

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS** Fundada en 1551  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACOLOGÍA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA

# **Formación de Hidrocarburos aromáticos Policíclicos y del 3,4-Benzopireno en Aceites Comestibles Alterados por Recalentamiento**

TESIS para optar el Título Profesional de: QUÍMICO FARMACEUTICO

**EDUARD RUBER DE LA CRUZ RODRÍGUEZ**

**JUAN ORLANDO HUAMÁN GUTIÉRREZ**

**ASESOR: Q.F. TOX. JESÚS V. LIZANO GUTIERREZ**

**LIMA – PERÚ 2002**

## Dedicatorias

A Dios:

Por darme fortaleza espiritual  
y ser la luz de mi camino.

Mi eterno agradecimiento y reconocimiento  
a mis padres Benigno y Judith, por su  
comprensión y respaldo en la culminación  
de mis estudios profesionales.

A mis hermanos: Zoraida y Víctor,  
Oscar, José y César por sus objetivos  
profesionales alcanzados.

A Jehová, en quien se cumplen todos los deseos.

A mi padre Fructuoso, a mis hermanos  
Héctor, Mirta y Jorge y en especial a la  
memoria de mi madre Virginia y apoyo. A  
ustedes dedico esta tesis.

A todos mis amigos, que me ayudaron  
en la culminación de mi desarrollo profesional.

## Agradecimientos

A nuestro asesor:

Dr. Jesús Lizano Gutiérrez, por su orientación y apoyo en el desarrollo de la presente tesis.

A nuestros distinguidos maestros:

Dr. Enrique Bonilla, Mg. Norma Carlos y Mg. Hugo Villanueva por brindarnos su apoyo incondicional en la realización del presente trabajo.

A la familia Retuerto Figueroa:

Sr. Alejandro, Sra. Eugenia, Lupe, Alex, Pocho y Alexandra; por acogernos y permitir la culminación de nuestras tesis.

A la municipalidad de Lima Metropolitana en especial a la Dirección de Salud y la División del Laboratorio de Bromatología, por su colaboración en la realización del presente trabajo de investigación.

A nuestros grandes amigos:

Q.F. Alfonso Apesteguía y Kenny Victorio por su especial colaboración y su gran amistad.



## RESUMEN

En el presente Trabajo de Investigación se determinó la presencia de Hidrocarburos aromáticos policíclicos y del benzo(a)pireno en aceites comestibles termooxidados; para lo cual se tomaron muestras de aceites de los establecimientos donde se elaboraran una gran cantidad de frituras como son: las pollerías, churrerías, chicharronerías y chifas pertenecientes al distrito de Lima Metropolitana.

Las muestras de aceites fueron tomadas en 41 puntos representativos del Cercado de Lima, elegidos por su gran afluencia comensal en forma diaria durante todo el día.

El análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de Toxicología y Química Legal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.M.S.M.

El estudio de estas sustancias de gran potencial carcinogénico, se realizó en base a la técnica aceptada por la AOAC. El análisis del control de calidad toxicológico de los aceites recalentados, se realizó en base a las Normas Técnicas Peruanas, los Métodos Oficiales de Análisis de la AOAC, y Técnicas establecidas por la American Oil Chemist's Society; se realizaron los siguientes controles:

Valor de carbonilo.

Porcentaje de polímeros.

Porcentaje de compuestos polares.

Índice de yodo

Índice de ácidos grasos libres.

En la determinación de las sustancias cancerígenas en muestras de aceite no alterado por recalentamiento se halló al benzo(a)pireno en una concentración promedio de 22,36 ug/Kg mientras que en muestras de aceite alterado por recalentamiento dicha concentración promedio fue de 15,42 ug/Kg. Esta disminución en la concentración del benzo(a)pireno se puede deber a que durante el empleo de temperaturas elevadas durante el proceso de fritura, el benzo(a)pireno se desprende del aceite y forme parte del humo; el cual produce altos niveles de contaminación a nivel ambiental y representa un serio peligro para la salud pública.

**Palabras claves** :-3,4-Benzopireno, carcinogénico, hidrocarburos aromáticos policíclicos, aceites termooxidados,



## SUMMARY

In the present study of investigation, the presence of aromatic polycyclic hydrocarbons and – 3,4 – benzopyren in thermoxidized edible oil was seterminded; for which samples of oils from establishments where a great deal of fritters are elaborated were took: poultry, crullers, roast-pork stands and chifas from Metropolitan Lima.

The oil samples were took in forty-one representative points from Lima (District), selected because of their great commensal affluence around the day.. The analysis of the samples was made in the Laboratory of Toxicology and Legal Chemistry from Pharmacy and Biochemistry Faculty of the UNMSM.

The study of these substances of great carcinogenic potency was made on the basis of the technique described in the Official Methods of Analysis of the AOAC.

The analysis of the toxicologic quality control of the reheated oils was made on base to the Peruvian Technic Standars, the Official Methods of Analysis of AOAC, and Techniques established by the American On Chemist Society; the following controls were made:

- Carbonyls value
- Polar compounds percentage
- Fatty acids index
- Polymeres percentage
- Iodine index

In the determination of the cancerigena substances in oil samples not altered by reheat, we fouded benzo(a)piren at a concentration of 22.36 ug/kg, while in reheated samples was 15.42 ug/kg. This disminution in benzo(a)pireno concentration maybe during in elevated temperatures in frying, let that benzo(a)pireno is loosed from oil and was part of the smoke with elevated level of contamination and represents a serious danger to public wheater.

Key-Words: 3,4-Benzopyrene, Carcinogenic, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Thermoxidized oil.



## INTRODUCCIÓN

En la ciudad de Lima Metropolitana, actualmente existen diversos establecimientos donde se realizan frituras como: pollerías, churrerías, chicharronerías y chifas; donde no se efectúan un control sanitario sobre la calidad de los alimentos empleados en especial los aceites comestibles termooxidados, que por su continua utilización genera sustancias tóxicas, de alto potencial carcinogénico. Frente a esta problemática que afecta la salud pública, se realiza el presente estudio, cuyo objetivo primordial es la determinación de dichas sustancias, eligiendo como zona representativa al Distrito del Cercado de Lima por su mayor afluencia comercial.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos, son una clase muy amplia de compuestos orgánicos, en especial el 3,4-benzopireno que presenta las características de anillos aromáticos condensados, formados por átomos de carbono e hidrógeno a temperatura ambiente. Esta sustancia tóxica presenta un punto de fusión y de ebullición elevados, su solubilidad es favorable en disolventes orgánicos muy lipófilos .

Una de las fuentes de formación de estas sustancias se encuentra en la termodegradación de lípidos consiste en que los aceites comestibles que se someten a temperaturas elevadas, cuando se fríen los alimentos, generan las sustancias tóxicas antes mencionadas, que están relacionados directamente con el cáncer al colon, al hígado y a la próstata de las personas que consumen excesivas cantidades de grasas calentadas por mucho tiempo.

Las grasas son susceptibles de sufrir cambios durante su calentamiento, principalmente las poliinsaturadas, que son fácilmente oxidadas durante la elaboración de frituras de alimentos como: papas, chicharrón, churros, etc. Un consumo elevado de estas grasas termooxidadas lleva como consecuencia a una hepatomegalia, acompañada de pérdida del apetito, disminución y retraso en el crecimiento, disminución del hematocrito, diarrea, daño histológico del riñón e hígado pudiendo llegar a la muerte. En la actualidad, pocos estudios orientados al control sanitario de los aceites comestibles alterados por recalentamiento se realizan en Lima Metropolitana, debido a factores de índole económico, político y de infraestructura.

El presente estudio de investigación, presenta un enfoque analítico sobre la determinación del 3,4-benzopireno, y el control de calidad toxicológico en muestras de aceite alterado y no alterado por recalentamiento provenientes de establecimientos que realizan frituras basado en el análisis organoléptico y el análisis químico, dentro del cual se determinaron el índice de acidez, el valor de carbonilos, el porcentaje de polímeros, el índice de yodo y el porcentaje de compuesto polares.

La estructura conformacional del presente trabajo está dividido en dos partes: la teórica y la experimental. La primera trata del proceso de fritura, formación de compuestos volátiles, no volátiles, y de sustancias cancerígenas, sus características toxicológicas, fuentes de exposición humana y ambiental, efectos sobre la salud, metabolismo, mecanismo de acción y propiedades físico químicas.

La segunda parte, nos detalla métodos, toma de muestras, determinación, resultados obtenidos del análisis de las muestras de aceites termooxidados, discusión y conclusiones.

La metodología de trabajo consistió en tomar de cada uno de los 41 establecimientos muestras de aceite comestible alterado y no alterado por recalentamiento (sin utilizar). A cada muestra se evaluó el control de calidad respectivo y la determinación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4-benzopireno; finalmente se buscó la correlación entre la cantidad del 3,4-benzopireno hallado y los parámetros de control de calidad utilizados en las muestras de aceite comestible alterado por recalentamiento.

Este estudio realizado nos brinda una perspectiva sobre la calidad alimenticia que las personas habitualmente deben tener, con la finalidad de preservar la salud, evitar el desarrollo de enfermedades que origina la destrucción histológica del organismo, y que posteriormente puede terminar en cáncer.



## **HIPÓTESIS:**

- 1.- El excesivo recalentamiento de los aceites comestibles origina la formación de Hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4–benzopireno, que puede ser uno de los factores causantes de carcinogénesis.
- 2.- Los índices tomados para evaluar el control de calidad toxicológico de los aceites comestibles termooxidados sirven como indicadores de la producción del 3,4 – benzopireno.

## **OBJETIVOS:**

### **1.- OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar química – toxicológicamente la formación de sustancias cancerígenas (hidrocarburos aromáticos policíclicos y entre ellos el 3,4–benzopireno) durante el proceso de oxidación térmica de los aceites comestibles.

### **2.- OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

- 2.1 Determinar la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos en aceites comestibles oxidados térmicamente.
- 2.2 Evaluar la formación del 3,4–benzopireno durante el proceso de oxidación térmica de los aceites comestibles.
- 2.3 Realizar el control de calidad toxicológico de los aceites comestibles oxidados térmicamente.
- 2.4 Evaluar la posible relación entre la producción del 3,4–benzopireno con los índices de control de calidad toxicológico en los aceites comestibles oxidados térmicamente.



## I. GENERALIDADES

### 1.1 EL PROCESO DE FRITURA

#### 1.1.1 Fritura (3)

La fritura es un proceso culinario, con más parte de arte que de ciencia que consiste en cocer los alimentos en un medio exento de agua y a una temperatura mayor de 100 °C . Los técnicos en alimentación intentan racionalizar a base de montar modelos ideales e intentar comprenderlos aplicando nociones de física, química e ingeniería.

La búsqueda de que los elementos precocinados fritos ó prefritos queden con la textura y color apropiados, que absorban la cantidad adecuada de aceite, que dicho aceite se mantenga dentro de unos límites de calidad organoléptica y sanitaria, y además que el proceso de fritura sea lo más rentable posible, es un verdadero reto para todo especialista que se dedique a la fritura (37).

#### 1.1.2 Función del aceite en la fritura (7)

El rol que desempeña el aceite en dicho proceso es doble, actúa como medio de transmisión de calor, y como ingrediente del producto frito al ser absorbido por el mismo.

Esta última función tiene un especial interés ya que la estabilidad del aceite y su grado de alteración influirán directamente en la duración y calidad del producto.

#### 1.1.3 Alteraciones en el aceite durante el proceso de fritura (36)

Durante el proceso de fritura ocurren muchas reacciones termolíticas y oxidativas en el aceite, debido a la temperatura del proceso en especial cuando en el medio hay sustancias o residuos que actúan como catalizadores de esta alteración.

Los principales cambios químicos que se observan son:

i) **Hidrólisis:** Los triglicéridos se hidrolizan, formando ácidos grasos libres, y mono y diglicéridos (los aceites grasos provocan una mayor tendencia a la formación de humo)

ii) **Oxidación:** Los ácidos grasos en presencia del oxígeno ambiental dan lugar a compuestos intermedios inestables denominados hidroperóxidos que a su vez dan lugar a la formación de radicales libres. Este proceso se ve catalizado por la incidencia de la luz. Los ácidos grasos más insaturados son más lábiles a la oxidación.

Otros productos que se forman en esta etapa son ácidos dienoicos conjugados, epóxidos, hidróxidos y compuestos carbonilos; estos compuestos además pueden fisionarse formando compuestos mas pequeños y también entrecruzarse con otros formando triglicéridos diméricos y poliméricos.

Durante este proceso va apareciendo cambios organolépticos (alteración del sabor, palatabilidad, oscurecimiento), físico (aumento de la viscosidad) y químicos (formación de polímeros, compuestos volátiles).

iii) **Polimerización:** Los radicales libres tienden a combinarse entre ellos ó con otros ácidos grasos y forman compuestos más ramificados o también cíclicos; de mayor tamaño y peso molecular; aumentando la viscosidad del aceite y la formación de espuma.

#### 1.1.4 Control de calidad del proceso de fritura (19)

Aunque algunos autores consideran que un aceite nuevo no es tan buen agente de fritura como uno ligeramente alterado, no por ello se debe de considerar de que cuanto más alterado esté un aceite, mejor freirá.

Blumenthal, (4), afirma que el aceite pasa por cinco fases a lo largo de su periodo de utilización en cuanto a calidad del producto frito se refiere, para lo cual realizó un estudio del aceite cuando se le utiliza en frituras a temperaturas de 180 – 200 °C :

- \* **Fase 1 (aceite inicial):** En este punto el aceite es nuevo, no presenta productos de degradación ni contaminantes y por lo tanto; es poco viscoso y tiene poco poder surfactante; lo que hace que el aceite no transmita adecuadamente el calor, ni ingrese al producto (alimento). En esta fase el tiempo de fritura se puede considerar de “0” horas.
- \* **Fase 2 (aceite fresco):** Debido al proceso inicial de hidrólisis se han ido formando mono y diglicéridos que aumentan ligeramente el poder surfactante del aceite. La acidez del aceite empieza a incrementarse. Esta fase empieza con el proceso de fritura y dura aproximadamente 05 minutos.
- \* **Fase 3 (aceite óptimo):** La cantidad de sustancias emulsionantes es la adecuada para un correcto contacto aceite /alimento. La transmisión de calor es correcta así como la absorción del aceite. Como contrapartida se empieza a formar espuma que favorecen la oxidación. El inicio de esta fase se da a los 5 minutos y continua hasta los 15 minutos.
- \* **Fase 4 (aceite degradado):** Aparecen sustancias contaminantes, los niveles de hidrólisis y oxidación son elevados. El alimento absorbe un exceso de aceite y hay un exceso de cocción en la zona externa del producto. Esta fase empieza a los 15 minutos de iniciada la fritura y continua hasta aproximadamente las 10 horas de fritura.
- \* **Fase 5 (aceite descartado):** Se agravan los problemas de la fase anterior. Aparecen sabores y olores anómalos y disminuye mucho el punto de humo; produciendo además un acercamiento al punto de ignición. Este proceso empieza a partir de las 10 horas de fritura continua.

#### 1.1.5 Métodos para medir la alteración de los aceites de fritura (25), (36)

La medición del recalentamiento del aceite se basa en los cambios que sufre el aceite durante la fritura; así muchos métodos de análisis miden los

productos de descomposición volátiles y no volátiles y los utiliza como parámetro para establecer el descarte del aceite de fritura.

La medida de los productos de descomposición volátiles es muy tediosa y requiere de mucho tiempo ya que utiliza equipos sofisticados tanto para la toma de muestra como para el análisis respectivo ( ejm. cromatógrafo de gases).

La medida de los productos de descomposición no – volátiles es más simple ya que estos compuestos quedan en el aceite y son de mayor interés ya que estos productos pasan al alimento que se fríe con un posible daño a la salud del consumidor; pudiéndose establecer puntos de descarte del aceite de fritura (pero que va a depender de ciertos factores: el analista, el tipo de aceite utilizado, el proceso de fritura, las diversas técnicas analíticas y la legislación utilizada.) (19).

- \* **Métodos Tradicionales** (36): Se utilizaron inicialmente para establecer el descarte del aceite de fritura y son: el índice de acidez, el índice de yodo, la viscosidad, el porcentaje de polímeros, el punto de humo, el porcentaje de compuesto carbonilos y otros.

