

Ozonización del aceite de girasol. Seguimiento de la reacción por Resonancia Magnética Nuclear protónica

Maritza F. Díaz Gómez y José A. Gavín Sazatornil.*

Departamento de Sustancias Ozonizadas, Centro de Investigaciones del Ozono, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Calle 230 y Avenida 15, Siboney, Playa, Apartado Postal 6414, Ciudad de La Habana, Cuba. *Universidad de La Laguna, 38207, Tenerife, Islas Canarias, España.

Recibido: 30 de agosto de 2004. Aceptado: 30 de octubre de 2004.

Palabras clave: ozono, aceite de girasol, ozónidos, aldehídos, Resonancia Magnética Nuclear protónica.

Key words: ozone, sunflower oil, ozonides, aldehydes, proton Nuclear Magnetic Resonance.

RESUMEN. Estudios previos han demostrado que la técnica de Resonancia Magnética Nuclear protónica puede ser utilizada para el seguimiento de la reacción entre el ozono y los ácidos grasos insaturados. En este trabajo se realiza la ozonización del aceite de girasol a diferentes dosis de ozono aplicadas y se determinan el índice de peróxidos y la concentración de aldehídos. Los principales productos de reacción fueron identificados por Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN ^1H). Las intensidades de las señales fueron usadas para seguir el avance de la reacción entre el ozono y el aceite de girasol, lo que se llevó a cabo hasta obtener un índice de peróxidos de 1 202 mmol-equiv/kg. Las intensidades de las señales de los protones olefinicos disminuyen con un gradual incremento en la dosis de ozono aplicada, pero sin llegar a desaparecer completamente. Los ozónidos de Criegee obtenidos a dosis de ozono aplicada de 107,1 mg/g fueron aproximadamente 7,4 veces mayores que los obtenidos al comienzo de la reacción a dosis de ozono aplicada de 15,3 mg/g. Los protones aldehídicos fueron observados como una señal de débil intensidad en todos los espectros. Las señales pertenecientes a los protones olefinicos de los hidroperóxidos en $\delta = 5,55$ ppm aumentan con el incremento de la dosis de ozono aplicada. Se concluye que a mayor dosis de ozono aplicada, mayor es el avance de la reacción de ozonización, lo que se corresponde con una mayor formación de compuestos oxigenados.

ABSTRACT. Prior studies have proven that proton Nuclear Magnetic Resonance technique can be used to follow up ozone reaction with unsaturated fatty acids. In this paper, ozonation of sunflower oil at a different applied ozone dosage was carried out and peroxide index and aldehydes contents were determined. The reaction products were identified using Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H NMR). The principal signal intensities values were used for following the reaction course between ozone and sunflower oil. The reaction was following up to peroxide index values of 1 202 mmol-equiv/kg. The intensities of olefinic proton signals decreased with the gradual increase in ozone concentration but without disappearing completely. The Criegee ozonides obtained at 107.1 mg/g of ozone doses were approximately 7.4 folds higher than that at the beginning of reaction. The aldehyde protons were observed as a weak intensity signal in all the spectra. The signals belonging to olefinic protons from hydroperoxides appeared weak with the increase in ozone doses. Signals from other oxygenized groups were assigned. It was concluded that the higher applied ozone doses the higher the ozonation reaction advance corresponding with a higher oxygenized compounds formation.

INTRODUCCION

El aceite de girasol ozonizado presenta un amplio espectro antimicrobiano con actividad inhibidora y letal contra bacterias, virus, hongos¹⁻³ y algunos protozoos como la *Giardia lamblia*.⁴

En años recientes, la técnica espectroscópica de Resonancia Magnética Nuclear se ha convertido en un método muy utilizado para el estudio de los ácidos grasos insaturados ozonizados.⁵⁻⁷ El oleato de metilo y el linoleato de metilo han sido seleccionados como compuestos modelos para el estudio de los compuestos formados de la reacción de ozonización de cada uno de ellos en presencia de diferentes disolventes.⁸⁻¹¹

El aceite de girasol presenta como componentes mayoritarios los ácidos oleico y linoleico,^{12,13} los cuales están enlazados al esqueleto del glicerol. La reacción del ozono con estas moléculas insaturadas genera la formación de una mezcla de compuestos oxigenados tales como ozónidos, peróxidos y aldehídos, entre otros.¹⁴

Los productos obtenidos a partir de la reacción entre el ozono y los aceites vegetales dependen del tipo de medio donde la reacción tome lugar y de la dosis de ozono aplicada.^{7,15} El objetivo de este estudio consistió en determinar la utilidad de la espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear protónica para seguir el avance de la re-

acción entre el ozono y el aceite de girasol a través de la intensidad de las principales señales del espectro y además, identificar los compuestos oxigenados formados.

