

Tesis de Grado  
Licenciatura en Bromatología

# “ACEITES SABORIZADOS CON AJO (ADEREZOS): CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS”

Brom. Vidoni María Natalia



Mendoza. 2013

Trabajo subsidiado: Principios Bioactivos en Alimentos: consecuencias de prácticas culinarias sobre la estabilidad química y los efectos biológicos. Proyecto aprobado por SECTyP, UNCuyo. Directora: Alejandra Camargo. (2011-2013)

# “ACEITES SABORIZADOS CON AJO (ADEREZOS): CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS”

Tesista

Brom. Vidoni María Natalia

Dirección: Colombia 1246 Godoy Cruz, Mendoza.

e-mail: vidoninatalia@gmail.com

Tesis de Grado

Licenciatura en Bromatología

Directora de Tesis: Dra. González, Roxana Elizabeth

Co-directora: Dra. Camargo, Alejandra Beatriz

Comité Evaluador: Presidente: Prof. Ing. Agr. Alejandro Gascón

Vocal: Msc. Ing. Agr. Mónica Bauzá

Vocal: Ing. Agr. Susana Campos

Suplente: Dra. Patricia Piccoli

Lugar de trabajo: Laboratorio de Cromatografía para Agroalimentos

Facultad de Ciencias Agrarias - UNC

Mendoza, 2013

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración, participación y ayuda en el desarrollo de esta tesis a:

- ✓ A mi familia, por su amor y apoyo incondicional, y por brindarme la oportunidad de estudiar y poder alcanzar todas y cada una de las metas planteadas en mi vida.
- ✓ A mis amigos por sus consejos y apoyo durante la realización de mi tesis.
- ✓ A mi directora de tesis, Dra. Roxana E. González, por ofrecerme este tema de tesis, guiarme y permitir que utilizara los equipos y elementos necesarios para la realización de este trabajo.
- ✓ A mi Co-directora, Dra. Alejandra B. Camargo, por su colaboración y apoyo durante la realización de mi tesis.
- ✓ A mis compañeras y amigas, Lic. Daniela Locatelli, Lic. Cecilia Fusari y Lic. Analia Lucero, por compartir conmigo todo este camino, por ayudarme y escucharme, y por sus consejos brindados durante la realización de mi tesis.
- ✓ A todas aquellas personas que en alguna forma participaron en mis estudios, me enseñaron con su ejemplo y ayudaron para que pudiera realizar mi tesis.

## RESUMEN

El ajo es una especie cultivada por sus propiedades terapéuticas, su significancia religiosa, su sabor y aroma. Por su alto aporte de flavonoides, compuestos polifenólicos y organoazufrados (OSCs) se encuentra entre los alimentos considerados saludables. Entre los efectos biológicos que posee se incluyen propiedades antimicrobianas, antidiabéticas, antimutagénicas y anticancerígenas. En la actualidad, existen en el mercado subproductos denominados aceites saborizados con ajo que de acuerdo a la legislación nacional vigente se comercializan bajo la denominación de aderezos sin ninguna diferenciación en cuanto al proceso de saborización empleado. Establecer el proceso de saborización utilizado resulta de importancia ya que de ello dependen tanto el perfil de compuestos bioactivos como las potenciales propiedades biológicas que estos ejerzan. Por otro lado, los aceites saborizados con ajo pueden ser empleados como medio para cocción mediante fritura. Numerosas variables se encuentran implicadas en este proceso culinario, existiendo condiciones de fritura óptimas para cada tipo de producto.

De lo anteriormente expuesto surge el interés en caracterizar aceites saborizados con ajo en función de indicadores de calidad bromatológica, color y perfil cuali-cuantitativo de OSCs y en determinar posibles modificaciones durante su empleo como medio para la cocción mediante fritura. Para ello se adquirieron en el comercio local aceites saborizados con ajo en aceites vegetales de girasol, canola y oliva. Paralelamente, se obtuvieron aceites saborizados con ajo a escala de laboratorio utilizando dos métodos diferentes de saborización. Estos consistieron, por un lado en la adición de aceite destilado de ajo y por otro en la maceración de dientes de ajo fresco picado en un aceite vegetal. Posteriormente tanto los aceites comercializados como los obtenidos a escala de laboratorio, se sometieron a diferentes temperaturas de fritura (180 °C, 220 °C y 300 °C) durante 3 minutos. La calidad bromatológica se evaluó a través de las determinaciones de índice de peróxidos (IP) e índice de acidez (IA), el color a través del Sistema CIELAB y el perfil de OSCs mediante cromatografía gaseosa y cromatografía líquida.

A partir de los indicadores de calidad bromatológica evaluados fue posible determinar el estado oxidativo de los aceites saborizados con ajo evaluados. El color estuvo determinado por las características y la presencia de pigmentos propios de cada aceite vegetal. Se evidenciaron diferencias tanto cuali- como cuantitativas en el perfil de OSCs, estableciendo que la metodología de HPLC es la más idónea para la detección de dichos compuestos. Se diferenciaron a los aceites saborizados con ajo bajo estudio en '*aceites de ajo macerado*' cuando contenían alicina, ajoeno y vinilditiinas y en '*aceites destilados de ajo*' por la presencia de sulfuros y polisulfuros.

Al ser sometidos a condiciones de cocción mediante fritura, se observaron modificaciones en los indicadores de calidad bromatológica, color y perfil de OSCs. Estas modificaciones implicaron cambios en el IP, IA y color. En todos los casos las modificaciones observadas fueron dependientes del aceite vegetal evaluado. Respecto del perfil y concentración de OSCs, también se denotaron modificaciones, evidenciándose cierta inestabilidad de algunos compuestos. Otro aspecto importante a destacar es que aún a la temperatura más alta de fritura ensayada, los aceites saborizados con ajo aún contuvieron compuestos organoazufrados que evidencian importantes propiedades benéficas para la salud.

Palabras claves: ajo - aceites saborizados - compuestos organoazufrados - empleo culinario.

## ÍNDICE

<b>Capítulo 1: INTRODUCCIÓN</b> .....	2
1.1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	2
1.2. USO MEDICINAL Y CULINARIO DEL AJO.....	2
1.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.....	4
1.4. BIOQUÍMICA DE LOS COMPUESTOS ORGANOAZUFRADOS (OSCs).....	5
1.5. EFECTOS BENÉFICOS PARA LA SALUD.....	7
1.6. SUBPRODUCTOS COMERCIALES DEL AJO.....	10
1.6.1. Ajo deshidratado.....	11
1.6.2. Aceites de ajo.....	11
1.6.2.1. Aceite destilado de ajo.....	11
1.6.2.2. Aceite de ajo macerado.....	12
1.6.2.3. Aceite de ajo extraído con éter.....	12
1.6.3. Extracto añejado de ajo.....	12
1.7. ANÁLISIS DE COMPUESTOS ORGANOAZUFRADOS.....	13
1.8. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	14
1.9. HIPÓTESIS.....	15
1.10. OBJETIVOS.....	15
1.10.1. Objetivos generales.....	15
1.10.2. Objetivos particulares.....	15
<b>Capítulo 2: CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE ACEITES SABORIZADOS CON AJO</b> .....	17
2.1. INTRODUCCIÓN.....	17
2.2. OBJETIVOS.....	19
2.3. MATERIALES Y METODOS.....	20
2.3.1. Estándares analíticos.....	20
2.3.2. Reactivos.....	20
2.3.3. Material de laboratorio.....	20
2.3.4. Equipos.....	20
2.3.5. Muestras a analizar.....	21

2.3.5.1. Aceites saborizados con ajo disponibles en el mercado local .....	21
2.3.5.2. Preparación de aceites saborizados a escala de laboratorio.....	21
2.3.6. Indicadores de calidad bromatológica de aceites saborizados con ajo .....	22
2.3.6.1. Determinación del índice de peróxido .....	22
2.3.6.2. Determinación del índice de acidez.....	22
2.3.7. Evaluación del color de aceites saborizados con ajo.....	22
2.3.8. Estudio del perfil de compuestos organoazufrados (OSCs).....	22
2.3.8.1. Preparación de las muestras:.....	22
2.3.8.2. Condiciones operacionales para el análisis de OSCs mediante GC-FPD .....	23
2.3.8.3. Condiciones operacionales para el análisis de OSCs mediante HPLC-UV .....	23
2.3.8.4. Identificación y cuantificación de OSCs.....	23
2.3.9. Análisis estadístico de datos .....	23
2.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
2.4.1. Indicadores de calidad bromatológica de los aceites bajo estudio .....	24
2.4.1.1. Aceites comerciales .....	24
2.4.1.2. Efecto de la saborización de aceites sobre el estado oxidativo .....	24
2.4.2. Color en aceites saborizados con ajo .....	28
2.4.3. Estudio del perfil de compuestos organoazufrados (OSCs).....	33
2.4.3.1. Análisis mediante cromatografía gaseosa (GC-FPD) .....	33
2.4.3.2. Análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-UV) .....	37
2.4.3.3. Estudio comparativo de los resultados obtenidos GC vs. HPLC.....	43
2.4.3.3.1. Análisis Multivariado .....	44
2.4.3.4. Aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio.....	47
2.5. CONCLUSIONES PARCIALES .....	52
<b>Capítulo 3: MODIFICACIONES CUALI-CUANTITATIVAS EN LA CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN ACEITES SABORIZADOS CON AJO DURANTE SU EMPLEO CULINARIO.....</b>	<b>54</b>
3.1. INTRODUCCIÓN .....	54
3.2. OBJETIVOS.....	56
3.3. MATERIALES Y METODOS .....	56
3.3.1. Estándares analíticos .....	56

3.3.2. Reactivos .....	56
3.3.3. Material de laboratorio .....	56
3.3.4. Equipos .....	57
3.3.5. Muestras .....	57
3.3.5.1. Aceites saborizados con ajo.....	57
3.3.5.2. Tratamiento de las muestras.....	57
3.3.6. Determinaciones analíticas.....	57
3.3.7. Preparación de las muestras para el análisis de OSCs mediante HPLC .....	57
3.3.8. Análisis estadístico de datos .....	57
<b>3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>58</b>
3.4.1. Modificaciones en los indicadores de calidad bromatológica de aceites saborizados con ajo sometidos a cocción mediante fritura.....	58
3.4.1.1. Efecto sobre el estado oxidativo ejercido por la presencia de ajo y sus OSCs en los aceites sometidos a condiciones de fritura.....	58
3.4.1.2. Efecto de la presencia de ajo y sus diferentes componentes OSCs sobre el índice de acidez en los aceites saborizados sometidos a condiciones de fritura. ....	61
3.4.2. Color en aceites saborizados con ajo .....	63
3.4.3. Estudio del perfil de compuestos organoazufrados (OSCs) .....	70
<b>3.5. CONCLUSIONES PARCIALES .....</b>	<b>76</b>
<b>Capítulo 4: CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>77</b>
<b>Capítulo 5: BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>80</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>90</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

### Capítulo 1: INTRODUCCIÓN

Tabla 1.1. Composición Nutricional del ajo .....	4
--	---

### Capítulo 2: CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE ACEITES SABORIZADOS CON AJO.

Tabla 2.1: Aceites saborizados con ajo disponibles en el mercado local.....	21
---	----

Tabla 2.2: Condiciones cromatográficas empleadas en el análisis de organoazufrados volátiles mediante GC-FPD .....	23
--	----

Tabla 2.3: Índice de peróxido e índice de acidez de los aceites saborizados con ajo disponibles en el mercado local.....	24
--	----

Tabla 2.4: Coordenadas de color para aceites saborizados con ajo disponibles en el mercado local.....	28
---	----

Tabla 2.5: Coordenadas de color para aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio.....	31
---	----

Tabla 2.6: Composición química de aceites saborizados con ajo determinada mediante GC-FPD. ....	33
---	----

Tabla 2.7: Composición química de aceites saborizados con ajo determinada mediante HPLC-UV. ....	38
--	----

Tabla 2.8: Composición química de aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio.....	48
--	----

### Capítulo 3: MODIFICACIONES CUALI-CUANTITATIVAS EN LA CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN ACEITES SABORIZADOS CON AJO DURANTE SU EMPLEO CULINARIO.

Tabla 3.1: Índice de peróxido de los aceites saborizados con ajo sometidos a diferentes temperaturas de fritura.....	58
--	----

Tabla 3.2: Índice de acidez de los aceites saborizados con ajo sometidos a diferentes temperaturas de fritura.....	61
--	----

Tabla 3.3: Composición química de aceites saborizados con ajo sometidos a diferentes temperaturas de fritura.....	71
---	----



## ÍNDICE DE FIGURAS

### Capítulo 1: INTRODUCCIÓN

Figura 1.1. Estructura de los S-alquencil cisteín sulfóxidos (ACSOs) presentes en el género <i>Allium</i> . .....	5
Figura 1.2. Conversión enzimática de la aliina en alicina.. .....	6
Figura 1.3. Descomposición de la alicina. ....	7
Figura 1.4. Compuestos organoazufrados mayoritarios presentes en diferentes preparaciones de ajo.....	10

### Capítulo 2: CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE ACEITES SABORIZADOS CON AJO.

Figura 2.1: Contenido de ácidos grasos en aceites vegetales.....	17
Figura 2.2: Índice de Peróxidos de los aceites de girasol.....	25
Figura 2.3: Índice de Peróxidos de los aceites de canola.....	25
Figura 2.4: Índice de Peróxidos de los aceites de oliva.....	26
Figura 2.5: Índice de Acidez de los aceites de girasol.....	26
Figura 2.6: Índice de Acidez de los aceites de canola.....	27
Figura 2.7: Índice de Acidez de los aceites de oliva.....	27
Figura 2.8: Coordenadas de color a* y b* en aceites de girasol saborizados con ajo.....	29
Figura 2.9: Coordenadas de color a* y b* en aceites de canola saborizados con ajo.....	29
Figura 2.10: Coordenadas de color a* y b* en aceites de oliva saborizados con ajo.....	30
Figura 2.11: Coordenadas de color en aceites saborizados LDA y LM con respecto a los aceites vegetales sin ajo.....	32
Figura 2.12: Cromatogramas correspondientes al perfil de compuestos organoazufrados volátiles en aceites de girasol saborizados con ajo obtenidos mediante GC-FPD.. .....	34
Figura 2.13: Cromatograma del perfil de compuestos organoazufrados volátiles presentes en C3: 'aderezo de canola y ajo' obtenido mediante GC-FPD.....	35
Figura 2.14: Cromatogramas correspondientes al perfil de los compuestos organoazufrados volátiles en aceites de oliva saborizados con ajo obtenidos mediante GC-FPD.....	36
Figura 2.15: Cromatogramas correspondientes al perfil de compuestos organoazufrados volátiles en aceites de girasol saborizados con ajo obtenidos mediante HPLC-UV.. .....	39
Figura 2.16: Cromatograma del perfil de compuestos organoazufrados volátiles presentes en C3: 'aderezo de canola y ajo' obtenidos mediante HPLC-UV.. .....	40

Figura 2.17: Cromatogramas correspondientes al perfil de compuestos organoazufrados volátiles en aceite de oliva saborizados con ajo obtenidos mediante HPLC-UV..	41
Figura 2.18: Compuestos organoazufrados detectados y cuantificados mediante cromatografía gaseosa (G) y líquida (H) en aceites saborizados con ajo comerciales.....	43
Figura 2.19: Cromatograma correspondiente al tiosulfonato alicina puro obtenidos mediante GC..	44
Figura 2.20: Gráficos de Componentes principales (A) y de los pesos relativos (B) correspondientes a las variables analizadas para las muestras de aceites saborizados con ajo analizadas mediante HPLC-UV (H) y GC-FPD (G).	46
Figura 2.21: Composición porcentual de organoazufrados presentes en aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio: LDA y LM..	49
Figura 2.22 Gráfico comparativo de la composición porcentual de organoazufrados en aceites de girasol saborizados comercializados vs obtenidos a escala de laboratorio..	50
Figura 2.23 Gráfico comparativo de la composición porcentual de organoazufrados en aceite de canola saborizado comercial vs obtenidos a escala de laboratorio..	50
Figura 2.24 Gráfico comparativo de la composición porcentual de organoazufrados en aceites de oliva saborizados comerciales vs obtenidos a escala de laboratorio..	51
<b>Capítulo 3: MODIFICACIONES CUALI-CUANTITATIVAS EN LA CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN ACEITES SABORIZADOS CON AJO DURANTE SU EMPLEO CULINARIO.</b>	
Figura 3.1: Diferencias en el índice de peróxido de los aceites de girasol saborizados con ajo (C1 y C2) y aceite sin saborizar (AG) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta IP$ ).	59
Figura 3.2: Diferencias en el índice de peróxido del aceite de canola saborizado con ajo (C3) y aceite sin saborizar (AC) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta IP$ ).....	59
Figura 3.3: Diferencias en el índice de peróxido de los aceites de oliva saborizados con ajo (C4 y C5) y aceite sin saborizar (AO) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta IP$ ).....	60
Figura 3.4: Diferencias en el índice de acidez de los aceites de girasol saborizados con ajo (C1 y C2) y aceite sin saborizar (AG) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta IA$ ).	61
Figura 3.5: Diferencias en el índice de acidez del aceite de canola saborizado con ajo (C3) y aceite sin saborizar (AC) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta IA$ ).....	62
Figura 3.6: Diferencias en el índice de acidez de los aceites de oliva saborizados con ajo (C4 y C5) y aceite sin saborizar (AO) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta IA$ ).	62
Figura 3.7. Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C1: 'aceite de ajo en girasol' sometido a cocción mediante fritura.....	64
Figura 3.8. Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C2: 'aceite de girasol y ajo' sometido a cocción mediante fritura.....	64
Figura 3.9. Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C3: 'aderezo de canola y ajo' sometido a cocción mediante fritura.....	65

Figura 3.10. Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C4: 'aceite de oliva al ajo' sometido a cocción mediante fritura.....	66
Figura 3.11. Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C5: 'aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito' sometido a cocción mediante fritura. ....	66
Figura 3.12. Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas de color L, a* y b* del aceite de girasol testigo (AG) y aceites de girasol saborizados (C1 y C2) sometidos a cocción mediante fritura.....	67
Figura 3.13. Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas de color L, a* y b* del aceite de canola testigo (AC) y aceite de canola saborizado (C3) sometidos a cocción mediante fritura.. ....	68
Figura 3.14. Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas de color L, a* y b* del aceite de oliva testigo (AO) y aceite de oliva saborizado con ajo (C4 y C5) sometido a cocción mediante fritura.....	69
Figura 3.15: Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles en C1: 'aceite de ajo en girasol' obtenidos mediante HPLC-UV sometidos a diferentes temperaturas de fritura.....	72
Figura 3.16: Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles en C2: 'aceite de girasol y ajo' obtenidos mediante HPLC-UV sometidos a diferentes temperaturas de fritura. ....	72
Figura 3.17: Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles presentes en C3: 'aderezo de canola y ajo' obtenidos mediante HPLC-UV sometidos a diferentes temperaturas de fritura.....	73
Figura 3.18: Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles en C4: 'aceite de oliva al ajo' obtenidos mediante HPLC-UV sometidos a diferentes temperaturas de fritura. ....	73
Figura 3.19: Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles en C5: 'aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito' obtenidos mediante HPLC-UV sometido a diferente temperatura de fritura.....	74

## ABREVIATURAS

**C:** Aceites comerciales.

**C1:** Aceite de ajo en girasol.

**C2:** Aceite de girasol y ajo.

**C3:** Aderezo de canola y ajo.

**C4:** Aceite de oliva al ajo.

**C5:** Aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito.

**LM:** Ajo macerado en aceite vegetal obtenido a escala de laboratorio.

**LGM:** Ajo macerado en aceite girasol.

**LCM:** Ajo macerado en aceite canola.

**LOM:** Ajo macerado en aceite oliva.

**LDA:** Aceite de ajo destilado en aceite vegetal obtenido a escala de laboratorio.

**LGDA:** Aceite de ajo destilado en aceite de girasol.

**LCDA:** Aceite de ajo destilado en aceite de canola.

**LODA:** Aceite de ajo destilado en aceite de oliva.

**AG:** Aceite de girasol testigo.

**AC:** Aceite de canola testigo.

**AO:** Aceite de oliva testigo.

**OSCs:** Compuestos organoazufrados.

**ACSOs:** S-alquenil cisteín sulfóxidos.

**DAS:** Dialil sulfuro.

**DADS:** Dialil disulfuro.

**DATS:** Dialil trisulfuro.

**2-VD:** 2-vinil-4H-1,3ditiina.

**3-VD:** 3-vinil-4H-1,2ditiina.

**SAC:** S- alilcisteína.

**SACM:** S-alilmercaptopcisteína.

**DASO:** Dialil sulfóxido.

**DASO<sub>2</sub>:** Dialil sulfona.

**AMS:** Alilmetil sulfuro.

**AMTS:** Metilalil trisulfuro.

**DMDS:** Dimetil disulfuro.

**MPDS:** Metilpropil disulfuro.

**MPTS:** Metilpropil trisulfuro

**PDS:** Propil disulfuro.

**HPLC:** Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

**HPLC-MS:** Cromatografía Líquida de Alta Resolución- Espectroscopia de Masa.

**UV-Vis:** Detector espectrofotométrico UV Visible.

**GC:** Cromatografía Gaseosa.

**GC-MS:** Cromatografía Gaseosa- Espectroscopia de Masa.

**FPD:** Detector Fotométrico de Llama.

**IP:** Índice de peróxido.

**IA:** Índice de acidez.

# **CAPÍTULO 1**

## **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

### 1.1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El ajo, *Allium sativum* L., es un miembro de la familia *Alliaceae*. Su nombre tiene origen en la palabra celtica “all” que significa pungente. Es una de las plantas más antiguas, cultivada a través del mundo, cuyo origen es Asia Central (Singh y col., 2008).

Desde tiempos ancestrales, esta especie ha formado parte de la tradición de muchas culturas como un formidable profiláctico y agente terapéutico medicinal debido a que posee una gran variedad de compuestos, tales como fructanos, flavonoides, fitoesteroles, minerales como el selenio y distintos compuestos organoazufrados, que permiten clasificarlo como un alimento saludable (Nagournay, 1998). El Centro de Información Internacional de Alimentos (IFIC) define como *alimentos saludables*, aquellos que en su estado natural o con un mínimo de procesamiento, poseen compuestos beneficiosos para la salud (Araya, 2003).

La asociación entre el consumo de frutas y hortalizas y la disminución del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y ciertas formas de cáncer, sumado a otros beneficios para la salud que se atribuyen al ajo, han motivado su investigación, resultando en más de 1000 publicaciones sólo durante la última década. Esto constituye el fundamento del por qué es considerado entre los mejores alimentos para la prevención de enfermedades (Sánchez Moreno y col., 1999).

En cuanto a su comercialización, la forma más común es la de bulbos frescos enteros. Pero además, a partir de diversos métodos de procesamiento industrial es posible obtener diferentes subproductos, caracterizados por su complejidad química e intensidades de aroma y sabor (Yu y col., 1994; Tsai y col., 2012). Entre estas preparaciones se incluyen aceites destilados de ajo, aceites vegetales saborizados con ajo, ajo en polvo y extractos de ajo añejados (González, 2009). En la última década, estos subproductos han experimentado una creciente popularidad (Amagase y col., 2001), constituyéndose en formas alternativas de consumo de ajo fresco con el fin de obtener los beneficios atribuidos a esta especie (Amagase, 2006).

Un aspecto importante a considerar es que la eficacia del ajo y de diferentes tipos de subproductos, como fuente de compuestos con capacidad de prevenir enfermedades, ha sido demostrada en fresco o crudo (Yu y col., 1993). Sin embargo esta hortaliza generalmente no se consume solamente bajo esta forma, sino que se somete a diferentes tratamientos de cocción. Actualmente, el empleo de aceites saborizados con ajo, es una alternativa en auge creciente en la preparación de diferentes platos gourmet. Entre sus usos se destaca su aplicación en la cocción mediante fritura, permitiendo obtener un producto frito más atractivo en sabor y aroma. Dado que existe evidencia de que los diferentes métodos de cocción inducen a cambios en la composición química de los alimentos y que estos cambios afectan tanto la biodisponibilidad como el contenido de compuestos quimioprotectores y en consecuencia sus potenciales actividades biológicas (Yuan y col., 2009), surge el interés de estudiar el efecto de la cocción sobre el perfil de compuestos organoazufrados presentes en aceites saborizados con ajo y las posibles transformaciones que pudieran ocurrir como consecuencia de ello. La información a obtener será importante ya que permitirá definir las condiciones óptimas de cocción a fin de reducir la pérdida o degradación de compuestos biológicamente activos presentes en los alimentos de consumo habitual como un plato elaborado.

### 1.2. USO MEDICINAL Y CULINARIO DEL AJO

El ajo se ha utilizado con fines medicinales desde la antigüedad, remontándose su uso a los comienzos de la humanidad. Las primeras evidencias de ello fueron halladas en Egipto, donde se ha encontrado en cuevas habitadas por el hombre, restos de bulbos de ajo de más de 10.000 años (Block, 1985). Registros jeroglíficos muestran que los trabajadores consumían grandes cantidades de ajo crudo mientras construían las pirámides, lo cual les permitía ganar fuerza, luchar contra la malaria y otras afecciones (Kamel y Saleh, 2000). El historiador griego Herodoto hizo mención al consumo de ajo por parte de los esclavos egipcios para evitar que las epidemias de tifus y cólera, mermaran sus fuerzas durante la construcción de la pirámide de Keops. Incluso en algunas obras de Homero se hace referencia al uso propiciado por los iatros (médicos griegos)

que lo empleaban junto con hierbas aromáticas en calidad de analgésico y desinfectante de heridas de guerra.

El Codex Ebers, un papiro medicinal egipcio que data de 1550 AC, contiene más de 800 fórmulas terapéuticas, en 22 de las cuales se mencionan el uso del ajo para aliviar cefaleas, trastornos cardíacos, mordeduras de serpiente, parásitos y tumoraciones (Lanzotti, 2006). Asimismo, existen escritos que aluden al uso de esta especie por un dentista egipcio llamado Hesy Ra, quien trataba las caries de sus pacientes con un empaste basado en dientes de ajo mezclados con miel, el cual proporcionaba un inmediato alivio.

Durante los primeros juegos olímpicos en Grecia, el ajo era ingerido por los atletas como un estimulante (Block, 1985). El médico griego Hipócrates, quien era considerado el “padre de la medicina”, recomendó el ajo para el tratamiento de enfermedades pulmonares, tumores abdominales y uterinos (Lawson, 1998). También las culturas nórdicas, representadas en el mundo antiguo por los fenicios y vikingos, lo llevaban en sus navíos para mantener el vigor y fuerzas de sus marineros durante las largas travesías.

En Roma, conocieron las virtudes de esta especie a partir de los usos conferidos por los griegos. “Plinio el Grande” en su libro *Historia Naturalis* hace mención a 61 usos terapéuticos del ajo. Hipócrates refería sus propiedades diuréticas y laxantes mientras que Aristóteles lo recomendaba contra la hidrofobia. Quizás el máximo difusor romano de las virtudes del ajo haya sido el médico militar Dioscórides a través de sus escritos, donde prescribía al ajo como un vermífugo o expulsor de parásitos intestinales (Block, 1985).

En la India, se ha utilizado en forma de una loción antiséptica para el lavado de heridas y úlceras (Block, 1985).

Las propiedades medicinales atribuidas al ajo han sido comprobadas y verificadas a través de numerosas investigaciones científicas que tuvieron inicio a finales del siglo XIX, cuando Louis Pasteur en 1958, observó por primera vez las propiedades antibacterianas del ajo.

En los últimos años, la atención se ha centrado en el estudio de sus efectos frente a enfermedades tales como el cáncer, la enfermedad cardíaca coronaria, obesidad, hipercolesterolemia, diabetes tipo 2, hipertensión, cataratas y trastornos del tracto gastrointestinal (Lanzotti, 2006). Estas investigaciones incluyen la identificación de los compuestos bioactivos, la dilucidación de los mecanismos de acción en las actividades en las cuales son involucrados y la identificación de los factores que afectan su potencialidad en términos de efectos benéficos para la salud.

Pero además de su relevancia como medicamento, en nuestros días, el ajo es considerado un condimento que goza de gran popularidad en los países Mediterráneos y de América del Sur. En distintas partes del mundo se cultivan y consumen distintos tipos de ajo según las preferencias de agricultores y consumidores, que a su vez varían según las regiones geográficas y costumbres culturales (González, 2009).

La forma más común de comercialización es la de bulbos enteros frescos. Sin embargo, existen numerosas preparaciones comerciales de ajo, entre las que se incluyen aceites destilados de ajo, ajos macerados en aceites vegetales y polvo de ajo. En algunos países de Asia y norte de África se comercializan y consumen también las hojas de ajo (Simón y Jenderek, 2003).

Se emplea como un condimento natural, pero también es utilizado en verde (ajetes), deshidratado, en encurtido o incluso los brotes tiernos de sus hojas. Todo ello fundamentado en su aroma y sabor característicos y en su capacidad para resaltar el *flavor* de otros alimentos. Numerosos libros en los cuales se describen el arte culinario de Europa, China e India, incluyen métodos de procesamiento tales como hervir, hornear, encurtir o añejar el ajo crudo.

A los ajos tradicionales que Argentina produce, se refuerzan cada día las demandas de otro tipo de presentaciones. Tal es el caso de los “ajos de verdeo” de amplia difusión en la Unión Europea y en países del sudeste asiático. Se denominan “ajos de verdeo” a los brotes tiernos (láminas y vainas) provenientes de la brotación de un diente pequeño de ajo. Se conocen en el mercado internacional como *spring garlic*, *baby garlic* o *green garlic*. Estos no deben confundirse con los denominados *fresh garlic* que son bulbos con dientes formados pero aún no maduros. Es

apreciado en el mercado por tener la textura del chalote pero el gusto del ajo. Deben conservarse a bajas temperaturas. Se consumen en rodajas crudas o cocidas o en trozos como adornos y guarniciones (Burba, 2006).

Otra alternativa son los aceites saborizados con ajo. La infusión de hierbas o flores en los aceites es una práctica antigua nacida en el Mediterráneo cuando los productores conservaban las hierbas y verduras secas inmersas en el aceite con el fin de evitar o prevenir su deterioro. Estos aceites adquieren un sabor y aroma muy particular, siendo utilizados como aderezos o condimentos para ensaladas (Baiano y col., 2010).

### 1.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

La composición nutricional depende de varios factores entre ellos de la variedad elegida para el análisis y de las condiciones de cultivo. En la tabla 1.1 se presenta la composición nutricional por cada 100 g de producto en fresco.

**Tabla 1.1.** Composición Nutricional del ajo

Componentes	Cantidad (% peso en fresco)
Agua	62-68
Carbohidratos (mayormente fructanos)	26-30
Proteínas	1,5-2,1
Aminoácidos comunes	1-1,5
Aminoácidos: cisteína sulfóxidos	0,6-1,9
γ-Glutamilcisteína	0,5-1,6
Lípidos	0,1-0,2
Fibras	1,5
Compuestos azufrados totales*	1,1-3,5
Sulfuro	0,23-0,37
Nitrógeno	0,6-1,3
Minerales	0,7
Vitaminas	0,015
Saponinas	0,04-0,11
Compuestos liposolubles totales	0,015 (entero) 0,7 (cortado)
Compuestos hidrosolubles totales	97

\*Excluyendo proteínas y sulfato inorgánico (0,5%). Fuente: Rahman, 2003.

El ajo se compone principalmente de agua seguido por hidratos de carbono (azúcares no estructurales como la fructuosa, glucosa, inulina y arabinosa), compuestos organoazufrados, proteínas, fibra y aminoácidos libres (Rahman, 2003; Gómez, 2008). Además presenta altos niveles de saponinas y esteroides, vitaminas B, B<sub>2</sub>, C, niacina, minerales y elementos trazas, entre los que figuran: fosfatos, potasio, sulfuro, zinc, bajos niveles de calcio, magnesio, sodio, hierro, manganeso y moderados niveles de selenio (Rabinowitch, 2002). Gran parte de estos compuestos son hidrosolubles (97 %) y sólo una pequeña proporción son compuestos liposolubles (0,015-0,7 %) (Rahman, 2003).

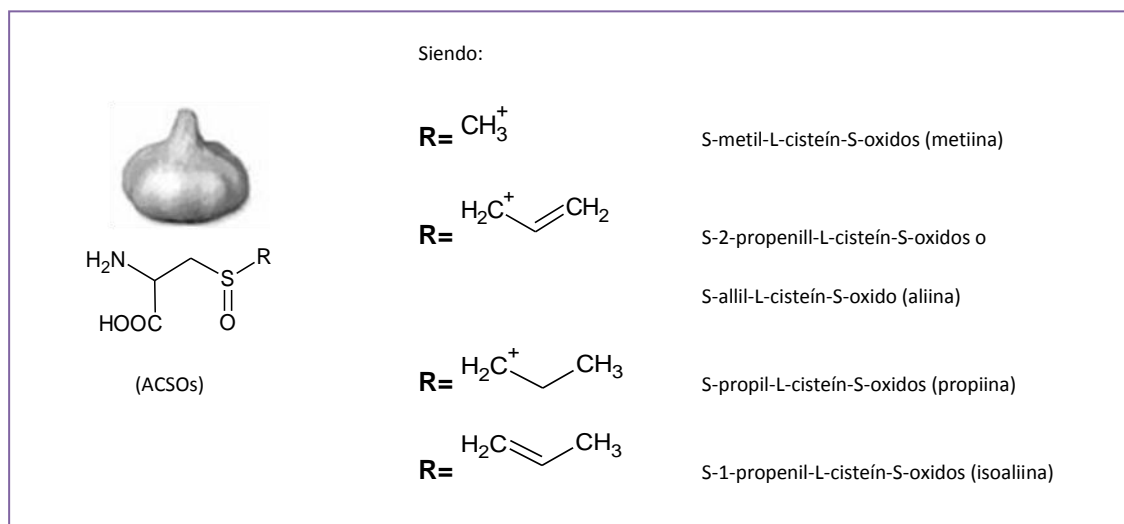
Una característica singular es su alto contenido de compuestos organoazufrados (entre 500 y 3.700 mg kg<sup>-1</sup> de producto), siendo estos valores superiores a los reportados en muchos otros



vegetales. Estos compuestos se destacan por ser los responsables de las características de sabor y aroma y además potentes compuestos biológicamente activos (Block, 1985).