Ninguno de estos métodos ha podido establecerse como una buena medida de la alteración del aceite de fritura durante el recalentamiento.

Debido a este problema; han aparecido otros nuevos métodos más útiles para esta estimación.

- \* **Métodos Modernos:** Entre ellos mencionamos:

**Método Standard** (36): Algunos métodos han sido ampliamente utilizado en varios países por su gran precisión y subsecuentemente adoptados como procedimientos estándar debido a su gran reproducibilidad y sus aplicaciones prácticas.

- **Porcentaje de Compuesto Polares:** Método aprobado por la AOAC(1984) y IUPAC (1987). Consiste en determinar el porcentaje de compuestos polares que son eluidos con una mezcla etérea de una muestra mediante cromatografía en columna de sílica gel y obteniéndose luego el porcentaje por una diferencia de pesos del material eluido.
- **Medición de Ácidos Dienoicos Conjugados:** Método aprobado por IUPAC (1987) y la American Oil Chemist's Society (AOCS) en 1983. Cuando los ácidos grasos poli-insaturados se oxidan, bajo condiciones de altas temperaturas, formándose dienos conjugados que pueden ser medidos por absorción ultravioleta a 232nm. Es muy útil cuando el aceite de fritura es un aceite con muchas insaturaciones.

**Métodos Complejos** (36): Sirven para separar y cuantificar los compuestos nuevos que se forman en los aceites de fritura. Están conformados principalmente por métodos cromatográficos :

- **Cromatografía gas – líquido:** Muy utilizado para determinar triglicéridos diméricos ; monómeros cíclicos y polímeros totales.
- **Cromatografía de Exclusión:** Muy utilizada para determinar triglicéridos dimericos y oligómericos; polímeros y compuesto polares .

**Métodos Rápidos**(9): Son adecuados para dar un pronóstico al momento del estado del aceite de fritura. Entre los métodos más utilizados tenemos:

**FOODOIL SENSOR (FOS):** Mide la constante dieléctrica del aceite recalentado en relación a la del aceite fresco. (muestra la mejor correlación con lo métodos Standard).

**RAU-TEST o OXIFRIT-TEST** , para los compuestos oxidados.

**FRI- TEST** , para los compuesto carbonilos.

**SPOT – TEST** , para los ácidos grasos libres

**ACM** (Alkaline Contaminat Materials) o **QUICK – TESTÒ** para compuestos alcalino como jabones.

Varios autores han intentado definir parámetros válidos para establecer el punto de descarte del aceite utilizado en la fritura, como por ejemplo la relación entre la cantidad de polímeros y la constante dieléctrica; la relación entre los compuestos polares, acidez libre y constante dieléctrica, entre otros; así como el obtener nuevos métodos que presenten gran correlación con los métodos oficiales.

#### **1.1.6 Aspectos legales relacionados con los aceites comestibles alterados por recalentamiento (9)**

En cuanto a las regulaciones establecidas por diversos países se puede mencionar:

Que en los Estados Unidos no existen hasta la actualidad, regulaciones específicas para el control de los aceites recalentados; aunque el USDA'S Meat and Poultry Inspection Manual (USDA / Fsis. 1991) indica que la presencia de residuo carbonizado y un contenido de ácidos grasos libres mayor del 2% son indicadores de que el aceite de fritura debe ser desechado. Legislaciones de diversos estados federales (EE.UU.) establecen que los aceites de fritura con porcentaje mayor al 25% de compuestos polares no son adecuados para el consumo humano.

En los países Europeos, se esta buscando estandarizar los limites y regulaciones con respecto a los aceites de fritura; en cuanto a los avances obtenidos se mencionan lo siguiente:

\* **Con respecto a las características organolépticas**

Todo aceite de fritura no debe presentar olor desagradable, color oscuro; debe desprender poco humo y no debe presentar abundante residuo carbonizado.

\* **Con respecto a los métodos analíticos para el control de calidad establecer que:**

- El índice de acidez, no debe ser mayor del 2,5. (mg. NaOH/ gr.de grasa).
- El punto de humo, debe ser menor a los 170°C.
- El porcentaje de compuestos polares, no debe ser mayor de 25%

También se recomienda que los aceites no deben ser calentados a una temperatura mayor de los 180° C.

Dobarganes (9) indica que :

En Austria, las normas están establecidas por el **CODEX ALIMENTARIUS AUSTRIACOS** en su tercera edición de 1990.

En Bélgica, se rigen por la Legislación Sanitaria de los Aceites de Fritura de 1988.

En Francia, se rigen por la Legislación Francesa de Aceites de Fritura de 1986.

En Alemania, no hay regulaciones específicas; las que se utilizan son las regulaciones recomendadas por la Sociedad Alemana para el estudio de las grasas (donde establecen un límite de 27% de compuestos polares además un límite de 0.70% para ácidos grasos oxidados insolubles en éter petróleo).

En España, se rigen por la Norma de Calidad para los Aceites y Grasas Calentadas, establecida en 1989.

En los países Escandinavos, no existen normas oficiales que regulen a los aceites de fritura, cada país (Noruega, Dinamarca, Finlandia y Suecia) tiene sus propias técnicas de análisis que coinciden con los límites anteriores. También consideran que una disminución en más de 16 del vapor del índice de Yodo determina que el aceite debe ser cambiado.

En los países centro y sudamericanos, africanos y asiáticos no se han establecido normas oficiales (salvo algunas excepciones como la India, China y otros). En estos países se ha tomado los límites Europeos como referencia

(Japón además establece como limite un valor de carbonilos de 50 meq en el aceite de fritura).

## **1.2 EL PROCESO DE FRITURA DESDE EL PUNTO DE VISTA DE LA TOXICOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**

El proceso de fritura origina un sinnúmero de compuestos, muchos de ellos nocivos para la salud humana. Dentro de estos compuestos podemos hallar inhibidores enzimáticos, destructores de vitaminas, productos de oxidación lipídica, irritantes gastrointestinales y/o mutágenos potenciales. (6).

### **1.2.1 Formación de compuestos volátiles tóxicos y no tóxicos: (30), (41)**

Muchos de los productos de descomposición volátiles son útiles para poder realizar una medida adecuada de abuso de calor en la fritura.

Se han identificado más de 220 productos de descomposición volátiles; muchos de ellos dan el aroma y el sabor al aceite alterado (hidrocarburos, aldehídos, alcoholes, etc), estos compuestos son productos de descomposición del ácido linolénico principalmente. Podemos mencionar sustancias como: el buteno, 1,3-butadieno, acetaldehído, pentano, pentanal, n-hexano, acroleína, propanol, n-hexeno, benceno, tolueno, hidrocarburos, metil vinil cetona, propanona y otros; siendo la mayoría tóxicos y afectando en primera instancia al cocinero y en segunda instancia al consumidor.

Dentro de su acción tóxica aparte de los problemas dermatológicos podemos mencionar la irritación del sistema respiratorio, (edema pulmonar, irritación de las vías respiratorias, faringitis); irritación gástrica intestinal, y hasta afecciones del SNC, (mareos, vértigo, dolor de cabeza).

Otro factor muy importante es la temperatura de calentamiento ya que en los países orientales, donde la temperatura del proceso de fritura va de 250 a 270° C la producción de compuestos tóxicos es mayor que en los países occidentales, donde la fritura se lleva a cabo a temperaturas de 180° a 190° C.



Un factor aún en estudio es la utilización de antioxidantes, que parece ser que disminuye la tasa de oxidación de los compuestos lipídicos que conllevarían a la formación de estas sustancias tóxicas (19).

### **1.2.2 Formación de Compuestos no Volátiles tóxicos y no Tóxicos: (20), (22),**

Durante la formación de estos compuestos se presentan los compuestos polares y los polímeros.

#### **Compuestos Polares(32)**

Estos compuestos se forman durante el proceso de oxidación térmica de los aceites comestibles, tienen la característica de poseer una alta polaridad y entre ellos tenemos a los monoglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos libres, triglicéridos polimerizados, triglicéridos oxidados y digliceroles.

La formación de estos compuestos se realiza primero a través de un proceso de hidrólisis de los triglicéridos que consiste en el rompimiento de los enlaces ester y que produce una polaridad debido a sus cargas que asumen frente a este acontecimiento; el agua factor causante de la hidrólisis se disocia en sus radicales que son:  $H^+$  (hidrogeniones) y  $OH^-$  (oxidrilos), que se unen respectivamente al alcohol y al radical acilo formándose así ácidos grasos libres y diglicéridos.

La toxicidad ocasionada por estos compuestos se produce debido al consumo excesivo de los aceites comestibles alterados por recalentamiento teniendo como consecuencia daños al organismo como irritación gástrica duodenal, diarreas, úlceras, daños hepáticos como hepatomegalia y la alteración de la actividad enzimática.

#### **Polímeros(32)**

Estos compuestos formados por la unión de diversas moléculas complejas, que se forma por procesos de polimerización térmica u oxidativa:

##### **\* Polimerización térmica**

Proceso que se desarrolla en ausencia de oxígeno, comprende un primer paso una reacción de adición Diles – Alder, en el sistema de dobles enlaces y

dobles enlaces conjugados formando nuevos compuestos cíclicos de mayor peso molecular como son los dímeros y trímeros.

\* **Polimerización oxidativa**

Proceso que se inicia a partir de los radicales hidroperóxidos que se descomponen durante la etapa de recalentamiento, formando productos diméricos los cuales se unen a otros radicales hidroperóxidos formando compuestos cíclicos de mayor peso molecular.

La toxicidad de estos compuestos produce alteraciones en el organismo a nivel del tracto gastrointestinal, disminución en la capacidad de absorción, alteración en el funcionamiento regulatorio del páncreas, hígado y riñones ocasionando una disminución del peso corporal debido a un consumo continuo.

Otros compuestos tóxicos que se generan son los peróxidos de los ácidos grasos correspondiente (hidroperóxidos); aldehídos, hidrocarburos, alcoholes y otros compuestos que luego se fusionan, un porcentaje para formar compuestos volátiles y otro para dar compuesto cíclicos y polímeros con grupos hidroperóxidos, hidróxidos, epóxidos y carbonilos, así como puentes éter y epóxido. Otro porcentaje continua inalterado. Así también los alimentos que se fríen liberan algunos de su lípidos a la freidora (ejemplo: colesterol, el que también origina un grupo complejo de compuesto oxidados).

Además de su descomposición, los peróxidos actúan sobre las proteínas originando otros productos tóxicos; también provoca la polimerización, la agregación y la fragmentación de los polipéptidos, esto hace que las enzimas pierdan su actividad biológica. El malondialdehido causa rigidez de los eritrocitos causando la anemia.

Un consumo elevado de grasas termooxidados ocasiona una hepatomegalía acompañada de pérdida de apetito, retraso en el crecimiento, diarrea, daño del riñón. é incluso la muerte. Una observación extendida es la de los compuestos poliméricos de peso molecular relativamente alto que no se absorben en el cuerpo y no son tóxicos aunque disminuyen la capacidad de absorción intestinal.

La manera de controlar estos productos tóxicos es tomando las medidas de precaución mencionadas para lo compuestos volátiles.

### **1.2.3 Formación de Sustancias Cancerígenas (6), (20), (31), (35)**

Algunos investigadores han informado la aparición de tumores en animales alimentados con grasas muy calentadas; aunque cuando realizaron esta experiencia con aceites tomados de restaurantes no se detectaron dichos efectos. Estudios recientes indican que la formación de sustancias cancerígenas ocurre cuando se utilizan condiciones de fritura muy fuertes (tiempos anormalmente largos, altas temperaturas de frituras), aunque esto también da la posibilidad que las sustancias cancerígenas formadas se evaporen y pasen a formar parte de los humos y vapores emitidos.

Dentro de las sustancias cancerígenas detectadas en el aceite de fritura tenemos a algunos peróxidos, derivados oxidados de colesterol (proveniente principalmente del alimento que se fríe), algunas aminas heterocíclicas (provenientes de la interacción alimento – aceite) y los hidrocarburos aromáticos policíclicos, aunque la presencia de estos últimos compuestos aún esta en discusión. El tipo de cáncer que originan depende de su acción metabólica ya que algunos actúan como radicales libres (peróxidos) mientras que otros necesitan una activación enzimática (hidrocarburos aromáticos policíclicos, aminas heterocíclicas y derivados del colesterol), para manifestar su acción cancerígena. Entre los órganos más afectados por estas sustancias están el estómago, colon, hígado, riñones y mama.

En cuanto a las sustancias cancerígenas detectados en los vapores que emiten las grasa de fritura tenemos principalmente al 1,3 butadieno, benceno (cancerígeno humano); acroleína (mutagénico); acetaldehído, formaldehído; y algunas aminas heterocíclicas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (dibenzo(a,h)antraceno y benzo(a)pireno) y derivados nitro – hidrocarburos aromático – policíclicos que provienen del aceite de fritura que ha sufrido de elevadas temperaturas durante la operación de fritura.

El efecto de estas sustancias es más directo que el anterior (las sustancias volátiles son cancerígenos de contacto), teniendo como órganos blanco al árbol respiratorio, los pulmones, la porción superior del sistema digestivo, la piel y hasta podría estar incluido el Sistema Nervioso Central.

Se debe de indicar que sólo se ha probado la acción cancerígena de estas sustancias en animales de laboratorio, los estudios epidemiológicos realizados concluyen que hay una gran posibilidad que estas sustancias manifiesten su acción cancerígena sobre estos órganos.

Como se sabe, la formación de estas sustancias se debe principalmente al aceite utilizado en la fritura y al tipo de proceso de fritura que se sigue; es por ello que parece razonable concluir que la ingesta moderada de alimentos fritos no representa un riesgo significativo para la salud cuando se utilizan aceites de buena calidad y se sigue una práctica adecuada de fritura (12).

### **1.3 HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICICLICOS (34), (38), (39)**

#### **1.3.1 Concepto- Enfoque Químico**

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) constituyen una clase muy amplia de compuestos, originados por la combustión incompleta o pirólisis de la materia orgánica a temperaturas elevadas, por el cual pueden liberarse cientos de sustancias distintas, que son una fuente importante de exposición humana.

Los estudios de diversas matrices aplicables al medio ambiente, como los efluentes de la combustión de carbón, los gases de escape de los vehículos de motor, el aceite lubricante de motores usados, y el humo del tabaco, han demostrado que los HAP de estas mezclas son los principales responsables de su potencial carcinogénico.

Desde el punto de vista de su fórmula química estructural, los HAP derivan del naftaleno y están conformados por varios anillos aromáticos; algunos de ellos son extremadamente carcinogénicos, como el benzo(a)pireno, el benzo(a)antraceno y el dibenzo(a,h)antraceno. Otros presentan escaso potencial carcinogénico como fluoranteno, pireno y antraceno. (Tabla N° 1)

### 1.3.2 **Formación** (38), (39)

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos, aparecen en los alimentos derivados de ciertas tecnologías, tipos de procedimientos y la contaminación ambiental. El 3,4 benzopireno se toma como indicador de estos compuestos debido a su alta frecuencia de aparición en los alimentos y por su potente carcinogenicidad.

