



Master Propio en Seguridad Alimentaria

**ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE
CLOROPROPANOS EN LAS DISTINTAS
CLASES COMERCIALES DE ACEITE DE OLIVA
Y MEDIDAS A ADOPTAR**

Trabajo de Fin de Master

**Nombre alumno:
M^aÁngeles Jiménez Manzano**

Convocatoria:
Madrid, Julio de 2019

Índice

1	INTRODUCCIÓN	- 1 -
2	OBJETIVOS	- 2 -
3	MATERIALES Y MÉTODOS	- 2 -
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 3 -
4.1.	Los cloropropanodiolos y sus ésteres como contaminantes de procesado.	- 3 -
4.1.1.	Definición de glicidol, 2-MCPD, 3-MCPD y sus ésteres.....	- 3 -
4.1.2.	¿Cómo se forman estos contaminantes?.....	- 3 -
4.1.3.	Alimentos que contienen estos contaminantes.....	- 5 -
4.1.4.	Efectos tóxicos.	- 6 -
4.1.5.	Marco normativo.....	- 6 -
4.2.	Consideraciones sobre los aceites de oliva	- 7 -
4.2.1.	Clases comerciales de aceites de oliva.	- 7 -
4.2.2.	Elaboración del aceite de oliva.....	- 8 -
4.2.3.	Prácticas permitidas en los distintos aceites y oliva virgen.....	- 11 -
4.3.	Evaluación de los datos analíticos de cloropropanodiolos en aceite de oliva. ..	- 12 -
4.4.	Estrategias de mitigación	- 14 -
5	CONCLUSIONES	- 17 -
6	BIBLIOGRAFÍA	- 18 -

1 INTRODUCCIÓN

La Agencia de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) integra y desempeña en el marco competencial de la Administración General del Estado las funciones relacionadas con la promoción y la protección de los consumidores: seguridad alimentaria y nutrición saludable. En la Subdirección de Promoción de la Seguridad Alimentaria, en concreto, en el Servicio de Gestión de Contaminantes en el que se han llevado a cabo las prácticas, se estudian los distintos peligros asociados a la presencia de agentes químicos. En el presente trabajo se abordan los aspectos relativos a la presencia de cloropropanoles en aceites de oliva comerciales.

El glicidol y los monocloropropanodiolos: 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPD), y 2-monocloropropano-1,2-diol (2-MCPD) se consideran contaminantes desde el punto de vista del Reglamento (CE) N° 315/1993. Se generan en la fabricación de los alimentos; por lo que son contaminantes de proceso. Los monocloropropanodiolos producen, entre otros, problemas de nefrotoxicidad, hepatotoxicidad y neurotoxicidad. La IARC ha clasificado los ésteres de glicidol como 2A (probable carcinógeno en humanos) y los de 3-MCPD como 2B (posible carcinógeno en humanos), aun no hay clasificación para el 2-MCPD (IARC, 2012).

Los monocloropropanodiolos y sus correspondientes ésteres de ácidos grasos se identificaron a fines de la década de 1970 en la composición de *proteína vegetal hidrolizada (HVP)* que se utiliza como un ingrediente alimentario que mejora el sabor y en la *salsa de soja*. El glicidol está asociado con la formación y descomposición de 3 y 2-MCPD (EFSA, 2016). A raíz de este descubrimiento se establecen los límites máximos de 3-MCPD para estos alimentos y de glicidol para aceites y grasas comestibles (Reglamento (UE) N° 1881/2006).

Los ésteres de 3 y 2-MCPD y glicidol son contaminantes que se han detectado en los aceites vegetales procesados (EFSA, 2016). En el seno de la Unión Europea en base al riesgo de estos contaminantes se está discutiendo el establecimiento de límites máximos en aceite de oliva (AO), aceite de oliva virgen (AOV) y virgen extra (AOVE). Por ello, y dada la importancia de este alimento en nuestro país, desde el Servicio de Gestión de Contaminantes se propone estudiar la presencia de cloropropanoles (en concreto glicidol, 3-MCPD y 2-MCPD) en las diferentes clases de aceites de oliva para valorar si existe una necesidad real de llevar a cabo una gestión basada en el establecimiento de límites legales o recomendaciones en su caso.

2 OBJETIVOS

En base a lo expuesto anteriormente, nos planteamos como objetivo fundamental del presente Trabajo Fin de Master, demostrar la influencia de la temperatura aplicada a los procesos de obtención del aceite oliva con respecto a la presencia de 3-MCPD y ésteres de glicidol.

Con esta intención, se proponen los siguientes objetivos específicos:

- 1) Adquirir conocimientos sobre estos tipos de contaminantes en relación al riesgo que pueden suponer para la salud humana.
- 2) Adquirir los conocimientos necesarios sobre el aceite de oliva, aceite de oliva virgen y virgen extra y sus métodos de elaboración.
- 3) Examinar la evaluación de riesgos de estos contaminantes.
- 4) Estudiar los datos proporcionados por el sector fabricante de aceite.
- 5) Analizar y relacionar los datos proporcionados por el sector y la evaluación de riesgo de estos contaminantes.
- 6) Estudiar las posibles estrategias.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

Este Trabajo de Fin de Máster se ha realizado en colaboración con el Servicio de Gestión de Riesgos de Contaminantes en Alimentos perteneciente a la Subdirección de Promoción de Seguridad Alimentaria de la Agencia de Seguridad Alimentaria y Nutrición, AESAN.

El trabajo presentado en esta memoria, no sólo se restringe a una revisión bibliográfica exhaustiva sobre el tema, para su análisis posterior, sino que además se han recabado datos experimentales acerca de estos contaminantes en distintas clases de aceites de oliva (AO, AOV, AOVE) que nos aproximarán a la realidad del problema y nos aportarán unos resultados más concluyentes en relación a las posibles medidas a establecer en este tipo de alimentos.

En relación a la revisión bibliográfica, se ha llevado a cabo una búsqueda acudiendo a distintas fuentes como las páginas web oficiales de la EFSA, OMS y la propia AESAN, para recabar información sobre estos contaminantes objeto de estudio: publicaciones científicas, evaluación de riesgo, gestión de riesgo, legislación o recomendaciones relacionadas con los cloropropanoles.

Se ha procedido a la búsqueda de publicaciones científicas en el repositorio bibliográfico PubMed. Los artículos se han seleccionado teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- Escritos preferentemente en idioma inglés o castellano.
- Publicados en los diez últimos años.
- Que no tuvieran como temática principal la descripción de un método de ensayo.