#### 1.4. BIOQUÍMICA DE LOS COMPUESTOS ORGANOAZUFRADOS (OSCs)

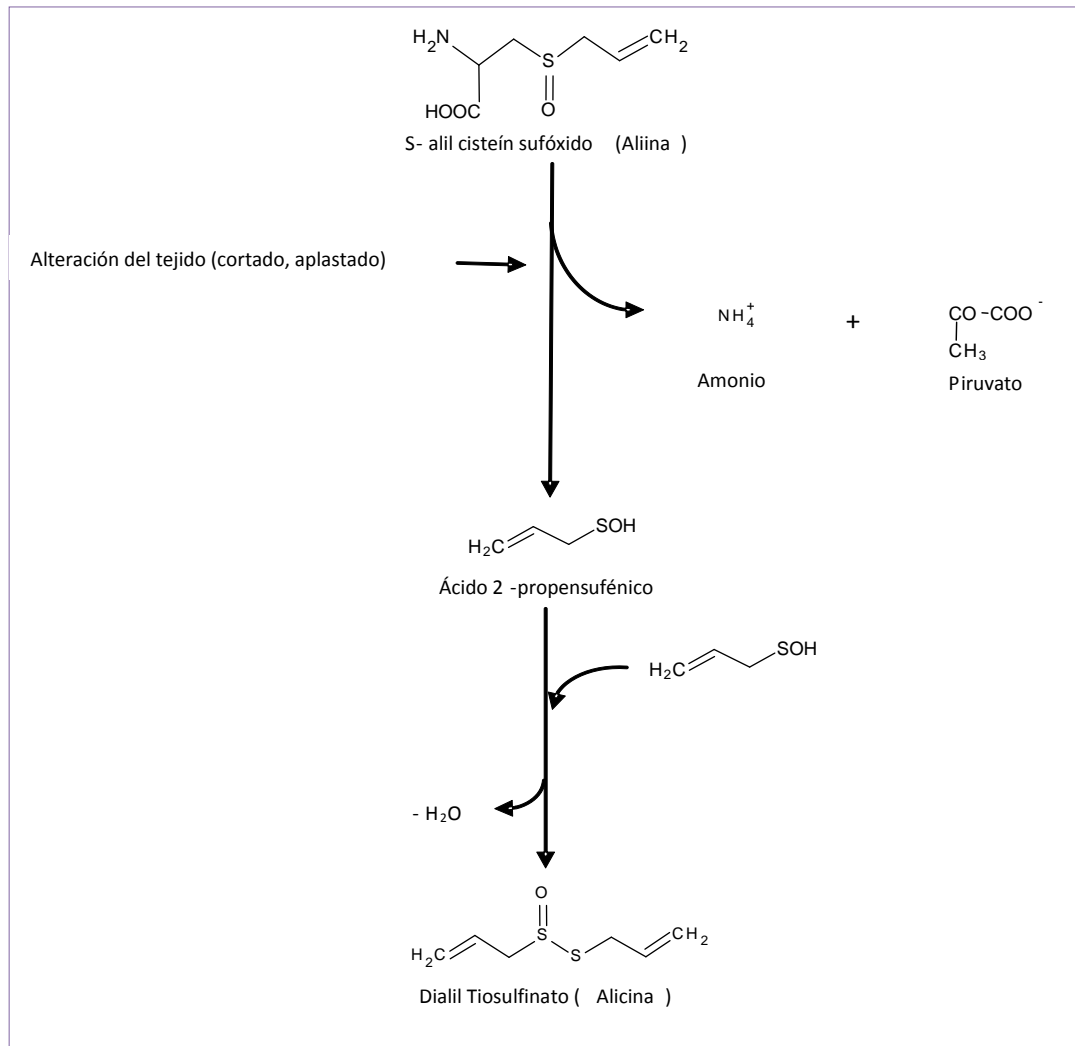
Gran parte del contenido de azufre en el género *Allium* se encuentra bajo la forma de S-alquencil cisteín sulfóxidos (ACSOs), aminoácidos no proteicos, no volátiles y sin aroma, comúnmente denominados precursores del flavor (González, 2009). Cuatro ACSOs han sido identificados en este género, los cuales difieren en el radical alquilo presente en la molécula del aminoácido (figura 1.1). Estos pueden ser: S-metilcistein sulfóxido (metiina), S-propilcistein sulfóxido (propiina), S-1-propenilcistein sulfóxido (isoaliina) y S-2-propenilcistein sulfóxido (aliina).



**Figura 1.1.** Estructura de los S-alquencil cisteín sulfóxidos (ACSOs) presentes en el género *Allium*.  
Fuente: Block, 2010.

El S-2-propenilcistein sulfóxido, denominado aliina fue el primer ACSOs identificado por Stoll y Seebeck (1948) durante el estudio de las propiedades antibacterianas del ajo. Es el precursor del flavor más abundante en el bulbo de ajo entero (Gómez, 2008).

Los ACSOs se encuentran localizados en el citoplasma de la célula físicamente separados de la enzima alinasa (EC 4.4.1.4), (Brewster, 1994). Cuando los tejidos de ajo fresco son dañados (cortados o picados), los ACSOs entran en contacto con la enzima alinasa (confinada en la vacuola de las células), la cual produce la lisis de los aminoácidos mediante una  $\beta$ -eliminación del grupo alquencil sulfóxido en presencia del fosfato de piridoxal, el cual actúa como un cofactor. Los productos de reacción son ácidos sulfénicos y ácido  $\alpha$ -iminopropiónico, ambos altamente inestables. El ácido  $\alpha$ -iminopropiónico espontáneamente se hidroliza a piruvato y amonio. Los ácidos sulfénicos, compuestos intermediarios, se condensan para formar los tiosulfatos (Amagase, 2006). Estos son los responsables del aroma característico de esta especie (figura 1.2).



**Figura 1.2.** Conversión enzimática de la aliina en alicina. Fuente: Iciek y col., 2009.

En ajo, el ácido 2-propen-sulfénico condensa para formar el tiosulfinato alicina (alil-2-propen-tiosulfinato), este representa un 60-70% de los tiosulfatos totales (Lawson y col. 1991) y es el principal responsable del sabor pungente del ajo (Macpherson y col. 2005). Sin embargo la alicina (principal compuesto biológicamente activo presente en homogeneato de ajo), es muy inestable en presencia de calor y solventes orgánicos formando una gran variedad de compuestos de degradación cuando el ajo es procesado (figura 1.3). Estos compuestos son sulfuros (dialil mono-, di-, y oligosulfuros); vinilditiinas (2-vinil-4H-1,3ditiina, 3-vinil-4H-1,2ditiina) y ajoenos (E y Z ajoeno), (Lawson y col., 1991; Velisek y col., 1997).

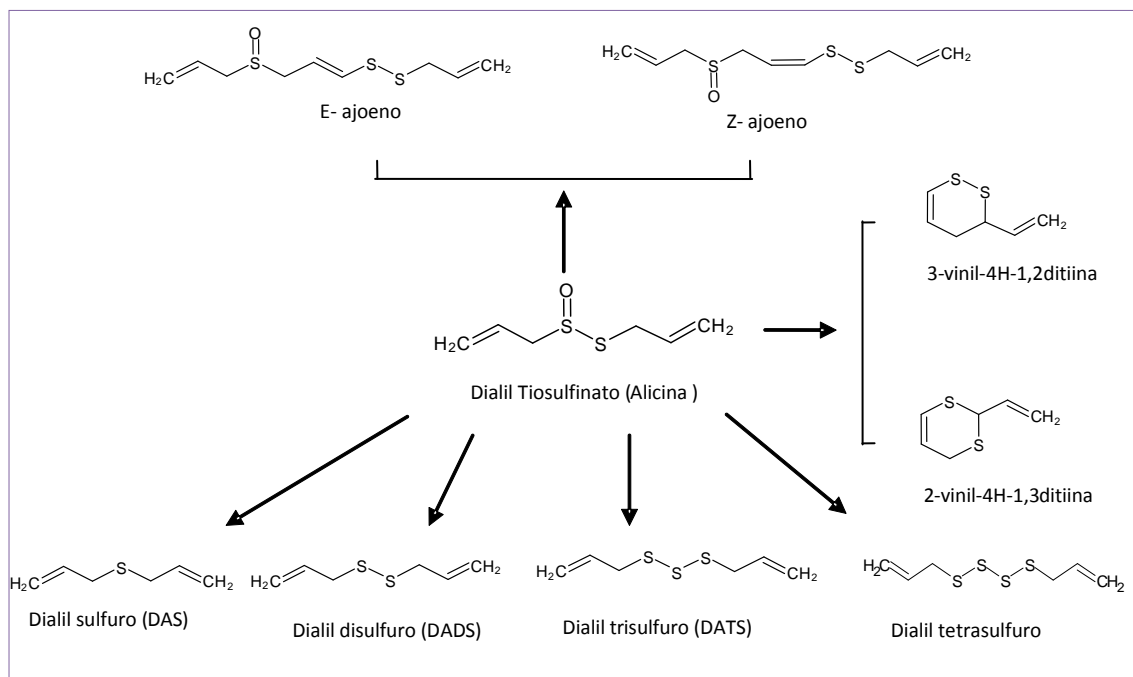


Figura 1.3. Descomposición de la alicina. Fuente: Zeng y col., 2013

## 1.5. EFECTOS BENÉFICOS PARA LA SALUD

Las plantas del género *Allium* han sido a lo largo de la historia utilizadas como medicina, y se les atribuye la cura de una amplia clase de dolencias en escritos de medicina tradicional. Estudios científicos han demostrado considerables efectos farmacológicos, los cuales han sido atribuidos, en algunos casos, a estructuras moleculares específicas, en su mayor parte derivados de compuestos organoazufrados (Brewster, 1994). Se puede destacar:

### - Actividad antibacteriana

Louis Pasteur fue el primero en descubrir el efecto antibacteriano del ajo en 1858. Estudios más recientes han comprobado que el ajo inhibe el crecimiento de bacterias gram-positivas, gram-negativas y bacterias resistentes a los ácidos, como así también la producción de toxinas. Las bacterias contra las cuales el ajo es efectivo incluyen cepas de *Pseudomonas*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Micrococcus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium* y *Clostridium*, algunas de las cuales son resistentes a la penicilina, estreptomina y cefalexina entre otros antibióticos (Corzo-Martínez y col., 2007).

Los principales componentes activos antibacterianos *in vivo* son compuestos organoazufrados derivados de la alicina, tales como dialil sulfuro (DAS), dialil disulfuro (DADS) y ajoeno, así como otros tiosulfatos aislados de aceite macerado de ajo (Corzo-Martínez y col., 2007). Estudios epidemiológicos han demostrado que el DAS y DADS pueden actuar contra la infección por *Helicobacter pylori* y, por tanto, reducir el riesgo de neoplasia gástrica, ya que esta bacteria está involucrada en el desarrollo de cáncer de estómago (Corzo-Martínez y col., 2007). También presentan actividad antibacteriana contra *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli* (Touloupakis y Ghanotakis, 2010).

### - Actividad antifúngica

Estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado una gran eficacia del ajo y sus derivados contra un amplio espectro de hongos y levaduras, incluyendo *Candida*, *Trichophyton*, *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* y *Trichosporon*, así como una actividad sinérgica con anfotericina B *in vitro*, una de las principales drogas antifúngicas (Corzo-Martínez y col., 2007).

Los principales agentes antifúngicos hallados en extractos de ajo y cebolla son dialil trisulfuro (DATS), DADS, DAS y ajoeno, cuyo potencial antifúngico es mayor que el ejercido por

alicina. Su mecanismo de acción implica la disminución en el consumo de oxígeno, reduciendo el crecimiento celular, inhibiendo la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, cambiando el perfil de lípidos de la membrana celular e inhibiendo la síntesis de la pared celular (Corzo-Martínez y col., 2007).

#### - **Actividad antiviral**

Investigaciones científicas han reportado que extractos de ajo poseen actividad sobre el virus de la influenza A y B; citomegalovirus humano, virus de la estomatitis vesicular, rinovirus, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus herpes simplex tipo 1 y 2, virus de la neumonía y rotavirus (Harris y col., 2001).

La actividad antiviral del ajo ha sido observada en subproductos comerciales tales como: tabletas, cápsulas y polvo de ajo como así también ajo macerado en aceites vegetales, aceite destilado de ajo y extractos añejados de ajo (AGE). Esta actividad es dependiente de los procesos de obtención de los diferentes subproductos ya que ellos determinan el perfil y concentración de compuestos bioactivos. La mayor actividad antiviral ha sido observada en subproductos con altos niveles de alicina y otros tiosulfatos, DADS, DATS y ajoeno (Corzo-Martínez y col., 2007; Singh y col., 2008).

#### - **Actividad antiparasitaria**

Extractos de ajo han demostrado ser efectivos contra *Opalina ranarum*, *Opalina dimidicita*, *Balantidium entozoon*, *Entamoeba histolyca*, *Trypanosoma brucei*, *Leishmania*, *Leptomonas* y *Crithidia* (Corzo-Martínez y col., 2007).

Debido al incremento de la resistencia a los fármacos sintéticos recomendados para el tratamiento de giardiasis, ha habido un creciente interés por explorar alternativas naturales. En este contexto, estudios clínicos han permitido evidenciar que el ajo es efectivo contra *Giardia lamblia* y *Giardia intestinalis*. Esta actividad antiprotozoal es atribuida especialmente a la alicina y ajoeno capaces de inhibir la síntesis de la fosfatidil colina en tripanosomas (Corzo-Martínez y col., 2007).

#### - **Actividad antioxidante**

La actividad antioxidante ejercida por extractos de diferentes especies pertenecientes al género *Allium*, ha sido de particular interés debido a la relación entre el estrés oxidativo y patologías tales como arterosclerosis, cáncer y envejecimiento, en los cuales los radicales libres y especies de oxígeno reactivas están implicados (Xiao y Parkin, 2002). Esto se ha fundamentado a partir de estudios que señalan que dietas basadas en el consumo de frutas y hortalizas, proporcionan una gran cantidad de fitoquímicos antioxidantes que ofrecen protección contra el daño celular (Dimitrios, 2006).

Entre los productos derivados del ajo, el AGE es la preparación con mayor actividad antioxidante, incluso más que el ajo fresco y otros subproductos de ajo (Corzo-Martínez y col., 2007). Esto es debido a la presencia de compuestos hidrosolubles tales como: S- alilcisteína (SAC) y S-alilmercaptocisteína (SACM) y liposolubles: alicina, ajoeno, DAS, DADS y DATS (Amagase y col., 2001). La protección antioxidante es ejercida a través de la modulación por enzimas tales como 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa, glutatión-S-transferasa y catalasa que liberan radicales libres que dañan los tejidos celulares (Yin y col., 2003).

En particular, debido a su acción antioxidante, el extracto de ajo añejado disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, inhibe la oxidación lipídica y reduce los niveles sanguíneos de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Amagase y col., 2001; Corzo-Martínez y col., 2007).

#### - **Actividad anticarcinogénica y antimutagénica**

Diversos estudios en animales y cultivos de células han demostrado este efecto del ajo y sus compuestos químicos, en particular, se ha estudiado su capacidad para inhibir el crecimiento tumoral y la proliferación celular (efecto antineoplásico). Se ha reportado que la ingesta de ajo disminuye el riesgo de sarcoma y carcinoma en diversos tejidos y órganos, como estómago,

colon, esófago, próstata, vejiga, hígado, pulmones, mamas, piel y cerebro (Corzo-Martínez y col., 2007).

Tanto compuestos hidrosolubles como liposolubles serían los responsables de los efectos anticancerígenos observados. DAS, dialil sulfóxido (DASO), dialil sulfona (DASO<sub>2</sub>), DADS, DATS y SAC pueden inhibir la carcinogénesis (Corzo-Martínez y col., 2007).

Respecto a la actividad antimutagénica, se ha reportado que DAS tiene efecto sobre los mecanismos de reparación del ADN, evitando mutaciones y previniendo, por lo tanto, el inicio de la carcinogénesis (Corzo-Martínez y col., 2007).

#### - **Actividad antiplaquetaria o antitrombótica**

La activación de las plaquetas en sangre interviene de manera esencial no solo en la hemostasia normal, sino también en el desarrollo de severos desordenes arteriales (Libby, 2001). La hipersensibilidad de las plaquetas constituye uno de los factores causales del desarrollo y progresión de la aterosclerosis (O'Kennedy y col., 2006). La mortalidad debido a enfermedades cardiovasculares, puede ocurrir como resultado de un evento trombotico causado por la ruptura de la placa aterosclerótica (Zaman y col., 2000). Las terapias antiplaquetarias han demostrado que disminuyen significativamente la incidencia de eventos coronarios primarios y secundarios relacionados a las enfermedades cardiovasculares (O'Kennedy y col., 2006).

La actividad antiplaquetaria ejercida por distintas preparaciones de ajo, es una de las propiedades más investigada. El efecto antiplaquetario ejercido por extractos acuosos de ajo, polvo de ajo, ajoeno, aceite destilado de ajo y extractos añejados de ajo, ha sido investigado en estudios *in vitro* e *in vivo* (Lawson y col., 1992). Se ha postulado que varios mecanismos contribuyen a la inhibición de la agregación de las plaquetas, los cuales incluyen: la modificación de la membrana de las plaquetas, inhibición de la movilización de calcio y la inhibición de varios pasos de la secuencia de síntesis del ácido araquidónico (Ali y col., 2000). Cuando las plaquetas son activadas con un agonista tal como adenosina difosfato (ADP), adrenalina, colágeno o ionóforo de calcio A23187, tiene lugar una agregación irreversible la cual es acompañada de la liberación del contenido de gránulos endógenos de las plaquetas (Mustard y col., 1987). Sin embargo, si las plaquetas son activadas por agonistas 'fuertes' tales como el colágeno o la trombina, tiene lugar una rápida deacilación de los fosfolípidos de las plaquetas. Esto resulta en la estimulación de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, la cual interviene en la liberación de ácido araquidónico. Este ácido araquidónico es convertido a tromboxano A<sub>2</sub>, un potente inductor de la agregación plaquetaria (Ali, 1995). Se ha reportado que los extractos acuosos de ajo inhiben la agregación plaquetaria y la formación de tromboxanos *in vivo* (Makheja y Bailey, 1990; Srivastava y Tayagi, 1993).

Los mecanismos involucrados en estudios *in vitro* incluyen la inhibición irreversible de la agregación de las plaquetas a través de la supresión dosis-dependiente de la síntesis de tromboxano, causada por una inhibición de la enzima cicloxigenasa y la inhibición dosis-dependiente de la agregación inducida por colágeno, ADP y epinefrina (Singh y col., 2001). También se ha observado una disminución en la liberación de β-tromboglobulinas, lo que sugiere que el ajo actuaría en la fase de activación de las plaquetas (Helou y Harris, 2000).

Entre los compuestos organoazufrados presentes en distintas preparaciones de ajo con actividad antiplaquetaria se encuentran, alicina, SAC, adenosina, metilalil-trisulfuro (AMTS), DAS, DADS y ajoeno (Ali y col., 1999; Bordia y col., 1998). También se ha reportado que el ajo posee actividad fibrinolítica, por reducción de los niveles de fibrinógeno, incremento de la fibrinólisis y tiempo de protrombina (Bordia y col., 1975; Makheja y col., 1979). Debido a la variabilidad en los métodos de preparación, las distintas preparaciones de ajo disponibles en el mercado, muestran diferentes efectos inhibitorios sobre la agregación plaquetaria (Lawson y col., 1992).

#### - **Efectos en el metabolismo de los lípidos**

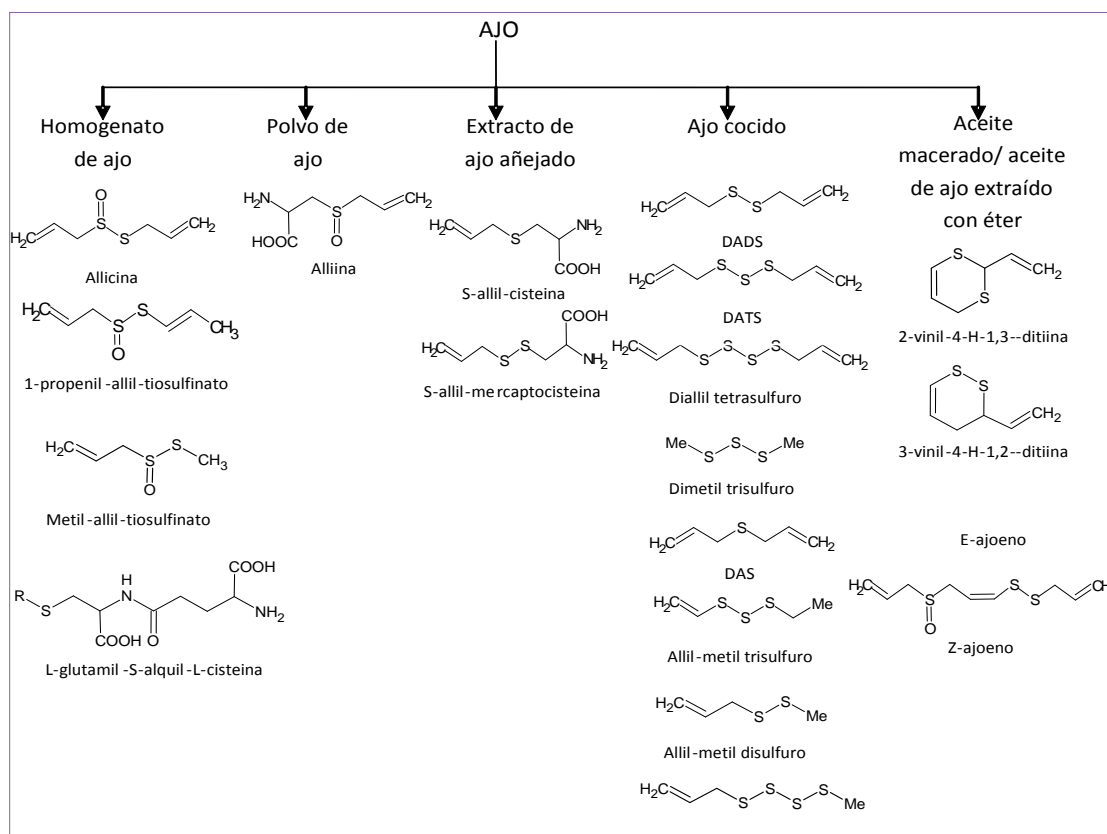
Numerosos estudios han indicado que la ingesta de aceite destilado de ajo y ajo crudo, disminuye significativamente el contenido de colesterol sérico total, lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y también aumenta significativamente los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Corzo-Martínez y col., 2007).

La alicina y sus compuestos derivados son las principales sustancias activas responsables de los efectos hipolipemiantes e hipocolesterolémico del ajo. Algunos compuestos derivados de la alicina en ajo tales como: ajoeno, DAS, DATS, 2-vinil-4H-1,3-ditiina (2-VD) y SAC han demostrado poseer efectos benéficos en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Además, compuestos no azufrados de ajo, tales como saponinas esteroides, también han demostrado ser capaces de reducir las concentraciones de colesterol sérico (Corzo- Martínez y col., 2007).

## 1.6. SUBPRODUCTOS COMERCIALES DEL AJO

Los subproductos de ajo mayoritariamente son comercializados como aromatizantes y/o saborizantes (ajo deshidratado, sal de ajo y dientes de ajo en conserva mantenidos mediante conservación química) o como suplementos dietarios con fines terapéuticos. Entre los suplementos dietarios de ajo se encuentran tabletas elaboradas a partir de ajo en polvo y cápsulas que contienen ajo en polvo o bien contienen un aceite de ajo (Lawson, 1993).

De acuerdo a la literatura científica, estos subproductos se pueden clasificar en: aceite destilado de ajo, aceite de ajo macerado, ajo deshidratado y extracto añejado de ajo (Lawson y col., 1991; Amagase y col., 2001). Estos difieren considerablemente en su composición cualitativa de compuestos bioactivos, debido a cambios enzimáticos y químicos que tienen lugar durante su obtención, como se detalla a continuación en la figura 1.4 (Verma y col., 2008). En la actualidad existe la necesidad de normalizar o estandarizar a cada subproducto de acuerdo al perfil y concentración de sus principales compuestos bioactivos. A fin de reducir la variabilidad asociada a los diferentes procesos de fabricación ya que ello determina su potencialidad farmacológica.



**Figura 1.4.** Compuestos organoazufrados mayoritarios presentes en diferentes preparaciones de ajo. Fuente: Corzo-Martínez y col., 2007

### 1.6.1. Ajo deshidratado

La elaboración de este subproducto implica la deshidratación de dientes de ajo fresco y su posterior molienda para así conseguir ajo en polvo. Su composición química y actividad de la enzima alinasa es prácticamente idéntica a la que presentan los dientes de ajo frescos (Lawson, 1993). Esto es cierto, si los dientes son deshidratados enteros, sin embargo, en la práctica, los dientes de ajo deben ser picados o feteados para conseguir un deshidratado eficiente. Al cortar o fetear los dientes de ajo, se produce la hidrólisis de los aminoácidos precursores del flavor mediada por la enzima alinasa generando los tiosulfatos, los cuales se pierden por evaporación durante el proceso de deshidratación (Lawson, 1993). En consecuencia, es importante llevar a cabo el proceso de deshidratación del ajo fresco en trozos o piezas del mayor tamaño posible (Sticher, 1991; Aye, 1989).

En la actualidad, se utilizan métodos de deshidratación que implican diversas condiciones de temperatura y tiempo. El más empleado es la deshidratación a temperaturas de horno de convección entre 50 y 60 °C, caracterizado por un alto consumo de energía y tiempo. Otras tecnologías aplicadas son: la *deshidratación en lecho fluidizado*, a partir de la cual no se logra disminuir el tiempo de secado y el consumo de energía; la *deshidratación tipo Spray* de ajo homogeneizado en la que se ha reportado la pérdida completa de aliina y alicina; y la *liofilización* para evitar los daños del material asociados al calor (Sance y col., 2013). Actualmente también se están desarrollando procesos de deshidratación que involucran la combinación de hornos de convección y microondas con el objetivo de reducir los tiempos del proceso y el consumo energético (Sharma y Prasad, 2006).

Debido a la desactivación de alinasa durante la deshidratación, los principales componentes activos remanentes de ajo en polvo son aliina y una pequeña cantidad de compuestos organoazufrados liposolubles (Tsai y col., 2012).

El polvo de ajo obtenido se emplea como un agente saborizante para condimentos y alimentos procesados y en la elaboración de suplementos dietarios. Las tabletas de polvo de ajo contienen además, dos o tres excipientes y recubrimiento entérico para prevenir la rápida e irreversible inhibición de la alinasa por las condiciones ácidas del estómago (Lawson y Hughes, 1992).

### 1.6.2. Aceites de ajo

Existen tres tipos de aceites de ajo: el aceite destilado de ajo, el aceite de ajo macerado en un aceite vegetal y el aceite obtenido a partir de la extracción con éter de los tiosulfatos formados a partir de homogenato de ajo (Lawson, 1993). Ninguno de estos aceites está presente en los dientes de ajo frescos. Los dientes de ajo sólo contienen pequeñas cantidades (0,2%) de un aceite natural constituido mayoritariamente de triglicéridos, fosfolípidos y glicolípidos, ninguno de los cuales contiene azufre (Fenwick y Hanley, 1985).

#### 1.6.2.1. Aceite destilado de ajo

Este subproducto es obtenido a partir de dientes de ajo picado o feteado que son posteriormente sometidos a hidrodestilación o bien extraídos con un solvente orgánico como por ejemplo hexano (Amagase y col., 2001). Es conocido como 'aceite esencial de ajo', lo cual es erróneo debido a que el aceite obtenido por destilación presenta en su composición casi exclusivamente sulfuros generados a partir de sus precursores, los tiosulfatos, los cuales no son formados sino hasta que el ajo es picado o feteado (Lawson, 1993). Es uno de los primeros productos derivados de ajo que se ofrecieron en el mercado, muy populares en Estados Unidos y que llegaron a Europa a principios del siglo XX (Nagourney, 1998).

Respecto a su composición, Lawson y col., 1991, reportaron que un típico aceite saborizado con ajo disponible en el comercio (obtenido por disolución de aceite destilado de ajo en aceite de soja u otro aceite vegetal) contiene casi exclusivamente dialil (57%), metil alil (37%) y dimetil sulfuros (6%), conteniendo de 1 a 6 átomos de carbono y trazas de hepta y octasulfuros. En este mismo trabajo se halló que di-, tri- y tetrasulfuros fueron los compuestos mayoritarios, representando el 92% de los sulfuros. Sin embargo, el aceite de ajo destilado recién obtenido contiene predominantemente DATS (Miething, 1988; Tsuboi y col., 1989), no así propenil sulfuros

(Lawson, 1993). En ningún caso compuestos hidrosolubles ni alicina han sido hallados (Zeng y col., 2013).

Para la obtención de suplementos dietarios, el aceite destilado de ajo es diluido (>99%) con aceites vegetales para elaborar píldoras y estabilizar los sulfuros que gradualmente forman sulfurados poliméricos superiores (ej., trisulfuro se convierte a tetrasulfuro) en ausencia de solventes (Lawson, 1993). La aplicación de aceite esencial de ajo en la industria de los alimentos es limitada debido a su volatilidad y fuerte olor (Wang y col., 2011).

### 1.6.2.2. Aceite de ajo macerado

Este es un subproducto que originalmente fue elaborado para su uso como condimento, siendo muy popular en Europa (Amagase y col., 2001). Es obtenido a partir de la homogenización de dientes de ajo picados en un aceite vegetal (Lawson, 1993). Los tiosulfuros formados durante la ruptura del tejido de ajo son rápidamente solubilizados en el aceite vegetal y debido a su reactividad e inestabilidad, son subsecuentemente transformados a vinilditiinas (70%), sulfuros (18%) y ajoeno (12%) (Iberl y col., 1990; Lawson y col., 1991). De los diferentes subproductos de ajo, los aceites de ajo macerado, son los únicos que contienen vinilditiinas y ajoenos (Lawson, 1993; Velisek y col., 1997). Se ha reportado que la concentración de compuestos organosulfurados en aceite de ajo macerado, es sólo el 20% de lo hallado en aceites destilados de ajo o de la concentración de tiosulfuros presentes en ajo fresco (Lawson y col., 1991). Esto puede deberse a una insuficiente formación de tiosulfuros previa a la maceración o a pérdidas por volatilización durante su elaboración (Lawson y col., 1991; Lawson, 1993).

El análisis de diferentes aceites de ajo macerado disponibles comercialmente realizado por Lawson y col., 1991; reveló una gran variabilidad en el contenido de compuestos organosulfurados debidas a diferencias significativas en el procesamiento y condiciones de almacenamiento de estos subproductos. Cuando un mismo aceite de ajo macerado fue analizado después de 6 meses de almacenamiento a temperatura ambiente, se halló que el contenido de ajoeno había disminuido cerca del 50% mientras que el contenido de vinilditiinas permaneció constante, indicando estos resultados cierta inestabilidad del ajoeno.

### 1.6.2.3. Aceite de ajo extraído con éter

Este tercer tipo de aceite de ajo, de composición química muy similar al aceite de ajo macerado, es obtenido a partir de homogenato de ajo extraído con un solvente orgánico que generalmente es éter. Mediante este procedimiento son extraídos todos los tiosulfuros presentes en el homogenato, los cuales son convertidos rápidamente a vinilditiinas, sulfuros y ajoenos. La ventaja de este tipo de aceite de ajo, comparado con el aceite de ajo macerado, es que se trata de una preparación altamente concentrada de los mismos compuestos organosulfurados que luego pueden ser diluidos en un aceite vegetal o glicerina hasta alcanzar la concentración deseada (Lawson, 1993). Se ha reportado que este aceite contiene 9 veces una concentración de vinilditiinas ( $5,7 \text{ mg g}^{-1}$ ) y alil sulfuros ( $1,4 \text{ mg g}^{-1}$ ) y 4 veces una concentración de ajoenos ( $0,4 \text{ mg g}^{-1}$ ) que un típico aceite de ajo macerado (Lawson, 1993).

### 1.6.3. Extracto añejado de ajo

Para la obtención de este subproducto, dientes de ajo enteros o feteados son colocados en una solución extractante (alcohol diluido 15-20%) por un período de tiempo variable (entre 6 a 20 meses). El extracto obtenido es concentrado y puede venderse como tal, o bien en forma de polvo (Amagase y col., 2001).

Respecto a su composición química, el extracto alcohólico líquido contiene un 10% (p/v) de etanol, 0,05% de azufre total y 0,29% de nitrógeno total (Lawson, 1993). No se encuentran presentes cisteín sulfóxidos o productos de transformación derivados de aliina (tiosulfuros, alil sulfuros, vinilditiinas o ajoenos) (Lawson y col., 1991). Sí están presentes, sin embargo, pequeñas cantidades de  $\gamma$ -glutamil-S-alilcisteína ( $0,28 \text{ mg g}^{-1}$ );  $\gamma$ -glutamil-S-1-propenilcisteína ( $0,17 \text{ mg g}^{-1}$ );  $\gamma$ -glutamil-S-metilcisteína ( $0,02 \text{ mg g}^{-1}$ ) y sus productos de hidrólisis, SAC ( $0,30 \text{ mg g}^{-1}$ ); S-1-propenilcisteína ( $0,15 \text{ mg g}^{-1}$ ), S-metilcisteína ( $0,11 \text{ mg g}^{-1}$ ); SACM ( $0,04 \text{ mg g}^{-1}$ ) y cisteína ( $0,01 \text{ mg g}^{-1}$ ), pero no cisteína o glutatión (Lawson, 1993).



## 1.7. ANÁLISIS DE COMPUESTOS ORGANOAZUFRADOS

Debido al gran número de compuestos organoazufrados presentes tanto en ajo fresco como en sus distintos subproductos, diversas metodologías han sido desarrolladas para la cuantificación e identificación de estos compuestos (Jansen y col., 1987). La más utilizada debido a su buena capacidad de resolución y separación, es la **cromatografía**.

Dentro de los compuestos organoazufrados, la alicina, es considerado el más importante a la hora de evaluar la calidad tanto del ajo fresco, ajo en polvo y tabletas de ajo en polvo. La cuantificación de este organoazufrado, es realizada mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), a través de la elución con metanol: agua (1:1), (Arnault y col., 2003). El estándar de alicina a utilizar puede ser sintetizado y purificado a partir de DADS (González y col., 2007).

