



EL SABER DE MIS HIJOS
HARÁ MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos
Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Especialidad en Almacenamiento y Procesamiento de Granos

“Determinación de las Condiciones Óptimas de Blanqueo
y su Influencia Sobre la Calidad y Contenido
de Tocoferoles en Aceite de Soya”

TESIS

que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

Jesús Ortega García

Hermosillo, Sonora

Enero del 2002

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

CONTENIDO

	Pág
LISTA DE TABLAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	x
INTRODUCCION.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	4
Objetivo General.....	4
Objetivos Especificos.....	4
REVISION BIBLIOGRAFICA.....	5
Producción de Aceite de Soya.....	7
Composición de los Aceites.....	7
Triacilgliceridos.....	8
Acidos grasos.....	8
Acidos Grasos Esenciales.....	8
Fosfolípidos.....	9
Tocoferoles.....	9
Fuentes Naturales de Tocoferoles.....	9
Actividad como Vitamina E.....	14
Aspectos Nutricionales de la Vitamina E.....	16
Procesamiento de Aceite de Soya.....	16
Desgomado.....	16

CONTENIDO (cont...)

	Pág
Neutralización.....	19
Blanqueo.....	19
Deodorización.....	20
Aspectos Fundamentales del Proceso de Blanqueo.....	20
Teoría del Blanqueo.....	22
Acción de las Tierras de Blanqueo.....	23
Adsorción de los diferentes pigmentos orgánicos naturales.....	24
Efectos catalíticos: transformación de los peróxidos.....	24
Acción iónica: eliminación de iones metálicos.....	26
Factores que Afectan el Proceso de Blanqueo.....	28
Tiempo.....	28
Cantidad y Calidad de las Tierras de Blanqueo.....	30
Temperatura.....	30
Presión.....	32
Humedad.....	32
Pérdida de Tocoferoles durante el Blanqueo de Aceites.....	34
Análisis Físico y Químico de Aceites.....	34
Ácidos Grasos Libres (AGL).....	36
Valor de Peróxidos (VP).....	36

CONTENIDO (cont....)

	Pág
Valor de <i>p</i> -anisidina (VA).....	37
Color.....	38
Jabón.....	39
Dienos Conjugados.....	39
Elementos Traza	40
Fósforo	40
Calcio, Magnesio y Hierro.....	40
Cobre.....	40
Evaluación de la Calidad del Aceite de Soya Producido en México.....	41
MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
Obtención del Aceite Neutralizado.....	43
Caracterización del Aceite de Soya Neutralizado (ASN).....	43
Color.....	44
Acidos Grasos Libres.....	44
Valor de Peróxidos.....	44
Valor de <i>p</i> -anisidina.....	45
Jabón.....	45
Fósforo.....	46
Dienos Conjugados.....	46
Elementos Traza.....	46
Cuantificación de Tocoferoles.....	47

CONTENIDO (cont....)

	Pág
Cuantificación de Acidos Grasos y <i>trans</i> Isómeros.....	49
Proceso de Blanqueo.....	49
Diseño de Experimentos.....	50
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
Caracterización Química del Aceite de Soya Neutralizado.....	55
Efecto de cada una de las Variables sobre el Valor de Peróxidos (VP), Retención de Tocoferoles (RTOCOLES) y Color.....	57
Blanqueo del Aceite de Soya Neutralizado.....	61
Valor de Peróxidos.....	64
Retención de Tocoferoles.....	69
Color Lovibond.....	73
Color Espectrofotométrico.....	76
Optimización.....	77
En Ausencia de Oxígeno.....	81
En Presencia de Oxígeno.....	86
Evaluación de la Calidad del Aceite de Soya Blanqueado.....	90
CONCLUSIONES.....	96
RECOMENDACIONES.....	97
REFERENCIAS.....	98

LISTA DE TABLAS

Tabla	Pág
1. Contenido de Tocoferoles Totales en Aceites Vegetales Crudos.....	11
2. Actividad como Vitamina E (%) de Diferentes Tocoferoles y Tocotrienoles....	15
3. Diferentes Compuestos a Eliminar en la Etapa de Blanqueo.....	25
4. Cantidad de Tierras de Blanqueo Recomendadas para Diferentes Tipos de Aceites.....	27
5. Blanqueo de Sebo: a Presión Atmosférica y Utilizando Vacío.....	33
6. Efectos del Procesamiento en el Contenido de Tocoferol en Aceite de Soya.....	35
7. Variables Independientes y Niveles Seleccionadas para el Diseño de Composición Central.....	52
8. Arreglo General para el Diseño de Composición Central Rotable.....	53
9. Caracterización Fisico-Química del Aceite de Soya Neutralizado.....	56
10. Contenido de Tocoferoles del Aceite de Soya Neutralizado.....	58
11. Composición de Ácidos Grasos del Aceite de Soya Neutralizado (mg/ 100 mg de Aceite).....	59
12. Valor de Peróxidos y RTOCOLES durante el Blanqueo del Aceite de Soya	62
13. Color (Lovibond y Espectrofotométrico) durante el Blanqueo del Aceite de Soya	63
14. Constantes y Coeficientes de Regresión del Modelo de Optimización del Aceite de Soya Blanqueado en Ausencia de Oxígeno.....	65
15. Constantes y Coeficientes de Regresión del modelo de Optimización del Aceite de Soya Blanqueado en Presencia de Oxígeno.	67
16. Validación de las Condiciones Óptimas Predecidas por el Modelo de la etapa de Blanqueo en Ausencia de Oxígeno.....	83

LISTA DE TABLAS (Cont....)

Tabla	Pág
17. Validación de las Condiciones Óptimas Predecidas por el Modelo de la Etapa de Blanqueo en Presencia de Oxígeno	88
18. Evaluación de la Calidad de los Aceites Blanqueados a las Condiciones Óptimas.....	92
19. Composición de Ácidos Grasos del Aceite Blanqueado a las Condiciones Óptimas (mg/ 100 mg de aceite).....	95

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág
1. Producción de Oleaginosas en México.....	6
2a. Formula General para un Fosfolípido.....	10
2b. Fosfolípidos mas Comunes en Aceite de Soya.....	10
3. Estructura de los Tocoferoles.....	12
4. Procesamiento del Aceite de Soya.....	18
5. Efecto del Tiempo de Blanqueo en la Reducción de Pigmentos.....	29
6. Reducción del Color en el Aceite Blanqueado con Respecto a la Temperatura.....	31
7. Cromatograma Típico de Tocoferoles para un Aceite de Soya.....	48
8. Equipo Utilizado en la Operación de Blanqueo a Nivel Laboratorio.....	51
a) Matraz de 3 Bocas de 1000 ml. b) Chaqueta de Calentamiento. c) Placa de Agitación Magnética. d) Termómetro. e) Suministro de Vacío	
9. Cromatograma Típico del Perfil de Ácidos Grasos para un Aceite de Soya...60	
10. Efecto de la Temperatura y Tiempo sobre el Valor de Peróxidos en Ausencia de Oxigeno Manteniendo Constante la Cantidad de Tierras al 1.0 %.....	66
11. Efecto de la Cantidad de Tierras sobre el Valor de Peróxidos en Presencia de Oxigeno Manteniendo Constante el Tiempo en 50 minutos.....	68
12. Efecto de la Temperatura y Tiempo sobre la Retención de Tocoferoles en Ausencia de Oxigeno Manteniendo Constante la Cantidad de Tierras al 0.75 %.....	70
13a. Efecto de la Temperatura y Cantidad de Tierras sobre la Retención de Tocoferoles en Presencia de Oxigeno Manteniendo Constante el Tiempo en 50 minutos.....	72
13b. Efecto de la Temperatura y Tiempo sobre la Retención de Tocoferoles en Presencia de Oxigeno Manteniendo Constante la Cantidad de Tierras al 0.75 %.....	72

LISTA DE FIGURAS (Cont....)

Figura	Pág
14. Efecto de la Cantidad de Tierras en la Reducción del Color Lovibond en Ausencia de Oxígeno Manteniendo Constante el Tiempo en 60 minutos.....	74
15. Efecto de la Cantidad de Tierras sobre la Reducción de Color Lovibond en Presencia de Oxígeno Manteniendo Constante el Tiempo en 20 minutos.....	75
16. Efecto de la Cantidad de Tierras sobre la Reducción del Color Espectrofotométrico en Presencia de Oxígeno Manteniendo Constante el Tiempo en 10 minutos.....	78
17. Ecuaciones Obtenidas por el Diseño para el Valor de Peróxidos, Retención de Tocoferoles, Color Lovibond y Color Espectrofotométrico en Ausencia de Oxígeno.....	79
18. Ecuaciones Obtenidas por el Diseño para el Valor de Peróxidos, Retención de Tocoferoles, Color Lovibond y Color Espectrofotométrico en Presencia de Oxígeno.....	80
19. Gráfica de Superficie Respuesta para el Efecto de la Temperatura y Tiempo para el Mínimo de Peróxidos en el Aceite Blanqueado en Ausencia de Oxígeno.....	82
20. Gráfica de Superficie Respuesta para el Efecto de la Temperatura y Tiempo de Contacto en la RTOCOLES en el Aceite Blanqueado en Ausencia de Oxígeno.....	85
21. Gráfica de Superficie Respuesta para el Efecto de la Temperatura y Tiempo para el Mínimo de Peróxidos en el Aceite Blanqueado en Presencia de Oxígeno.....	87
22. Gráfica de Superficie Respuesta para el Efecto de la Temperatura y Tiempo de Contacto en la RTOCOLES en el Aceite Blanqueado en Presencia de Oxígeno.....	91

RESUMEN

Las grasas y aceites son reconocidos como portadores de nutrientes esenciales en la dieta humana, constituyendo la fuente mas importante de energía, aporte de ácidos grasos esenciales (precursores de hormonas) y transporte de vitaminas liposolubles. La finalidad del proceso de refinación de aceites vegetales es eliminar proteínas, ácidos grasos libres y fosfatidos. La refinación industrial consta de varias etapas: desgomado, neutralización, blanqueo o decoloración y desodorización. A través de este proceso se obtienen aceites de color claro, sabor suave y estabilidad oxidativa, además de preservar en ellos componentes importantes para la estabilidad del aceite y para su buena calidad nutricional (tocoferoles). Experimentalmente este trabajo cumplió con el objetivo de evaluar los efectos de la temperatura, el tiempo de contacto, cantidad de tierras y ausencia o presencia de oxígeno, cuantificándose: valor de peróxidos (VP), retención de tocoferoles (RTOCOLES) y color (Lovibond y espectrofotométrico). El aceite en estudio presentó perfil de ácidos grasos y de tocoferol característico para un aceite de soya, además cumplió con los requisitos fisico-químicos de un aceite neutralizado. Las condiciones optimas de blanqueo encontradas para obtener la mayor retención de tocoferoles en ausencia de oxígeno fueron: 96°C de temperatura, 1.4% de tierras y 23 minutos de tiempo de contacto, obteniendo un aceite de soya con 0.087 mEq/Kg de VP, 91.74% de RTOCOLES y un color Lovibond y espectrofotométrico de 1.53 y 3.98 respectivamente; mientras que para el mínimo valor de peróxidos, las condiciones fueron: 86°C de temperatura, 1.2% de tierras y 55 minutos de tiempo de contacto, obteniendo un aceite con 0.061 mEq/Kg de VP, 88.56% de RTOCOLES y un color Lovibond y espectrofotométrico de 1.40 y 7.79 respectivamente. Las condiciones predichas por los modelos fueron validadas a nivel laboratorio. Al caracterizar los aceites de soya blanqueados bajo las condiciones optimas se encontró que estos cumplieron con todas las características para ser sometidos a la siguiente etapa de la refinación (desodorización).

INTRODUCCION

La elevada demanda de aceites en el mundo ha traído como consecuencia que su producción vaya en aumento, esta a su vez ha provocado una mayor utilización de los mismos en la elaboración de diferentes tipos de alimentos (FAO,2000). Actualmente se le esta dando importancia al efecto del procesamiento sobre la calidad nutricional de los aceites, ya que son portadores de vitaminas y ácidos grasos esenciales (Erickson, 1995; Medina y Col, 1999).

Los aceites vegetales deben de ser sometidos a un proceso de refinación antes de poder ser consumidos por el hombre. Este proceso tiene la finalidad de dar a los aceites, un color claro, sabor suave y estabilidad oxidativa. Para lograr estas características, los aceites son sometidos a diferentes etapas unitarias que involucran en conjunto el proceso de refinación (desgomado, neutralización, blanqueo y desodorización). Dentro de cada una de estas etapas son eliminados una gran cantidad de impurezas que le brindan al aceite características indeseables para el consumidor, entre las impurezas a eliminar se encuentran: los ácidos grasos libres, los peróxidos, los aldehídos, las cetonas, clorofila, carotenoides y fosfolípidos (Villa,1996).

Un aspecto importante dentro de la calidad nutricional de los aceites es el contenido de vitaminas como los tocoferoles (vitamina E), las cuales son reducidas por efecto de las condiciones extremas durante el proceso de blanqueo y desodorización (Villa, 1996; Mag, 1990). Estudios recientes reportan que la pérdida de tocoferoles durante la operación de blanqueo y desodorización en aceites de soya llega a ser del 50% (Medina y Col. 2000). Los tocoferoles son reconocidos por su eficiente inhibición de la oxidación lipídica en los alimentos y en los sistemas biológicos, por lo cual es recomendable mantenerlos en los alimentos y no buscar este efecto antioxidante con sustitutos extraños a los alimentos, como es el caso de los antioxidantes sintéticos (Bieri, 1987).

La pérdida de tocoferoles durante el proceso de refinación de los aceites vegetales son muy variadas entre un país y otro, encontrando que para los Estados Unidos existe la mayor pérdida en las dos últimas etapas del proceso (blanqueo y deodorización) con un valor del 12 y 31% respectivamente (Jung, 1989), mientras que en México las pérdidas son del 29 y 47% (Medina y Col, 2000).

Ante esta situación se debe enfocar la discusión y realización de trabajos de investigación, a promover un nuevo concepto de calidad en los aceites y grasas. Que no solo se tome en cuenta las características físicas y estabilidad oxidativa, sino que se considere de manera prioritaria, no alterar la calidad nutricional de estos aceites durante su procesamiento. Por lo tanto, es importante ofrecer a la industria aceitera información sobre los métodos para la cuantificación de tocoferoles y alternativas en la optimización del procesamiento para mejorar la calidad nutricional de los aceites. Es por ello que en el presente trabajo de investigación se pretende obtener las condiciones óptimas de blanqueo (temperatura, cantidad de adsorbente y tiempo de contacto) para obtener un aceite de soya blanqueado con un alto contenido de tocoferoles y de buena calidad para la siguiente etapa del proceso de la refinación que es la desodorización.

JUSTIFICACION

El concepto de calidad en aceites, se ha mejorado drásticamente en los países desarrollados, y es algo que se tendrá que promover en México. Esto significa que el procesar aceite de alta calidad, implica además de una alta estabilidad oxidativa y bajo color, que el aceite posea una calidad nutricional aceptable, la cual se puede asegurar a través de una protección con antioxidantes naturales como los tocoferoles y cuidando no modificar la estructura química de los ácidos grasos insaturados a sus isómeros trans.

Es de vital importancia que la industria aceitera mexicana pueda ofrecer un producto con alta calidad nutricional en el futuro, debido a que los aceites y las grasas son parte fundamental en la formulación de una gran variedad de productos (pan, galletas, mayonesas, cremas, helados, margarinas, productos enlatados), donde estos aceites y grasas contribuyen a mejorar el sabor y apariencia de estos alimentos. En el caso de México, el gusto por el consumo de aceites y grasas se ve claramente marcado en la preparación y cocimiento de sus platillos regionales. Sin embargo, no se puede olvidar que estos aceites además de contribuir en mejorar el sabor de los alimentos son ingredientes esenciales en la nutrición del hombre.

Ante la importancia de los tocoferoles como antioxidantes naturales, resulta de sumo interés para la industria aceitera mexicana declarar en sus productos el contenido de tocoferoles, como un nuevo parámetro de calidad. Para esto la industria deberá contar con asesoría en la metodología para determinar este tipo de compuestos. Además, se debe establecer las condiciones óptimas de la etapa de blanqueo en la refinación de aceites, para reducir la pérdida de tocoferoles.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar las condiciones optimas de blanqueo y su influencia sobre el contenido de tocoferoles y la calidad en aceite de soya.

Objetivos Específicos

1. Caracterización química del aceite de soya neutralizado.
2. Determinar el efecto de la temperatura, tiempo de contacto y cantidad de absorbente, sobre la retención de tocoferoles en el aceite de soya durante la operación de blanqueo.
3. Encontrar las condiciones óptimas de blanqueo (temperatura, cantidad de tierras y tiempo de contacto) para obtener un aceite con el mínimo valor de peróxidos y la mayor retención de tocoferoles en ausencia y presencia de oxígeno.
4. Determinar en el aceite de soya blanqueado bajo las condiciones optimas encontradas: tocoferoles (α , β , γ , δ - tocoferol), color, ácidos grasos libres, jabón, metales traza, valor de peróxido, valor de p-anisidina, dienos conjugados, perfil de ácidos grasos (incluyendo los isómeros trans).

REVISION BIBLIOGRAFICA

El frijol soya ha sido la oleaginosa dominante en el mercado mundial en los últimos años, representando mas del 50% del total de la producción. De una producción mundial de oleaginosas de alrededor de 285 millones de toneladas en el año 2000, el 56.84% fue de frijol soya seguida por algodón (18.94%), colza (14.10%), cacahuete (12.10%) y por último girasol (9.40%) (FAO, 2000). Con respecto a la producción mundial de aceites vegetales en el año 2000 (90,157,110 Ton), el aceite de soya, ocupó el primer lugar (25.77%), seguido por el aceite de palma (24.34%), el aceite de colza (13.7%) y el aceite de girasol (10.55%) (FAO, 2000).

En México, el mercado de las oleaginosas esta regido por el consumo de pastas proteicas, el cual representa un promedio de 3.2 millones de toneladas en los últimos tres ciclos, de las cuales la pasta obtenida de la semilla de soya representa alrededor del 78%, la pasta de canola el 9% y la de algodón 5% (López, 1996). Sin embargo, a partir de 1990 la producción de semilla de soya en México empezó a decaer fuertemente (**Figura 1**).

Entre las causas fundamentales en el descenso de esta oleaginosa se encuentran: la plaga conocida como "mosquita blanca", la sequía y las nuevas políticas agrarias las cuales han provocado que sea mas costoso para el industrial importar estas semillas o su aceite crudo a nuestro país, que producir la semilla de soya por nosotros mismos. Esto ha traído como consecuencia la devastación la mayor parte de las áreas de cultivo de Sinaloa y Sonora, principales estados productores de esta oleaginosa (Alvarez, 1996). Esto ha dado como resultado que la producción reportada para frijol soya para el 2000 sea de 114,479 toneladas, siendo los principales productores en México: Tamaulipas (57,080 Ton), Sinaloa (52,497 Ton), Chiapas (14,137 Ton) y Campeche (2,830 Ton). Ante esta situación se ha tenido que cubrir este déficit con semilla de soya

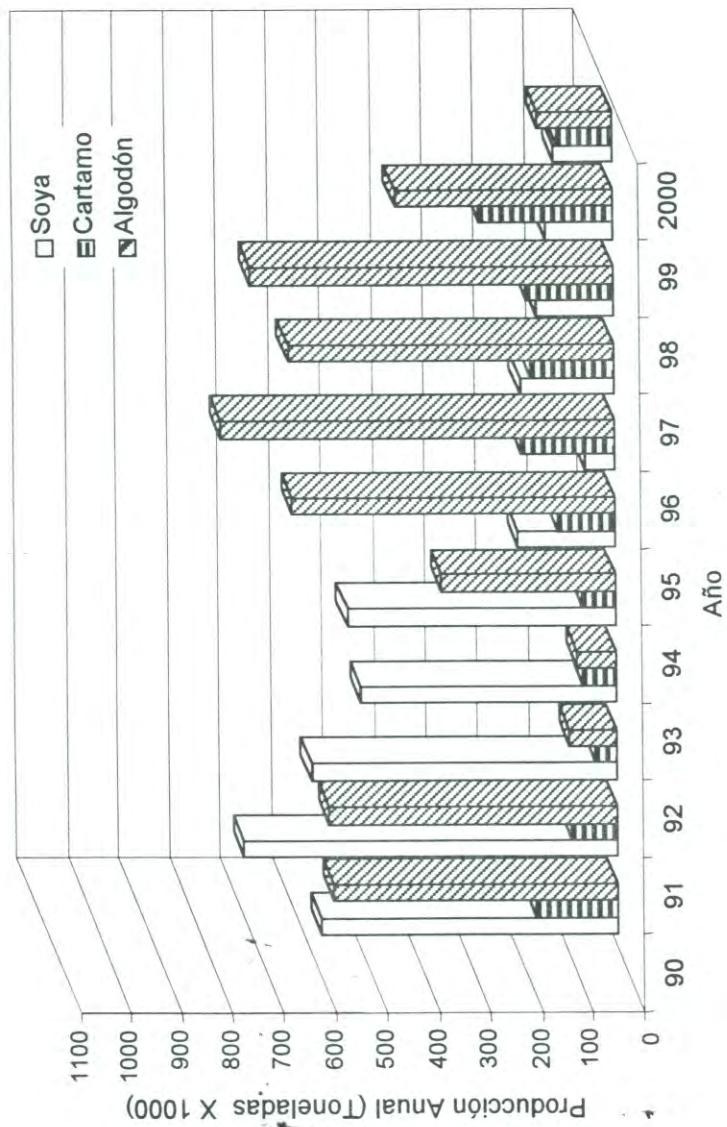


Figura 1. Producción de Oleaginosas en México (1990-2000).

Fuente: FAO, 2000

importada de Estados Unidos de Norteamérica. Los volúmenes de frijol soya importados en el año de 1999 fueron alrededor de 4,068,063 TM (FAO, 2000).

Producción de Aceite de Soya

La oferta total de aceites y grasas para el mercado nacional es de 1.7 millones de toneladas, de las cuales el 53.2% se comercializa como aceite embotellado, el 39 % como mantecas o margarinas industriales y el 7.8% como manteca de cerdo (Becerra, 1996). El aceite de soya es considerado el principal aceite obtenido en nuestro país, llegando a representar en promedio en los últimos 5 años el 40% del mercado de aceites y grasas vegetales (CAPRO, 1997).

Ante esta situación de dominio del aceite de soya en la oferta total de grasas en México, resulta de suma importancia aprovechar sus propiedades nutricionales, como su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados esenciales para el humano y su contenido de tocoferoles (vitamina E) (Emken, 1994). Sin embargo, el procesamiento del aceite de soya presenta algunos aspectos que deben considerarse en forma especial durante su procesamiento:

1. La pérdida de tocoferoles, los cuales se reducen alrededor del 50% durante el procesamiento del aceite de soya (Dougherty, 1988).
2. La transformación de la estructura química de los ácidos grasos poliinsaturados esenciales a sus isómeros *trans*, trae como consecuencia la indisponibilidad de ellos para el organismo. Estos ácidos grasos *trans* no deben exceder el 1% al salir el aceite del desodorizador (Kellens, 1997).

Composición de los Aceites

Los aceites vegetales son compuestos insolubles en agua pero solubles en disolventes orgánicos, como el hexano, cloroformo y éter de petróleo.

Triacilgliceridos

Los aceites están constituidos predominantemente por triacilglicéridos y éstos a su vez por ésteres de tres ácidos grasos monocarboxílicos y el glicerol. Estos ácidos grasos generalmente poseen un número par de átomos de carbono (C_{14} - C_{22}) y pueden ser saturados e insaturados (Lenhinger, 1982).

Acidos Grasos

Los lípidos son compuestos importantes en nuestra dieta, no solo por su alto valor energético sino por su contenido de vitaminas liposolubles (vitamina E) y ácidos grasos esenciales. En el aceite de soya se encuentran ácidos grasos saturados como el ácido palmítico (C_{16}) y el ácido esteárico (C_{18}); monoinsaturados como el ácido oléico ($C_{18:1}$) y poliinsaturados como el ácido linoléico ($C_{18:2}$) y el α -linolénico ($C_{18:3}$).

A pesar de la importancia nutricional de los lípidos, su consumo se debe regular. Grundy (1997), realizó una recopilación de estudios concluyendo que existen las suficientes evidencias de que el ácido palmítico (C_{16}), ácido mirístico (C_{14}) y el ácido láurico (C_{12}) aumentan la concentración de colesterol sérico, no así el ácido esteárico (C_{18}). Mientras el consumo de ácidos grasos mono y poliinsaturados (cis), reducen la concentración de colesterol sérico y las lipoproteínas de baja densidad.

