

Uso de resonancia magnética en la investigación del potencial de aceite en frutas, su composición y pérdidas

Use of Magnetic Resonance in Research of Oil Potential in Fruits, its Composition and Losses



DANIEL CONSALTER

Fine Instrument Technology, Chief
Technology Officer. Brasil/Brazil.

AUTORES: Flores, D.W.M.¹, Carvalho, A.S.¹, Azevedo, S.P.¹; Colnago, L.A.², y Consalter, D.M.^{1*}

CITACIÓN: Consalter, D. *et al.* (2019). Uso de resonancia magnética en la investigación del potencial de aceite en frutas, su composición y pérdidas. *Palmas*, 40 (Especial Tomo II). 20-28.

PALABRAS CLAVE: TD-NMR, contenido potencial de aceite, aceite de palma, aceite de palmiste, control de procesos.

KEYWORDS: TD-NMR, potential oil content, palm oil, palm kernel oil, process control.

1. Fine Instrument Technology, Rua Laura Villani Piovesan, 130, Jardim Ipanema, São Carlos SP, 13563-652.
2. Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, São Carlos-SP, 13561-206, Brasil.

Resumen

La mayoría de métodos analíticos utilizados en la industria de la palma de aceite son destructivos, laboriosos, consumen mucho tiempo y están basados en procedimientos de química húmeda que, normalmente, producen grandes cantidades de residuos químicos. Por ejemplo, el contenido de aceite se mide mediante la extracción por solvente y la composición de ácidos grasos involucra la reacción de transesterificación, purificación e inyección en un cromatógrafo de gases que toma casi una hora para cada análisis. El objetivo de este artículo es demostrar el potencial de un espectrómetro nuclear de resonancia magnética de dominio temporal (TD-NMR, por sus siglas en inglés) de escritorio, como una alternativa efectiva a los métodos tradicionales de química húmeda para medir el contenido de aceite y la composición de grasa en el fruto de la palma. Puede ser utilizado en varias etapas en la producción de aceite de palma y tiene ventajas sobre el método de extracción Soxhlet con experiencia del usuario mínima, libre de químicos, velocidad (30 a 120 s por medición), análisis de toda la muestra en vez de superficies y pocos puntos para la curva de calibración (siete

para el contenido de aceite). El uso de TD-NMR como herramienta para las mediciones de aceite ha demostrado su eficiencia para determinarlo en muestras de frutos de la palma, la almendra, el fruto seco, la fibra seca, los racimos secos, el lodo, el efluente, el tridecanter y la torta de palmiste. Adicionalmente, es posible cuantificar los principales ácidos grasos que tienen una combinación lineal en el aceite de palma: palmítico, oleico, linoleico, esteárico y mirístico. Así mismo, clasifica el aceite de palma en contenido oleico alto 50-100 % o medio 40-49,9 %, en un análisis rápido y no destructivo con un puntaje de éxito del 83,3 %. Según los resultados presentados, se podría utilizar el TD-NMR como una herramienta poderosa para un rápido control de procesos, evitar las pérdidas y, en consecuencia, aumentar el rendimiento y la evaluación regular del aceite de palma con alto contenido oleico.

Abstract

Most analytical methods used in palm oil industries are destructive, laborious, time consuming and based on wet chemistry procedures that normally produces lot of chemical waste. For example, the oil content is measured by solvent extraction and the fatty acid composition involve transesterification reaction, purification and injection in gas chromatographer that the almost one hour for each analysis. The aim of this paper is to demonstrate the potential of low field, time domain bench top Nuclear magnetic resonance spectrometer (TD-NMR) as an effective alternative to traditional wet chemical methods, to measure the oil content and fat composition in palm fruits and during several stages of the production processes. Therefore, it can be used in several stages of palm oil production and has advantages over Soxhlet extraction method with minimal user experience, free of chemicals, velocity (30 to 120s per measurement), whole sample analysis instead surfaces and few points for calibration curve (7 points for oil content). The use of TD-NMR as a tool for oil measurements has proved its efficiency for measure oil in palm fruits, palm kernel, dry palm fruit, dry palm fiber, dry palm bunches, palm sludge, palm effluent, palm tridecanter and palm kernel cake samples. In addition, it is possible to quantify the major fatty acids that has linear combination in palm oil: palmitic, oleic, linoleic, stearic and miristic. Also, classify palm oil in high 50-100% or medium 40-49.9% oleic in a fast and nondestructive analysis with 83.3% of success score. According to the results presented in this paper, TD-NMR could be used as a powerful tool to fast process control avoiding losses and consequently improving yield and screening regular oil from high oleic palm oil.

