

El largo camino entre la investigación y la transferencia de un nuevo método para clasificar aceite de oliva virgen ¿una alternativa al panel de cata?

Este artículo resume el largo camino recorrido desde que se introdujo Espectrometría de Movilidad Iónica en la UCO hace más de 10 años, hasta que se ha podido demostrar la efectividad de su aplicación para determinar la categoría de un aceite de oliva. La investigación realizada no pretende sustituir a los paneles de cata, ya que se ha demostrado que los métodos analíticos se deben calibrar con un buen grupo de muestras categorizadas por al menos dos paneles que coincidan en su valoración. Pero de momento, estos métodos aumentan en al menos cinco veces el número de muestras de aceite clasificadas por día y además, serán muy útiles en los laboratorios que no dispongan de un panel acreditado.

Texto y figuras: M^a José Cardador y Lourdes Arce.
Departamento de Química Analítica, Universidad de Córdoba. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3

El consumidor tiene diversas percepciones sobre la calidad del aceite y, habitualmente, como suele ocurrir con otros productos, su criterio se basa más en opiniones que en conocimiento. Así, lo más normal es que el consumidor desconozca las diferencias reales entre las distintas categorías de aceite de oliva más allá de lo que indique la etiqueta y del precio del producto. Sin embargo, para la industria olivarrera en la posibilidad de etiquetar el aceite con una categoría u otra hay mucho dinero en juego.

Actualmente, el método oficial para clasificar los aceites de oliva como aceite de oliva virgen extra (AOVE), virgen (AOV) o lampante (L) incluye un completo análisis fisicoquímico y una evaluación sensorial mediante un panel de cata.

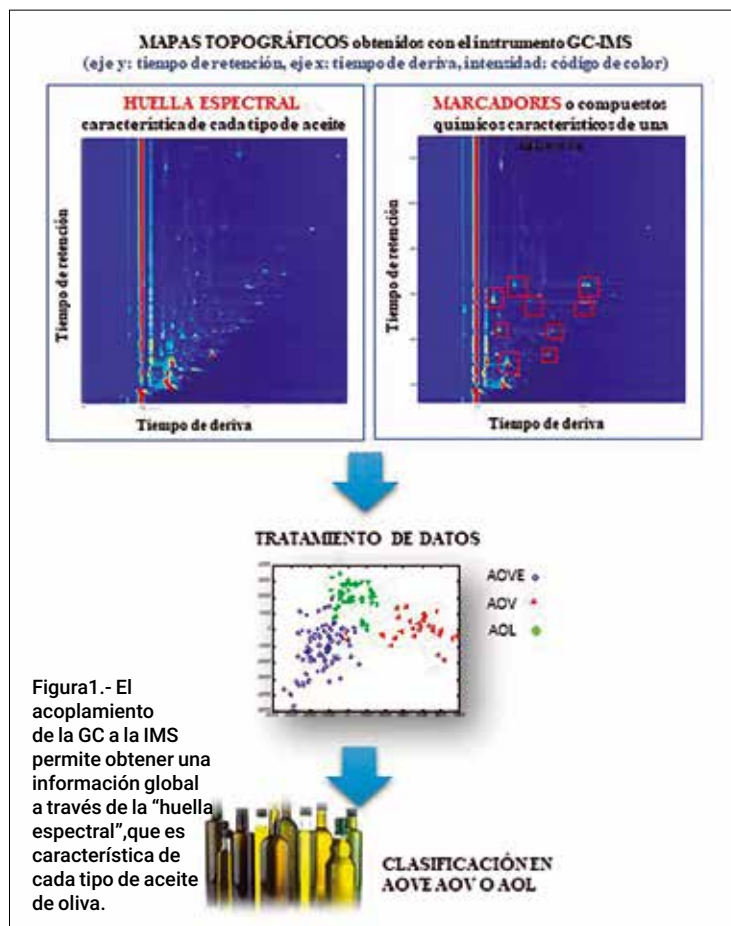
Estos paneles están formados por un grupo de catadores (entre 8 y 12) previamente seleccionados y entrenados haciendo que el análisis sensorial se convierta en un proceso lento y caro. Además, la cata, al depender de percepciones humanas, en ocasiones, tiene dificultades para delimitar la frontera entre el AOVE y el AOV, porque se requiere mucha habilidad y conocimiento. Un posible error durante la cata puede conllevar a una clasificación incorrecta de un aceite, lo que supone importantes pérdidas económicas para productores y comercializadores. Para contrastar resultados y detectar posibles errores en la clasificación, se pueden someter las muestras a una segunda cata por otro panel de expertos, pero esto encarece más el proceso.