Acidos Grasos Esenciales. Los aceites vegetales contienen ácidos grasos poliinsaturados de especial importancia nutricional, entre los cuales están el ácido linoleico (n-6) y el ácido linolénico (n-3). Estos ácidos grasos se consideran esenciales para el crecimiento y desarrollo del organismo humano. Son precursores de prostaglandinas, hormonas que desempeñan una actividad importante en la regulación de algunas funciones fisiológicas y bioquímicas del organismo humano. Cuando existe deficiencia de estos ácidos grasos esenciales

se reduce el crecimiento, la síntesis de prostaglandinas y se producen daños en la piel. El aceite de soya es una importante fuente de ácidos grasos, presentando un contenido de 56% de ácido linoleico y 8% de ácido linolénico (Bockisch, 1998).

Fosfolípidos

Los fosfolípidos son diacilgliceridos (R_1 , R_2) que contienen en su estructura una molécula de ácido fosfórico unida al glicerol (C_3) mediante un enlace éster. En el aceite de soya se encuentran principalmente tres diferentes fosfolípidos: fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina y fosfatidilinositol (**Figura 2**).

Tocoferoles

Entre los antioxidantes naturales de uso comercial más importantes se encuentran: los tocoferoles, ácido cítrico, ácido ascórbico y los extractos de algunas plantas (Rosemary). Estos tienen la ventaja de ser utilizados como un ingrediente natural en los alimentos y de tener una mayor seguridad en su uso que los antioxidantes sintéticos (Rathjen y Steinhart, 1997). Los tocoferoles comúnmente denominados como vitamina E son importantes inhibidores de la reacción de oxidación tanto en los sistemas biológicos como en los alimentos (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996; Ziller, 1996).

Fuentes Naturales de Tocoferoles. Estos compuestos son sintetizados solo por las plantas y son un importante nutrimento para humanos y animales, su concentración depende del contenido de ácidos grasos insaturados en los aceites (**Tabla 1**). Los tocoferoles se encuentran en cuatro formas: α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol (**Figura 3**). El isómero α -tocoferol es el más activo biológicamente y el γ -tocoferol es el isómero con mayor actividad antioxidativa en los aceites.

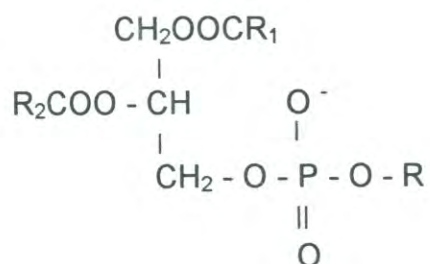


Figura 2a. Formula General para un Fosfolípido.

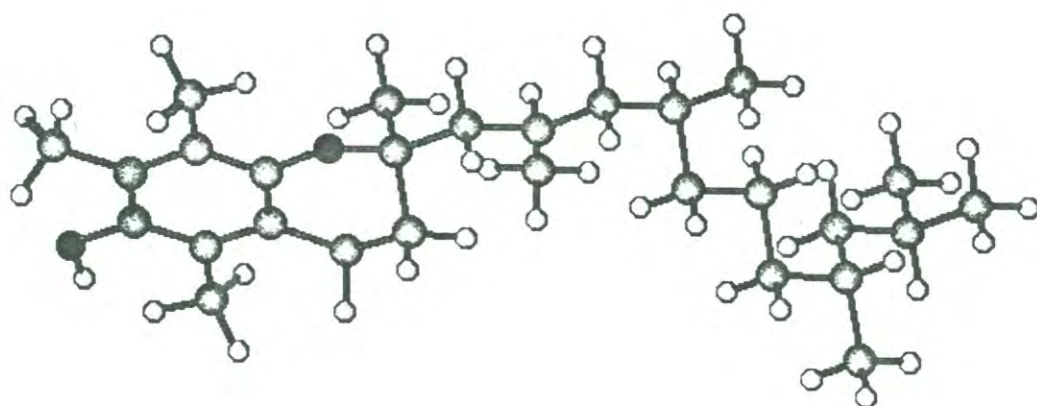
R	Nombre
H	Acido fosfatídico
$\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{NH}_3^+$	Fosfatidiletanolamina
$\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{NH}^+ (\text{CH}_2)_3$	Fosfatidilcolina
$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5$	Fosfatidilinositol

Figura 2b. Fosfolípidos mas comunes en Aceite de Soya.
Fuente: Lehninger, 1982

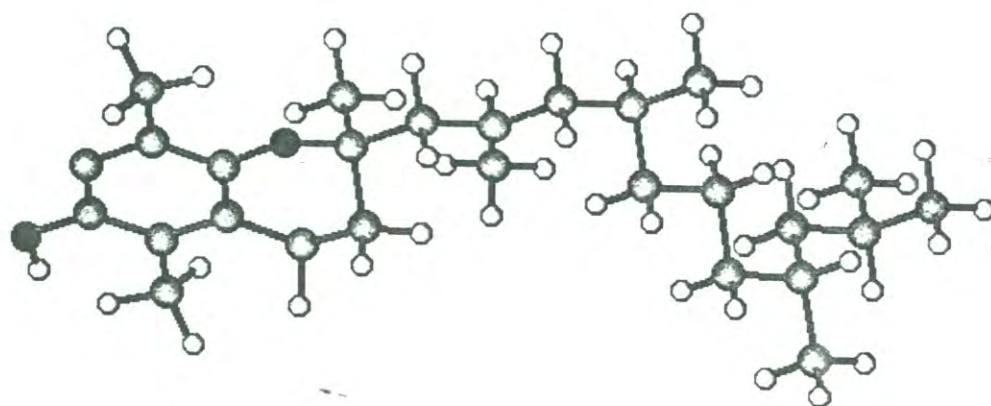
Tabla 1. Contenido de Tocoferoles Totales en Aceites Vegetales Crudos.

Aceite	Tocoferoles totales (ppm)	Valor de Iodo	Insaponificables (%)
SOYA	1700-2000	120-143	0.6-1.6
CANOLA	700-1200	110-126	0.5-1.2
MAIZ	1000-1500	127-133	0.4-1.2
GIRASOL	600-800	110-144	0.3-1.3
OLIVO	150-200	75-94	0.4-1.1

Fuente: Kellens, 1997.



α - Tocoferol



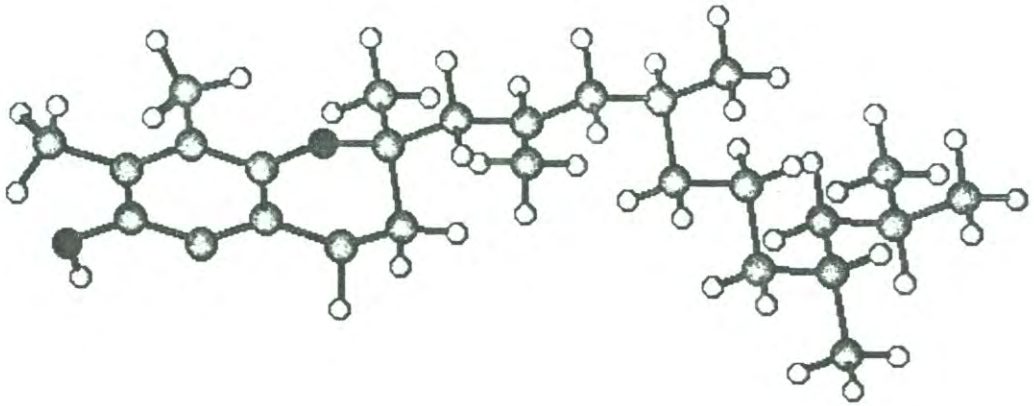
β - Tocoferol

● Oxigeno ● Carbono ○ Hidrogeno

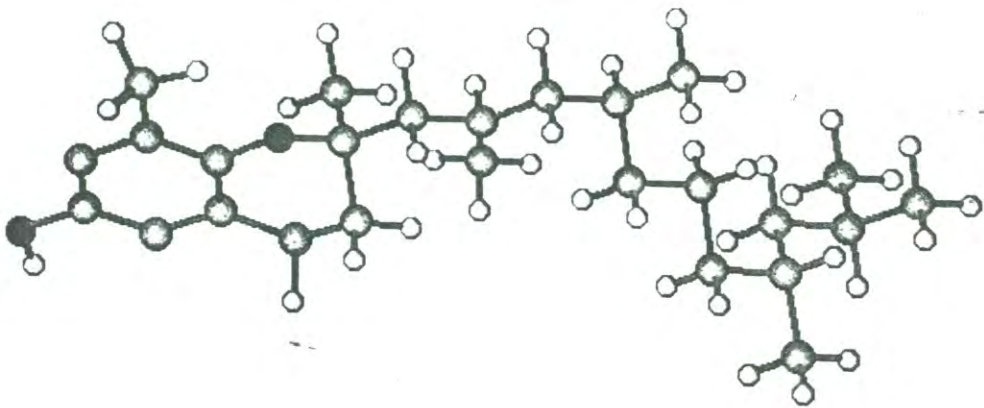
Figura 3. Estructura de los Tocoferoles

Fuente: Kamal y Appelqvist, 1996.

Continuación...



γ - Tocoferol



δ - Tocoferol

● Oxígeno ● Carbono ○ Hidrogeno

Figura 3. Estructura de los Tocoferoles
Fuente: Kamal y Appelqvist, 1996.

Una característica importante de los tocoferoles es su sensibilidad a la luz y temperatura (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996). Los tocoferoles han adquirido una gran importancia, debido al creciente interés por la industria de alimentos por reducir el consumo de antioxidantes sintéticos y aumentar el uso de antioxidantes naturales. Entre los antioxidantes naturales, los tocoferoles son reconocidos como los más potentes (Rathjen y Steinhart, 1997).

Actividad como Vitamina E. Se conoce como vitamina E a la mezcla de isómeros de tocoferoles y tocotrienoles reconocidos por su eficiente inhibición de la oxidación lipídica en alimentos y sistemas biológicos. La actividad antioxidativa de estos compuestos se encuentra influenciada por su estructura química, la cual define la habilidad para donar el hidrogeno que se encuentra en el grupo fenólico a los radicales libres. La actividad como vitamina E es diferente para cada isómero y ésta se aumenta cuando el anillo fenólico esta metilado completamente (α -tocoferol). Otra característica importante es el grado de insaturaciones en la cadena alifática, esta es la causa de que la actividad como vitamina E de los tocotrienoles sea menor a la del correspondiente tocoferol, por ejemplo el α -tocotrienol solo posee el 30% de la actividad como vitamina E del α -tocoferol y el β -tocotrienol tiene el 10% de la actividad biológica del β -tocoferol (**Tabla 2**) (Kamal y Appelqvist, 1996).

El α -tocoferol es el que posee mayor actividad antioxidativa, seguido en orden decreciente por los isómeros β -tocoferol > γ -tocoferol > δ -tocoferol. Esta actividad antioxidativa se determinó a cada uno de los isómeros en una solución homogénea de diclorobenceno y concuerda con la encontrada en los sistemas vivos. Sin embargo, la actividad antioxidativa "in vitro" de los isómeros del tocoferol es diferente en aceites y grasas. En este caso la mayor actividad es del δ -tocoferol seguido del γ -tocoferol y por último el α -tocoferol. Este cambio en la actividad antioxidativa de los isómeros del tocoferol, se debe a que la actividad de los tocoferoles, en este caso, no solo depende de su reactividad química,

Tabla 2. Actividad como Vitamina E (%) de diferentes Tocoferoles y Tocotrienoles.

Nombre	Actividad (%)
d- α -tocoferol	100
d- β -tocoferol	50
d- γ -tocoferol	10
d- δ -tocoferol	3
d- α -tocotrienol	30
d- β -tocotrienol	5
d- γ -tocotrienol	No conocida
d- δ -tocotrienol	No conocida

Fuente: Kamal y Appelqvist, 1996.

sino que además esta reacción es afectada drásticamente por la temperatura, luz y presencia de otros compuestos que actúan como prooxidantes (Kamal y Appelqvist, 1996).

Aspectos Nutricionales de la Vitamina E. El α -tocoferol actúa como antioxidante en los sistemas biológicos atrapando los radicales libres peróxido (Gey, 1993). Otros estudios asocian el desarrollo de la arteriosclerosis con niveles bajos en el consumo de α -tocoferol (Bieri, 1987). Estudios epidemiológicos muestran una fuerte evidencia de que los antioxidantes naturales (vitamina E, vitamina C y β -carotenoides), en especial la vitamina E, tiene un efecto preventivo en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, disminuyendo la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad; estas lipoproteínas oxidadas son las iniciadoras de la arteriosclerosis (Aruoma y Cuppett, 1997; Packer y Fuchs, 1993; Qureshi y Col., 1995). La Vitamina E es necesaria para el metabolismo celular (respiración celular, metabolismo del ácido nucleico) y es un efectivo antioxidante natural de los ácidos poliinsaturados de las membranas biológicas y de las lipoproteínas plasmáticas (Aruoma y Cuppett, 1997). Protege a las células de la oxidación en combinación con ácido ascórbico y algunas enzimas (glutathion peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa) (Eitenmiller, 1997).

Algunos estudios indican que ingestas elevadas de frutas y vegetales reducen de manera considerable los riesgos de cáncer, sin embargo es difícil asegurar que esta disminución se deba al contenido de vitamina E presente en estos (Nesaretnam y Col, 1998; Block, 1992; Diplock, 1994).

Procesamiento de Aceite de Soya

Tradicionalmente, la finalidad de refinar el aceite de soya ha sido eliminar las impurezas liposolubles, que se encuentran presentes en el aceite crudo y así producir un aceite con las mejores normas de calidad, como mejorar el sabor,

aparición y estabilidad oxidativa. Sin embargo, en países desarrollados como Japón, E.U., Canadá y países Europeos, cada vez ponen mayor énfasis en no afectar las propiedades nutricionales. Esto significa que al refinar eficientemente aceites vegetales se tienen que eliminar impurezas tales como: sólidos residuales del proceso de extracción, fosfolípidos (gomas y complejos metálicos de calcio, magnesio y fierro), ácidos grasos libres, peróxidos, polímeros, productos secundarios de oxidación y pigmentos, cuidando no reducir las vitaminas naturales (tocoferoles) especialmente durante el proceso de blanqueado y desodorización (Kellens, 1997; Beauregard, 1996).

Erickson (1995), recomienda que para obtener un aceite con estabilidad oxidativa, se deberán eliminar todas las impurezas (no triacilglicéridos) y obtener al final un producto con un contenido total de triacilglicéridos no inferior al 99.5%. Esto se logra a través de una eficiente realización de las operaciones unitarias: desgomado, refinación química, blanqueo y desodorización (**Figura 4**).

Desgomado

La operación de desgomado es el primer paso de la refinación del aceite crudo y tiene como objetivo separar los fosfolípidos, las partículas metálicas (sales de calcio, magnesio y fierro) y todas las partículas sólidas del aceite y dándole así mayor estabilidad a la oxidación lipídica, haciendo más eficiente su refinación alcalina y blanqueo (List y Col., 1978). Esto puede conseguirse en dos etapas:

- 1ª. Eliminando los fosfolípidos hidratables al agregar agua al aceite.
- 2ª. Eliminando los fosfolípidos no hidratables al agregar ácido al aceite.

El aceite desgomado con agua debe tener un contenido final de fósforo no mayor de 150 ppm mientras que el aceite desgomado con ácido el contenido final de fósforo debe ser menor de 50 ppm. (Erickson, 1995).



Figura 4. Procesamiento del Aceite de Soya.

Neutralización

La operación de refinación puede realizarse por el método químico con sosa cáustica, la cual también es llamada neutralización o por el método físico el cual es una refinación por destilación con vapor. Esta etapa tiene como finalidad reducir al mínimo los fosfolípidos y los ácidos grasos libres por medio de una saponificación con una solución de NaOH (Erickson, 1995). Se eliminan también del aceite otras sustancias indeseables como: sustancias sólidas, ceras, pigmentos y esteroides. Por lo tanto, es importante seleccionar la más adecuada concentración de NaOH, el más estricto control en su dosificación proporcional, la mejor temperatura del aceite al momento de la adición, el tiempo de contacto necesario para la formación del cristal de jabón y la temperatura más idónea para la centrifugación o decantación (Erickson, 1995).

Blanqueo

El proceso de blanqueo con tierras ácidas activadas, es el paso más importante del procesamiento de aceite de soya. Esto ha traído como resultado la confirmación de que el blanqueo afecta a los aceites más allá de la remoción de material colorante y que además este proceso es determinante en la estabilidad del aceite blanqueado (Villa, 1995, Ziller, 1996). La reducción del color del aceite de soya, ocurre durante todos los pasos de su procesamiento: desgomado, refinación con sosa cáustica, blanqueo, hidrogenación y desodorización. Sin embargo la operación de blanqueo es fundamental en el aceite de soya, debido a que además de la reducción de color son reducidos los tocoferoles, productos primarios y secundarios de oxidación, trazas de fosfolípidos (gomas), jabón y metales traza (calcio, magnesio y hierro) (Bravo, 1993; Mag, 1990). Actualmente se está teniendo cuidado con las temperaturas, que se utilizan así como en el tipo de tierras y el tiempo de contacto durante dicho proceso para tener la mayor eliminación de los compuestos coloridos que afectan la calidad de los aceites (Mag, 1990; Bockisch, 1998).

Desodorización

El objetivo de la desodorización es obtener un aceite, sin olor, con apenas un ligero sabor a almendra, un color tenue (10A 1R), un contenido de AGL menor del 0.05% y una buena estabilidad oxidativa (Erickson, 1995). La desodorización consiste en inyectar vapor de agua al aceite que se encuentra a una presión absoluta baja (2-4 mm de Hg) y a una temperatura lo suficientemente alta (230-250°C) para eliminar por arrastre de vapor los ácidos grasos libres, hidrocarburos insaturados, aldehídos y cetonas, compuestos que si no son eliminados proporcionan al aceite olores y sabores desagradables (Zehnder, 1995). La práctica mas adecuada es destilar:

1. A la menor temperatura posible, así se obtiene un producto mas estable a la oxidación y con la menor formación de isómeros *trans*.
2. A la menor presión absoluta, se asegura la destilación a la menor temperatura posible y con la menor cantidad de vapor de arrastre.
3. Con vapor de arrastre seco, para evitar la aparición de olores y sabores desagradables en el aceite desodorizado (Villa. 1996).

Debido a que durante el proceso de desodorización el aceite se lleva a temperaturas alrededor de los 240°C, es de gran importancia que el aceite que entra a este proceso tenga un alto contenido de tocoferoles para que de esta manera la pérdida sea menor (<25%).

Aspectos Fundamentales del Proceso de Blanqueo

Este es un proceso importante usado para la remoción de impurezas de grasas y aceites. Se realiza después de la etapa de neutralización y a esta la antecede la etapa de desgomado en el proceso de refinación de los aceites. Las etapas de desgomado y neutralización involucran procesos químicos en la eliminación de los compuestos indeseables, por el contrario en la etapa de desodorización se involucran procesos físicos. En la etapa de blanqueo se

involucran una combinación de ambos, por algunos autores consideran al blanqueo como parte fundamental en el proceso de refinación de los aceites (O'Brien, 2000).

Para entender el proceso de blanqueo se requiere conocer las propiedades de las tierras de blanqueo y de igual manera la gran diversidad de impurezas que se encuentran presentes en los aceites, con la finalidad de eliminarlas de una manera mas fácil y sencilla. En este proceso se utilizan tierras activadas, estas son silicatos de aluminio (bentonita, atapulgita, montmorillonita) las cuales contienen una cantidad relativamente alta de magnesio, calcio o fierro. En su estado natural las tierras de blanqueo no poseen la capacidad de blanquear o adsorber las sustancias coloridas (O'Brien, 2000; Mag, 1990; Bockisch, 1998).

La activación de estas tierras consiste en transformar los silicatos en sílica coloidal que posee un fuerte poder adsorbente. Esta transformación es realizada por medio de vías químicas, debido a la acción del ácido sulfúrico o clorhídrico. La temperatura a la cual se realiza esta activación oscila entre los 80-130°C. La calidad de la tierra depende de la cantidad de ácido empleado, del tiempo y de la temperatura de la reacción. Después de la reacción, las tierras son lavadas, para eliminar los restos de ácidos y las sales metálicas que se han formado por la acción del ácido; luego las tierras son secadas y molidas. La humedad óptima que deben tener estas tierras es de 10%. El tamaño del granulo de la tierra y consecuentemente la superficie especifica tiene una gran importancia (Bockisch, 1998).

El propósito de esta etapa es obtener un aceite estable a la oxidación al eliminar todos los productos de oxidación y los promotores de la oxidación. Los productos de la oxidación son los hidroperóxidos (determinados por el valor de peróxido) y los aldehídos y cetonas (determinados por el valor de p-anisidina). Los principales promotores de la oxidación son la clorofila, las trazas de

fosfolípidos y las partículas metálicas. La pérdida de aceite en este proceso está relacionada con la cantidad de arcilla clarificante utilizada. El aceite proveniente de este proceso debe estar libre de partículas de arcilla, tener una apariencia limpia y clara y un contenido de fósforo menor de 1.0 ppm, además debe tener un contenido de clorofila, valor de peróxido y jabones igual a cero. El contenido de hierro debe de ser inferior a 0.1 ppm y el cobre de 0.05 ppm (Villa, 1996).

Teoría del Blanqueo

Las partículas coloridas que deben ser eliminadas durante el proceso de blanqueo se encuentran presentes en todos los aceites en forma coloidal. Cuando se adicionan las tierras de blanqueo al aceite, se presentan diferentes tipos de procesos físicos, por ejemplo: adsorción, pero también puede ser un proceso químico entre los diferentes compuestos coloridos y los centros activos de las tierras de blanqueo. En ambos casos el proceso de blanqueo es llevado a cabo en la superficie de las tierras de blanqueo. En algunos casos el proceso de blanqueo se realiza sin la transformación de los compuestos a eliminar como la clorofila y los carotenos, caso contrario al que ocurre con los peróxidos que son transformados a aldehídos y cetonas y que se eliminan en la etapa siguiente (desodorización).

Matemáticamente el proceso de Blanqueo sigue las isoterms de adsorción de Freundlich, la cual es una adecuación de la ecuación de Langmuir. Estas ecuaciones son válidas para temperatura constante y describen la dependencia de la cantidad adsorbida de una sustancia (k) en relación a la cantidad residual (c) en el solvente (en este caso en el aceite).

$$k/k_0 = \alpha (c/c_0)^b \quad (1)$$

En forma simplificada:

$$k_r = \alpha (c_r)^b \quad (2)$$

O lo que vendría a ser lo mismo:

$$\log k_r = \log \alpha + (\log b) (\log c_1) \quad (3)$$

Donde los índices 0 y 1 indican las cantidades relativas iniciales y finales, respectivamente, K_r es la relación de los componentes adsorbidos, c , es la cantidad de componentes no adsorbidos y b , son las constantes específicas del sistema. Si se incluye una cantidad de adsorbente m (agente blanqueador) entonces se obtiene como resultado lo siguiente:

$$k = (m)(\alpha) + (c^b) \quad (4)$$

O lo que vendría a ser igual a:

$$\log k - \log m = \log \alpha + (b) (\log c) \quad (5)$$

Al desarrollarse diferentes tipos de procesos de blanqueo con diferentes tipos de tierras, α es una medida de la cantidad relativa de tierras que van a ser usadas para obtener un determinado resultado en el blanqueo. Manteniendo el producto de m y α constantes, por ejemplo a un $\alpha = 0.25$, la cantidad de tierras de blanqueo debe de ser cuatro veces mas alta para un $\alpha = 1.0$. Se han realizado diferentes trabajos en donde se han desarrollado diferentes valores para α y b , esto debido al equipo utilizado en el proceso, tipo de tierra utilizado y básicamente al tipo de aceite a blanquear (Bockisch, 1998).

Acción de las Tierras de Blanqueo

La mejor propiedad conocida de las diferentes tierras de blanqueo es la adsorción de los diferentes cuerpos coloridos tales como los carotenos y la clorofila. Este tipo de adsorción es debida a las fuerzas de van der Waals la cual es conocida como una simple adsorción física. Cuando se involucran reacciones químicas se denomina quimioadsorción. Un criterio importante en la adsorción física que debe de ser tomado en cuenta es la habilidad del adsorbente a adsorber una cierta sustancia (O'Brien, 2000; Bockisch, 1998).