A continuación se mencionan las diversas fuentes de formación y contaminación en alimentos:

\* **Ahumado**

Es la combustión directa de la leña, en especial de maderas fibrosas que provocan mayor producción del benzo(a)pireno en el humo; es considerado desde la antigüedad como método de conservación de carnes. Este método tradicional es ventajoso, desde el punto de vista de las características organolépticas (color, sabor, aroma) que aportan a

**TABLA N° 1**

**HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (39)**

NOMBRE COMUN	NOMBRE	SINONIMO
Acetaftileno.....	Acetaftileno.....	_____
Acetafteno.....	Acetafteno, 1,2 - dihidro...	_____
Antantreno.....	Dibenzo[def,mno]criseno..	_____
Antraceno.....	Antraceno.....	_____
Benzo[a]antraceno.....	Benzo[a]antraceno.....	1,2 Benzantraceno, tetrafeno
Benzo[a]fluoreno.....	11 M. Benzo[a]fluoreno...	1,2 Benzofluoreno.
Benzo[b]fluoreno.....	11 M. Benzo[b]fluoreno...	2,3 Benzofluoreno
Benzo[b]fluoranteno.....	Benz[e]acenfenantrileno..	3,4 Benzofluoranteno
Benzo[ghi]fluoranteno....	Benzo[ghi]fluoranteno....	2, 13 Benzo[ghi]fluoranteno
Benzo[j]fluoranteno.....	Benzo[j]fluoranteno.....	10,11 Benzofluoranteno
Benzo[k]fluoranteno.....	Benzo[ghi]fluoranteno....	11,12 Benzofluoranteno
Benzo[ghi]perileno.....	Benzo[ghi]perileno.....	1,12 Benzoperileno
Benzo[c]fenantreno.....	Benzo[c]fenantreno.....	3,4 Benzofenantreno
Benzo[a]pireno.....	Benzo[a]pireno.....	3,4 Benzopireno
Benzo[e]pireno.....	Benzo[e]pireno.....	1,2 Benzopireno
Criseno.....	Criseno.....	1,2 Benzofenantreno
Coroneno.....	Coroneno.....	Hexabenzobenceno
Ciclopenta[cd]pireno.....	Ciclopenta[cd]pireno.....	Ciclopenteno[cd]pireno
.	.	.
Dibenz[a,h]antraceno.....	Dibenz[a,h]antraceno.....	1,2;5,6 – Difenzantreno
Dibenzo[a,e]pireno.....	Naftol[1,2,3,4,-def]criseno.....	1,2;5,6 – Dibenzopireno
Dibenzo[a,h]pireno.....	Dibenzo[b,def] criseno.....	3,4;8,9 – Dibenzopireno
Dibenzo[a,i]pireno.....	Benzo[rsf]pentafeno.....	3,4;9,10 – Dibenzopireno
Dibenzo[a,i]pireno.....	Dibenzo[def,p]criseno.....	1,2;3,4 – Dibenzopireno
Fluoranteno.....	Fluoranteno.....	
Fluoreno.....	9H –Fluoreno.....	
Indeno[1,2,3-cd]pireno....	Indeno[1,2,3-cd]pireno.....	2,3, - 0 – Fenilenpireno
5-metil criseno.....	Criseno, 5-metil .....	_____
1-metil fenantreno.....	Fenantreno, 1-metil.....	_____
Naftaleno.....	Naftaleno.....	_____
Perileno.....	Perileno.....	Peri-Dinaftaleno
Fenantreno.....	Fenantreno.....	_____
Pireno.....	Pireno.....	Benzo[def]fenantreno
Trifenileno.....	Trifenilo.....	9,10 – Benzofenantreno

los productos; a su vez incrementan la concentración de estos compuestos sin embargo los consumidores no perciben el peligro.

En Islandia, los pescadores consumen gran cantidad de productos ahumados (pescado) y la incidencia de cáncer del tracto gastrointestinal es elevada y está influida por la ingestión concomitante de sal común, nitrito y nitrosaminas a través de estos alimentos, junto a una ingestión reducida de vitamina C en estas poblaciones.

Actualmente, los métodos modernos reducen el contenido del 3,4 - benzopireno en los productos ahumados, la obtención del humo se realiza por medio de la fricción, en lugar de la combustión, el vapor de agua es sobre calentado sobre viruta y el ahumado electrostático; todos estos procedimientos tienen ventajas que permiten la disminución del contenido de dichos compuestos en los alimentos y con temperaturas inferiores.

\* **Secado**

Es un proceso donde los alimentos están sometidos a secado con gases de fuentes de petróleo; en el que pueden existir contaminación con el 3,4 - benzopireno.

Durante el malteado de la cebada, se produce la formación del 3,4- benzopireno que aparecen en la cerveza y alcanza niveles superiores a  $1\mu\text{g}/\text{Kg}$ . Las nuevas tecnologías no utilizan la llama directa para el secado de los cereales, así los niveles del 3,4 - benzopireno para la cerveza pueden reducirse a  $0,01-0,02\mu\text{g}/\text{Kg}$ .

\* **Tostado**

El alimento más representativo es el café. Los niveles de 3,4- benzopireno en este producto dependerán de la eficiencia del tostado y de la variedad del café. Si el tostado es eficiente el contenido del 3,4- benzopireno debe ser menor de  $1\mu\text{g}/\text{Kg}$  por lo que con una taza de la infusión no debe

ingerirse más de 0,010  $\mu\text{g}$  del 3,4 benzopireno. En el caso del maní tostado puede contener cerca de 1mg/Kg del 3,4 benzopireno.

\* **Extracción de Aceites**

Los aceites vegetales pueden contener al 3,4 – benzopireno por la contaminación de las semillas oleaginosas a partir del aire industrial contaminado, el secado y el tostado de estas semillas y sobre todo por el uso de solventes no suficientemente puros en la tecnología de la extracción de aceites.

\* **Métodos de Cocción**

La influencia de este método sobre los alimentos en el contenido del 3,4– benzopireno depende de la fuente de energía usada, su proximidad con el alimento y el control de la temperatura.

El sistema de cocción a la parrilla determina una contaminación de los alimentos con el 3,4–benzopireno, especialmente si la fuente está cerca del alimento y caen gotas de grasa.

Esta práctica otorga niveles del 3,4 benzopireno mayor a  $5\mu\text{g}/\text{Kg}$ . Hay que considerar que los lípidos y el colesterol tratados térmicamente producen estos compuestos.

### **1.3.3 Fuentes de exposición humana y ambiental (34), (38)**

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos, especialmente los de mayor peso molecular, cuando se incorporan al medio ambiente a través de la atmósfera se adsorben en las partículas en suspensión.

La hidrósfera y la geósfera se ven afectadas de manera secundaria por la deposición húmeda y seca. La madera conservada con creosota es otra fuente de liberación de estas sustancias tóxicas en la hidrósfera, y la disposición de desechos contaminados, como: fangos de alcantarillado y cenizas en suspensión, contribuye a las emisiones de dichas sustancias en la geósfera.



Los hidrocarburos aromáticos policíclicos, que se encuentran se utilizan sobre todo como productos intermedios en la producción de cloruro de polivinilo, y de agentes plastificantes (naftaleno), plaguicidas (fenantreno), pigmentos (acenafteno, pireno), tintes (antraceno, fluoranteno) y otros.

Las mayores emisiones de hidrocarburos aromáticos policíclicos se derivan de la combustión incompleta de materia orgánica durante procesos industriales y en otras actividades humanas, en particular la:

- Elaboración de carbón, de petróleo crudo y de gas natural, incluida la coquificación del carbón, la conversión de carbón, el refinado de petróleo y la producción de negro de humo, de creosota, de alquitrán de hulla y de betún.
- Producción de aluminio, de hierro y de acero en fabricas y fundiciones.
- Calefacción en centrales de energía y en residencias y cocinado.
- Combustión de basuras.
- Tráfico de vehículos de motor.
- Humo de tabaco en el medio ambiente.

Las fuentes de los Hidrocarburos aromáticos policíclicos más importantes son los siguientes (23) :

- Coquificación de carbón.
- Cocina y calefacción de viviendas.
- Tráfico de vehículos de motor.
- Incendios forestales.
- Centrales eléctricas de carbón.
- Incineración de basura.

#### 1.3.4 Metabolismo (38), (39)

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) se absorben por las vías respiratorias, el aparato digestivo, y la piel. La tasa de absorción por los pulmones depende del tipo de HAP, tamaño de las partículas sobre los que están absorbidos y la composición del absorbente.

Los HAP adsorbidos sobre partículas se eliminan de los pulmones con mayor lentitud que los hidrocarburos libres.

En el aparato digestivo se produce una absorción rápida en los roedores pero los metabolitos vuelven al intestino mediante la excreción biliar. En los estudios de absorción percutánea de mezclas de HAP marcadas en roedores se observó que los componentes de las mezclas llegaban a los pulmones, donde se unen al ADN.

La tasa de absorción percutánea en ratones varía en función del compuesto.

Los HAP se distribuyen ampliamente en todo el organismo tras la administración por cualquier vía y se encuentran en casi todos los órganos internos, particularmente en los ricos en lípidos. Debido a sus grupos funcionales polares e ionizables, los HAP se disuelven en la fracción lipoprotéica de las células de los mamíferos. Especialmente se absorben por el intestino cuando son ingeridos y a través de los pulmones cuando son inhalados.

Los HAP inyectados por vía intravenosa se distribuyen y se eliminan con rapidez de la corriente sanguínea al reaccionar en diversos tejidos en roedores, pero pueden atravesar la barrera placentaria y se han detectado en tejidos fetales.

El metabolismo de los HAP es compleja, en general, los HAP no se metabolizan de manera idéntica, y son activados metabólicamente mediante épidos intermedios dando lugar a fenoles, dioles y tetroles, que a su vez pueden conjugarse con los ácidos sulfúrico y glucurónico o con el glutatión. El 3,4 – benzopireno presenta varias rutas metabólicas. Una de las más importantes es caracterizada por el CITO CROMO P-450 MONOOXIGENASA MICROSOMAL, dando lugar a óxidos y fenoles que

producen quinonas y diol époídos que se excretan en parte como conjugados del glutathion.

El metabolismo produce en su mayor parte una desintoxicación, pero algunos HAP se activan a especies que se unen al ADN principalmente diol epóídos, que pueden inducir tumores.

Los metabolitos de los HAP y sus conjugados se excretan en la orina y las heces, pero los conjugados que se excretan en la bilis pueden hidrolizarse por la acción de enzimas de la flora intestinal y reabsorberse.

En el intestino aparecen niveles relativamente altos de HAP y sus metabolitos como resultado de la excreción hepatobiliar, por lo que las heces son la vía principal de excreción en forma de metabolitos tales como: dihidrodioles, fenoles y quinonas libres y conjugadas.

De la información disponible los HAP no persisten en el organismo y su ciclo metabólico es rápido. De lo anterior están excluidos los grupos de HAP que se unen por enlaces covalentes a elementos constitutivos de los tejidos, en particular ácidos nucleicos, y que no se eliminan por reparación.

### **1.3.5 Efectos en animales de laboratorio (38), (39)**

Los efectos biológicos de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, son indicadores de la formación de tumores ( en dosis no cancerígenas) que se materializan por la acción de otros cancerígenos promotores. La administración oral de dosis relativamente bajas, pero reiteradas, produce tumores especialmente del esófago y estómago.

En estudios de corta duración se pusieron de manifiesto efectos hematológicos adversos en forma de mielotoxicidad con el benzo[a]pireno, cambios hemolinfáticos con el dibenz[a,h]antraceno, y anemia con el naftaleno; sin embargo, en un estudio de siete días en el que se administró a ratones naftaleno por vía oral e intraperitoneal se observó tolerancia al efecto de este producto.

En tratamiento prolongado con hidrocarburos aromáticos policíclicos, raramente se han descrito efectos sistémicos, porque la mayor parte de lo

estudios esta orientado al efecto final, que ha sido la carcinogenicidad.. En estudios de los efectos adversos en la piel tras la aplicación cutánea sólo los compuestos carcinógenos, como el benzo[a]antraceno, el dibenzo[a,h]antraceno y el benzo[a]pireno, provocaron hiperqueratosis.

Los vapores de antraceno y de nafataleno provocaron irritación ocular leve. El benzo[a]pireno indujo hipersensibilidad por contacto en cobayos y ratones.

El benzo[a]antraceno, el benzo[a]pireno, el dibenzo[a,h]antraceno, y el naftaleno fueron embriotóxicos para ratones y ratas.

El benzo[a]pireno, mostró así mismo teratogenicidad y efectos en la reproducción.

Se han realizado grandes esfuerzos para aclarar la base genética de efectos embriotóxicos del benzo[a]pireno. Solo se observan mortalidad fetal y malformaciones si es inducible el sistema citocromo P-450 monooxigenasa, bien en la madre (con permigración placentaria) ó bien en el embrión.

No todos los efectos observados se pueden explicar por la predisposición genética en ratones y conejos el benzo[a]pireno mostró actividad carcinógena transplacentaria produciendo adenomas pulmonares, y papilomas cutáneos en la descendencia. Se observó reducción de la fecundidad y destrucción de ovocitos.

Estudios de estos compuestos en valoraciones de la genotoxicidad y de la transformación celular indican que la mayor parte de estos son genotóxicos.

Los únicos compuestos que obtuvieron resultados negativos en las valoraciones antes mencionadas fueron el antraceno, el fluoreno, y el naftaleno (Tabla N° 2)

Los estudios especiales de fototoxicidad, inmunotoxicidad, y hepatotoxicidad, sobre estas sustancias tóxicas como: el antraceno, el benzo[a]pireno, y otros; mostraron fototoxicidad en la piel de mamíferos y en cultivo de células in vitro cuando se aplicaron con radiación ultravioleta. Se ha notificado que estos compuestos tienen efectos inmunosupresores.

Tras la administración intraperitoneal de benzo[a]pireno a ratones, se manifestó una fuerte supresión de los parámetros inmunitarios en la



**Formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4-benzopireno en aceites comestibles alterados por recalentamiento.** De La Cruz Rodríguez, Eduard Ruber; Huaman Gutierrez, Juan Orlando

descendencia durante un periodo de hasta 18 meses. Se observó asimismo una mayor regeneración hepática y aumento del peso del hígado.

Informes sobre la toxicidad ocular del naftaleno, indican la aparición de cataratas en un roedor y esto se ha atribuido a su capacidad de inducción del sistema de Citocromo P-450. Estos estudios fueron realizados con estirpes de ratones genéticamente diferente.

Existe la preocupación de que la carcinogenicidad que se ha demostrado en animales de experimentación puedan serlo también para el ser humano. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos producen tumores, tanto en el lugar de contacto como otros lejanos. Su actividad carcinogénica puede variar en función de la vía de exposición.

**TABLAN° 2**

**PRUEBAS DE GENOTOXICIDAD Y CARCINOGENICIDAD**

**DE 33 HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICICLICOS. (39)**

COMPUESTOS	III. GENOTOXICIDAD	CARCINOGENECIDAD
Acetaftileno.....	(?)	(?)
Acetafteno.....	(?)	NO HAY ESTUDIOS
Antantreno.....	(-)	-
Benzo[a]antraceno.....	+	+
Benzo[a]fluoreno.....	(?)	(?)
Benzo[b]pireno.....	+	+
Benzo[b]fluoranteno.....	+	+
Benzo[b]fluoreno.....	(?)	(?)
Benzo[c]fenantreno.....	(+)	(+)
Benzo[e]pireno.....	(+)	?
Benzo[ghi]fluoranteno.....	(+)	(-)
Benzo[ghi]perileno.....	(+)	-
Benzo[i]fluoranteno.....	(+)	+
Benzo[k]fluoranteno.....	(+)	+
Criseno.....	+	+
Coroneno.....	(+)	(?)
Ciclopenta[cd]pireno.....	+	+
Dibenzo[a,e]pireno.....	+	+
Dibenzo[a,h]antraceno.....	+	+
Dibenzo[a,h]pireno.....	(+)	+
Dibenzo[a,i]pireno.....	+	+
Dibenzo[a,i]pireno.....	(+)	(+)
Fluoranteno.....	+	+
Fluoreno.....	-	-
Indeno[1,2,3-cd]pireno.....	+	+
1-metil fenantreno.....	+	-
5-metil criseno.....	+	+
Naftaleno.....	-	(?)
Perileno.....	+	-
Fenantreno.....	(?)	(?)
Pireno.....	(?)	-
Trifenileno.....	+	-

### **1.3.6 Efectos en el ser humano: (38), (39)**

La complejidad del perfil de los hidrocarburos aromáticos policíclicos en el medio ambiente, y en los lugares de trabajo ha limitado estudios científicos concernientes a los efectos ocasionados por estas sustancias a la exposición humana.

Una exposición durante cinco años al naftaleno que se utiliza como antipolilla para ropa, había provocado cataratas. Los efectos sistémicos del naftaleno se conocen por los numerosos casos de ingesta accidental, particularmente de niños, la dosis letal por vía oral es de 2000 mg ingeridas durante dos días, y para los adultos es de 5000-15000 mg.

El efecto normal tras la exposición por vía cutánea u oral es una anemia hemolítica aguda que, a través de la placenta, puede afectar a los fetos.

Tras la aplicación cutánea, el antraceno, el fluoranteno, y el fenantreno, indujeron reacciones específicas en la piel, y el benzo[a]pireno produjo la formación de verrugas regresivas.