También se ha efectuado una búsqueda de información sobre el aceite de oliva, virgen, virgen extra y refinado: sus definiciones y su método de elaboración en la legislación vigente a través de Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) y el Consejo Oleícola Internacional. Las Consultas de legislación se han realizado en el portal Eurlex para normativa Europea y portal de Noticias Jurídicas para la normativa nacional.

Paralelamente se ha procedido a la consulta de datos analíticos de 3-MCPD y GE en aceite de oliva, virgen, virgen extra y refinado facilitados por operadores gracias a la Interprofesional del Aceite de Oliva Español y su análisis realizado por el Instituto de la Grasa (IG)-CSIC.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Los cloropropanodiolos y sus ésteres como contaminantes de procesado.

4.1.1. Definición de glicidol, 2-MCPD, 3-MCPD y sus ésteres.

Según la definición del **Reglamento (CEE) N° 315/93 DEL CONSEJO de 8 de febrero de 1993**, el glicidol, el 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPD), el 2-monocloropropano-1,2-diol (2-MCPD) y sus ésteres, se incluyen dentro de los contaminantes. Concretamente, son contaminantes de procesado que pertenecen al grupo de los cloropropanoles, derivados clorados del glicerol (1, 2,3-propanotriol), que se forman durante procesamiento de alimentos (AESAN, 2016). Los MCPD libres se forman en diversos alimentos procesados. Los ésteres de 3 y 2-MCPD y glicidol son contaminantes que se han detectado en los aceites vegetales procesados. El glicidol forma monoésteres con ácidos grasos (GE) durante la refinación de aceites vegetales (EFSA, 2016).

4.1.2. ¿Cómo se forman estos contaminantes?

Es relevante destacar la influencia de la composición, el contenido de agua, la acidez y la temperatura; en la formación y descomposición de MCPDs así como la posible conversión entre 3- y ,2-MCPD (Hamlet et al, 2003).

Además, la formación de ésteres de 3-MCPD a partir de mono-, di- y triglicéridos puede producirse por mecanismos de reacción mediados por radicales libres o catiónicos. El contenido de humedad, la temperatura, la presencia de catalizadores, la acidez, y el tipo de compuestos de cloro son importantes para determinar el mecanismo de reacción. Estos estudios son importantes para las industrias para desarrollar enfoques de mitigación (Gao et al, 2019).

Existen cuatro mecanismos moleculares para la formación de ésteres del 3-MCPD o 2-MCPD (**Fig.1**):

- Sustitución nucleofílica directa por un anión cloruro que ataca con RCOO- (**Fig. 1-a**) o ROH- (**Fig. 1-b**) como grupo saliente.
- Sustitución nucleofílica indirecta a través de la formación de un catión aciloxonio intermedio seguida de la apertura del anillo con el ataque de un anión cloro (**Fig. 1-c**) que ataca al carbono 3 o 2 formando diésteres de 3-MCPD o 2-MCPD.
- Sustitución nucleofílica indirecta a través de la formación de un anillo intermedio de epóxido seguido de una reacción de apertura de anillo por anión cloruro que ataca al carbono 3 o 2 para formar monoésteres de 3-MCPD o 2-MCPD (**Fig. 1-d**) (Rahn y Yaylayan, 2011; EFSA, 2016).

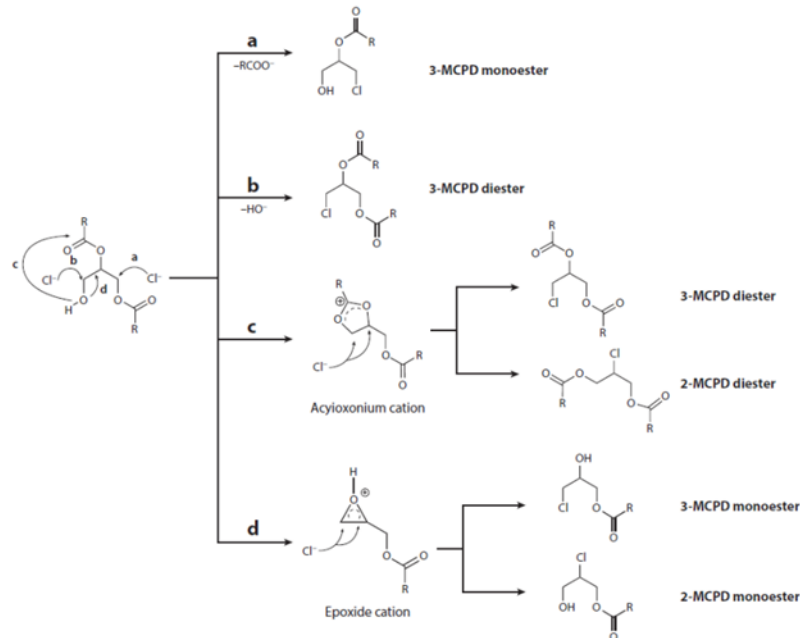


Figura 1. Mecanismos moleculares para la formación de ésteres 3-MCPD y 2-MCPD (Gao et al, 2019).

Además, se pueden formar diésteres de MCPD calentando a 200°C junto con reactivo organoclorado (Destailats et al, 2012; EFSA, 2016).

También se pueden formar ésteres de 3-MCPD a partir de diacilglicerol mediante mecanismos mediados por radicales libres formados en condiciones de baja humedad y alta temperatura. Este mecanismo que involucra a los radicales libres proporciona una perspectiva científica para mitigar los diésteres 3-MCPD en aceites comestibles refinados (Zhang et al, 2013).

A partir de triglicéridos se pueden formar mono y diésteres de 3-MCPD a través de un aciloxonio cíclico bajo condiciones de baja humedad y alta temperatura. Los ésteres de glicícol y ésteres de 3-MCPD pueden formarse a través de triglicéridos. La presencia de Fe^{2+} y Fe^{3+} cataliza la formación de ésteres 3-MCPD y ésteres de glicícol (Zhang et al, 2015).

Otro mecanismo posible para la formación de ésteres de 3-MCPD es a través de radicales libres a partir de monoglicéridos en condiciones de baja presión y alta temperatura (Zhao et al, 2016).