Tabla 3. Diferentes Compuestos a Eliminar en la Etapa de Blanqueo.

Característica	Influencia en:
Acida	Fosfatidos, clorofila, ácidos grasos libres, jabón.
Catalítica	Dienos conjugados, carotenos, cuerpos coloridos, peróxidos, cetonas, aldehídos, ácidos grasos trans, ácidos grasos libres, dimeros, polímeros, hidrocarburos.
Intercambiadora de iones	Fosfatidos, clorofila, ácidos grasos libres, jabón, metales traza.
Adsorción	Fosfatidos, clorofila, carotenos, ácidos fosfórico, dimeros de ácidos grasos libres, polímeros, hidrocarburos.

Fuente: O'Brien, 2000.

(Totox). Una actividad catalítica alta es igualada con un bajo valor de peróxidos después del blanqueo. Valores altos en los productos secundarios de la oxidación tales como los aldehídos y cetonas vienen a ser el producto de la descomposición de los hidroperóxidos. De la misma manera puede haber la formación de ácidos grasos conjugados los cuales son muy susceptibles a sufrir oxidación, no así los no conjugados, por lo cual se recomienda llevar a cabo el proceso de blanqueo bajo la utilización de vacío o usando nitrógeno y de igual forma el almacenamiento del aceite debe ser mediante atmósferas de nitrógeno en los envases.

3. Acción iónica: eliminación de iones metálicos.

Durante el proceso de la activación ácida de la montmorillonita, la capacidad intercambiadora de iones (CEC) decrece. Una bentonita de alta calidad tiene un CEC de 80-100 aVal/100 g. Existen tierras de blanqueo activadas que puede tener valores mas bajos de activación y todo depende de su utilización en la eliminación de los diferentes tipos de impurezas. De la misma manera durante la activación de las tierras de blanqueo se incrementa la porosidad, lo cual incrementa la velocidad de adsorción. Los iones metálicos que deben ser reducidos del aceite son:

- a. Hierro, cobre, zinc, arsénico: son poderosos catalizadores de oxidación.
- b. Calcio y magnesio: fosfolípidos no hidratables.

La cantidad de tierra es importante en el proceso de blanqueo por lo cual se recomienda utilizar cantidades definidas para cada aceite. La **Tabla 4** muestra el contenido de tierras de blanqueo que se destina para cada tipo de aceite procesado (Mag, 1990).

Tabla 4. Cantidad de Tierras de Blanqueo Recomendadas para Diferentes Tipos de Aceites.

Aceites	Cantidad de Tierras (%)
Soya	0.2-0.4
Girasol	0.2-0.3
Germen de Maíz	1.0-1.5
Canola	0.5-0.8
Nuez	0.4-0.8
Algodón	1.0-2.0
Orujo de Oliva	2.0-4.0
Oliva ¹	1.0-2.0
Salvado de arroz	3.0-5.0
Palma ¹	0.7-1.5
Palmiste ¹	0.5-1.0
Coco	1.5-2.5

¹ En refinación física.
Fuente: Villa, 1996.

Factores que Afectan el Proceso de Blanqueo

En la etapa de blanqueo del proceso de refinación de los aceites existen diferentes factores que son de gran importancia y que deben ser manejados con un estricto control y son: el tiempo de contacto, temperatura de blanqueo, cantidad de tierras, vacío y la humedad.

Tiempo. El tiempo necesario para la remoción máxima del color depende de la calidad de las tierras de blanqueo y de la temperatura de blanqueo. Se ha encontrado que una decoloración óptima se obtiene después de los 35 minutos, utilizando para ello una temperatura de 105 °C y el tiempo óptimo de blanqueo fue decreciendo cada 5 minutos cuando la temperatura se incremento a 120 °C. La remoción del color se incrementa con incrementos en la temperatura o en el tiempo, sin embargo, tiempos prolongados de contacto de las tierras de blanqueo con el aceite y altas temperaturas, puede causar reversión del color. El tiempo de contacto óptimo para muchos aceites se encuentra en el rango de 20-30 minutos a una temperatura de 90-100 °C. Se recomiendan tiempos cortos cuando se utilizan temperaturas altas. Grandes tiempos de exposición del aceite con las tierras de blanqueo y altas temperaturas disminuyen la estabilidad oxidativa o la calidad de grasas y aceites terminados (O'Brien, 2000; Bockisch, 1998).

Las gráficas que explican el comportamiento del proceso de blanqueo respecto al tiempo muestran dos diferentes comportamientos. De acuerdo a recientes teorías, en la primera fase, la estabilidad del coloide es bloqueada cuando las tierras de blanqueo son añadidas y las sustancias estabilizadas del coloide son adsorbidas. En la segunda fase, las partículas coloidales forman agregados, donde estas también son adsorbidas; tales partículas pueden ser vistas con la ayuda de un microscopio (**Figura 5**).

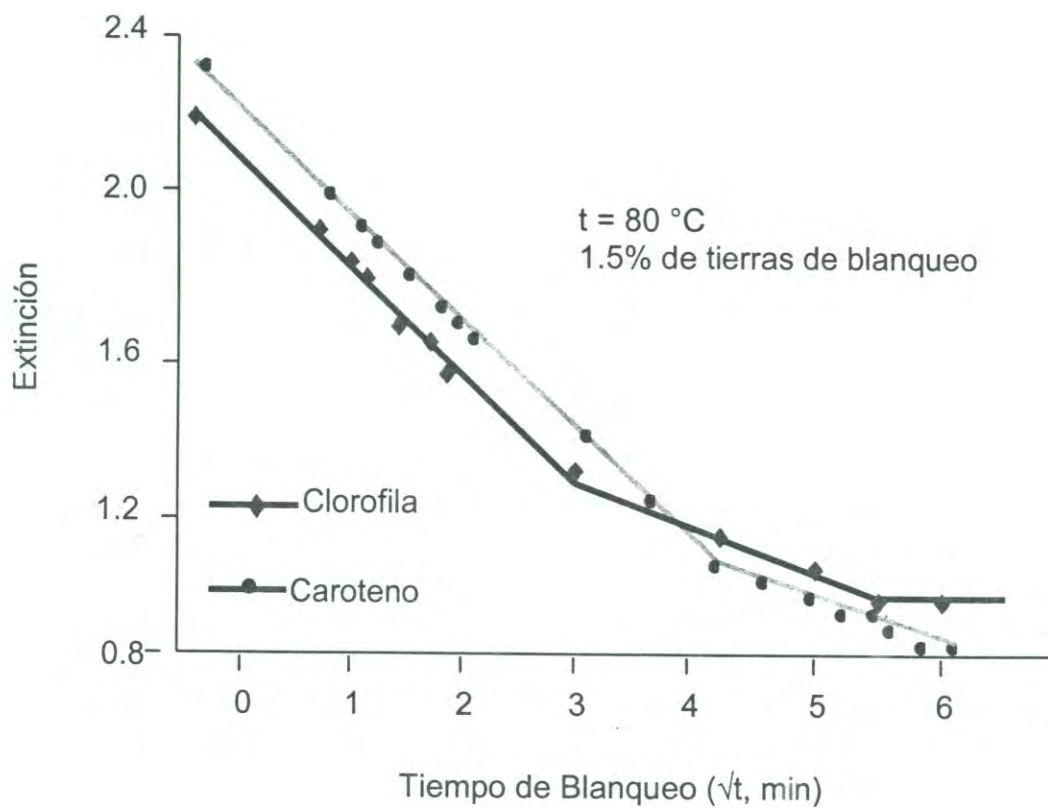


Figura 5. Efecto del Tiempo de Blanqueo en la Extinción de Pigmentos.
Fuente: Bockish, M. 1998.

Cantidad y Calidad de las Tierras de Blanqueo. De acuerdo a la ecuación antes descrita de Freundlich, la remoción de las impurezas se incrementa con la cantidad de adsorbente. Sin embargo, es difícil de calcular la mínima cantidad de tierras de blanqueo necesarias para un eficiente proceso. Esto se debe a que los diferentes tipos de aceites contienen impurezas de diferentes fuentes y cantidades que pueden interaccionar de manera distinta con las tierras de blanqueo. Las impurezas encontradas pueden ser jabón o fosfolípidos si el aceite es procesado por refinación alcalina o fosfolípidos y otras gomas en el caso de refinación física. El jabón tiene la particularidad de bloquear los sitios activos de las tierras de blanqueo y los fosfolípidos bloquean el efecto de acción en la superficie de las tierras de blanqueo. Los jabones y las gomas en algunas ocasiones forman partículas grandes con las tierras de blanqueo, las cuales tienen como resultado una caída de la presión durante la filtración. Por tal motivo la presencia de estas impurezas requiere de un alto consumo de tierras de blanqueo o tierras de blanqueo con un mayor grado de activación para poder remover los cuerpos coloridos adecuadamente y poder descomponer los hidroperóxidos. El aceite después del proceso de blanqueo debe de ser de color claro. Esto se logra por efecto de la presión utilizada en el filtrado cuando la concentración de tierras es la adecuada para no dejar pasar ninguna impureza en el filtro. Además altas concentraciones de tierras de blanqueo fortalecen la purificación de las grasas y aceites (O'Brien, 2000; Mag, 1990; Bockisch, 1998).

Temperatura. Las temperaturas de blanqueo usualmente se encuentran dentro del intervalo de 90-110 °C, mientras que aceites difíciles de blanquear requieren temperaturas más altas de 120 °C, sin embargo, la reducción del color debe ser esperada a la temperatura más baja posible. El uso de temperaturas altas disminuye la viscosidad del aceite favoreciéndose las reacciones que van a reducir la calidad y la vida media del mismo (reacciones de oxidación y reacciones de fijación de color) (**Figura 6**). Se han visto diferentes tipos de reacciones en la superficie de las tierras de blanqueo las cuales tienen como finalidad la reducción del color y lograr el equilibrio para su disminución, es

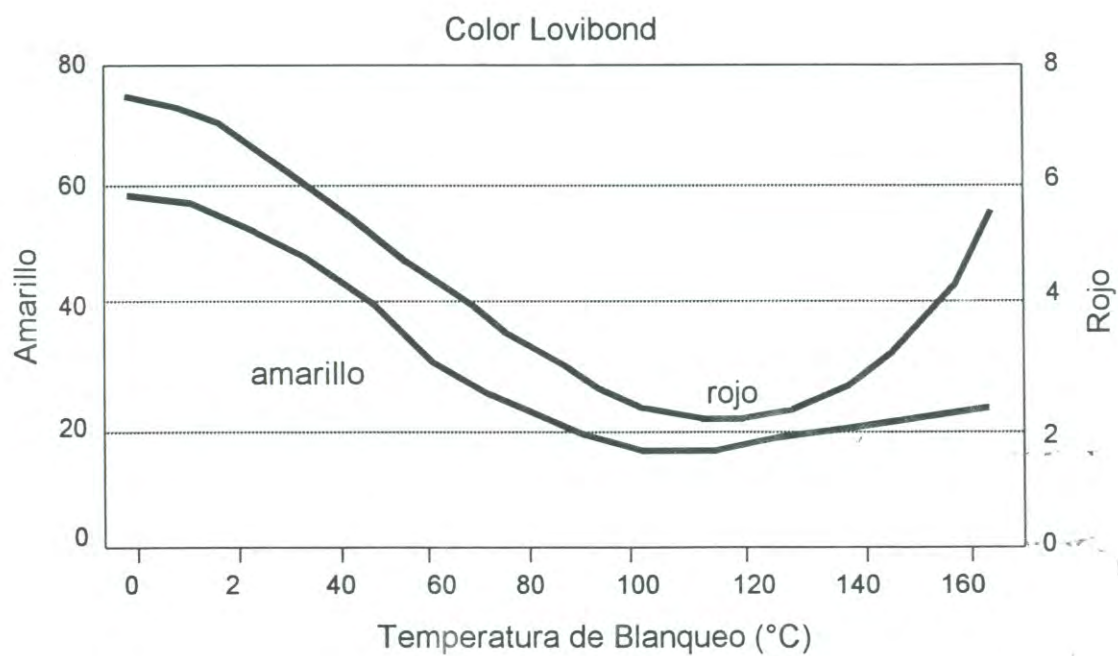


Figura 6. Reducción del Color en el Aceite Blanqueado con Respecto a la Temperatura.

Fuente: Bockish, M. 1998.

por ello que según la teoría de van't Hoff, existe una doble velocidad de reacción con incrementos de temperatura de 10 °C. Cabe mencionar además que la temperatura depende en forma directa del tipo de aceite (composición) de los productos y sus impurezas (Bockisch, 1998).

Presión. En tiempos pasados el blanqueo de aceites, era realizado bajo condiciones atmosféricas. Sin embargo el efecto determinante del oxígeno en la calidad o estabilidad oxidativa se encuentra bien establecida a partir de 1929 (Eckart, O. 1929). Eicke, (1984), reportó el efecto de la presión (atmosférica y bajo vacío) sobre el valor de peróxidos y el color, detectándose un incremento de ambos parámetros cuando el blanqueo se llevaba a cabo a presión atmosférica (presencia de oxígeno), mientras que este efecto no se presentó con el uso de vacío (**Tabla 5**).

Esto indica que las condiciones atmosféricas de blanqueo son las adecuadas para que se lleve a cabo la oxidación (presencia de oxígeno y altas temperaturas). Obviamente el proceso de blanqueo ofrece una mejor protección del aceite a la oxidación cuando es procesado bajo vacío, es decir todas las grasas y aceites deben de ser procesados protegiéndolos del oxígeno para obtener un aceite sin sabor, estabilidad oxidativa y con mayor vida de anaquel (O'Brien, 2000).

Humedad. La cantidad de humedad presente en el aceite a ser blanqueado debe de ser <0.2% con el fin de cuidar que el aceite no puede sufrir hidrólisis de sus ácidos grasos, la cual es catalizada por las tierras de blanqueo. Sin embargo, una cantidad de humedad óptima (5-10%) debe de estar presente en las tierras para asegurar su buena eficiencia. Tierras de blanqueo no secadas pueden contener más del 10% de humedad.

Tabla 5. Blanqueo de Sebo: a Presión Atmosférica y Utilizando Vacío ¹

Temperatura (°C)	Presión (mm de Hg)	Color FAC ²	PV ²
90	Atm	175	16
90	50	25	2
110	Atm	225	14
110	50	15	2
130	Atm	225	24
130	50	75	1

¹ Condiciones: 5% de Tonsil Estándar 310 FF; tiempo 30 min.

² Abreviaciones: FAC = Fats Analysis Committee of AOCS; PV = Valor de Peróxido.
Fuente: O'Brien, 2000.

Pérdida de Tocoferoles durante el Blanqueo de Aceites Vegetales

Frandsen (1996), reportó que el tocoferol se encuentra en mayor concentración en el aceite crudo de soya (1,200 ppm) en comparación con aceite de maíz (900 ppm) y algodón (790 ppm). Sin embargo, Fourier y Basson (1989) y Chu y Lin (1993), encontraron que la concentración de tocoferol en el aceite crudo se ve fuertemente disminuida cuando el aceite está húmedo o se almacena por largos periodos de tiempo.

Ferrari y Col. (1996), reportaron que los niveles de tocoferol en los aceites se reducen durante su procesamiento y almacenamiento. La reducción se da durante el desgomado, neutralización, blanqueo y principalmente la desodorización, debido a que los tocoferoles son volátiles a las condiciones de desodorización. La reducción de los niveles de tocoferol se ven claramente establecidos en la **Tabla 6**, en donde se muestran los porcentajes de retención en las diferentes etapas del procesamiento. En el estudio aquí propuesto se recomienda mantener la protección natural de los aceites a través de la optimización de las condiciones del proceso de blanqueo para poder estar a un nivel de competencia con los diferentes aceites que se producen en otros países.

Análisis Físico y Químico de los Aceites

Con la finalidad de establecer la calidad de los aceites y grasas se utilizan parámetros físicos y químicos. Este tipo de parámetros son evaluados por una serie de metodologías que son específicas para los aceites y grasas, para lo cual existe una recopilación de técnicas en "Official Methods and Recommended Practices" editados por la American Oil Chemists' Society (1997, AOCS). Los resultados obtenidos en este tipo de análisis proporcionan una serie de información de los aceites y grasas, su origen, su naturaleza y composición, además del tipo de procesamiento y almacenamiento que pudo ser proporcionado a nivel industrial y comercial. Esta información proveniente de los diferentes análisis puede ser un punto importante en la aceptación o rechazo de

Tabla 6. Efectos del Procesamiento en el Contenido de Tocoferol en Aceite de Soya.

Etapa de Procesamiento	Otros Países ¹		México ²	
	mg/100g	% de retención	mg/100g	% de retención
Crudo	167	100	114	100
Desgomado	158	94.6	107	93.8
Neutralización	155	92.8	100	87.7
Blanqueo	147	88.0	93	81.5
Desodorización	114	68.3	60	52.6

Fuente ¹: Young, 1989

²: Medina y Col, 2000.

la materia prima a ser procesada o el producto terminado, además de definir su calidad la cual repercutirá directamente en el precio del producto o en los posibles cambios durante el proceso y almacenamiento (Lusas y Hernández, 1983). A continuación se enumeran algunos de los métodos contenidos en este manual, que tienen como finalidad evaluar la calidad de los aceites y los cuales serán utilizados en este trabajo:

Acidos Grasos Libres (AGL)

Esta determinación es definida como el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para saponificar los ácidos grasos libres de un gramo de muestra de un aceite o grasa y es expresado como el porcentaje de ácido oleico; este es un parámetro que indica el grado de descomposición de los triacilgliceridos que se encuentran presentes en el aceite.

La realización de este análisis tiene como finalidad determinar la acción efectiva de la saponificación de los ácidos grasos en la etapa de neutralización química del proceso de refinación de los aceites. Además esta determinación tiene un fin secundario que es determinar las posibles pérdidas en la refinación debida a este proceso. El valor máximo recomendado para el aceite de soya después de la etapa de neutralización debe de ser menor del 0.08% (expresado como ácido oleico) (Erickson, 1995).

Valor de Peróxidos (VP)

Este método tiene como finalidad determinar los peróxidos por medio de una simple titulación. En esta determinación se cuantifican los productos primarios de la reacción de oxidación de las grasas y aceites. El resultado se expresa como los miliequivalentes de peróxidos encontrados en un kilogramo de aceite y que son oxidados por el yoduro de potasio.

Este análisis tiene la finalidad de evaluar la calidad de los aceites en cada una de las etapas del procesamiento de los aceites y a su vez durante su almacenamiento. Según la Norma Oficial Mexicana (NOM, 1985) es recomendable para un aceite de soya desodorizado un valor de 2.0 mEq/Kg. Sin embargo, Villa (2001), recomienda que después de la etapa de blanqueo el valor de peróxidos debe de ser de cero y después de la etapa de desodorización obtener valores menores de 1 mEq/Kg. Esto tendrá como consecuencia la obtención de un aceite con mejor estabilidad oxidativa al final del proceso de refinación.

Los compuestos que son analizados por esta metodología (peróxidos) presentan una variación durante la reacción de oxidación. En la primera etapa de esta se tiene un pico máximo al graficarse contra el tiempo y posteriormente empiezan a decaer, esto se debe a que estos compuestos en la segunda etapa de la reacción de oxidación se empiezan a descomponer en nuevos compuestos que no pueden ser analizados por este método y estos compuestos son aldehídos, cetonas, alcoholes y ácidos, para lo cual existe otra metodología (Gray, 1978).

Valor de *p*-anisidina (VA)

Esta determinación tiene como finalidad la cuantificación de los productos secundarios de la reacción de oxidación de las grasas y aceites, los cuales son los responsables de proporcionar los malos olores y sabores en los aceites. Este método es una medición colorimétrica a 350 nm. La cual se basa en la reacción colorimétrica entre el reactivo *p*-anisidina y los compuestos secundarios de la oxidación (aldehídos, cetonas, alcoholes y ácidos). Los aceites desodorizados deberán tener valores de *p*-anisidina igual o menores a 2 mmol/kg para considerarse con buena estabilidad oxidativa (Lusas y Hernández, 1983).

El uso del valor de peróxidos (VP) y el valor de p-anisidina (VA) proporciona una información completa de la reacción de oxidación de los aceites. Con estos dos valores se puede predecir la estabilidad oxidativa y es calculado a través del TOTOX = VA + 2VP. Para obtener un aceite nuevo con estabilidad oxidativa se recomienda que el valor del TOTOX no exceda de 4.

Color

Lovibond. La determinación de color en la industria aceitera se realiza en un colorímetro el cual es conocido como tintómetro (Tintometer Lovibond). Este método se basa en la comparación del color de los aceites haciendo sombra contra tres juegos de vidrios coloridos primarios: rojo, amarillo y azul (AOCS, Cc 13e-92). El equipo antes mencionado tiene la versatilidad no solo de establecer los valores de color del aceite, si no que además se pueden obtener los valores de otros constituyentes en el aceite como es el caso de la clorofila A y B que son de gran importancia a nivel industrial como un parámetro de calidad en la etapa de blanqueo durante el proceso de refinación de aceites. El color recomendado por la Norma Oficial Mexicana (NOM, 1985) para un aceite desodorizado es de 20 amarillo y 3 de rojo.

Espectrofotométrico. Una prueba rápida y segura para la determinación del color a nivel laboratorio es el método espectrofotométrico, el cual se basa en la determinación del color midiendo los valores de absorbancias a diferentes longitudes de onda (460, 520, 550 y 670 nm) AOCS Cc 13c-50.

Los valores de color espectrofotométrico son equivalentes a los valores de color rojo en los diferentes aceites, es decir:

$$\text{Color} = 1.29\text{Abs}_{460} + 69.7\text{Abs}_{520} + 41.2\text{Abs}_{550} - 56.4\text{Abs}_{670} \quad (6)$$

Donde Abs: es la absorbancia medida a esa longitud de onda.

Jabón

Esta determinación tiene como finalidad la cuantificación del jabón proveniente de la etapa de neutralización. Consiste principalmente en lavar el aceite con agua para posteriormente eliminar el jabón por filtración. Esta determinación se basa en la cuantificación de la alcalinidad del aceite tomando como base al oleato de sodio. Esta determinación es de gran importancia antes de que el aceite entre a la etapa de blanqueo debido a que el jabón tiene en su estructura iones metálicos que van a inactivar los sitios activos de las tierras ácidas de blanqueo y por lo consiguiente no podrán desarrollar su función. Se menciona que el contenido de jabón en el aceite neutralizado debe ser menor de 30 ppm y a la salida del blanqueo debe contener un valor menor de 1 ppm (Villa, 2001).

Dienos Conjugados

En la estructura de los ácidos grasos poliinsaturados no es común encontrar a los dienos conjugados. Por lo tanto, estos son el resultado de una modificación estructural de los ácidos grasos poliinsaturados durante la autoxidación o durante la hidrogenación parcial de los aceites vegetales (Banni y Martin, 1998). Para llevar a cabo esta determinación se realiza mediante el método espectrofotométrico. Los aceites que contienen ácidos grasos poliinsaturados y a su vez dienos conjugados tiene la característica de absorber en el ultravioleta, dentro de una región comprendida entre los 230-235 nm, con un máximo a los 233 nm. El aumento de los dienos conjugados se debe al incremento en el consumo del oxígeno utilizado en la oxidación de los aceites debido a la formación de los hidroperóxidos en las etapas iniciales de la misma, por lo cual resulta de suma importancia esta determinación ya que indica el avance del inicio de la oxidación (White, 1994).

Elementos Traza

Fósforo. En el procesamiento de los aceites vegetales existe una etapa que es conocida con el nombre de desgomado y tiene como finalidad eliminar todas las gomas hidratables y no hidratables, es por ello que la cuantificación del fósforo es importante ya que este se encuentra formando parte de las gomas hidratables y es conocida comúnmente como "lecitina". Un aceite que se ha desgomado adecuadamente debe contener un valor menor de 1 ppm de fósforo.

La cuantificación del fósforo se realiza en base al método AOCS, Ca 12-55, el cual consiste en una digestión del aceite en presencia de óxido de zinc, con el fin de que el fósforo que se encuentra en forma de metal y pirofosfato, mediante la digestión se transforme en ortofosfato, el cual al reaccionar con molibdato, pasa a fosfomolibdato de amonio que al contacto con un agente reductor (sulfato de hidrazina o ferroso) forma un compuesto colorido (azul de molibdeno) el cual tiene una absorbancia máxima a 660 nm.