Introducción

La producción de aceite de palma involucra varios pasos, desde la cosecha de racimos hasta la extracción de aceite de alto rendimiento, así como la mejora de la calidad y el potencial de aceite a partir del mejoramiento genético, la polinización y el punto óptimo de cosecha. El proceso de extracción involucra la recepción de los racimos de fruta, la esterilización y trilla para recolectar los frutos de palma, macerarlos para separar la pulpa de la almendra y prensar la pulpa para obtener el aceite crudo de palma. El aceite se purifica aún más, lo que incluye procedimientos de

clarificación y secado. Un proceso adicional extrae aceite de la almendra de palma. El análisis que más se utiliza en la agroindustria de la palma para medir el potencial de aceite en los frutos y para controlar y monitorear las pérdidas, está basado en la extracción por solvente, que emplea productos químicos peligrosos y requiere de al menos ocho horas para los residuos y días para extraer completamente el aceite residual en las muestras. Adicionalmente, el resultado de esta extracción es usado para controlar el proceso de trituración de frutos, lo que toma mucho tiempo y resulta en enormes brechas y pérdidas consecutivas de aceite. La agroindustria del aceite de palma ha

buscado metodologías para aumentar la rentabilidad, incrementando el contenido de aceite de los frutos, reduciendo las pérdidas en el proceso de extracción y pagando al productor por el aceite presente en los racimos de palma. Después de la extracción del aceite, se utiliza la cromatografía de gases (CG), un método lento, complejo y costoso, para caracterizar el perfil de ácidos grasos del aceite de palma y dirigir el producto hacia aplicaciones alimentarias, biocombustible u otras, dependiendo de la composición.

La resonancia magnética nuclear (RMN) ha sido desarrollada como una importante metodología analítica desde su descubrimiento en los años 50. La técnica explora las propiedades magnéticas de ciertos núcleos químicos y ha sido utilizada en varias aplicaciones en el procesamiento de alimentos, incluyendo la determinación de la cantidad de aceite de oliva, el contenido de aceite al interior de semillas oleaginosas intactas y el análisis de calidad para la madurez de frutos (Pereira *et al.*, 2013; Ribeiro *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2016; Flores *et al.*, 2016).

En este trabajo demostramos que la RMN puede ser utilizada en varias etapas de la producción de aceite de palma, con ventajas sobre la extracción Soxhlet y la cromatografía de gases, tales como experiencia de usuario mínima, ausencia de químicos y velocidad (30 a 120 s por medición). El hecho de que la muestra no requiera extracción con solventes orgánicos o una etapa en seco, es una gran ventaja porque el análisis se vuelve rápido, seguro, independiente del usuario y preciso, permitiendo su aplicación para evaluar el alto contenido oleico del aceite regular y medir el volumen de aceite en un gran número de frutos. Así se ayuda al mejoramiento genético y a controlar todo el proceso a través de la medición rápida de aceite en la fibra, lodo, agua del tridecanter, agua efluente e incluso del racimo. Adicionalmente, sirve para determinar el contenido de aceite de palmiste residual en la torta de palmiste.

Materiales y métodos

Muestras

Utilizamos datos de cuatro agroindustrias diferentes de aceite de palma en Brasil y Colombia, que tienen equipos de TD-NMR en sus plantas. Estos

colaboradores recolectaron muestras en diferentes días, horas y ubicaciones de palmas de aceite. Las enumeraron, realizaron mediciones no invasivas en TD-NMR y, posteriormente, un análisis destructivo de referencia.

Resonancia magnética nuclear de dominio temporal

El espectrómetro TD-NMR utilizado fue el modelo SpecFIT, desarrollado por FIT (Fine Instrument Technology) con base en un imán permanente de 0,35 T (15 Mhz para ^1H) y una cabeza de sonda para muestras de 40 mm de diámetro y 40 mm de alto.

La señal de la RMN tiene un formato de decaimiento dentro de la frecuencia de operación (en este caso, 15 MHz). El equipo cuenta con los métodos programados en su *software* y proporciona el tiempo de intensidad y decaimiento de la señal, ambos parámetros útiles para extraer información de la muestra utilizando RMN. La intensidad sirve para medir el contenido de aceite y el decaimiento para el análisis de ácidos grasos.