Los niveles de aliina, también pueden ser utilizados como estimadores de la calidad de estos productos. El contenido de aliina es determinado mediante HPLC, después de calentar al microondas dientes de ajo durante 30 segundos o por homogenización de dientes de ajo o polvo de ajo en alcohol o un solvente orgánico conteniendo un inhibidor de la alinasa (Lawson, 1998).

En cuanto a los sulfuros, polisulfuros, vinilditiinas y ajoeno, compuestos presentes en aceites destilados de ajo y en ajo macerado, éstos han sido determinados mediante cromatografía líquida y gaseosa (GC). Sin embargo, debido a la excelente resolución y la capacidad de identificación de GC y Cromatografía Gaseosa-Espectroscopia de Masa (GC-MS), estas técnicas han sido las más utilizadas para cuantificar compuestos volátiles de plantas del género *Allium* (Gómez, 2008). Si bien, GC es un método de separación rápido que utiliza instrumental menos costoso comparado con HPLC, se ha reportado que las condiciones de trabajo implicadas, pueden transformar los analitos de la muestra original, arrojando como resultado la identificación de compuestos que son conocidos como “artifacts” y constituyen un serio problema a la hora de informar el verdadero perfil de organoazufrados (Block, 2010).

La separación mediante HPLC, al llevarse a cabo a temperatura ambiente, constituye una ventaja importante frente al GC, ya que se evita la formación de “artifacts” en la separación e identificación de compuestos organoazufrados térmicamente inestables como los tiosulfatos (Rouseff, 2002). Sin embargo, Block y colaboradores (1992) han señalado factores que afectan la fiabilidad y reproducción de este método analítico. Uno de ellos es el tiempo desde la preparación de extractos homogéneos y el análisis de los mismos. Otro inconveniente del método es la incompleta separación de algunos picos y sus compuestos (Gómez, 2008). Además los detectores de HPLC generalmente son menos sensibles y selectivos que los del GC (Rouseff, 2002).

## 1.8. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en las Ciencias de los Alimentos y de la Nutrición que corresponde a la de los “alimentos saludables y funcionales”. La regulación en relación con los “alimentos saludables” está siendo constantemente revisada y modificada, y constituye uno de los temas de mayor dinamismo en los organismos regulatorios y en la Industria Alimentaria (Alvídrez-Morales y col., 2002).

El ajo y sus subproductos, se encuentran entre los alimentos considerados saludables por su alto aporte de flavonoides, compuestos polifenólicos y organoazufrados (Araya, 2003).

En nuestro país, los aceites saborizados con ajo se comercializan bajo la denominación de aderezos de acuerdo a lo establecido por el Código Alimentario Argentino (art. 1279 - Dec 748, 18.03.77-) tal denominación no especifica el procedimiento de saborización empleado. Dado que el perfil de compuestos bioactivos de los aceites saborizados fluctuará según los procesos de saborización mediante los cuales fueron obtenidos, también lo serán las potenciales propiedades biológicas que estos ejerzan. Por ello resulta de interés llevar a cabo la caracterización química de los aceites saborizados con ajo. Esto es factible empleando diversas metodologías analíticas, entre las que se destacan la cromatografía gaseosa y líquida (Block y col., 1992).

Por otro lado, los aceites saborizados con ajo pueden ser empleados como medio para cocción mediante fritura. Numerosas variables se encuentran implicadas en este proceso culinario, las cuales determinan las condiciones de fritura óptimas para cada tipo de producto (Varela, 1988; Brinkmann, 2000), por esta razón resulta también de interés conocer la aptitud de los aceites saborizados objeto de este estudio, para su empleo como medio de fritura.

## 1.9. HIPÓTESIS

- Indicadores de calidad bromatológica, el color y el perfil de compuestos organoazufrados permiten caracterizar y diferenciar aceites saborizados con ajo obtenidos mediante diferentes procedimientos de saborización.
- Los indicadores de calidad bromatológica, color y el perfil de compuestos organoazufrados de aceites saborizados con ajo sufren modificaciones cuali-cuantitativas durante su empleo como medio en la cocción mediante fritura.

## 1.10. OBJETIVOS

### 1.10.1. Objetivos generales

- Caracterizar aceites saborizados con ajo elaborados mediante distintos procedimientos de saborización.
- Determinar las modificaciones cuali-cuantitativas de aceites saborizados con ajo, acaecidas durante su empleo como medio en la cocción mediante fritura.

### 1.10.2. Objetivos particulares

- Evaluar la calidad bromatológica a través de la determinación del estado oxidativo de aceites saborizados con ajo.
- Evaluar el color de aceites saborizados con ajo.
- Determinar el perfil cuali-cuantitativo de compuestos organoazufrados presentes en aceites saborizados con ajo mediante cromatografía líquida y gaseosa.
- Diferenciar aceites saborizados con ajo obtenidos por diferentes procedimientos de saborización a partir de su perfil de compuestos organoazufrados.
- Evaluar las modificaciones en los indicadores de calidad bromatológica de aceites saborizados con ajo sometidos a condiciones de cocción mediante fritura.
- Evaluar las modificaciones de color de aceites saborizados con ajo sometidos a condiciones de cocción mediante fritura.
- Evaluar las modificaciones en el perfil de compuestos organoazufrados de aceites saborizados con ajo sometidos a condiciones de cocción mediante fritura.

## **CAPÍTULO 2**

### **CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE ACEITES SABORIZADOS CON AJO**

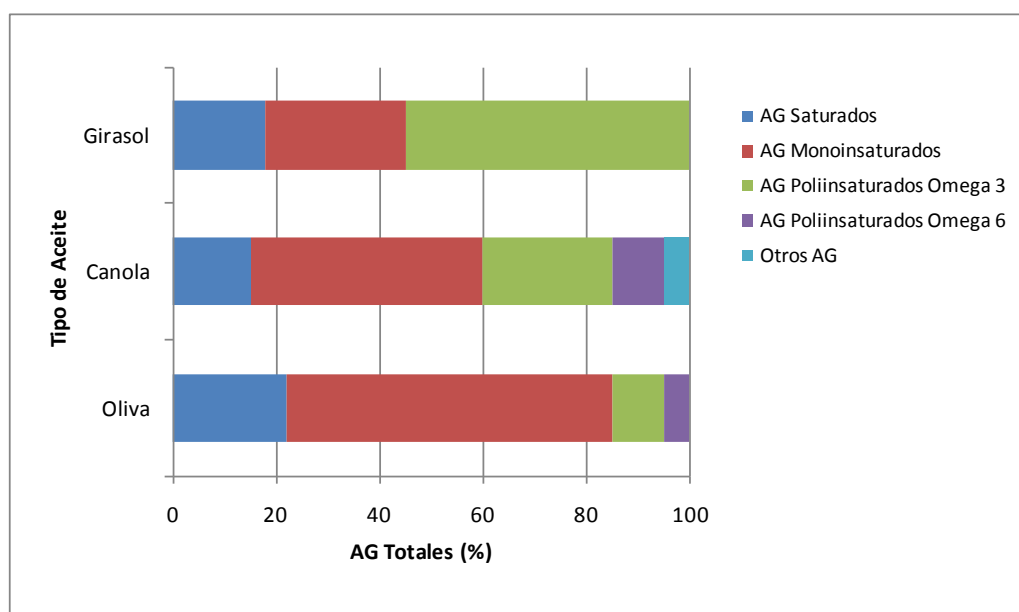
## CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE ACEITES SABORIZADOS CON AJO

### 2.1. INTRODUCCIÓN

Existe en el reino vegetal una amplia variedad de frutas y/o semillas a partir de los cuales es posible obtener aceites comestibles. El Código Alimentario Argentino, en su artículo 520, establece que los aceites comestibles se obtendrán a partir de semillas o frutos oleaginosos mediante diferentes procesos de elaboración. Estos deberán presentar aspecto límpido a 25 °C, sabor y olores agradables y contendrán solamente los componentes propios del aceite que integra la composición de las semillas o frutos de que provienen y los aditivos autorizados por la legislación.

Los aceites comestibles son similares en algunos aspectos, pero hay pequeñas diferencias que tienen un efecto significativo en sus características físico-químicas. Sus características químicas varían en función de diferentes factores, tales como la variedad, la madurez de las frutas, las prácticas agrícolas aplicadas durante el cultivo y tecnologías utilizadas en la obtención del aceite (Lamas, 2012).

Desde el punto de vista de su composición, el aceite se puede dividir en dos fracciones: una mayoritaria que oscila entre un 98,5% y 99,5% y está constituida esencialmente de triglicéridos, ácidos grasos libres y glicéridos parciales (Boskou y col. 2006). Los triglicéridos están constituidos por una molécula de glicerol unido a tres ácidos grasos. De acuerdo al número de dobles enlaces que presentan en la cadena carbonada, los ácidos grasos se clasifican en: saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (Velázquez, 2009). La fracción minoritaria se compone, en gran parte, por los compuestos que se pueden obtener después de la saponificación del aceite, tales como, hidrocarburos, tocoferoles y tocotrienoles, compuestos fenólicos, fosfolípidos, ceras, clorofilas y carotenoides, entre otros (Lamas, 2012). La figura 2.1 muestra la composición química de los aceites de girasol, oliva y canola, evidenciando diferencias tanto en composición como en proporción de los triglicéridos presentes en estos aceites comestibles.



**Figura 2.1:** Contenido de ácidos grasos en aceites vegetales. Fuente: Velázquez, 2009.

La composición en ácidos grasos insaturados de un aceite comestible, determina en gran parte su vida útil, ya que estos son muy sensibles al deterioro por oxidación. Mediante reacciones de oxigenación catalizadas por enzimas, por fotooxidación o por autooxidación química, los ácidos grasos poliinsaturados pueden oxidarse produciendo hidroperóxidos. Estos hidroperóxidos dan

lugar a la formación de aldehídos, cetonas, alcoholes, y ácidos grasos de cadenas cortas, dando lugar al desarrollo de sabores y aromas desagradables por enranciamiento oxidativo. Además, los productos formados en la oxidación pueden resultar nocivos para la salud (Navas, 2010). En consecuencia, la capacidad de un aceite vegetal para resistir al deterioro depende del grado de insaturación de las cadenas carbonadas de sus ácidos grasos, aunque también hay que señalar el efecto antioxidante de varios compuestos minoritarios como los polifenoles y tocoferoles, que contribuyen proporcionando una mayor estabilidad a los aceites comestibles (Navas, 2010).

Una práctica culinaria ancestral proveniente de la Región Mediterránea, es la adición de hierbas y especias a aceites vegetales, denominado como *proceso de saborización*, con el fin de prevenir y evitar las reacciones de degradación del mismo, mejorando sus propiedades sensoriales y nutricionales e incrementando la vida útil del aceite (Baiano y col., 2010). Diferentes *procesos de saborización* han sido reportados, entre los cuales se destacan la maceración de hierbas o especias naturales; maceración en condiciones de vacío o atmósfera de nitrógeno y calentamiento a temperatura ambiente; extracción asistida por microondas; adición de extracto vegetal concentrado en diferentes alícuotas al aceite vegetal; presión en frío del aceite junto con las hierbas, especias o vegetales y adición de extractos de aceites esenciales al aceite vegetal (Baiano y col., 2010).

El aceite de oliva saborizado es uno de los productos más comercializado y legislado. Acorde con la regulación de la Unión Europea 1989 (2003), estos productos no deben denominarse aceites de oliva extra virgen. En coincidencia con ello, el Comité Oleícola de California (COOC) firmó un acuerdo para evitar el etiquetado del aceite de oliva saborizado como aceite de oliva extra virgen, mientras que el Comité Oleícola Internacional considera a los aceites saborizados como aderezos y de acuerdo a ello declara que deben ser denominados "aderezos elaborados con aceites de oliva y aromatizantes, especias o hierbas". En nuestro país, estos productos son contemplados en el Código Alimentario Argentino, Capítulo XVI Correctivos y Coadyuvantes en su artículo 1279 (Dec 748, 18.03.77) como *aderezos*. Además de aderezos a base de aceite de oliva se encuentran también aderezos elaborados a base de otros aceites vegetales tales como aceite de canola, girasol y soja, para los cuales los antecedentes son escasos. A pesar de todo ello, es frecuente hallar productos que no cumplen con estas legislaciones (Gambacorta y col., 2007).

La comercialización de diferentes aceites vegetales saborizados con ajo bajo la denominación genérica de *aderezos*, tiene como principal inconveniente que ello no contempla ninguna diferenciación respecto al perfil de compuestos bioactivos. A ello debe sumarse, la falta de valoración en cuanto a su calidad bromatológica, la tecnología implicada en su elaboración como así también su valoración analítica, ya que todo esto condiciona su potencial económico, eficacia y aceptación por parte del consumidor (Arnault y col., 2005).

En cuanto a su calidad bromatológica, dado que los aceites saborizados con ajo presentan en su composición mayoritaria aceites vegetales ( $\geq 90\%$ ), estos inicialmente deberán cumplir con los requisitos establecidos por el Código Alimentario Argentino para cada tipo de aceite (Art. 528 - 534 -535). Para establecer la aptitud para consumo de un aceite existen una serie de parámetros analíticos, entre ellos es posible citar: humedad, impurezas, % insaponificable, índice de peróxidos, índices de oxidación secundaria (TBA, p-anisidina, etc.), índice de iodo, índice de saponificación, composición de ácidos grasos, índice de acidez, contenido de componentes insaponificables y otros componentes más específicos.

El índice de peróxido (IP), el cual es un indicador del grado de rancidez oxidativa de los aceites vegetales es uno de los parámetros más utilizados para conocer el valor nutritivo o calidad de un aceite (Iqbal y Bhangar, 2007). Su determinación da información acerca de la calidad de la materia prima, de los procesos tecnológicos que se han utilizado y de la adecuada o inadecuada conservación. Otro parámetro de valor importante que permite medir el grado de descomposición de triglicéridos debido a las reacciones químicas de hidrólisis o lipólisis, formando de ese modo ácidos grasos libres, es el índice de acidez (IA), (Lamas, 2012). Este índice es de relevancia en los aceites comestibles teniendo en cuenta la repercusión que tiene la proporción de ácidos grasos libres sobre su digestibilidad y valor energético (Codony y col., 2010).

Por otra parte, además de establecer el estado oxidativo de los aceites saborizados con ajo, es significativo valorar alguna característica directamente relacionada con la aceptabilidad por parte del consumidor de los aceites saborizados. Una propiedad sensorial muy apreciada es el índice de color. Este índice se encuentra asociado al sentido de la vista y ligado a la primera impresión que se tiene de los alimentos, siendo la única propiedad sensorial que puede ser medida más eficazmente en forma instrumental que en forma visual proporcionando información más rápida y sencilla que si se realizaran otros análisis. (Magariños y Bauzá, 2003). Para ello se han creado sistemas de medición, cuyo principio está basado en la cantidad de luz reflejada por el objeto. El sistema creado en 1976 referido a los espacios de color ( $L^*$   $a^*$   $b^*$ ), es uno de los más utilizados en la actualidad, se conoce como sistema CIELAB y expresa la luminosidad  $L^*$  (claro u oscuro); mientras que los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  indican la orientación del color.

Respecto a la valoración de los aceites saborizados con ajo en cuanto a su perfil de compuestos bioactivos, en el Capítulo 1, apartado 1.7, se hizo referencia a la complejidad analítica que implica la determinación de los OSCs. Sumado a esto, los compuestos organoazufrados presentes en ajo son altamente reactivos e inestables, por ello la metodología analítica a emplear deberá, además de proporcionar la información necesaria para la identificación de los compuestos, ser sensible, de bajo costo y evitar transformaciones químicas y térmicas de los analitos de interés.

Entre las metodologías utilizadas se destacan la cromatografía líquida (CL) y la cromatografía gaseosa (CG). A pesar que el análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) ha permitido evaluar el perfil de OSCs presentes en las distintas especies *Allium*, se han detectado algunas debilidades en este método, entre ellas, la incompleta separación de algunos picos (correspondiente a diferentes compuestos); la variación en los tiempos de retención de las sustancias lo que conlleva a la identificación errónea de las mismas; el solapamiento de picos de baja respuesta al detector UV-Vis y la limitación en cuanto a la caracterización de compuestos volátiles mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas (CL-MS) (Block y col., 1992).

Si bien alicina es considerada el principal compuesto biológicamente activo presente en ajo fresco picado u homogenizado, es inestable en presencia de solventes orgánicos y temperatura, lo cual da lugar a la formación de compuestos de degradación (Lawson y col., 1991). Estos compuestos son ajoenos, vinilditiinas y sulfuros tales como dialil mono-, di- y oligosulfuros los cuales han sido detectado y analizados mediante GC. Las principales ventajas de esta metodología son la simplicidad operativa, la excelente capacidad separativa y la facilidad de identificación de compuestos mediante espectrometría de masas (GC-MS). Si bien el análisis mediante GC-MS representa una herramienta muy útil y robusta, su empleo es cuestionable a la hora de analizar compuestos lábiles como son los OSCs. Para evitar estos inconvenientes Block, 2010; sugiere contrastar los resultados obtenidos mediante GC-MS vs HPLC, debido a que aquellos compuestos que se solapan bajo condiciones de análisis mediante HPLC pueden ser separados bajo condiciones de análisis mediante GC y viceversa, compuestos que presenten una baja absorptividad molar UV pueden generar fuertes señales en GC. A partir de ello, desde hace tiempo, en el Laboratorio de Cromatografía para Agroalimentos se viene trabajando en la puesta a punto y optimización de estas metodologías cromatográficas de manera de contar con herramientas analíticas confiables que permitan la diferenciación y caracterización de los compuestos organoazufrados presentes en ajo fresco y sus diferentes subproductos, entre estos últimos se encuentran los aceites saborizados con ajo.

## 2.2. OBJETIVOS

- Determinar el estado oxidativo de aceites saborizados con ajo a través de indicadores de calidad bromatológica.
- Determinar el color de aceites saborizados con ajo
- Determinar el perfil de compuestos organoazufrados presentes en aceites saborizados con ajo disponibles en el comercio local.

- Diferenciar aceites saborizados con ajo obtenidos por diferentes procedimientos de saborización a partir de su perfil de compuestos organoazufrados.

## 2.3. MATERIALES Y METODOS

### 2.3.1. Estándares analíticos

Los compuestos organoazufrados estándares que se adquirieron comercialmente a partir de Sigma Aldrich (Buenos Aires, Argentina) fueron: alilmetil sulfuro (AMS) 98%; dimetil disulfuro (DMDS) 99%; dialil sulfuro (DAS) 97%; metilpropil disulfuro (MPDS) 90%; dialil disulfuro (DADS) 80%; propil disulfuro (PDS) 98%, metilpropil trisulfuro (MPTS) 50%. Dialil trisulfuro (DATS) 98% se adquirió de LKT Laboratorios, Inc. (St. Paul, Estados Unidos). Alicina fue sintetizada a partir de DADS (Sigma Aldrich) siguiendo la metodología de González y col., 2007; mientras que ajoeno y vinilditiinas fueron sintetizados y purificados según Soto y col., 2007 e Iberl y col., 1990, respectivamente.

### 2.3.2. Reactivos

- Acetonitrilo, JT Baker grado HPLC
- Gas inerte: Nitrógeno
- Agua miliQ
- Metanol, JT Baker grado HPLC
- Ácido Acético Glacial Biopack 99,5 % pureza
- Cloroformo Merck para análisis (ACS)
- Ioduro de Potasio Biopack 99% pureza
- Agua destilada hervida
- Almidón Soluble Biopack para Iodometria
- Tiosulfato de Sodio pentahidratado Biopack para análisis (ACS) 99,5% pureza
- Alcohol Etílico Absoluto 96% pureza
- Éter Etílico (sulfúrico) Biopack 98% pureza
- Fenolftaleína Dalton para análisis (ACS)
- Hidróxido de Sodio Biopack 98% pureza

### 2.3.3. Material de laboratorio

- Vasos de precipitados de 50 mL
- Ampolla de decantación de 50 mL
- Ependorff de 1,5 mL
- Pipetas de 2, 5 y 10 mL
- Erlenmeyers de 250 mL
- Probetas de 50 y 100 mL
- Bureta color caramelo 25 mL, graduada al 0,1 mL
- Frascos color caramelo de 500 mL

### 2.3.4. Equipos

- Balanza analítica Denver Instrument APX 200
- Centrifuga Eppendorf Mini Spin Plus 14000 rpm
- Cromatografo Gaseoso Hewlett Packard 5098 serie II acoplado a un detector fotométrico de llama (FPD).
- Cromatografo Liquido KINK-500-A series KONIK instruments acoplado a un detector UV-Vis.
- Agitador magnético Fbr by Decalab 2000 rpm.
- Colorímetro Minolta modelo CR-400/410



### 2.3.5. Muestras a analizar

#### 2.3.5.1. Aceites saborizados con ajo disponibles en el mercado local

Se adquirieron en el comercio local aceites saborizados con ajo durante el mes de febrero de acuerdo a su disponibilidad comercial. Sus características se detallan en la tabla 2.1 de acuerdo a lo especificado en sus respectivas etiquetas.

**Tabla 2.1:** Aceites saborizados con ajo disponibles en el mercado local.

Aceite saborizado	Denominación comercial	Forma de presentación	Observaciones
<b>C1</b>	Aceite de ajo en girasol	Envase de vidrio de 250 cm <sup>3</sup>	Líquido transparente
<b>C2</b>	Aceite de girasol y ajo	Envase de vidrio de 250 cm <sup>3</sup>	Líquido transparente (obtenido por proceso de defusión)
<b>C3</b>	Aderezo de canola y ajo	Envase de vidrio de 500 cm <sup>3</sup>	Líquido transparente
<b>C4</b>	Aceite de oliva al ajo	Envase de vidrio de 250 cm <sup>3</sup>	Líquido con trozos de ajo fresco
<b>C5</b>	Aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito	Envase de vidrio de 200 cm <sup>3</sup>	Líquido con trozos de ajo frito

C: Aceite comercial

#### 2.3.5.2. Preparación de aceites saborizados a escala de laboratorio

Bajo condiciones reproducibles, en el Laboratorio de Cromatografía para Agroalimentos se elaboraron aceites saborizados con ajo mediante diferentes procedimientos de saborización. De acuerdo a lo propuesto por Iberl y col., 1990 se obtuvo aceite de ajo macerado en aceite vegetal (LM) y según Gouveia y col., 2006, aceite de ajo destilado en aceites vegetales (LDA), acorde a lo que se detalla a continuación:

- Ajo macerado en aceite vegetal (LM): Dientes de ajo fresco cultivar Rubí, pelados y picados, fueron mantenidos durante 30 min a temperatura ambiente y luego adicionados a los aceites vegetales de girasol (LGM), canola (LCM) y oliva (LOM) a razón 2,5 g de ajo por cada 10 mL de aceite. Esta mezcla fue posteriormente homogeneizada y colocada en frascos de color caramelo al resguardo de la luz y almacenados durante 9 días a temperatura ambiente.
- Aceite destilado de ajo en aceite vegetal (LDA): Los aceites vegetales de girasol (LGDA), canola (LCDA) y oliva (LODA) fueron adicionados de aceite destilado de ajo: *Garlic Oil Blend*, Sigma Aldrich, cuya composición porcentual consistía en DAS (5-13%); DADS (30-50%) y DATS (10-13%) en una concentración de 200 ppm, homogeneizados y colocados en frascos color caramelo al resguardo de la luz y almacenados durante 4 días a temperatura ambiente.

### 2.3.6. Indicadores de calidad bromatológica de aceites saborizados con ajo

El estado oxidativo de los aceites saborizados con ajo fue evaluado mediante las determinaciones de índice de peróxidos (IP) e índice de acidez (IA) siguiendo las metodologías propuestas por AOAC 965.33 y 969.17, respectivamente.

#### 2.3.6.1. Determinación del índice de peróxido

Se pesaron 9,5 a 10,5 g de muestra de aceite saborizado con ajo, se colocaron en un erlenmeyer y se adicionaron 30 mL de solución A (compuesta por 3 volúmenes de ácido acético glacial y 2 volúmenes de cloroformo). Luego se añadió 1 mL de solución saturada de IK y se agitó suavemente durante 1 min. Posteriormente, se agregaron 100 mL de agua destilada hervida y 2 mL de solución de almidón al 1%. La solución resultante se tituló con una solución de tiosulfato de sodio 0,002 N. El IP expresado en meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> aceite fue calculado a partir de la siguiente fórmula:

$$IP = \frac{VxNx1000}{P}$$

Siendo: V: volumen de tiosulfato de sodio gastado, N: normalidad de la solución de tiosulfato de sodio y P: peso de la muestra.

#### 2.3.6.2. Determinación del índice de acidez

En un erlenmeyer 10 g de aceite fueron adicionados de 100 mL de una mezcla etanol-éter dietílico neutralizada y 10 gotas de fenoltaleína. La solución obtenida fue titulada con NaOH 0,1 N, agitando vigorosamente hasta la aparición de un color rosado que persistió durante 30 segundos. El IA expresado en g de ácido oleico por g muestra fue calculado a partir de la siguiente expresión:

$$IA = \frac{VxNx28,2}{P}$$

Siendo: V: volumen de solución de NaOH gastados, N: normalidad de la solución de NaOH y P: peso de la muestra.

### 2.3.7. Evaluación del color de aceites saborizados con ajo

El color de los aceites saborizados con ajo fue evaluado a través del sistema CIELAB (Comisión Internationale d'Eclairage de Francia), para lo cual se llevo a cabo la determinación de luminosidad, claridad o brillo (L\*) en escala de 0 a 100 (negro a blanco) y los parámetros a\* y b\*. Siendo a\* la intensidad del color rojo (positivo) a verde azulado (negativo) y b\* la intensidad del amarillo (positivo) a azul (negativo).

### 2.3.8. Estudio del perfil de compuestos organoazufrados (OSCs)

Tanto las muestras obtenidas por adquisición en el comercio local, como las preparadas en laboratorio fueron sometidas a análisis de OSCs mediante cromatografía gaseosa acoplada a un detector fotométrico de llama (GC-FPD) y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector espectrofotométrico UV (HPLC-UV).

#### 2.3.8.1. Preparación de las muestras:

La preparación previa al análisis cromatográfico de la muestra consistió en la extracción de los compuestos organoazufrados presentes. Para ello, 2 g de cada aceite saborizado con ajo fue extraído en ampolla de decantación con 2 mL de acetonitrilo. El extracto resultante se centrifugó durante 5 min a 14000 rpm y el sobrenadante obtenido fue concentrado a temperatura ambiente

bajo corriente de nitrógeno hasta un volumen final de 0,1 mL para el caso de GC-FPD. Para el análisis mediante HPLC-UV, el sobrenadante fue inyectado sin concentrar y filtrado a través de membrana de nylon de 0,22  $\mu\text{m}$

### 2.3.8.2. Condiciones operacionales para el análisis de OSCs mediante GC-FPD:

Para este análisis se siguió el método propuesto por Locatelli y col., 2011. Este implica la utilización de una columna capilar HP5 y un detector fotométrico de llama específico para compuestos orgánicos que contengan azufre y/o fósforo. Las condiciones operacionales se detallan en la tabla 2.2.

**Tabla 2.2:** Condiciones cromatográficas empleadas en el análisis de organoazufrados volátiles mediante GC-FPD

Variables	Condiciones
Gas portador	Nitrógeno (2 mL min <sup>-1</sup> )
Gas auxiliar	Nitrógeno (20 mL min <sup>-1</sup> )
Flujo de aire	100 mL min <sup>-1</sup>
Flujo de hidrógeno	75 mL min <sup>-1</sup>
Temperatura del inyector	250°C
Columna	HP5 (30 m x 0,32 mm d.i. x 0,25 $\mu\text{m}$ )
Detector	FPD
Temperatura del detector	250°C
Programa de temperatura	35°C (1 min.) 10°C/min.; 75°C (1 min.); 2°C/min 100°C (0 min.); 10°C/min. 280°C (5 min.)

### 2.3.8.3. Condiciones operacionales para el análisis de OSCs mediante HPLC-UV:

Se empleó una columna de fase reversa ODS C18 de 254 mm de longitud y 0,46 mm di, la fase móvil fue acetonitrilo: agua: metanol (50:41:9) (v/v), flujo de 1 mL min<sup>-1</sup>, loop de 10  $\mu\text{L}$  y se utilizó un detector UV-Vis ajustado a una longitud de onda: 245 nm (Iberl y col., 1990).

### 2.3.8.4. Identificación y cuantificación de OSCs

En ambas modalidades cromatográficas, la identificación de cada analito se realizó mediante comparación de los tiempos de retención de las muestras con los de los correspondientes estándares analíticos. Previamente, en cada sistema cromatográfico, se construyeron curvas de calibración para cada compuesto y se ajustaron las correspondientes rectas de regresión. Las muestras fueron analizadas por triplicado y cada una fue inyectada por duplicado.

### 2.3.9. Análisis estadístico de datos

A partir de los resultados obtenidos, se realizó un análisis de ANOVA utilizando el software estadístico Infostat versión 2012e. Aquellas variables que no cumplieron con los supuestos de normalidad u homogeneidad de varianzas fueron analizadas mediante el test no paramétrico Kruskal Wallis. Diferencias entre medias de tratamientos fueron consideradas significativas a valores de  $\alpha \leq 0,05$ .

Para la comparación de muestras independientes se realizó la prueba de *t-Student* y se determinó el estadígrafo F para determinar que no existen diferencias significativas entre las desviaciones estándar de las muestras con un nivel de confianza del 95%. También se efectuó un

análisis estadístico multivariado, análisis de componentes principales (PCA) utilizando el software MINITAB.

## 2.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.4.1. Indicadores de calidad bromatológica de los aceites bajo estudio

#### 2.4.1.1. Aceites comerciales

Los aceites saborizados con ajo objeto de estudio en este trabajo de tesis se encontraron elaborados a base de aceites vegetales de girasol, canola y oliva. Estos exhibieron diferencias en cuanto a forma de presentación, aspecto y etiquetado del producto (tabla 2.1, apartado 2.3.5.1).

Respecto al estado oxidativo de los aceites saborizados con ajo adquiridos en el comercio local, los valores obtenidos evidenciaron diferencias significativas para cada uno de los parámetros químicos considerados ( $\alpha=0,05$ ), (tabla 2.3). El aceite C3, presentó a diferencia de los aceites de girasol y oliva saborizados con ajo, un IP menor pero una mayor acidez.

**Tabla 2.3:** Índice de peróxido e índice de acidez de los aceites saborizados con ajo disponibles en el mercado local.

Aceite saborizados con ajo	IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	IA (g ác. oléico % g)
<b>C1</b> <sup>1</sup>	2,78 ± 0,07 <sup>2</sup> b <sup>3</sup>	0,36 ± 0,01a,b,c
<b>C2</b>	2,66 ± 0,57b	0,23 ± 0,00a,b
<b>C3</b>	0,69 ± 0,08a	1,42 ± 0,01c
<b>C4</b>	1,48 ± 0,32a	0,54 ± 0,00b,c
<b>C5</b>	2,45 ± 0,03b	0,14 ± 0,02a

<sup>1</sup> C1 y C2: aceites comerciales de girasol saborizados con ajo; C3: aceite comercial de canola saborizado con ajo; C4 y C5: aceites comerciales de oliva saborizados con ajo

<sup>2</sup> Valores promedios (n=3) ± desviación estándar.

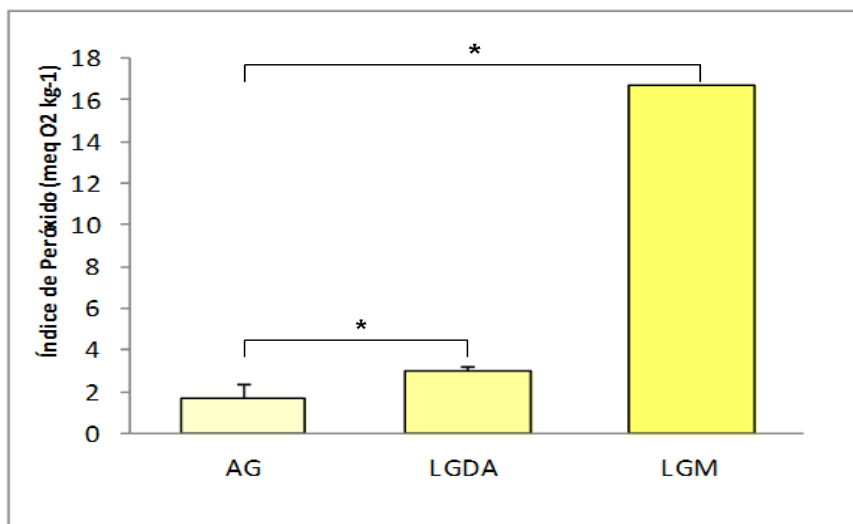
<sup>3</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $\alpha \leq 0,05$ ).

El Código Alimentario Argentino establece en su Capítulo VII “Alimentos Grasos Aceites Alimenticios”, las especificaciones que deben reunir los aceites vegetales para consumo. En los art. 528 y 534 se establece los valores máximos permitidos de IP (10 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) para aceites de girasol y canola, respectivamente. Para aceite de oliva se establece en el art. 535 un máximo de 20 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. Los aceites saborizados con ajo en estudio no superaron en ningún caso los máximos permitidos.

Respecto al IA, el CAA fija valores para los aceites de girasol (máx. 2 % ácido oleico) y para cada tipo de aceite de oliva (virgen extra: máx. 0,8 % ácido oleico; virgen: máx. 2% ácido oleico), valores que tampoco fueron superados en los aceites saborizados con ajo evaluados.