MATERIALES Y METODOS

Proceso general de ozonización

Una mezcla de 192 g de aceite de girasol y 20 mL de agua fue introducida en un reactor de burbujeo, donde la reacción con el ozono tendría lugar. Se utilizó un baño de agua a temperatura ambiente. La reacción fue seguida durante 3,5 h y siete muestras fueron tomadas a diferentes dosis de ozono aplicadas. Las muestras fueron almacenadas entre 2 y 8 °C hasta el momento de su análisis por RMN ^1H .

Generación de ozono

El ozono fue generado por el paso del oxígeno a un flujo de 72 L/h y una concentración de ozono inicial de 81,6 mg/L medida en el equipo Ozomat (Anseros, RFA). Se utilizó un ozonizador model 12-02 (Trailgaz, Francia).

Análisis por Resonancia Magnética Nuclear protónica

Los espectros de RMN ^1H se midieron en un espectrómetro Bruker 400 MHz AVANCE con transformada de Fourier. Se utilizó CD_3CL como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Se utilizó un ancho de barrido de 5 kHz, pulsos de 60° (5 μs), 32 kbytes de memoria interna, ocho acumulaciones y 2 s de espera de repetición del pulso. La señal de los protones metílicos fue utilizada como referencia

para la obtención de las intensidades de cada señal del espectro.

Determinaciones

Índice de peróxidos y contenido de aldehídos

El índice de peróxidos y el contenido de aldehídos se obtuvieron según la Farmacopea Británica.^{16,17}

RESULTADOS Y DISCUSION

En el espectro RMN ^1H a 400 MHz del aceite de girasol ozonizado a una dosis de ozono aplicada de 61,2 mg/g se pudieron observar dos señales tripletes correspondientes a los protones aldehídicos a $\delta = 9,74$ y 9,63 ppm; una señal singlete a $\delta = 7,26$ ppm del cloroformo deuterado; otra a $\delta = 5,55$ ppm de los protones olefinicos de los hidroperóxidos; una señal multiplete en $\delta = 5,35$ ppm correspondiente a los protones olefinicos de los ácidos grasos; otra en $\delta = 5,20$ ppm (señal multiplete de los protones metínicos del glicerol en posición *sn*-2) y otra a $\delta = 5,15$ ppm (señal multiplete de los protones metínicos de los ozónidos) (Fig. 1). Otras señales presentes fueron $\delta = 4,14$ y 4,29 ppm (doblete de doblete perteneciente a los protones metilénicos de la molécula del glicerol en posición *sn*-1,3); $\delta = 2,76$ ppm (multiplete de los protones del grupo metilénico que se encuentra entre los protones olefinicos); $\delta = 2,45$ ppm (multiplete de los protones de los grupos metilénicos alílicos a los protones metínicos de los ozónidos); $\delta = 2,30$ ppm (multiplete de los protones de los grupos metílicos en posición a con respecto al grupo

carbonilo); $\delta = 2,03$ ppm (multiplete de los protones de los grupos metilénicos a ambos lados de los protones olefinicos); $\delta = 1,60$ ppm (multiplete de los protones de los grupos metilénicos en posición β con respecto al grupo carbonilo); $\delta = 1,32$ ppm (multiplete formado por los protones metilénicos de los ozónidos); $\delta = 1,30$ ppm (señal de los grupos metilénicos de las cadenas acílicas de los ácidos grasos) y $\delta = 0,88$ ppm (triplete de los grupos metilos terminales de las cadenas acílicas de los ácidos grasos). Los compuestos oxigenados como ozónidos, hidroperóxidos y aldehídos han sido formados durante la reacción del ozono con el aceite de girasol.⁴

La tabla 1 muestra la dosis de ozono aplicada y las intensidades de las señales de los principales grupos en el aceite de girasol ozonizado. La reacción del ozono con el aceite de girasol ocurre casi exclusivamente por los dobles enlaces carbono-carbono presentes en los ácidos grasos insaturados.¹⁸ La intensidad de la señal de los protones olefinicos $\delta = 5,35$ ppm y de los protones del grupo metilénico que se encuentra entre los dos protones olefinicos en $\delta = 2,76$ ppm disminuye con un gradual aumento de la dosis de ozono aplicada, pero sin desaparecer completamente.^{8,10} Este resultado indica que algunos dobles enlaces del aceite de girasol no han reaccionado con el ozono. Sin embargo, el ozono puede reaccionar también con compuestos oxigenados insaturados formados en la reacción del ozono con el aceite de girasol