El primer método desarrollado fue utilizado para tasar el contenido total de aceite en frutos enteros. Después, la cantidad de aceite para muestras de 30 g, cortadas y secadas (racimos de aceite de palma secos, pulpa, residuos de almendra y tridecanter) y, para completar, el análisis de ácidos grasos del aceite crudo.

Método de extracción Soxhlet

Las muestras sólidas secas fueron mezcladas y colocadas en el dedal de extracción y se realizó la extracción utilizando un solvente de hexano en un aparato Soxhlet. Este método es aplicable para separar los compuestos orgánicos no volátiles y semivolátiles de sólidos, como suelos, lodos relativamente secos y desechos sólidos. La extracción de Soxhlet utiliza material de vidrio relativamente barato, y una vez se carga no requiere manos para su manipulación. Proporciona una extracción eficiente, pero bastante larga (ocho horas al día, dependiendo del contenido de aceite en la muestra), y usa grandes volúmenes de solvente. Es considerado como un método riguroso, ya que hay muy pocas variables que puedan afectar adversamente su eficiencia.

Perfil de ácidos grasos del aceite de palma

Se analizó el perfil de ácidos grasos en 12 muestras de aceite de palma de diferentes regiones de Colombia, utilizando la cromatografía de gases junto con un detector de llama con volumen de inyección de 0,5 µl. Se usó un método para determinar el contenido de ácidos grasos en el aceite de palma y en otros productos relacionados, desarrollado y realizado por nuestros colaboradores en Colombia. Se cuantificaron los siguientes ácidos grasos: palmítico (C16:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2), esteárico (C18:0) y mirístico (C14:0). Estos fueron elegidos porque tenían una concentración mayor que o igual al 0,9 % en las muestras.

Se utilizó una regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS, por su sigla en inglés) y el TD-NMR para predecir el aceite en un fruto de palma intacto.

Con el fin de obtener la mayor variabilidad posible de las muestras para la construcción del método, se analizaron un total de 31 de frutos de palma, incluyendo especies híbridas y *E. guineensis*, en diferentes etapas de maduración con la presencia de frutos con y sin semilla. Las muestras fueron medidas en el equipo TD-NMR y, posteriormente, secadas y molidas para la extracción de aceite mediante Soxhlet.

El objetivo de PLS es correlacionar n variables independientes (X) con una variable dependiente (Y). De esta forma, es posible aplicarla a los datos RMN, donde se obtienen 1.500 variables X durante los análisis en el equipo Specfit, y se correlacionan con estudios fisicoquímicos, por ejemplo, de contenido de aceite

mediante extracción directa Soxhlet. En consecuencia, los datos RMN contienen la matriz independiente de datos X y los de laboratorio obtenidos de Soxhlet en los dependientes Y (Bizzani *et al.*, 2017). Se realiza un PLS con datos masivos normalizados, enfocados en la media y se seleccionan las variables más importantes por medio del intervalo PLS (iPLS). Los resultados se expresan como la diferencia entre el valor predicho por medio de TD-NMR y el medido en el Soxhlet, así como en el coeficiente de determinación (R^2).

Resultados y discusión

Se reconoce TD-NMR como una técnica no invasiva y no destructiva para medir el aceite y la humedad, en menos de un minuto, en granos con humedad inferior al 12 % (International Organization for Standardization, 1998). El TD-NMR SpecFIT utiliza estas metodologías con unas mejoras para evaluar muestras de diferentes granos y con más de 12 % de humedad, tales como las del proceso del aceite de palma. Algunas aún necesitan una reducción estandarizada de la humedad de la muestra inicial mediante un método de secado rápido por microondas, anterior al proceso. Dicho método depende de cada muestra y del proceso de la planta, adaptado *in situ*.