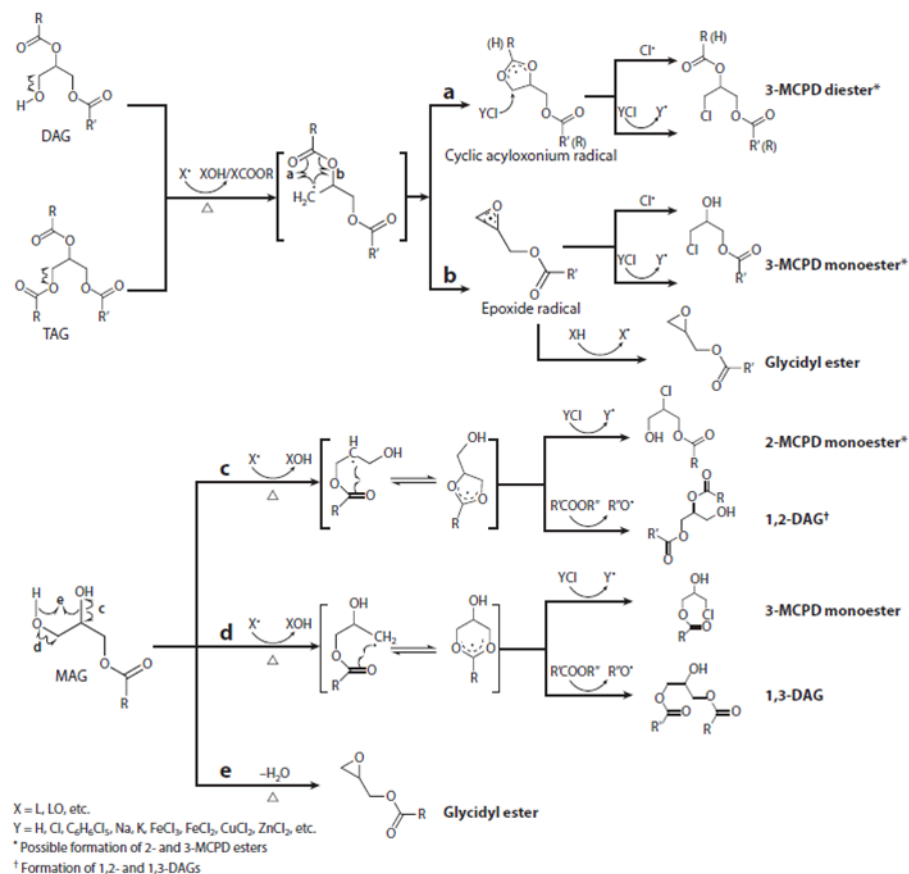


Figura 2. Otros mecanismos de formación de ésteres de 2-MCPD, 3-MCPD y glicícol.

4.1.3. Alimentos que contienen estos contaminantes.

Por norma general, el 2-MCPD, 3-MCPD y glicícol libres son contaminantes de alimentos procesados. En cambio los ésteres de éstos son contaminantes de aceites vegetales procesados (EFSA, 2016).

La exposición a ésteres de MCPD y ésteres de glicícol puede ocurrir a través de consumo de aceites y grasas vegetales refinados y diversos productos alimenticios que contienen aceites

refinados en los que se produce fundamentalmente en la etapa de desodorización (aceite de palma en mayor proporción), por ejemplo, productos infantiles (como leche infantil y de continuación), suplementos dietéticos, patatas chips, repostería cocinada sobre superficie caliente, hojaldre y galletas (Codex, 2019; EFSA, 2016).

La única fuente identificada de GE en los alimentos es el aceite vegetal refinado, donde parece formarse durante el calentamiento del diacilglicerol (DAG) o monoacilglicerol (MAG) en las condiciones de desodorización a alta temperatura.

La población infantil se ve mayormente afectada por el consumo de la leche infantil y de continuación, galletas y aceites y grasas vegetales (EFSA, 2016).

4.1.4. Efectos tóxicos.

Los ésteres de 3-MCPD presentan nefrotoxicidad aguda y crónica, toxicidad testicular tanto en la estructura como en la función de los testículos (Lie et al, 2012), hepatotoxicidad potencial que puede dar lugar a peso hepático alterado, hinchazón, infiltración de células inflamatorias y acumulación de grasa hepática (Abraham et al, 2013; Braeuning et al, 2015; Liu et al, 2012; Lu et al, 2015; Onami et al, 2014), neurotoxicidad en el cerebro y sistema nervioso central (Barocelli et al, 2011; Liu et al, 2012; Lu et al, 2015; Onami et al, 2014) e inmunotoxicidad posiblemente a través de la inhibición de la activación de los linfocitos T (Huang et al, 2018; Gao et al, 2019).

La IARC (Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer) ha clasificado el 3-MCPD como posible agente carcinógeno (Grupo 2B). Por otra parte, los ésteres glicídicos se han clasificado como probables agentes carcinogénicos (Grupo 2A), mientras que el 2-MCPD no ha sido evaluado por este organismo internacional hasta la fecha (IARC, 2012; AESAN, 2018).

4.1.5. Marco normativo.

Actualmente, en el **Reglamento (CE) N° 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006 “por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios”** tiene legislados límites máximos de 3-MCPD libres para la proteína vegetal hidrolizada y salsa de soja (20 µg/kg). Para ésteres de glicidol libre existen límites legislados de aceites y grasas vegetales introducidas en el mercado para consumo final (1000 µg/kg) y aceites vegetales y productos alimenticios para lactantes y niños de corta edad a base de cereales (500 µg/kg), de uso médico en polvo (50µg/kg) y de uso médico en líquido (6µg/kg). El Comité del Codex para Contaminantes (CCCF) está desarrollando un Código de prácticas para la reducción de los ésteres de 3- monocloropropano-1,2-diol (3-MCPDE) y los ésteres glicídicos (GE) en los aceites refinados y los productos alimenticios elaborados con aceites refinados.

La última **evaluación de riesgo** realizada por EFSA concluyó con un nuevo TDI actualizado de 2 µg/Kg de peso corporal por día para 3-MCPD y sus ésteres. Este TDI no se excede en la población adulta pero se observó una ligera superación en consumidores más expuestos y vulnerables de los grupos de edad más jóvenes y en niños que reciben este tipo de fórmulas (EFSA, 2018).

Actualmente la Unión Europea, se encuentra en plena discusión sobre los límites máximos aplicables de 3-MCPD a estos alimentos usados para consumo directo y como ingredientes.