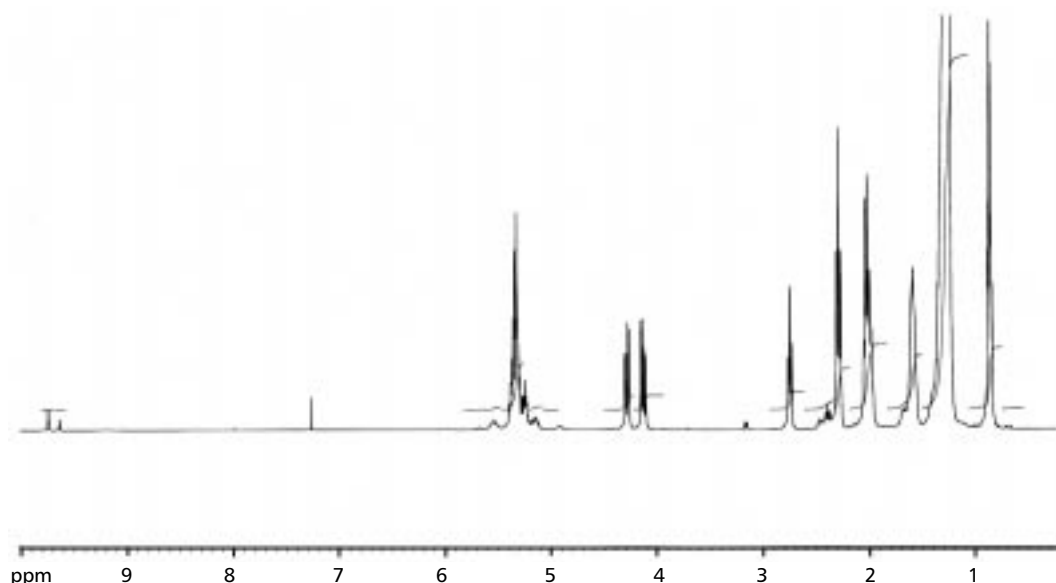


Fig. 1. Espectro de RMN ^1H a 400 MHz del aceite de girasol ozonizado.

Tabla 1. Intensidades de las señales de RMN ¹H de los principales grupos formados en la reacción del ozono con el aceite de girasol.

Grupo	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	DO_3A (mg/g)							
		0	15,3	30,6	45,9	61,2	76,5	91,8	107,1
		Intensidad de las señales de RMN ^1H							
$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$	2,00	3,6	3,5	3,2	3,1	2,8	2,7	2,2	2,1
$=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$	2,76	1,2	1,09	0,97	0,87	0,72	0,64	0,50	0,34
CH -Ozónidos	5,15	–	0,09	0,15	0,16	0,30	0,40	0,48	0,66
$-\text{CH}=\text{CH}-$	5,35	2,8	2,7	2,5	2,3	2,1	1,8	1,6	1,2
$-\text{CH}=\text{}$	5,55	–	0,08	0,15	0,18	0,24	0,26	0,28	0,33
R-COH	9,63	–	0,01	0,02	0,03	0,04	0,04	0,05	0,05
R-COH	9,74	–	0,03	0,04	0,07	0,09	0,10	0,11	0,15

$\delta^1\text{H}$ Desplazamiento químico. DO_3A Dosis de ozono aplicada.

Tabla 2. Índice de peróxidos y contenido de aldehídos de las muestras obtenidas en la reacción del ozono con el aceite de girasol.

	DO_3A (mg/g)							
	0	15,3	30,6	45,9	61,2	76,5	91,8	107,1
I.P. (mmol-equiv/kg)	—	228	330	481	691	740	900	1 202
C.A.. (mmol/g)	—	—	0,3	0,35	0,42	0,45	0,53	0,56

DO_3A Dosis de ozono aplicada. I.P. Índice de peróxidos. C.A. Contenido de aldehídos.

para formar nuevos compuestos oxigenados.¹⁹ Este tipo de reacción puede ser competitiva con la reacción del ozono con los dobles enlaces.