El humo del tabaco contiene altas concentraciones del 3,4 – benzopireno, es el factor aislado más importante en la inducción de tumores de pulmón y también de un aumento de la incidencia de tumores de la vejiga urinaria, pelvis renal, la boca, la faringe y el esófago.

En zonas fuertemente industrializadas se detectó una mayor carga corporal de hidrocarburos aromáticos policíclicos debido a la contaminación de aire. En 1775 se observó por primera vez que la exposición profesional al hollín ocasiona cáncer de escroto; posteriormente se observó también que la exposición a la parafina inducían cáncer cutáneo. Ahora el cáncer inducido por los hidrocarburos aromáticos policíclicos afecta principalmente al pulmón, mientras que el cáncer cutáneo es más raro debido a una mayor higiene personal.

En estudios epidemiológicos a trabajadores expuestos a hornos de coque durante el proceso industrial de coquificación del carbón y su gasificación, en obras de asfaltado, fundiciones e instalaciones de aluminio y a los gases de escape de los motores diesel, se ha detectado en los trabajadores de hornos

de coque, un índice de cáncer de pulmón más elevado con una razón de mortalidad normalizada de 195, debido a su exposición a los hidrocarburos aromáticos policíclicos; se observó asimismo una disminución de la concentración de inmunoglobulina en el suero y una reducción de la función inmunitaria.

En los lugares que utilizan asfalto y los de las salas de crisoles de las instalaciones de reducción de aluminio, no sólo se detectó cáncer de la vejiga urinaria, sino también síntomas semejantes al asma, anomalías funcionales de los pulmones y bronquitis crónica.

Existen métodos para evaluar la exposición interna a estos compuestos. Los metabolitos de los hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en la orina son:

Los Tioéteres urinarios	El 1 – Naftol
Los Hidroxifenantrenos	La $\beta$ – Naftilamina
El 1–Hidroxi pireno	

Este último es utilizado como: Índice biológico de exposición (38).

Los efectos genotóxicos de los hidrocarburos aromáticos policíclicos es determinado mediante pruebas de mutagenicidad en orina y heces, esto se evidencia mediante la presencia de micronúcleos, aberraciones cromosómicas, é intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos de sangre periférica. Además, se ha medido aductos de benzo[a]pireno con ADN en linfocitos periféricos y en otros tejidos, también en proteínas como la albúmina, así como también anticuerpos de aductos de ADN.

En varios estudios el 1– hidroxipireno en orina y los aductos de ADN en linfocitos, se utilizan como marcadores. El primero se mide más fácilmente porque presenta menos variación entre los individuos y es posible detectar niveles de exposición más bajo. Ambos marcadores se han utilizado para evaluar la exposición humana en diversas condiciones.

En varios puestos de trabajo de instalaciones de coque, de fabricación de aluminio, e instalaciones de impregnación de la madera, de fundiciones y de



obras de asfaltado se observó un aumento de la excreción de 1 – hidroxipireno ó de aductos de ADN.

Las exposiciones más elevadas se detectaron en los trabajadores de hornos de coque y en los de impregnación de la madera con creosota, que absorbían hasta el 95% del total de los hidrocarburos aromáticos policíclicos a través de la piel.

#### **1.4 BENZO(A)PIRENO: ( 34)**

El benzo(a)pireno está catalogado por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), ente de la OMS en la categoría 2A que agrupa a las sustancias que poseen probada acción cancerígena en animales, pero poca incidencia en humanos (probablemente cancerígenos humanos). La Agencia de Protección Ambiental y el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos lo catalogan dentro de las 10 sustancias más importantes con riesgo para la salud pública.

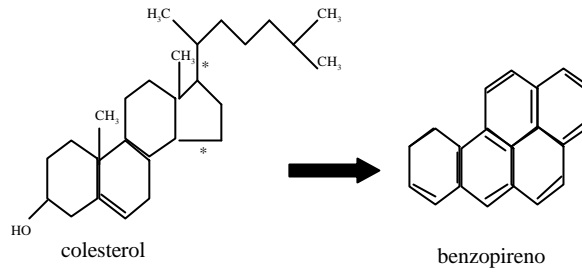
Existe una gran variedad de fuentes naturales de formación del benzo(a)pireno, entre ellas principalmente los incendios forestales y la actividad volcánica. La aportación de estos focos es difícil de estimar, debido a la naturaleza esporádica de los mismos. Las principales fuentes antropogénicas de mayor contribución a la presencia del benzo(a)pireno en el entorno son en orden decreciente a la importancia: procesos industriales, calefacción doméstica, el parque automotor, incineradores y plantas de generación eléctrica. El consumo del tabaco, si bien es insignificante como fuente en general, es de gran importancia como fuente de exposición directa de fumadores y de los cercanos a estos.

La formación del benzo(a)pireno también ocurre durante la combustión incompleta del aceite de cocinar y de los alimentos que se cocinan, tales como: freído, tostado, humeado, braceado y otros mas. La formación del benzo(a)pireno puede darse a partir de la oxidación compleja de los ácidos grasos y carbohidratos; uno de los mecanismos de formación del benzo(a)pireno a partir del colesterol mediante ciclación y deshidrogenación de esta molécula se detalla en la figura N° 1

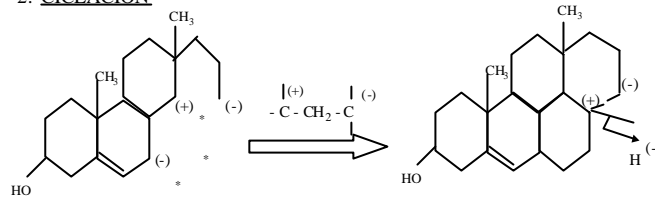
Fig. N° 1

FORMACION DE BENZOPIRENO POR CICLACION DEL COLESTEROL

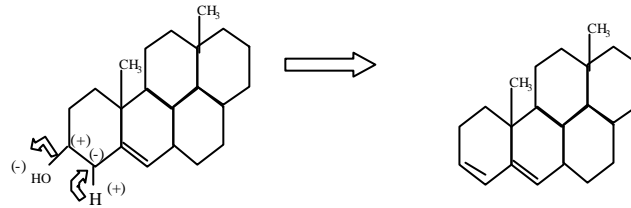
1. Ruptura de Enlaces: C-C



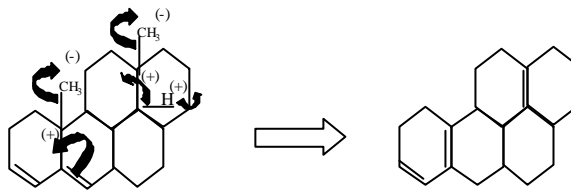
2. CICLACION



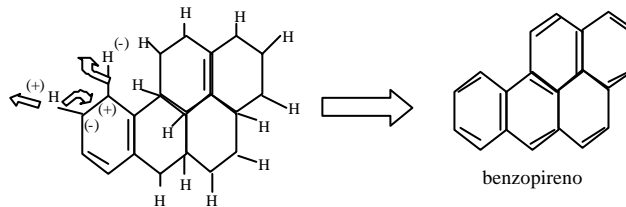
3. DESHIDRATACION



4. DESMETILACION



5. DESHIDROGENACION



#### **1.4.1. Metabolismo (34) , (38)**

Estudio bioquímico en animales (principalmente en roedores) han demostrado que el benzo(a)pireno puede ser absorbido por la vía digestiva y pulmonar; su metabolismo es básicamente hepática y su principal ruta de eliminación es la bilis. La distribución en el organismo se da principalmente en el hígado, seguido por los riñones, pulmones, cerebro y las mamas.

En el hígado, el benzo(a)pireno es metabolizado principalmente por el Citocromo P-450 microsomal NADPH – dependiente, formando varios óxidos de arenos los que sufren luego de procesos de Hidrogenación, hidratación, epoxidación y otros más formando numerosos compuestos. Se cree que el principal metabolito reactivo del benzo(a)pireno es el B(a)<sub>p</sub> – 7,8 – dihidrodiol – 9,10 epóxido, responsable de su acción cancerígena y mutagénica, la formación de diol–epóxidos del benzo(a)pireno también puede ser realizado por enzimas sintetizadoras de prostaglandinas, presentes en muchos tejidos del organismo.

#### **1.4.2 Mecanismo de Acción (38)**

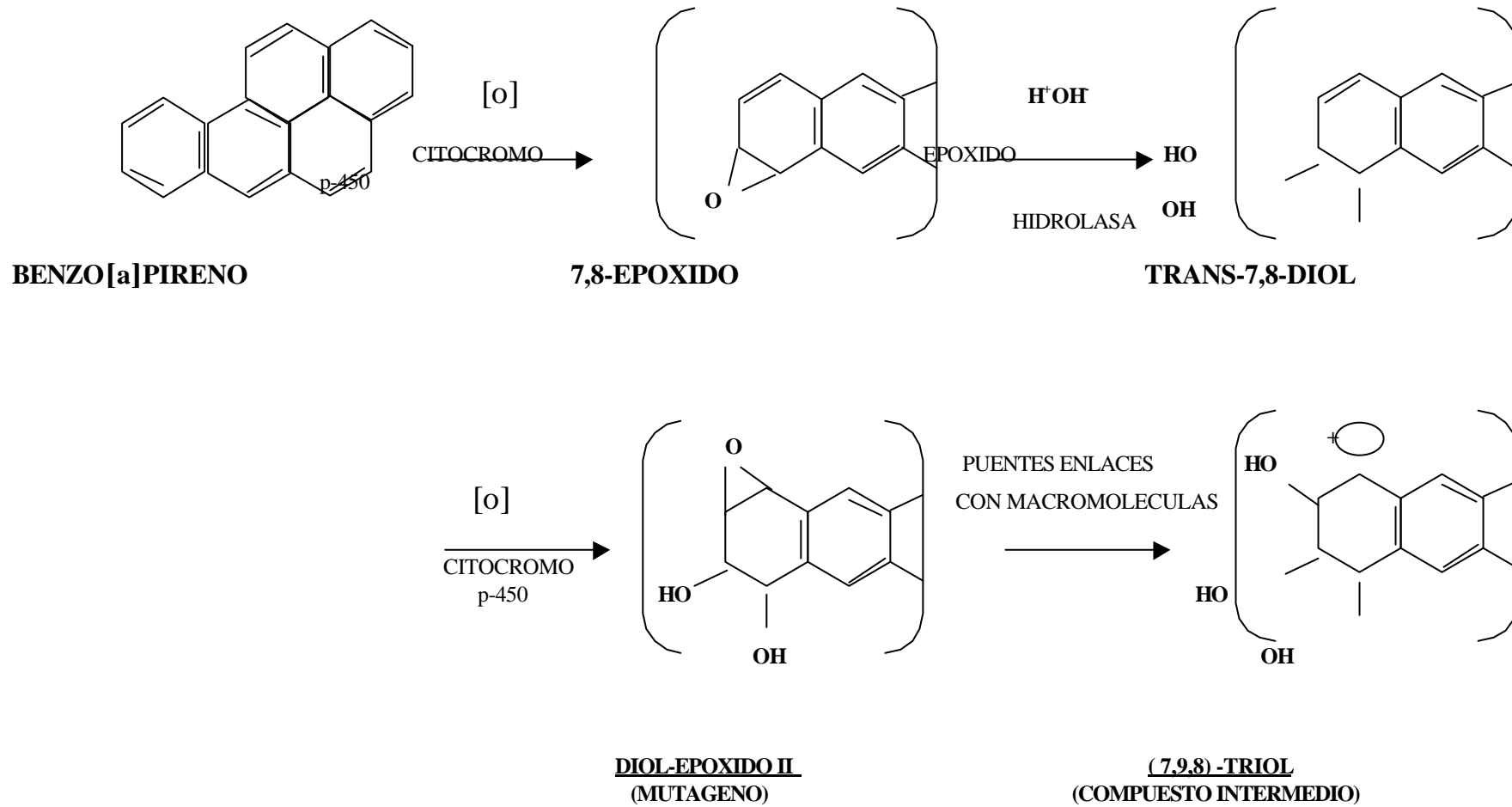
Los mecanismos bioquímicos, mediante los que el benzo(a)pireno inicia el cáncer, se han estudiado con cierto detalle. El benzo(a)pireno no es mutagénico ni cancerígeno por si mismo, sino que debe convertirse primero en metabolitos activos.

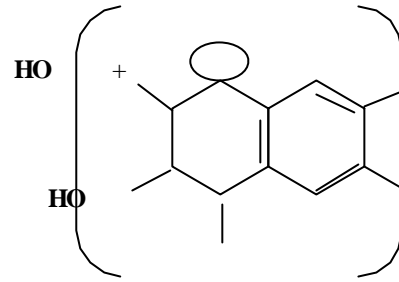
La conversión metabólica, implica inicialmente una oxidación mediada por el Citocromo P- 450 que origina el 7,8 – epóido. Este a su vez, sufre una hidratación, catalizada por la enzima epóxido hidrolasa, rindiendo el 7,8 – diol que tras una nueva oxidación mediada por el Citocromo P-450, da lugar al correspondiente diol–epóxido, que es muy mutágeno en el sitio de administración (Ver Figura N°2).

El benzo(a)pireno diol–epóxido, puede reaccionar con diversos componentes celulares, incluido el DNA, en cuyo caso podría ocurrir una mutación, en el gen P- 53, involucrado en la aparición de diversos tipos de tumores.

**FIGURA N° 2 (28)**

**ACTIVACION METABOLICA DEL BENZO[a]PIRENO**

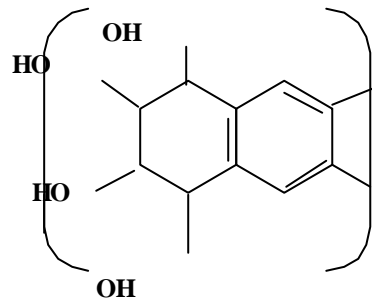




**(7,9,8)-TRIOL**  
**(COMPUESTO INTERMEDIO)**

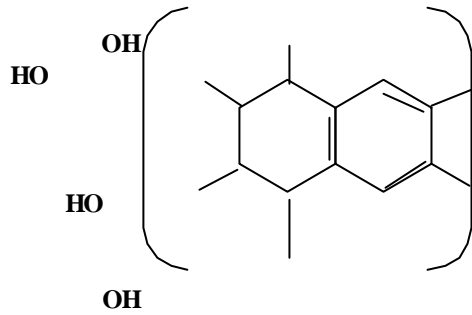


**ENLACE CON MACROMOLECULAS**  
**(MUTACION-CANCER)**



**(7,9,10/8)-TETROL**

+



**(7,9,10/8)-TETROL**

**(COMPUESTO FINAL)**

En estudios realizados, el benzo(a)pireno atraviesa la placenta y origina tumores en las crías de los animales tratados durante la gestación. Las primeras lesiones que aparecen son los tumores de la piel y del pulmón

#### 1.4.3 Propiedades Fisicoquímicas –Características (5), (38)

- **Sinónimos:**

- 3,4 – benzo(a) pireno
- 3,4 – benzopireno
- 3,4 – benz pireno
- 6,7 – benzo pireno
- Benzopireno
- B (a) p
- Benzo(d,e,f) criseno
- BP

**Características:**

Es un compuesto que se presenta como un polvo cristalino ó cristales de color amarillento de fluorescencia amarillo verdosa bajo la luz ultravioleta (depende del solvente eluyente); con un ligero olor aromático.

\* Punto de Fusión : 179- 179,3 °C.

\* Punto de Ebullición: 310 °C, a una presión de 10 mmHg.

495 °C a una presión de 760 mmHg.

\*Solubilidad: El benzo(a)pireno es muy soluble en solventes apolares como benceno, tolueno, xileno, ciclohexano, acetona, éter, dimetilsulfoxido, dimetilformamida. Es poco soluble en etanol, metanol y es casi insoluble en agua.

\*Estabilidad: El benzopireno es relativamente estable, puede ser atacado por oxidantes enérgicos, se puede descomponer por la luz y el oxígeno ambiental.

Las soluciones de benzo(a)pireno en solventes orgánicos pueden opacarse y oxidarse progresivamente bajo la presencia de la luz y el oxígeno ambiental (5).

## 1.5 BENZO(A)ANTRACENO (34)

El benzo(a)antraceno está catalogado por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), ente de la OMS en la categoría 2A que agrupa a las sustancias que poseen probada acción cancerígena en animales y probable acción cancerígena en humanos, aunque su potencia tóxica es mucho menor a la del benzo(a)pireno.

