

El proyecto, perteneciente al convenio de compra pública innovadora 'Innolivar', está desarrollando un instrumento analítico basado en la tecnología de IMS que permita la asignación correcta a un AOVE usando una metodología fiable, rápida y a bajo coste

64

En búsqueda de nuevas metodologías para clasificar aceites de oliva según su calidad



María José Cardador, Rocío Ríos-Reina y Lourdes Arce

Dep. de Química Analítica, Universidad de Córdoba, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), (lourdes.arce@uco.es)

Los consumidores tienen un interés cada vez mayor por conocer la calidad de los productos alimenticios con valor añadido que consumen. Tal es el caso del aceite de oliva virgen extra. Por ello el sector oleícola apuesta por una creciente modernización tecnológica con el fin de mejorar sus productos, haciendo de la calidad y la certificación un elemento necesario de diferenciación. La clasificación de los aceites en sus categorías extra (AOVE), virgen (AOV) o lampante (AOL) constituye aún un reto difícil ya que los métodos oficiales recogidos en el R. EC. N 2568/1991 consisten en análisis fisicoquímicos y sensoriales, estos últimos necesitan personal especializado (no disponible en muchas ocasiones), son caros y lentos. Todo esto ha generado la necesidad de desarrollar nuevos métodos analíticos rentables, fiables y transferibles a la industria. Hay que enfatizar que para la obtención de resultados fiables se requiere de la correcta calibración de los instrumentos con muestras de las tres categorías catadas por al menos dos paneles de cata cuyos resultados coincidan. Por lo tanto, estos métodos no pretenden sustituir, sino complementar o apoyar la función del panel de cata.

Introducción

La clasificación de los aceites en sus categorías virgen extra (AOVE), virgen (AOV) o lampante (AOL) se realiza con un completo análisis fisicoquímico y terminando con la evaluación sensorial (presencia o ausencia del atributo frutado y la intensidad total de defectos) realizada por un panel de cata. Sin embargo, el análisis senso-

rial es un proceso caro, lento, que requiere personal altamente cualificado y que además no está exento de errores si las muestras las catan paneles que no están acreditados. Estos errores provocan en ocasiones una clasificación incorrecta, lo que genera a su vez importantes pérdidas económicas para productores y comercializadores. Con vistas a solventar estos problemas han surgido métodos de análisis complementarios al panel de cata basados en la cromatografía de gases (GC) con distintos detectores (detector de ionización de llama, FID, espectrometría de masas, MS, o espectrometría de movilidad iónica, IMS) capaces de detectar los compuestos del aceite de oliva que el catador aprecia en nariz. Existen muchas publicaciones en la bibliografía empleando GC-MS (Quintanilla-Casas et al., 2020; Cecchi et al., 2019), pero la mayoría se basan en una clasificación de dos categorías: defectuoso/no defectuoso, comestible/no comestible o AOVE/AOL. Estos trabajos están principalmente fundamentados en la detección de determinados compuestos en las muestras de aceite (llamados marcadores) que pueden asociarse con defectos. Sin embargo, basar la clasificación de los aceites de oliva tan sólo en unos pocos compuestos es difícil debido a la complejidad de su aroma. Otros métodos analíticos basados en técnicas espectroscópicas como ultravioleta-visible, infrarrojo, fluorescencia o resonancia magnética nuclear (Borràs et al., 2016; Alonso-Salces et al., 2012), generan una información más global proporcionando la llamada "huella espectral", característica de las muestras, sin embargo, no permiten obtener información detallada de la composición aromática de los aceites.

En este contexto, la Interprofesional del Aceite de Oliva Español (IAOE), el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y la Junta de Andalucía están trabajando de forma conjunta con algunos grupos de investigación para poner a punto analíticas fiables que sean complementarias al panel de cata. Entre ellos, el grupo de investigación AGR-287, dirigido por la catedrática Lourdes Arce, del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba (UCO), se ha centrado desde hace años en la autenticación del aceite de oliva empleando GC-IMS. Esta metodología ha permitido clasificar los aceites en sus tres categorías (AOVE, AOV y AOL) de una forma simple y fiable empleando tanto la huella espectral de la muestra como marcadores.