La máxima formación de ozónidos de Criegee ($\delta = 5,15$ ppm) fue obtenida a 107,1 mg/g de ozono (una intensidad de 0,66) (Tabla 1), mientras a una dosis de ozono aplicada de 61,2 mg/g se obtuvo la mitad de la conversión (una intensidad de 0,30) (Tabla 1). Los ozónidos de Criegee obtenidos a la dosis de ozono aplicada de 107,1 mg/g fueron aproximadamente 7,4 veces mayores que los obtenidos al comienzo de la reacción. Este resultado es de gran importancia porque los ozónidos han sido considerados como uno de los principios activos, con actividad antimicrobiana del aceite de girasol ozonizado.⁴

Los protones olefínicos de los hidroperóxidos⁶ pueden observarse a $\delta = 5,55$ ppm, los cuales incrementan su intensidad con un aumento de la dosis de ozono aplicada.

Los protones aldehídicos fueron observados como señales de débil intensidad en el espectro y pudieron ser cuantificadas con intensidades muy pequeñas (Tabla 1). Sin embargo, estos valores aumentan con un incremento en la dosis de ozono aplicada (Tablas 1 y 2).

También se observó un incremento en el índice de peróxidos (Tabla 2). El aceite de girasol contiene elevadas concentraciones de ácidos grasos insaturados tales como el ácido linoleico (60 %) y el ácido oleico (28 %).^{20,21} Estos ácidos grasos son rápidamente atacados por el ozono lo que conduce a un veloz incremento del índice de peróxidos.^{7,8,22}

Estos resultados demuestran que mediante la técnica analítica de Resonancia Magnética Nuclear protónica se puede seguir el avance de la reacción de ozonización del aceite de girasol, en la que al aumentar la dosis de ozono aplicada, se incrementa el índice de peróxidos y la formación de compuestos oxigenados tales como ozónidos, aldehídos e hidroperóxidos, mientras que disminuyen los protones olefínicos.

AGRADECIMIENTOS

Al CYTED y a INTERCAMPUS por proporcionar el financiamiento necesario para la realización de este trabajo. Asimismo, al Dr. Ángel Gutiérrez Ravelo, de la Universidad de la Laguna, Tenerife, Islas Canarias por su valiosa colaboración.

BIBLIOGRAFIA

1. Lezcano I., Núñez N., Gutiérrez M., Molerio J., Regüelferos M.G. y Díaz W.

Actividad *in Vitro* del Aceite de Girasol Ozonizado (OLEOZÓN®) Frente a Diferentes Especies Bacterianas. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **27**, 46, 1996.

2. Lezcano I., Molerio, J., Regüelferos M.G., Contreras R., Roura G. y Díaz W. Actividad *in Vitro* del OLEOZÓN® Frente a Agentes Etiológicos de Infecciones en la Piel. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **29**, 209, 1998.
3. Sechi L.A., Lezcano I., Núñez N., Espim M., Dupre I. and Pinna A. Antibacterial Activity of Ozonized Sunflower Oil (OLEOZÓN®). **J. Appl. Microbiol.**, **90**, 279, 2001.
4. Díaz M., Lezcano I., Molerio J. and Hernández F. Spectroscopy Characterization of Ozonides with Biological Activity. **Ozone Science & Engineering**, **23**, 35, 2001.
5. Santrock J., Gorski R.A. and O'Gara, J.F. Products and Mechanism of the Reaction of Ozone with Phospholipids in Unilamellar Phospholipid Vesicles. **Chem. Res. Toxicol.**, **5**, 134, 1992.
6. Leikant G.D., Zhao Q., Zhou S. and Santrock J. Activation of Eicosanoid Metabolism in Human Airway Epithelial Cells by Ozonolysis products of Membrane Fatty Acids. **Health Effects Institute Research Report**, **71**, 1, 1995.
7. Díaz M., Hernández F., Álvarez I., Vélez H., Ledea O. y Molerio J. La Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear Protónica en el Seguimiento de la Reacción del Ozono con los Ácidos Grasos. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **29**, 89, 1998.