La Figura 1 a, muestra la curva de calibración de aceite de palma en TD-NMR, desarrollado utilizando la señal Specfit, donde la intensidad es lineal y proporcional a la masa del aceite de palma, con $R^2 = 0,999$. El aumento de masa de hidrógenos en el aceite de palma a la misma temperatura, corresponde a incrementos en la intensidad del eco de la señal del

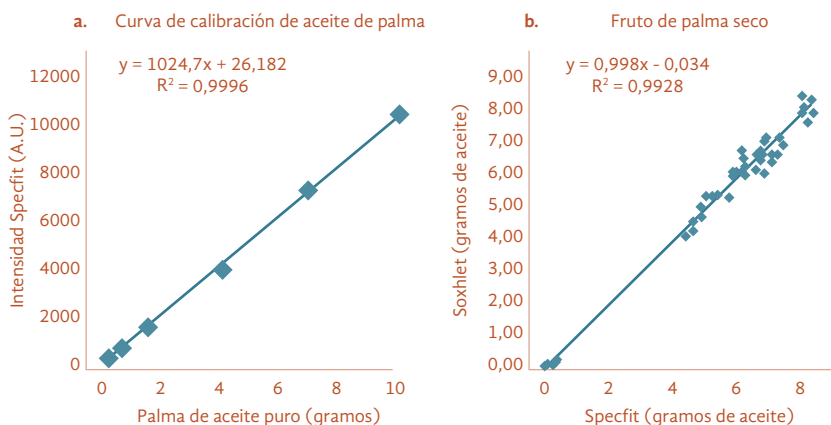
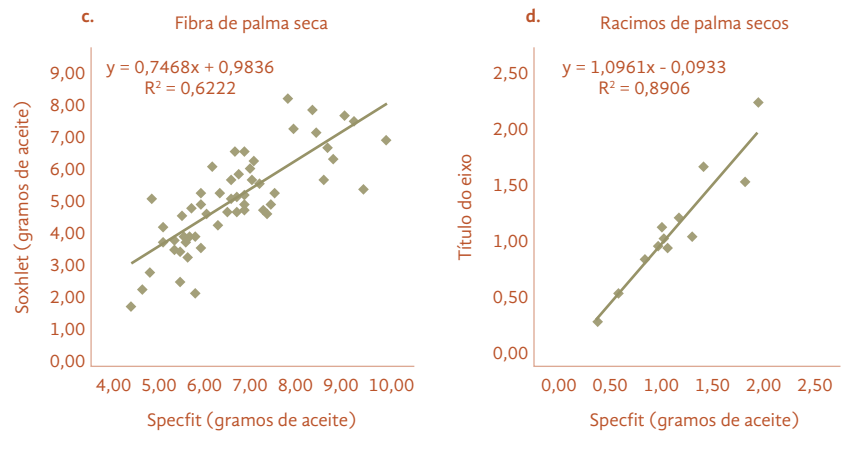


Figura 1. Correlaciones entre el método de referencia y TD-NMR para diferentes muestras (fruto de palma N = 60, fibra N = 57, racimos N = 12)

Continuación Figura 1.
Correlaciones entre el método de referencia y TD-NMR para diferentes muestras (fruto de palma N = 60, fibra N = 57, racimos N =12)



TD-NMR. Se utilizó esta relación para predecir los gramos de aceite y compararlos con los del método de extracción Soxhlet en otros subproductos del proceso del aceite de palma, como el fruto seco, la fibra seca y los racimos secos. La Figura 1 b, c y d presentan los valores predichos de gramos de aceite TD-NMR Specfit y los obtenidos con el método de extracción Soxhlet de referencia, y sus correlaciones.

Observando la Figura 1 b, algunas muestras del fruto seco de palma tienen un contenido de aceite muy bajo (~0,5 gramos de aceite). Esto ocurre porque los frutos están en la etapa temprana de su desarrollo. Las c y d evidencian que se encontraron grandes diferencias absolutas entre el método de referencia y Specfit TD-NMR. Algunas veces, en los procedimientos diarios de la agroindustria, la humedad puede fluctuar y afectar el proceso prelimi-

nar de secado por microondas realizado, llevando a algunos valores atípicos. Sin embargo, en la media absoluta, los valores de fibra seca de palma y racimo vacío obtenidos con TD-NMR están muy correlacionados con la extracción Soxhlet. La diferencia promedio para fibra es de aproximadamente 0,10 g de contenido de aceite en una muestra de 12 g, igual a 0,8 %, y de 0,12 g de contenido de aceite en una muestra de 12 g, igual a 1,0 %. Considerando la desviación estándar sumada de la técnica TD-NMR y Soxhlet, lo aceptable es 0,5 g; entonces, este resultado es completamente aceptable.