#### 2.4.1.2. Efecto de la saborización de aceites sobre el estado oxidativo

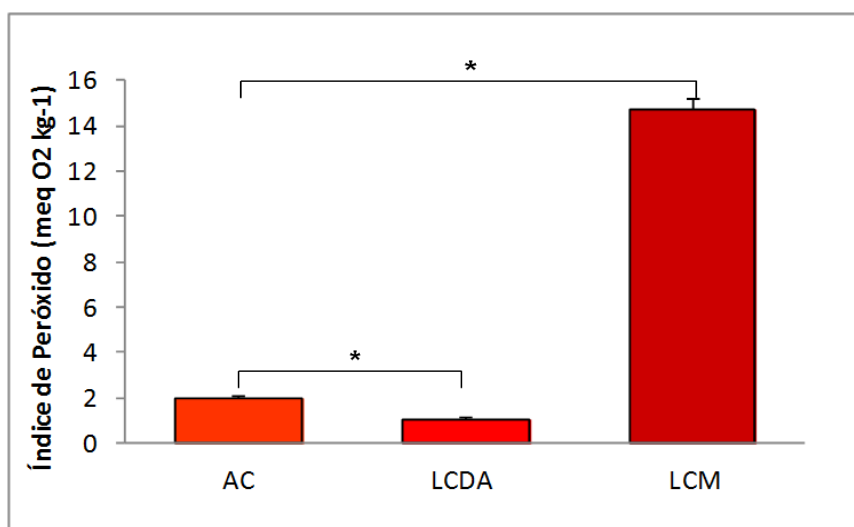
Por otro lado, se realizó el análisis comparativo de aceites vegetales sin ajo (testigos) versus los aceites saborizados elaborados a escala de laboratorio. Los valores obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante una prueba de *t* para la comparación de medias de muestras independientes tanto para IP como IA. Este análisis permitió determinar que el AG presentó diferencias de medias para el IP con los aceites LGDA y LGM. Observándose además, que el aceite LGM exhibió un IP cuyo valor superó el máximo permitido por el CAA (figura 2.2).



**Figura 2.2:** Índice de Peróxidos de los aceites de girasol.

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

El AC presentó diferencias significativas con respecto a los aceites LCM y LCDA, siendo los valores de LCM mayores con respecto a los otros, superando los máximos permitidos por el CAA.

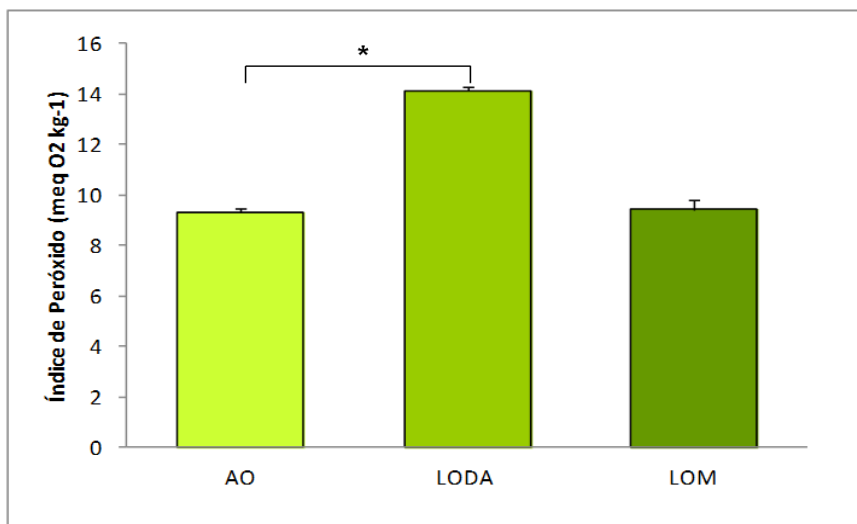


**Figura 2.3:** Índice de Peróxidos de los aceites de canola.

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

La actividad antioxidante de las especies pertenecientes al género *Allium* ha sido atribuida a la presencia de una gran variedad de compuestos organoazufrados (Kim y col., 1997; Lampi, 1999). Kim y col., 1997, han reportado que ciertos OCSs, tales como, alicina, DADS y DATS son los principales compuestos volátiles antioxidantes. Sin embargo, se ha evidenciado que alicina ejercería efectos antioxidantes sólo a bajas concentraciones y que podría actuar como sustancia pro-oxidante a altas concentraciones, existiendo un intervalo muy pequeño de concentraciones entre los cuales ejercería un efecto u otro (Lawson, 1998). Considerando que la alicina sólo está presente en los aceites saborizados mediante maceración, podría hipotetizarse que su presencia es la que determina los altos valores de IP observados en los aceites de LCM y LGM.

El AO presentó valores de IP significativamente diferentes sólo con el LODA (figura 2.4). A diferencia de lo observado para los aceites de girasol y canola saborizados, los valores más elevados de IP fueron hallados en los aceites LODA, mientras que el aceite LOM, presentó un IP similar al AO. En ningún caso los aceites saborizados presentaron un IP superior al máximo permitido por el CAA.

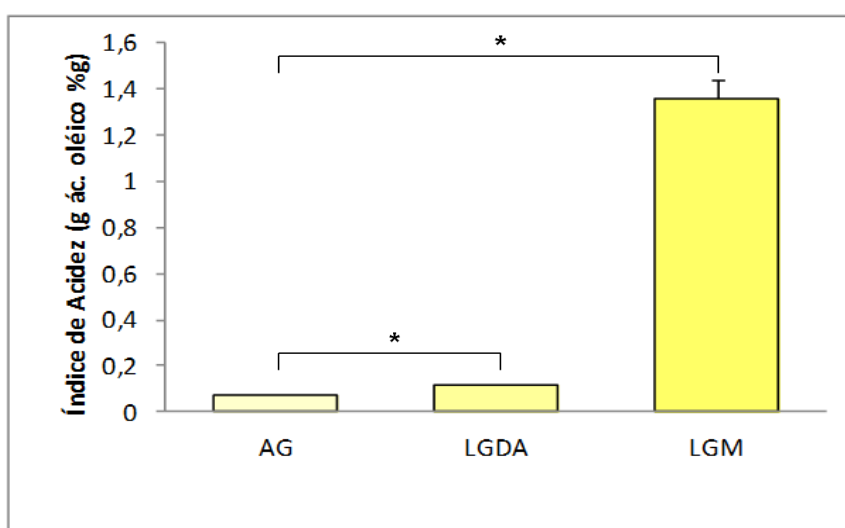


**Figura 2.4:** Índice de Peróxidos de los aceites de oliva.

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Se ha demostrado que los compuestos organoazufrados actúan como antioxidantes siendo dicha actividad concentración dependiente (Yin y col., 2002). Esta es ejercida a través de un mecanismo preventivo por reducción de hidroperóxidos y peróxidos de hidrógeno, que actúan como promotores de las reacciones de peroxidación. Esto explicaría los menores valores de IP observados en LOM el cual presentó la mayor concentración de OSCs (Amorati y col., 2013).

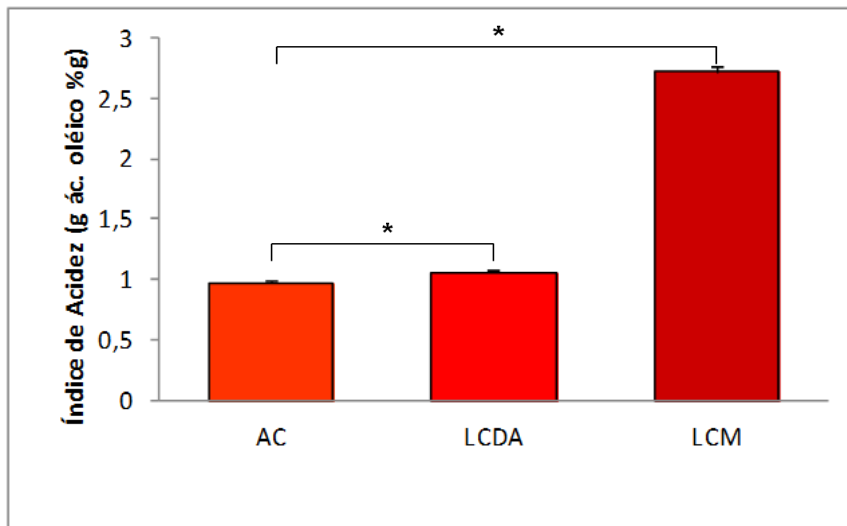
Respecto al IA, la prueba de t para la comparación de medias de muestras independientes permitió exhibir diferencias significativas entre el AG con respecto a los aceites LGDA y LGM. Los valores de IA observados en todos los aceites de girasol no superaron el máximo establecido por CAA (figura 2.5).



**Figura 2.5:** Índice de Acidez de los aceites de girasol.

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

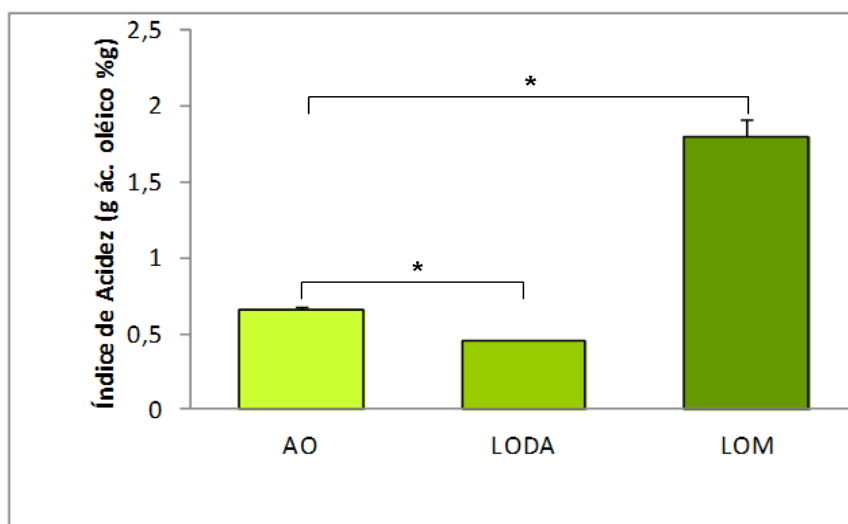
El AC presentó valores estadísticamente diferente con respecto a LCDA y LCM (figura 2.6).



**Figura 2.6:** Índice de Acidez de los aceites de canola.

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

El AO presentó valores de IA significativamente diferente a los aceites LODA y LOM. El aceite LOM presentó un IA significativamente superior (figura 2.7).



**Figura 2.7:** Índice de Acidez de los aceites de oliva.

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Los altos valores de acidez que presentaron los aceites LM bajo estudio podrían ser explicados por lo reportado Lamas (2012). Este autor evidenció que aceites saborizados con ajo fresco (cuyo contenido de humedad se encontró alrededor del 63%) presentaban elevados valores de acidez. La presencia de agua en la interfase ajo-aceite conduciría a reacciones de hidrólisis o reacciones enzimáticas que serían las responsables de este aumento.

Como resultados generales de este ensayo podemos decir que ambos procesos de saborización afectaron significativamente el estado oxidativo de los aceites. También se evidenció un “efecto matriz”, puesto que los diferentes aceites vegetales de partida, influyeron en los resultados. La saborización mediante el empleo de aceite destilado de ajo, evidenció un efecto leve en el estado oxidativo de los aceites, mientras que el proceso de saborización mediante maceración, evidenció un aumento marcado del proceso oxidativo. Esto podría deberse a que el segundo método implica el empleo de ajo crudo el cual aporta al sistema alicina (según concentración), agua, y lipoxigenasas, promoviendo el desarrollo del proceso oxidativo.

### 2.4.2. Color en aceites saborizados con ajo

Las coordenadas de color establecidas para el Sistema de Color CIELAB (Comisión Internacional de la Iluminación) se indican en la tabla 2.4. El análisis de ANOVA permitió evidenciar diferencias significativas en las coordenadas entre los aceites saborizados con ajo para un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

**Tabla 2.4:** Coordenadas de color para aceites saborizados con ajo disponibles en el mercado local.

Aceites Saborizados con Ajo	Color		
	L	a	b
<b>C1</b> <sup>1</sup>	34,09 ± 0,24 <sup>2</sup> b,c <sup>3</sup>	-0,87 ± 0,08a,b,c	5,88 ± 0,06a
<b>C2</b>	35,64 ± 0,22c	-0,48 ± 0,03b,c	7,10 ± 0,08b
<b>C3</b>	29,50 ± 0,15a,b	0,76 ± 0,03c	19,40 ± 0,23d
<b>C4</b>	30,22 ± 0,93a,b,c	-1.45 ± 0.12a	8,22 ± 0,38c
<b>C5</b>	26,56 ± 0,29a	-1.11 ± 0.03a,b	19,57 ± 0,36d

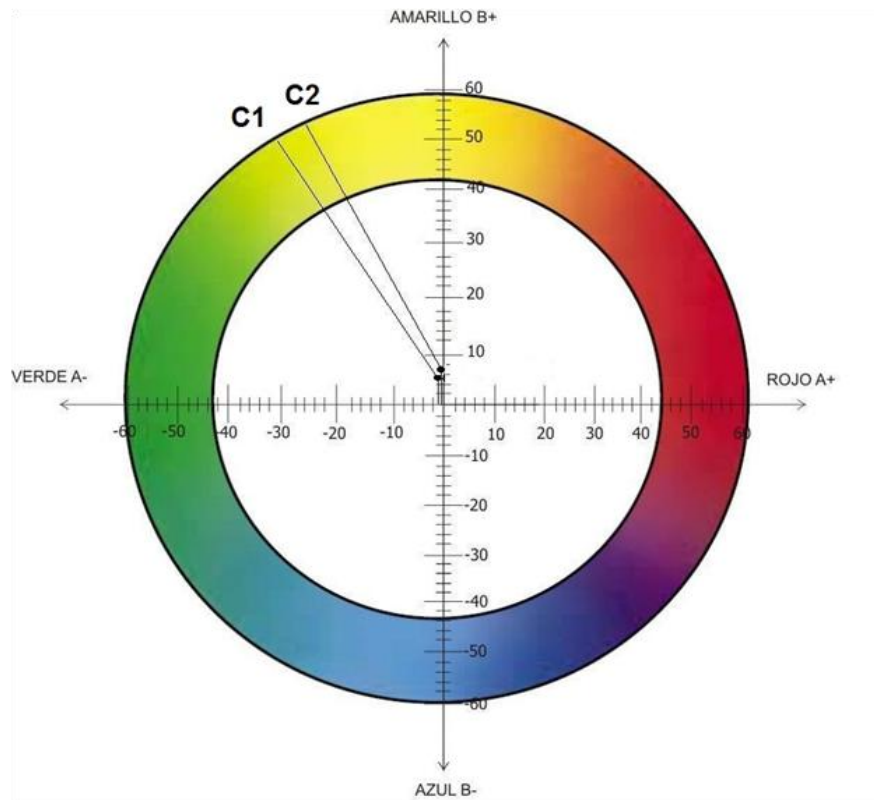
<sup>1</sup> C1 y C2: aceites comerciales de girasol saborizados con ajo; C3: aceite comercial de canola saborizado con ajo; C4 y C5: aceites comerciales de oliva saborizados con ajo

<sup>2</sup> Valores promedios (n=3) ± desviación estándar.

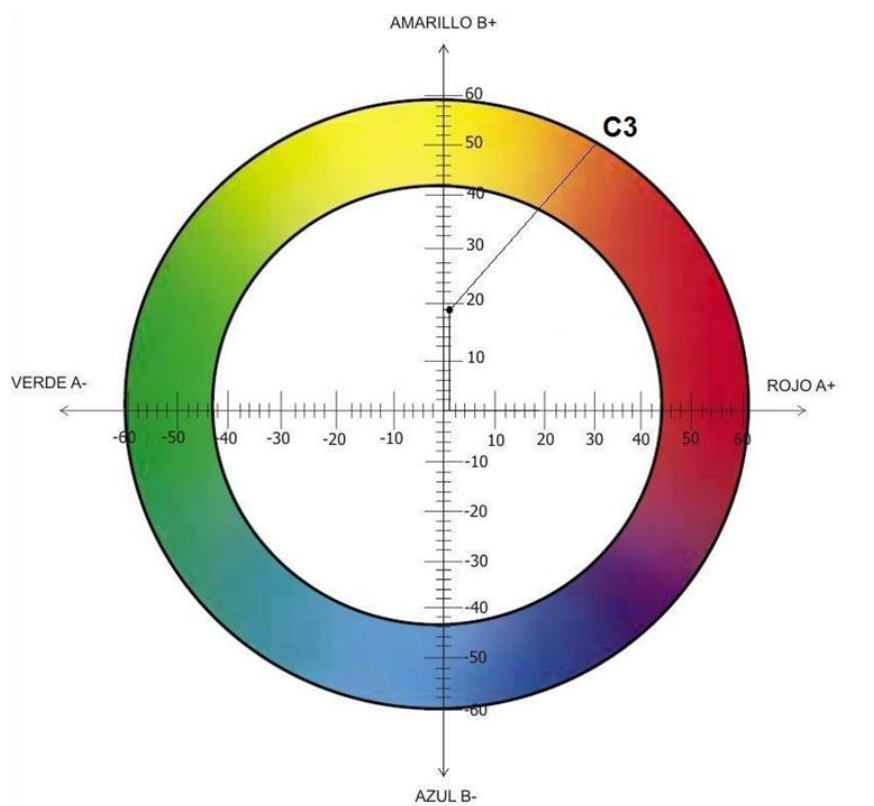
<sup>3</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $\alpha \leq 0,05$ ) para un mismo parámetro entre los distintos aceites.

En general, los valores de L para los distintos aceites saborizados con ajo se encontraron en un intervalo de 26,56 a 35,64, indicando luminosidades comparables. Poca intensidad de color o colores muy pálidos pudo observarse para los aceites de girasol y oliva indicados por valores negativos de  $a^*$  (figura 2.8 y 2.10). En cuanto a cada aceite saborizado pudo observarse diferencias de color características de cada uno de ellos. Los aceites C1 y C2 exhibieron valores negativos de  $a^*$  y positivos de  $b^*$ , lo cual correspondería a coloración amarilla con tendencia hacia el color verde (figura 2.8). El aceite C3, presentó valores positivos tanto de  $a^*$  y  $b^*$  indicando una coloración rojiza con una fuerte tendencia hacia el color amarillo (figura 2.9). En tanto que los aceites C4 y C5 presentaron valores negativos de  $a^*$  lo cual corresponde a una coloración verde y valores positivos de  $b^*$  indicando fuerte tendencia hacia el color amarillo, lo cual fue más pronunciado en el aceite C4 (figura 2.10).

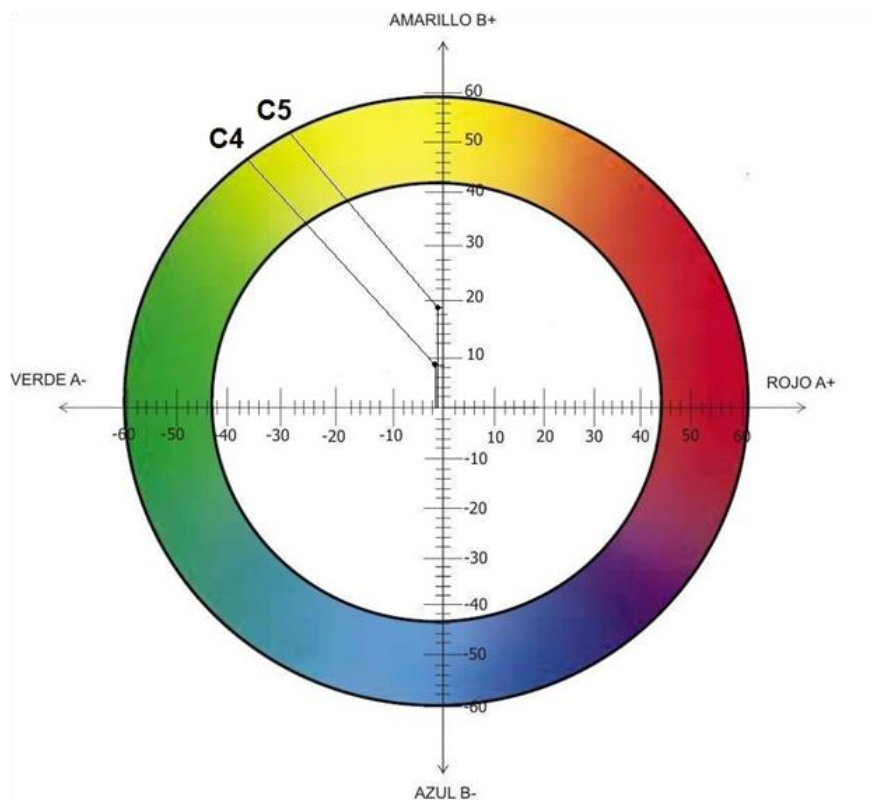




**Figura 2.8:** Coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$  en aceites de girasol saborizados con ajo.



**Figura 2.9:** Coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$  en aceites de canola saborizados con ajo.



**Figura 2.10:** Coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$  en aceites de oliva saborizados con ajo.

A partir de la consulta bibliográfica, podemos inferir que las coordenadas de color de los aceites saborizados con ajo se encontraron dentro de los colores característicos del aceite vegetal, el cual es conferido por la presencia de diversos pigmentos naturales propios de cada aceite. Entre ellos se destacan los carotenoides para el aceite de girasol (Velásquez, 2009), los pigmentos clorofílicos y carotenoides responsables de la oscilación del verde al amarillo verdoso en el aceite de oliva (Scheuermann y col., 2002; Moyano y col., 2010) y los compuestos clorofílicos, las xantofilas y carotenos los cuales le confieren la coloración rojo-amarillento al aceite de canola (Gunstone, 2002).

Respecto del color de los aceites saborizados obtenidos a escala de laboratorio, se observó que existieron diferencias significativas en los parámetros evaluados entre los distintos aceites para cada procedimiento de saborización ensayado (tabla 2.5, para un  $\alpha= 0,05$ ).

**Tabla 2.5:** Coordenadas de color para aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio.

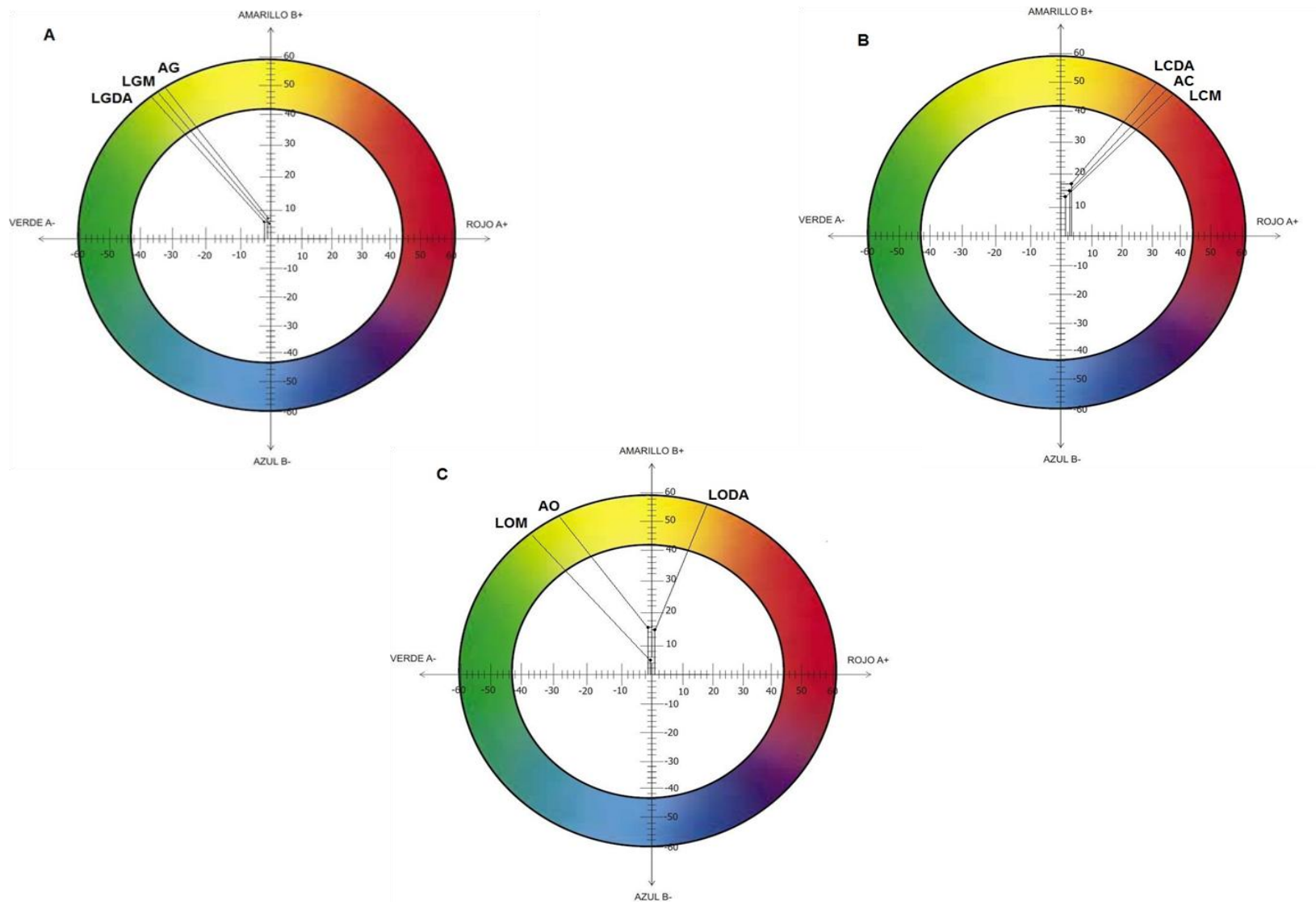
LDA			
	L	a	b
<b>LGDA</b>	29,23 ± 1,17a	-0,92 ± 0,13a	6,88 ± 0,46b
<b>LCDA</b>	25,18 ± 0,32a,b	3,79 ± 0,07c	16,42 ± 0,38b,c
<b>LODA</b>	25,27 ± 0,04a,b,c	0,16 ± 0,00c	14,53 ± 0,03a,b
LM			
<b>LGM</b>	28,41 ± 0,04a	-0,44 ± 0,01b	5,65 ± 0,04a
<b>LCM</b>	24,39 ± 0,14a	2,78 ± 0,02a,b	13,46 ± 0,16a
<b>LOM</b>	23,09 ± 0,22a	-0,04 ± 0,01b,c	5,65 ± 0,04a,b,c

<sup>1</sup> Valores promedios (n=3) ± desviación estándar

<sup>2</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes entre los distintos aceites obtenidas por un mismo procedimiento de saborización ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Comparando con los correspondientes aceites testigos, se pudo detectar que los aceites saborizados a escala de laboratorio presentaron una luminosidad levemente inferior. Con respecto a las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ , los aceites LGDA y LGM se mantuvieron dentro de los colores amarillos verdosos (figura 2.11.A). Los aceites LCDA y LCM presentaron valores de  $a^*$  positivos asemejándose estos valores más al aceite testigo tendiendo siempre hacia los colores rojo y amarillo (figura 2.11.B).

En cuanto a los aceites de oliva saborizados, se pudo observar que LODA presentó valores de  $a^*$  levemente positivos tendiendo a colores más amarillos rojizos (figura 2.11.C). Un estudio realizado por Ayadi y col., 2009 en el cual evaluaron los cambios físicos-químicos y estabilidad térmica del aceite de oliva saborizados con distintas plantas aromáticas, se observó que la saborización de los aceites sólo causaba una ligera disminución del parámetro L, llevando los aceites hacia colores más oscuros, mientras que los valores de  $a^*$  y  $b^*$  no presentaron diferencias. Se señaló además que todos estos cambios se podrían atribuir a la migración de partículas de compuestos desde las plantas aromáticas hacia el aceite durante el proceso de saborización. Esto fue coincidente con lo observado en los aceites saborizados obtenidos a escala de laboratorio pero no así con los aceites saborizados obtenidos en el comercio local los cuales presentan una mayor luminosidad. Además, debemos tener en cuenta que estos parámetros dependen y pueden ser modificados por el proceso de elaboración y conservación del aceite previos a la saborización del mismo (Tous Martí y Romero Aroca, 1992).



**Figura 2.11:** Coordenadas de color en aceites saborizados LDA y LM con respecto a los aceites vegetales sin ajo de A: girasol; B: canola y C: oliva.

### 2.4.3. Estudio del perfil de compuestos organoazufrados (OSCs)

#### 2.4.3.1. Análisis mediante cromatografía gaseosa (GC-FPD)

Las figuras 2.12 a 2.14 muestran los perfiles de compuestos organoazufrados volátiles de los aceites saborizados con ajo obtenidos a partir del análisis mediante GC (Locatelli y col., 2011). De la totalidad de picos cromatográficos presentes, los compuestos que fueron identificados y cuantificados corresponden a DAS, DADS, 2-VD y 3-VD, detallados en la tabla 2.6.

**Tabla 2.6:** Composición química de aceites saborizados con ajo determinada mediante GC-FPD.

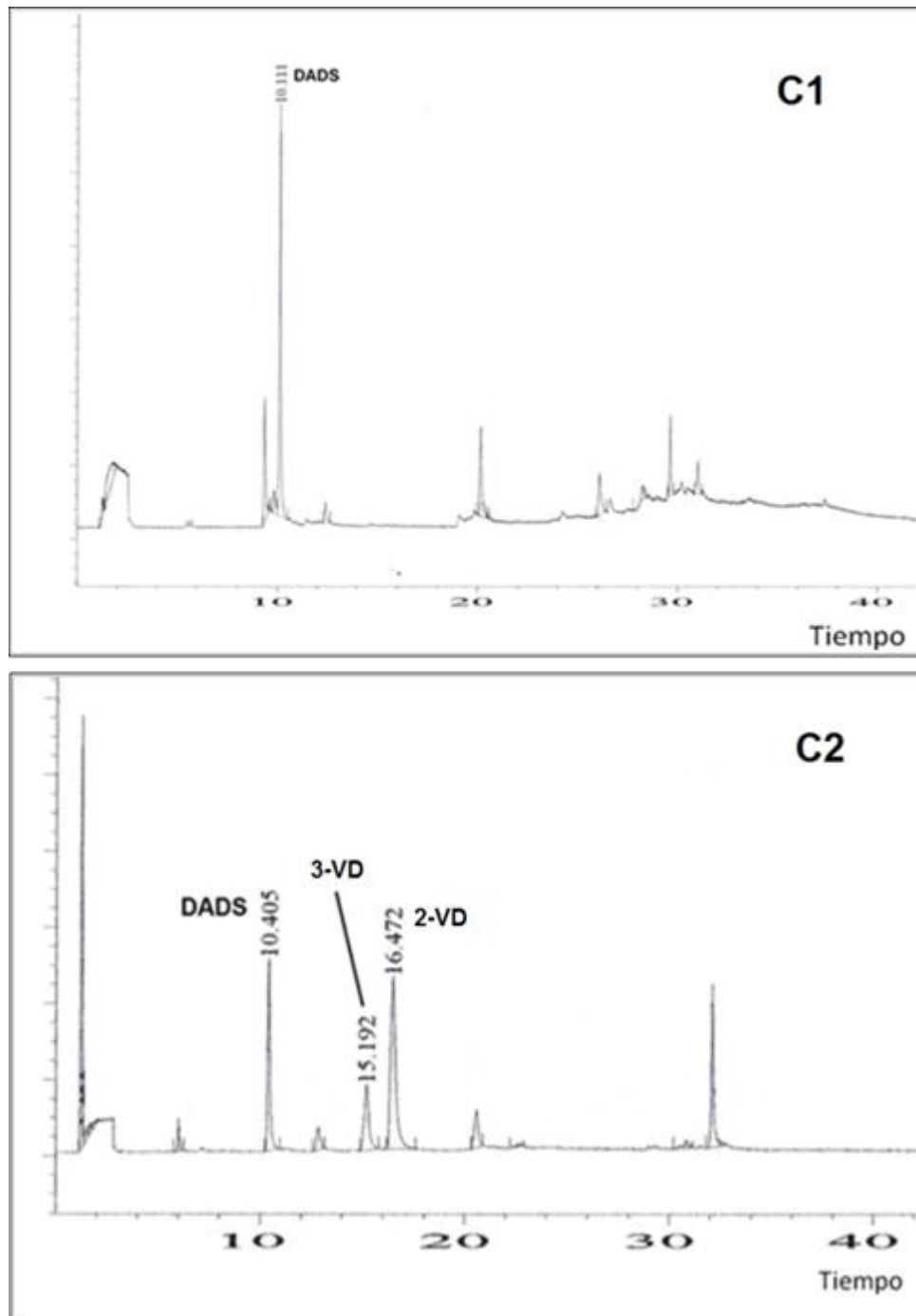
Aceite saborizado con ajo	OSCs ( $\mu\text{g/g}$ )			
	DAS	DADS	2-VD	3-VD
<b>C1</b> <sup>1</sup>	nd <sup>2</sup>	5,27 $\pm$ 2,24 <sup>3</sup> a <sup>4</sup>	nd	nd
<b>C2</b>	nd	16,65 $\pm$ 0,42c	275,74 $\pm$ 23,46b	97,15 $\pm$ 10,03b
<b>C3</b>	0,21 $\pm$ 0,00a	8,62 $\pm$ 0,36b	nd	nd
<b>C4</b>	1,99 $\pm$ 0,03b	19,82 $\pm$ 0,23d	nd	nd
<b>C5</b>	nd	22,02 $\pm$ 2,02d	3,38 $\pm$ 0,00a	6,89 $\pm$ 1,29a

<sup>1</sup> C1 y C2: aceites comerciales de girasol saborizados con ajo; C3: aceite comercial de canola saborizado con ajo; C4 y C5: aceites comerciales de oliva saborizados con ajo.

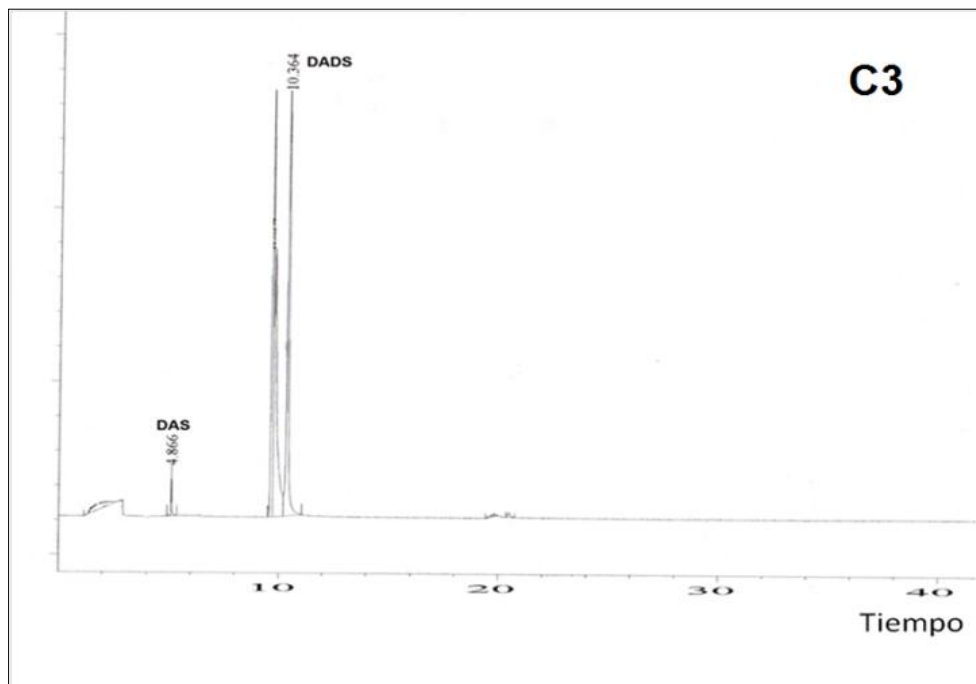
<sup>2</sup> nd: no detectado (DAS= LOD/LOQ: 0,03/0,04 y DADS= LOD/LOQ: 0,18/0,03)

<sup>3</sup> Valores promedios (n=3)  $\pm$  desviación estándar.