Los estudios realizados indican que este compuesto es el hidrocarburo policíclico que se encuentra en mayor porcentaje que los demás. La exposición crónica a este compuesto condiciona la formación de tumores a nivel pulmonar, dérmico y renal en animales, almacenándose principalmente en el tejido lipídico.

La exposición pública a este compuesto generalmente se da mediante contacto dérmico e inhalación de las emisiones industriales y vehiculares. Este compuesto se almacena con facilidad en los alimentos ricos en grasas, así como también en el agua.

El metabolismo del benzo(a)antraceno ocurre a nivel del complejo del citocromo que se encuentra principalmente en el hígado, actuando principalmente sobre el anillo aromático, generalmente forma radicales epóxidos.

### **Sinónimos**

BA

BENZANTRACENO

1,2-BENZ(A)ANTHRACENE

1,2-BENZANTRACENO

BENZANTRENO

1,2-BENZANTRENO

BENZOANTRACENO

BENZO(B)FENANTRENO

### **Características:**

Este compuesto se presenta como escamas incoloras (esta característica depende del solvente eluyente). Su punto de fusión es de 160 ° C y su punto de ebullición es de 437,6 ° C (a una presión de 760 mm Hg).

Este compuesto es soluble en etanol, tolueno acetona, benceno, y éter etílico. Es muy poco soluble en agua y en etanol caliente. Presenta una fluorescencia verde amarillenta, ya sea en solución o en su forma cristalina.

### **1.6 DIBENZO(A,H)ANTRACENO (34)**

Este hidrocarburo aromático policíclico está catalogado por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), ente de la OMS en la categoría 2B que agrupa a las sustancias que poseen probada acción cancerígena en animales, y probable acción cancerígena en seres humanos. Los estudios realizados indican que este compuesto tiene gran incidencia en la formación de tumores a nivel del tejido hepático, tejido renal, tejido linfático y el tejido mieloide.

La exposición pública a este compuesto generalmente se da por medio del humo del tabaco, inhalación del aire contaminado proveniente de las industrias, así como la ingesta de alimentos y agua contaminada por productos de la combustión.

El metabolismo del pireno ocurre principalmente a nivel del complejo del citocromo que se encuentra principalmente en el hígado, actuando principalmente sobre el anillo aromático.

#### **Sinónimos:**

1,2:5,6-BENZANTRACENO

DB(A,H)A

DBA

1,2:5,6-DIBENZ(A)ANTRACENO

1,2:5,6-DIBENZANTRACENO

1,2:5,6-DIBENZOANTRACENO



### Características:

Este compuesto se presenta como escamas o cristales monocíclicos incoloros Su punto de fusión es de 266 ° y su punto de ebullición es de 524 ° C (a una presión de 760 mm Hg)

Este compuesto es soluble en muchos solventes apolares, acetona, benceno, tolueno, éter etílico, poco soluble en etanol, agua y bencina.

Presenta una fluorescencia azulina tenue, ya sea en solución o en su forma cristalina.

### **1.6 FLUORANTENO (34)**

Este hidrocarburo aromático policíclico está catalogado por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), ente de la OMS en la categoría 3 que agrupa a las sustancias que poseen posible acción cancerígena en animales, pero no posee una probada acción cancerígena en seres humanos.

Los estudios realizados indican que este compuesto ocasiona dermatitis en animales expuestos.

La exposición humana al fluoranteno se da a través del aire, alimentos y el agua contaminada con productos de la combustión, siendo los alimentos la principal ruta de exposición.

El metabolismo del fluoranteno ocurre a nivel hepático, sufriendo generalmente las reacciones de metilación e hidroxilación.

#### Sinónimos:

1,2-BENZACENAFTENO

BENCENO, 1,2-(1,8-NAFTALENODIOL

BENZENE, 1,2-(1,8-NAFTILENO).

BENZO(JK)FLUORENO.

1,2-(1,8-NAFTILENO)BENCENO

### **Características:**

Este compuesto se presenta como agujas de color amarillo o cristales monocíclicos incoloros Su punto de fusión es de 111° C y su punto de ebullición es de 384 ° C (a una presión de 760 mm Hg).

Este compuesto es soluble en muchos solventes apolares como éter etílico, etanol, benceno, cloroformo, disulfuro de carbono y ácido acético glacial; es poco soluble en agua y éter de petroleo.

Las soluciones de fluoranteno presentan fluorescencia azulina tenue.

## **1.7 PIRENO (34)**

El pireno está catalogado por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), ente de la OMS en la categoría 3 que agrupa a las sustancias que no poseen probada acción cancerígena en seres humanos.

Estudios recientes de exposición crónica indican la formación de tumores a nivel pulmonar, dérmico y renal en animales expuestos a este compuesto.

La exposición pública a este compuesto generalmente se da por medio del humo, contacto dérmico e inhalación de las emisiones industriales y vehiculares. La exposición también puede realizarse a través del agua y los alimentos .

El metabolismo del pireno es básicamente a nivel del complejo del citocromo que se encuentra principalmente en el hígado, actuando principalmente sobre el anillo aromático.

### **Sinónimos:**

Benzo(def)fenantreno.

Beta-pireno.



**Formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4-benzopireno en aceites comestibles alterados por recalentamiento.** De La Cruz Rodríguez, Eduard Ruber; Huaman Gutierrez, Juan Orlando

**Características:**

Este compuesto se presenta como cristales prismáticos incoloros (esta característica depende del solvente eluyente).

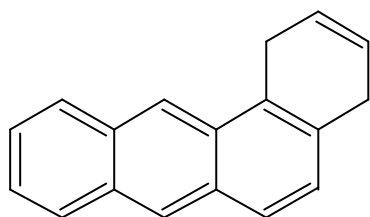
Su punto de fusión es de 151,2 ° C y su punto de ebullición es de 404 ° C (a una presión de 760 mm Hg)

Este compuesto es soluble en etanol, tolueno, disulfuro de carbono y eter etílico. Es muy poco soluble en agua.

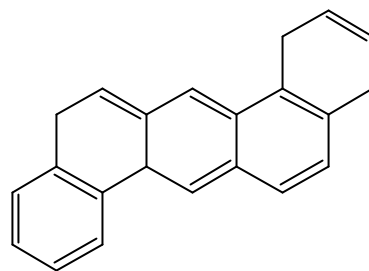
Presenta una fluorescencia azulina tenue, ya sea en solución o en su forma cristalina.

Fig. N° 3

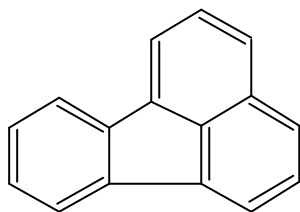
Estructura química de los hidrocarburos aromáticos policíclicos evaluados (39)



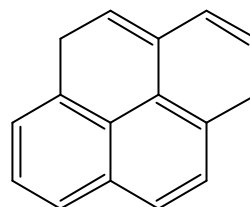
**Benzo (a) antraceno**



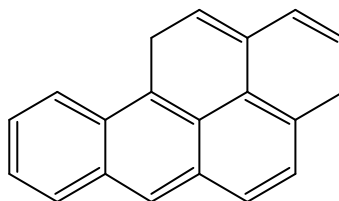
**Dibenzo(a,h)antraceno**



**Fluoranteno**



**Pireno**



**Benzo (a) pireno**



**Formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4-benzopireno en aceites comestibles alterados por recalentamiento.** De La Cruz Rodríguez, Eduard Ruber; Huaman Gutierrez, Juan Orlando

### **Características:**

Este compuesto se presenta como cristales prismáticos incoloros (esta característica depende del solvente eluyente).

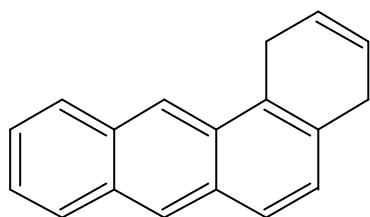
Su punto de fusión es de 151,2 ° C y su punto de ebullición es de 404 ° C (a una presión de 760 mm Hg)

Este compuesto es soluble en etanol, tolueno, disulfuro de carbono y eter etílico. Es muy poco soluble en agua.

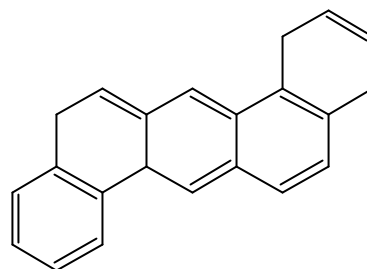
Presenta una fluorescencia azulina tenue, ya sea en solución o en su forma cristalina.

Fig. N° 3

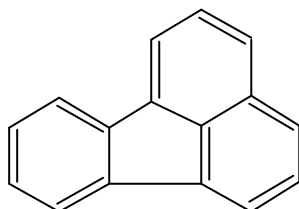
Estructura química de los hidrocarburos aromáticos policíclicos evaluados (39)



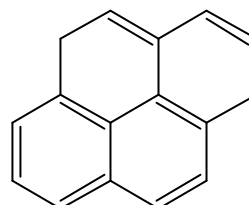
**Benzo (a) antraceno**



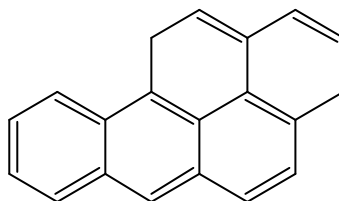
**Dibenzo(a,h)antraceno**



**Fluoranteno**



**Pireno**



**Benzo (a) pireno**



**Formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4-benzopireno en aceites comestibles alterados por recalentamiento.** De La Cruz Rodríguez, Eduard Ruber; Huaman Gutierrez, Juan Orlando

# **PARTE EXPERIMENTAL**

## II MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

Las muestras están constituidas por aceites comestibles tanto alteradas como e inalteradas por recalentamiento provenientes de los diferentes establecimientos de venta de alimentos fritos.

#### 2.1.1 Metodología

##### **a) Determinación del Número de Muestras.**

El tamaño de muestra se estableció en base a la variable del aceite comestible alterado por recalentamiento, representado en la proporción de establecimientos que expenden frituras según la calidad óptima del mencionado alimento para su consumo. Estadísticamente se determinó que la proporción aceptable representada por (p) es de 0,90 y la diferencia de su proporción rechazada está representada por (q) y es del 0,10.

Para la determinación del tamaño de muestra se utilizó la fórmula del cuantil de la distribución normal , concluyéndose que el número representativo es de 41; esta cifra se encuentra sustentada en fundamentos estadísticos. Se tiene las siguientes características:

- \* Se desconoce el número exacto de la población a muestrear representado por dichos establecimientos.

- \* Errores Estándar, cuyo valor es del 5%.

- \* Error de estimación cuyo valor representa el 9%. Este valor permite obtener un mejor aprovechamiento de los recursos para el desarrollo del presente trabajo de investigación; y determina el tamaño de muestra.

##### **Cálculo del tamaño de muestra.**

Proporción de establecimientos según la variable de la calidad óptima del aceite comestible alterado por recalentamiento para su consumo:



P = Aceite recalentado óptimo para el consumo humano.

Q = Aceite recalentado no apto para el consumo humano.

**Por lo tanto:**

$$P = 0,90$$

$$Q = 1 - p = 0,10$$

$$\alpha = 0,05$$

$$z_{\alpha} = 1.96$$

$$E = 0,09$$

**Entonces:**

$$D = \left[ \frac{E}{z_{\alpha}} \right]^2$$

**Reemplazando:**

$$D = \left[ \frac{0,09}{1,96} \right]^2 = 0,0022$$

**Por lo tanto:**

$$n = \frac{\hat{p} \hat{q}}{D}$$

$$n = \frac{0,90 \times 0,10}{0,0022} = 40,90 = 41.$$

Los criterios de muestreo utilizados fueron los siguientes:

1. La cantidad de muestra a recolectar se determinó en base a la cantidad necesaria para poder realizar en su totalidad los análisis por duplicado.
2. La fecha y hora del muestreo se estableció en base al cronograma de trabajo de la Municipalidad. Estos dos factores no influyen en los

resultados debido a que en estos establecimientos el recalentamiento del aceite en la fritura se realiza continuamente todo el día.

### **b) Distribución de los Establecimientos Inspeccionados**

La inspección a los establecimientos mencionados se realizó de manera aleatoria, dentro de los cuales se visitó pollerías, chifas y chicharronerías; siendo su distribución la siguiente:

- Pollerías: 32 establecimientos ( 78,05 %).
- Chifas: 08 establecimientos ( 19,51 %).
- Chicharronerías: 01 establecimiento ( 2,44 %).

### **c) Toma de Muestra**

En los establecimientos inspeccionados, como pollerías, chifas y chicharronerías, se recolectó 2 muestras de aceites comestibles: ante mencionado en forma aleatoria. Para este fin se utilizó frascos de vidrio de color ámbar, boca ancha, seco con tapa hermética, y de capacidad de 150 mL; estas características del envase son importantes para evitar la degradación del 3,4-benzopireno que es sensible a la luz solar y a su vez impedir la oxidación con el aire del ambiente. Las muestras fueron previamente coladas para separar las partículas extrañas que pudiera contener. Adicionalmente para las conservación de las muestras durante el tiempo del análisis se les inyectó nitrógeno y se las almacenó en un ambiente frío.

El trabajo de muestreo se realizó en coordinación con la Municipalidad Metropolitana de Lima, en especial con el Apoyo del personal profesional de la Dirección de Salud y la División del Laboratorio de Bromatología de la Municipalidad; entre los meses de Julio y Agosto del 2001.

## 2.1.2 Equipos, materiales y reactivos:

### Equipos:

- Balanza analítica (OHAUS – AP2105).
- Bomba de vacío (MILLIPORE-CAT-NoXX60000000)
- Campana extractora (HUNGARY – SG - 05B3)
- Campana desecadora
- Cocinas eléctricas
- Estufa (LABOR MUSZERIPARI MUVEK – LP – 303)
- Espectrofotómetro ultravioleta (DIODEARAY-8452-A HP).
- Equipo Completo de Cromatografía en capa fina DESAGA (HILDEBERG-GERMANY).
- Manómetro (Capacidad Máxima: 300 Kp/cm<sup>2</sup>-GERMANY)
- Potenciómetro (HANNA - MODELO – H1 400)
- Refrigeradora
- Rota vapor (BUCHI-461-WATER BATH)
- Sistema de reflujo.
- Termómetro

### Materiales:

- Agitador Mecánico.
- Aros metálicos graduados
- Baguetas de vidrio.
- Balón de vidrio de 100 mL.
- Bombilla de jebe.
- Capilares de vidrio, para cromatografía en capa fina.
- Columna de vidrio para cromatografía en columna de 3,5cm. de diámetro por 30 cm de altura.
- Columna de vidrio para cromatografía en columna de 2,0 cm. de diámetro por 15 cm de altura.
- Cuenta gotas de vidrio.
- Embudo de separación, de 100 mL., 250 mL. y 500 mL.

- Embudo de vidrio de 50 mL., 100 mL. y 250 mL.
- Escobillas de tubos de ensayo.
- Erlenmeyer de vidrio, de 250 mL. y 500 mL.
- Fiolas aforadas de vidrio, de 10 mL., 25 mL, 100 mL. y 250 mL.
- Frasco lavador de plástico.
- Frascos de vidrios de color ámbar de 150 mL.
- Lana de vidrio.
- Luna de reloj
- Placas de vidrio, para cromatografía en capa fina de 20 X 20 cm.
- Pinza variable.
- Pinza de madera.
- Pinza de tornillo.
- Pipetas de vidrio, de 1 mL., 2 mL., 5 mL. y 10 mL.
- Probetas de vidrio, de 25 mL., 50 mL., 100 mL. y 1000 mL
- Tapones de goma.
- Tela metálica.
- Tubos de ensayo de vidrio de 20 cm p.a.
- Tubo refrigerante de vidrio de bolas.
- Soporte universal.
- Vasos de vidrio, de 50 mL., 100 mL.,y 250 mL.