4.2. Consideraciones sobre los aceites de oliva.

4.2.1. Clases comerciales de aceites de oliva.

Partiendo del **Reglamento (UE) N° 1308/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de diciembre de 2013 “Denominaciones y definiciones de los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva”** se define el aceite de oliva como “aceite obtenido del fruto del olivo exclusivamente por medios mecánicos u otros procedimientos físicos aplicados en condiciones que excluyan toda alteración del producto, y que no se ha sometido a ningún otro tratamiento que no sea su lavado, decantación, centrifugado o filtración, excluidos los aceites obtenidos con el uso de disolventes o de coadyuvantes de acción química o bioquímica, por un procedimiento de reesterificación o como resultado de cualquier mezcla con aceites de otros tipos”.

En el mismo Reglamento, recogido en el anexo VII titulado “Definiciones, Designaciones y denominaciones de venta de los productos a que se refiere el artículo 78” parte VIII, encontramos la clasificación propia de los aceites de oliva en base a su grado de acidez libre. Este es un parámetro, que proporciona datos esenciales del producto y su calidad, indica “cómo ha sido cultivada, recolectada, almacenada, transportada la aceituna, así cómo ha sido elaborado el aceite en la almazara”.

Las clases que se pueden encontrar en el mercado comercializado al por menor son las siguientes:

- Aceite de Oliva Virgen Extra: Aquel aceite obtenido mediante procesos mecánicos y cuyo grado de “acidez libre máxima, en ácido oleico, de 0.8 g por 100 g”.
- Aceite de Oliva Virgen: Aquel producto obtenido también por procesos mecánicos pero cuyo “nivel de acidez libre máxima, en ácido oleico, es de 2 g por 100 g”.
- Aceite de Oliva: Contiene exclusivamente Aceites de Oliva Refinados y Aceite de Oliva Vírgenes: “Aceite de oliva obtenido mezclando aceite de oliva refinado y aceite de oliva virgen

distinto del lampante, que tiene una acidez libre, expresada en ácido oleico, de no más de 1 g por 100 g”.

- Aceite de Orujo de oliva: Aceites procedentes del orujo de oliva refinado y de aceites obtenidos directamente de la aceituna.

4.2.2. Elaboración del aceite de oliva.

El proceso de elaboración del aceite de oliva se lleva a cabo siguiendo una serie de etapas que se describen a continuación (**Fig. 4**). Es de gran importancia el conocimiento de las etapas y condiciones óptimas del proceso en relación a la posible generación de los cloropropanoles.

4.2.2.1. Aceituna

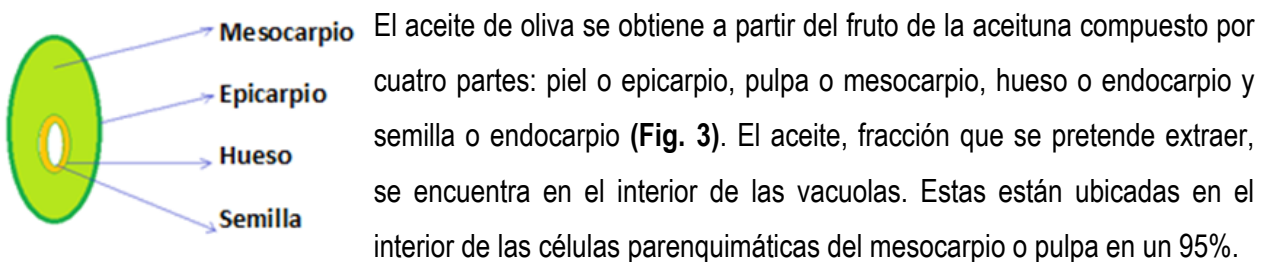


Figura 3. Partes fruto aceituna.

4.2.2.2. Proceso de producción

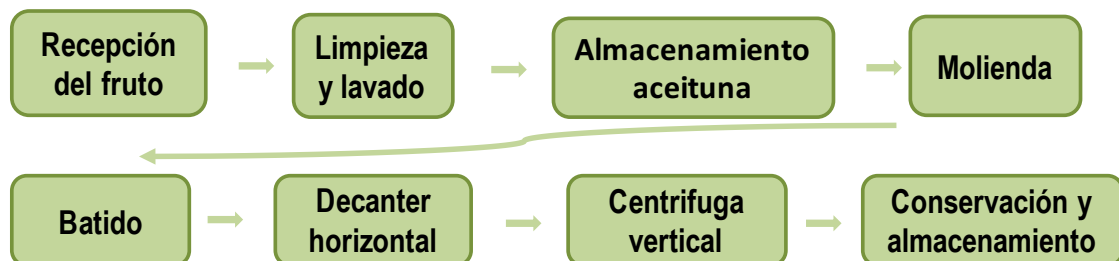


Figura 4. Esquema elaboración aceite de oliva.

1) Recepción del fruto

La aceituna, en el proceso de traslado del fruto y de recepción, puede sufrir una serie de modificaciones bioquímicas que pueden provocar la oxidación y deterioro de la misma, modificando de esta manera los parámetros que van a definir un buen aceite de oliva virgen extra.

La recepción de la aceituna en la almazara se debe hacer en función de la calidad del fruto, para ello deben existir varios puntos distintos de descarga independientes (unos para las aceitunas sanas, cogidas de árbol, con estado óptimo de maduración, etc. y otro para aceitunas alteradas

en el campo, procedentes del suelo, atacadas por plaga que darán por norma general aceites de mala calidad).

Las tolvas recepción deben ser de acero inoxidable y tamaño adecuado para evitar que se atrojen las aceitunas que quedan en el fondo y fermenten, con consiguientes perjuicios sensoriales y económicos.

El fruto se debe clasificar en la recepción y decidir sobre su limpieza y/o lavado, y línea de elaboración a seguir.

2) Limpieza y lavado

La aceituna pasará por la línea de limpieza, despalilladora y/o lavadora, en función de las necesidades, para eliminar hojas, tallos, barro, tierra, piedras, etc.

Se debe evitar el lavado del fruto del árbol, ya que se aportará una fina película de agua que favorece la formación de emulsiones o pastas difíciles.

3) Almacenamiento de la aceituna

Los frutos deben molturarse dentro de las 2-6 horas siguientes a su recolección, para evitar alteraciones sensoriales y químicas, permaneciendo el menor tiempo posible en espera.

Por ello, lo aconsejable es que las tolvas sean de tránsito o de paso, y no de almacenamiento de fruto.

4) Molienda

La molienda tiene como fin la rotura de los tejidos vegetales donde se aloja la materia oleosa y deberá regularse en función de tipo de aceituna, mediante uso de molinos trituradores.

En esta fase se activan una serie de enzimas responsables de la mayoría de las características organolépticas y físico-químicas de los aceites.