Metodología de clasificación de aceites basada en GC-IMS

El grupo de investigación AGR-287 ha sido pionero en demostrar las posibilidades de la IMS para clasificar aceites en las tres categorías AOVE, AOV o AOL. La capacidad de separación de los compuestos químicos de la IMS se ha mejorado empleando instrumentos basados en el acoplamiento de una columna de GC previo a la IMS (Figura 1). Además, la IMS genera una gran cantidad de información de la muestra. Por una parte, permite obtener una información global a través de la 'huella espectral', la cual es característica de una muestra concreta (Figura 2 A). Por otra parte, también permite obtener información específica, mediante la identificación de algunos compuestos volátiles concretos o 'marcadores' responsables de atributos negativos y/o positivos del aceite de oliva

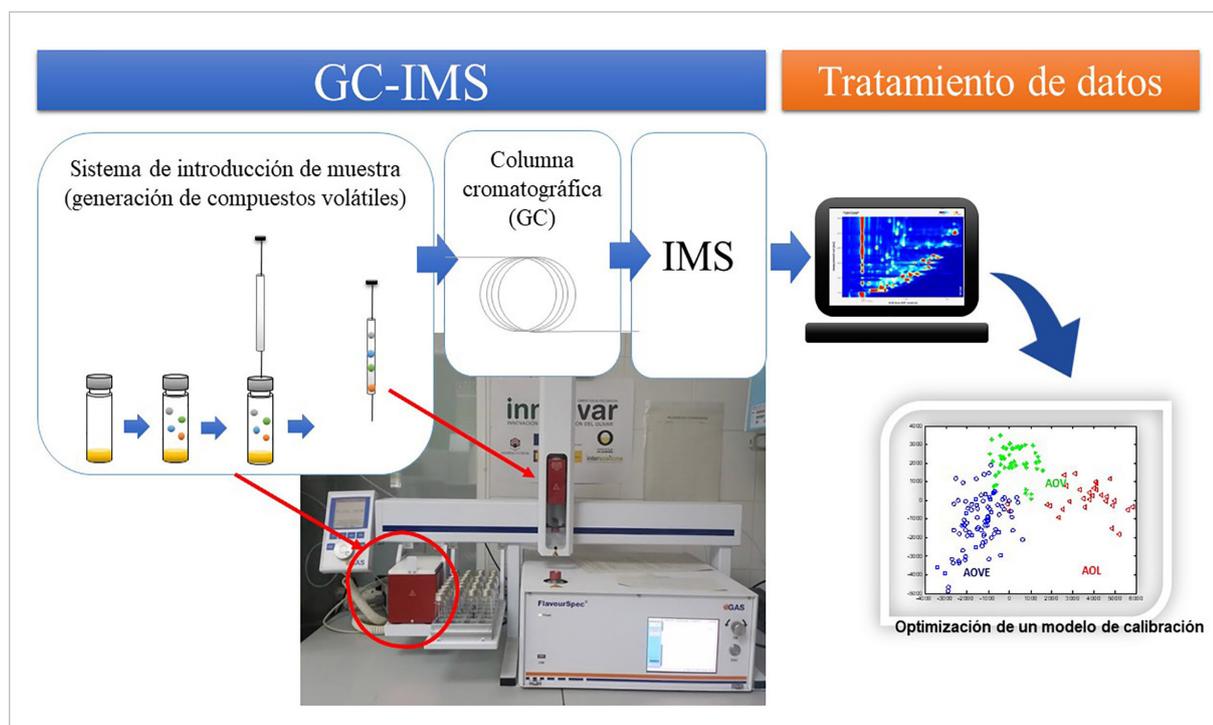


Figura 1. Equipo comercial denominado "Flavourspec" basado en el acoplamiento de una columna de GC a la IMS.