Calcio, Magnesio y Hierro. Estos tres elementos se encuentran en el aceite de soya formando sales con "fosfolípidos". Estas sales tienen la característica de ser más liposolubles que los fosfolípidos normales (gomas no hidratables) teniendo un efecto inverso en la estabilidad de los aceites, es decir tienen la característica de ser prooxidantes (hierro > calcio > magnesio) (Erickson, 1995). Después de que un aceite es procesado en forma adecuada este debe tener niveles de calcio y magnesio inferiores a 1 ppm y en el contenido de hierro cantidades menores a 0.1 ppm (Villa, 2001).

Cobre. Este metal no debe de ser encontrado normalmente en los aceites vegetales, sin embargo, es recomendable que continuamente se este monitoreando debido a que posee la característica de ser un prooxidante muy potente (Coppin y Pike, 2001), este se puede encontrar en el aceite por contaminación durante alguna de las etapas del proceso o en los tanques de

almacenamiento. Los valores de cobre en los aceites debe de ser menores a 0.05 ppm (Villa, 2001). El análisis de este metal se puede realizar por la misma metodología utilizada para fierro, calcio y magnesio (espectroscopia de absorción atómica o por ICP) (Perkin Elmer, 2000).

La metodología mas utilizada para la cuantificación de estos elementos es mediante la espectroscopia de absorción atómica y mas recientemente por medio de espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado por inducción (ICP), esta metodología tiene como finalidad la detección de elementos traza en aceites comestibles que contengan niveles menores de 1 ppm (Perkin Elmer, 2000).

Evaluación de Calidad de Aceite de Soya Producido en México

A partir de Febrero de 1993, dentro del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS), se lleva a cabo un Programa de Colaboración Técnica y Científica con la Asociación Americana de Soya, teniendo como objetivo la realización de cursos de capacitación para al Industria Aceitera Nacional. A partir de 1995, se evalúa la calidad de los aceites de soya producido en México y Centroamérica.

Después de evaluar la calidad de los aceites producidos por estas compañías, durante tres años, se observó una alta variabilidad en su calidad. No existe un control estricto de la calidad del aceite crudo de soya que procesan, debido a que en México la lecitina de soya no tiene un interés comercial. Los industriales mexicanos eliminan las gomas durante la neutralización, presentándose, un aumento de las pérdidas por refinación. Esto es debido a que los precipitados formados en los tanques de almacenamiento o pipas de transporte dificulta el filtrado del aceite. Por otro lado, estos aceites presentan valores altos de Ca, Mg y Fe. Los resultados de la evaluación mostraron que el 68% de los aceites analizados presentaron valores de peróxidos menor a 0.6

meEq/kg. Con respecto a su estabilidad oxidativa se encontró que el 70% de los aceites analizados presentan una estabilidad similar a los aceites procesados en E.U. Sin embargo, los aceites mexicanos, a diferencia de los aceites patrón, utilizan antioxidantes sintéticos (TBHQ) para mejorar su estabilidad oxidativa (Medina y Col. 1998).

En un estudio posterior (Medina, 2000), donde se analizó el contenido de tocoferoles en aceites de soya provenientes del 72% del total de las refinerías mexicanas, se encontró que todas las muestras presentaron pérdidas de tocoferoles mayores de 30%, después de la desodorización. Además se determinó en cuál de las operaciones unitarias de la refinación del aceite de soya se presenta la mayor pérdida de tocoferoles, encontrándose que tanto en la refinación química como física de aceite de soya el contenido de tocoferoles se reduce principalmente durante el blanqueo (13% de pérdida) y la desodorización (48% de pérdida)(Medina y Col. 2000).

Ante esta situación la industria aceitera Mexicana se ve en la necesidad de optimizar el proceso de refinación para reducir la pérdida de tocoferoles, esto le permitirá obtener un aceite con estabilidad oxidativa similar a la de los aceites de Estados Unidos pero sin el uso de antioxidantes sintéticos.

MATERIALES Y METODOS

En la realización del presente trabajo se utilizó aceite de soya, el cual fue procesado a nivel industrial. El aceite fue extraído de semilla de soya, el aceite crudo obtenido fue sometido a la etapa de desgomado y posteriormente a la etapa de neutralización. El aceite neutralizado de soya fue enviado al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, en un recipiente de 25 lts, el cual fue tomado como materia prima para el blanqueo a nivel laboratorio.

Obtención del Aceite Neutralizado

Se utilizó aceite de soya neutralizado producido en la planta aceitera GAMEESA, S.A. de C.V. de Ciudad Obregón Sonora. Este aceite se obtuvo a partir de semilla de soya producida en E.U.A. Una vez que el aceite se encontraba en el laboratorio se almacenó en recipientes de 1 L. Las muestras fueron almacenadas bajo atmósferas de nitrógeno y congeladas a una temperatura de $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, se descongelaba únicamente aquella que era sometida al proceso de blanqueo.

Caracterización del Aceite de Soya Neutralizado (ASN)

Al ASN se le realizaron las siguientes determinaciones en base a las técnicas oficiales del AOCS, 1997. Contenido de tocoferoles, color, ácidos grasos libres, valor de peróxidos, valor de *p*-anisidina, elementos traza (calcio, magnesio, fierro, cobre), fósforo, dienos conjugados y perfil de ácidos grasos (incluyendo los isómeros trans). Esto con la finalidad de establecer una caracterización físico química completa del aceite que se utilizó como materia prima al inicio del experimento. Cabe mencionar que después de obtener las condiciones óptimas de blanqueo, el aceite blanqueado fue caracterizado de la

misma manera que un aceite neutralizado para poder tener los patrones de comparación de antes y después de ser sometido al proceso de blanqueo.

Color

El color fue determinado por dos métodos oficiales: Lovibond (método Cc 13e-92) y color espectrofotométrico (método Cc 13c-50, AOCS,1997). Esta determinación indica la reducción del color debido a los diferentes pigmentos coloridos como son: clorofila, carotenos y xantofilas. El colorímetro Lovibond utilizado fue un Lovibond Automatic Tintometer HF Scientific, Inc. Fort, Myers, Florida. Utilizando la celda de 5/16 de pulgada. Esta medición consiste en la comparación del color de los aceites con una serie de vidrios coloridos graduados (amarillo, rojo y verde). Además de la medición del color del aceite se cuantifico el contenido de clorofila A y B en las muestras de aceite de soya blanqueado. La medición del color espectrofotométrico se realizó midiendo la absorbancia del aceite a diferentes longitudes de onda (460, 520, 550 y 670) utilizando un espectrofotómetro (marca Perkin Elmer, Lambda 2S).

Acidos Grasos Libres

Este indica el grado de descomposición de los triacilgliceridos que se encuentran presentes en el aceite. Esta se define como el número de miligramos de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar la acidez libre de un gramo de aceite, utilizando fenolftaleína como indicador (método Ca 5a-40, AOCS,1997).

Valor de Peróxidos

Este análisis tiene la finalidad de indicar la calidad de los aceites en cada una de las etapas unitarias del procesamiento de los aceites y a su vez durante su almacenamiento (nos cuantifica los productos primarios de la oxidación). Para esta determinación se utilizan cinco gramos de la muestra y se disuelven en ácido acético-cloroformo (3:2 v/v), se agregan 0.5 ml. de KI con agitación

ocasional, la reacción es terminada añadiendo agua destilada y se titula con tiosulfato de sodio 0.1 N, usando almidón como indicador (método Cd 8-53, AOCS,1997).

Valor de *p*-anisidina

Esta determinación tiene como finalidad la cuantificación de los productos secundarios de la reacción de oxidación de las diferentes grasas y aceites, los cuales son los responsables de proporcionar los malos olores y sabores en los aceites. Un gramo de muestra se disuelven en hexano y se mide la absorbancia a 350 nm (As_1) usando el solvente como blanco. Después, a 5 ml de esta solución de grasa se le agrega 1 ml del reactivo *p*-anisidina. Después de 10 minutos de reacción se midió la absorbancia a 350 nm (As). Donde el valor de *p*-anisidina = $25 \times (1.2 As_1 - As)$ /peso del aceite en gramos (método Cd 18-90, AOCS,1997).

Jabón

Esta determinación tiene como finalidad la cuantificación del jabón proveniente de la etapa de neutralización. Es un indicador de la eficiencia del proceso de neutralización. Es importante la ausencia del jabón ya que este inactiva la acción de las tierras de blanqueo en la siguiente etapa (blanqueo). La cuantificación de Jabón consiste en la medición de la alcalinidad del aceite, 10 gramos de muestra se disuelven en acetona al 98%, se agita ocasionalmente y se titula con HCl 0.01N usando como indicador azul de bromofenol (método Cc 17-79, AOCS,1997).

Fósforo

La cuantificación del fósforo es importante ya que este se encuentra formando parte de las gomas hidratables, conocidas comúnmente como "lecitinas". La cuantificación de este elemento consiste en una digestión ácida del aceite en presencia de óxido de zinc, para posteriormente ponerse en contacto con molibdato de sodio y formar así el complejo fosfomolibdato de amonio que al ponerse en contacto con el sulfato de hidrazina forma un compuesto colorido que se lee a 650 nm (método Ca 12-55, AOCS, 1997).

Dienos Conjugados

Estos son el resultados de una modificación estructural de los ácidos grasos poliinsaturados durante la autoxidación o durante la hidrogenación parcial de los aceites vegetales, por lo cual resulta de suma importancia conocer cuando se ha iniciado la reacción de oxidación. Para esta determinación se utilizan 0.01 g de muestra, se disuelven en 25 ml. de hexano y se mide la absorbancia a 232 nm (método Ti 1a-64, AOCS, 1997).

El porcentaje de ácidos dienoicos conjugado se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\%ADC = 0.84 (\text{absorb/ long. de celda} \times \text{conc. (g/l) de muestra}) - K_0 \quad (7)$$

Donde: K_0 es una constante para ésteres, $K_0 = 0.07$

Elementos Traza

La determinación de cobre, calcio, magnesio y fierro se llevo a cabo mediante Espectroscopia de Emisión Óptica de Plasma Acoplado por Inducción (ICP), Modelo OPTIMA 3100 XL (Secuencial/Simultaneo) con antorcha axial (horizontal). Este equipo no se encuentra en DICTUS, por lo que las muestras

fueron procesadas en la Compañía Química Sumex, Puebla, Puebla. La cuantificación de estos metales es de gran importancia debido a que están considerados como agentes prooxidantes, es decir tienen como finalidad acelerar la reacción de oxidación de los aceites. La cuantificación de estos elementos consiste en diluir la muestra en queroseno y posteriormente es leída en el equipo, en la misma medición se cuantifican todos los elementos requeridos.

Cuantificación de Tocoferoles

La técnica que se utilizó para la cuantificación de tocoferoles fue cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) para lo cual se utilizó un cromatografo (marca Varian 9050) equipado con un detector de luz ultravioleta (modelo Varian 3400) y una columna Lichrosorb Si60 (25 cm x 4mm 5 μ . Supelco). La fase móvil fue una mezcla de hexano:isopropanol (99.5:0.5), con un flujo de 1.6 mL/min. Antes de ser utilizada la fase móvil fue filtrada a través de un filtro de 0.45 μ m. La cuantificación se llevo acabo a 292 nm.

Dos gramos de muestra fueron diluidos en 25 mL de h \acute{e} xano y filtrados a través del filtro de 0.45 μ m, con vacío, 20 mm de Hg. Las muestras fueron inyectadas (10 μ l) directamente al HPLC por triplicado, tal como lo recomiendan Chase y col. (1994) y Warner y Mounts (1990). Los picos de las muestras, fueron identificados y cuantificados por la comparación de los tiempos de retención y las áreas de los estándares del α -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol (Sigma Chemical Co., St. Luis MO) (**Figura 7**). La pureza de los estándares fue definida utilizando los coeficientes de extinción (ϵ 1%), según lo recomienda Yao y Col. (1992), y el método oficial AOCS Ce 8-89 (1997). Esta técnica fue validada utilizando un estándar certificado de coco (NBS 1563-2, NIST, Gaithersburg, MD, USA).

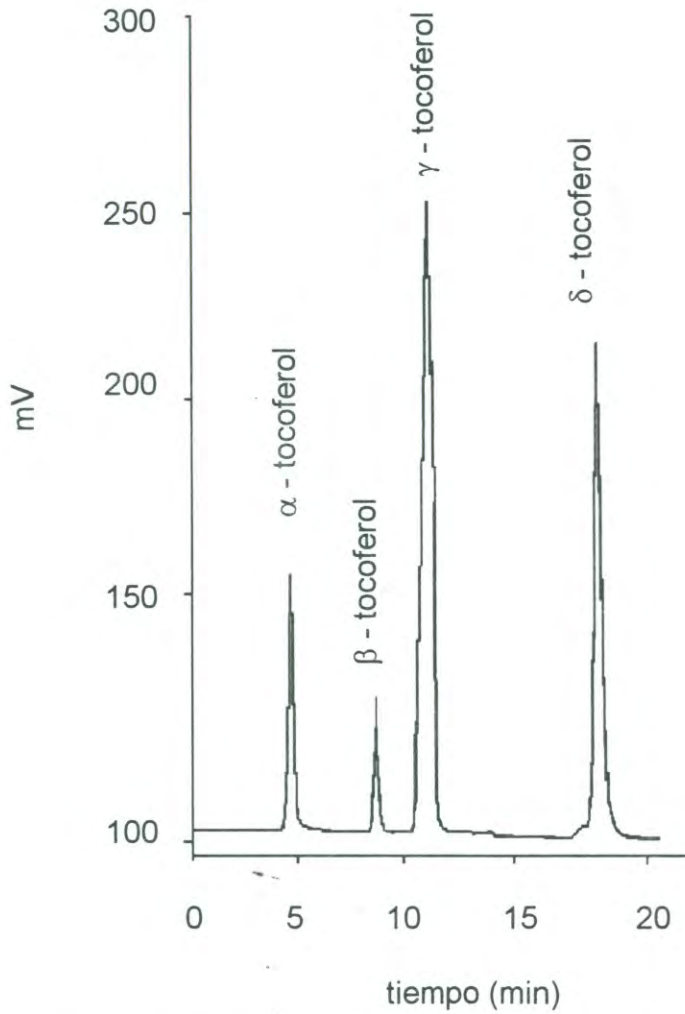


Figura 7. Cromatograma Típico de Tocoferoles para un Aceite de Soya.

Cuantificación de Ácidos Grasos y *trans* Isómeros

Las muestras fueron sometidas a la reacción de saponificación y esterificación de acuerdo al método oficial AOCS Ce 2-66 (AOCS 1997), como lo recomienda Ackman (1998), para posteriormente ser analizados en un cromatógrafo (Varian 3400), el cual cuenta con una detector de ionización de flama (FID), un integrador (Perkin Elmer-1020) y una columna capilar con una fase estacionaria de 100% de polisiloxano biscianopropil SP 2560 (100 m de longitud x 0.25 mm de diámetro interno) (Supelco, Inc., Bellefonte, PA 16823-0048 USA). Se utilizó nitrógeno como gas acarreador con un flujo de 20 cm/s., con el siguiente programa de temperatura para la columna: 140 - 210°C (4 °C/min), 210-215 °C (1 °C/min), 215-220 °C (0.5 °C/min). La temperatura del inyector y detector fue de 250 °C.

La identificación de los picos se realizó por comparación con los tiempos de retención de los picos de las muestras con los picos de sus respectivos estándares (Sigma Chemical Co., St. Luis MO). Una vez identificados los picos, se realizó la cuantificación utilizando el C_{17:0} como estándar interno, tomando en cuenta el contenido natural de C_{17:0} del aceite de soya desodorizado. Los resultados están dados como porcentaje en peso y son la medida de dos repeticiones. El límite de detectabilidad fue de 0.01%. Con el fin de lograr una mayor estabilidad de las muestras y estándares, estos se conservaron a temperaturas de congelación y en viales de cristal con tapas de septa de teflón y atmósfera de nitrógeno. La cuantificación de los ácidos grasos y el contenido de tocoferoles proporcionan una información completa de la composición del aceite, así como de la verdadera fuente del aceite, por lo cual es importante su análisis.

Proceso de Blanqueo

La operación de blanqueo se realizó por lotes en un matraz de vidrio con una capacidad de 1 litro, esta operación consistió en colocar 250 ml de aceite de soya neutralizado y la cantidad respectiva de tierra de blanqueo (Tonsil Optimum

320 FF, proporcionada por Química Sumex) esta mezcla fue calentada con una chaqueta, con agitación magnética (250 rpm) para una distribución homogénea de la mezcla y la temperatura. La temperatura fue monitoreada con un termómetro que se encontraba en el interior del aceite. Al matraz se le suministro vacío para la eliminación del oxígeno y evitar la posible oxidación del aceite (**Figura 8**). Las muestras obtenidas del proceso de blanqueo se conservaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, en viales de teflón y bajo atmósferas de nitrógeno.

A las muestras de aceite de soya blanqueadas (20 corridas en ausencia de oxígeno y 20 con presencia de oxígeno) se les determinó el contenido de tocoferoles, valor de peróxidos, color Iovibond y color espectrofotométrico, además de clorofila A y clorofila B, según la metodología mencionada en la caracterización del aceite neutralizado.

Diseño de Experimentos

Se utilizó un diseño de experimentos de composición central (DCC) tipo Box-Wilson (Myers y Montgomery, 1995). Las variables independientes fueron: temperatura (X1), tiempo de contacto (X2) y cantidad de tierra (X3); mientras que las variables dependientes fueron, color (Y1), valor de peróxidos (Y2) y retención de tocoferoles (Y3) en el aceite (RTOCOLES), durante el proceso de blanqueo. Las variables independientes y los niveles seleccionados para el presente diseño, se presentan en la **Tabla 7**, los cuales fueron seleccionados en base a las condiciones utilizadas en el proceso de blanqueo en la industria. En total para cada experimento se realizaron 20 corridas experimentales de las cuales 8 corresponden a un diseño factorial 2^3 , 6 puntos axiales y 6 repeticiones al centro.

Cada experimento se realizó en forma aleatoria con el fin de reducir la variabilidad debida a factores externos. En la **Tabla 8**, se muestra el arreglo del diseño de composición central para un modelo de segundo orden. Cabe mencionar que en el presente estudio se evaluó el efecto del vacío sobre la

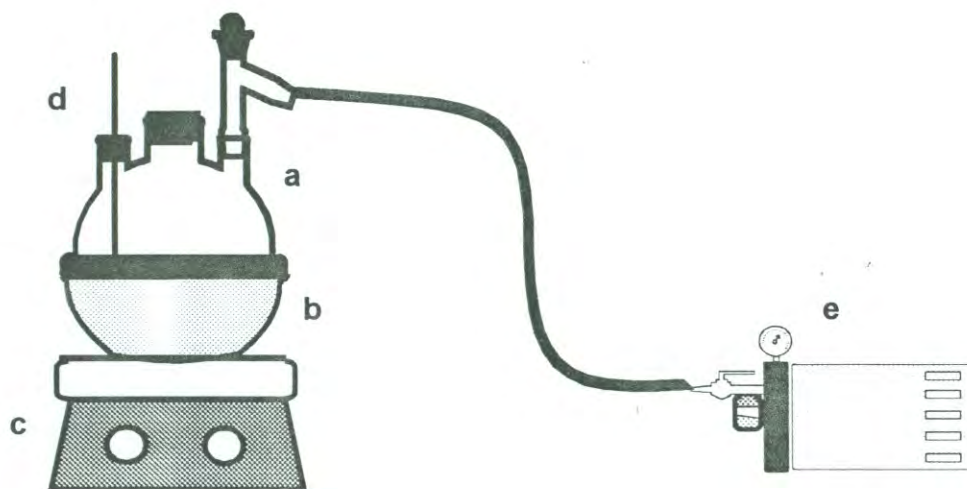


Figura 8. Equipo Utilizado en la Operación de Blanqueo a Nivel Laboratorio
a) Matraz de 3 bocas de 1000 ml. b) Chaqueta de Calentamiento.
c) Placa de Agitación Magnética. d) Termómetro. e) Suministro de Vacío.

Tabla 7. Variables Independientes y Niveles Seleccionadas para el Diseño de Composición Central.

Variables	Unidades	Niveles		
		-1	0	1
Temperatura	°C	90	110	130
Cantidad de tierras	% ¹	0.5	1.0	1.5
Tiempo de contacto	min	20	40	60
Presión	mm de Hg	Sin vacío y 60 mm de Hg		

¹ Es el porcentaje de tierras en base al peso del aceite.

Tabla 8. Arreglo General para el Diseño de Composición Central Rotable

Experimento Número	Temperatura	Contenido de Tierras	Tiempo de Contacto
	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	-1.682	0	0
10	1.682	0	0
11	0	-1.682	0
12	0	1.682	0
13	0	0	-1.682
14	0	0	1.682
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0

retención de tocoferoles durante el blanqueo (sin presencia de oxígeno = 65 mm de Hg y con presencia de oxígeno), esto debido a que en algunas industrias del país se lleva cabo el proceso de blanqueo sin el cuidado necesario en el vacío. En este caso el vacío se tomó como una variable cualitativa. El DCC se utilizó para modelar y optimizar el proceso de blanqueo (metodología de superficie de respuesta). Esta metodología ha sido utilizada para optimizar otros procesos en la industria de alimentos (Draper, 1988; Krishna, 1999; Jaswir, 1999; Wanasundara, 1998), estos trabajos muestran como principal ventaja de esta metodología, que se requiere de un número reducido de experimentos para generar información suficiente y resultados estadísticamente aceptables. Se utilizó un modelo de segundo orden para la predicción de las variables individuales dependientes (Y_i) (color, valor de peróxidos y retención de tocoferoles (RTOCOLS)), donde β_0 , β_i , β_{ii} y β_{ij} , son respectivamente el efecto combinado, efecto lineal, efecto cuadrático y la interacción en la regresión. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para conocer el efecto de los tratamientos; una regresión polinomial para el establecimiento del modelo matemático; y el análisis de superficie respuesta utilizando el paquete estadístico JMP IN ver. 3.2.1 (Statistical Graphic Corp.), para la obtención de las condiciones adecuadas para tener un aceite con la mayor cantidad de retención de tocoferoles.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i \chi_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_{i < j=1}^3 \sum \beta_{ij} \chi_i \chi_j + \varepsilon \quad (8)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La realización del blanqueo es una etapa del proceso de refinación de gran importancia, de ahí la necesidad de tomar en cuenta todos los parámetros que afectan la calidad del aceite durante el blanqueo. En el presente trabajo se determinaron: el tiempo de contacto, temperatura y cantidad de tierras, para obtener un aceite con bajo contenido de peróxidos y alta retención de tocoferoles (<1.0 mEq/Kg de aceite y >87% de retención de tocoferoles).

Caracterización Química del Aceite de Soya Neutralizado

La caracterización fisico-química del aceite neutralizado, muestran que este cumple con los estándares de calidad para los aceites neutralizados según Erickson (1995) y Villa (2001), principalmente en el valor de peróxidos (0.292 ± 0.023 mEq/Kg. de aceite), ácidos grasos libres (0.456 % de ácido oleico), color lovibond (70 Amarillo 8.3 Rojo), color espectrofotométrico (14.4) (**Tabla 9**). Los parámetros más importantes para un aceite neutralizado son el contenido de ácidos grasos libres y jabón los cuales se traducen en pérdidas en la etapa de blanqueo, ya que inactivan los sitios activos de las tierras. Estos compuestos fueron reducidos hasta un 50% durante el blanqueo, esto debido a las condiciones adecuadas de la cantidad de tierras de blanqueo, temperatura y el tiempo de contacto en el aceite además de la ausencia de oxígeno.