Para agilizar la labor del panel de cata han surgido métodos de análisis complementarios basados en la cromatografía de gases (GC) con distintos detectores (principalmente espectrometría de masas, MS y espectrometría de movilidad iónica, IMS) capaces de detectar los compuestos volátiles del aceite de oliva, que son los responsables del aroma que el catador aprecia en nariz.

Nuestro grupo de investigación perteneciente al Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba (UCO) ha estudiado el potencial de la GC-IMS para clasificar los aceites en sus tres categorías de una forma simple y fiable.

Este artículo resume el largo camino recorrido desde que se introdujo esta técnica en la UCO hace más de 10 años, hasta que se ha podido demostrar la efectividad de su aplicación para determinar la categoría de un aceite de oliva. La investigación realizada no pretende sustituir a los paneles de cata, ya que se ha demostrado que los métodos analíticos se deben calibrar con un buen grupo de muestras categorizadas por al menos dos paneles que coincidan en su valoración. Pero de momento, estos métodos aumentan en al menos cinco veces el número de muestras de aceite clasificadas por día y además, serán muy útiles en los laboratorios que no dispongan de un panel acreditado.

Para que un método se pueda establecer como método oficial hace falta realizar complejos proyectos de investigación y desarrollo, a veces por desgracia, no



muy bien valorados y/o apoyados con los recursos económicos con los que puede contar la comunidad científica; lo que hace que muchos de los investigadores implicados, se desanimen y abandonen esta labor tan importante para la sociedad. Finalmente, y antes de que los métodos se acepten, los investigadores tienen que transferir esta tecnología al sector productivo, tarea poco popular dentro de su rutina diaria y para la que no es nada fácil contar con recursos. Este largo recorrido se resume a continuación.

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN PARA ESTUDIAR LAS POSIBILIDADES DE LA GC-IMS PARA CLASIFICAR ACEITE DE OLIVA

A pesar de que la técnica IMS no se diseñó para usarla en el sector alimentario, Rocío Garrido y Lourdes Arce fueron pioneras en probarla para demostrar sus posibilidades en la determinación de la calidad del aceite de oliva, publicando los primeros trabajos en 2011 [1,2].

PARA AGILIZAR LA LABOR DEL PANEL DE CATA HAN SURGIDO MÉTODOS DE ANÁLISIS COMPLEMENTARIOS BASADOS EN LA CROMATOGRAFÍA DE GASES (GC) CON DISTINTOS DETECTORES (MS, IMS)

La IMS tiene la capacidad de detectar compuestos a muy baja concentración y de analizar un gran número de muestras de forma simple, rápida, a bajo coste y sin tratamiento previo de la muestra (es la técnica que se usa en los aeropuertos para detectar explosivos y drogas). Su sensibilidad sumada a esas ventajas hizo pensar que podía ser una técnica prometedora para el análisis de muestras de aceite y para su posible implantación en análisis de rutina.

El acoplamiento de la GC a la IMS ha mejorado la capacidad de separación de los compuestos volátiles del aceite y permite obtener una información global a través de la "huella espectral", que es característica de cada tipo de aceite de oliva (Figura 1). Por otra parte, también permite obtener información específica (marcadores) mediante la identificación de algunos compuestos volátiles responsables de atributos positivos y/o negativos.

Gracias a la idea sugerida por el ingeniero agrónomo Juan Manuel Luque, director general de Luque Ecológico S.L., de aplicar esta tecnología para clasificar EVOO, VOO y L se pudo enfocar un trabajo de investigación que se publicó en 2012^[3], donde por primera vez se demostró el potencial de esta técnica para clasificar aceites de oliva vírgenes. En este trabajo se analizaron un total de 98 muestras y se obtuvo un 87% de éxito en la validación del método de clasificación de aceites según su calidad; lo que fueron unos resultados muy prometedores.

PROYECTOS DE DESARROLLO PARA PODER TRANSFERIR EL MÉTODO OPTIMIZADO EN LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA A LAS EMPRESAS

La gran labor realizada por el antiguo Gerente del ceiA3, Ricardo Domínguez, hizo posible presentar los resultados de investigación obtenidos en la UCO a las empresas, permitiendo que esta línea de investigación tuviera continuidad. Así, entre 2012 y 2017, la Interprofesional del Aceite de Oliva Español (IAOE) y empresas privadas del sector oleícola como SOVENA GROUP, subvencionaron al grupo de investigación para terminar de optimizar un método usando la técnica GC-IMS. Además, en todos estos años también se ha contado con el apoyo del Gobierno de España y la Junta de Andalucía suministrando muestras y los resultados de los análisis sensoriales realizados por laboratorios oficiales.