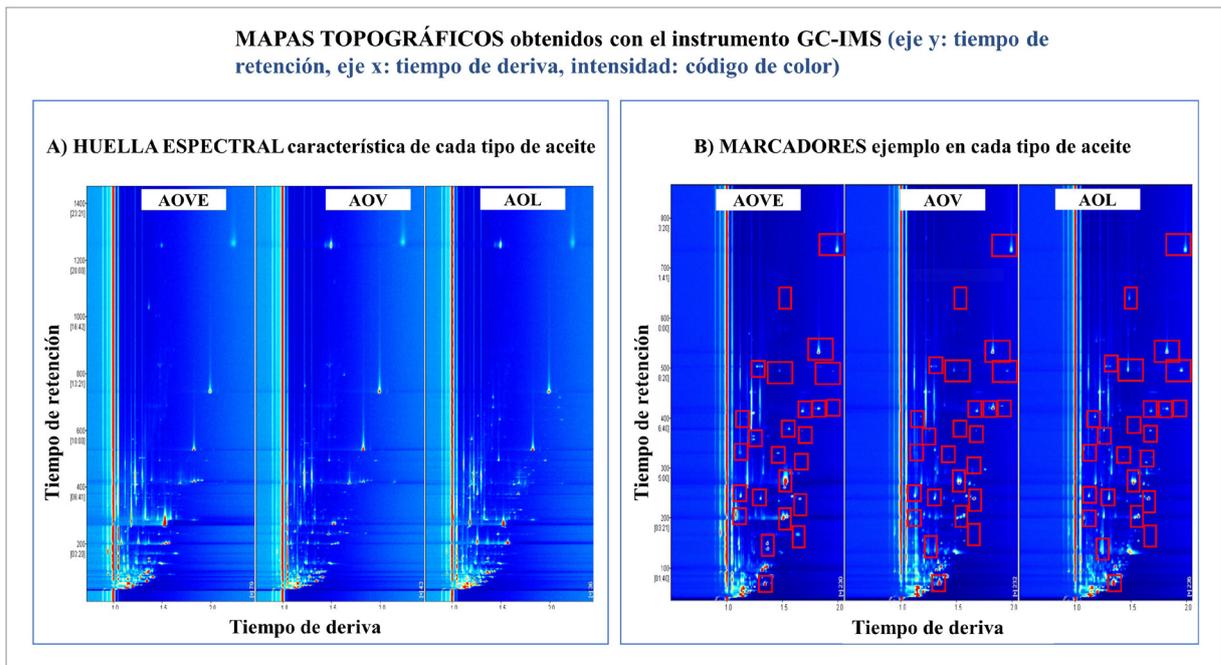


Figura 2. Registro tridimensional de señales obtenidos al analizar el aceite de oliva con el GC-IMS.

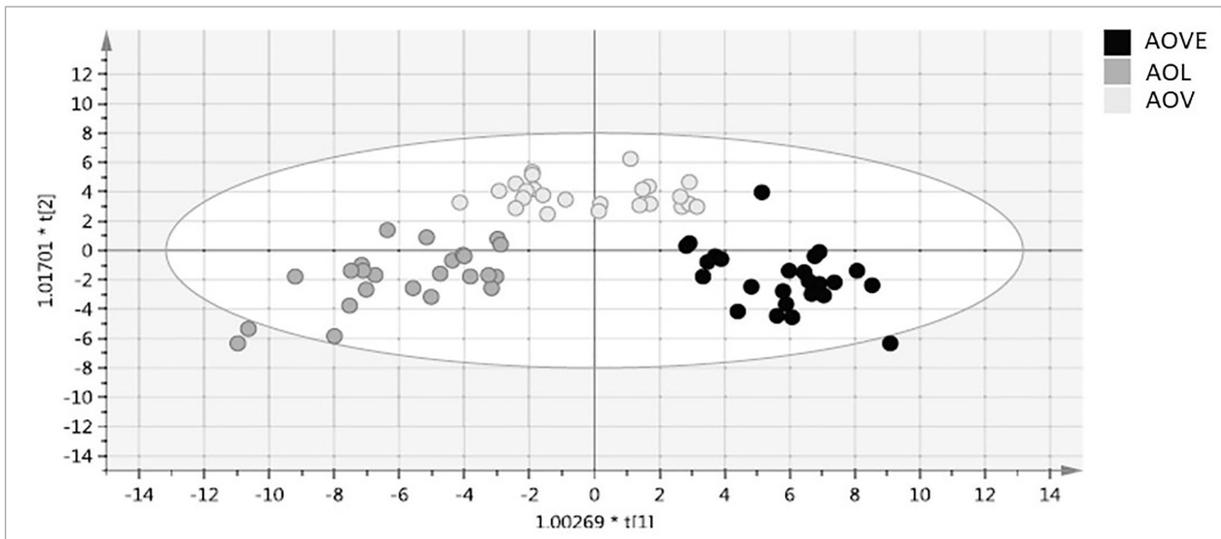


Figura 3. Modelo estadístico creado para clasificar aceites de oliva.