Los valores predichos por TD-NMR se aplicaron a muestras recolectadas en diferentes momentos de los procesos. La Tabla 1 resume los valores de la media absoluta y relativa de la diferencia entre el método Soxhlet y Specfit TD-NMR de las muestras enteras.

Tabla 1. Diferencia en la media absoluta entre el método de referencia de aceite y TD-NMR.

Muestra	Masa de la muestra (g)	Diferencia media absoluta (g)	Diferencia media (%)
Fruto seco	25	0,19	0,8
Fibra seca	12	0,10	0,8
Racimos secos	12	0,12	1,0
Lodo	30	0,16	0,5
Efluente	50	0,26	0,5
Tridecanter	50	0,35	0,7
Torta de palmiste	25	0,30	1,2
Almendras	25	0,42	1,7

Considerando la recepción de frutos y el control del proceso, es posible utilizar TD-NMR para medir más muestras por hora, aumentando la frecuencia de muestreo y reduciendo las brechas sin resultados durante el proceso de extracción, con una baja desviación del método de referencia (Soxhlet). También permite avanzar en el resultado del mejoramiento genético y de siembra de las especies de palma. Con un análisis rápido y fácil se puede evaluar una gran cantidad de frutos, obteniendo resultados más precisos y representativos.

Después de confirmar el uso de la técnica para medir el contenido de aceite en el mesocarpio, comenzamos a desarrollar un método para hacerlo con el contenido de aceite en el fruto de palma intacto y entero. La Figura 2 muestra una regresión PLS desarrollada para esto, incluyendo la almendra. Se filtró la señal del aceite de palmiste con el fin de medir únicamente el aceite de palma en principio.

Cada fruto de palma fue insertado en el equipo y analizado sin ningún tratamiento. La raíz cuadrada del error medio de la validación cruzada fue de 1,13 g y R^2 de 0,86. Estos resultados corroboran y confirman que se puede utilizar TD-NMR en la agroindustria de la palma como una poderosa herramienta para medir frutos intactos sin preparación, monitorear el proceso de extracción y estudiar los ácidos grasos para el mejoramiento genético, midiendo el ácido oleico presente en el aceite de palma. Sin embargo, se recomienda mejorar los imanes del TD-NMR para obtener una homogeneidad más alta y aumen-

tar la brecha para insertar más muestras a la vez en el equipo, y conseguir mejores resultados en la predicción del contenido de aceite de palma de los frutos de palma intactos.

El porcentaje de ácidos grasos en el aceite de palma para las muestras de ácido palmítico (C16:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2), esteárico (C18:0) y mirístico (C14:0), al ser correlacionadas con la señal del TD-NMR Specfit, ajustado utilizando una ecuación exponencial de segundo orden con una constante de primer decaimiento (T_2), mostró buenos valores de los coeficientes de determinación. Los R^2 obtenidos fueron de 0,84, 0,80, 0,77, 0,78 y 0,78 para ácido palmítico (C16:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2), esteárico (C18:0) y mirístico (C14:0), respectivamente. La desviación media absoluta encontrada para la calibración de todas las curvas desarrolladas fue de +/- 1,5 %. A continuación (Figura 3), se pueden ver las correlaciones obtenidas entre el ajuste exponencial de dos órdenes (T_2)1 y los valores en porcentaje de ácidos grasos medidos por la cromatografía de gases.

La Figura 3 evidencia que, en comparación con la cromatografía de gases, es posible utilizar TD-NMR T_2 como un método rápido, no invasivo y no destructivo para medir algunos ácidos grasos en el aceite crudo de palma, ya que las combinaciones lineales entre los principales ácidos grasos están correlacionadas con TD-NMR T_2 en muestras con temperatura controlada. El análisis de datos para la concentración