Durante la etapa de desarrollo e investigación, la metodología inicialmente propuesta se mejoró para satisfacer la demanda del sector antes de que el método analítico pudiera transferirse a los laboratorios de rutina. Para este fin, se han analizado más de 2000 muestras de aceite y se ha comprobado la importancia de poder calibrar los equipos con un número representativo (>200 muestras) de las tres categorías obtenidas en varias campañas y catadas por al menos dos paneles de cata coincidentes en su resultado. Los % de acierto en la clasificación usando unas 200 muestras de aceite para calibrar los equipos se confirman en base a los



Figura 2. Diferentes tipos de proyectos para poner a punto un nuevo método de análisis.



Figura 3. Proyecto Innolivar (2017-2021). Línea 7 con un presupuesto de 841.566 €.

estudios en los que sólo se analizaron unas 100 muestras de aceite de oliva, pero catadas todas por el mismo panel^[4-6]. En estos casos se consiguieron porcentajes de clasificación aproximadamente del 90%. Estos % podrían parecer contradictorios con un estudio posterior^[7], en el que se cataron unas 500 muestras de dos campañas distintas por tres paneles distintos (ninguna muestra se cató simultáneamente por más de un panel) obteniendo un porcentaje de clasificación del 70%. Este menor % de clasificación se atribuye a posibles errores en la cata que no pudieron ser detectados por un segundo panel y/o por la estabilidad de las muestras a lo largo del tiempo; es decir, desde la cata hasta el posterior análisis.

Por último, un punto crítico del proceso, que ha sido también ampliamente estudiado por nuestro grupo de investigación, es el tratamiento de los datos. Hay que tener en cuenta que de cada análisis de aceite se obtienen millones de datos que deben ser tratados adecuadamente para extraer la información de utilidad. Este tratamiento es laborioso y requiere de personal experto, por lo que debe evaluarse en detalle la manera más adecuada de llevarlo a cabo. En este sentido, los estudios realizados^[7] 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.

Todos estos estudios han servido para poner a punto una metodología que hoy ya es transferible a la industria, aunque aún no está exenta de mejoras. De hecho, el método analítico desarrollado^[4] empleando GC-IMS está siendo utilizado actualmente por una empresa del sector para clasificar aceites. Esta empresa también participa en el Grupo Operativo SENSOLIVE-OIL, en el que el grupo AGR-287 asesora a los laboratorios que trabajan con GC-IMS. Además, esta metodología también ha sido puesta a prueba por otros grupos de investigación nacionales y de Alemania e Italia^[6, 9, 10] obteniendo resultados similares, lo que demuestra que es transferible entre laboratorios.

PROYECTO INNOLIVAR: COMPRA PÚBLICA INNOVADORA PARA EL SECTOR OLÉICOLA

El objetivo final de todos estos trabajos ha sido desarrollar una metodología que permita obtener una clasificación fiable de manera rápida, a bajo coste y con un software de tratamiento de datos amigable, de manera que pueda ser fácilmente transferible a los laboratorios de rutina. Sin embargo, a pesar de toda la investigación realizada hasta el momento, aún quedan aspectos claves por investigar; como la configuración más idónea del instrumento para clasificar aceites (instrumento capaz de determinar compuestos volátiles que el catador aprecia en nariz, o compuestos no volátiles que aprecia en boca) o mejoras en el procesamiento y tratamiento de datos.

La modificación de una tecnología o la construcción de un nuevo prototipo específico para aceite es un objetivo muy ambicioso que no se ha podido realizar con las subvenciones recibidas en los proyectos de investigación y desarrollo anteriormente mencionados (Fi-

LA IMS TIENE LA CAPACIDAD DE DETECTAR COMPUESTOS A MUY BAJA CONCENTRACIÓN Y DE ANALIZAR UN GRAN NÚMERO DE MUESTRAS DE FORMA SIMPLE, RÁPIDA, A BAJO COSTE Y SIN TRATAMIENTO PREVIO DE LA MUESTRA

gura 2). Esta falta de tecnología propia, para clasificar aceites según calidad, se está solventando gracias al Proyecto de Compra Pública Innovadora INNOLIVAR liderado por el Prof. Jesús Gil. Este proyecto está financiado por fondos FEDER y cofinanciado por la IAOE. En concreto, la Línea 7 de este proyecto liderada por la Prof. Arce (Aplicación de instrumentos analíticos basados en la tecnología de la espectrometría de movilidad iónica) cuenta con un presupuesto de 841.566 € para financiar a dos empresas que son las encargadas de desarrollar dos prototipos que, basados en la tecnología IMS, permitan clasificar las muestras de aceite en sus tres categorías de manera fiable, rápida y con un manejo sencillo para el usuario de un laboratorio de rutina.