(Figura 2 B). Tanto por el enfoque de huella espectral como por el de marcadores se han conseguido porcentajes de clasificación entre las tres categorías de hasta un 90% de éxito. Además, estos dos enfoques pueden ser complementarios, permitiendo que las muestras que hayan sido clasificadas como dudosas empleando la huella espectral puedan evaluarse a través de la detección de determinados compuestos asociados a defectos.

Las primeras investigaciones relacionadas con esta temática se iniciaron en el año 2010 y el desarrollo de estas ha dado lugar a publicaciones en revistas internacionales con elevado índice de impacto (Garrido-Delgado et al., 2011a; Garrido-Delgado et al., 2011b; Garrido-Delgado et al., 2012; Garrido-Delgado et al., 2015a; Garrido-Delgado et al.,

2015b; Garrido-Delgado et al., 2018; Contreras et al., 2019a; Contreras et al., 2019b; Gerhardt et al., 2019). Los resultados obtenidos han despertado el interés de diferentes empresas del sector oleícola con las que actualmente se está colaborando para llevar a cabo la transferencia a la industria. Actualmente, el grupo de investigación cuenta con proyectos subvencionados por la IAOE y colaboraciones con la empresa SOVENA con vistas a trasladar esta metodología a los laboratorios de rutina. Las posibilidades de la IMS para el análisis de rutina radican principalmente en la capacidad de detectar compuestos a muy baja concentración y de analizar un gran número de muestras (a día de hoy se han analizado ya más de 2000 muestras de aceite) de forma simple, rápida, a bajo coste y sin tratamiento previo de la muestra.

La metodología desarrollada usando GC-IMS (Figura 1) permite analizar dos muestras por hora y crear un modelo quimiométrico cuando se hayan analizado al menos 100 muestras de aceite. Este modelo quimiométrico genera las llamadas "ecuaciones de calibración" (por ejemplo, usando análisis discriminante de proyecciones ortogonales a estructura latentes, OPLS-DS, Figura 3) que deben validarse con muestras de categoría conocida. Finalmente, las ecuaciones de calibración ya validadas permiten clasificar muestras de aceite de origen desconocido en sus respectivas categorías.

El reto de obtener una buena clasificación

Se puede afirmar que la metodología GC-IMS permite obtener porcentajes de predicción elevados y que por tanto puede usarse como un método simple rápido y de bajo coste, complementario al análisis sensorial. No obstante, a pesar de toda la investigación realizada hasta el momento, aún quedan aspectos por investigar que son claves para obtener una clasificación fiable y una metodología totalmente transferible a la industria. Uno de esos aspectos es la configuración del instrumento empleado en los análisis: técnica de introducción de muestra, columna cromatográfica, fuente de ionización del IMS, etc. Un avance en este campo se desarrolló en el trabajo de Contreras et al., (2019a) donde se evaluaron dos equipos con diferentes columnas cromatográficas (30 m y 60 m) y tubos de deriva (5 cm y 10 cm), así como análisis en modo isotérmico o con rampa de temperatura.

Por otro lado, otro punto crítico en la validación del método es el número de muestras usadas para calibrar los equipos. Las investigaciones realizadas han demostrado que para la obtención de buenos resultados no sólo es necesario analizar un número considerable de muestras, si no también disponer

de muestras de aceite de oliva de las tres categorías catadas por al menos dos paneles de cata. Debe enfatizarse la importancia de construir un banco de muestras de aceite catadas por más de un panel, de varias campañas y de diferentes variedades de aceite, ya que estas muestras son los estándares de referencia que se usan para construir las ecuaciones de calibrado con las que se pretende predecir la categoría de muestras desconocidas. Esto se ha puesto de manifiesto en el trabajo desarrollado por Contreras et al., (2019b), en el que sólo se obtuvo un 70% de correcta clasificación tras el análisis de 500 muestras de distintos orígenes de las que una parte fueron catadas por el panel 1, otras por el panel 2 y otras por un tercer panel (pero ninguna se cató simultáneamente por los tres paneles). Por ello la clasificación obtenida en este trabajo "heredó" los posibles errores del panel de cata y/o la estabilidad de las muestras de aceite a lo largo del tiempo. Sin embargo, en otros trabajos en los que se contaba con sólo unas 100 muestras, pero todas catadas por el mismo panel (Garrido-Delgado et al., 2015; Contreras et al., 2019a; Gerhardt et al., 2019), el porcentaje de éxito de clasificación en las tres categorías fue de hasta un 94%.