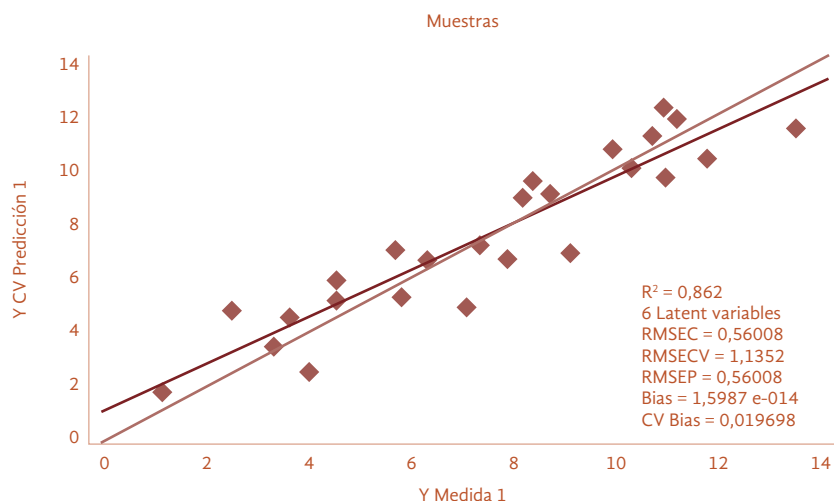


Figura 2. Los ácidos grasos medidos con la cromatografía de gases y la misma muestra medida con TD-NMR Specfit. (N = 12).

oleica alta y baja, con base en la regresión lineal desarrollada utilizando T2 (1) para predecir el porcentaje oleico, fue posible para clasificar las muestras de acei-

te de palma con oleico medio 41-49,9 % como clase 2 y de alto oleico 50-100 % como clase 3, con un puntaje de 83,3 % (Tabla 2).

Figura 3. Regresión de mínimos cuadrados parciales utilizando señal de TD-NMR y Soxhlet para el contenido de gramos de aceite en el fruto de palma.