**Reactivos :**

- Acetona (p.a). (- MERCK)
- Acido orto – fosfórico (85%-p.a) (MERCK)
- Acido sulfúrico QP (- MERCK)
- Agua destilada.
- Alcohol etílico al 95%, libre de carbonilos. (BACKER)
- Alcohol neutralizado. (BACKER)
- Alcohol octílico (1-octanol extrapure) (SIGMA)
- Arena de mar calcinada (SIGMA)
- Benceno. (p.a) (- MERCK)

- Benzo(a)pyrene-Estándar al 97% (HPLC)-SIGMA de 250 Mg.
- Celulosa (For Thin Layer Chromatography-8078-1) (-SIGMA)
- Clorhidrato de hidroxilamina (p.a) (-SIGMA)
- Dicromato de potasio (p.a) (-SIGMA)
- Dimetil formamida. (p.a) (-SIGMA)
- Dimetil sulfóxido (DMSO-para síntesis) (MERCK)
- Eter de petróleo (p.a) (MERCK)
- Eter dietílico (p.a) (MERCK)
- Fenolftaleína. al 1% (MERCK)
- Florisil. (para cromatografía en columna: Korngrobe: 0,150-0,250 mm/ 60-100 mesh ASTM) (MERCK)
- Hidróxido de sodio al 8% y de normalidad 0.01. (MERCK)
- Isooctano. (p.a) (MERCK)
- Metanol (p.a) (FISHER)
- Nitrógeno , al 99.98% (p.a) (MESSER)
- Tetracloruro de carbono (p.a) (SIGMA)
- Tiosulfato de sodio, de 0,1 M (SIGMA)
- Tolueno. (p.a) (MERCK)
- Silica- gel-60, granulado. para cromatografía en columna. (Korngrobe: 0,2-0,5 mm/ 35-70 mesh ASTM). (MERCK)
- Sulfato de sodio anhidro(p.a). (MERCK)
- Piridina.(p.a). (MERCK)
- Yoduro de potasio(p.a). (SIGMA)

## 2.2 MÉTODO OPERATORIO:

Las muestras de aceite comestibles alterados e inalterados por recalentamiento se sometieron a los siguientes análisis:

### 2.2.1 Análisis Organoléptico: (28)

\* **Olor:** (28)

- a) Se adicionó 30 mL de la muestra en un beaker de 100 mL de capacidad.
- b) Se evaluó el olor de la muestra, según la clasificación de los olores de las muestras, basado en dos aspectos: lo característico y lo rancio.

\* **Color:** (28)

- a) Se adicionó 30 mL de la muestra en un beaker de 100 mL. de capacidad.
- b) Se ubicó el beaker sobre un fondo blanco.
- c) Se evaluó visualmente, el color de la muestra, según la clasificación de los colores de las muestras que se detallan en amarillo, amarillo – ámbar, pardo oscuro, pardo rojizo, pardo rojizo oscuro y pardo negruzco.

\* **Aspecto:** (28)

- a) Se adicionó 30 mL de la muestra en un beaker de 100 mL.
- b) Se ubicó el beaker sobre un fondo blanco.
- c) Se evaluó visualmente la consistencia de las muestras, según la clasificación de las consistencias de estas como:
  - líquida – oleosa (aceite).
  - siruposa (aceite).
  - sólida (manteca).
  - oleosa sólida (aceite – manteca)

## 2.2.2 Determinación del Valor de Carbonilo (2)

### Método Operatorio:

- A) Preparación del Reactivo de clorhidrato de hidroxilamina:  
Se disolvió 35 g de clorhidrato de hidroxilamina en 160 mL de agua destilada; luego se llevó la solución hasta 1000 mL en etanol al 96% libre de carbonilos.
- B) Se pesó 0,5 g de la muestra de aceite , en un matraz con tapa esmerilada de 100 mL de capacidad.
- C) Se adicionó 15 mL de la mezcla disolvente (Solución de piridina en alcohol n-octílico al 0,5% V/V) y se agitó uniformemente.
- D) Se adicionó 8 mL del Reactivo de clorhidrato de hidroxilamina y se agitó uniformemente por un minuto.
- E) Se dejó en reposo la mezcla durante 24 horas en la oscuridad.
- F) Luego, se trasvasó cuantitativamente la mezcla a un beaker de 100 mL, enjuagando el matraz con 3 mL de etanol al 96% libre de carbonilos.
- G) Se desarrolló una prueba en blanco en forma simultanea.
- H) Se registró el pH de la prueba en blanco.
- I) La mezcla de la reacción conteniendo la muestra de aceite, fué titulada en un potenciómetro en medio no acuoso con una solución standard de hidróxido de sodio 0,5N en metanol; agregando el álcali en porciones de 0,01 mL, agitando bien, luego de cada adición hasta que el pH de la solución sea el mismo que el blanco.

### Cálculos:

$$\text{Valor de carbonilos : } \frac{V \times N \times 1000}{m}$$

(meq/Kg)

Donde:

V: Gasto de la solución de hidróxido de sodio utilizado en la Titulación.

N: Normalidad de la solución standard de hidróxido de sodio.

m: Peso de la muestra en gramos

### 2.2.3 Determinación del Índice de Yodo (método de Wijs) (17)

#### Método Operatorio:

A) Preparación del reactivo de Wijs:

Se disolvió 8g de tricloruro de yodo en 200 mL de ácido acético glacial. y 9 g de yodo en 300 mL de tetracloruro de carbono y luego se mezcló las dos soluciones y se diluyó a 1000 mL con ácido acético glacial.

B) Se vierte de 0,2 a 0,3g de la muestra de aceite, en un matraz esmerilado (de aproximadamente 250 mL de capacidad).

C) Se adicionó 10 mL de tetracloruro de carbono, al matraz esmerilado y se agitó para disolver la muestra.

D) Se adicionó 20 mL del reactivo de Wijs, y se cerró bien el matraz. Se dejó reposar la mezcla en la oscuridad durante 30 minutos.

E) Luego, se adicionó al matraz 15 mL de una solución de yoduro de potasio al 10% y 100 mL de agua destilada. Se agitó bien la mezcla.

F) Se tituló la mezcla con una solución 0,1M de tiosulfato de sodio, usando una solución de almidón al 1% como indicador.

G) Se realizó una prueba en blanco, consecutivamente con la evaluación de la muestra problema.

#### Cálculos:

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(b - a) \times 1,269}{\text{Peso(g) de muestra}} \\ \text{g de yodo/100 g} \\ \text{grasa}$$

#### Consideramos lo siguiente:



a = Gasto de tiosulfato de sodio (en mL), para valorar la muestra

b = Gasto de tiosulfato de sodio (en mL), para valorar en blanco

**Nota:**

Si (b – a), es mayor que b/2, la prueba se debe de repetir utilizando una cantidad menor de muestra.

#### **2.2.4 Determinación del Índice de Acidez (1), (18)**

**Método Operatorio:**

A) Se mezcló 25 mL de éter etílico, con 25 mL de etanol al 96% y 1 mL de solución de fenolftaleína (1%).

Se neutralizó cuidadosamente con una solución de hidróxido de sodio 0,01M.

B) Se disolvió 1,5g de la muestra de aceite, en 10 mL de la mezcla neutralizada de disolventes recientemente preparada. Se agitó hasta solubilizar completamente la muestra.

C) Se tituló la mezcla con una solución de hidróxido de sodio 0,01M, utilizando como indicador una solución de fenolftaleína (1%). Se agitó constantemente hasta que el color rosa persista por un momento (aproximadamente 30 segundos).

**Cálculos:**

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{(56,1) \times N \times V}{\text{Peso de la muestra}}$$

mg NaOH/g m.p.  
(σ)

**Donde:**

N: Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

V: Número de mL gastados de NaOH 0,01M, para la titulación.

#### **2.2.5 Determinación del Porcentaje de Polímeros (26)**

**Método operatorio:**

- A) Se adicionó 0,5g de la muestra a un balón de vidrio de 100 mL.
- B) Se adicionó 60 mL de metanol que contenía 1 mL de ácido sulfúrico al 0,05%.
- C) Se adicionó perlas de vidrio.
- D) Luego se sometió a reflujo durante 2 horas, posteriormente se enfrió a temperatura ambiente.
- E) La fracción metanólica, fue decantada y la fracción insoluble se lavo con 5 mL de metanol frío por tres veces.
- F) La fracción insoluble, se disolvió en 5 mL de éter dietílico y luego se trasvasó a un matraz tarado.
- G) Luego se concentró a sequedad en un recipiente metálico.
- H) Se llevó a la estufa por 30 minutos a 100 °C para evaporar el solvente.
- I) Se enfrió el matraz a un desecador y se pesó.

**Cálculos:**

$$\% \text{ Polímeros en g} = \frac{P_2 - P_1 \times 100}{W}$$

**Donde:**

$P_1$  = Peso Inicial del matraz.

$P_2$  = Peso Final del matraz con la fracción insoluble en gramos.

W = Peso de la muestra en gramos.

**2.2.6 Determinación del Porcentaje de Compuestos Polares (10), (18)**

**Método operatorio:**

- A) Preparación de la columna:

- Se llenó la columna (10 mm de diámetro Interno y 15 cm longitud), con 5 mL del solvente de elución N° 1 (Mezcla de éter de petróleo / éter etílico: 9/1), y se introdujo una porción de lana de vidrio por la parte superior, con la ayuda de una bagueta, removiendo el aire que contiene con presiones constantes.
  - Se preparó en un beaker una suspensión de 5 g de silica-gel, con porciones de solvente de elución N° 1 vertiéndolo luego por la parte superior de la columna con la ayuda del embudo.
  - Se procedió a drenar la solución de elución N° 1 hasta que el nivel del solvente éste a 2 cm sobre el nivel de la sílica-gel.
  - Se adicionó posteriormente, 1g de arena de mar calcinado.
  - Se drenó la solución de elución N° 1, hasta alcanzar el nivel de la arena de mar.
- B) Se pesó 1g de la Muestra de aceite en un beaker de 50 mL y se disolvió en 8 mL del solvente de elución N° 1 (calentar un poco si es necesario). La solución se incorporó cuantitativamente a la columna mediante un embudo. Se dejó drenar la solución hasta alcanzar el nivel de la arena de mar.
- C) Se eluyó la fracción apolar con 50 mL del solvente de elución N° 1, ajustando el flujo del solvente a aproximadamente 1,5 ml/minuto (se lavó el beaker donde se disolvió la muestra con una porción del solvente de elución N° 1 y se adicionó a la columna).
- D) Se recolectó todo el eluato apolar en un matraz tarado.
- E) Se eluyó posteriormente la fracción polar con 50 mL del solvente de elución N° 2 (éter etílico), recolectándose todo el eluato polar en otro matraz tarado.
- F) Se evaporó los solventes, mediante un rotavapor a presión reducida (60°C).
- G) Se desecó el matraz en una estufa a 50 °C por 1 hora.
- H) Se colocó el matraz en una campana de desecación y posteriormente se pesó en una balanza analítica.

**Cálculos:**

$$\% \text{ Compuestos polares} = \frac{M_m - M_v \times 100}{W}$$

**Donde:**

M<sub>m</sub> = Peso del Matraz, mas la muestra Extraída

M<sub>v</sub> = Peso del Matraz vacío

W = Peso de la Muestra de Aceite Inicial

**2.2.7 Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y del 3,4 – benzopireno (14), (15)**

**Método Operatorio:**

**I) Fase de Extracción por Solventes:**

- A) Se pesó 50 g de muestra en un beaker de 100 mL de capacidad.
- B) Se adicionó 75 mL de isooctano pre-equilibrado con dimetilsulfóxido (DMSO).
- C) Se agitó y se trasvasó a la pera de decantación de 250 mL de capacidad.
- D) Se adicionó 40 mL de ácido-orto-fosfórico, se agitó por 5 minutos, se decantó y se eliminó dicho ácido; este proceso se realiza por tres veces consecutivas.
- E) Luego se adicionó 40 mL de dimetilsulfóxido pre-equilibrado con isooctano, y 1 mL de ácido-orto-fosfórico proporción (40 mL/1mL), se agitó, se decantó y se recuperó en un matraz el dimetilsulfóxido (DMSO); este proceso se realizó por tres veces consecutivos.
- F) Se trasvasó a una pera de decantación de 500 mL de capacidad.
- G) Se adicionó 40 mL de isooctano, luego 220 mL de agua destilada; se agitó, se decantó y se recuperó el agua, regresándolo a dicha pera de decantación.

- H) Se incrementó 40 mL de isooctano, se agitó, se decantó y se recuperó nuevamente el agua, regresándolo a dicha pera de decantación.
- I) Finalmente, se adicionó 30 mL isooctano, se agitó, se decantó y se eliminó el agua destilada que a su vez contiene al dimetilsulfóxido..
- J) Se trasvasó el isooctano a una pera de decantación de 250 mL de capacidad.
- K) Se adicionó 40 mL de hidróxido de sodio al 8%, se agitó, se decantó y se elimino dicha base; este procedimiento se realizó por dos veces consecutivas.
- L) Se adicionó 40 mL de agua destilada a 50° C, se agitó, se decantó y se elimino el mencionado liquido; este procedimiento se realizó por tres veces consecutivas.
- LL) Finalmente, el isooctano se trasvasó a un envase de vidrio con tapa hermética, y se le inyectó nitrógeno.

## **II. Fase de Purificación por Cromatografía en columna:**

- A) Preparación de la columna :

Se llenó la columna (20 mm de diámetro interno y 35 cm de longitud) con 25 g de florisil purificado (lavado con metanol) y 15 g sulfato de sodio anhidro granular; luego se humedeció la columna con 50 mL de isooctano y se dejó drenar todo el solvente (eliminación del isooctano por drenado).
- B) Se adicionó el extracto de isooctano a través de la columna; recogándose luego todo el solvente filtrado en un matraz (el benzo(a)pireno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos similares quedan retenidos en la columna).
- C) Se eluyó todo el benzo(a)pireno y los otros hidrocarburos aromáticos policíclicos con dos porciones de 45 mL de benceno, enjuagando previamente el matraz donde estaban los extractos de isooctano con 10 mL de benceno.
- D) Se recogió todo el extracto bencénico filtrado en un matraz limpio.

- E) Se procedió a concentrar los extractos filtrados (de benceno é iso octano) con la ayuda de un rotavapor a presión reducida; hasta obtener un volumen aproximado de 5 mL de cada solución.
- F) Se llevó ambas soluciones a una estufa con ambiente de nitrógeno hasta obtener un volumen aproximado de 0,5 ml. Estas soluciones se utilizaron para realizar la cromatografía en capa fina.

### **III. Fase de Identificación en Cromatografía en Capa Fina (16) :**

- A) Se homogenizó 20g de celulosa en 100 mL de agua destilada por unos cinco minutos, y se preparó ocho placas cromatográficas de 10x20 cm mediante un aplicador de cromatografía en capa fina. Se graduó en espesor del soporte a 0,7 mm de espesor.
- B) Se realizó el sembrado en banda, de las soluciones en las placas cromatográficas (se recomienda que se realice en un ambiente oscuro y en el menor tiempo posible).
- C) Se invirtió y se sumergió la placa cromatográfica, por unos segundos en una solución de dimetil formamida al 20% en éter etílico hasta una distancia de 0,5 cm de la línea de sembrado, luego se retiró cuidadosamente la placa y se dejó reposar por unos 30 segundos.
- D) Se desarrolló el cromatograma en forma normal en una cámara cromatográfica utilizando como fase móvil Isooctano (se recomienda dejar saturar la cámara cromatográfica con el solvente por un tiempo de 45 minutos). El cromatograma se debe desarrollar en un ambiente oscuro.
- E) Se realizó el revelado del cromatograma una vez extraídas de la cámara cromatográfica mediante su exposición a la luz ultravioleta confrontando la muestra problema con un standard para obtener el R<sub>f</sub>. real del benzo(a)pireno.
- F) Se realizó la identificación de los demás hidrocarburos aromáticos policíclicos según el R<sub>f</sub> y el color de la fluorescencia de las manchas

resultantes, utilizando siempre como referencia el Rf de la solución estándar de benzo(a)pireno.

- G) Se delineó cada mancha obtenida y se las extrajo del cromatograma con un suave raspado, luego se extrajo los hidrocarburos aromáticos policíclicos de cada porción con metanol caliente (tres porciones de 5 mL).
- H) Las soluciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos así obtenidas, fueron concentradas en ambiente de nitrógeno y llevadas a un volumen de 5 mL en una fiola, utilizando metanol como eluyente.
- I) Las soluciones que contenían al benzo(a)pireno fueron almacenadas en ambiente de nitrógeno en tubos de ensayo con tapa hermética y protegidos de la luz, para realizar su lectura en el espectro ultravioleta.