Las enzimas intervienen en una serie de reacciones que para que se produzcan de manera adecuada, se hace necesario el control de temperatura y tiempo sobre los procesos de molienda y batido. Las enzimas se mantienen activas durante estos dos procesos.

Es importante destacar que el comportamiento enzimático debe ser igual en todas las variedades de aceitunas pero se obtendrán diferentes resultados según composición química de cada variedad, su relación pulpa/hueso, la humedad, el índice de madurez etc.

Se han realizado distintos estudios para determinar condiciones de temperatura y tiempo óptimo para que las enzimas se mantengan activas, por ejemplo, se determinó un aumento de total de compuestos volátiles en variedades Coratina y Frantoio a una temperatura de trabajo entre 25-30°C.

5) Batido

El batido es un proceso crucial en la elaboración de aceite de oliva virgen y de calidad. Los factores que se han de controlar para obtener la máxima calidad de los aceites son tiempo y temperatura. El tiempo influye en los agotamientos, contenido en polifenoles, color del aceite y rendimiento graso. En cambio, la temperatura incide sobre los atributos organolépticos, color del aceite y amargor.

Un calentamiento de la pasta reduce la viscosidad y facilita la formación de la fase oleosa por lo que se aumenta la cantidad de aceite extraído y así el rendimiento industrial, en cambio la disminución de la calidad es abrupta.

El batido se puede adecuar y modificar según la aceituna y el tipo de aceite que se quiera obtener. Por ejemplo, la extracción en frío, por debajo de 27°C, se realiza para aceites de calidad, disminuyéndose aún más en la elaboración de aceites Premium.

6) Separación sólido-líquido. Centrifugación horizontal.

El proceso de separación del aceite del alperujo (residuo líquido que contiene restos de pulpa, piel, hueso, agua de la aceituna). Dicha separación se realiza por centrifugación.

7) Separación líquido-líquido. Centrifugación vertical.

Este proceso es la última etapa dentro de la sala de molturación. Es imprescindible para preservar la calidad y alargar la vida útil de los aceites.

El aceite de la centrifuga debe salir limpio, pero con aspecto algo lechoso y su temperatura no debe superar los 30°C.

8) Almacenamiento y conservación.

El almacenamiento persigue preservar el zumo para que se conserve exactamente igual que cuando fue obtenido.

En la bodega es importante separar los aceites por calidades, realizar trasiegos, lotes de días distintos, filtrar, etc.

Cuando el aceite es almacenado en el depósito, las impurezas empiezan a decantar, puesto que poseen una densidad superior y se depositan en el fondo del depósito además de conllevar un aumento de la acidez.

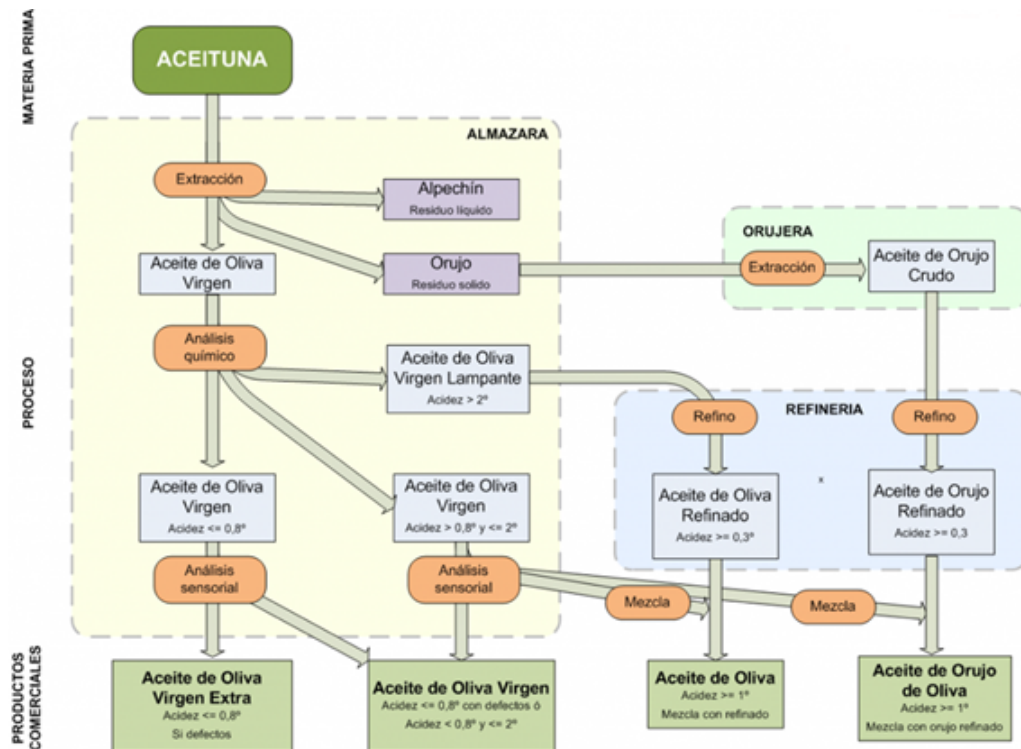


Figura 5. Obtención aceite de oliva (AO, AOV, AOVE, Aceite de orujo de oliva).

Tras la recolección y la molturación podremos obtener distintos aceites según las características que muestre el zumo de la aceituna tal como se muestra en la siguiente imagen (Fig. 5).

El aceite de oliva virgen está compuesto en un 98-99% por triglicéridos, el resto lo forma un conjunto de compuestos no glicéridos también llamado insaponificables, entre ellos destacan compuestos responsables de los efectos positivos para la salud como tocoferoles, polifenoles, esteroides, carotenos, clorofila y otros compuestos volátiles responsables de las características sensoriales (Nieto J et al, 2019).

4.2.3. Prácticas permitidas en los distintos aceites y oliva virgen.

A nivel estatal el **Real Decreto 308/1983, revisión vigente desde 25 de Julio de 2015, recoge la reglamentación técnico-sanitaria de aceites vegetales comestibles**. En éste se establecen las prácticas permitidas para el aceite de oliva virgen y para el aceite de orujo y semillas oleaginosas y el procedimiento de refinamiento permitido (En concreto Capítulo III y artículo 5 de este Real Decreto).