El contenido de elementos traza en el aceite neutralizado también se puede observar en la **Tabla 9**. Estos datos muestran que en el aceite neutralizado se encontraron niveles muy bajos de elemento traza, con excepción del cobre el cual estaba en una concentración de 0.155 ppm. La ausencia de metales le proporciona al aceite estabilidad oxidativa por considerarse estos elementos prooxidantes. El contenido de fósforo se encontró en un nivel de <1.0 ppm indicativo de un proceso de desgomado adecuado. Esto asegura que no se

Tabla 9. Caracterización Físico-Química del Aceite de Soya Neutralizado

Análisis	Promedio	Ac. Neutralizado ²
Valor de peróxidos (mEq/Kg.)	0.292 ± 0.023	5.0
Ácidos grasos libres (% ac. oleico)	0.456 ± 0.001	1.32
Color Lovibond ¹	70 A 8.3 R	10 A 12 R
Color espectrofotométrico	14.4 R ± 0.1	--
Clorofila A (ppm)	1.14 ± 0.01	1.16
Clorofila B (ppm)	0	0
Valor de <i>p</i> -anisidina (mmol/Kg.)	0.885 ± 0.066	--
Jabón (ppm de oleato de sodio)	37.67 ± 1.03	50
Dienos conjugados (%)	0.167 ± 0.0005	--
Elementos traza (ppm)		
Fósforo (P)	< 1.0 ± 0	< 10
Fierro (Fe)	< 0.15 ± 0	< 1.5
Cobre (Cu)	0.155 ± 0.0025	< 0.05
Calcio (Ca)	< 0.15 ± 0	2.5 - 1.0
Magnesio (Mg)	< 0.25 ± 0	0.5 - 1.0

¹ = Celda de 51/4 pulgada. A = Amarillo, R = Rojo

Límites de detección: P, Fe, Cu, Ca, Mg = 1.0 ppm.

² : Según Erickson (1995) y Villa (2001).

--: No se realiza

tendrán problemas en el blanqueo del aceite, ya que tanto el fósforo como los minerales inactivan los sitios de las tierras ácido activadas (Erickson, 1995; Villa, 2000).

En la **Tabla 10** se muestra el contenido de α - tocoferol, β - tocoferol, γ - tocoferol y δ - tocoferol del aceite de soya neutralizado. Como se puede observar el aceite presenta una distribución característica de los isómeros de tocoferoles del aceite de soya γ - tocoferol > δ - tocoferol > α - tocoferol > β - tocoferol. Dichos resultados coinciden con los reportados por Chase y Col, (1994), Frandsen (1996) y Kramer y Col, (1997) para un aceite de soya. Esta característica es de gran importancia debido a que se considera que el aceite de soya posee un buen potencial antioxidativo *in vitro* ya que contiene una mayor proporción de γ y δ tocoferol, los cuales poseen el mayor poder antioxidante que el α - tocoferol (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996). El contenido de tocoferoles totales en aceite de soya neutralizado fue de 925.27 ppm, lo cual coincide con el reportado por Medina (2000), Ferrari (1996), Jung y Col, (1989).

El ASN mostró un perfil de ácidos grasos similar al propuesto por la Norma Oficial Mexicana (1985), para un aceite de soya (**Tabla 11**), destacándose un alto contenido de ácidos poliinsaturados como es el ácido linoleico y el ácido linolénico. Además no se encontró ningún tipo de isómeros pertenecientes a estos ácidos grasos lo cual concuerda con los datos reportados por Medina, (2000), quien indica que la formación de isómeros se presenta en la etapa de desodorización. El cromatograma característico de un aceite de soya se muestra en la **Figura 9**.

Efecto de cada una de las Variables sobre el Valor de Peróxidos (VP), Retención de Tocoferoles (RTOCOLES) y Color

El blanqueo es la penúltima etapa en el proceso de refinación de los aceites vegetales y es considerada como la parte mas importante del mismo. El objetivo principal de esta operación es eliminar sustancias que proporcionan al

Tabla 10. Contenido de Tocoferoles del Aceite de Soya Neutralizado

Tocoferoles (ppm)	Promedio ¹	Aceite Neutralizado ²
α - tocoferol	83.37 \pm 0.03	62 – 88
β - tocoferol	52.13 \pm 2.78	49 – 55
γ - tocoferol	693.60 \pm 2.29	663 – 683
δ - tocoferol	96.17 \pm 5.6	104 – 115
Tocoferoles totales	925.27	878 – 938

¹ Promedio de tres repeticiones

² Según Ferrari, 1996.

Tabla 11. Composición de Ácidos Grasos del Aceite de Soya Neutralizado (mg/ 100 mg de aceite).

Acidos grasos	Promedio ¹	NOM
Mirístico (C14:0)	0.15 ± 0.02	0 - 0.5
Palmítico (C16:0)	10.24 ± 0.02	7 - 12
Estéarico (C18:0)	3.48 ± 0.28	2 - 5.5
Oleico (C18:1)	22.86 ± 0.07	20 - 40
Linoleico (C18:2)	53.44 ± 0.27	40 - 57
<i>trans</i>	0 ± 0	0
Linolénico (C18:3)	7.49 ± 0.20	5 - 11
<i>trans</i>	0 ± 0	0
Araquídico (C20:0)	0.16 ± 0.10	0 - 1.0

* Promedio de tres repeticiones

Limite de detección 0.1

NOM : Norma Oficial Mexicana

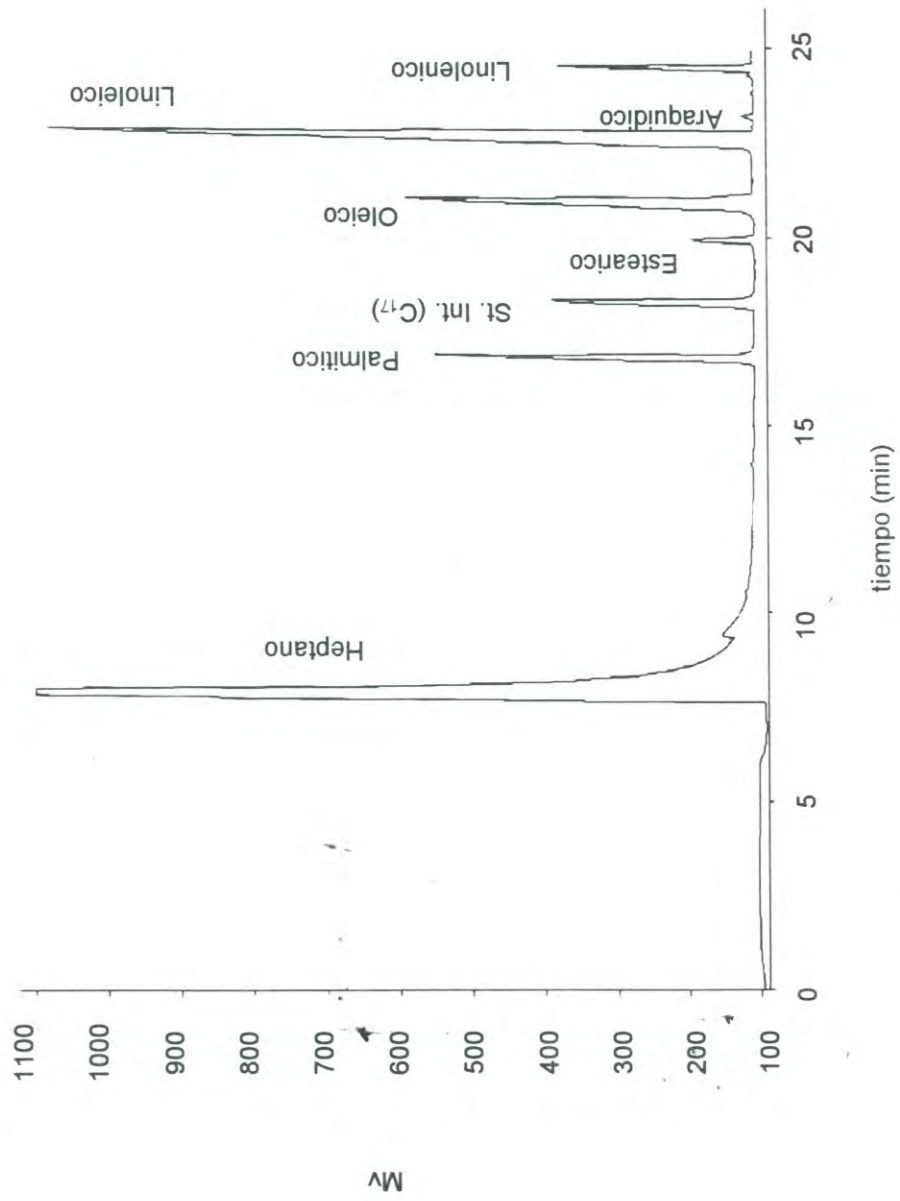


Figura 9. Cromatograma Típico del Perfil de Acidos Grasos para un Aceite de Soya.

aceite color e inestabilidad oxidativa. En esta etapa los compuestos no volátiles se transforman en volátiles (aldehídos y cetonas) que serán eliminados en la siguiente etapa (desodorización).

Como se ha mencionado con anterioridad en la etapa de blanqueo se dan dos diferentes tipos de reacciones: de transformación y de adsorción. Las reacciones del tipo de transformación de los compuestos son aquellas en las que los productos primarios de la oxidación (hidroperóxidos) son convertidos a aldehídos y cetonas, es decir las tierras de blanqueo sirven como catalizadores para que se lleve a cabo esta transformación.

Otro tipo de fenómeno que se presenta en la etapa de blanqueo es la adsorción de una gran cantidad de compuestos que se encuentran como impurezas en el aceite y que son eliminados al quedar adsorbidos por las tierras y posteriormente son eliminados por simple filtración, entre este tipo de compuestos se encuentran los carotenos, clorofila, metales traza y tocoferoles entre otros. Todos estos compuestos que se eliminan en el blanqueo están influenciados por tres diferentes factores como son: la cantidad y tipo de tierras, temperatura y el tiempo de contacto.

Blanqueo del Aceite de Soya Neutralizado

Se realizaron un total de 40 corridas de blanqueo a nivel laboratorio, divididas en dos experimentos, 20 corridas fueron realizadas utilizando vacío (60-65 mm de Hg = ausencia de oxígeno) y otras 20 corridas sin vacío, es decir, en presencia de oxígeno, esto debido a que existen en nuestro país industrias que realizan el proceso de blanqueo sin tomar en cuenta este parámetro. Las corridas se realizaron de acuerdo al diseño mostrado en la **Tabla 8**. A cada una de las muestras de aceite de soya blanqueado se les determinó el valor de peróxidos, color y retención de tocoferoles (RTOCOLES), los resultados de estas corridas se muestran en la **Tablas 12 y 13**.

Tabla 12. Valor de Peróxidos y RTOCOLES durante el Blanqueo del Aceite de Soya.

Aceite ¹ Exp. No.	Valor de Peróxidos (mEq/kg de Aceite)		RTOCOLES (%)	
	0.292 ± 0.009		100	
	ausencia O ₂	presencia O ₂	ausencia O ₂	presencia O ₂
1	0.143 ± 0.016	0.654 ± 0.02	86.91 ± 1.06	82.10 ± 1.57
2	0.094 ± 0.012	0.303 ± 0.02	82.52 ± 0.04	70.52 ± 0.14
3	0.059 ± 0.012	0.282 ± 0.01	93.03 ± 0.02	81.97 ± 2.30
4	0.068 ± 0.000	0.302 ± 0.01	87.94 ± 0.41	77.69 ± 0.83
5	0.069 ± 0.000	0.848 ± 0.01	85.05 ± 1.64	78.06 ± 1.12
6	0.118 ± 0.002	0.351 ± 0.04	75.66 ± 0.90	78.38 ± 0.98
7	0.077 ± 0.012	0.187 ± 0.01	89.47 ± 0.44	81.45 ± 0.48
8	0.081 ± 0.017	0.288 ± 0.02	66.78 ± 0.62	82.10 ± 0.59
9	0.051 ± 0.001	0.214 ± 0.01	83.49 ± 1.16	79.80 ± 0.40
10	0.094 ± 0.012	0.249 ± 0.04	66.50 ± 0.22	74.68 ± 0.82
11	0.145 ± 0.010	0.306 ± 0.00	86.81 ± 0.62	77.46 ± 0.19
12	0.118 ± 0.003	0.239 ± 0.00	85.82 ± 3.03	78.82 ± 1.38
13	0.111 ± 0.012	0.214 ± 0.04	83.25 ± 0.49	81.56 ± 0.99
14	0.098 ± 0.007	0.206 ± 0.02	83.54 ± 0.82	76.43 ± 0.95
15	0.086 ± 0.000	0.339 ± 0.04	90.37 ± 0.09	79.97 ± 0.38
16	0.090 ± 0.005	0.223 ± 0.02	87.98 ± 1.36	79.77 ± 0.32
17	0.093 ± 0.011	0.211 ± 0.04	87.48 ± 0.69	80.34 ± 0.14
18	0.094 ± 0.012	0.276 ± 0.04	88.38 ± 0.16	79.58 ± 0.85
19	0.115 ± 0.018	0.234 ± 0.02	88.26 ± 0.38	78.41 ± 0.59
20	0.103 ± 0.000	0.188 ± 0.02	88.30 ± 0.02	79.61 ± 0.89

¹ Datos iniciales del aceite de soya neutralizado

Tabla 13. Valor de Color durante el Blanqueo del Aceite de Soya medido en el Lovibond y Espectrofotómetro.

Aceite ¹	Lovibond		Espectrofotométrico	
	70 A 8.3 R		14.4R	
Exp. No.	ausencia O ₂	presencia O ₂	ausencia O ₂	presencia O ₂
1	70 A 5.3 R	70 A 4.8 R	3.3	4.8
2	70 A 4.1 R	40 A 3.3 R	5.9	6.1
3	18 A 1.3 R	30 A 2.1 R	2.0	9.7
4	29 A 1.7 R	22 A 1.7 R	5.9	5.0
5	49 A 2.6 R	70 A 6.0 R	3.6	6.4
6	70 A 3.0 R	49 A 3.4 R	6.7	5.3
7	22 A 1.5 R	36 A 2.9 R	12.4	6.0
8	12 A 1.1 R	43 A 3.9 R	3.2	7.7
9	30 A 1.8 R	47 A 3.9 R	3.4	9.2
10	31 A 1.7 R	25 A 2.0 R	8.7	9.5
11	70 A 4.0 R	70 A 7.1 R	6.1	8.7
12	53 A 2.5 R	39 A 2.7 R	8.7	7.2
13	39 A 2.0 R	41 A 3.1 R	4.9	6.2
14	23 A 1.6 R	33 A 2.4 R	7.5	7.6
15	27 A 1.7 R	55 A 3.0 R	5.7	11.6
16	32 A 1.9 R	37 A 2.8 R	5.2	10.2
17	22 A 1.4 R	52 A 2.8 R	4.4	11.8
18	30 A 1.8 R	42 A 3.4 R	4.3	10.0
19	32 A 1.6 R	34 A 2.5 R	5.0	10.3
20	24 A 1.5 R	30 A 2.1 R	4.4	11.6

¹ Datos iniciales del aceite de soya neutralizado, A = Amarillo, R = Rojo.

Valor de Peróxidos

En la realización del blanqueo del aceite de soya neutralizado en ausencia de oxígeno se encontró que el valor de peróxidos fue influenciado significativamente por la temperatura tanto en termino lineal como en el cuadrático y el tiempo de contacto ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación (r^2) fue de 0.7269, indicando que el modelo predice de forma adecuada el efecto de cada factor sobre la variable respuesta (**Tabla 14**).

Los resultados obtenidos muestran (**Tabla 12**) que para obtener valores de peróxidos cercanos a cero se puede lograr a niveles de 0, 1 de tierras, los cuales equivalen a una cantidad de tierra de 1.0 y 1.5 % (p/p), durante el presente estudio se encontró que el valor mas bajo de peróxidos fue de 0.051 mEq/Kg el cual se logró durante el blanqueo realizado a una temperatura de 77 °C, una cantidad de tierras del 1% (p/p) y a un tiempo de 40 min (**Tabla 7**). Con respecto al tiempo de contacto, se observa que la reducción de peróxidos se logra con tiempos mayores al nivel -1, lo cual equivale a tiempos mayores de 20 minutos y temperatura mayor a los 80 °C, pero menores a 100 °C, lo que equivale a trabajar en los niveles de -1 y 0 de temperatura (**Figura 10**).

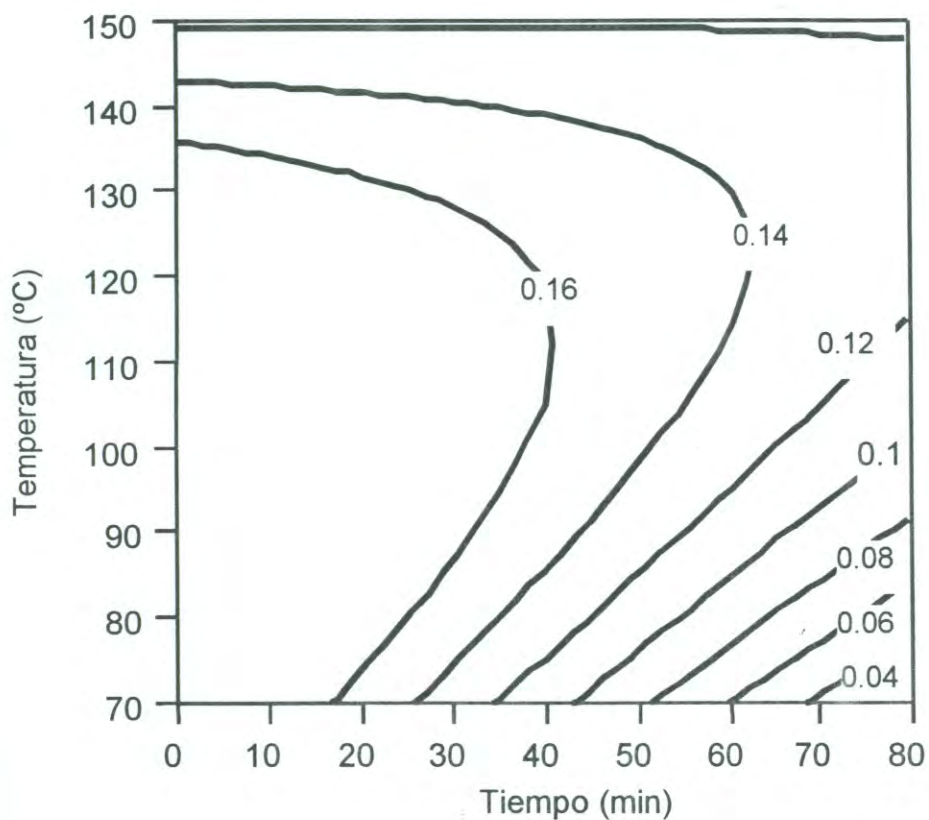
A diferencia del blanqueo de aceite de soya en ausencia de oxígeno, y cuando se realizó el blanqueo en presencia de oxígeno, se encontró que el valor de peróxidos fue influenciado significativamente por la cantidad de tierras y por la interacción entre temperatura y cantidad de tierras ($p < 0.05$) (**Tabla 15**) (**Figura 11**). El coeficiente de determinación (r^2) encontrado fue de 0.6293 indicando que el modelo predice de forma adecuada el efecto de cada factor sobre la variable respuesta (**Tabla 15**). En el presente estudio el valor mas bajo en el valor de peróxidos fue de 0.187 mEq/Kg de aceite, el cual se logro durante el blanqueo realizado a una temperatura de 90 °C, un contenido de tierras del 1.5% (p/p) y un tiempo de contacto de 60 minutos (**Tabla 12**).

Tabla 14. Constantes y Coeficientes de Regresión del Modelo de Optimización de Aceite de Soya Blanqueado en Ausencia de Oxígeno.

Coeficientes ¹	Valor de Peróxidos	RTOCOLES	Color	
			Lovibond	Espectrofotométrico
β_0	-0.049573	-76.21391	14.28095	-23.094840
β_1	*0.005675	*2.61494	-0.07732	0.243811
β_2	-0.079732	14.84865	*-4.76210	3.979154
β_3	*-0.004308	1.10569	-0.11003	0.357172
β_1^2	*-0.000030	*-0.01098	0.00024	0.000387
β_{21}	0.000081	-0.08675	0.00500	-0.068750
β_2^2	0.009261	-0.22141	*0.62234	0.063673
β_{13}	0.000029	*-0.00707	0.00025	*-0.003938
β_{32}	0.000506	-0.10087	0.02125	0.041250
β_3^2	-0.00000062	-0.00307	0.00027	0.000519
r^2	0.7269	0.8839	0.84940	0.648100

¹ : 1 = Temperatura; 2 = cantidad de tierras; 3 = tiempo.

* : Significancia a $p < 0.05$



* Los valores en el interior de la gráfica representan el valor de peróxidos en mEq/Kg de aceite.

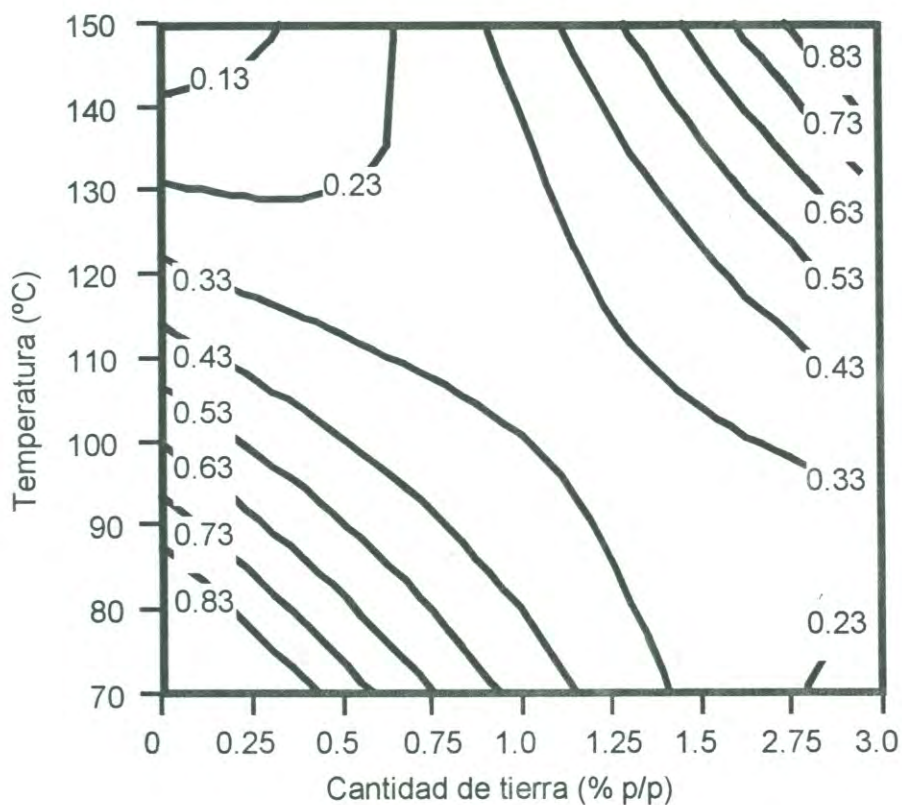
Figura 10. Efecto de la Temperatura y Tiempo sobre el Valor de Peróxidos en Ausencia de Oxígeno Manteniendo Constante la Cantidad de Tierras al 1.0 %.

Tabla 15. Constantes y Coeficientes de Regresión del Modelo de Optimización de Aceite de Soya Blanqueado en Presencia de Oxígeno.

Coeficientes ¹	Valor de Peróxidos	RTOCOLES	Color	
			Lovibond	espectrofotométrico
β_0	2.977488	99.901641	19.263069	-29.375410
β_1	-0.031497	*-0.040700	-0.115391	0.495454
β_2	*-0.843864	*-2.840803	*-7.662159	*8.300516
β_3	0.002743	*-0.579927	-0.015318	0.244035
β_1^2	0.000080	-0.001599	0.000128	-0.002325
β_{12}	*0.006056	0.047687	*0.029375	-0.020187
β_2^2	0.044217	-0.304627	*0.739819	*-1.349743
β_{13}	-0.000020	*0.005259	0.000093	0.001190
β_{23}	-0.002194	0.000437	0.010625	-0.011063
β_3^2	0.000053	-0.000038	-0.000061	-0.004305
r^2	0.629300	0.739700	0.874200	0.740500

¹ : 1. Temperatura; 2, cantidad de tierras; 3, tiempo.

* : Significancia a $p < 0.05$



* Los valores en el interior de la gráfica representan el valor de peróxidos en mEq/Kg de aceite.

Figura 11. Efecto de la Cantidad de Tierras y Temperatura sobre el Valor de Peróxidos en Presencia de Oxígeno Manteniendo Constante el Tiempo en 50 minutos.