#### **IV. Fase de Lectura, por Espectrofotometría Ultravioleta.**

- A) Se determinó la longitud de onda óptima de la solución metanólica del benzo(a)pireno, para lo cual se realizó la lectura por barrido de su espectro ultravioleta entre los 200 y 400 nm a tres concentraciones standard del benzo(a)pireno de 1, 2 y 3  $\mu\text{g/mL}$ , obteniéndose la longitud de onda óptima a los 264 nm.
- B) Se elaboró la curva de calibración de la solución metanólica del benzo(a)pireno. Para esta operación se prepararon 15 concentraciones standard del benzo(a)pireno con una concentración de 0,1  $\mu\text{g/mL}$  hasta 10  $\mu\text{g/mL}$ , partiéndose de una solución patrón de 40  $\mu\text{g/mL}$ .
- C) Se confirmó la presencia del benzo(a)pireno en los extractos que contenían al benzo(a)pireno resultantes del análisis cromatográfico de las soluciones problema mediante sus picos de absorción obtenidos de la lectura por barrido de su espectro ultravioleta entre los 200 y 400 nm.

- D) Se trasvasó cuantitativamente los extractos del benzo(a)pireno y se llevó a un volumen de 5 ml. Se adicionó 10 ug del standard de benzo(a)pireno (standard interno) a cada solución a cuantificar.
- E) Se anotó la absorbancia de cada solución problema, a la longitud de onda de 264 nm.

**Cálculos:**

- Una vez obtenida la absorbancia a esta longitud de onda, se extrapola este dato en la curva de calibración y se obtiene una concentración (Cm).
- Luego se aplica la fórmula:

$$\text{Concentración de B(a)p en el aceite } (\mu\text{g/Kg}) = [(C_m \times 5) - C_o] \times 20$$

**Donde:**

C<sub>m</sub> : Cantidad de benzo(a)pireno hallado en la Curva de calibración

C<sub>o</sub> : Cantidad de Standard Interno (10 µg)

20 : Factor de conversión a Kg ( Relación 1000 g/ 50 g).



Fig. N° 4  
**CURVA DE CALIBRACIÓN DEL BENZO(A)PIRENO**

CUADRO DE VALORES			
CONCENTRACIÓN ( ug/ mL)	ABSORBANCIA	Longitud de onda	: 264 nm
0.2	0.0404	Solvente	: Metanol
0.3	0.0462	Equipo	: Espectrofotómetro ultravioleta
0.4	0.0764		DIODEARAY-8452-A HP
0.5	0.0919		
0.6	0.1260		
0.7	0.1487		
0.8	0.1588		
0.9	0.1847		
1.0	0.2069		
2.0	0.4323		
4.0	0.8793		
6.0	1.3210		
8.0	1.7650		

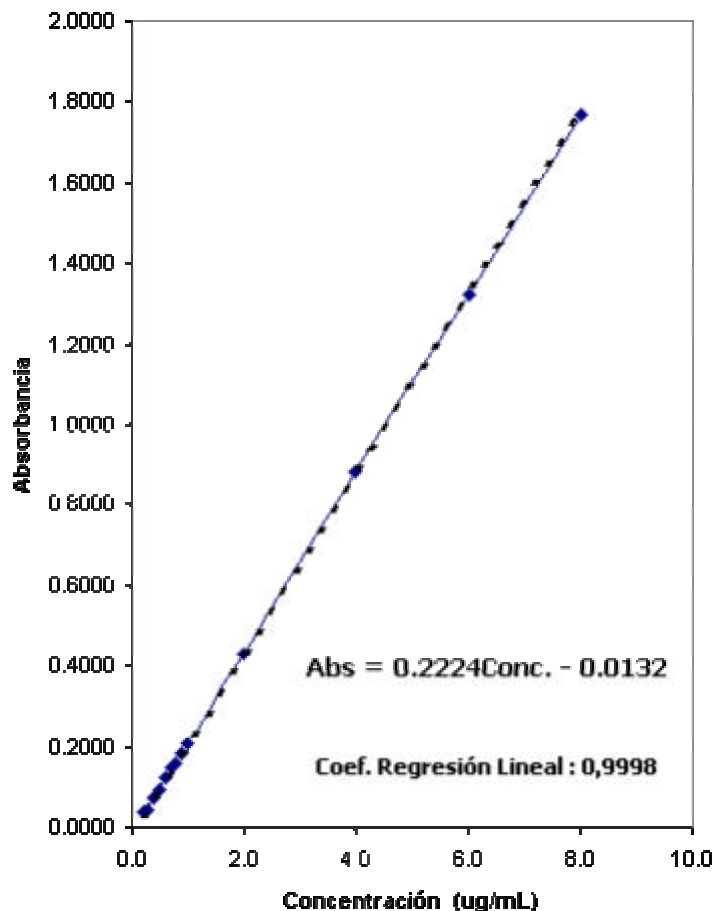
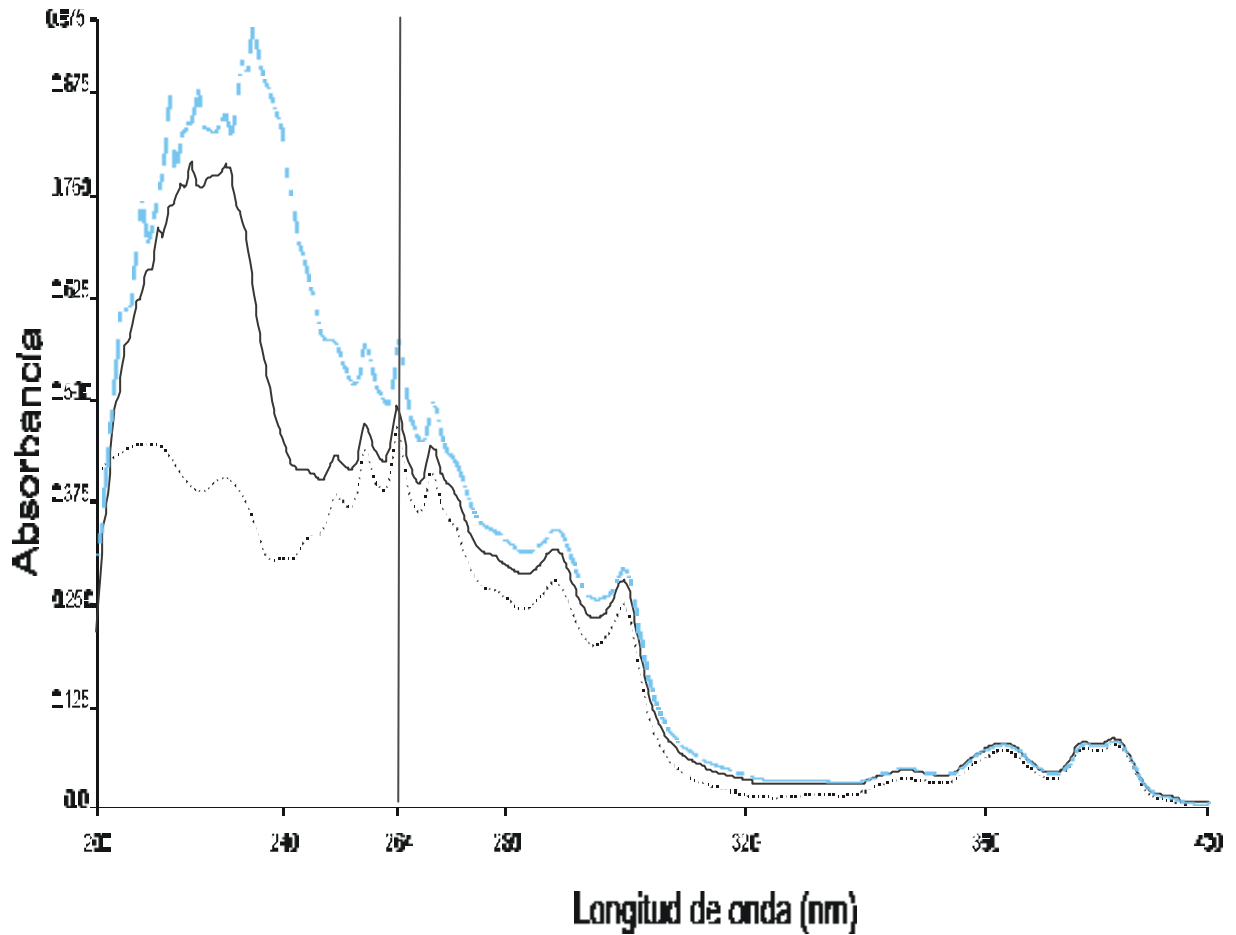


FIGURA 5

ESPECTRO DE ABSORCIÓN ULTRAVIOLETA DE BENZO(A)PIRENO RECUPERADO DE 50 GRAMOS DE ACEITE COMESTIBLE ALTERADO POR RECALENTAMIENTO



\* MUESTRA ESTÁNDAR: 10 ug de Benzo(a)pireno.      .....

\* MUESTRA N°20: 1,125 ug de Benzo(a)pireno  
(22,50 ug/Kg de Benzo(a)pireno).      \_\_\_\_\_

\* MUESTRA N°260: 3,29 ug de Benzo(a)pireno  
(65,80 ug/Kg de Benzo(a)pireno).      \_\_\_\_\_

Obs: para la cuantificación de las muestras se utilizó 10 ug del estándar del Benzo(a)pireno como patrón interno.



### **III. RESULTADOS**

En todos los establecimientos mostrados se observó que el alimento frito estaba constituido a base de carbohidratos (papas, yucas, camote) y carne apanada (generalmente pollo). El aceite utilizado en todos los casos tenía impreso el rotulo de aceite vegetal, el cual se encontraba en recipientes de lata o de plástico de 18 L de capacidad. La temperatura de fritura oscilaba entre los  $180 \pm 20^{\circ} \text{C}$ .

A continuación presentamos los resultados obtenidos.

**(Consultar en formato impreso)**

## IV. DISCUSIÓN

La importancia del presente trabajo consiste en determinar si la oxidación térmica que sufre el aceite debido a su uso continuo en la operación de fritura condiciona la formación del benzo(a)pireno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos cancerígenos; asimismo establecer un parámetro (mediante las técnicas de control de calidad) que permita predecir la formación de dichas sustancias en el aceite termooxidado.

Para cumplir con este propósito se recolectaron muestras de aceite comestible provenientes de 41 establecimientos que expenden alimentos fritos en el Cercado de Lima, en las cuales se evaluó la presencia de estas sustancias cancerígenas (39) y se realizó el respectivo control de calidad (28), (36).

### CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad para cada muestra, tanto para la muestra inalterada como para la alterada por recalentamiento se efectuó mediante el análisis organoléptico y químico:

### Análisis Organoléptico

El análisis organoléptico de los aceites analizados (Cuadro N° 4) mostró los siguientes resultados:

En cuanto al color el 100% de la muestras de aceite inalterado presentaba un color amarillo; mientras que en las muestras alteradas por recalentamiento solo 5 muestras (12.20%), presentaban el color amarillo; 28 muestras (68.29%) presentaban color amarillo ámbar y 8 muestras (19.51%) presentaban color pardo rojizo; esto indica que un gran porcentaje de las muestras ya se encuentran en etapa de alteración, lo que se evidencia por el oscurecimiento del color que es proporcional al tiempo de utilización del aceite en la fritura.

En cuanto al olor, 39 (95,12%) de las muestras de aceite inalterado por recalentamiento presentaban olor sui generis, mientras que 2 muestras (4.88%)

presentaban olor rancio. De las muestras de aceite alterado por recalentamiento 5 de ellas (12,20%) presentaban olor sui generis y 36 (87,87%) presentaban olor rancio; estos valores indican que las muestras de aceite alterados por recalentamiento ya están sufriendo oxidación térmica debido al uso continuo en la fritura. El valor de 4,88% de las muestras de aceites inalterados por recalentamiento con olor rancio indica que estas muestras han sufrido una oxidación ambiental debido a un mal almacenamiento.

En cuanto al aspecto, el 100% de la muestra de aceite inalterado por recalentamiento presentaban un aspecto líquido oleoso, mientras que en las muestras de aceite alterados por recalentamiento 23 de ellas (56,10%) presentaban un aspecto siruposo; 16 muestras (39,02%) presentaban un aspecto oleoso sólido y 2 muestras (4,88%) presentaban un aspecto de manteca. Este aumento en la consistencia se debe al incremento de la viscosidad del aceite (4), que es característico de las muestras reutilizadas en la fritura.

Con respecto al color se observó que las muestras que presentan color amarillo presentan olor sui-generis y las muestras que presentan color amarillo-ámbar y pardo rojizo presentan olor rancio lo que hace confirmar que existe una concordancia entre ambos parámetros con respecto al aceite oxidado.

### **Porcentaje de Compuestos Polares**

En el Cuadro N° 5 se observa una evaluación comparativa del porcentaje de compuestos polares en las muestras de aceite alterado e inalterado por recalentamiento. Se demostró que existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ) entre las medias del porcentaje de compuestos polares de ambos tipos de muestras, esto indica que ha ocurrido una oxidación térmica en el aceite utilizado en la fritura debido al calentamiento continuo (4), (36).

Cabe indicar que el porcentaje de compuestos polares de las muestras analizadas muestran valores que no superan el límite establecido por países europeos (9) de 25% de compuestos polares, a excepción de la muestra 32-D que tiene un porcentaje de compuestos polares de 38,50%.

En comparación con trabajos similares, como Salva (28) quien halló que el 44,8% de las muestras superaban el valor de 25% y de Dobarganes y col. (8) quien halló que aproximadamente un 35% de las muestras tuvieron niveles de alteración superiores a los establecidos por estos países, en la presente investigación sólo se halló que un 2,44% de las muestras analizadas superaban el límites establecido.

### **Porcentaje de Polímeros**

En el Cuadro N° 6 se observa una evaluación comparativa del porcentaje de polímeros en las muestras de aceite alterado e inalterado por recalentamiento. También se demostró que existía una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ) entre las medias del porcentaje de polímeros de ambos tipos de muestras, esto indica que ha ocurrido una oxidación térmica en el aceite utilizado en la fritura debido al calentamiento continuo, lo que ha ocasionado un incremento en la viscosidad de dichas muestras (4).

El porcentaje de polímeros muestra resultados muy disímiles observando que en 06 muestras (14,6%) se supera el límite establecido de 15% (28), estos resultados se encuentran por debajo de los resultados obtenidos por Salva (28) donde el 53,4% de las muestras presentaban valores mayores a 15%, Billek y colab (3) también obtuvieron valores elevados de polímeros en un 32,4% de las muestras de aceite analizadas.

### **Índice de Acidez**

En la determinación del índice de Acidez (Cuadro N° 7) se observó también una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de ambas muestras ( $p < 0,01$ ) lo que mostraba el efecto de la oxidación térmica del aceite durante el recalentamiento, que se manifiesta por el aumento del porcentaje de los ácidos grasos libres provenientes de los ésteres hidrolizados del aceite (36).

Los valores de índice de acidez en las muestras de los aceites alterados por recalentamiento no sobrepasan el límite establecido de 2,5 (9). Estos resultados son similares a los encontrados por Schmid (29), Tewfik (33) y Paradis (25), pero difieren de los resultados obtenidos por White (36), donde un 10,2% de las muestras superaban el límite establecido, así también Salva (28), quien encontró que un 44,8% de las muestras superaban al límite establecido.

### **Valor de Carbonilo**

En el cuadro N° 8 se muestra la evaluación comparativa del valor de carbonilo en ambas muestras de aceite donde también se observa entre las medias una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ), aunque cabe indicar que esta técnica es sensible para detectar fases iniciales de oxidación del aceite similares a la técnicas del índice de acidez pero a diferencia de esta técnica, el valor de carbonilo sólo muestra una relación proporcional al tiempo de uso del aceite hasta aproximadamente 30 horas de uso, para luego disminuir rápidamente en sus valores, este comportamiento del valor de carbonilos ya ha sido descrito por Bhalerao (2) y es el motivo por el cual no presenta límites internacionales.