OBTENCIÓN AOV	REFINACIÓN DE ACEITES
Lavado y molturación de la aceituna Batido y calentamiento (no supera 30°C en presión y 65°C en centrifugación) Presión o centrifugación Clarificación por proceso mecánico (sedimentación, centrifugación o filtración) En plantas de envasado se permite operaciones de filtración	Calentamiento a elevadas temperaturas Clarificación por proceso mecánico (sedimentación, centrifugación o filtración) Desmucilagínación de anteriores procesos Desacidificación del aceite (neutralización con lejías acuosas alcalinas o procedimientos físicos) Sin provocar modificación estructura glicérica inicial Decoloración con tierras decolorantes o productos autorizados

Tabla 1. Esquema de prácticas permitidas para los aceites de oliva y oliva virgen.

4.3. Evaluación de los datos analíticos de monocloropropanodíoles en aceite de oliva.

Gracias a la Interprofesional del Aceite se cuenta con 62 muestras de aceites de oliva (AO, AOV y AOVE) (Tabla 2, Anexo I).

Las muestras han sido analizadas en el Instituto de la Grasa (IG)-CSIC, siguiendo el método AOCS Cd29-13b. De cada una de ellas se ha determinado el contenido de MCPD y glicidol libre tras hidrólisis.

Este método se utiliza para la determinación de ésteres de ácidos grasos de 2-cloropropano-1,3-diol (2-MCPD), 3-cloropropano-1,2-diol (3-MCPD) y glicidol en aceites y grasas comestibles y es aplicable a las grasas y aceites presentes como tales u obtenidos por extracción de grasa de alimentos procesados y productos alimenticios que contienen aceite sólidos y líquidos. (Disponible en: <https://www.aocs.org/attain-lab-services/methods/methods/method-detail?productId=118275>).

El procedimiento se basa en la determinación directa de ésteres de 3-MCPD (ligado 3-MCPD) y libre de 3-MCPD después de la escisión de éster alcalino y derivatización con ácido fenil borónico. Además, este método permite la determinación indirecta de ésteres de glicidol, bajo la suposición de que no haya otras sustancias presentes que reaccionen a temperatura ambiente con cloruro inorgánico para generar 3-MCPD.

Tipo de aceite de oliva	Aceite de oliva (refinado + virgen)	Aceite de oliva virgen	Aceite de oliva virgen extra
Número de muestras	39	9	14

Tabla 2. Reparto muestras por tipos de aceites de oliva.

Los resultados analíticos de 2-MCPD, 3-MCPD y glicidol en las muestras objeto de estudio se reflejan en las figuras 6,7 y 8 respectivamente.

15,4% de estas muestras si superarían el límite máximo establecido para aceites y grasas vegetales destinados a elaboración de alimentos infantiles (0,5 mg/Kg) , preparados para lactantes, preparados de continuación y alimentos para usos médicos especiales destinados a los lactantes y niños de corta edad en polvo (0,05 mg/Kg) y en líquido (0,006 mg/Kg).

A la vista de los resultados y teniendo en cuenta las prácticas permitidas en la elaboración, se determina que en el proceso de obtención de aceite de oliva virgen y virgen extra no se forma ninguno de estos contaminantes debido a que no alcanza unas temperaturas adecuadas para su desarrollo, en cambio, el aceite de oliva si contiene cierta cantidad de estos contaminantes. Esto se debe al contenido de aceite refinado en cuya obtención si se aplican altas temperaturas.

En el 95 % de las muestras de AO, los niveles de 3-MCPD fueron claramente superiores a los niveles de glicidol. Al tratarse de un agente potencialmente cancerígeno sería necesario llevar a cabo una gestión de riesgo basada fundamentalmente en medidas de mitigación pero no se excluiría la recomendación de fijar límites máximos que garanticen la salud de la población.

Como recomendación para reducir los niveles de estos contaminantes se aconseja aplicar buenas prácticas agrícolas y de fabricación.

4.4. Estrategias de mitigación.

El uso de medidas de mitigación por parte de los operadores puede ayudar a prevenir y reducir la formación de ésteres de 3-MCPD y ésteres de glicidol en aceites refinados y productos alimenticios que cuenten con ellos como ingredientes.

A pesar de que los ésteres de 3-MCPD y ésteres de glicidol se producen en la etapa de desodorización del proceso de refinación, se pueden aplicar medidas de mitigación a través de la cadena de producción de aceite comestible desde las prácticas agrícolas hasta la molienda y refinación. Lo más apropiado es eliminar los precursores de formación de estos contaminantes en las primeras etapas de procesamiento para minimizar la formación (Codex, 2019).

- La selección de variedades de plantas con baja actividad enzimática lipasa en frutos, si están disponibles. La lipasa aumenta al madurar el fruto y degrada los TAG en DAG, MAG y ácidos grasos libres (FFA); estos tienen más facilidad para formar los ésteres de 3-MCPD y glicidol.
- Se debe minimizar el uso de sustancias como fertilizantes, plaguicidas y agua que tienen cantidades excesivas de compuestos que contienen cloro para reducir la absorción de cloro

por parte de la planta y el fruto. El ion cloruro puede formar compuestos clorados reactivos y formar ésteres de 3-MCPD.

- El uso de agentes de cloro inorgánico y orgánicos con bajo contenido en cloro como el NaCl pueden ser un enfoque práctico para mitigar los ésteres de 3-MCPD en el aceite final y los productos alimenticios (Hamlet et al, 2004; Svejková et al, 2006).
- Los frutos deben ser recogidos con una madurez óptima, además de que se debe minimizar el manejo de los frutos para reducir golpes y prevenir la formación de ácidos grasos libres (FFA).
- Los frutos deben ser transportados lo más rápido posible a los molinos.
- El almacenamiento de las semillas oleaginosas para moliendas debe llevarse a cabo en frío y en condiciones de sequedad.
- Los frutos deben esterilizarse de inmediato a temperaturas de 140°C para inactivar lipasas. Además se pueden lavar previamente a la esterilización para eliminar los precursores de cloro. Las semillas oleaginosas se deben de limpiar, moler y calentar para inactivar las lipasas.
- Se debe lavar el aceite vegetal crudo con agua sin cloro para eliminar los compuestos que contienen cloro.
- El proceso de refinado de aceite vegetal crudo con bajas concentraciones de precursores puede producir aceites terminados con niveles más bajos de ésteres de 3-MCPD y glicidol.
- La utilización de los antioxidantes de grado alimenticio (Liet al, 2015) y los eliminadores de radicales libres en la dieta (Zhao et al, 2016) reduce la formación del éster 3-MCPD en condiciones de baja humedad y alta temperatura.
- Durante el procesamiento, se deben usar las condiciones más leves y menos ácidas para disminuir los ésteres de 3-MCPD en aceites vegetales. La concentración de ácido en el aceite depende del aceite vegetal crudo. Se debe tener cuidado de eliminar concentraciones suficientes de fosfolípidos y ácido para garantizar la calidad. Se ha demostrado que la reducción de la acidez de aceite vegetal crudo reduce el nivel de éster 3-MCPD en el producto de aceite final (Ramli et al, 2015; Smidrkal et al, 2011).
- La reducción de la temperatura de desgomado puede ayudar a reducir la formación de precursores de ésteres de 3-MCPD en aceites vegetales.
- El uso de refinamiento químico como alternativa al refinamiento físico puede ayudar a eliminar los precursores y reducir los ácidos grasos libres. Sin embargo el refinamiento

químico puede provocar una pérdida excesiva de aceite y puede tener un mayor impacto ambiental que el refinamiento físico.