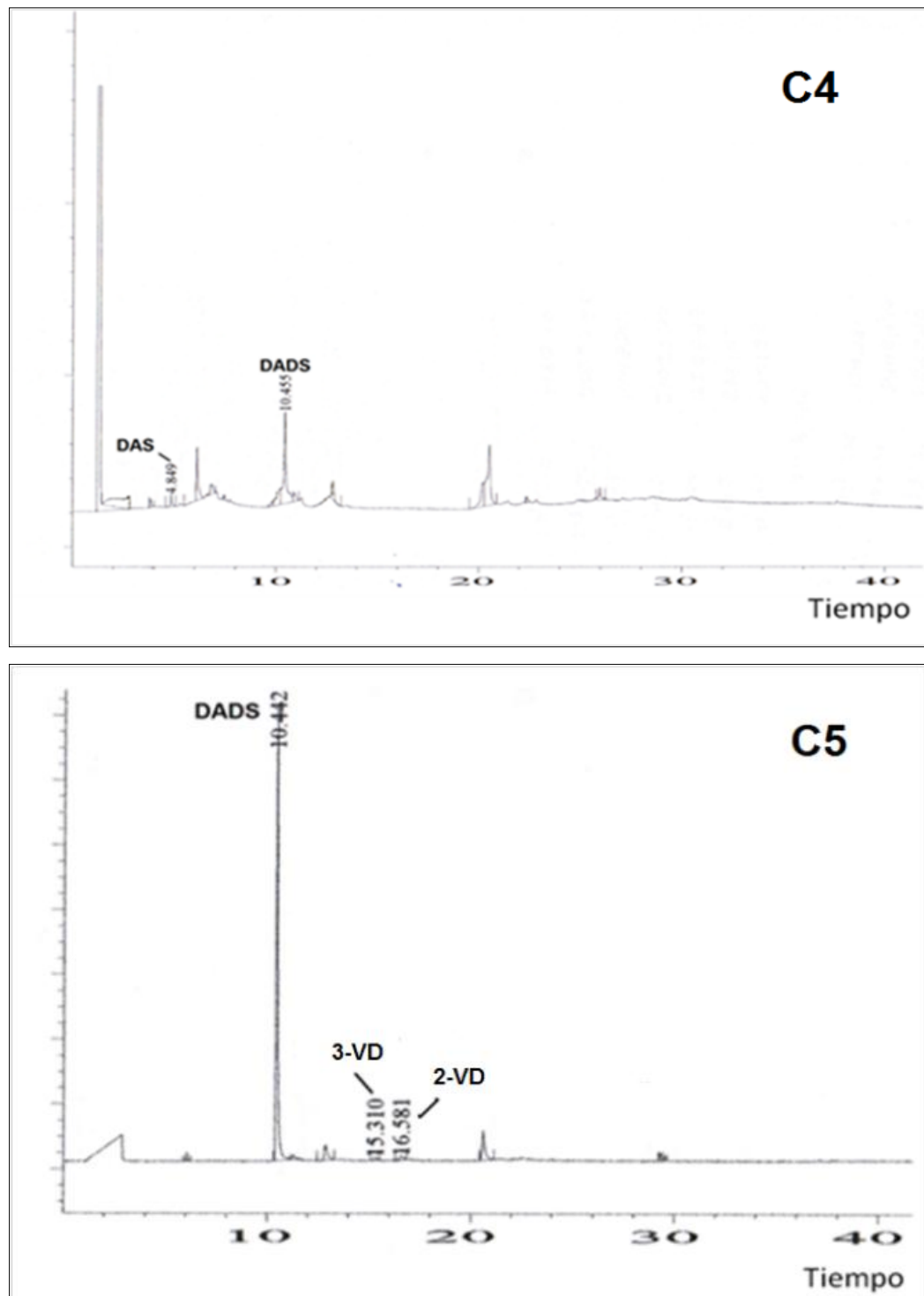
<sup>4</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes para cada compuesto organoazufrado ( $\alpha \leq 0,05$ )



**Figura 2.12:** Cromatogramas correspondientes al perfil de compuestos organosulfurados volátiles en aceites de girasol saborizados con ajo obtenidos mediante GC-FPD. C1: 'aceite de ajo en girasol'. C2: 'aceite de girasol y ajo'. DADS: dialil disulfuro; 3-VD: 3 Vinil-4H-1,2ditiina; 2-VD: 2 Vinil-4H-1,3ditiina.



**Figura 2.13:** Cromatograma del perfil de compuestos organoazufrados volátiles presentes en C3: 'aderezo de canola y ajo' obtenido mediante GC-FPD. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro.



**Figura 2.14:** Cromatogramas correspondientes al perfil de los compuestos organoazufrados volátiles en aceites de oliva saborizados con ajo obtenidos mediante GC-FPD. C4: 'aceite de oliva al ajo'. C5: 'aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito'. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; 3-VD: 3 Vinil-4H-1,2ditiina; 2-VD: 2 Vinil-4H-1,3ditiina.

Los compuestos organoazufrados volátiles identificados pueden clasificarse en 2 grupos principales de acuerdo a su estructura cíclica o acíclica según lo reportado por Kimbaris y col., 2006. El *grupo acíclico* consiste en varios mono- y polisulfuros mientras el *grupo cíclico* contiene los 2 isómeros de las vinilditiinas: 3-VD y 2-VD. Dentro de los componentes acíclicos, DADS fue el único compuesto volátil presente en todos los aceites saborizados con ajo en un rango de



concentración de 5,27 a 22,02 ppm correspondientes a los aceites C1 y C5, respectivamente. En cuanto a DAS, solo estuvo presente en los aceites C3 y C4 en concentraciones menores a 2 ppm.

En cuanto a los compuestos cíclicos 3-VD y 2-VD, estos fueron detectados en los aceites C2 y C5. Las concentraciones encontradas de estos isómeros fueron en el caso del aceite C2 superiores a las halladas para DADS, en tanto que lo contrario fue observado en el aceite C5. Comparando ambos aceites saborizados con ajo, se observó que las concentraciones en el aceite C5 fueron 80 y 14 veces menores a las halladas en el aceite C2 para 2-VD y 3-VD, respectivamente.

El análisis estadístico de los datos evidenció diferencias significativas en las concentraciones de los compuestos organoazufrados hallados entre los aceites saborizados con ajo ( $\alpha=0,05$ ). El aceite C5 presentó la mayor concentración de DADS ( $22,02 \pm 2,02$  ppm), el aceite C2 el de mayor concentración de vinilditiinas (3-VD:  $97,15 \pm 10,03$  ppm; 2-VD:  $275,74 \pm 23,46$  ppm), mientras que el aceite C4 fue el que exhibió las concentración más elevadas de DAS.

Estudios previos han sido realizados con el objetivo de determinar el perfil de compuestos bioactivos presentes en diferentes subproductos de ajo, los cuales han permitido evidenciar que los compuestos reportados dependen tanto del procesamiento y/o proceso de elaboración como de la metodología utilizada para su análisis (Avato y col., 2000). Yan y col., 1992, a partir del desarrollo de un método de GC acoplado a un detector FID (detector de ionización de llama) para el análisis de productos de ajo a base de aceite detectaron principalmente sulfuros, entre ellos DADS, DATS y AMTS. Esto coincidió, con lo reportado años después por Lee y col., 2003 y Calvo-Gómez y col., 2004, quienes encontraron como compuestos predominantes DADS (89,77%), AMTS (2,43%) y DATS (3,89%) en muestras de aceites destilados de ajo obtenidas por hidrodestilación. Los aceites saborizados con ajo evaluados en esta tesis, presentaron como único compuesto coincidente DADS en rango de concentraciones dentro de lo reportado en los trabajos arriba mencionados. Sin embargo en ninguno de los aceites saborizados analizados fueron detectados los organoazufrados AMTS ni DATS. En cuanto al compuesto DAS, las concentraciones encontradas fueron coincidentes con lo reportado por Martin-Lagos y col., 1995 y Kim y col., 1995.

Kim y col., 1995 encontraron además de sulfuros los isómeros 3-VD y 2-VD, como consecuencia de la transformación del tiosulfonato alicina debida a las altas temperaturas empleadas en el puerto de inyección del equipo de GC, en concentraciones de 26,46 ppm y 38,34 ppm respectivamente. Las concentraciones de estos isómeros en el aceite C2 fueron mayores a lo reportado por estos autores, a partir de lo cual es posible hipotetizar que son *artifacts* originados a partir de alicina.

Los cromatogramas correspondientes a los diferentes aceites saborizados con ajo bajo estudio, revelaron otros picos correspondientes a sustancias las cuales no fue posible identificar y cuantificar ya que no coincidían con ningún tiempo de retención de los compuestos estándares disponibles (figura 2.12 a 2.17).

#### **2.4.3.2. Análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-UV)**

En las figuras 2.15 a 2.17 se observan los cromatogramas de las muestras analizadas. Esta metodología permitió la detección de los compuestos: DAS, DADS, DATS, alicina, ajoeno y vinilditiinas. Las concentraciones de los compuestos cuantificados se presentan en la tabla 2.7.

**Tabla 2.7:** Composición química de aceites saborizados con ajo determinada mediante HPLC-UV.

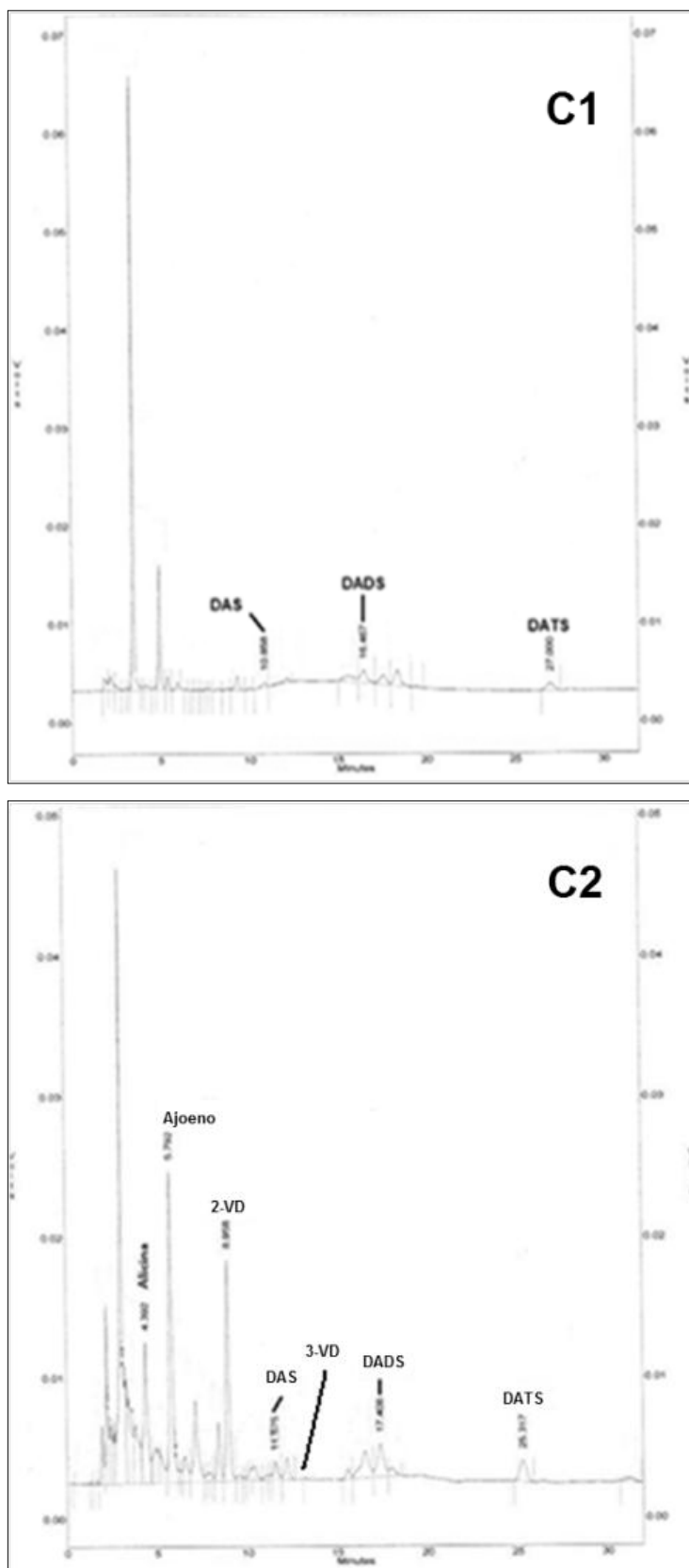
Aceite saborizado con ajo	OSCs (µg/g)						
	DAS	DADS	DATS	Alicina	Ajoeno	2-VD	3-VD
<b>C1</b> <sup>1</sup>	4,22 ± 1,39 <sup>3</sup> b <sup>4</sup>	10,34 ± 1,69a	28,57 ± 7,86a	nd	nd	nd	nd
<b>C2</b>	16,02 ± 0,21c	18,88 ± 5,16b	68,07 ± 3,44b	14,31 ± 0,79	29,97 ± 1,22b	154,5 ± 7,14b	trazas
<b>C3</b>	28,75 ± 3,45d	14,17 ± 0,11a,b	28,88 ± 0,55a	nd	1,51 ± 0,59a	nd	nd
<b>C4</b>	nd <sup>2</sup>	27,83 ± 4,78c	nd	nd	2,69 ± 0,01a	nd	nd
<b>C5</b>	0,37 ± 0,48a	12,49 ± 3,96a,b	66,57 ± 0,28b	nd	2,36 ± 0,23a	22,45 ± 2,17a	6,76 ± 1,99

<sup>1</sup> C1 y C2: aceites comerciales de girasol saborizados con ajo; C3: aceite comercial de canola saborizado con ajo; C4 y C5: aceites comerciales de oliva saborizados con ajo

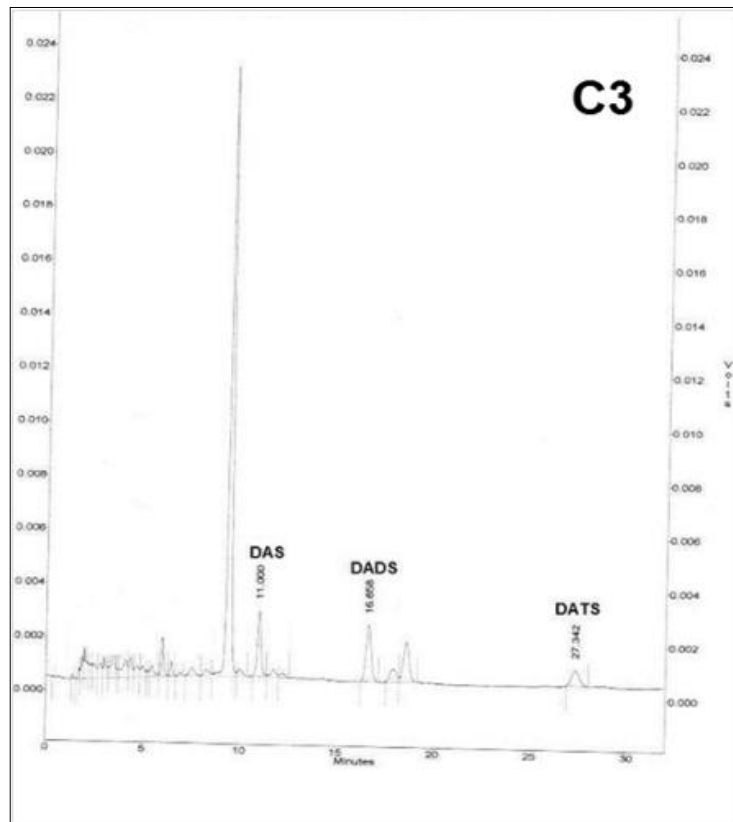
<sup>2</sup> nd: no detectados (LOD/LOQ: DAS= 2,02/11,09; DADS= 0,01/4,51; Alicina= 1,38/4,44; Ajoeno= 0,01/0,62; 2-VD= 3,16/6,03).

<sup>3</sup> Valores promedios (n=3) ± desviación estándar.

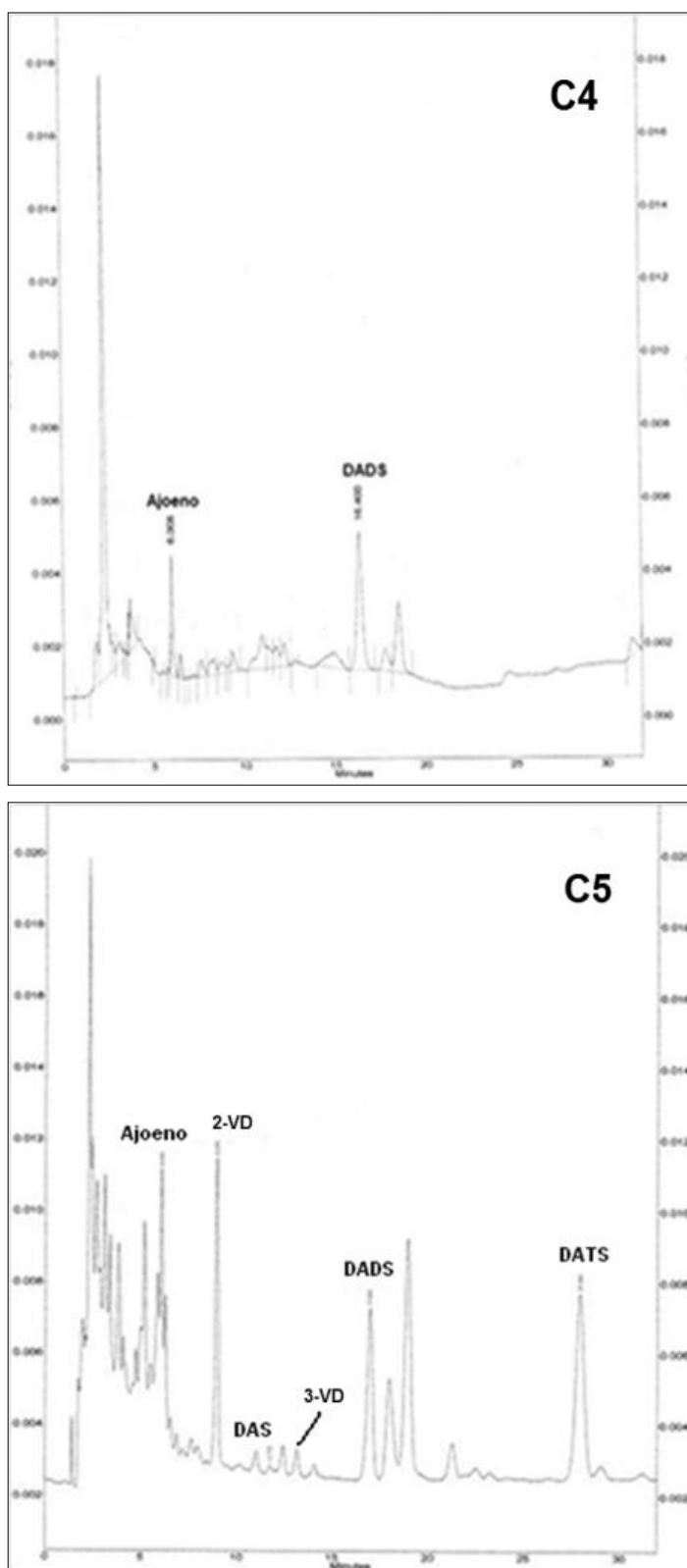
<sup>4</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes para cada compuesto organoazufrado ( $\alpha \leq 0,05$ )



**Figura 2.15:** Cromatogramas correspondientes al perfil de compuestos organoazufrados volátiles en aceites de girasol saborizados con ajo obtenidos mediante HPLC-UV. C1: 'aceite de ajo en girasol'. C2: 'aceite de girasol y ajo'. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro; 2-VD: 2 Vinil-4H-1,3ditiina; 3-VD: 3 Vinil-4H-1,2ditiina.



**Figura 2.16:** Cromatograma del perfil de compuestos organosulfurados volátiles presentes en C3: 'aderezo de canola y ajo' obtenidos mediante HPLC-UV. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro.



**Figura 2.17:** Cromatogramas correspondientes al perfil de compuestos organosulfurados volátiles en aceite de oliva saborizados con ajo obtenidos mediante HPLC-UV. C4: 'aceite de oliva al ajo'. C5: 'aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito' DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro; 2-VD: 2 Vinil-4H-1,3ditiina; 3-VD: 3 Vinil-4H-1,2ditiina.

DADS, al igual que lo observado mediante GC, fue el único compuesto organoazufrado detectado y cuantificado en todos los aceites saborizados con ajo. Encontrándose en un rango de concentración de 10,34 a 27,83 ppm (aceite C1 y C4, respectivamente). DAS, fue detectado en el aceite C3 (coincidiendo con el análisis de GC) y en los aceites C1 y C2 y en el aceite C5. Respecto a sus concentraciones, las mismas fueron superiores a las halladas mediante el análisis de GC, excepto para el caso del aceite C5 el cual presentó una concentración menor a 2 ppm. Otro sulfuro detectado fue DATS en un rango de concentración de 28,57 a 68,07 ppm (aceite C1 y C2, respectivamente).

El aceite C2, fue el único en el cual fue detectado y cuantificado el tiosulfato alicina. Este se encontró en una concentración de 14,31 ppm, lo cual representó alrededor del 5% del total de compuestos organoazufrados presentes.

Otro organoazufrado detectado fue ajoeno, el cual se halló en todos los aceites saborizados con ajo excepto en el aceite C1. El rango de concentración osciló entre 1,51 a 29,97 ppm.

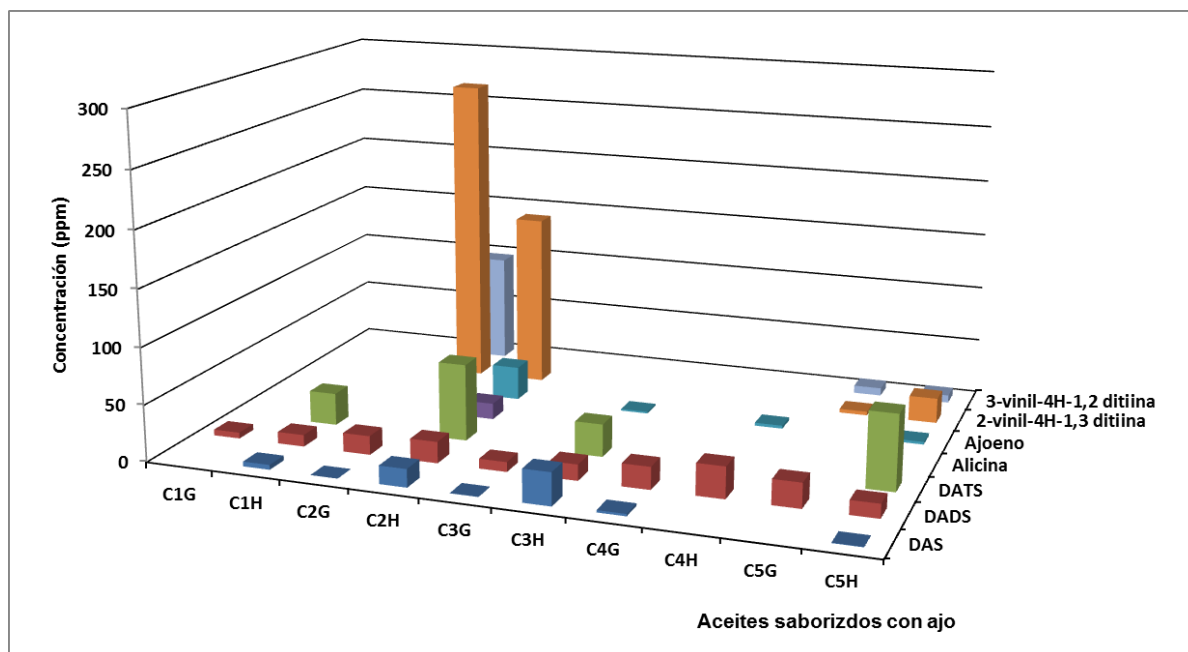
Respecto a los compuestos cíclicos, los isómeros de vinilditiinas fueron detectados, al igual que lo observado mediante GC, en los aceites C2 y C5 siendo siempre el isómero de 2-VD el que se encontró en mayor concentración. En cuanto a 3-VD, si bien fue detectada en ambos aceites saborizados en el aceite C2, fue hallada en concentraciones por debajo de los límites de cuantificación para este compuesto.

El análisis estadístico de los datos para un nivel de significancia de  $\alpha$  de 0,05 evidenció diferencias significativas en las concentraciones de compuestos organoazufrados presentes en los distintos aceites saborizados con ajo.

Iberl y col., 1990, reportaron que aceites saborizados obtenidos por maceración de dientes de ajo en aceite de soja contenían DADS, DATS, ajoeno y 2-VD. Este perfil fue coincidente con lo hallado en esta tesis en los aceites C4 y C5 y aceite C2, en el cual además de estos compuestos fue hallado alicina. Similares resultados también han sido reportados por Koch y Jager, 1980; Voigt y Wolf, 1986; Winkler y col., 1992 y Velisek y col., 1997 en denominados 'aceites macerados'. Sin embargo se pudo apreciar algunas diferencias cuantitativas, entre las cuales se destacó lo observado para los isómeros de vinilditiinas. Estos autores detectaron ambos isómeros siendo siempre 2-VD el de mayor concentración en un rango de 12 a 8300 ppm. Si bien esta relación también se observó en esta tesis, los valores encontrados fueron significativamente menores. Para el isómero 3-VD, los autores reportaron concentraciones que oscilaron entre 10 y 3800 ppm, en esta tesis se hallaron valores fuera de este rango y significativamente inferiores. En cuanto a los sulfuros DADS y DATS, también se observaron discrepancias cuantitativas con estos trabajos. Tanto para DADS como DATS, los valores hallados, se encontraron dentro de los reportados para los denominados por estos autores como '*aceites macerados*' pero fueron significativamente inferiores a lo encontrado en '*aceites esenciales*'. En tanto que ningún autor reportó haber hallado DAS.

### 2.4.3.3. Estudio comparativo de los resultados obtenidos GC vs. HPLC

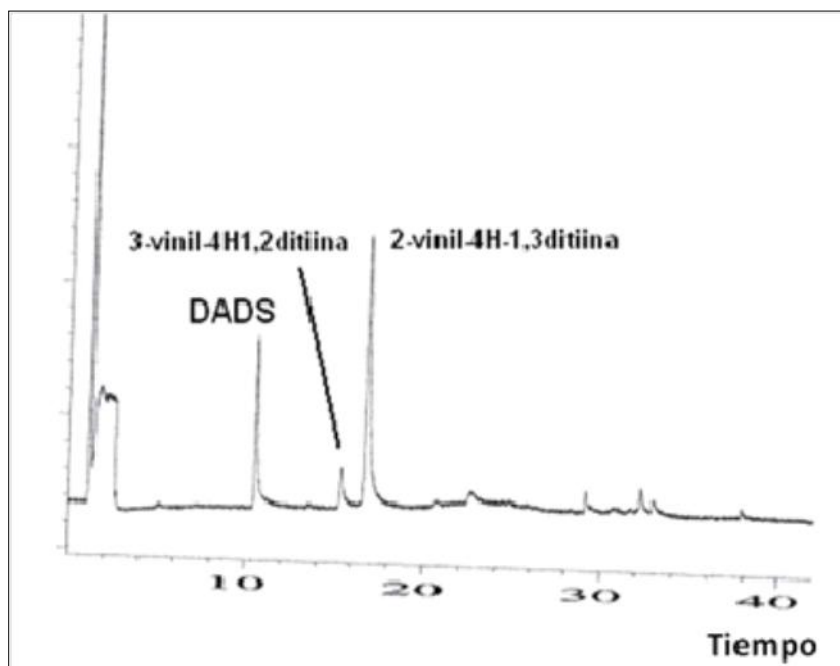
El análisis cromatográfico en sus dos modalidades: cromatografía de gases y cromatografía líquida permitieron evidenciar diferencias significativas tanto cuali- como cuantitativas en el perfil de compuestos organoazufrados presentes en los aceites saborizados con ajo evaluados en este trabajo de tesis (figura 2.18). Para identificar los resultados obtenidos mediante ambas metodologías analíticas se empleó como acrónimo el correspondiente a cada aceite, seguido por la letra "G", cuando fue analizada mediante cromatografía gaseosa y "H" cuando lo fue mediante HPLC.



**Figura 2.18:** Compuestos organoazufrados detectados y cuantificados mediante cromatografía gaseosa (G) y líquida (H) en aceites saborizados con ajo comerciales.

Mediante GC-FPD se detectó DAS, DADS y los isómeros de las vinilditiinas, mientras que por HPLC-UV además de estos compuestos se pudo detectar alicina, DATS y ajoeno (figura 2.18). Esto coincidió con lo previamente reportado por Yu y col., 1989, quienes informaron que tanto ajoeno como DATS y tetrasulfuros (o con mayor número de átomos de S) no pueden ser detectados mediante cromatografía de gases empleando una columna capilar polar.

El tiosulfinato alicina, se detectó sólo en el aceite C2H. Este organoazufrado es muy inestable y puede descomponerse o reordenarse para formar compuestos sulfurosos, vinilditiinas o ajoenos (Yu y col., 1993). Este hecho podría haber ocurrido durante el análisis del C2G, el cual presentó los mayores niveles de vinilditiinas. Para confirmar esto se llevó a cabo el análisis cromatográfico de una solución de alicina pura bajo las condiciones experimentales de análisis de GC empleadas en esta tesis y pudo observarse que la misma se descomponía dando lugar a la formación de ambos isómeros de vinilditiinas y DADS (figura 2.19).



**Figura 2.19:** Cromatograma correspondiente al tiosulfinato alicina puro obtenidos mediante GC.  
DADS: dialil disulfuro.

Respecto a las diferencias cuantitativas, estas fueron estadísticamente significativas en prácticamente la totalidad de los compuestos organoazufrados cuantificados ( $\alpha = 0,05$ ).

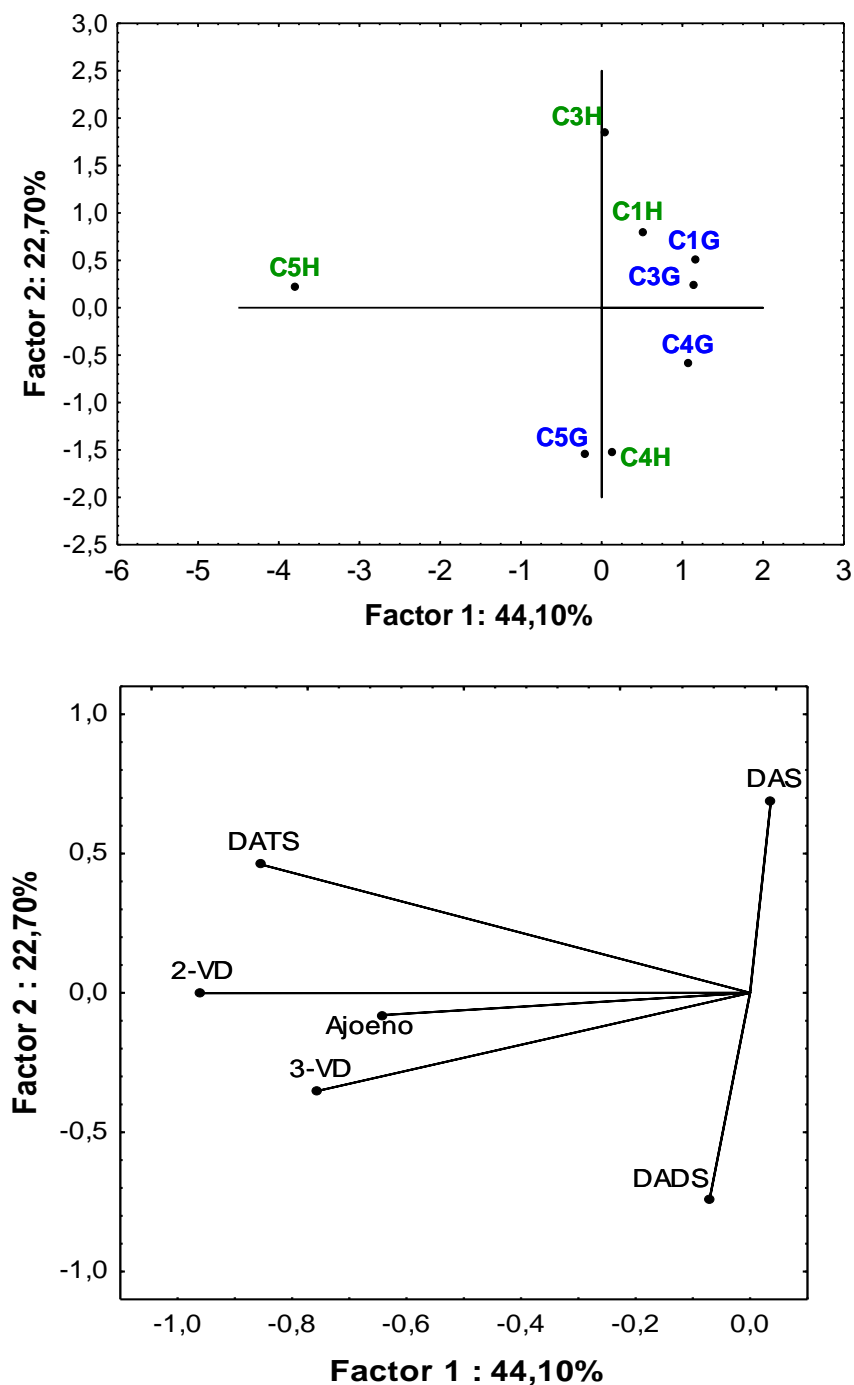
Se ha reportado que DADS sería uno de los compuestos más abundantes en aceites saborizados con ajo, ya que el mismo también se formaría a partir de la degradación de la alicina como consecuencia de la temperatura (Yu y col., 1989; Martín-Lagos y col., 1995; Lucero, 2012). Si bien se observó como el único compuesto organoazufrado presente en todos los aceites saborizados con ajo analizados mediante ambas metodologías cromatográficas, las mayores concentraciones se obtuvieron en el análisis mediante HPLC. Estas diferencias se esperarían que se debieran entre otras causas, a la sensibilidad de los detectores utilizados. En el caso del equipo HPLC el cual se acopló a un detector UV-Vis, la sensibilidad del mismo se halla influenciada por las características estructurales de la molécula relacionadas a la presencia de grupos cromóforos y a los coeficientes de extinción “ $\epsilon$ ” (Lucero, 2012). Iberl y col., 1990, determinaron los coeficientes de extinción de alicina y sus principales productos de degradación informando que DADS era el que menor coeficiente de extinción presentaba, de acuerdo a esto sería de esperar una baja respuesta del detector para este compuesto. Además si comparamos el detector UV-Vis con el detector acoplado a GC el cual fue un FPD (detector fotométrico de llama) cuya selectividad y sensibilidad a compuestos azufrados es superior deberíamos haber hallado las mayores concentraciones mediante el análisis de GC. Pero no debemos olvidar que las altas temperaturas utilizadas durante el análisis de GC, no sólo conducen a la degradación de compuestos termolábiles sino también a importantes pérdidas por volatilización.