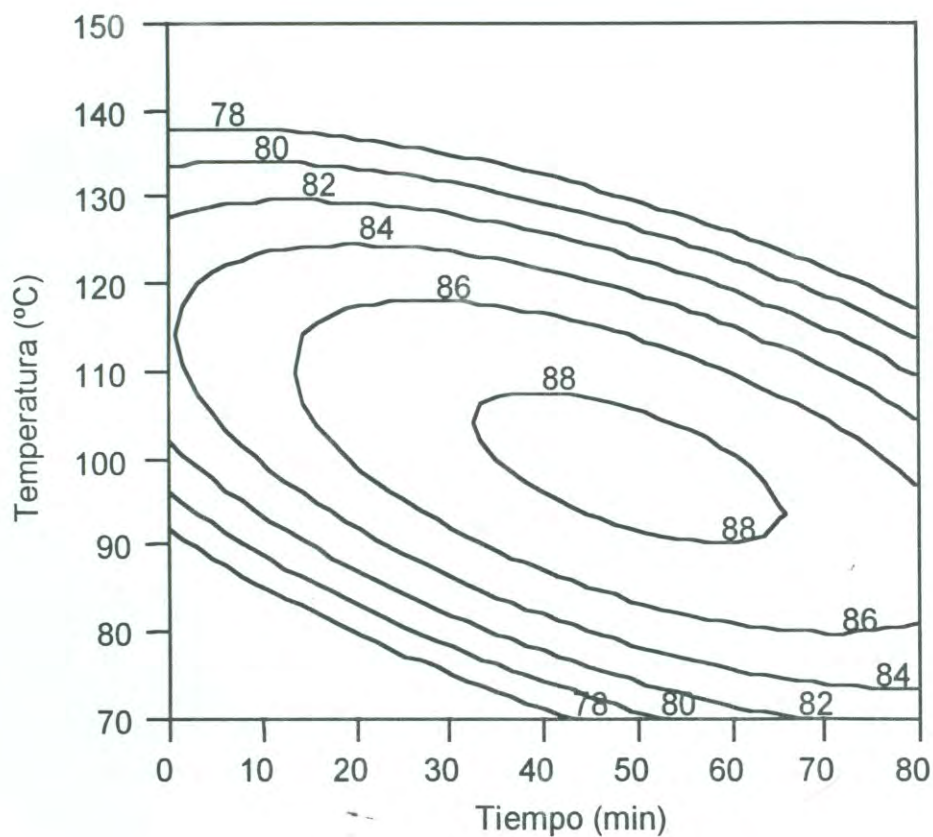
Por lo tanto, para obtener valores de peróxidos cercanos a cero se logra a niveles de 0 y 1 de cantidad de tierras, los cuales equivalen a una cantidad de tierras del 1.0 y 1.5 % (p/p). Con respecto al tiempo, se observa que para reducir el valor de peróxidos son necesarios tiempos mayores al nivel -1, lo cual equivale a tiempos mayores de 20 minutos (**Tabla 7**).

Estos resultados encontrados concuerdan con los reportados por Villa, (1996); Villa, (2001) y Mag (1990), sobre el efecto de las variables de temperatura, cantidad de tierras y tiempo de contacto en la reducción del valor de peróxidos. En el presente trabajo se encontró que la etapa de blanqueo en ausencia de oxígeno redujo con mayor eficiencia el VP y color en el aceite blanqueado. Esto se puede deber a que en ausencia de oxígeno la reacción de oxidación no se lleva a cabo y además no se presenta la fijación de color por oxidación de carotenoides.

Retención de Tocoferoles

La retención de tocoferoles (RTOCOLES) en ausencia de oxígeno fue influenciada significativamente por la temperatura tanto en su término lineal como cuadrático, por el tiempo de contacto y por la interacción entre tiempo y temperatura ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación (r^2) encontrado fue de 0.8839 indicando que el modelo predice de forma adecuada el efecto de cada factor sobre la variable respuesta (**Tabla 14**).

La temperatura es la variable que presenta un cambio más drástico en la retención de tocoferoles en ausencia de oxígeno, siendo los niveles más altos en los que se presentó la menor retención de los tocoferoles. En relación a el tiempo de contacto fue en los niveles más altos en donde se presentó la menor retención de tocoferoles (<86%) (**Figura 12**). La mayor retención de tocoferoles encontrado en la realización del experimento correspondió al 93.0%, para lo cual se utilizó una temperatura de 90 °C, una cantidad de tierras del 1.5% (p/p) y un



* Los valores en el interior de la gráfica representan el porcentaje de RTOCOLES.

Figura 12. Efecto de la Temperatura y Tiempo sobre la Retención de Tocoferoles en Ausencia de Oxígeno Manteniendo Constante la Cantidad de Tierras al 0.75 %.

tiempo de contacto de 20 minutos. En el caso de la cantidad de tierras fue la variable que no tuvo un efecto significativo en la disminución del valor de peróxidos, así como en la retención de los tocoferoles (**Tabla 14**).

La retención de tocoferoles en presencia de oxígeno fue influenciado significativamente por la temperatura, tiempo de contacto y cantidad de tierras, así como por la interacción entre la temperatura y el tiempo ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación (r^2) encontrado fue de 0.7397 indicando que el modelo predice de forma adecuada el efecto de cada factor sobre la variable respuesta (**Tabla 15**).

La cantidad de tierras confirma que es la variable que presenta un efecto más significativo en la retención de tocoferoles en presencia de oxígeno, siendo en los niveles más altos de cantidad de tierra en los que se presentó la mayor retención de tocoferoles (**Figura 13a**), mientras que para el tiempo y la temperatura fue en los niveles más bajos que se presentó la mayor retención de tocoferoles (>80%) (**Figura 13b**). El valor más alto de retención de tocoferoles encontrado en el presente estudio fue de 82.10%, el cual correspondió a dos diferentes corridas experimentales para lo cual se utilizó una temperatura de 90 y 130 °C, una cantidad de tierras del 0.5 y 1.5% (p/p) y un tiempo de contacto de 20 y 60 minutos respectivamente.

La pérdida de tocoferoles cuando la etapa de blanqueo se realiza en ausencia de oxígeno es menor al 13%, sin embargo, cuando el blanqueo se realiza en presencia de oxígeno la pérdida de tocoferoles es mayor al 13%, estos resultados coinciden con los reportados por Jung y Col, (1989), Ferrari y Col, (1996) y Bockish, (1998). Esto indica que la presencia de oxígeno tiene un efecto negativo en la cantidad de los tocoferoles que se retienen en el aceite. Esto pudiera deberse a que los tocoferoles son consumidos al actuar como antioxidante bloqueando la reacción de oxidación del aceite lo cual ocasiona la oxidación del grupo cromanol por efecto de diferentes agentes oxidantes (ácido

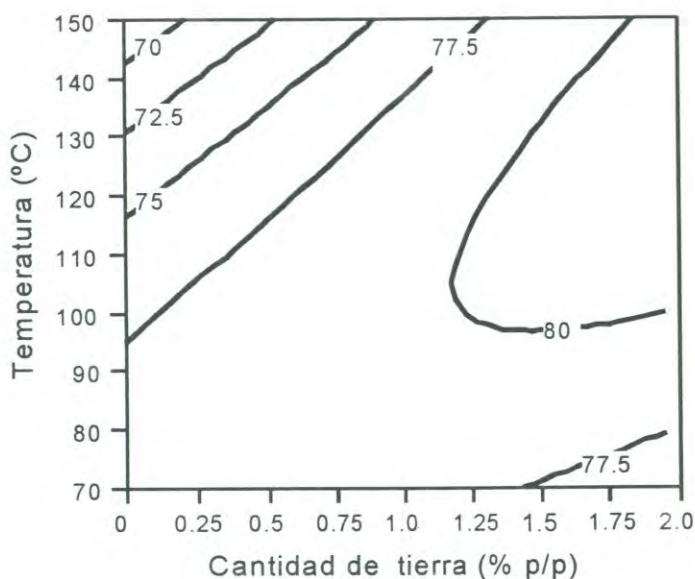
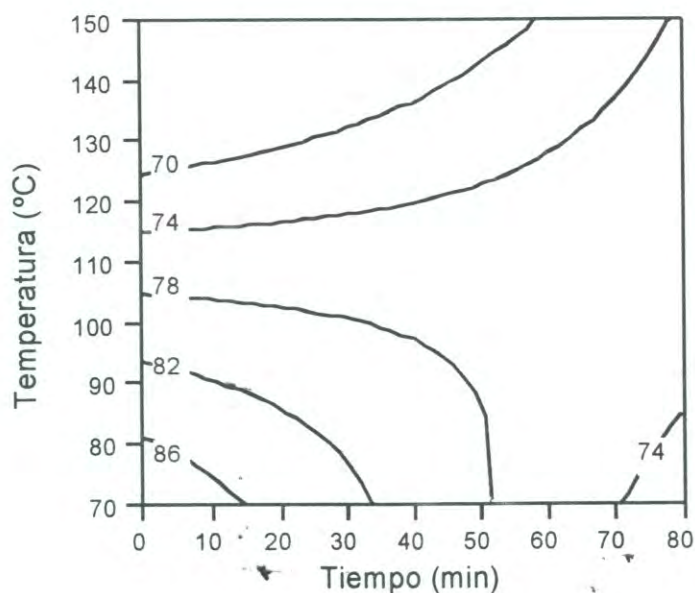


Figura 13a. Efecto de la Temperatura y Cantidad de Tierras sobre la Retención de Tocoferoles en Presencia de Oxígeno Manteniendo Constante el Tiempo en 50 minutos.



* Los valores en el interior de las gráficas representan el porcentaje de RTOCOLES.

Figura 13b. Efecto de la Temperatura y Tiempo sobre la Retención de Tocoferoles en Presencia de Oxígeno Manteniendo Constante la Cantidad de Tierras al 0.75 %.

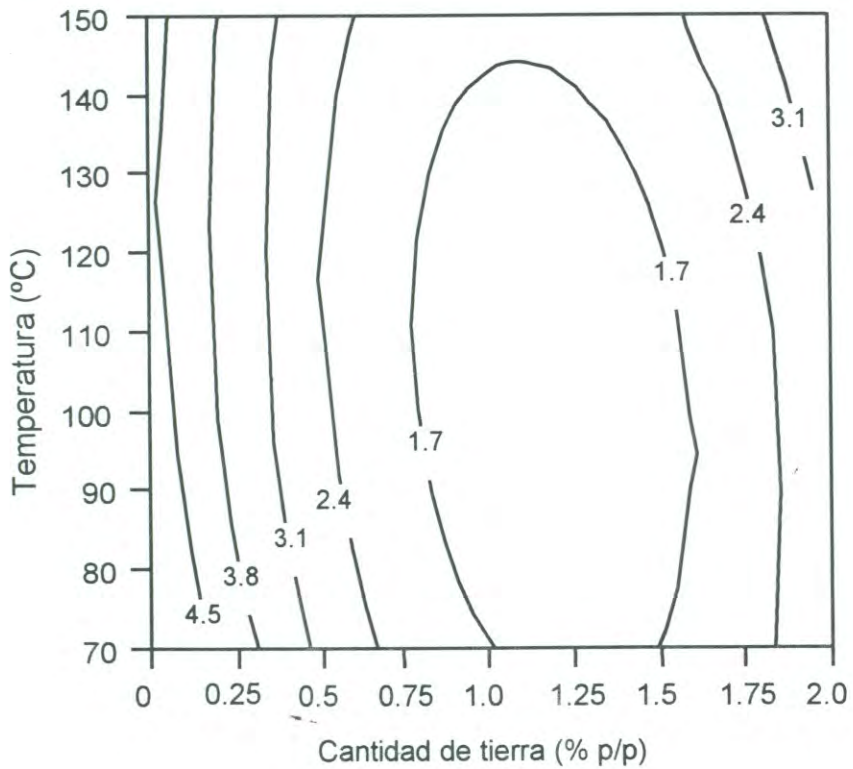
cromico, ácido nítrico, cloruro férrico) dando como resultado diferentes compuestos (quinonas, lactonas y otros productos de degradación) que no pueden ser detectados por el método utilizado para la cuantificación de tocoferoles, debido a que estos compuestos presentan absorción a una longitud de onda diferente a la cual se está realizando el análisis (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996).

Color Lovibond

El valor de color determinado a través de Lovibond en ausencia de oxígeno y con presencia de oxígeno, fue influenciado significativamente por el contenido de tierras, tanto en el término lineal como en el cuadrático. En presencia de oxígeno el color también fue influenciado significativamente por la interacción entre la temperatura y la cantidad de tierras. La temperatura y el tiempo no presentaron efecto significativo a los niveles que se utilizaron en el presente modelo ($p < 0.05$) (**Figuras 14 y 15**). El coeficiente de determinación (r^2) encontrado para el color Lovibond en presencia y ausencia de oxígeno fue de 0.8494 y 0.8742 respectivamente, indicando que el modelo predice de forma adecuada el efecto de cada factor sobre la variable respuesta (**Tablas 14 y 15**).

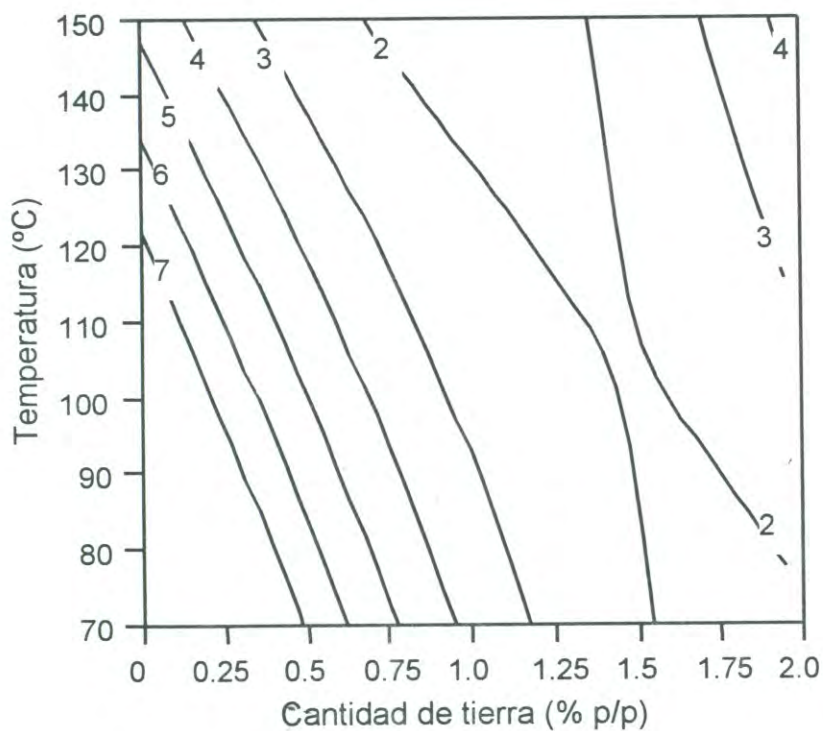
Cuando el aceite fue blanqueado en presencia de oxígeno los valores de color rojo fueron más altos que cuando se realizó el blanqueo en ausencia de oxígeno. Esto se debe a la fijación del color como resultado de la presencia de compuestos producto de la oxidación de carotenoides. La oxidación de carotenoides se lleva a cabo por efecto de la temperatura y el oxígeno presente en el blanqueo (Bockish, 1998).

Al valor mínimo de color Lovibond en ausencia de oxígeno obtenido en el presente estudio fue de 1.1 rojo, el cual correspondió a una temperatura de 130 °C, una cantidad de tierras del 1.5% (p/p) y un tiempo de contacto de 60 minutos, mientras que el mínimo valor de color rojo en presencia de oxígeno fue de 1.7,



* Los valores en el interior de la gráfica representan el color rojo Lovibond.

Figura 14. Efecto de la Cantidad de Tierras en la Reducción del Color Lovibond en Ausencia de Oxígeno Manteniendo Constante el Tiempo en 60 minutos.



* Los valores en el interior de la gráfica representan el color rojo Lovibond.

Figura 15. Efecto de la Cantidad de Tierras y Temperatura sobre la Reducción de Color Lovibond en Presencia de Oxígeno Manteniendo Constante el Tiempo en 20 minutos.

para lo cual se utilizó una temperatura de 130 °C, una cantidad de tierras del 1.5% (p/p) y un tiempo de contacto de 20 minutos. La cantidad de tierras presentó efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el color rojo (Lovibond) en ambos casos (en ausencia y presencia de oxígeno). Este efecto se presentó cuando se utilizaban cantidades mayores al 1.0% (p/p), lo cual dio como consecuencia una reducción en el color rojo presente en el aceite.

Color Espectrofotométrico

Para los aceites blanqueados en ausencia de oxígeno se encontró que el color rojo determinado en el espectrofotómetro no fue influenciado significativamente por ninguno de los términos en forma lineal y cuadrático, sin embargo, quien tuvo efecto significativo fue la interacción entre temperatura y tiempo ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación (r^2) encontrado para el color espectrofotométrico en ausencia de oxígeno fue de 0.6481 indicando que el modelo predice de forma adecuada el efecto de cada factor sobre la variable respuesta (**Tabla 14**).

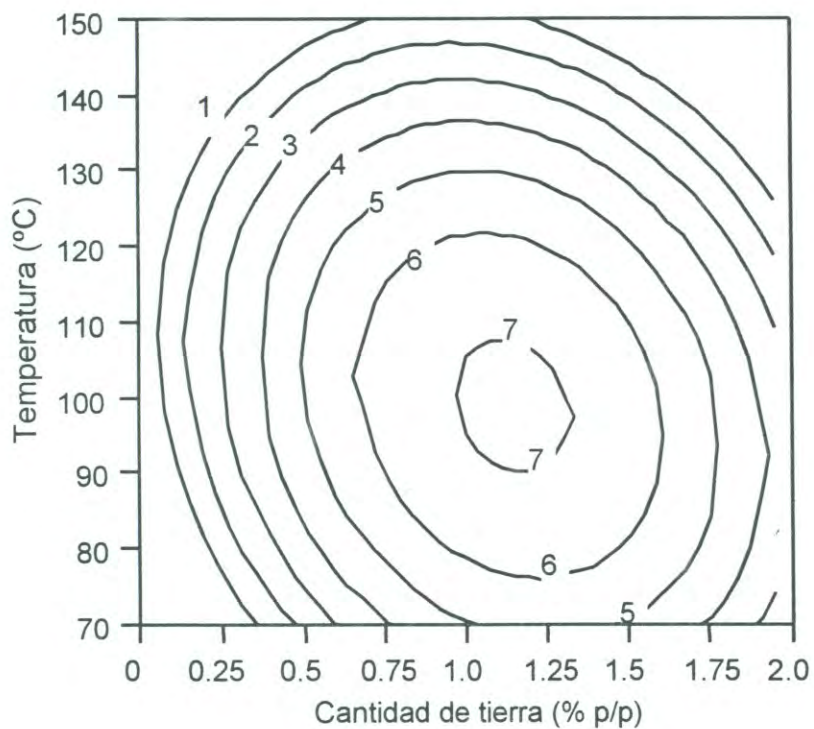
El menor valor de color rojo espectrofotométrico en ausencia de oxígeno fue de 2.0, el cual correspondió a la corrida en donde se utilizó una temperatura de 90 °C, una cantidad de tierras del 1.5% (p/p) y un tiempo de contacto de 20 minutos. Se presentó un comportamiento de reducción de color similar al observado para el color rojo encontrado en el Lovibond con relación al aceite neutralizado. Para el color (espectrofotométrico) rojo en los aceites blanqueados en presencia de oxígeno se encontró que este fue influenciado significativamente por la cantidad de tierras tanto en el término lineal como en el cuadrático, presentando un coeficiente de determinación (r^2) de 0.7405 indicando que el modelo predice de forma adecuada el efecto de cada factor sobre la variable respuesta (**Tabla 15**).

El valor menor de color rojo espectrofotométrico obtenido en presencia de oxígeno fue de 4.8, el cual correspondió a la corrida en donde se utilizó una temperatura de 90 °C, una cantidad de tierras del 0.5% (p/p) y un tiempo de contacto de 20 minutos. Este comportamiento fue similar al observado para el color rojo encontrado en el Lovibond. El efecto significativo de la cantidad de tierras ($p < 0.05$) se presentó a los niveles más bajos y más altos (-1 y 1), es decir cuando se utilizaron cantidades menores al 0.5 y mayores al 1.5% (p/p) (**Figura 16**), lo cual dio como consecuencia una reducción en el color rojo presente en el aceite.

Optimización

Para llevar a cabo la optimización de la operación de blanqueo para cada uno de los diferentes experimentos (en ausencia y presencia de oxígeno) se realizó un análisis de los datos por regresión para valor de peróxidos (Ec. 1), RTOCOLS (Ec. 2), color Lovibond (Ec. 3) y color espectrofotométrico (Ec. 4), siendo estas ecuaciones las designadas por el diseño con la ausencia de oxígeno (**Figura 17**), mientras que por el diseño con presencia de oxígeno fueron las siguientes: Valor de peróxidos (Ec. 5), RTOCOLS (Ec. 6), color Lovibond (Ec. 7) y color espectrofotométrico (Ec. 8) (**Figura 18**), por lo tanto se obtuvieron ocho diferentes ecuaciones en total. Después se procedió a minimizar y maximizar la función, para determinar el valor óptimo al igual que las condiciones que generaron dicho valor. Esto fue posible después de realizar algunas restricciones al modelo, siendo esta que la zona de predicción del modelo se limitara a los niveles -1 y 0 de las variables independientes.

En la actualidad la industria aceitera es más cuidadosa en el control de cada una de las etapas del proceso de refinación de los aceites. Durante la etapa de blanqueo se recomienda cero de peróxidos, por lo cual se decidió minimizar el índice de peróxidos a un valor muy cercano a cero con la ecuación de regresión para esta variable respuesta (Ec. 1) en ausencia de oxígeno y con la



* Los valores en el interior de la gráfica representan el color rojo Espectrofotométrico.

Figura 16. Efecto de la Cantidad de Tierras sobre la Reducción del Color Espectrofotométrico en Presencia de Oxígeno Manteniendo Constante el Tiempo en 10 minutos.

Ec. 1

$$Y_1 = -0.049573 + 0.0056755X_1 - 0.079732X_2 - 0.004308X_3 + 0.0000813X_1X_2 + 0.0000291X_1X_3 + 0.0005062X_2X_3 - 0.00003X_1^2 + 0.009261X_2^2 - 6.208e-7X_3^2$$

Ec. 2

$$Y_2 = -76.21691 + 2.6149432X_1 + 14.848653X_2 + 1.1056953X_3 - 0.08675X_1X_2 - 0.007075X_1X_3 - 0.100875X_2X_3 - 0.010989X_1^2 - 0.221419X_2^2 - 0.003079X_3^2$$

Ec. 3

$$Y_3 = 14.280953 - 0.07732X_1 - 4.7621X_2 - 0.110036X_3 + 0.005X_1X_2 + 0.00025X_1X_3 + 0.02125X_2X_3 + 0.0002442X_1^2 + 0.6223411X_2^2 + 0.0002775X_3^2$$

Ec. 4

$$Y_4 = -23.09484 + 0.2438113X_1 + 3.979154X_2 + 0.3571723X_3 - 0.06875X_1X_2 - 0.003938X_1X_3 + 0.04125X_2X_3 + 0.0003873X_1^2 + 0.6367326X_2^2 + 0.0005191X_3^2$$

Donde:

Y₁ = Valor de peróxidosY₂ = Retención de tocoferolesY₃ = Color (Lovibond)Y₄ = Color (espectrofotométrico)X₁ = TemperaturaX₂ = Cantidad de tierrasX₃ = Tiempo de contacto

Figura 17. Ecuaciones Obtenidas por el Diseño para el Valor de Peróxidos, Retención de Tocoferoles, Color Lovibond y Color Espectrofotométrico en Ausencia de Oxígeno.