- La arcilla blanqueadora puede reducir la formación de ésteres de 3-MCPD y glicidol en aceites vegetales. Pero deben evitarse las arcillas blanqueadoras que contienen cantidades significativas de compuesto que contienen cloro.
- Reducir la temperatura en el proceso de desodorización de aceites vegetales para disminuir la producción de esteres del glicidol. La temperatura variará dependiendo del tiempo de residencia del aceite.
- Llevar a cabo una desodorización en dos etapas para reducir la carga térmica en el aceite y disminuir la formación de ésteres de glicidol y 3-MCPD. Este proceso incluye un periodo de desodorización más corto a una temperatura más alta y un periodo de desodorización más largo a una temperatura más baja. Es posible que se requiera un procesamiento posterior adicional para reducir los niveles de esteres de glicidol.
- La aplicación de tierra de blanqueo activada durante el postrefino reduce los esteres de glicidol en los aceites vegetales refinados.
- El uso de destilación de corto recorrido en aceite vegetal blanqueado y desodorizado puede reducir los componentes de aciglicerol y los niveles de esteres de glicidol y 3-MCPD.
- Seleccionar aceites vegetales refinados con bajos niveles de 3-MCPD y glicidol produce niveles más bajos de 3-MCPD y glicidol en los productos terminados que contienen estos aceites. Así la selección de estos aceites puede dar lugar a fórmulas infantiles con niveles más bajos de ésteres de 3-MCPD y glicidol.
- La reducción de la cantidad de aceites vegetales refinados en productos terminados puede ser una alternativa para reducir los niveles de 3-MCPD y glicidol estos de productos. Sin embargo, esto podría afectar a las características organolépticas o nutricionales de los productos terminados.
- El uso de aceites vegetales refinados durante la fritura no contribuye a la formación de ésteres de 3-MCPD y glicidol adicionales, la formación de estos contaminantes de manera adicional puede deberse al tipo de alimento que se fríe. Ejemplo: carne y pescado.
- Mediante procesos enzimáticos se pueden reducir los ésteres de 3-MCPD al convertirlos inicialmente en 3-MCPD con la "lipasa A" de "Candida antarctica" y posteriormente transformarlo a glicerol inocuo en sistema acuoso utilizando "Arthrobacter sp." (Bornscheuer & Hesseler, 2010).

- Posibilidad de eliminar hasta un 40% de ésteres glicídicos de los aceites utilizando materiales de adsorción como silicato de magnesio (Strijowski et al, 2011).
- Capacidad de eliminar los ésteres de 3-MCPD de los aceites refinados por tratamiento térmico con un catalizador. Ejemplo de ello, la degradación de los monoésteres de 3-MCPD con el tratamiento térmico y el papel catalítico de Fe³⁺ en condiciones de baja humedad y alta temperatura (Zhao et al, 2016).

Es de vital importancia destacar que se ha demostrado que el aceite de oliva posee propiedades saludables excepcionales frente a colesterol, hipertensión, diabetes así como acciones antiinflamatorias y antioxidantes, etc. (Gorzynnik-Debicka et al, 2018; Wongwarawipat et al, 2018; Mariotti et al, 2014).

5 CONCLUSIONES

- 1) El 2-MCPD, 3-MCPD y glicidol libres son contaminantes que se han encontrado en alimentos procesados. En cambio, los ésteres de 2-MCPD, 3-MCPD y glicidol se han visto presentes en aceites vegetales procesados.
- 2) La presencia de estos contaminantes en alimentos depende del proceso de fabricación de los mismos y concretamente de la presencia de pasos con tratamiento térmico.
- 3) El análisis de las muestras recogidas por la Interprofesional del Aceite de Oliva ha demostrado que:
 - En el aceite de oliva virgen y virgen extra, dado que sus procesos de fabricación no incluyen tratamiento térmico, no se forman estos contaminantes
 - El aceite de oliva presenta una proporción variable de estos contaminantes. Esto puede ser debido a que contienen una proporción de aceite refinado en cuya obtención sí se alcanzan temperaturas suficientes que favorecen el desarrollo de los cloropropanoles.
- 4) La puesta en práctica por parte de los operadores de medidas de mitigación, beneficiará a aquellos aceites en los que, debido a sus procesos de obtención, puedan encontrarse estos contaminantes, ayudando a su control.

5) Vistos los resultados aportados, parece que no sería necesario fijar límite máximo de estos contaminantes en el aceite de oliva virgen, ni virgen extra. Por el contrario, sí se debe establecer en aceite de oliva y sin olvidar los códigos de buenas prácticas de cultivo y fabricación.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Ley: Reglamento (CEE) N° 315/93 del Consejo de 8 de febrero de 1993. Parte I: “Se establecen procedimientos comunitarios en relación con los contaminantes presentes en los productos alimenticios” pp.1. Disponible en: <https://eurlex.europa.eu/legalcontent/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31993R0315&from=ES>
- Informe científico de AESAN sobre 3-MCPD, glicidol y sus ésteres de 2018. Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/3_MCPD.htm
- AIRC: International Agency for Research on Cancer [Internet]. Lyon, Francia: IARC; 2012. Disponible en: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono101-010.pdf>
- Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. EFSA Journal 2016; 14(5):4426.
- Update of the risk assessment on 3-monochloropropanediol and its fatty acid esters. EFSA Journal 2018; 16(1):5083.
- Codex Alimentarius: Proyecto de código de prácticas para reducir los ésteres de 3-MCPD (3-MCPDE) y los ésteres del glicidol (GE) en los aceites refinados y en los productos de aceites refinados. Roma, Italia: FAO/OMS; 2019[Internet]. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shproxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-13%252FWDs%252Fcf13_07s.pdf
- Ley: Reglamento (UE) N°1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006. Anexo- Sección 4: “Por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios” pp.20-21. Disponible en : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:02006R188120180319&qid=1560769283425&from=ES>
- Ley: Reglamento (UE) N°1308/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de diciembre de 2013. Parte VIII: “Denominaciones y definiciones de los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva” pp.820-821.
- Gao B, Li Y, Huang G, Yu L. 2019. Fatty Acid Esters of 3-Monochloropropanediol: A Review. The Annual Review of Food Science and Technology; 2019. 10:259–84.