Por último, otro aspecto importante a optimizar es el tratamiento de datos. Los estudios realizados por el grupo de investigación AGR-287 (Contreras et al., 2019b) han demostrado que el tratamiento de datos que hace uso de toda la huella espectral de la muestra de aceite proporciona mejores porcentajes de clasificación. No obstante, la estrategia basada en marcadores es más sencilla de llevar a cabo y de implementar en la industria. Además del enfoque, también es importante unificar el pretratamiento de los datos y algoritmos empleados en la clasificación con el fin de reducir la variabilidad entre el "cómo se haga" y el "quién lo haga".



Técnicas para analizar los compuestos que el catador aprecia en boca

Hasta ahora se han mencionado las técnicas que permiten detectar los compuestos volátiles que el catador detecta en nariz. No obstante, otras investigaciones realizadas por el grupo (Arroyo-Manzanares et al. 2019 y Piñero et al. 2020), han puesto de manifiesto que la correcta clasificación de los aceites requiere también tener en consideración los compuestos químicos que el catador aprecia en boca. Las metodologías propuestas se basan en la extracción de compuestos polares presentes en el aceite, como por ejemplo los polifenoles, y su determinación usando la electroforesis capilar (CE) acoplada a un detector de

ultravioleta (UV) o un analizador de movilidad diferencial acoplado a un espectrómetro de masas.

En el último trabajo publicado (Jurado-Campos et al. 2020) se ha propuesto el uso integrado de dos equipos (CE-UV y GC-IMS) para detectar tanto los compuestos no volátiles que se detectan en boca como los compuestos volátiles que se detectan en nariz. Toda la información obtenida con ambas técnicas se trata con herramientas estadísticas adecuadas para poder clasificar una muestra de aceite en su categoría correcta. Se ha demostrado que esta fusión de datos es muy útil para clasificar las muestras dudosas (AOVE/AOV o AOV/AOL).•



Innolivar: compra pública innovadora para el sector oleícola

A pesar de todo el esfuerzo científico realizado hasta el momento y el apoyo económico recibido durante los 10 años de investigaciones para clasificar aceites empleando la tecnología IMS, la metodología aún no está validada al completo para hacer la transferencia a la industria. Por ello el grupo AGR-287 lidera la línea 7 del convenio de compra pública innovadora 'Innolivar' que desarrolla, mediante colaboración público-privada entre la UCO y las empresas del sector oleícola, productos o servicios que resuelvan problemas concretos de la industria. En la Línea 7 de este proyecto se está desarrollando un instrumento analítico basado en la tecnología de IMS que permita la asignación correcta a un AOVE usando una metodología fiable, rápida y a bajo coste, de manera que pueda ser transferible a los laboratorios de rutina. La empresa Ingeniería Analítica (Barcelona, España) está desarrollando un instrumento basado en el acoplamiento GC-IMS capaz de determinar los compuestos volátiles que el catador aprecia en nariz. La empresa Excellims (Boston, Estados Unidos) trabaja en el acoplamiento de una fuente de ionización por electrospray para introducir la muestra al IMS-MS y así poder determinar conjuntamente los compuestos apreciados en nariz y en boca. Además, ambas empresas tienen como objetivo el diseño de un software 'amigable', dirigido principalmente a personal no experto y a laboratorios de rutina, que permita el control del instrumento y el fácil manejo de toda la información generada en los análisis.

Agradecimientos

Proyecto Innolivar, - Compra Pública de Innovación en su modalidad de Compra Pública Precomercial, de acuerdo con lo establecido en el Convenio entre el antiguo Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (actual Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades) y la Universidad de Córdoba, cofinanciado en un 80% por fondos FEDER, dentro del Programa Operativo Pluriregional de España 2014-2020.

Para consultar los datos bibliográficos del artículo, visite: www.interempresas.net/A306158