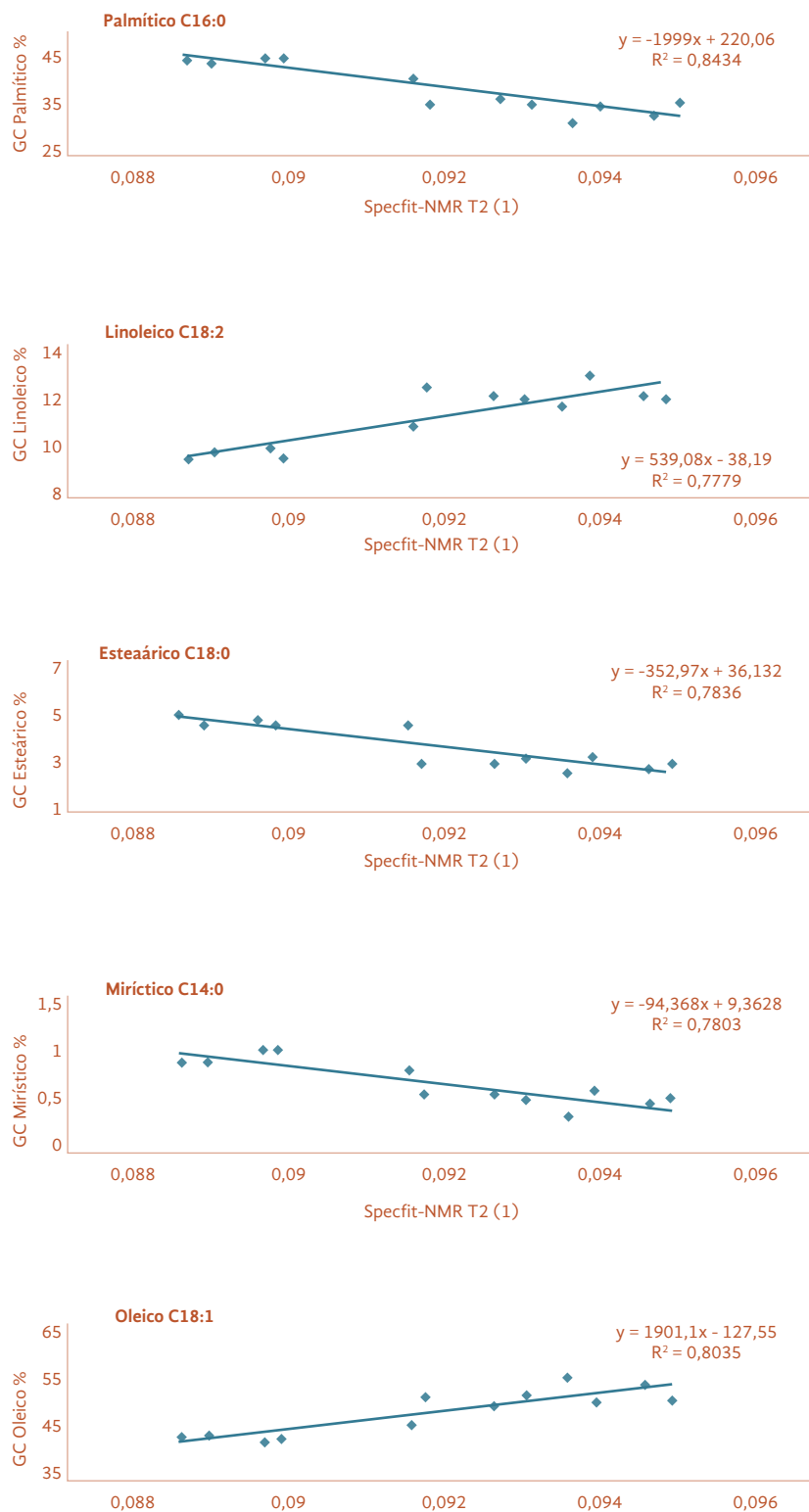


Tabla 2. Puntaje de clasificación TD-NMR Specfit en comparación con cromatografía de gases (CG) para diferenciar el contenido oleico medio 41-49,9 % de alto 50-100 % en aceite de palma crudo.

Clase de referencia CG	Clase específica	Comparación	Puntaje (%)
2	2	1	83,3
2	2	1	
3	3	1	
2	3	0	
3	2	0	
3	3	1	
3	3	1	
2	2	1	
2	2	1	
2	2	1	
2	2	1	
2	2	1	

Conclusión

Este artículo presenta la posibilidad de utilizar el sensor innovador TD-NMR Specfit para monitorear y controlar los procesos en la agroindustria del aceite de palma.

El uso de TD-NMR como herramienta para las mediciones de aceite, ha demostrado su eficiencia para medir las pérdidas de aceite de palma y de palmiste en diferentes etapas del proceso, tales como en muestras del fruto intacto, del fruto seco, de la fibra seca, de los racimos secos, de los cauchos, del efluente, del tridecanter, de torta de palmiste y de la molienda de la almendra. Adicionalmente, es posible cuantificar los principales ácidos grasos que tienen una combinación lineal en el aceite de palma:

palmítico, oleico, linoleico, esteárico y mirístico. También, clasificar el aceite de palma en contenido oleico alto 50-100 % o medio 40-49,9 % en un análisis rápido y no destructivo, con un puntaje de éxito del 83,3 %.

Según los resultados presentados, se podría utilizar TD-NMR como una herramienta poderosa para controlar los procesos, y se cree que pronto se desarrollarán o mejorarán aplicaciones adicionales.

Reconocimientos

Agradecemos a las subvenciones FAPESP 2016/00989-2 por el apoyo financiero, y a Palmeiras Colombia, Denpasa y Biopalma por las muestras y el análisis de referencia.

Referencias

- Pereira, F.M.V., Carvalho, A.deS., A. de S.Cabeça, L.F., and Colnago, L.A. (2013). Classification of intact fresh plums according to sweetness using time- domain nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Microchemical Journal* 108: 14–17. doi:10.1016/j.microc.2012.12.003.
- Ribeiro, R.O.R., Teserira, E., Da Silva, C., Guerra, M.L., Conte, C., and Oliveira, E.F. (2014). Detection of honey adulteration of high fructose corn syrup by Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF 1H NMR). *Journal of Food Engineering* 135: 39-43. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2014.03.009.
- Santos, P.M., Santos, M.S, Koch. F.V.C., Lobo, C.M.S., Carvahlo, A.S., and Colnago, L.A. (2016). Non-Invasive Detection of Adulterated Olive Oil in Full Bottles Using Time-Domain NMR Relaxometry. *Jornal of the Brazilian Chemical Society*.
- Flores, D.W.M., Colnago, L.A., Ferreira, M.D., and Spoto, M.H.F. (2016). Prediction of Orange juice sensorial attributes from intact fruits by TD-NMR, *Microchemical Journal* 128: 113-117. doi:10.1016/j.microc.2016.04.009.
- Bizzani, M., Flores, D.W.M., Colnago, L.A., and Ferreira, L.a: (2017). Non-invasive spectroscopic methods to estimate orange firmness, peel thickness, and total pectin content. *Microchemical Journal* 133: 168-174. doi:10.1016/j.microc.2017.03.039.
- International Organization for Standardization. (1998). Simultaneous determination of oil and water contents, ISO 10565.