Ec. 5

$$Y_1 = 2.9774881 - 0.031497X_1 - 0.843864X_2 + 0.0027435X_3 + 0.0060562X_1X_2 - 0.00002X_1X_3 - 0.002194X_2X_3 + 0.0000805X_1^2 + 0.0442172X_2^2 + 0.0000537X_3^2$$

Ec. 6

$$Y_2 = 99.901641 - 0.0407X_1 - 2.840803X_2 - 0.579927X_3 + 0.0476875X_1X_2 + 0.0052594X_1X_3 + 0.0004375X_2X_3 - 0.001599X_1^2 - 0.304627X_2^2 - 0.000038X_3^2$$

Ec. 7

$$Y_3 = 19.263069 - 0.115391X_1 - 7.662159X_2 - 0.015318X_3 + 0.029375X_1X_2 + 0.0000938X_1X_3 + 0.010625X_2X_3 + 0.0001283X_1^2 + 0.7398193X_2^2 - 0.000061X_3^2$$

Ec. 8

$$Y_4 = -29.37541 + 0.4954547X_1 + 8.300516X_2 + 0.2440351X_3 - 0.020187X_1X_2 + 0.0011906X_1X_3 - 0.011063X_2X_3 - 0.002325X_1^2 - 1.349743X_2^2 - 0.004305X_3^2$$

Donde:

Y₁ = Valor de peróxidosY₂ = Retención de tocoferolesY₃ = Color (Lovibond)Y₄ = Color (espectrofotométrico)X₁ = TemperaturaX₂ = Cantidad de tierrasX₃ = Tiempo de contacto

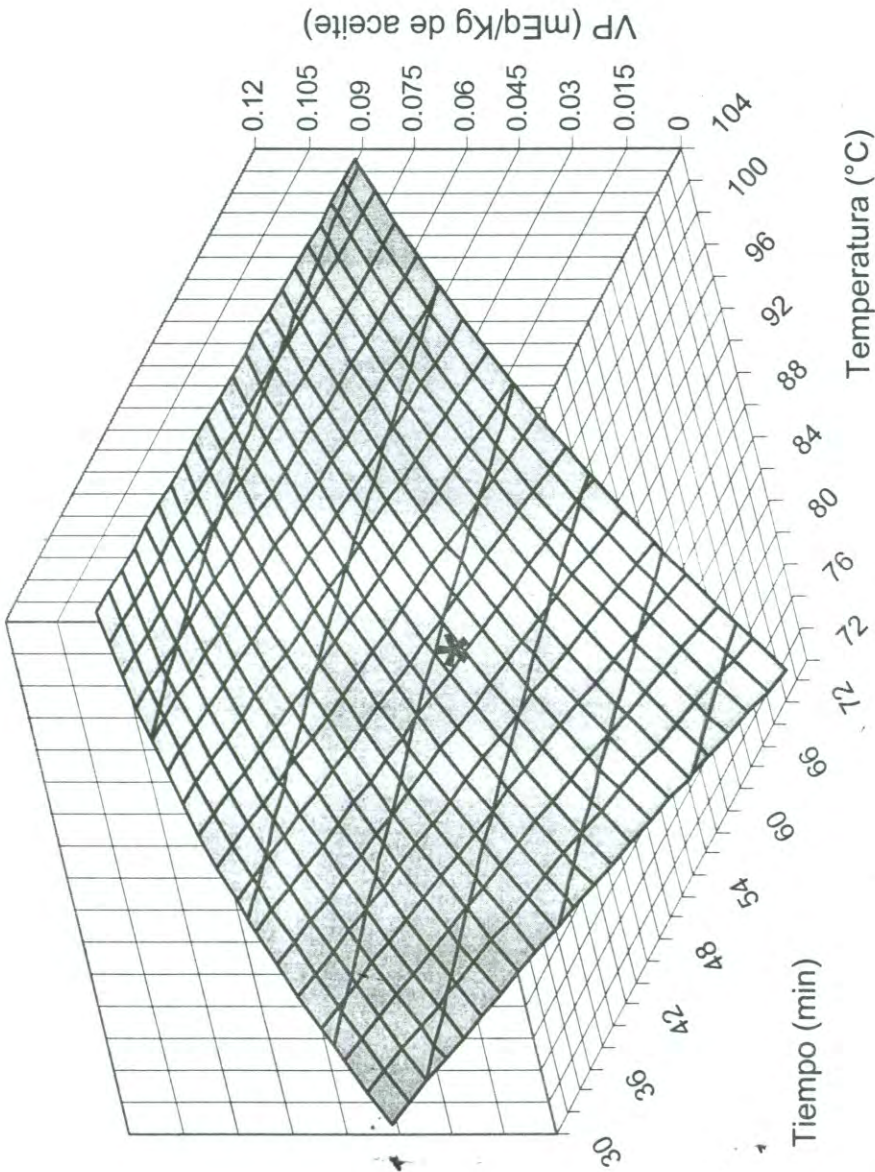
Figura 18. Ecuaciones Obtenidas por el Diseño para el Valor de Peróxidos, Retención de Tocoferoles, Color Lovibond y Color Espectrofotométrico en Presencia de Oxígeno

Ec. 5 para el diseño en presencia de oxígeno además de obtener la mayor cantidad de RTOCOLES en base a la ecuación 2 y 6 de cada diseño respectivamente.

En Ausencia de Oxígeno

Con las ecuaciones obtenidas para el valor de peróxidos se encontró el valor óptimo de 0.061 mEq/kg. de peróxido, con las condiciones de temperatura $X_1 = 86$ °C, cantidad de tierras $X_2 = 1.2$ % y un tiempo de 55 minutos. El punto para el mínimo valor de peróxidos en el aceite se indica gráficamente en la **Figura 19**. En esta Figura de superficie respuesta, se localiza el punto mínimo de valor de peróxidos dentro de la región experimental. Tomando como base los niveles anteriores de las variables independientes, las cuales dieron como resultados la respuesta óptima para el mínimo valor de peróxidos, se calculó el contenido de RTOCOLES (Ec. 2), color (Lovibond) (Ec. 3) y el color espectrofotométrico (Ec. 4), con las ecuaciones de regresión. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 16**, en la cual se observa que los niveles de cada una de las variables independientes se encuentran dentro de los recomendado por Bockish, (1998). Los valores de las variables dependientes, se encuentran dentro de los valores permitidos para valor de peróxidos <1.0 mEq/kg. (Mag, 1990; Villa, 2001), RTOCOLES > 88% (Jung y Col, 1989; Ferrari y Col, 1996, Medina y Col, 2000), color lovibond y color espectrofotométrico, observándose una reducción mayor del 40% y del 13% respectivamente, lo cual concuerda con los valores reportados por Bockish (1998).

Al comparar los valores de peróxido del aceite blanqueado de soya a las condiciones óptimas y los aceites producidos en México, se encontró que el valor de peróxidos en los aceites refinados a condiciones óptimas tuvo un menor valor de peróxidos en la etapa de blanqueo al encontrado en diferentes plantas aceiteras de México (Medina, 2000). Esto pudiera deberse a que los aceites no



* Condiciones optimas: temperatura: 86°C, tiempo de contacto: 55 minutos y cantidad de tierras: 1.2%.

Figura 19. Gráfica de Superficie Respuesta para el Efecto de la Temperatura y Tiempo para el Mínimo de Peróxidos en el Aceite Blanqueado en Ausencia de Oxígeno.

Tabla 16. Validación de las Condiciones Óptimas Predichas por el Modelo de la Etapa de Blanqueo en Ausencia de Oxígeno

Niveles de variables			V. peróxidos (mEq/kg.)	RTOCOLES (%)	Color	
X ₁	X ₂	X ₃			Lovibond	espectrof.
86	1.2	55				
Predecidas min. peróxidos			0.061	88.56	1.40	7.79
Validadas en el laboratorio			0.077 ± 0.01	89.72 ± 1.45	1.90 ± 0.0	7.92 ± 0.56
96	1.4	23				
Predecidas max. tocoferoles			0.087	91.74	1.53	3.98
Validadas en el laboratorio			0.094 ± 0.04	91.79 ± 1.33	1.85 ± 0.3	3.88 ± 0.11

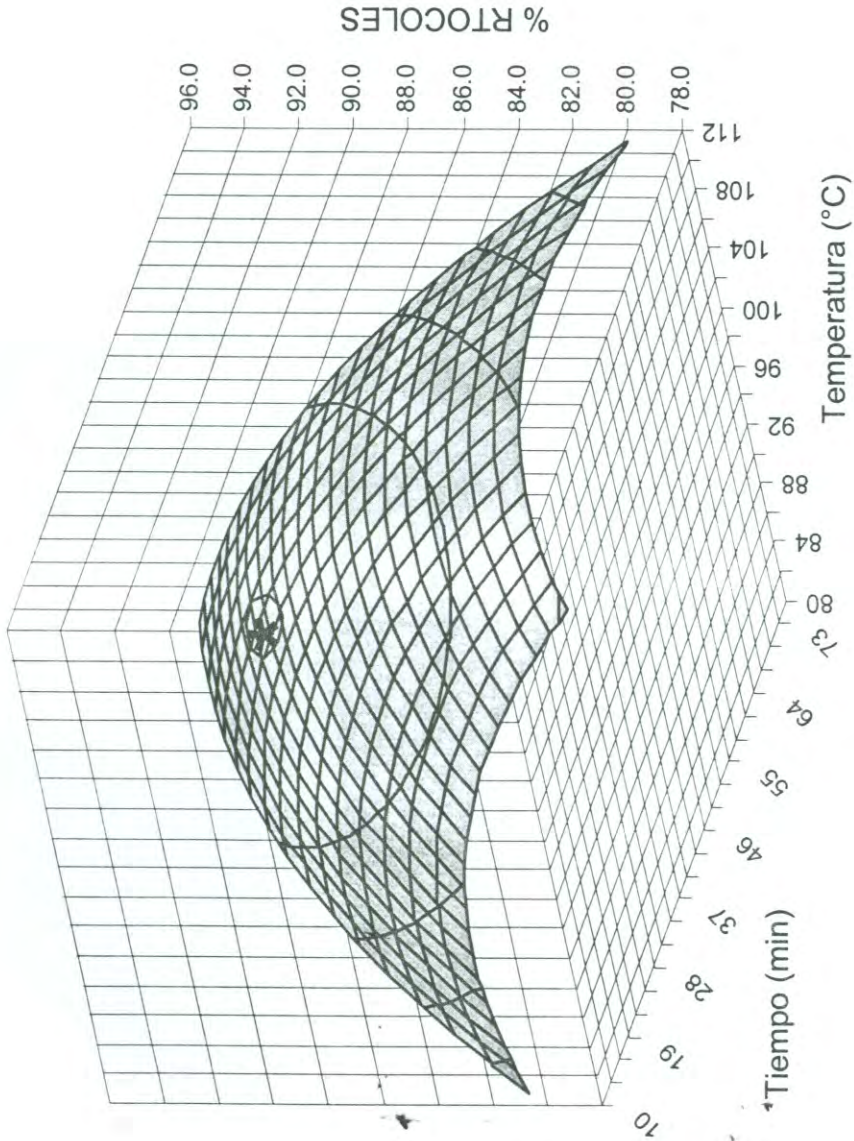
X₁ = Temperatura, X₂ = % de tierras, X₃ = Tiempo de contacto

son procesados a las condiciones óptimas de temperatura, cantidad de tierras y tiempo de contacto, lo cual tiene como finalidad eliminar este tipo de compuestos.

La etapa de blanqueo de los aceites, como se ha mencionado anteriormente tiene como finalidad disminuir los peróxidos, pero también son eliminados otro tipo de compuestos como son los tocoferoles, es por ello que la temperatura, cantidad de tierras y tiempo de contacto, se tienen que manejar de manera óptima durante esta etapa para poder obtener un aceite que al mismo tiempo contenga la mayor cantidad de tocoferoles. Es por ello que se deben buscar las condiciones donde se tengan pérdidas de tocoferoles menores del 13.5%, tal como lo reporta Ferrari y Col, 1996, Jung y Col, 1989. Para realizar esta maximización de tocoferoles se utilizó la ecuación de regresión Ec. 2.

Con esta ecuación se obtuvo el valor máximo de tocoferoles retenidos en el aceite de soya blanqueado $RTOCOLES = 91.74 \% (p/p)$, con las condiciones de temperatura $X_1 = 96\text{ }^{\circ}\text{C}$, cantidad de tierras $X_2 = 1.4\% (p/p)$, tiempo de contacto $X_3 = 23\text{ min}$. El punto máximo para la $RTOCOLES$ en el aceite blanqueado se indica gráficamente en la **Figura 20**. En esta figura de superficie respuesta el punto para la mayor $RTOCOLES$ se encontró dentro de la región experimental.

Tomando como base los niveles anteriores de las variables independientes las cuales dieron como resultado la respuesta óptima maximizada para $RTOCOLES$, se calculó el valor de peróxidos (Ec. 1), color lovibond (Ec. 3), color espectrofotométrico (Ec. 4), con las ecuaciones de regresión. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 16**, donde se puede observar que los niveles de las variables independientes se encuentran dentro de los recomendados por Bockish (1998), Villa (2001) y Serra y Col, (2001).



* Condiciones óptimas: temperatura: 96°C, tiempo de contacto: 25 minutos y cantidad de tierras: 1.4%.

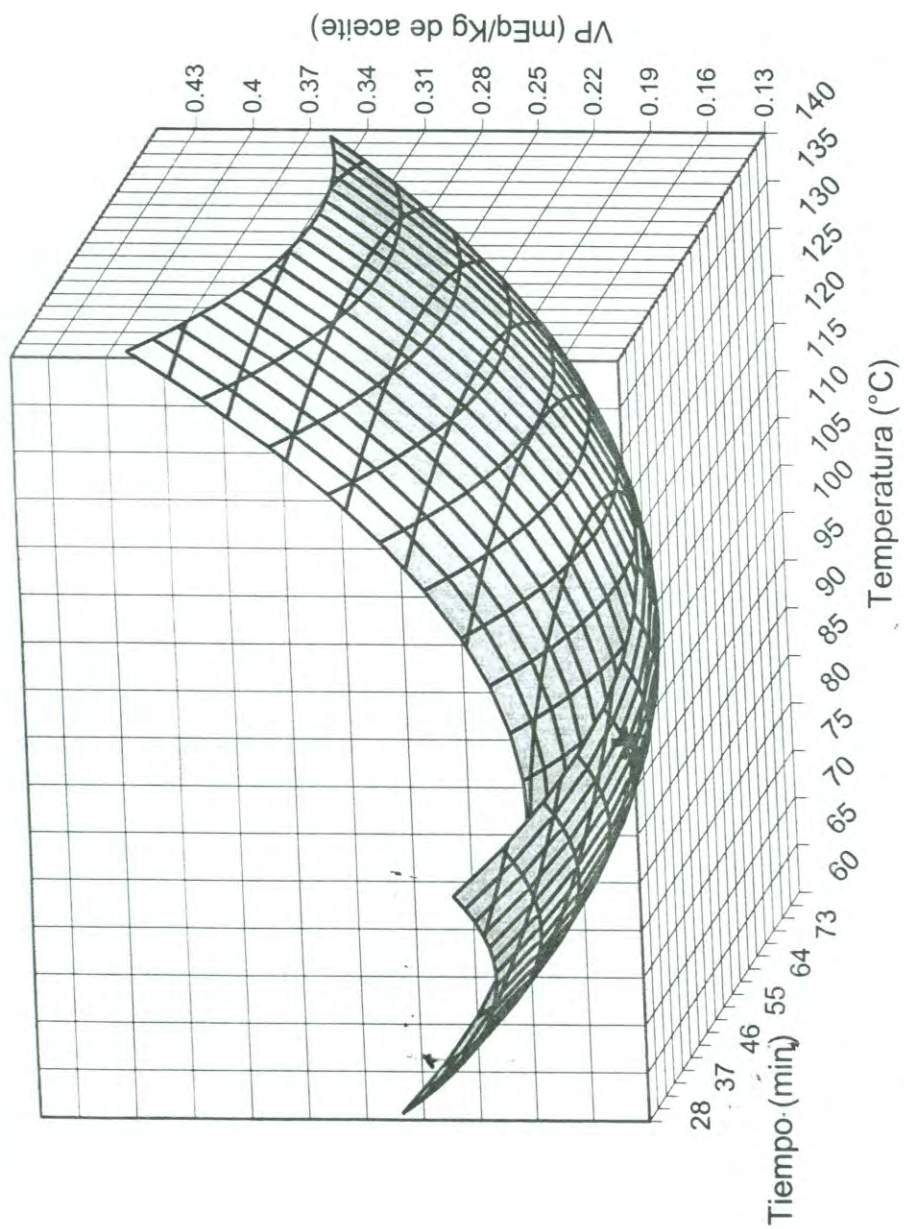
Figura 20. Gráfica de Superficie Respuesta para el Efecto de la Temperatura y Tiempo de Contacto en la RTOCOLES en el Aceite Blanqueado en Ausencia de Oxígeno.

Las condiciones óptimas predecidas por los modelos para minimizar el valor de peróxidos y maximizar la cantidad de tocoferoles retenidos en el aceite de soya blanqueado en ausencia de oxígeno se validaron de manera experimental en el laboratorio, encontrando que las respuestas predecidas por los modelos y los resultados obtenidos experimentalmente (**Tabla 16**) concuerdan con los valores recomendados por Mag (1990) y Villa (2001) para un valor de peróxidos < 1.0 mEq/Kg de aceite y por Jung y Col, (1989), Ferrari y Col, (1996) y Medina y Col, (2001) para RTOCOLES $> 88\%$. En el caso de color Lovibond y espectrofotométrico cumplen con lo recomendado por Bockish (1998).

En Presencia de Oxígeno

Con las ecuaciones obtenidas para predecir el valor de peróxidos se obtuvo el valor óptimo de 0.193 mEq/kg. de peróxido, con las condiciones de temperatura $X_1 = 100$ °C, cantidad de tierras $X_2 = 1.45$ % y un tiempo de 30 minutos. El punto para el mínimo valor de peróxidos en el aceite blanqueado se indica gráficamente en la **Figura 21**. En esta figura de superficie respuesta el punto mínimo de valor de peróxidos se localizó dentro de la región experimental analizada. Tomando como base los niveles anteriores de las variables independientes se calculó con las ecuaciones de regresión, el contenido de RTOCOLES (Ec. 6), color Lovibond (Ec. 7) y el color espectrofotométrico (Ec. 8).

Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 17**, en la cual se puede observar que los niveles de cada una de las variables independientes se encuentran dentro de lo recomendado por Bockish (1998), al igual que para la variable dependiente valor de peróxidos (< 1.0 mEq/kg) (Mag, 1990; Villa, 2001). Por el contrario el valor de RTOCOLES $< 88\%$, no concuerda con los valores reportados por Jung y Col, (1989); Ferrari y Col, (1996), Medina y Col, (2000), esto se podría deber a que el aceite fue tratado a condiciones atmosféricas, provocando la oxidación de los ácidos grasos por efecto de la temperatura y actuando los tocoferoles como antioxidantes disminuyendo su contenido inicial.



* Condiciones optimas: temperatura: 100°C, tiempo de contacto: 30 minutos y cantidad de tierras: 1.45%.

Figura 21. Gráfica de Superficie Respuesta, para el Efecto de la Temperatura y Tiempo para el Mínimo de Peróxidos en el Aceite Blanqueado en Presencia de Oxígeno.

Tabla 17. Validación de las Condiciones Óptimas Predichas por el Modelo de la Etapa de Blanqueo en Presencia de Oxígeno.

Niveles de variables			V. peróxidos (mEq/kg.)	RTOCOLES (%)	Color	
X ₁	X ₂	X ₃			Lovibond	espectrof.
100	1.45	30				
Predecidas min. peróxidos			0.193	81.25	2.21	9.84
Validadas en el laboratorio			0.187 ± 0.05	81.41 ± 0.70	2.20 ± 0.00	9.60 ± 0.22
80.05	1.5	10				
Predecidas max. tocoferoles			0.243	85.00	1.80	5.92
Validadas en el laboratorio			0.221 ± 0.05	85.61 ± 0.47	1.65 ± 0.21	5.87 ± 0.13

X₁ = Temperatura, X₂ = % de tierras, X₃ = Tiempo de contacto

El color Lovibond y color espectrofotométrico, se redujo un 40% y 19% respectivamente, lo cual concuerda con los valores reportados por Bockish (1998).

Al comparar las condiciones óptimas predecidas por el modelo (**Tabla 17**) con diferentes aceites producidos en México, se encontró que dichas condiciones daban como resultado un menor valor de peróxidos en la etapa de blanqueo al encontrado en diferentes plantas aceiteras de México (Medina, 2000). Esto pudiera deberse a que los aceites no son procesados a las condiciones óptimas de temperatura, cantidad de tierras y tiempo. De la misma manera al establecer una comparación de la retención de tocoferoles en los aceites procesados en diferentes plantas aceiteras de México se encontró que la retención es del 70% (Medina, 2000), en el presente estudio se encontró una retención > 80%. Esta reducción en la retención de los tocoferoles en los aceites procesados en México a nivel industrial, se puede deber a la temperatura y al contacto del oxígeno con el aceite, lo que promueve la oxidación del aceite y la reducción de los tocoferoles.

Las tierras durante la etapa de blanqueo presentan en los aceites una combinación de dos efectos estos son: el efecto catalítico (peróxidos a aldehídos y cetonas) y el efecto de adsorción de compuestos (tocoferoles), por tal motivo se debe tener cuidado de manejar la temperatura, cantidad de tierras y tiempo de contacto, de manera correcta para poder obtener un aceite con la mayor retención de tocoferoles. Es por ello que la pérdida de tocoferoles en el aceite debe ser menor del 13.5%, tal como lo reporta Ferrari y Col, 1996, Jung y Col, 1989. Para realizar esta maximización de tocoferoles se utilizó la ecuación de regresión Ec. 2.

Con esta ecuación se obtuvo el valor máximo de tocoferoles retenidos en el aceite de soya blanqueado $R_{TOCOLES} = 85.00 \%$, con las condiciones de temperatura $X_1 = 80.05 \text{ }^\circ\text{C}$, cantidad de tierras $X_2 = 1.5$, tiempo de contacto $X_3 =$

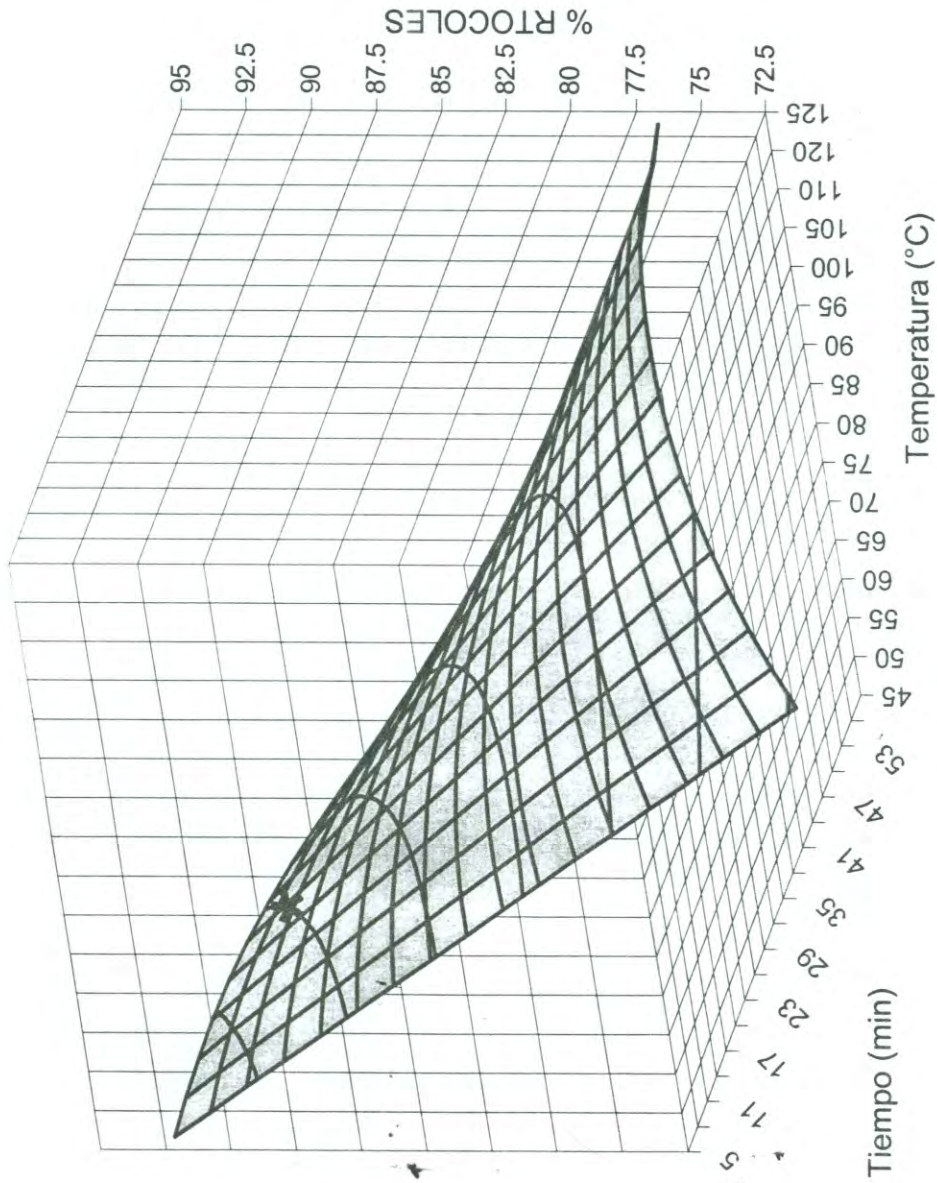
10 min. El punto máximo para la RTOCOLES en el aceite blanqueado se puede observar en la **Figura 22**. En esta figura de superficie respuesta el punto para la mayor RTOCOLES se localizo dentro de la región experimental.