#### 2.4.3.3.1. Análisis Multivariado

Con los datos obtenidos mediante ambas metodologías cromatográficas se construyó una matriz para realizar un análisis estadístico multivariado de Componentes Principales (PCA). Para lo cual fue eliminada la muestra C2, por ser la única que contenía alicina. De este análisis se obtuvieron dos factores o componentes resultantes de la combinación lineal de las variables originales (figura 2.20), los cuales permitieron explicar el 69 % de la varianza total del sistema.



La distribución de los datos y la eficiencia del modelo obtenido se presentan en la figura 2.20 donde (A) corresponde a la representación gráfica de los componentes principales y (B) a la gráfica de los pesos relativos de las variables. En el gráfico superior (A), se evidencia que las muestras analizadas mediante GC se encuentran distribuidas en el espacio, con menores distancias entre sí que las muestras analizadas mediante HPLC, esta distribución se halla principalmente en el hemisferio superior derecho del gráfico (C1G, C3G, con valores positivos del PC1 y PC2, evidenciando correlaciones negativas con los valores de DATS y 2-VD (respecto al PC1) y positivas con el DAS y negativas DADS (respecto al PC2). Las muestras C4G, C4H y C5G, distribuidas en el cuadrante inferior derecho, correlacionan positivamente con sus elevados contenidos de DADS. La muestra C3H, se halla en el cuadrante superior derecho por su elevado contenido de DAS y la C5H, en el extremo izquierdo se ubica por su correlación positiva con los niveles de DATS y 2-VD.



**Figura 2.20:** Gráficos de Componentes principales (A) y de los pesos relativos (B) correspondientes a las variables analizadas para las muestras de aceites saborizados con ajo analizadas mediante HPLC-UV (H) y GC-FPD (G).

De este estudio se desprende:

- Que los niveles cuali-cuantitativos de OSCs obtenidos mediante GC y HPLC, no son comparables, si lo fueran, las muestras analizadas mediante ambas metodologías, no se discriminarían entre sí (estarían próximas en el espacio euclidiano).
- El análisis mediante HPLC permite discriminar mejor las muestras entre sí, puesto que cada una de ellas se halla en los extremos de los espacios, mientras que las muestras analizadas mediante GC, se hallan a menor distancia.

- Por otro lado, el modelo obtenido permite discriminar las muestras conforme a sus procesos de obtención. Las muestras obtenidas mediante adición de aceites destilados, se distribuyen en el cuadrante superior derecho (C1 y C3), mientras que las obtenidas mediante maceración se distribuyen principalmente en el hemisferio inferior (C4 y C5).

- Queda demostrado que el análisis de OSCs mediante HPLC, resultó ser el más adecuado para la identificación y caracterización de aceites saborizados con ajo. Su potencia discriminante es tal que permite diferenciar claramente inclusive los procesos de saborización mediante los cuales los aceites fueron elaborados.

#### **2.4.3.4. Aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio**

La tabla 2.8 presenta el perfil de compuestos organoazufrados de los aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio, analizados mediante HPLC-UV. En ella se evidencian diferencias cuali- cuantitativas en los niveles de OSCs hallados entre los diferentes procedimientos de saborización. También se observan diferencias para cada proceso de saborización en función del aceite vegetal empleado, de modo que cada aceite vegetal estaría agregando un “efecto matriz”.

**Tabla 2.8:** Composición química de aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio.

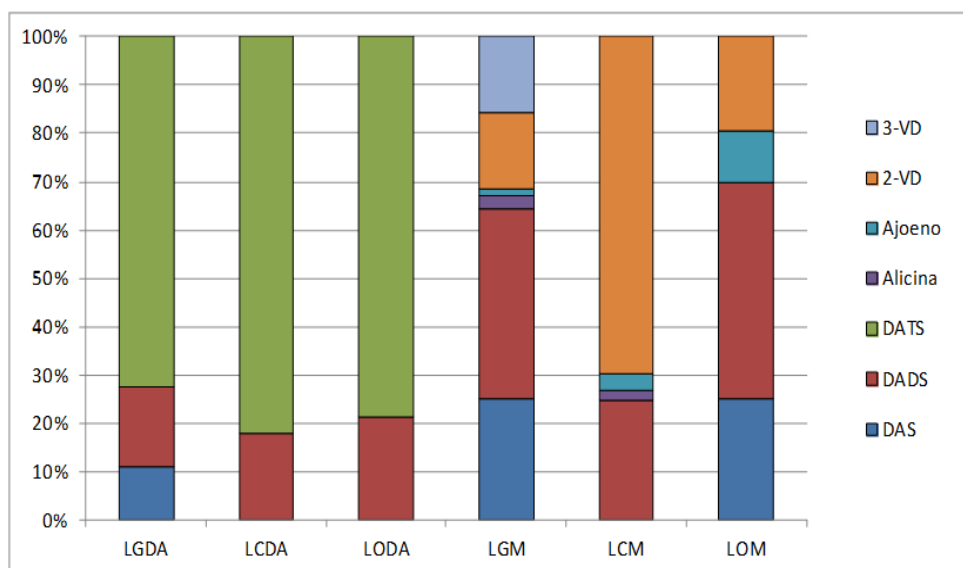
	OSCs ( $\mu\text{g/g}$ )						
	DAS	DADS	DATS	Alicina	Ajoeno	2-VD	3-VD
<b>LDA</b>							
<b>LGDA</b>	$17,57 \pm 1,29^1$	$26,67 \pm 0,11\text{b}^3$	$117,14 \pm 3,16\text{b}$	nd	nd	nd	nd
<b>LCDA</b>	nd <sup>2</sup>	$19,46 \pm 0,11\text{a}$	$89,61 \pm 3,15\text{a}$	nd	nd	nd	nd
<b>LODA</b>	nd	$31,83 \pm 0,62\text{c}$	$116,98 \pm 3,25\text{b}$	nd	nd	nd	nd
<b>LM</b>							
<b>LGM</b>	$16,56 \pm 4,52\text{a}$	$25,79 \pm 0,20\text{a}$	nd	$1,75 \pm 0,24\text{a}$	$0,89 \pm 0,02\text{a}$	$10,56 \pm 0,02\text{a}$	$10,27 \pm 1,11$
<b>LCM</b>	nd	$46,24 \pm 1,48\text{b}$	nd	$4,40 \pm 2,64\text{a}$	$6,09 \pm 2,53\text{b}$	$130,74 \pm 10,26\text{c}$	nd
<b>LOM</b>	$46,53 \pm 0,23\text{b}$	$82,00 \pm 2,28\text{c}$	nd	nd	$19,58 \pm 3,27\text{c}$	$35,76 \pm 0,47\text{b}$	nd

<sup>1</sup>Valores promedios (n=3)  $\pm$  desviación estándar.

<sup>2</sup>nd: No detectados

<sup>3</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes entre los distintos aceites obtenidas por un mismo procedimiento de saborización ( $\alpha \leq 0,05$ ).

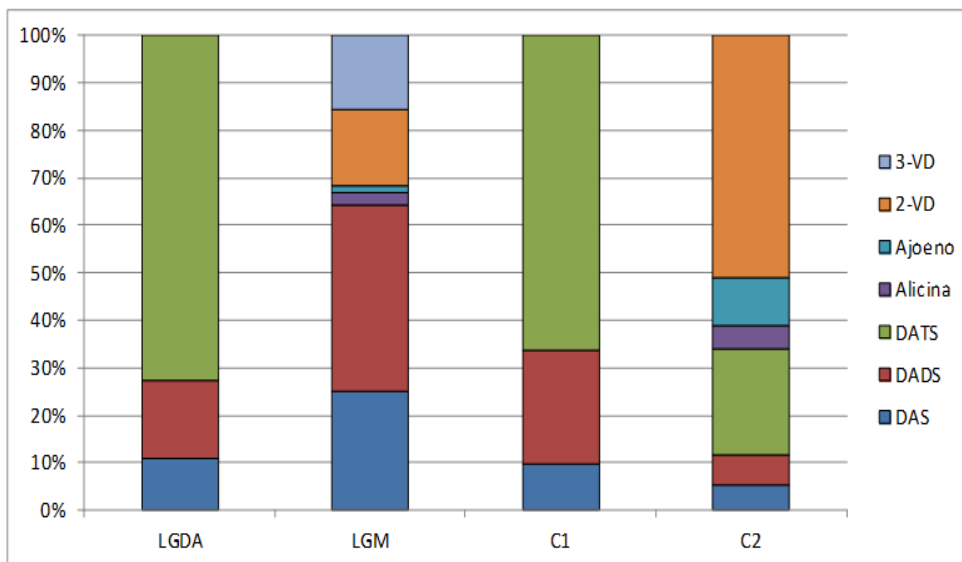
Los aceites obtenidos a partir LM presentaron en su composición, alicina, ajoeno, isómeros de vinilditiinas y sulfuros tales como DAS y DADS. En el caso de los aceites LDA, como se esperaba, solo fueron detectados los sulfuros DAS, DADS y DATS (figura 2.21).



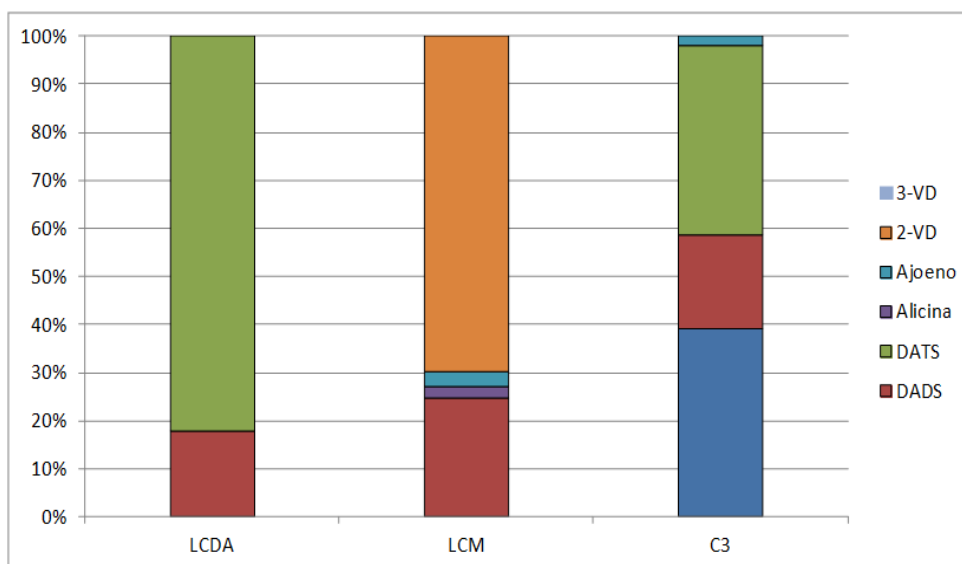
**Figura 2.21:** Composición porcentual de organoazufrados presentes en aceites saborizados con ajo obtenidos a escala de laboratorio: LDA y LM. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro; 2-VD: 2 Vinil-4H-1,3ditiina; 3-VD: 3 Vinil-4H-1,2ditiina.

Los niveles cuali-cuantitativos de OSCs hallados en las muestras analizadas, permiten diferenciar claramente los aceites saborizados en función de los procedimientos empleados para su elaboración. Aquellos que presentan en su composición ajoenos y vinilditiinas evidencian que estuvieron en contacto con ajo fresco (alicina) por lo tanto son aceites saborizados mediante maceración. Los aceites en los cuales fue solo posible hallar sulfuros, responden al segundo procedimiento de saborización. Estos resultados coinciden con lo reportado por Velisek y col., 1997.

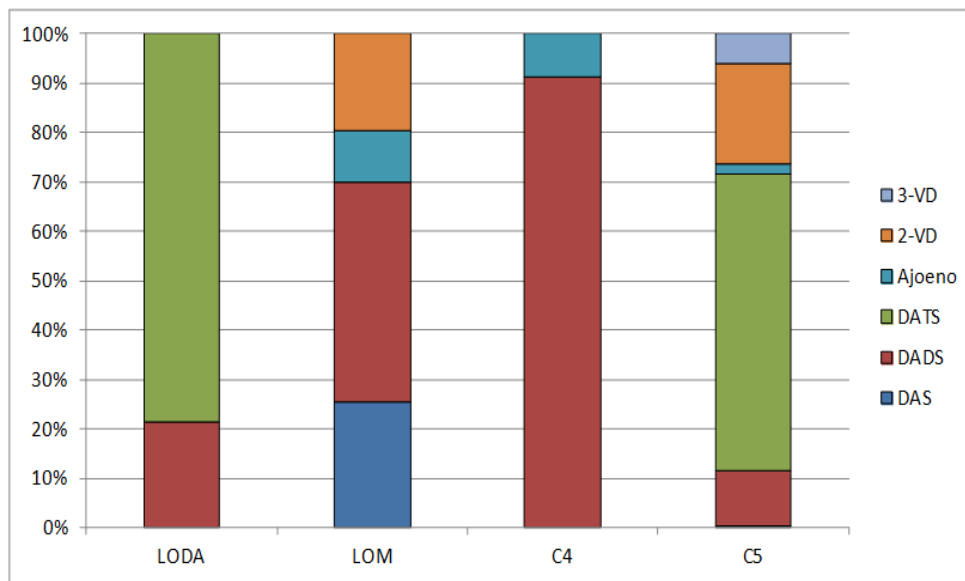
De acuerdo a ello podemos clasificar en *'aceites de ajo macerado'* a los aceites C2, C4 y C5 (figura 2.22 y 2.24), caracterizados por la presencia de alicina, ajoeno y vinilditiinas y en *'aceites destilados de ajo'* a los aceites C1 y C3 distinguidos por la presencia de sulfuros y polisulfuros (figura 2.22 y 2.25).



**Figura 2.22** Gráfico comparativo de la composición porcentual de organoazufrados en aceites de girasol saborizados comercializados vs obtenidos a escala de laboratorio. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro.



**Figura 2.23** Gráfico comparativo de la composición porcentual de organoazufrados en aceite de canola saborizado comercial vs obtenidos a escala de laboratorio. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro.



**Figura 2.24** Gráfico comparativo de la composición porcentual de organoazufrados en aceites de oliva saborizados comerciales vs obtenidos a escala de laboratorio. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro.

## 2.5. CONCLUSIONES PARCIALES

- Los aceites saborizados con ajo obtenidos en el mercado local, estudiados en esta tesis, se diferenciaron en cuanto a su forma de presentación, aspecto y etiquetado del producto.
- Las determinaciones del índice de peróxidos e índice de acidez permitieron conocer el estado oxidativo de los aceites saborizados con ajo comercializados localmente.
- Ningún aceite saborizado comercial superó los valores máximos permitidos por el Código Alimentario Argentino para los parámetros evaluados.
- Los aceites saborizados obtenidos a escala de laboratorio presentaron estados oxidativos significativamente diferentes de los aceites comerciales.
- Los aceites LGM, LCM y LODA presentaron valores de IP que superaron los máximos establecidos por el CAA.
- En cuanto al IA, también existieron diferencias entre los aceites comerciales y los obtenidos a escala de laboratorio, sin embargo en ningún caso se superaron los valores establecidos por la legislación.
- Respecto al color de los aceites saborizados con ajo, se observó que el mismo estuvo determinado por las características y la presencia de pigmentos propios de cada aceite vegetal.
- Los aceites obtenidos a escala de laboratorio sin embargo presentaron diferencias en el color dependientes del proceso de saborización empleado. El cambio más significativo se observó en la disminución de la luminosidad.
- Las metodologías cromatográficas empleadas permitieron el estudio del perfil de compuestos organoazufrados presentes en aceites saborizados con ajo.
- Se evidenciaron diferencias tanto cuali- como cuantitativas en el perfil de OSCs entre los distintos aceites saborizados.
- Mediante GC-FPD se detectaron y cuantificaron los compuestos acíclicos: DAS y DATS y los compuestos cíclicos 2-VD y 3-VD, existiendo diferencias significativas entre los distintos aceites saborizados con ajo.
- A partir del análisis mediante HPLC-UV se detectaron y cuantificaron: DAS, DADS, DATS, alicina, ajoeno y ambos isómeros de vinilditiinas. Al igual que el análisis mediante GC-FPD, existieron significativas diferencias entre los aceites saborizados.
- Se determinó que el análisis mediante cromatografía líquida, bajo las condiciones experimentales en las que fue realizado en esta tesis, fue el más idóneo, ya que permitió la detección y cuantificación del mayor número de compuestos organoazufrados presentes en los distintos aceites saborizados con ajo.
- La obtención y el estudio de aceites saborizados a escala de laboratorio demostró que el perfil de compuestos organoazufrados está determinado por los procedimientos de saborización utilizados.
- Se logró diferenciar analíticamente a partir del perfil de compuestos organoazufrados aceites saborizados con ajo obtenidos por diferentes procedimientos de saborización. De acuerdo se clasificaron los aceites saborizados con ajo estudiados en '*aceites de ajo macerado*' a los aceites C2, C4 y C5, caracterizados por la presencia de alicina, ajoeno y vinilditiinas y en '*aceites destilados de ajo*' a los aceites C1 y C3 distinguidos por la presencia de sulfuros y polisulfuros.
- Los aceites saborizados mediante maceración evidenciaron mayores niveles cuali-cuantitativos de OSCs, por lo tanto ostentan mejores actividades funcionales potenciales.
- La saborización mediante adición de aceite destilado de ajo, si bien evidencia menor espectro de OSCs, compromete en menor grado la estabilidad oxidativa del producto.



## **CAPÍTULO 3**

**MODIFICACIONES CUALI-CUANTITATIVAS  
EN LA CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y  
PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN  
ACEITES SABORIZADOS CON AJO DURANTE  
SU EMPLEO CULINARIO**

## **MODIFICACIONES CUALI-CUANTITATIVAS EN LA CALIDAD BROMATOLÓGICA, COLOR Y PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN ACEITES SABORIZADOS CON AJO DURANTE SU EMPLEO CULINARIO**

### **3.1. INTRODUCCIÓN**

Desde tiempos ancestrales el ajo se ha utilizado con fines tanto culinarios como con propósitos medicinales. En cuanto a su potencial respecto a la promoción de la salud y a la prevención de enfermedades, esta especie se destaca en el ámbito de la protección contra enfermedades cardiovasculares (ECV), enfermedades que constituyen la principal causa de muerte en países industrializados. Varios factores de riesgo asociados a las ECV, como las dislipidemias, hipertensión arterial y diabetes mellitus, son influenciados por la alimentación. En este aspecto, se ha reportado que las frutas y hortalizas contienen compuestos que ayudan a disminuir el riesgo cardiovascular (Milner, 2000). Diversas investigaciones han indicado los efectos cardioprotectores del ajo debido a su capacidad de disminuir los niveles de lípidos (Ernst, 1987), disminución de la presión arterial (Foushee y col. 1982), capacidad antioxidante, actividad fibrinolítica (Tayashree y col. 1991), inhibición de la agregación plaquetaria y reducción de los niveles de glucosa en sangre (Ernst, 1987). A pesar de que estos estudios muestran el potencial del ajo en la prevención y control de los desórdenes cardiovasculares, muchas veces los resultados son inconsistentes y algunas veces contradictorios debido a las diferencias y deficiencias en la metodologías utilizadas (Silagy y Neil, 1994).

En la actualidad, algunos vegetales son cocidos de diversas maneras previos a su consumo. La forma de cocción en el hogar es realizada teniendo en cuenta aspectos tales como la conveniencia, hábitos dietarios y preferencias más que la retención de nutrientes y compuestos bioactivos (Yuan y col., 2009, Patras y col., 2010). En países occidentales, los vegetales son preferentemente consumidos ya sea semi-cocidos o hervidos, mientras que en países asiáticos, los vegetales son consumidos después de tratamientos de cocción tales como fritura, cocción al vapor, hervido y horneado, entre otros (Sultana y col., 2008).

Respecto al ajo, hoy en día se encuentran en el mercado diferentes subproductos del mismo ampliamente utilizados en la obtención de diferentes preparaciones culinarias. Entre estos se destacan el empleo de los aceites vegetales saborizados con ajo en la cocción mediante fritura.

La fritura es uno de los métodos más antiguos de cocción de alimentos. Es considerada por algunos más que un arte, una ciencia; ya que el aroma y la consistencia que puede conferir al alimento, son características muy apreciadas haciendo que la misma sea ampliamente utilizada en todo el mundo, no sólo a nivel doméstico, sino también a nivel industrial (Lercker y Carrasco Pancorbo, 2010). Es un método que consiste en introducir un alimento en aceite o grasa calentado a altas temperaturas durante un periodo de tiempo determinado, generalmente en presencia de oxígeno atmosférico, donde el aceite actúa como medio para la transferencia de calor y de masa, produciendo un calentamiento rápido y uniforme del producto, confiriéndole textura crujiente, sabor y color único, muy deseados por los consumidores (Rojas Uribe y Narváez Rincón, 2011; Dana y Saguy, 2001).

Durante la cocción mediante fritura, ya sea un proceso continuo o discontinuo, la materia grasa sufre un deterioro irreversible de tipo físico y químico. Las alteraciones físicas involucran cambios en el color, aumento de la viscosidad, disminución del punto de humo y formación de espuma, los que pueden detectarse visualmente. Por el contrario el resultado de las reacciones que modifican químicamente la estructura de la materia grasa no son observables a simple vista, sino que necesitan pruebas analíticas específicas para ello (Jiménez-Patiño, 2010). Los principales cambios químicos que se observan en los aceites calentados son: hidrólisis y autooxidación.

La hidrólisis, que es promovida por altas temperaturas, ocurre cuando los triglicéridos del aceite entran en contacto con humedad o agua (proveniente del producto a freír o no). Como resultado de ello se produce la formación de diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres y

glicerol. (Dana y Saguy, 2001). Durante el proceso de fritura, a temperaturas de 180-190°C, el proceso de hidrólisis tiene poca importancia puesto que la humedad se elimina en forma de vapor. Las mayores alteraciones ocurren si existe humedad en el momento de calentar o enfriar el aceite (<100°C) y durante el almacenamiento del mismo, puesto que el agua no se evapora. La aparición de ácidos grasos libres aumenta la acidez del aceite, y en menor cantidad la formación de metilcetonas y lactonas que pueden producir aromas desagradables, además provoca una mayor tendencia a la formación de humo (BDN Alimentación / Food Consulting <http://bdnhome.com>).

Respecto a la autooxidación, es un proceso oxidativo no enzimático, el más frecuente en los procesos de fritura, caracterizado por la oxidación de los ácidos grasos en presencia del oxígeno del aire, dando lugar a compuestos intermedios inestables denominados hidroperóxidos o peróxidos que conducen a la formación de radicales libres. Este proceso se ve favorecido y potenciado por la incidencia de la luz, que actúa como catalizador y por la presencia de sustancias fotosensibles en el medio. Los ácidos grasos insaturados son más sensibles a la oxidación que los saturados (BDN Alimentación / Food Consulting <http://bdnhome.com>). Las grasas que han sufrido un proceso de oxidación tienden a oscurecerse, aumentar la viscosidad, incrementar la formación de espuma y desarrollar gustos y olores anómalos. En este proceso se distinguen tres etapas: *de iniciación* caracterizada por la formación de un radical libre (R\*), ya sea a partir de un hidroperóxido (ROOH) (productos primarios de oxidación) o a partir de un ácido graso (RH), lo cual es favorecido por altas temperaturas y luz. Posteriormente se inicia la etapa *de propagación* donde los radicales libres formados en la etapa anterior, dada su gran reactividad, reaccionan con el oxígeno o con otras cadenas de ácidos grasos, provocando de esta forma una reacción en cadena. Y finalmente la etapa *de terminación*, en la cual dos radicales libres reaccionan entre sí dando lugar a un nuevo compuesto, generalmente del tipo aldehído, cetona, alcanos, alcoholes (productos secundarios de oxidación), los cuales son responsables de aromas y sabores indeseables y de cambios en el color (Cheftel, 1992; BDN Alimentación / Food Consulting <http://bdnhome.com>).

Por otra parte cuando el suministro de oxígeno es más bien limitado, las temperaturas elevadas de fritura conducen a reacciones de polimerización además de reacciones de oxidación (Dana y Saguy, 2001). Esto provoca la formación de monómeros cíclicos, dímeros y polímeros en un mecanismo no radical, siendo la formación de triglicéridos polimerizados proporcional a la temperatura y tiempo de fritura y menos dependiente de la composición de ácidos grasos. Los ácidos grasos saturados son más estables que los ácidos grasos insaturados, pero a temperaturas superiores a 150°C se descomponen a ácidos carboxílicos y una gran variedad de aldehídos, cetonas, y otros carbonos (Dana y Saguy, 2001). Estos polímeros, al ser de mayor tamaño y peso molecular, tienden a aumentar la viscosidad del aceite lo que por un lado favorece la formación de espuma y, por lo tanto la oxidación, y por otro producen un arrastre mayor de aceite por parte del producto frito debido a que gotea con más dificultad. Desde el punto de vista nutricional, los polímeros de alto peso molecular son indigeribles, por lo que tienen poca importancia respecto a la nutrición y salud; pero los compuestos más cortos, monómeros y dímeros, son absorbidos por la pared intestinal, repercutiendo en la salud del consumidor. Muchas de estas sustancias están reconocidas como tóxicas o potencialmente cancerígenas. (BDN Alimentación / Food Consulting <http://bdnhome.com>).

Con el objetivo de promover y mantener la estabilidad de los aceites vegetales a fin de evitar el deterioro de los mismos, antioxidantes sintéticos, tales como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y terbutilhidroxiquinona (TBHQ) han sido usados como aditivos alimentarios. Sin embargo, recientes reportes revelan que estas sustancias sintéticas pueden estar asociadas a ciertos riesgos para la salud. Debido a estos problemas de seguridad, hay una tendencia creciente para reemplazar los antioxidantes sintéticos por otros naturales (Iqbal y Bhangar., 2007). Tanto las frutas como las hortalizas, son consideradas las principales fuentes de especies antioxidantes con capacidad de secuestrar radicales libres (Wang y col., 2008). La estabilización de aceites vegetales a través de diferentes fuentes naturales ha sido previamente investigada (Iqbal y Bhangar, 2007; Abdalla y Roozen, 1999). En ellos se ha demostrado la capacidad de extractos de ajo en cuanto a la inhibición del deterioro térmico del aceite, proveyendo de estabilidad hidrolítica, inhibiendo la conjugación de dobles enlaces y reduciendo la

pérdida de ácidos grasos poliinsaturados bajo condiciones de almacenamiento (Iqbal y Bhangar, 2007). A partir de ello, se ha considerado de interés estudiar el comportamiento de los aceites vegetales saborizados con ajo durante la cocción mediante fritura en cuanto su estabilidad térmica.

Con este fin, diferentes métodos aplicables al control de los aceites durante la fritura fueron considerados y los cuales podrían agruparse de la forma siguiente (Navas Sánchez, 2005):

- Medida de propiedades físicas: índice de color.
- Medida de propiedades químicas: índice de acidez e índice de peróxidos.
- Perfil de principios bioactivos: compuestos organoazufrados.

### 3.2. OBJETIVOS

- Evaluar las modificaciones en los indicadores de calidad bromatológica, color y perfil de compuestos organoazufrados en aceites saborizados con ajo sometidos a condiciones de cocción mediante fritura.

### 3.3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.3.1. Estándares analíticos

Los estándares adquiridos en Sigma Aldrich (Buenos Aires, Argentina) fueron: alilmetil sulfuro (AMS) 98%; dimetil disulfuro (DMDS) 99%; dialil sulfuro (DAS) 97%; metilpropil disulfuro (MPDS) 90%; dialil disulfuro (DADS) 80%; propil disulfuro (PDS) 98%, metilpropil trisulfuro (MPTS) 50%. El dialil trisulfuro (DATS) 98% que se adquirió de LKT Laboratorios, Inc. (St. Paul, Estados Unidos). Alicina fue sintetizada a partir de DADS (Sigma) siguiendo la metodología de González y col., 2007; mientras que ajoeno y vinilditiinas fueron sintetizados y purificados según Soto y col., 2007 e Iberl y col., 1990, respectivamente.

#### 3.3.2. Reactivos

- Acetonitrilo, JT Baker grado HPLC
- Gas inerte: Nitrógeno
- Agua miliQ
- Metanol, JT Baker grado HPLC
- Ácido Acético Glacial Biopack 99,5 % pureza
- Cloroformo Merck para análisis (ACS)
- Ioduro de Potasio Biopack 99% pureza
- Agua destilada hervida
- Almidón Soluble Biopack para Iodometria
- Tiosulfato de Sodio pentahidratado Biopack para análisis (ACS) 99,5% pureza
- Alcohol Etílico Absoluto 96% pureza
- Éter Etílico (sulfúrico) Biopack 98% pureza
- Fenolftaleína Dalton para análisis (ACS)
- Hidróxido de Sodio Biopack 98% pureza

#### 3.3.3. Material de laboratorio

- Vasos de precipitados de 50 mL
- Ampolla de decantación de 50 mL
- Ependorff de 1,5 mL
- Pipetas de 2, 5 y 10 mL
- Erlenmeyers de 250 mL
- Probetas de 50 y 100 mL
- Bureta color caramelo 25 mL, graduada al 0,1 mL

- Frascos color caramelo de 500 mL
- Sartén domestica
- Termómetro
- Temporizador

#### **3.3.4. Equipos**

- Balanza analítica Denver Instrument APX 200
- Centrifuga Eppendorf Mini Spin Plus 14000 rpm
- Cromatografo Gaseoso Hewlett Packard 5098 serie II acoplado a un detector fotométrico de llama (FPD).
- Cromatografo Liquido KINK-500-A series KONIK instruments acoplado a un detector UV-Vis.
- Agitador magnético Fbr by Decalab 2000 rpm.
- Colorímetro Minolta modelo CR-400/410

#### **3.3.5. Muestras**

##### **3.3.5.1. Aceites saborizados con ajo**

Para alcanzar los objetivos propuestos en este capítulo se emplearon los aceites saborizados con ajo adquiridos en el comercio local, cuyas características han sido detalladas en el capítulo 2 (tabla 2.1, apartado 2.3.5.1) y los correspondientes aceites vegetales sin ajo (considerados como testigos).

##### **3.3.5.2. Tratamiento de las muestras**

Las muestras fueron sometidas a calentamiento en un recipiente abierto, simulando condiciones de cocción mediante fritura. A tal fin se empleó una sartén doméstica en la cual las muestras de aceites saborizados y los testigos, fueron sometidas a temperaturas de 180°C, 220°C y 300°C durante 3 minutos. Posteriormente se enfriaron en un baño de hielo hasta alcanzar temperatura ambiente y luego fueron reservadas en frascos color caramelo, al abrigo de la luz. Cada ensayo fue realizado por triplicado (n=3).

##### **3.3.6. Determinaciones analíticas**

Las variables analizadas fueron índice de peróxido, índice de acidez, color y perfil de compuestos organoazufrados (OSCs) a través de las metodologías descritas en la sección 2.3.6 y 2.3.7 detalladas en el capítulo 2.

##### **3.3.7. Preparación de las muestras para el análisis de OSCs mediante HPLC**

Se pesaron 2 g de cada aceite y fueron extraídos en ampolla de decantación con 2 mL de acetonitrilo. Los extractos resultantes fueron centrifugados durante 5 min a 14000 rpm y el sobrenadante obtenido fueron inyectados sin concentrar previa filtración a través de membrana de nylon de 0,22  $\mu\text{m}$ , bajo las condiciones cromatográficas descritas en el capítulo 2, sección 2.3.8.3. A partir de los cromatogramas obtenidos se consideraron los tiempos de retención y las áreas de los compuestos de interés para su correspondiente identificación y cuantificación.

##### **3.3.8. Análisis estadístico de datos**

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de ANOVA utilizando el software estadístico Infostat versión 2012e. Aquellas variables que no cumplieron con los supuestos de normalidad u homogeneidad de varianzas fueron analizadas mediante un test no paramétrico Kruskal Wallis. Diferencias entre medias de tratamientos fueron consideradas significativas a  $\alpha$ -values  $\leq 0.05$

Para la comparación de muestras independientes se realizó la prueba de t-Student y se determinó el estadígrafo F para determinar que no existen diferencias significativas entre las desviaciones estándar de las muestras con un nivel de confianza del 95%.