### **Índice de Yodo**

En la determinación del índice de yodo en las muestras evaluadas (cuadro N° 9), también se observa entre las medias una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ). Se observa una marcada disminución de los valores del índice de yodo a medida que el tiempo de uso del aceite aumenta, esto debido a la oxidación térmica que sufre el aceite durante este proceso; este hecho ya fue señalado por Tewfik (33) y otros investigadores (29), (36) quienes obtuvieron tasas de disminución muy distintas unas de otras que depende de la composición y cantidad de ácidos grasos que presenta cada tipo de aceite comestible por lo que no se ha podido establecer límites estándares para esta técnica.

## **Correlación del Grado de Oxidación con las Técnicas de Control de Calidad**

Todas las técnicas iniciales de control de calidad muestran una buena correlación con el grado de oxidación del aceite cuando es calentado en el laboratorio, muchos investigadores han comprobado esta correlación (3), (25), (26), (33), (36) pero esta correlación se pierde cuando se trata de evaluar las muestras de aceite utilizados en establecimientos comerciales que expenden alimentos fritos, donde el aceite es recalentado continuamente. Debido a este problema han aparecido nuevas técnicas de análisis más complejas (36): técnicas cromatográficas, medición de ácidos dienoicos conjugados, porcentaje de compuestos polares y otras ; siendo el porcentaje de compuestos polares la técnica más aceptada en muchos países. Xin-Qing Xu (40) ha obtenido una buena correlación lineal entre el porcentaje de compuestos polares y el tiempo de uso del aceite en la fritura de papas, obteniendo la fórmula  $Y = 0,6274X - 1,6$  donde "Y" corresponde al porcentaje de compuestos polares y "X" corresponde al número de horas que se utiliza al aceite para freír las papas, entonces para un valor de compuestos polares del 25% (límite establecido) le corresponde un tiempo de fritura de 42,4 horas que sería el límite del tiempo de uso del aceite. En la presente investigación se halló un valor de compuestos polares d 37,50% el que equivale a un tiempo de utilización del aceite de fritura de 62,3 horas si lo reemplazamos en la fórmula anteriormente mencionada.

## **DETERMINACIÓN DEL BENZO(A)PIRENO Y OTROS HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS**

Para la cuantificación del benzo(a)pireno se utilizó la técnica descrita para Howard y Fazio (14), esta técnica aceptada por A.O.A.C. muestra resultados comparables a los resultados obtenidos por el método oficial aprobado por A.O.A.C (1)., siendo la técnica de Howard y Fazio (15) más práctica que la técnica oficial. Debido a que el límite de detección en la



técnica empleada fue de 1 ug/kg, y la sensibilidad respectiva fue de 0,1 ug, se puede afirmar que la técnica empleada es adecuada para cuantificar al benzo(a)pireno.

La identificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos se realizó mediante el desarrollo de la cromatografía en capa fina del extracto purificado de la muestra de aceite para lo cual se determinó el  $R_f$  y la fluorescencia que presentaban bajo la luz Ultravioleta, luego se comparó estos resultados con los descritos por Howard y Col. (16) teniendo como referencia al estándar del benzo(a)pireno con el que se estableció una relación entre los valores de  $R_f$  obtenidos en la presente investigación y el  $R_f$  hallado por Howard y Col (16).

En los cuadros N° 10 y 11 se describen a los hidrocarburos aromáticos policíclicos detectados en las muestras de aceite inalterado y alterado por recalentamiento respectivamente, encontrándose en ellos al benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno y pireno. Cabe indicar que todos estos compuestos hallados están incluidos dentro del grupo de hidrocarburos aromáticos policíclicos con gran potencial cancerígeno para la salud pública, establecido por el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos (34).

Al realizar la comparación de la presencia de estas sustancias (cuadro N° 12) cancerígenas se observa que el porcentaje del benzo(a)pireno en las muestras de aceite alterados por recalentamiento disminuye considerablemente, mientras que lo contrario ocurre con el dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno y pireno que aumentan en las muestras de aceite alterados por recalentamiento.

En el Cuadro N° 14 se observa la concentración del benzo(a)pireno en muestras de aceite alterado y no alterado por recalentamiento; observándose que hay una

disminución significativa ( $p < 0,09$ ) de la concentración del benzo(a)pireno en las muestras de aceite alterado por recalentamiento.

Las concentraciones de benzo(a)pireno hallados en las muestras de aceite no alterado por recalentamiento muestran resultados que van de 0,00 hasta 43,20 ug/Kg con un promedio de 22,36 ug/Kg; estas concentraciones son comparables a las halladas por Pupin y Toledo (27), pero son muy elevadas en comparación con los resultados hallado en Europa por diversos investigadores (24), (39). Estas concentraciones superan largamente los parámetros establecidos por países como Alemania y Holanda que es de 1 ug/kg (13) y recientemente en España (11), donde se establece un límite de 2 ug/kg. (El 93,75% de las muestras de aceite inalterado por recalentamiento superan los límites europeos). Una de las razones de la elevada concentración del benzo(a)pireno en las muestras de aceite inalterado por recalentamiento se debería según nuestra opinión a que los envases que contienen al aceite no presentaban tapa hermética y pueden sufrir una contaminación del benzo(a)pireno presente en el ambiente proveniente de la contaminación vehicular, el humo de chimeneas y otras fuentes.

Al evaluar la correlación entre los valores de las técnicas de control de calidad y la cantidad de benzo(a)pireno hallado (Cuadro N° 16) mediante el programa informático ESTADISTA II, se encontró que la significancia en todos los casos era mayor de 0,05, siendo requisito indispensable para establecer una correlación entre dos variables que la significancia sea menor o igual a 0,05. Esto ocurre por el motivo de que no se halló el benzo(a)pireno en gran porcentaje en las muestras de aceite alterado por recalentamiento.

Esta disminución del benzo(a)pireno en las muestras de aceite alterado nos lleva a formularnos una pregunta ¿Qué ocurre con el benzo(a)pireno que

"desaparece" de estas muestras de aceite?. Podría deberse a la ocurrencia de dos fenómenos: Que el benzo(a)pireno, por el mismo estrés oxidativo del proceso de fritura continua se degrade y forme otros compuestos químicos, o que debido a las elevadas temperaturas a las que se encuentra sometido durante el freído se volatilice y formaría parte del humo que se desprende del aceite recalentado. Este segundo fenómeno es más probable que ocurra ya que varios investigadores han comprobado la acción mutagénica (31) y probable acción cancerígena (42) de estos vapores y uno de ellos, Li Shuguang y col. (21), ha detectado la presencia del benzo(a)pireno y otro hidrocarburos aromáticos policíclicos en estos vapores tóxicos.

## V. CONCLUSIONES

1. Se ha detectado la presencia de 05 hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de aceite alterados e inalterados por recalentamiento: Benzo(a)antraceno benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno y pireno; todos estos compuestos están incluidos dentro del grupo de hidrocarburos aromáticos policíclicos de gran potencia carcinogénica.
2. Se ha detectado la presencia del benzo(a)pireno, en el 100% de las muestras de aceite comestible no alterado por recalentamiento en cantidades que van de 17.6 ug/Kg hasta 43,2 ug/Kg, con un promedio de 26,13 ug/Kg.
3. La presencia del benzo(a)pireno en muestra de aceite comestible alterado por recalentamiento fue menor a las de aceite no recalentado. Los valores fueron los siguientes: En muestras provenientes de pollerías se detectó en un 56,25% de ellas, con una concentración que va de 8,20 ug/Kg hasta 65,8 ug/Kg y con un promedio de 29,19 ug/Kg. En muestras provenientes de chifas se detectó en un 37,5% de ellas con una concentración que va de 16,90% ug/Kg hasta 41,7 ug/Kg y con un promedio de 29,53 ug/Kg. En una muestra de aceite proveniente de una chicharronería se le detecto con una concentración de 18,10 ug/Kg.
4. Todas las muestras de aceite comestible analizado presentaban cantidades que superaban considerablemente el límite establecido por países europeos que es de 2 ug/Kg.

5. De las 41 muestras de aceite vegetal alterado por recalentamiento, solamente 01 (2,44%) no cumple con las especificaciones internacionales para este tipo de producto, siendo no apta para el consumo humano.
  
6. No se ha encontrado correlación entre la cantidad de benzo(a)pireno detectado en las muestras de aceite comestible alterado por recalentamiento con los respectivos valores de cada una de las técnicas de control de calidad utilizadas en la presente investigación; sin embargo se observa una cierta relación entre los resultados significativos de benzo(a)pireno con el porcentaje de compuesto polares: a medida que aumenta el porcentaje de compuestos polares de una muestra disminuyen la cantidad de benzo(a)pireno hallado.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Se debe de evaluar la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos y entre ellos al 3,4-benzopireno en el humo que se desprende del aceite utilizado durante la fritura de alimentos y determinar el grado de importancia de estas sustancias en su acción carcinogénica.
2. Se debe de monitorear la presencia del benzo(a)pireno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos en los aceites comestibles que se comercializan en nuestro mercado.
3. Se debe de evaluar la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos cancerígenos, entre ellos al benzo(a)pireno en alimentos braseados, ahumados y a la parrilla.
4. Realizar el control permanente de los aceites de fritura empleadas en las pollerías, chifas, chicharronerías y otros establecimientos similares, no sólo en Lima Metropolitana sino también en otros distritos.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A.O.A.C. International. *Official Methods of Analysis of AOAC International* 2000. 17<sup>th</sup> edition. Vol II. Maryland. USA.
2. Bhalerao V.R., Endres J.G. and Kummerow F.A. A method for determining the carbonil value in thermally oxidized fats. *J Am Oil Chem Soc* 1961; 38(12): 689-691.
3. Billek G., Guhr G. and Waibel J. Quality Assesment of used frying fats. A comparison of four methods. *J Am Oil Chem Soc* 1978; 55(6): 728-733.
4. Blumenthal M. A new look at the chemistry and physics of deep-fat frying. *Food Technol* 1991; 45(2):68-71
5. Castegnaro, M. et al. *Laboratory decontamination and destruction of carcinogens in laboratory wastes: some polycyclic aromatics hydrocarbons*. 1983. IARC Publications N° 49,: Internacional Agency for Research on Cancer. Lyon, France. Pág. 45-46.
6. Clark W. and Serbia G. Safety aspects of frying fats and oils. *Food Technol* 1991; 45(2):84-89.
7. Coultate T.P. *Food: The chemistry of its components*. 1996. 3rd ed. Royal Society of Chemistry Paper-backs. London. England. Pág:66-69; 250-252.
8. Dobarganes M.C. y Márquez G. Calidad de las grasas de fritura en el sector de restauración de Andalucía. *Grasas y Aceites*. 1995; 46(2): 115-120.
9. Dobarganes M.C. y Márquez G. Regulación de las grasas de frituras usadas y validez de las pruebas rápidas para desechar las grasas. *Grasas y Aceites*. 1998; 49(3-4): 331-335.
10. Dobarganes M.C., Velasco J. And Dieffenbacher A. Determination of polar compounds, polymerized and oxidized triacylglycerols and diacylglycerols in oil and fats. Results of collaborative studies and the standardized method. *Pure Appl Chem* 2000; 72(8): 1563-1575.
11. España. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid. *Orden del 25 de Julio del 2001 por la que se establece límites de determinados hidrocarburos aromáticos policíclicos en el aceite de orujo de oliva*.

12. Fennema O. *Introducción a la ciencia de los alimentos*.1996.Ed. Reverté S.A. Zaragoza. España. Pág. 230-267.
13. Gonzáles Ma. José. Contaminación de alimentos por hidrocarburos policíclicos aromáticos, bifenilos policlorados y metales pesados. *Rev. Agroquím. Tecnol. Alim.* 1985; 25(4): 507 – 520.
14. Howard, J. et al. Extraction and estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. *J Assoc Off Anal Chem* 1966; 49(6): 1236-1244.
15. Howard, J. Y Fazio T. Review of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. *J Assoc Off Anal Chem* 1980; 63(5): 1077-1104.
16. Howard J. y White R. Thin layer chromatography of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Chromat* 1967.;29(3): 108-114.
17. ITINTEC. *Determinación del índice de yodo en aceites comestibles. Método de Wijs*. 1986. NTP 221.5 Lima-Perú
18. IUPAC. *Standard methods for analysis of oils, fats and derivatives*. 1987. 7<sup>th</sup> ed. IUPAC. Appl. Chem Commision on Oils, Fats and Derivatives. Oxford. England
19. Jacobson Glen. Quality control in deep-fat frying operations. *Food Technol* 1991; 45(2): 72-74.
20. Keuneke R. Health destructive effects of frying. *Total Health* 1999; 21(3): 26-28.
21. Li Shuguang, Pan Dinhua and Wang Guoxion. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in cooking oil fumes. *Arch Environ Health* 1994; 49(2): 119-122.
22. Lindner E. *Toxicología de los alimentos*. 1995. Traducido de la 4ta. ed. Por Aurora Pérez T. Ed. Acribia. Zaragoza. España. Pág. 154-160.
23. Lioy P. y Waldman J. The total human environmental exposure study (THEES) to benzo(a)pyrene: Comparison of the inhalation and food pathways. *Arch Environ Health* 1988; 43(4):304-312.
24. National Food Agency. Finland. Intake of PAH compounds from foodstuffsanalysed. [Sitio en internet] disponible en:



<http://www.elintarvikervirasto.fi/english/tiedotteet/press2499.html>. Acceso el 27 de diciembre del 2001.

25. Paradis A. J. and Nawar W.W. Evaluation of new methods for assesment of used frying oils. *J Food Sci* 1981; 46(8): 449-453.
26. Peled M., Gutfinger T. and Letan A. Effect of water and BHT on stability of cottonseed oil during frying. *J Sci Fooc Agric* 1975; 26(7): 1655-1666.
27. Pupin AM. and Toledo M..C. Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetable oils. *Food Addit Contam* 1996; 13(6): 639-645.
28. Salva J. *Evaluación químico-toxicológica de aceites comestibles oxidados térmicamente* [Tesis Bachiller ] 1990. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
29. Schmid M and Isengard H.D. Methodenvergleich zur charakterisierung thermisch veränderter fritierfette und-ole *Z. Ernährungswiss* 1998; 37(2): 164-170.
30. Shibamoto T. y Bjeldanes L. *Introducción a la toxicología de los alimentos*. 1996. Ed. Acribia. Zaragoza. España. Pág. 179-185.
31. Shields P.G. et. al. Mutagens from heated chinese and U.S. cooking oils. *Journal Natl Cancer Inst* 1995; 87(11): 836-841.
32. Sonntag N.O.V. *Reactions of fats and fatty acids. An evaluation en Bailey's Industrial oil and fat productos*. 1982. Vol 2 4<sup>th</sup> editon. Wiley-Interscience Publication. New-York. USA. Pág. 320-327.
33. Tewfik J., Ismail H. y Sumar S. The effect of intermitent heating on some chemical parameters of refined oils used in Egypt. *Int J Food Sci Nutr* 1998; 49(5): 339-342.
34. TOXNET (Toxicological Data Network). Base de datos disponible en <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> Acceso el 23 de marzo del 2002.
35. Valle. P. *Toxicología de los alimentos*. 1991.2da ed. OMS. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Metepec. México. Pág. 106-112.

36. White P. Methods for measuring changes in deep fat frying oils. *Food Technol* 1991; 45(2): 75-83.
37. Wong D. *Química de los Alimentos*. 1995. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. España. Pág. 13-19.
38. Compact Library: INTOX [Base de datos en CD-ROM actualizada cada año]. Versión 2. Año 1999. WHO. International Programme on Chemical Safety.
39. World Health Organization. *Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons*. 1998. Environ Health Criteria N° 202. International Programme on Chemical Safety. Geneva. Italy. Pág. 240-249.
40. Xin-Qing Xu. A new spectrophotometric method for the rapid assesment of deep frying oil quality. *J Assoc Off Anal Chem* 2000; 77(10): 1083-1086.
41. Zakrzewski S. *Principles of envirommental toxicology*. 1991. American Chemical Society Proffesional Reference Book. Washington D.C. USA. Pág. 44-55.
42. Zhong L., Goldberg M., Parent M.E. and Hanley J. Risk of developing lung cancer in relation to exposure to fumes from chinese-style cooking. *Scand J Work Environ Health* 1999; 25(4): 309-316.