Este proyecto tiene una duración de 4 años (2017-2021) y consta de 3 fases (Figura 3). En la fase I de pre-prototipado tuvo lugar la licitación de las empresas aspirantes y la selección de las dos con propuestas más prometedoras, las empresas Excellims (Boston, Estados Unidos) e Ingeniería Analítica (Barcelona, España). En la fase II de prototipado está teniendo lugar el diseño, desarrollo y construcción de los prototipos, así como la verificación de su funcionalidad. La empresa Excellims trabaja en el acoplamiento de una fuente de ionización por electrospray para introducir la muestra de aceite al IMS-MS y así poder determinar simultáneamente los compuestos volátiles y no volátiles apreciados en nariz y en boca por el catador; mientras que la empresa Ingeniería Analítica está desarrollando un instrumento basado en el acoplamiento GC-IMS/MS capaz de determinar los compuestos volátiles del aceite que el catador aprecia en nariz usando dos detectores complementarios. Además, ambas empresas tienen como objetivo el diseño de un software sencillo, 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. En la última fase del Proyecto Innolivar, los equipos pasarán a ser propiedad de la UCO y se instalarán en los laboratorios del grupo AGR-287 y los investigadores verificaremos el funcionamiento de ambos prototipos.

Esperamos con todo ello, contribuir a mejorar las herramientas con las que cuenta el sector oleícola español para reforzar la calidad y el prestigio de nuestros aceites de oliva. ●

Referencias

- [1] R. Garrido-Delgado, F. Mercader-Trejo, L. Arce, M. Valcarcel. Enhancing sensitivity and selectivity in the determination of aldehydes in olive oil by use of a Tenax TA trap coupled to a UV-ion mobility spectrometer. *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 7543-7549.
- [2] R. Garrido-Delgado, F. Mercader-Trejo, S. Sielemann, W. de Bruyn, L. Arce, M. Valcarcel. Direct classification of olive oils by using two types of ion mobility spectrometers. *Anal. Chim. Acta* 696 (2011) 108-115.
- [3] R. Garrido-Delgado, L. Arce, M. Valcarcel. Multi-capillary column-ion mobility spectrometry: a potential screening system to differentiate virgin olive oils. *Anal. Bioanal. Chem.* 402 (2012) 489-498.
- [4] M.D.M. Contreras, N. Arroyo-Manzanares, C. Arce, L. Arce, HS-GC-IMS and chemometric data treatment for food authenticity assessment: olive oil mapping and classification through two different devices as an example. *Food Contr.* 98 (2019) 82-93.
- [5] Garrido-Delgado, R., Dobao-Prieto, M.M., Arce, L., Valcarcel, M. (2015a). Determination of volatile compounds by GC-IMS to assign the quality of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 187: 572-579.
- [6] N. Gerhardt, S. Schwolow, S. Rohn, P.R. Perez-Cacho, H. Galan-Soldevilla, L. Arce, P. Weller. Quality assessment of olive oils based on temperature-ramped HS-GC-IMS and sensory evaluation: comparison of different processing approaches by LDA, kNN, and SVM. *Food Chem.* 278 (2019) 720-728.
- [7] M.D.M. Contreras, N. Jurado-Campos, L. Arce, N. Arroyo-Manzanares, A robustness study of calibration models for olive oil classification: targeted and non-targeted fingerprint approaches based on GC-IMS. *Food Chem.* 288 (2019) 315-324.
- [8] E. Valli, F. Panni, E. Casadei, S. Barbieri, C. Cevoli, A. Bendini, D.L. Garcia-Gonzalez, T. Gallina Toschi, An HS-GC-IMS method for the quality classification of virgin olive oils as screening support for the panel test. *Foods* 9 (2020) 657.
- [9] María García-Nicolás, Natalia Arroyo-Manzanares, Lourdes Arce, Manuel Hernández-Córdoba and Pilar Viñas. Headspace Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry and Ion Mobility Spectrometry: Classification of Virgin Olive Oils as a Study Case. *Foods* 9 (2020) 1288.