### 3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.4.1. Modificaciones en los indicadores de calidad bromatológica de aceites saborizados con ajo sometidos a cocción mediante fritura

El estado oxidativo de los aceites saborizados con ajo sometidos a condiciones de fritura fue valorada, al igual que en el capítulo 2, mediante las determinaciones de índice de peróxido e índice de acidez.

Los datos obtenidos se muestran en la tabla 3.1, donde se puede apreciar que cuando la temperatura de fritura fue de 180°C, los diferentes aceites saborizados con ajo presentaron un aumento del IP, seguido de una disminución de este índice a las temperaturas de 220°C y 300°C. Para hacer un análisis preciso de los resultados obtenidos, es pertinente recordar las limitaciones de la determinación del IP. En las etapas iniciales del proceso oxidativo es esperable hallar un aumento en el IP consecuente con la formación de hidroperóxidos como resultado del proceso inicial de oxidación. Cuando el deterioro oxidativo avanza, los peróxidos se transforman en otros derivados químicos (Benzie, 1996; Valenzuela y col., 2003). Por esta razón la disminución del IP evidenciada con el aumento de la temperatura, no debe interpretarse como un “aumento de la calidad del aceite” sometido a temperaturas de fritura, sino más bien que el proceso oxidativo ha progresado en dirección a la formación de compuestos secundarios de oxidación como aldehídos, cetonas, hidrocarburos, ácidos, polímeros, etc (Codony y col., 2010). El análisis estadístico de los datos para un nivel de significancia de  $\alpha$  de 0,05 evidenció diferencias significativas en los valores del IP en las diferentes temperaturas de fritura para cada tipo de aceite saborizado con ajo.

Considerando los valores de IP obtenidos a 180°C, el aceite C5 fue el que menos evidenció una aceleración en el proceso oxidativo cuando fue sometido a las condiciones de fritura.

**Tabla 3.1:** Índice de peróxido de los aceites saborizados con ajo sometidos a diferentes temperaturas de fritura.

IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	Aceites saborizados con ajo				
	C1 <sup>1</sup>	C2	C3	C4	C5
Sin Freír	2,78 ± 0,07 <sup>2,3</sup>	2,67 ± 0,57a	0,69 ± 0,09a	1,48 ± 0,33a	2,45 ± 0,03b
180°C	4,63 ± 0,21c	7,50 ± 0,11d	4,56 ± 0,06d	11,23 ± 1,23d	3,88 ± 0,02c
220°C	1,25 ± 0,01a	4,61 ± 0,03b	3,23 ± 0,20b	6,79 ± 0,20c	2,44 ± 0,09b
300°C	1,00 ± 0,17a	5,76 ± 0,20c	3,58 ± 0,05c	4,22 ± 0,05b	2,13 ± 0,05a

<sup>1</sup> C1 y C2: aceites comerciales de girasol saborizados con ajo; C3: aceite comercial de canola saborizado con ajo; C4 y C5: aceites comerciales de oliva saborizados con ajo

<sup>2</sup> Valores promedios (n=3) ± desviación estándar.

<sup>3</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes para las temperaturas de un mismo aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

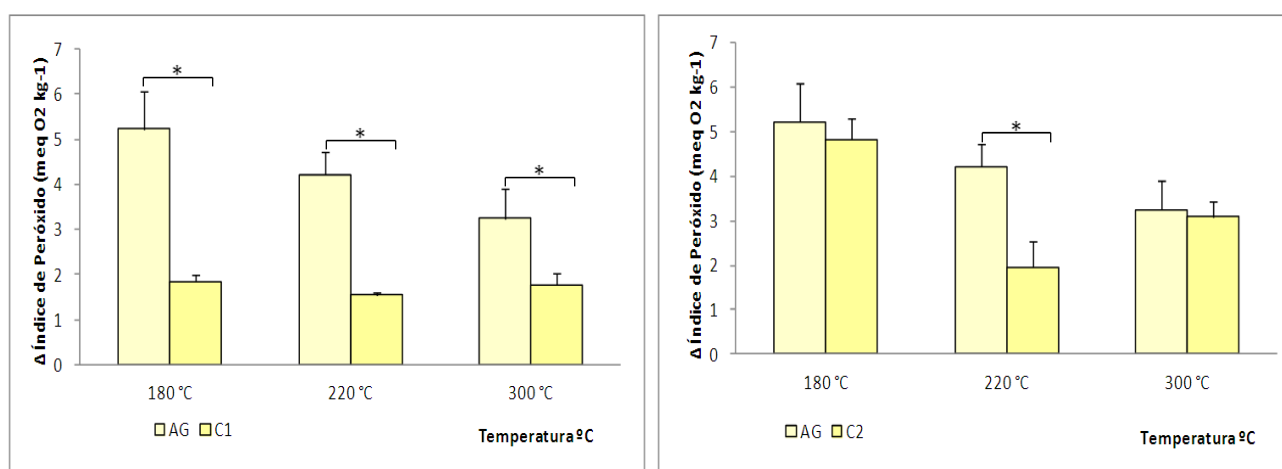
##### 3.4.1.1. Efecto sobre el estado oxidativo ejercido por la presencia de ajo y sus OSCs en los aceites sometidos a condiciones de fritura.

Como hemos mencionado previamente, la valoración de IP se limita a la evaluación de las primeras etapas de la auto-oxidación no siendo el mejor medio para la evaluación de la calidad del aceite (Navas y col., 2006). Si bien la información obtenida a partir de la determinación de IP es de utilidad para conocer el comportamiento de los aceites saborizados con ajo durante su empleo culinario, es necesario realizar otros estudios en los cuales se incluyan otras metodologías analíticas que permitan un análisis más certero de la estabilidad de los aceites saborizados. Por lo

que, en este trabajo de tesis nos limitaremos a discutir solo lo que ocurre a una temperatura de fritura de 180°C.

Para hacer este estudio, fueron valorados los aceites vegetales sin ajo (testigos), bajo idénticas condiciones de fritura. Para evaluar los resultados obtenidos, se definieron las variables  $\Delta IP$  y  $\Delta IA$ , representando cada una de ellas la diferencia que sufren los IP e IA, respectivamente, antes y después de las temperaturas de fritura. Los valores obtenidos, fueron analizados estadísticamente mediante una prueba de  $t$  para la comparación de medias entre muestras independientes (aceite vegetal sin ajo vs. aceite comercial) tanto para  $\Delta IP$  como  $\Delta IA$ .

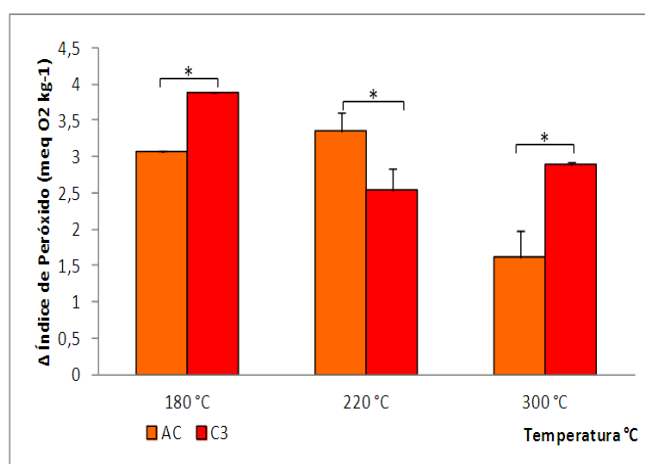
Este análisis permitió determinar para ambos aceites de girasol C1 y C2 diferencias estadísticas con respecto al AG a las diferentes temperaturas de fritura. Como puede apreciarse a partir de la figura 3.1, los valores más bajos de  $\Delta IP$  se registraron en el aceite C1 para la temperatura de 180°C, mientras que el aceite C2 presentó valores de  $\Delta IP$  semejantes al AG. Observándose una menor degradación del aceite C1 frente a la temperatura de 180°C.



**Figura 3.1:** Diferencias en el índice de peróxido de los aceites de girasol saborizados con ajo (C1 y C2) y aceite sin saborizar (AG) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta IP$ ).

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

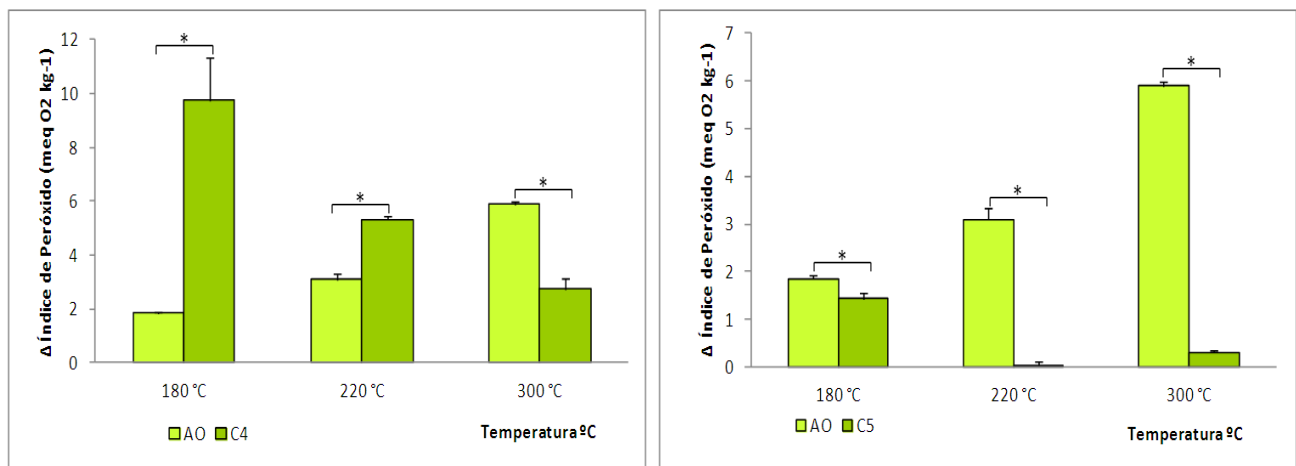
En la figura 3.2 podemos observar que el aceite de canola saborizado con ajo (C3) alcanzó valores de  $\Delta IP$  superior a los obtenidos con el respectivo AC a temperatura de 180°C.



**Figura 3.2:** Diferencias en el índice de peróxido del aceite de canola saborizado con ajo (C3) y aceite sin saborizar (AC) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta IP$ ).

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

En la figura 3.3, se ilustran los valores de  $\Delta$ IP exhibidos por los aceites de oliva saborizados con ajo. Para la temperatura de 180°C, el aceite C5 presentó valores de  $\Delta$ IP menores a los valores alcanzados por el AO. En tanto que el aceite C4 estos valores fueron significativamente superiores al AO. El análisis estadístico de los resultados demostró que existieron diferencias significativas para las temperaturas a las que fueron sometidos los aceites.



**Figura 3.3:** Diferencias en el índice de peróxido de los aceites de oliva saborizados con ajo (C4 y C5) y aceite sin saborizar (AO) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta$ IP).

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Antecedentes previos han demostrado la eficacia de extractos de ajo en la estabilización de diferentes aceites vegetales durante su almacenamiento, entre los cuales se encontraban los aceites de girasol y oliva (Iqbal y Bhangar, 2007; Abdalla y Roozen, 1999; Bensmira y col., 2007; Chatzilazarou y col., 2006; Ayadi y col., 2009). Los aceites C1, C2 y C5 mostraron un comportamiento frente a la cocción mediante fritura que coincidió con lo observado por Iqbal y Bhangar, 2007. Estos autores establecieron la eficacia de extractos metanólicos de ajo en la estabilización del aceite de girasol durante su almacenamiento a temperaturas de 185°C. Señalaron que la adición de extractos metanólicos de ajo presentaba un gran potencial antioxidante, aún mejor que el antioxidante sintético BHA, el cual pierde su capacidad antioxidante después del calentamiento durante 45 min a 185°C. A partir de esto, determinaron que el ajo es una gran fuente natural de compuestos con propiedades antioxidantes, que lo hacen apto para utilizarse en la elaboración y procesamiento de distintos alimentos, incluso en aquellos procesos que involucren altas temperaturas. Para la temperatura de 180°C utilizada en este estudio los valores de  $\Delta$ IP de los aceites con ajo (los cuales presentaron los niveles más elevados de compuestos organoazufrados) fueron siempre menores a los  $\Delta$ IP que los alcanzados en los aceites sin ajo.

No obstante, los resultados apreciados en los aceites C1, C2 y C5 difirieron de lo indicado por Antoun y Tsimidou (1997), quienes hallaron que la adición de ajo al aceite de oliva no modificaba la estabilidad del aceite. Esta situación si fue coincidente con lo observado en los aceites C3 y C4. Dziejdzic y Hudson (1994) demostraron que la estabilización de los aceites aumenta con la concentración de antioxidante primario hasta cierto nivel óptimo (dependiente del test antioxidante considerado), a partir del cual la concentración no ejerce un efecto proporcional sobre la estabilidad de los alimentos.

Respecto al índice de acidez, en la tabla 3.2 se detallan los valores de este índice determinados para los aceites saborizados con ajo sometidos a condiciones de fritura. En ella puede observarse que existieron diferencias estadísticamente significativas en los valores de este indicador en un mismo aceite para las tres temperaturas de fritura evaluadas. Tanto en el aceite C1, C3 como en C4 se pudo apreciar una disminución del IA a medida que aumentó la



temperatura de fritura, siendo estos valores aproximadamente 1,5; 3 y 1,3 veces menores cuando la temperatura fue de 300°C. Mientras que en el aceite C2 y C5, los valores de IA aumentaron con el aumento de la temperatura, siendo cerca de 2 veces más altos que el valor inicial. Esto podría deberse a la composición de OSCs presentes en cada aceite. Lawson, 1998 indicó que ciertos compuestos OSCs tales como, alicina ejercería efectos antioxidantes solo a bajas concentraciones y que podría actuar como sustancia pro-oxidante a altas concentraciones, existiendo un intervalo muy pequeño de concentraciones entre los cuales ejercería un efecto u otro. Esto podría indicar el aumento en los valores de IA para los aceites C2 y C5.

Los aceites saborizados con ajo en estudio no superaron el valor de 1,25 % ác. oleico indicado en el art. 552bis del CAA, a excepción del aceite C3 el cual presento valores mayores que los límites indicando que no sería apto para consumo.

**Tabla 3.2:** Índice de acidez de los aceites saborizados con ajo sometidos a diferentes temperaturas de fritura.

IA (% ác. Oléico)	Aceites saborizados con ajo				
	C1 <sup>1</sup>	C2	C3	C4	C5
<b>Sin Freír</b>	0,36 ± 0,01 <sup>2</sup> c <sup>3</sup>	0,24 ± 0,00a	1,42 ± 0,00d	0,54 ± 0,00a,b	0,14 ± 0,02a
<b>180°C</b>	0,26 ± 0,01b	0,27 ± 0,02b	1,34 ± 0,01c	0,70 ± 0,00c	0,14 ± 0,02a
<b>220°C</b>	0,22 ± 0,01a	0,31 ± 0,01c	1,28 ± 0,04b	0,64 ± 0,00b,c	0,15 ± 0,00a,b
<b>300°C</b>	0,23 ± 0,01a	0,37 ± 0,02d	0,49 ± 0,01a	0,39 ± 0,02a	0,24 ± 0,00b

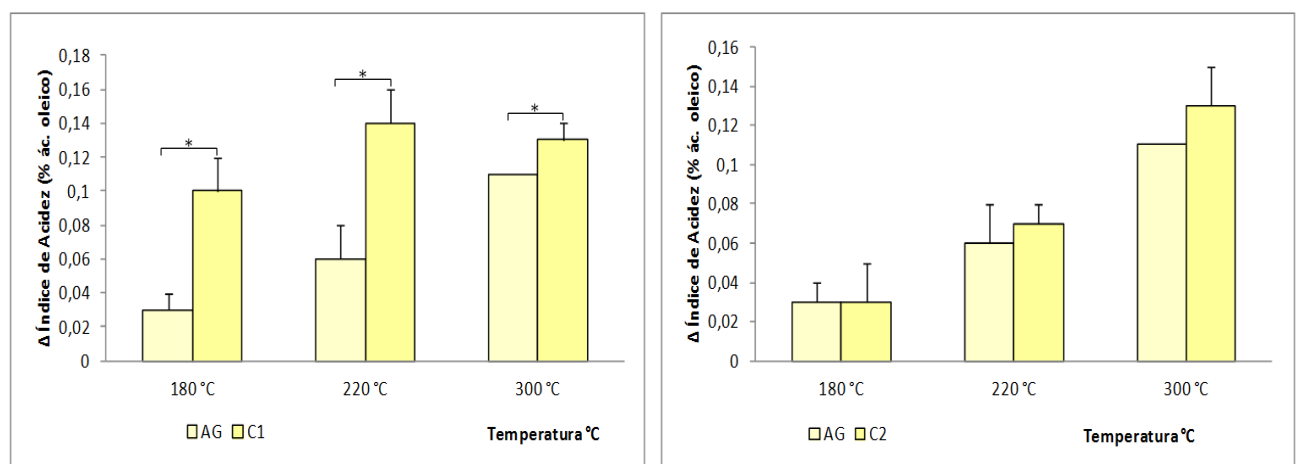
<sup>1</sup> C1 y C2: aceites comerciales de girasol saborizados con ajo; C3: aceite comercial de canola saborizado con ajo; C4 y C5: aceites comerciales de oliva saborizados con ajo

<sup>2</sup> Valores promedios (n=3) ± desviación estándar.

<sup>3</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes para las temperaturas de un mismo aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

### 3.4.1.2. Efecto de la presencia de ajo y sus diferentes componentes OSCs sobre el índice de acidez en los aceites saborizados sometidos a condiciones de fritura.

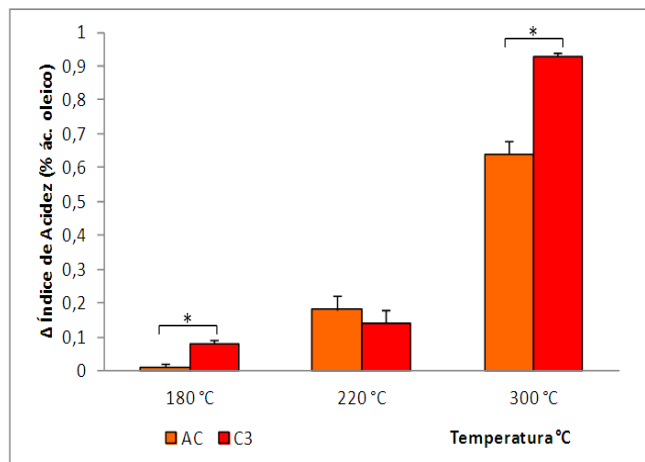
Al comparar los aceites saborizados con los aceites vegetales sin ajo (testigos), sometidos a las mismas condiciones experimentales, se pudo observar que existieron diferencias significativas entre los aceites para todas las temperaturas evaluadas. Tanto el aceite C1 como C2, alcanzaron valores de  $\Delta$ IA superiores a los valores de  $\Delta$ IA de AG (figura 3.4). Siendo estos aumentos menos pronunciados para el aceite C2 con respecto al AG.



**Figura 3.4:** Diferencias en el índice de acidez de los aceites de girasol saborizados con ajo (C1 y C2) y aceite sin saborizar (AG) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta$ IA).

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

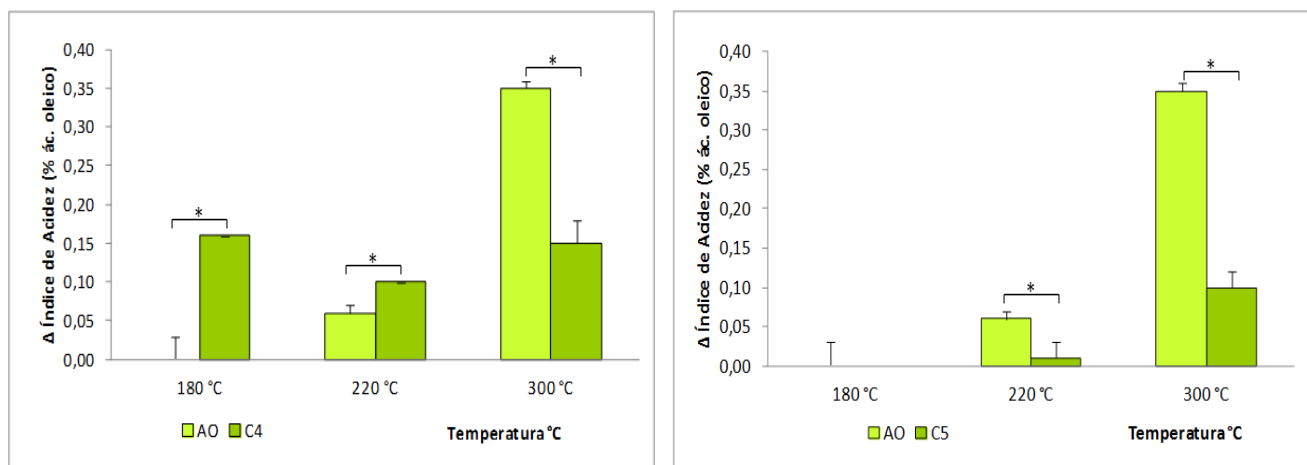
Por su parte, el aceite de canola C3 presentó valores de cambio  $\Delta$ IA mayores que el AC para temperaturas de 180°C y 300°C (figura 3.5). Pero a temperaturas de 220°C los valores de  $\Delta$ IA del C3 fueron ligeramente menores que el AC.



**Figura 3.5:** Diferencias en el índice de acidez del aceite de canola saborizado con ajo (C3) y aceite sin saborizar (AC) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta$ IA).

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Respecto a los aceites de oliva saborizados con ajo, en la figura 3.6 se puede observar que C4 alcanzó diferencias entre valores de  $\Delta$ IA que fueron superiores a los registrados en el AO para las temperaturas de 180°C y 220°C. En tanto que C5 presentó valores significativamente inferiores a los valores de  $\Delta$ IA del AO.



**Figura 3.6:** Diferencias en el índice de acidez de los aceites de oliva saborizados con ajo (C4 y C5) y aceite sin saborizar (AO) sometidos a diferentes temperaturas de fritura ( $\Delta$ IA).

\*Indica diferencias significativas entre muestras de aceite ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Significativos incrementos los valores de IA de los aceites vegetales sometidos a fritura han sido previamente observados y esto se ha correlacionado con el tiempo y temperatura implicados en el proceso de fritura (Yaghmur y col., 2001; Valenzuela y col., 2003; Navas Sánchez, 2005; Fernández Cedi y col., 2010). Cabe destacar que una mayor acidez significa un mayor grado de deterioro por efecto de la temperatura, ya que se produce una liberación de ácidos grasos desde los triglicéridos que forman los distintos aceites, lo cual puede favorecer la formación de humo y/o de sabores indeseables (rancidez hidrolítica) (Valenzuela y col., 2003). Los resultados alcanzados en esta tesis se encuentran en correspondencia con lo antes mencionado,

observándose en las figuras 3.4 a 3.6 que los aceites presentaron un aumento de los valores de acidez con el aumento de la temperatura.

Este aumento de acidez en la muestras ensayadas y disminución de IP, puede ser debido a que los peróxidos formados en la segunda de etapa de la oxidación al principio se acumulan pero luego terminan por descender formándose productos secundarios de descomposición de estos en aldehídos, cetonas y ácidos grasos libres por lo que paralelamente el índice de acidez aumenta por mayor contenido de estos ácidos grasos libres.

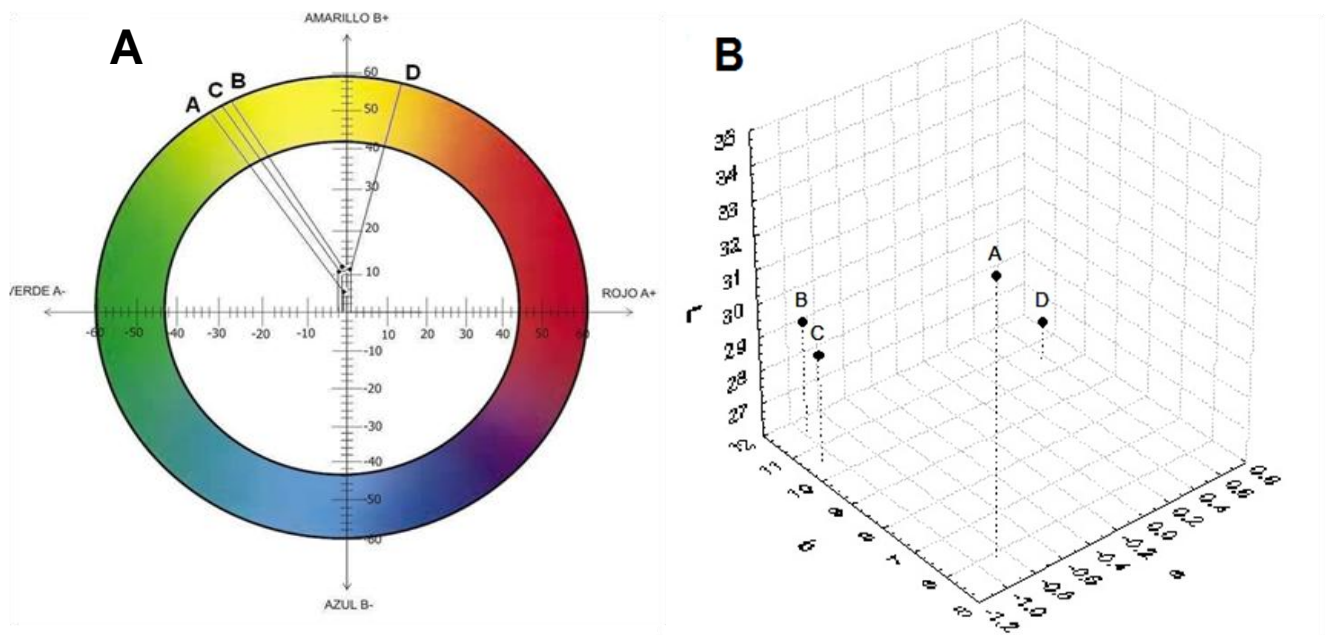
Es reconocido que la composición de ácidos grasos del aceite vegetal influye en la performance de la fritura así como en su comportamiento físico y químico (Xu y col., 1999). Durante el curso de la fritura, el perfil de ácidos grasos del aceite vegetal sufre cambios como consecuencia de reacciones de ciclación y polimerización así también como reacciones de pirólisis, hidrolíticas y oxidativas (Xu y col., 1999). Por lo cual a partir del perfil del aceite sin tratar es posible predecir cuál será su performance durante la fritura (Xu y col., 1999). Los aceites vegetales incluidos en esta tesis poseen una composición de ácidos grasos muy diferente. En términos generales podemos destacar a los aceites de canola y oliva por su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados, mientras que el aceite de girasol se destaca por su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados. A partir de ello, es posible estimar que el aceite de girasol será entonces más susceptible a la oxidación seguido por el aceite de oliva y canola. Esto quedo confirmado por los incrementos en el IA de los aceites cuando fueron sometidos a fritura.

De todos los aceites evaluados, el aceite de oliva C5 fue el que menores valores de acidez presentó con respecto al AO. Los resultados hallados se encuentran en coincidencia con lo señalado por Iqbal y Bhanger, 2007 quienes observaron que los aceites sin ajo alcanzaban los mayores índices de acidez comparados con aceites con ajo.

La valoración del IA en conjunto a la determinación del IP, es un método ampliamente utilizado para la evaluación del control de calidad de los aceites sometidos a fritura (Stevenson y col., 1984). Hay, sin embargo, una serie de factores que deben ser considerados cuando se utiliza este método. Si bien este índice refleja el nivel de ácidos grasos libres que se encuentran en el aceite frito, este no solo implica los formados durante el proceso de fritura, sino también el nivel de ácidos grasos libres presentes inicialmente en el aceite antes de calentar (Fritsch, 1981). Además, los ácidos grasos libres que se forman durante la fritura provienen tanto de reacciones de oxidación como de reacciones de hidrólisis. La relación en que estos procesos tengan lugar varía en función de un número de variables que determinaran los niveles de ácidos grasos libres. Debido a que la determinación de acidez no diferencia entre los ácidos formados por la oxidación y los formados por hidrólisis, el aumento de ácidos grasos libres es una medida deficiente del deterioro de una grasa de fritura. (Fritsch, 1981; Stevenson y col., 1984; Sánchez- Muniz y col., 1994). Esto se vio reflejado en los resultados contradictorios alcanzados en esta tesis.

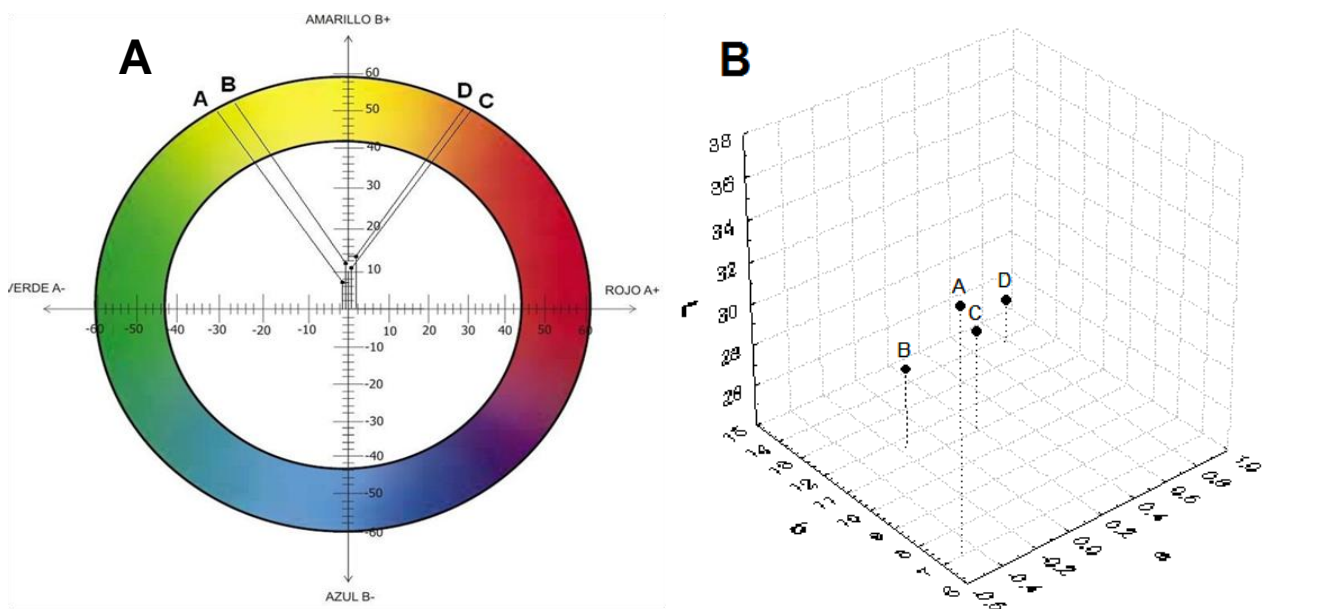
### **3.4.2. Color en aceites saborizados con ajo**

Las coordenadas de color variaron significativamente con la temperatura de fritura ( $\alpha=0,05$ ). El aceite C1 presentó una disminución de la luminosidad con el aumento de la temperatura de fritura, lo cual se evidencia en la figura 3.7.B. Este cambio fue acompañado de valores negativos de  $a^*$  y positivos de  $b^*$  para las temperaturas de 180°C y 220°C, lo cual correspondió a una coloración amarilla con tendencia hacia el verde. Cuando la temperatura fue de 300°C, tanto los valores de  $a^*$  como  $b^*$  fueron positivos presentando una coloración amarilla-rojiza (figura 3.7.A).



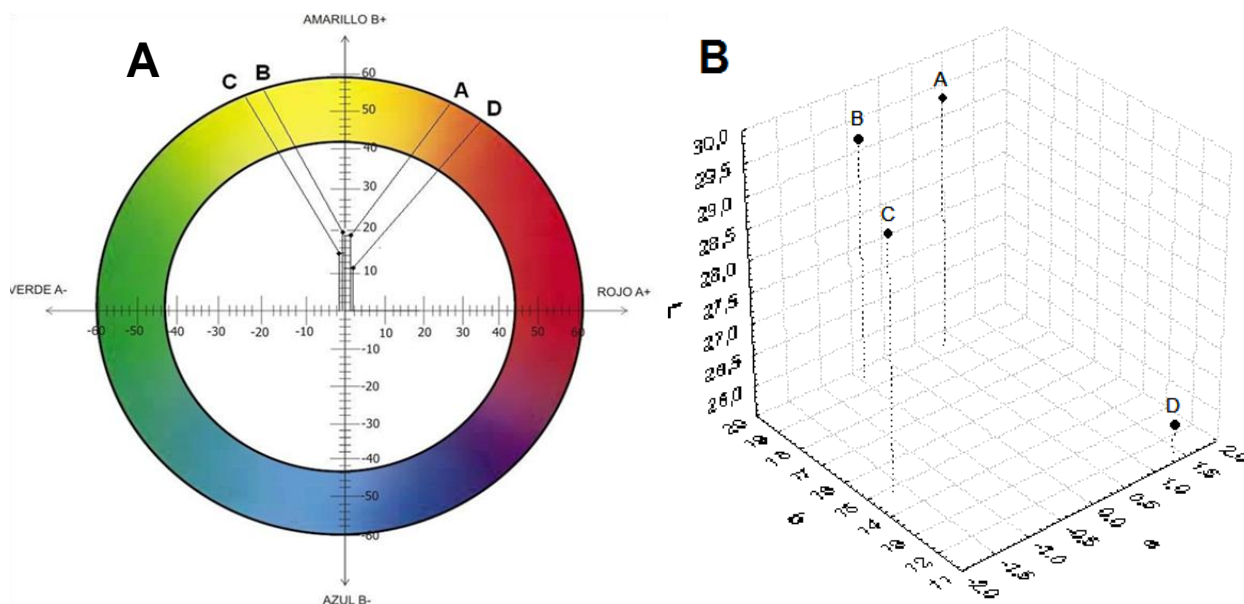
**Figura 3.7.** Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C1: ‘aceite de ajo en girasol’ sometido a cocción mediante fritura. A: Gráfico bidimensional de coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$ . B: Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas L,  $a^*$  y  $b^*$ . A: Aceite sin freír; B: fritura a 180°C; C: fritura a 220°C; D: fritura 300°C.