- Hamlet CG, Sadd PA, Gray DA. 2003. Influence of composition, moisture, pH and temperature on the formation and decay kinetics of monochloropropanediols in wheat our dough. *Eur. Food Res. Technol.* 216:122–28.
- Rahn AKK, Yaylayan VA. 2011a. Monitoring cyclic acyloxonium ion formation in palmitin systems using infrared spectroscopy and isotope labelling technique. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113:330–34.
- Rahn AKK, Yaylayan VA. 2011b. What do we know about the molecular mechanism of 3-MCPD ester formation? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113:323–29
- Destailats F, Craft BD, Sandoz L, Nagy K. 2012. Formation mechanisms of monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters in re ned palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. *Food Addit. Contam. Part A- Chem.* 29:29–37.
- Zhang X, Gao B, Qin F, Shi H, Jiang Y, et al. 2013. Free radical mediated formation of 3-monochloropropanediol (3-MCPD) fatty acid diesters. *J. Agric. Food Chem.* 61:2548–55.
- Zhang Z, Gao B, Zhang X, Jiang Y, Xu X, et al. 2015. Formation of 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) di- and monoesters from tristearoylglycerol (TSG) and the potential catalytic effect of Fe^{2+} and Fe^{3+} . *J. Agric. Food Chem.* 63:1839–48.
- Zhao Y, Zhang Y, Zhang Z, Liu J, Wang Y, et al. 2016. Formation of 3-MCPD fatty acid esters from monos- tearoyl glycerol and the thermal stability of 3-MCPD. *J. Agric. Food Chem.* 64:8918–26.
- Huang G, Xue J, Sun X, Wang J, Yu L. 2018a. Necroptosis in 3-MCPD-dipalmitate-induced acute kidney injury in vivo and its repression by miR-223–3p. *Toxicology* 406–7:33–43.
- Huang G, Xue J, Sun X, Wang J, Wang Y, et al. 2018b. Suppression of T lymphocyte activation by 3-chloro-1,2-propanediol mono- and di-palmitate esters in vitro. *Toxicol. In Vitro* 51:54–62.
- Ley: Real Decreto 308/1983, de 25 de enero. Parte III: “Por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria de aceites vegetales comestibles”. Pp: 5. Disponible en: http://noticias.juridicas.com/base_datos/Admin/rd308-1983.html
- Nieto J, Montaña AM, Caravaca MJ, Cuberos JD, Fernández PM, Abad M, Molero C, Pérez D, Cardenal P, Amezcua C, Miquel MA, Peña MD, Román S, Méndez T, Moreda W, López JE. Elaboración del aceite de oliva virgen de calidad. Consideraciones desde la experiencia y el conocimiento. Vol. 1. 1ª Ed. Jaén. Fundación Caja rural de Jaén; 2019.
- AOCS: Your Global Fats and Oils Connection [Internet]. EEUU: AOCS; 2017. Disponible en: <https://www.aocs.org/attain-lab-services/methods/methods/method-detail?productId=118275>

- Jiménez Carvelo, A. Estudio analítico de la fracción transesterificada del aceite de oliva. Aplicación en problemas de autenticación de aceite de oliva [Tesis doctoral]. Granada: Departamento de Química Analítica, Universidad de Granada; 2018.
- Gorzynik-Debicka, M, Prychodzen P, Capello F, Kuban-Jankowska A, Gammazza A.M, Knap N, Wozniak M, Gorska-Ponikowska M. 2018. Potencial health benefits of olive oil and plant polyphenols. *International Journal of Molecular Science*, 19,547, 1-13.
- Wongwarawipat T, Papageorgiou N, Bertisias D, Siasos G, Tousoulis D. 2018. Olive oil related anti-inflammatory effects on atherosclerosis potential clinical implications. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 18, 51-62.
- Mariotti M, Peri C, 2014. The composition and nutrition properties of extra-virgin olive oil. En Peri C, (Ed). *The Extra-Virgin Olive Oil Handbook*. Editorial John Wiley & Sons.

Anexo I: RESULTADOS ANALÍTICOS

Tipo de aceite	3-MCPD (mg/Kg)	2-MCPD (mg/Kg)	Glicid (mg/kg)
AO	0,84	0,47	0,39
AO	0,77	0,38	0,36
AO	0,74	0,42	0,36
AO	0,72	0,40	0,34
AO	0,64	0,31	0,62
AO	0,73	0,32	0,73
AO	0,55	0,33	0,53
AO	0,67	0,40	0,47
AO	0,65	0,38	0,46
AO	0,61	0,38	0,49
AO	0,71	0,37	0,46
AO	0,43	0,20	0,19
AO	0,34	0,22	0,46
AO	0,58	0,24	0,50
AO	0,45	0,19	0,24
AO	0,82	0,38	0,26
AO	0,38	0,21	0,23
AO	0,62	0,33	0,28
AO	0,58	0,25	0,26
AO	0,63	0,25	0,34
AO	0,89	0,43	0,65
AO	0,60	0,28	0,66
AO	0,67	0,38	0,79
AO	0,34	0,17	0,08
AO	0,27	0,18	0,10
AO	0,25	0,19	0,11
AO	0,30	0,15	0,10
AO	0,27	0,16	0,19
AO	0,49	0,28	0,23
AO	0,24	0,14	0,20
AO	0,66	0,28	0,20
AO	0,39	0,21	0,24
AO	0,30	0,09	0,12
AO	0,20	0,05	ND
AO	0,30	0,10	0,06
AO	0,51	0,12	<LOQ
AO	0,36	0,09	0,08
AO	0,28	0,11	0,13
AO	0,35	0,13	0,26

Tabla 3. Resultados analíticos de las muestras de AO.

* En la presente tabla no se incluyen los resultados correspondientes a las muestras de AOV y AOVE que se encuentran en todos los casos por debajo del límite de cuantificación (<LOQ).