Tomando como base los niveles de las variables independientes anteriores, las cuales dieron como resultado la respuesta máxima para RTOCOLES, se calculó el valor de peróxidos (Ec. 5), color Lovibond (Ec. 7), color espectrofotométrico (Ec. 8), con las ecuaciones de regresión. Los resultados se muestran en la **Tabla 17**, en donde se puede observar que los niveles de las variables independientes se encuentran dentro de los recomendado por Bockish (1998), Villa (2001) y Serra, et. al. (2001).

Las condiciones óptimas predecidas por los modelos para minimizar el valor de peróxidos y maximizar la cantidad de tocoferoles retenidos en el aceite de soya blanqueado en presencia de oxígeno se validaron de manera experimental en el laboratorio, encontrando que las respuestas predecidas por lo modelos y los resultados obtenidos experimentalmente (**Tabla 17**) concuerdan con los valores recomendados por Mag (1990) y Villa (2001) para un valor de peróxidos <1.0 mEq/Kg. de aceite, mientras que para RTOCOLES estos resultados no concuerdan con los reportados por Jung y Col, (1989), Ferrari y Col, (1996) y Medina y Col, (2001) encontrándose valores por debajo del 88%. En el caso de color en ambos casos (Lovibond y espectrofotométrico) cumplen con lo recomendado por Bockish (1998).

Evaluación de la Calidad del Aceite de Soya Blanqueado

Con la finalidad de evaluar la calidad de las muestras de aceite de soya blanqueadas a las condiciones óptimas (mínimo valor de peróxidos y máxima retención de tocoferoles) en ausencia y presencia de oxígeno se les determinó ácidos grasos libres, contenido de jabón, valor de *p*-anisidina, dienos conjugados, clorofila A y B, perfil de ácidos grasos y contenido de elementos traza (**Tabla 18**).



* Condiciones optimas: temperatura: 80.05°C, tiempo de contacto: 10 minutos y cantidad de tierras: 1.5%.

Figura 22. Gráfica de Superficie Respuesta para el Efecto de la Temperatura y Tiempo de Contacto en la RTOCOLES en el Aceite Blanqueado en Presencia de Oxígeno.

Tabla 18. Evaluación de la Calidad de los Aceites Blanqueados a las Condiciones Óptimas.

Determinación	Neutralizado	Mínimo VP				Máxima RTOCOLES		Blanqueado ²
		ausencia de O ₂	presencia de O ₂	ausencia de O ₂	presencia de O ₂	ausencia de O ₂	presencia de O ₂	
Ácidos grasos libres (% de ac. oleico)	0.456 ± 0.001	0.022 ± 0.007	0.035 ± 0.004	0.022 ± 0.007	0.031 ± 0.001		<0.08	
Jabón (ppm oleato de sodio)	37.67 ± 1.03	0	0	0	0	0	0	
Valor de p-anisidina (mmol/kg)	0.88 ± 0.066	4.27 ± 0.100	4.86 ± 0.250	4.50 ± 0.050	3.43 ± 0.020		<2-4	
Dienos conjugados (mmol/kg)	0.167 ± 0.0015	0.002 ± 0.001	0.056 ± 0.016	0.053 ± 0.001	0.039 ± 0.004		--	
Clorofila A (ppm)	1.14 ± 0.1	0	0	0	0			
Clorofila B (ppm)	0	0.59 ± 0.05	0.20 ± 0.05	0.44 ± 0.02	0.88 ± 0.05		<1.0	
Elementos traza ¹ (ppm)								
Fósforo (P)	<1.0 ± 0	1.35 ± 0.12	2.0 ± 0.07	1.72 ± 0.13	2.3 ± 0.40		<2.0	
Hierro (Fe)	<0.15 ± 0	<0.06	<0.06	<0.06	<0.06		<0.10	
Cobre (Cu)	<0.155 ± 0.0025	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		<0.05	
Calcio (Ca)	<0.15 ± 0	<0.06	<0.06	<0.06	<0.06		<0.10	
Magnesio (mg)	<0.25 ± 0	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10		<0.10	

-- : No se realiza.

2 : Datos reportados por Erickson , 1995.

1 : Limite de detección 0.05 ppm.

Con la realización de estos análisis se puede comprobar que los aceites blanqueados en ausencia de oxígeno a las condiciones óptimas, además, de contener valores de peróxidos < 1.0 mEq/kg de aceite y una alta retención de tocoferoles (valores recomendados por Villa, 2001; Ferrari, 1996 y Bockish, 1998), se encontró que presentaron valores cercanos a cero en el contenido de ácidos grasos libres, lo cual se encontraba dentro de los recomendado por Erickson, 1995, para un aceite de soya blanqueado (0.08 %). El valor de p -anisidina encontrado en las muestras de aceite de soya blanqueadas en ausencia y presencia de oxígeno se incremento en relación al aceite neutralizado, esto debido a la acción catalítica de las tierras de blanqueo sobre los peróxidos, para ser transformados en aldehídos y cetonas, los cuales se cuantifican por esta técnica. Los valores se encontraban dentro del valor reportado por Erickson, 1995; Villa, 2001 y Bockish, 1998, para un aceite de soya blanqueado.

La determinación del contenido de jabón es de gran importancia en el blanqueo de los aceites, debido a que estos deben quedar atrapados en las tierras de blanqueo y al final del mismo se eliminan al llevar a cabo la filtración, tal y como ocurrió en el presente estudio en donde se obtuvo un aceite de soya blanqueado con un valor de cero de jabón, tanto al realizarse en ausencia y presencia de oxígeno, siendo este valor el recomendado para un aceite blanqueado (Villa, 2001 y Erickson, 1995).

En la cuantificación de clorofila A y B, se presentó el comportamiento característico de transformación de clorofila A en B por efecto de la temperatura, es decir el aceite neutralizado presentó únicamente clorofila A y después del blanqueo esta se eliminó por completo para aparecer la clorofila B en cantidades recomendadas para un aceite blanqueado, tal como lo reporta Erickson, 1995 y Villa, 2001 (< 1.0 ppm). La eliminación de estas es de gran importancia por ser consideradas como agentes pro-oxidantes (Erickson, 1995).

El contenido de elementos traza para el aceite blanqueado a condiciones óptimas (mínimo VP y máxima RTOCOLES en ausencia y presencia de oxígeno) se encontró dentro de los valores permitidos para un aceite de soya blanqueado (fósforo <2.0, hierro <0.10, cobre <0.05, calcio <0.10 y magnesio <0.10) según lo reportado por Erickson, 1995, indicando con esto la eficiencia del proceso de blanqueo del aceite de soya, al realizarse este, tanto en ausencia como en presencia de oxígeno. Los elementos traza actúan como pro-oxidantes (Erickson, 1995), de ahí la importancia de ser eliminados antes de que el aceite pase a la siguiente etapa del proceso de refinación (desodorización).

En relación al perfil de ácidos grasos no se encontró presente ningún isómero correspondiente al ácido linoleico y linolénico (**Tabla 19**), al realizar el blanqueo en ausencia o presencia de oxígeno, corroborando con esto lo reportado por Medina, 2000, donde se menciona que la formación de este tipo de compuestos es en la etapa de desodorización del aceite y no en ninguna de las etapas anteriores del proceso de refinación.

Tabla 19. Composición de Ácidos Grasos del Aceite Blanqueado a Condiciones Óptimas (mg/ 100 mg de aceite).

Acidos Grasos ¹	Neutralizado ²	Mínimo VP		Máxima RTOCOLES	
		ausencia de O ₂	presencia de O ₂	ausencia de O ₂	presencia de O ₂
Mirístico (C14:0)	0.15 ± 0.02	0.18 ± 0.03	0.16 ± 0.07	0.14 ± 0.16	0.15 ± 0.15
Palmitico (C16:0)	10.24 ± 0.02	10.81 ± 0.12	10.64 ± 0.16	10.36 ± 0.25	10.21 ± 0.23
Estéarico (C18:0)	3.48 ± 0.28	3.35 ± 0.16	3.52 ± 0.13	3.54 ± 0.26	3.32 ± 0.25
Oleico (C18:1)	22.86 ± 0.07	23.01 ± 0.10	23.2 ± 0.15	22.95 ± 0.36	22.81 ± 0.12
Linoleico (C18:2)	53.44 ± 0.27	53.21 ± 0.13	53.65 ± 0.19	52.96 ± 0.23	53.44 ± 0.26
<i>Trans</i>	0	0	0	0	0
Linolénico (C18:3)	7.49 ± 0.20	7.52 ± 0.21	7.68 ± 0.23	7.69 ± 0.18	7.59 ± 0.25
<i>Trans</i>	0	0	0	0	0
Araquidico (C20:0)	0.16 ± 0.010	0.12 ± 0.012	0.15 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.17 ± 0.12

¹ : Limite de detección 0.1² : Promedio de tres repeticiones

CONCLUSIONES

1. El aceite en estudio presentó un perfil de tocoferoles y de ácidos grasos característico para un aceite de soya, además cumplió los requisitos fisico-químicos de un aceite neutralizado.
2. La temperatura y el tiempo de contacto mostraron un efecto significativo sobre la oxidación (valor de peróxidos) y el contenido de tocoferoles, durante el blanqueo en ausencia de oxígeno.
3. La mayor retención de tocoferoles (91.74%) se obtuvo al blanquear el aceite de soya en ausencia de oxígeno (temperatura, 96 °C; cantidad de tierra, 1.4%; y el tiempo de contacto, 23 minutos).
4. Se obtuvieron las condiciones óptimas de temperatura (86 °C), cantidad de tierras (1.2%) y el tiempo de contacto (55 minutos), para obtener un aceite de soya blanqueado (en ausencia de oxígeno) con niveles bajos de peróxidos (0.061 mEq/Kg de aceite) y altos niveles de tocoferoles (una retención >88%).
5. La caracterización fisico-química del aceite de soya blanqueado a las condiciones óptimas cumplió con los requerimientos de calidad para un aceite de soya blanqueado.

RECOMENDACIONES

1. Determinar el efecto de la etapa de blanqueo sobre el contenido individual de tocoferoles (α , β , γ y δ) en aceite de soya.
2. Determinar el efecto sobre el contenido de tocoferoles en aceite de soya al ser sometido a la etapa de blanqueo en presencia de silica.
3. Difundir la información generada en el presente estudio (condiciones optimas de blanqueo) a la Industria Aceitera Mexicana a través de instituciones como la Asociación Americana de Soya y la Compañía Sud Chemie de México, S.A. de C.V.

REFERENCIAS

- Ackman R.G., 1998. Remarks on Official Methods Employing Boron Trifluoride in the Preparation of Methyl Esters of the Fatty Acids of Fish Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75(4):541-544.
- Ackman R.G., S.N. Hooper and D.L. Hooper, 1974. Linolenic Acid Artifacts from the Deodorization of Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 51:42-49.
- Alvarez-Ramos M., 1996. Aspectos Relevantes de las Oleaginosas en Sonora, pags. 12-24, en *Notas del Curso Internacional Sobre Refinación de Aceites Vegetales*, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora.
- American Oil Chemists Society (AOCS), 1994. Fourth Edition, Official Methods and Recommended Practices. Volume I and II.
- Aruoma O.I. and Cuppett S.L., 1997. Antioxidant Methodology, AOCS Press, Champaign, Illinois, Pag. 89.
- Banni, S., and Martin, J.C. 1998. Conjugated Linoleic Acid and Metabolites. pp. 261, 268. En: *Trans Fatty Acids in Human Nutrition*, (Ed. Sébédio J.L. and Christie, W.W.) The Oil Press, Scotland.
- Bieri, J.G. 1987. Dietary Role of Vitamine E. Lipids in Modern Nutrition, edited by M. Horisberger and U. Bracco. Nestlé Nutrition. Vevey/Raven Press, New York. 123-131.
- Beauregard L., 1996, Producción de Aceite de Soya de Alta Calidad, pags. 1-6, en *Notas del Curso Internacional Sobre Refinación de Aceites Vegetales*, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora.
- Becerra, J., 1996. Acidos grasos en la Industria Aceitera, Instituto Nacional de la Nutrición, D.F., México.
- Block, G., Patterson, B., and Subar, A. 1992. Fruit, vegetables and cancer prevention: A review of epidemiologic evidence. *Nutrition and Cancer*. 18: 1-29.
- Bockisch M., 1998. Fats and Oils Handbook, AOCS Press, Champaign, Illinois, Pag. 29-35.
- Bravo C.A., 1993. La Refinación de Aceites y Grasas Antes y Después de Trisyl, pags. 58-59. en *Notas del Curso de Actualización en la Extracción y Refinación de Aceites*, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora.

REFERENCIAS (Cont...)

- CAPRO, Cámara de Aceites y Proteínas de Occidente, 1997. Producción Nacional-Importaciones, Guadalajara Jalisco.
- Carlson S., M.T. Clandinin, H.W. Cook, E.A. Emken and L.I. J. Filer Jr., 1997. trans Fatty Acids: Infant and Fetal Development, *Am J Clin Nutr*; 66: 717, 723, 728, 731.
- Chase G.W., C.C. Akoh and R.R. Eitenmiller, 1994. Analysis of Tocopherols in Vegetable Oils by HPLC: Comparison of Fluorescence and Evaporative Light-Scattering Detection, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71:877-879.
- Chu Y.H. and J.Y. Lin, 1993. Factors Affecting the Content of Tocoferol in Soybean Oil, *J. Am. Oil Chem.*, 70(12):1263.
- Coppin, E.A. and Pike O.A. 2001. Iol Stability Index Correlated with Sensory Determination of Oxidative Stability in light-Exposed Soybean Oil. *J. Am. Oil Chem Soc.* 78:13-18.
- Diplock, A.T. 1994. Antioxidants and disease prevention. *Molec. Aspects. Med.* 15: 293-376.
- Dougherty M.E., 1988. Tocopherols as Food Antioxidants, *Cereal Foods World*, 33(2):223.
- Draper, R.N. John, J.A. 1988. Response-Surface Designs for Quantitative and Qualitative Variables. *Technometrics*. Vol. 30. No.4, 423-428.
- Eckart, O. and A. Wirzmueller, *Die Bleicherde*, Verlag Dr. Serger & Hempel, Braunschweig, 1929.
- Eicke, H. Der gegenwaertige Stand der Bleichungim Raffinationsprozess pflanzlicher aun tierischer Fette, DGF Conference, Regensburg (1984).
- Eitenmiller, R.R., 1997. Vitamin E Content of Fats and Oils-Nutritional Implications, *Food Tech.* 51:78-81.
- Emken E.A., 1994. Valor Nutricional del Aceite de Soya en Comparación con Otras Grasas y Aceites, Boletín: Asociación Americana de Soya, México, D.F.
- Erickson D.R., 1995. Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization, AOCS Press, Champaign, IL. pags. 186, 187, 219.
- FAO, 2000. <http://www.FAO.org>.

REFERENCIAS (Cont...)

- Ferrari R.A., E. Schulte, W. Esteves, L. Brühl and K.D. Mukherjee, 1996. Minor Constituents of Vegetable Oils During Industrial Processing. *J. Am. Oil Chem Soc*, 73(5):590-591.
- Fourie P.C. and D.S. Basson, 1989. Changes in the Tocopherol Content of Almond, Pecan and Macadamia Kernels During Storage, *J. Am. Oil Chem Soc*, 66(8) 1114.
- Frandsen, S.S. 1996. Distillate Information, Henkel Supplier Brochure, Henkel Corporation, LaGrange, IL. pp. 2-5.
- García, M. A. 1990. Manual de Diseño y Análisis Estadístico de Experimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, Veracruz, Ver. pp. 36-45.
- Gey, K.F. 1993. Prospects for the Prevention of Free Radical Disease, Regarding Cancer and Cardiovascular Disease. *Brit. Med. Bull.* 49:679-699.
- Grandgirard A., J.L. Sebedio and J. Fleury, 1984. Geometrical Isomerization of Linolenic Acid During Heat Treatment of Vegetable Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61:1563-1568.
- Gray, J.I. 1978. Measurement of Lipid Oxidation. *J. Am. Oil Chem Soc.* 55:539-546
- Grundy S.M., 1997. What is the Desirable Ratio of Saturated, Polyunsaturated, and Monounsaturated Fatty Acids in the Diet?, *Am J Clin Nutr*, 66(suppl):988, 989.
- Jaswir, I. and Che Man B. 1999. Use Optimization of Natural Antioxidants in Refined, Bleached, and Deodorized Palm Olein During Repeated Deep-Fat Frying Using Response Surface Methodology. *J. Am. Oil Chem Soc.* 76:341-348.
- Jung, M.Y. , Yoon,S.H. and Min, D.B. 1989. Effects of processing steps on the contents of minors compounds and oxidation of soybeans oil. *J. Am. OilChem. Soc.* 66:118-120.
- Kamal-Eldin A. and L. Appelqvist, 1996. The Chemistry and Antioxidant Properties of Tocopherols and Tocotrienols, *Lipids*, 31(7):671-701.
- Kellens M., 1997. Current Developments in Oil Refining Technology, Technical Report De Smet-Belgium, Antwerp Belgium, pags. 31-48.

REFERENCIAS (Cont...)

- Kramer, J.K.G., Blais, L., Fouchard, R.C., Melnyk, R.A. and Kallury, K.M.R. 1997. A Rapid Method for the Determination of Vitamin E Forms in Tissues and Diet By High-Performance Liquid Chromatography Using a Normal-Phase Diol Column. *J. Am. Oil Chem Soc.* 32 (3):325.
- Krishna, S.H., Manohar, B., Divakar, S. and Karanth, N.G. 1999. Lipase-Catalyzed Synthesis of Isoamyl Butyrate: Optimization by Response Surface Methodology, *J. Am. Oil Chem Soc.* 76:1483-1488.
- Lehninger A.L., 1982, Bioquímica, Ediciones Omega, S.A., Barcelona España.
- List G.R., T.L. Mounts and A.J. Heakin, 1978. Steam-Refined Soybean Oil: II. Effect of Degumming Methods on Removal of Prooxidants and Phospholipids, *J. Am. Oil Chem Soc*, 55-281.
- López E., 1996. Industria Aceitera Mexicana: Determinantes de la Producción de Aceites, Grasas, y Proteínas. Revista ANIAME, Asociación Nacional de Industriales de Aceites y Mantecas Comestibles, A.C., México, D.F., pags. 25-27.
- Mag T.K., 1990. El Blanqueo: Teoría y Práctica, en World Conference Proceedings Edible Fats and Oils Processing, AOCS, USA.
- Medina-Juarez L.A, Gonzalez-Diaz P, Gámez-Meza N., Ortega-García J., Moreno-Varela A.B., Bringas-Alvarado L. and Angulo-Guerrero O. 1998. Effects of Processing on the Oxidative Stability of Soybean Oil Produced in Mexico, *J. Am. Oil Chem Soc*, 75(12):1729-1733.
- Medina-Juarez L.A, Gámez-Meza N., Ortega-García J., Noriega-Rodriguez J.A. and Angulo-Guerrero O. 2000. Trans Fatty Acid Composition and Tocopherol Content in Vegetable Oils Produced in Mexico, *J. Am. Oil Chem Soc*, 77(7):721-724.
- Morgado N., Galleguillos A., Sanhueza J., Garrido A., Nieto S., and Valenzuela A., 1998. Effect of the Degree of Hydrogenation of Dietary Fish Oil on the trans Fatty Acid Content and Enzymatic Activity of Rat Hepatic Microsomes, *Lipids*, 33(7):670-671.
- Moulton K.J., 1989. Laboratory Deodorization of Vegetable Oil, *J. Am. Oil Chem Soc*, 66(3):302-303.

REFERENCIAS (Cont...)

- Myers, H. R. and Montgomery D.C. (1995). Response surface methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiment, John & Sons, New York, pags. 435, 436.
- Nesaretnam, K., Stephen R., Dils, R. and Darbre P. 1998. Tocotrienols Inhibit the Growth of Human Breast Cancer Cells Irrespective of Estrogen Receptor Status. *Lipids*, 33:461-469.
- Norma Oficial Mexicana NOM. 1985. Alimentos-Aceite Comestible Puro de Soya, Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, México, D.F., pag. 5.
- O'Brien, R.D. Farr, W.E. and Wan, P.J. 2000. Introduction to Fats and Oils Technology. Second Edition AOCS Press, Champaign, Illinois, pp. 158-178.
- Packer, L. and Fuchs, J. 1993. Vitamin E in Health and Disease. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 276-280.
- Perkin-Elmer, 2000. <http://www.perkinelmer.com>
- PORLA, Palm Oil Registration and Licensing Authority, 1998. <http://161.142.157.2/home2/home/t6-2.htm>
- Qureshi, A.A., Bradlow, B.A., Brance, L., Manganello, J., Peterson, D.M., Pearce, B.C., Wright, J.J.K. and Gapor, C.E. 1995. Response of Hypocholesterolemic Subjects to Administration to Tocotrienols, *Lipids*, 30:1171-1177.
- Rathjen T. and H. Steinhart, 1997. Natural Antioxidants in Lipids, pags. 341, en R.E. McDonald and M.M. Mossoba eds., New Techniques and Applications in Lipid Analysis, AOCS Press Champaign, Illinois, USA.
- Ruiz-Méndez M.V., G. Márquez-Ruiz, and M.C. Dobarganes, 1996. Comparative Performance of Steam and Nitrogen as Stripping Gas in Physical Refining of Edible Oils, *J. Am. Oil Chem Soc*, 73(12):1641-1645.
- Serra, B.J., Soliva, T.M. and Ventura, C.F. 2001. A Laboratory Study of Bleaching Process in Stigmasta-3,5-diene Concentration in Olive Oils. *J. Am. Oil Chem Soc*. 78:305-310.
- Soya Bluebook Plus 1998, The Annual Directory of the World Oilseed Industry, Soyatech, Inc., Bar Harbor, ME 04609 USA.
- United Soybean Board, Soybean Situation: Mexico, 1999. <http://www.aces.uiuc.edu/mexsoy>

REFERENCIAS (Cont...)

- Villa V.M., 1996. Operaciones Críticas Durante el Blanqueo, pags.. 30-33, en Notas del Curso Internacional Sobre Refinación de Aceites Vegetales, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora.
- Villa, V.M., 2001. El Blanqueo, Operacion Crítica del Aceite de Soya, pp.. 1-12, En: Notas del Curso Sobre Producción de Aceite de Soya de Alta Calidad para Uso en Productos Alimenticios, Asociación Americana de Soya. Guadalajara, Jal. Abril 25-26 de 2001.
- Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. 1998. Concentration of w-3 Polyunsaturated Fatty Acid of Marine Oils Using *Candida cylindracea* Lipase: Optimization of Reaction Conditions. *J. Am. Oil Chem Soc.* 75:1767-1774.
- Warner K., and T.L. Mounts, 1990. Analysis of Tocopherols and Phytosterols in Vegetable Oils by HPLC With Evaporative Light-Scattering Detection, *J. Am. Oil Chem Soc.* 67(11):827-829.
- White, P.J. 1994. Methods to Assess Quality and Stability of Oils and Fat-Containing Foods. AOCS Press, Champaign, Illinois, pp. 159-189.
- Willett W., Stampfe M., Manson J., Speizer F., Rosner B., Sammpson L., and Hennekens C., 1993. Intake of trans Fatty Acids and Risk of Coronary Hear Disease Among Womens, *Lancet* 341:581-583.
- Wolff A.L., 1992. trans-Polyunsaturated Fatty Acids in French Edible Rapeseed and Soybean Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69(2):106-108.
- Yao F., G. Dull, and R. Eitenmiller, 1992. Tocopherol Quantification by HPLC in Pecans and Relationship to Kernel Quality During Storage, *J. of Food Science*, 57(5)1194-1196.
- Ziller, S., 1996. Grasas y Aceites Alimentarios. 7ª Edición. Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España. Pags. 4; 37.
- Zehnder C.T., 1995. Deodorization, pags. 240-244 en Erickson D.R. Ed., Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization, AOCS Press, Champaign, IL.