índice de estabilidad del aceite se define como el punto de cambio máximo de la tasa de oxidación. En el caso del aceite de crisálida *Bombyx mori Linn*, el punto terminal se determinó a los 222°C para la muestra sin antioxidante y para la muestra con Vitamina E se alcanzó

a los 239°C, demostrando así que el antioxidante provee al aceite 17 grados más de estabilidad al someterlo a un aumento de temperatura. Ver figura 10.

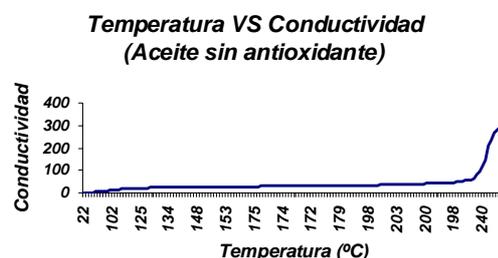


Figura 10. Índice de estabilidad térmica conductividad Vs. Temperatura de calentamiento.

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- ❖ Durante el calentamiento del aceite de crisálida este sufre una variación positiva promedio de $8.24\% \pm 1\%$ en su densidad, y el índice de refracción presenta una variación de 0.0155 ± 0.005 unidades, encontrándose que los valores de incremento del aceite calentado con vitamina E son similares dentro del error evaluado. Existen evidencias de degradación moderada posiblemente por polimerización.
- ❖ El aceite de crisálida calentado con y sin antioxidante es estable en los parámetros de acidez y peróxidos, indicando estabilidad a la hidrólisis y a la peroxidación lipídica hasta los 200°C, por el periodo de 2 horas de calentamiento.
- ❖ El análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases espectrometría de masas, es un indicador fundamental para demostrar que los ácidos grasos no sufren variación significativa durante el calentamiento en todos los casos $\pm 1\%$.
- ❖ Para el aceite de crisálida, se pudo determinar que la vitamina E como antioxidante si tiene influencia en su índice de estabilidad térmica, ya que incrementa desde los 222°C para la muestra sin antioxidante hasta los 239°C, demostrando así que el antioxidante provee al aceite de mayor estabilidad al someterlo a un aumento de temperatura.
- ❖ En general el aceite de crisálida es estable como materia prima para procedimientos que demanden incremento de temperatura. Se recomienda como complemento para futuros estudios, realizar una medida de la absorción del aceite a 490 nm, parámetro que indica la evolución del color, además del estudio de la formación de compuestos polares como criterio

para la determinación del deterioro estructural de los ácidos grasos y su transformación en estructuras poliméricas con carga eléctrica (polares).

4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] TORREZ, M.C., Obtención y análisis fisicoquímico del aceite del gusano de seda "Bómbyx Mori Linn", Departamento de Farmacia. UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA: SANTAFE DE BOGOTA. 1997. (Tesis)
- [2] NELSON Bryan, OIL STABILITY INDEX, [en línea] Technical bulletin Medallion labs. [ref. de 14 de mayo de 2007] Disponible en Web: <http://www.medallionlabs.com/file.aspx?FileID=102>
- [3] Min, D. B., & Boff, J. F. (2001). Lipid oxidation of edible oil. In C. Akoh & D. B. Min (Eds.), *Food lipids* (pp. 335–363). New York: Marcel Dekker.
- [4] Kochhar, S. P. (2001). The composition of frying oils. In J. B. Rossel (Ed.), *Frying. Improving quality* (pp. 87–114). Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.
- [5] Norma Colombiana ICONTEC 336. Grasas y aceites. Método de determinación de densidad. Instituto Colombiano de Normas Técnicas, Santafe de Bogotá.
- [6] Fozia Anjum, Farooq Anwar, Amer Jamil, M Iqbal. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*. Champaign: Sep 2006. Tomo 83, N° 9; pg. 777, 8 pgs
- [7] Norma Colombiana ICONTEC 286. Grasas y aceites. Método de determinación del índice de refracción. Instituto Colombiano de Normas Técnicas, Santafe de Bogotá.
- [8] A. Yaghmur, A. Aserin, Y. Mizrahi, A. Nerd and N. Gart Evaluation of Argan Oil for Deep-Fat Frying *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 34, 124-130 (2001)
- [9] Norma Colombiana ICONTEC 218. Grasas y aceites. Método de determinación de acidez. Instituto Colombiano de Normas Técnicas, Santafe de Bogotá.
- [10] Norma Colombiana ICONTEC 1529. Productos para la industria cosmética. Aceite de Germen de Trigo, 1995-10-18. Instituto Colombiano de Normas Técnicas, Santafe de Bogotá.
- [11] Norma Colombiana ICONTEC 3758. Productos para la industria cosmética. Aceite de Castor Puro. 1998-10-28. Instituto Colombiano de Normas Técnicas, Santafe de Bogotá.
- [12] Norma Colombiana ICONTEC 236. Grasas y aceites. Método de determinación de índice de peróxidos. Instituto Colombiano de Normas Técnicas, Santafe de Bogotá.
- [13] MORRISON, R T y BOYD, R N, *Química Orgánica*, Fondo Educativo Interamericano, 5ª edición (1990) 861p.
- [14] REG. D. FREARSON, M. *Analytical Chemistry by Open Learning Mass Spectrometry*. London Editor: F. Elizabeth Prichard on Behalf of Acol. Chichester. New York (2001) 163p.
- [15] E A A Sanibal, J Mancini-Filho. *Frying Oil and Fat Quality Measured by Chemical, Physical, and Test Kit Analyses* *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*. Champaign: Sep 2004. Tomo 81, N° 9; pg. 847.
- [16] MATISSEK, SCHNEPEL, STEINER. *Análisis de los alimentos. Fundamentos, métodos, aplicaciones* (1992) 192p.