8. Díaz M., Alvarez I., Vélez H., Hernández F., Ledea O. and Molerio J. ¹H-NMR Studies of the Ozonation of Methyl Oleate. **Bol. Soc. Chil. Quím.**, **42**, 349, 1997.
9. Ledea O., Díaz M., Molerio J., Jardines D., Rosado A. and Correa T. ¹H-NMR Spectroscopy Study of Oleic Acid and Methyl Oleate Ozonation in Different Reaction Conditions. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **34**, 1, 2003.
10. Díaz M., Hernández F., Ledea O., Gavín J.A. and Molerio, J. ¹H-NMR Studies of Methyl Linoleate Ozonation. **Ozone Science & Engineering**, **25**, 121, 2003.
11. Díaz M., Gavín J.A., Hernández F. and Díaz W. Effect of μ -Tocopherol during in vitro ozonation of methyl linoleate: Its implication in ozone therapy. **Ozone Science & Engineering**, **26**, 189, 2004.
12. Vajda O.I. and Saenz T.W. Química de los Alimentos, Tomo I, Editorial Científico Técnica, La Habana, 15, 1976.
13. Pryor W.A., Squadrito G.L. and Friedman M. The Cascade Mechanism to Explain Ozone Toxicity: The Role of Lipid Ozonation Products. **Free Radic. Biol. Med.**, **19**, 935, 1995.
14. Bailey P.S. Ozonation in Organic Chemistry, Volume I, Olefinic Compounds, Academic Press, New York, 220, 1978.
15. Pryor W.A. and Wu M. Ozonation of Methyl Oleate in Hexane, in a Thin Film, in SDS Micelles, and in Distearoylphosphatidylcholine Liposomes: Yields and Properties of the Criegee Ozonides, **Chem. Res Toxicol.**, **5**, 505, 1992.
16. British Pharmacopoeia (BP), Peroxide Value. Appendix XF, 1998.
17. British Pharmacopoeia (BP), Determination of Aldehydes. Appendix XF, 1998.
18. Bailey A.E. Industrial Oil and Fat Products, 2nd Ed., Interscience Publishers, New York, 20, 1961.
19. Ledea O. Estudio de la Composición Química del Aceite de Girasol Ozonizado OLEOZON®. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Químicas, Ciudad de La Habana, Cuba, julio, 2003.
20. Capella P. Análisis del aceite de oliva. **Olivae**, **45**, 24, 1993.
21. Firestone D. and R.J. Reina. Authenticity of vegetable oils. In Food Authentication. Edited by P.R. Ashurst & M.J. Dennis, London, Chapman and Hall, 198, 1996.
22. Hernández R., Martínez G., y Díaz M. Aspectos químico-físicos del aceite de girasol ozonizado. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **35**, 159, 2004.



SERVICIOS TECNICOS DESTACADOS
MINISTERIO DE EDUCACION SUPERIOR DE CUBA

NUEVO SERVICIO DE CONSERVACION ESTRUCTURAL DEL TRANSPORTE

Centro de Estudios Anticorrosivos y Tensoactivos, Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos".

La conservación de los vehículos contra el deterioro es una práctica que emplean muchos países, incluyendo aquellos de un elevado desarrollo económico.

El Centro de Estudios Anticorrosivos y Tensoactivos oferta un nuevo servicio técnico sustentado en el empleo de productos desarrollados en sus propias instalaciones, que tiene como objetivo alargar la vida de la estructura de los vehículos automotores.

Actividades que incluye el servicio:

- ✓ Identificación y solución de los problemas de diseño anticorrosivo.
- ✓ Identificación y solución de los problemas de corrosión y protección de los recubrimientos de pintura y otros tipos de recubrimientos.
- ✓ Eliminación del óxido y de los puntos de corrosión.
- ✓ Protección a componentes huecos y áreas cerradas.
- ✓ Protección de partes inferiores del vehículo.
- ✓ Aplicación de recubrimiento impermeabilizante y abrillantador de pinturas con ceras nacionales.

Beneficios que brinda el servicio:

- ✓ Conservación adecuada de la carrocería de los vehículos.
- ✓ Alargamiento de la vida útil de la estructura y del vehículo.
- ✓ Garantía por 6 a 9 años.
- ✓ Empleo de una amplia variedad de productos anticorrosivos ofertados a los mejores precios.
- ✓ Rectificación de los errores de diseño anticorrosivos del vehículo.
- ✓ Servicio de postventa anual asegurado.
- ✓ Impermeabilización de las superficies pintadas. Mayor brillo y protección ¡GRATIS!
- ✓ Rapidez: el trabajo de protección y conservación solo toma unas horas.

Para mayor información:

Dpto. Comercial, CEAT, Universidad de Matanzas, Autopista a Varadero km 3½.
Teléfono: (45) 261 013 ext. 326; Correo electrónico: merca.ceat@umcc.cu