En tanto el aceite C2, no presentó cambios estadísticamente significativos en su luminosidad (figura 3.8.B) pero si se evidenciaron modificaciones en su tonalidad hacia el amarillo-rojizo correspondientes a un aumento en los valores de  $a^*$  (figura 3.8.A). Respecto al parámetro  $b^*$ , solo presentó un incremento en su valor a la temperatura de fritura de 300°C.



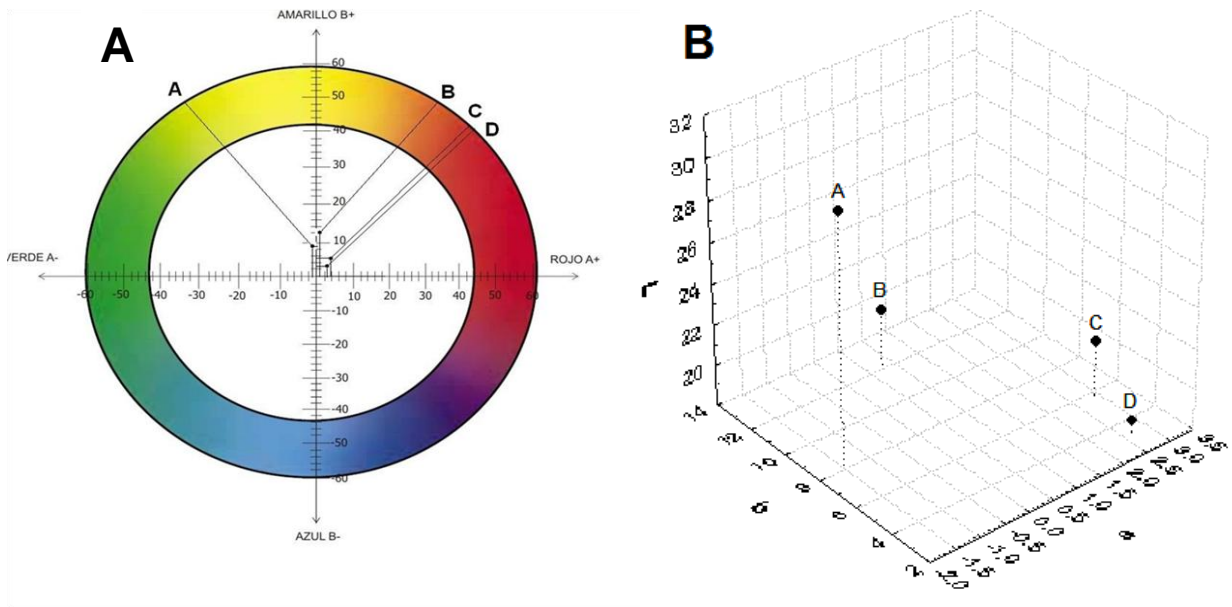
**Figura 3.8.** Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C2: ‘aceite de girasol y ajo’ sometido a cocción mediante fritura. A: Gráfico bidimensional de coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$ . B: Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas L,  $a^*$  y  $b^*$ . A: Aceite sin freír; B: fritura a 180°C; C: fritura a 220°C; D: fritura 300°C.

A diferencia de los aceites de girasol saborizados, el aceite C3, no fue afectado en cuanto a su luminosidad por las temperaturas de fritura de 180°C y 220°C pero si a 300°C (figura 3.9.B). Su tonalidad cambio hacia el amarillo con tendencia hacia el verde a temperaturas de 180°C y 220°C, siendo los valores de  $a^*$  y  $b^*$ , negativos y positivos, respectivamente. En tanto que los valores de  $a^*$  se tornaron positivos a la temperatura de 300°C, exhibiendo una coloración rojiza (figura 3.9.A).

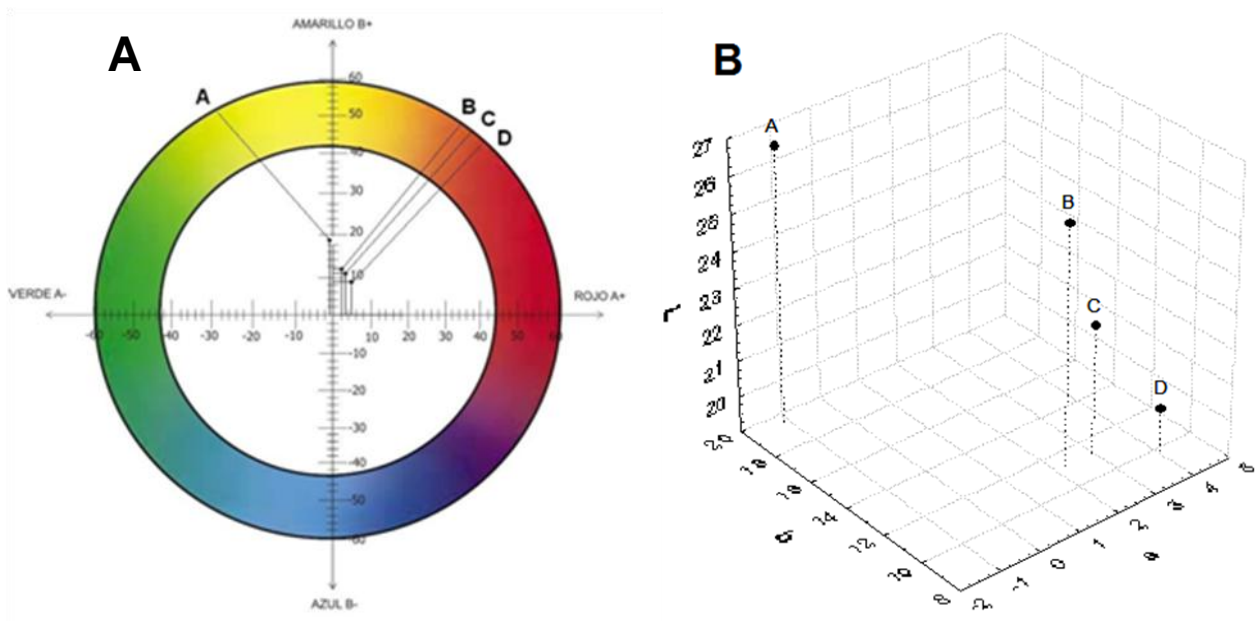


**Figura 3.9.** Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C3: 'aderezo de canola y ajo' sometido a cocción mediante fritura. A: Gráfico bidimensional de coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$ . B: Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas L,  $a^*$  y  $b^*$ . A: Aceite sin freír; B: fritura a 180°C; C: fritura a 220°C; D: fritura 300°C.

Tanto el aceite C4 y C5, mostraron una disminución de la luminosidad con el aumento de la temperatura de fritura. Esta disminución fue muy notoria para el aceite C4, (figura 3.10.B). Los valores de  $a^*$  fueron positivos para las diferentes temperaturas correspondiendo a una tonalidad rojiza, mientras que su tonalidad amarilla fue disminuyendo (figura 3.10.A y 3.11.A).

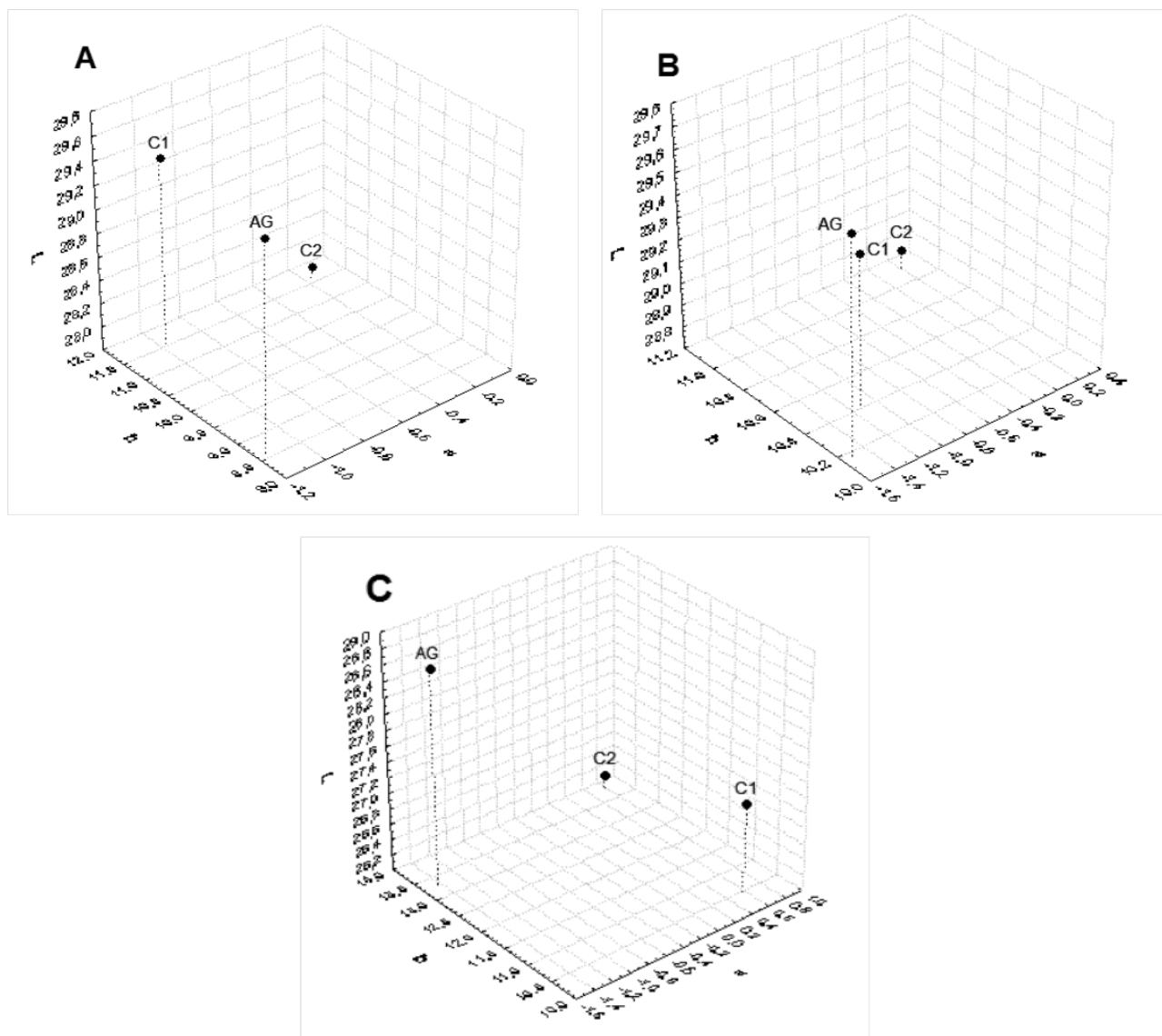


**Figura 3.10.** Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C4: 'aceite de oliva al ajo' sometido a cocción mediante fritura. A: Gráfico bidimensional de coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$ . B: Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas L,  $a^*$  y  $b^*$ . A: Aceite sin freír; B: fritura a 180°C; C: fritura a 220°C; D: fritura 300°C.



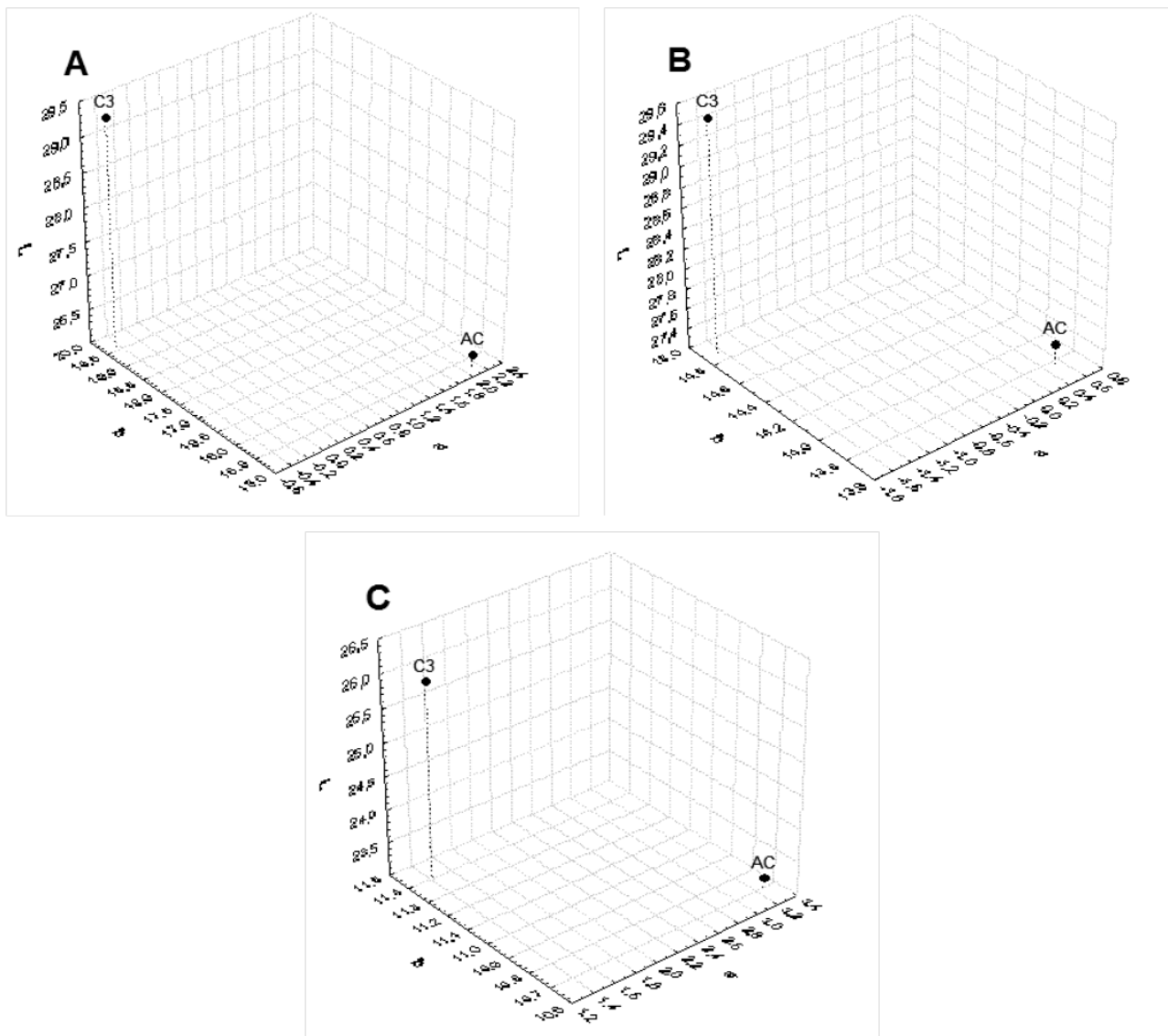
**Figura 3.11.** Dinámica de cambio en las coordenadas de color de C5: 'aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito' sometido a cocción mediante fritura. A: Gráfico bidimensional de coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$ . B: Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas L,  $a^*$  y  $b^*$ . A: Aceite sin freír; B: fritura a 180°C; C: fritura a 220°C; D: fritura 300°C.

Al comparar con los aceites testigos se pudo hallar que la luminosidad del AG no fue afectada con el aumento de la temperatura de fritura (figura 3.12). Este parámetro presentó siempre un valor superior a los observados en los aceites C1 y C2 sometidos a idénticas condiciones de ensayo. En cuanto a los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ , el AG exhibió valores de  $a^*$  negativos y valores de  $b^*$  positivos. Esto se correspondió con tonalidades verdes amarillentas características del aceite. A diferencia de ello, los aceites C1 y C2 mostraron valores de  $a^*$  positivos a las temperaturas de 220°C y 300°C indicando una coloración rojiza (figura 3.12).



**Figura 3.12.** Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del aceite de girasol testigo (AG) y aceites de girasol saborizados (C1 y C2) sometidos a cocción mediante fritura. A: fritura a 180°C; B: fritura a 220°C; C: fritura 300°C.

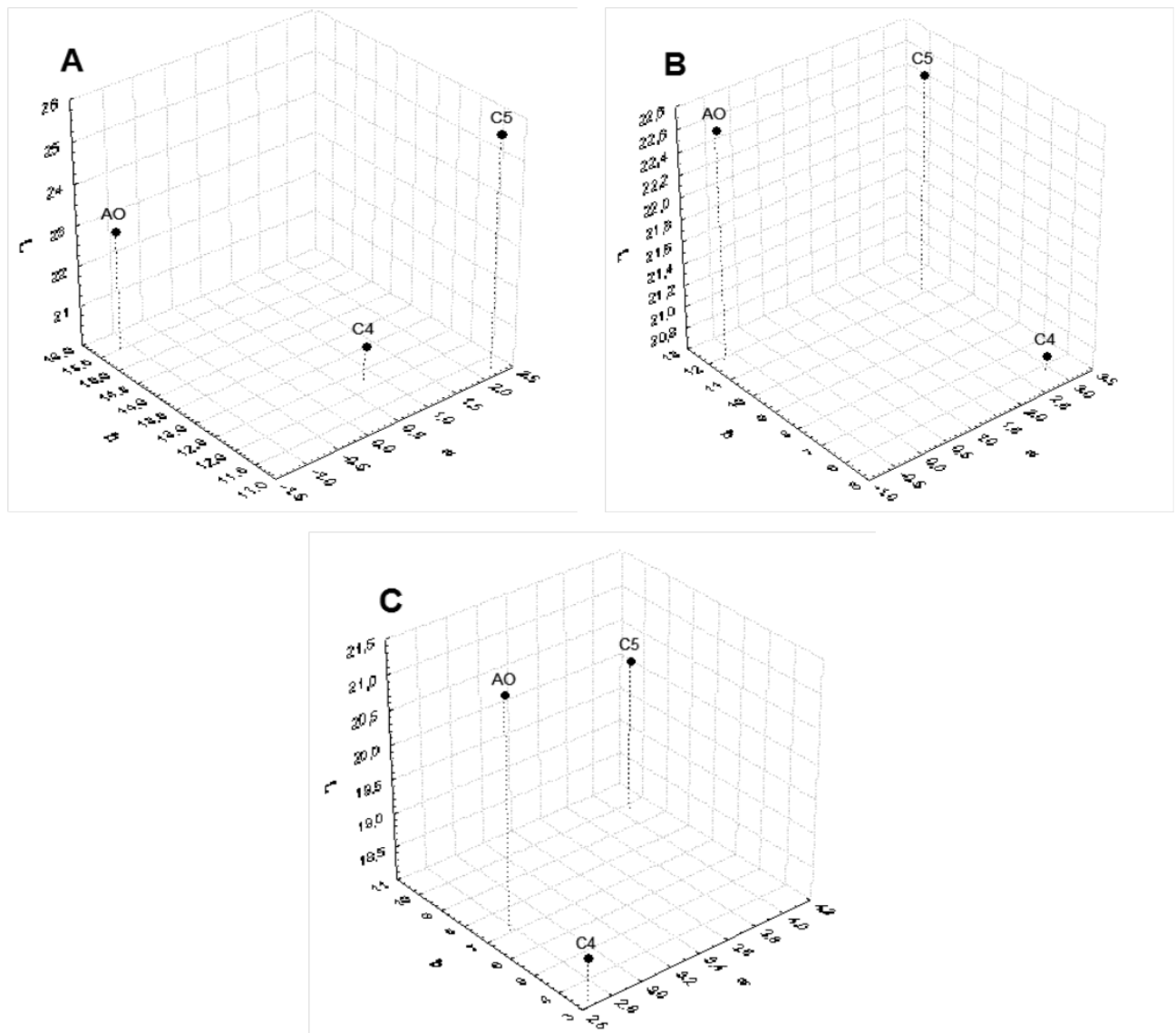
En el caso del AC, a medida que aumentó la temperatura de fritura su luminosidad disminuyó significativamente lo cual se tradujo en una mayor opacidad. En cuanto a los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ , sus valores fueron positivos, correspondientes a una coloración amarillo-rojiza (figura 3.13). A diferencia del AC, el aceite C3 a las temperaturas de 180°C y 220°C tendió hacia una coloración verde amarillenta y no evidenció cambios significativos en su luminosidad salvo a la temperatura de 300°C (figura 3.13.A y B).



**Figura 3.13.** Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas de color L,  $a^*$  y  $b^*$  del aceite de canola testigo (AC) y aceite de canola saborizado (C3) sometidos a cocción mediante fritura. A: fritura a 180°C; B: fritura a 220°C; C: fritura 300°C.

El AO exhibió cambios significativos en su luminosidad con el aumento de la temperatura de fritura. Los valores de L fueron menores que los advertidos en el aceite C5 pero mayores que los observados en el aceite C4. Con respecto a las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ ; el AO presentó valores de  $a^*$  negativos a las temperaturas de 180°C y 220°C, manteniendo una coloración verdeamarillenta (figura 3.14.A-B). A 300°C tendió hacia una coloración amarillo-rojiza siendo los valores de  $a^*$  positivos (figura 3.14.C). Los aceites C4 y C5 presentaron una coloración amarillo-rojiza para todas las temperaturas de fritura, con parámetros de  $a^*$  y  $b^*$  positivos.





**Figura 3.14.** Gráfico tridimensional correspondiente a las coordenadas de color L,  $a^*$  y  $b^*$  del aceite de oliva testigo (AO) y aceite de oliva saborizado con ajo (C4 y C5) sometido a cocción mediante fritura. A: fritura a 180°C; B: fritura a 220°C; C: fritura 300°C.

Las variaciones tanto de propiedades físico-químicas como sensoriales de los aceites sometidos a la cocción mediante fritura han sido previamente evaluados (Tyagi y Vasishtha, 1996; Maniak y col., 2009). Estos estudios han reportado, en coincidencia con lo observado en esta tesis, que la fritura a altas temperaturas conduce a significativos cambios en el color de los aceites vegetales. Las principales causas de las alteraciones de color son las reacciones de oxidación que llevan a la acumulación de sustancias no-volátiles (tales como polímeros e hidrocarburos) y las modificaciones de los pigmentos vegetales característicos de cada aceite (Maniak y col., 2009).

Cuando aceites de girasol son sometidos a cocción mediante fritura, estos rápidamente cambian su color del amarillo brillante al marrón-anaranjado (Sánchez-Gimeno y col., 2008). Esto ocurre como resultado de reacciones de oxidación, polimerización y otros cambios químicos (Tan y col., 1985; Takeoka y col., 1997). De acuerdo con Totani y col. (2006), después de freír, los pigmentos: clorofilas y carotenoides desaparecen como resultado de la oxidación. Estos cambios indican la degradación del pigmento por la pérdida del ion magnesio de la molécula. El resultado de esta degradación es una molécula de feofitina. Este último pigmento proporciona un color marrón. Como consecuencia de ello su luminosidad disminuye acompañada de un aumento en los

valores de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  (Maskan, 2003). El incremento en los valores de  $a^*$  son signos de excesivo pardeamiento y reducción de pigmentos clorofílicos responsables del color verde de los aceites. En general estos incrementos no son deseables ni aceptables debido a que ello es indicativo de cambio hacia el color rojo. En tanto que, los incrementos en los valores de  $b^*$  han sido atribuidos a la formación de quinonas a partir de la oxidación parcial del aceite que dan coloraciones rojas y amarillas. Estas modificaciones en el color fueron observadas en los aceites de girasol saborizados analizados.

Efectos significativos de la temperatura de fritura sobre la formación de compuestos coloreados han sido observados en aceites de canola (Aladedunye y Przybylski, 2009). No obstante, no se advirtieron cambios significativos en la luminosidad de los aceites saborizados evaluados pero sí en su tonalidad.

Sánchez-Gimeno y col., 2008, investigaron los cambios que acontecen en la viscosidad, espectros de transmitancia y el color del aceite de oliva durante el proceso de fritura. Demostraron que después de este proceso, no sólo desaparecen los picos de transmitancia correspondientes a los pigmentos carotenoides y la clorofila, sino que tiene además lugar la transformación del pigmento clorofila durante la fritura. Esto se vio conjuntamente reflejado en los parámetros medidos en la escala de color CIELAB que indicaron aumentos en la luminosidad del aceite de oliva y una tendencia mayor hacia el color verde y amarillo. En este trabajo de tesis, los cambios observados en el parámetro  $b^*$  se encontraron en coincidencia con lo reportados por estos autores, pero difiere de lo señalado respecto a la luminosidad.

#### **3.4.3. Estudio del perfil de compuestos organoazufrados (OSCs)**

Las figuras 3.15 a 3.19 exhiben el perfil de compuestos organoazufrados de los aceites saborizados con ajo sometidos a cocción mediante fritura. La identificación de estos OSCs fue realizada por comparación de los respectivos tiempos de retención de los compuestos estándares. Para su cuantificación se emplearon las ecuaciones de regresión ajustadas, obtenidas a partir del área bajo la curva para cada compuesto estándar para un intervalo de confianza de  $\alpha$ : 0,05 (tabla 3.3). Diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de los compuestos organoazufrados fueron halladas entre los distintos aceites saborizados con ajo sometidos a fritura, para un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$  (Anexos).

**Tabla 3.3:** Composición química de aceites saborizados con ajo sometidos a diferentes temperaturas de fritura.

OSCs ( $\mu\text{g/g}$ )	Aceite saborizado con ajo				
	C1 <sup>1</sup>	C2	C3	C4	C5
	<b>180°C</b>				
<b>DAS</b>	nd <sup>2</sup>	nd	26,37 $\pm$ 8,28a	nd	5,11 $\pm$ 0,74b
<b>DADS</b>	nd	nd	0,75 $\pm$ 0,33a	24,89 $\pm$ 3,16b	nd
<b>DATS</b>	9,90 $\pm$ 1,22 <sup>3</sup> a <sup>4</sup>	nd	nd	nd	nd
<b>Ajoeno</b>	nd	16,65 $\pm$ 0,16a	nd	17,60 $\pm$ 0,18b	6,19 $\pm$ 0,34d
<b>2-VD</b>	nd	36,10 $\pm$ 11,14a	nd	nd	11,34 $\pm$ 1,89b
	<b>220°C</b>				
<b>DAS</b>	nd	nd	nd	nd	5,12 $\pm$ 0,15b
<b>DADS</b>	nd	nd	nd	1,87 $\pm$ 0,02a	nd
<b>DATS</b>	10,79 $\pm$ 3,42a	nd	7,05 $\pm$ 0,80a	nd	nd
<b>Ajoeno</b>	nd	84,49 $\pm$ 9,60c	nd	19,15 $\pm$ 0,06b	3,60 $\pm$ 0,18c
<b>2-VD</b>	nd	188,89 $\pm$ 63,24b	nd	nd	9,91 $\pm$ 2,69b
	<b>300°C</b>				
<b>DAS</b>	nd	nd	nd	nd	0,14 $\pm$ 0,13a
<b>DADS</b>	nd	nd	nd	nd	nd
<b>DATS</b>	16,96 $\pm$ 0,71a	nd	7,13 $\pm$ 0,38a	nd	nd
<b>Ajoeno</b>	nd	18,73 $\pm$ 0,57a	nd	21,35 $\pm$ 2,20c	0,25 $\pm$ 0,02a
<b>2-VD</b>	nd	51,43 $\pm$ 2,74a	nd	nd	0,65 $\pm$ 0,26a

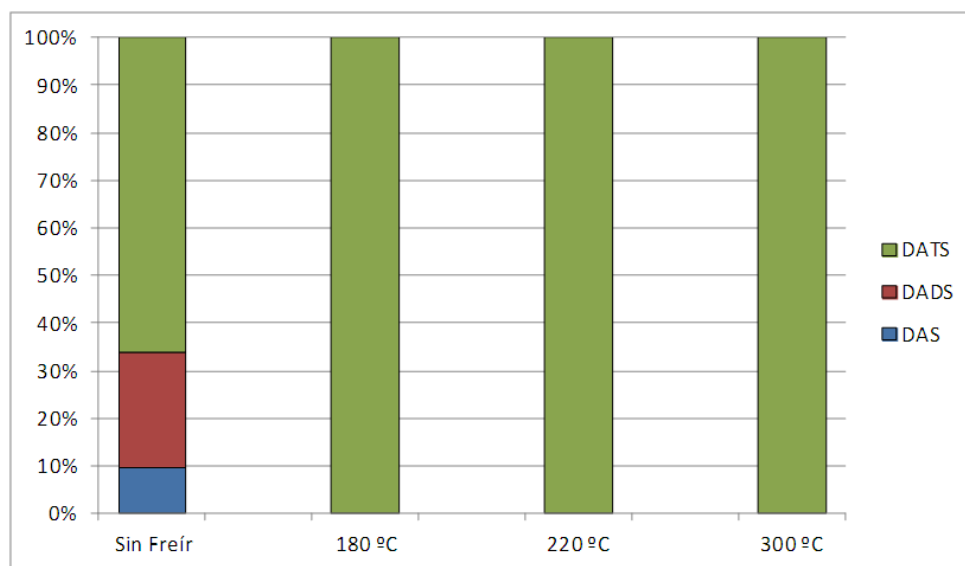
<sup>1</sup> C1 y C2: aceites comerciales de girasol saborizados con ajo; C3: aceite comercial de canola saborizado con ajo; C4 y C5: aceites comerciales de oliva saborizados con ajo.

<sup>2</sup> nd: no detectado

<sup>3</sup> Valores promedios (n=3)  $\pm$  desviación estándar.

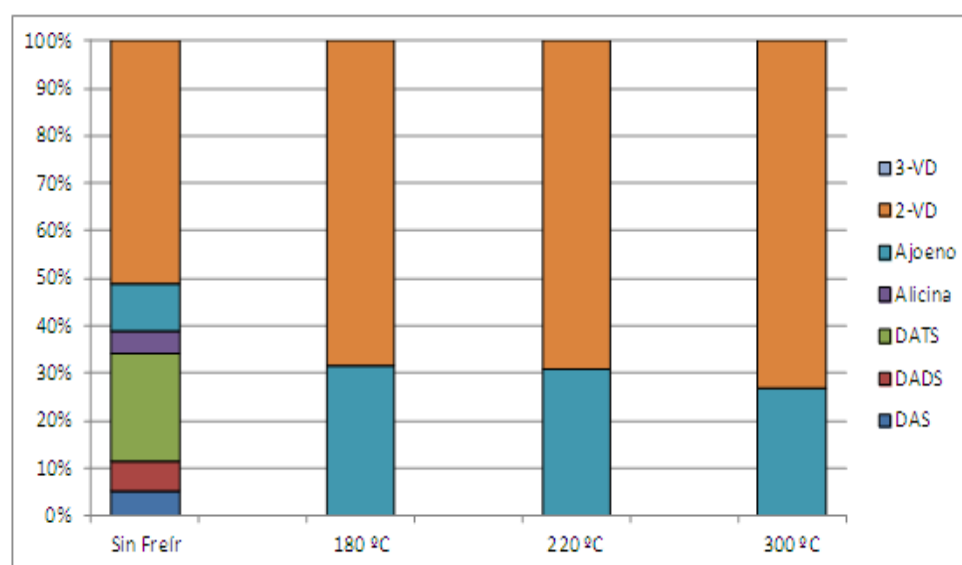
<sup>4</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes para cada compuesto organoazufrado en cada aceites saborizado con ajo sometido a diferentes condiciones de fritura ( $\alpha \leq 0,05$ )

El aceite C1 cuando fue sometido a cocción mediante fritura presentó cambios en su perfil de compuestos organoazufrados (figura 3.15). Estos cambios comprendieron un incremento significativo de la concentración de DATS y la no detección de los compuestos DAS y DADS, a las tres temperaturas de fritura ensayadas. Cuando la temperatura de fritura fue de 220°C la concentración de DATS incrementó hasta 10,79 ppm y a 300°C, esta volvió a aumentar 1,71 veces su concentración, respecto de la concentración hallada a 180°C.



**Figura 3.15:** Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles en C1: 'aceite de ajo en girasol' obtenidos mediante HPLC-UV sometidos a diferentes temperaturas de fritura. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro.

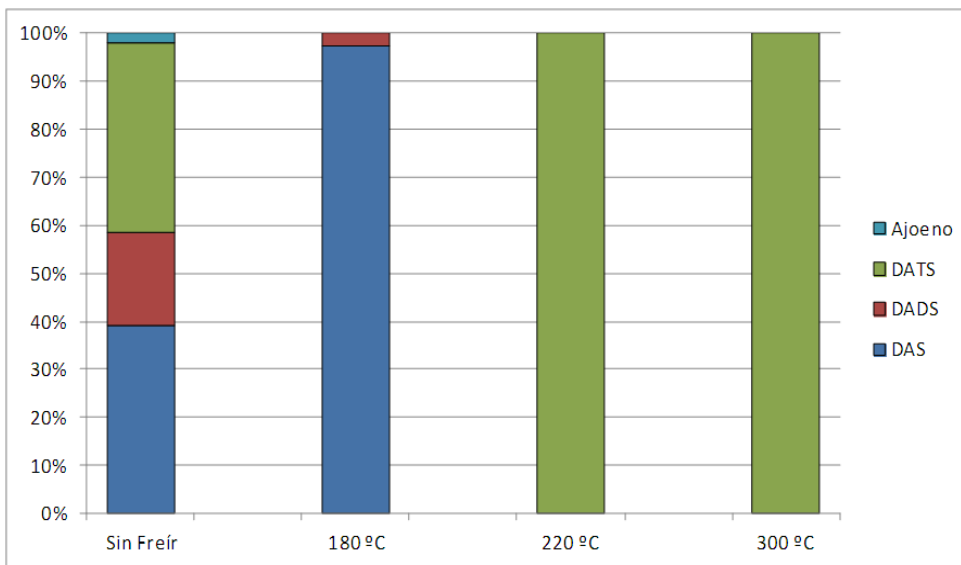
En C2 sin freír los compuestos identificados y cuantificados fueron DAS, DADS, DATS, alicina, ajoeno y los isómeros 2-VD y 3-VD. Al someterse a las temperaturas de fritura, solo fueron detectados los compuestos ajoeno y 2-VD (figura 3.16). La concentración más alta de dichos compuestos fue alcanzada a una temperatura de 220°C, siendo estadísticamente diferente con respecto a las concentraciones halladas a las temperaturas de 180°C y 300°C. A 220°C la concentración de ajoeno fue 3 veces mayor y un 20% más para 2-VD que en el aceite C2 sin freír.



**Figura 3.16:** Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles en C2: 'aceite de girasol y ajo' obtenidos mediante HPLC-UV sometidos a diferentes temperaturas de fritura. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro.

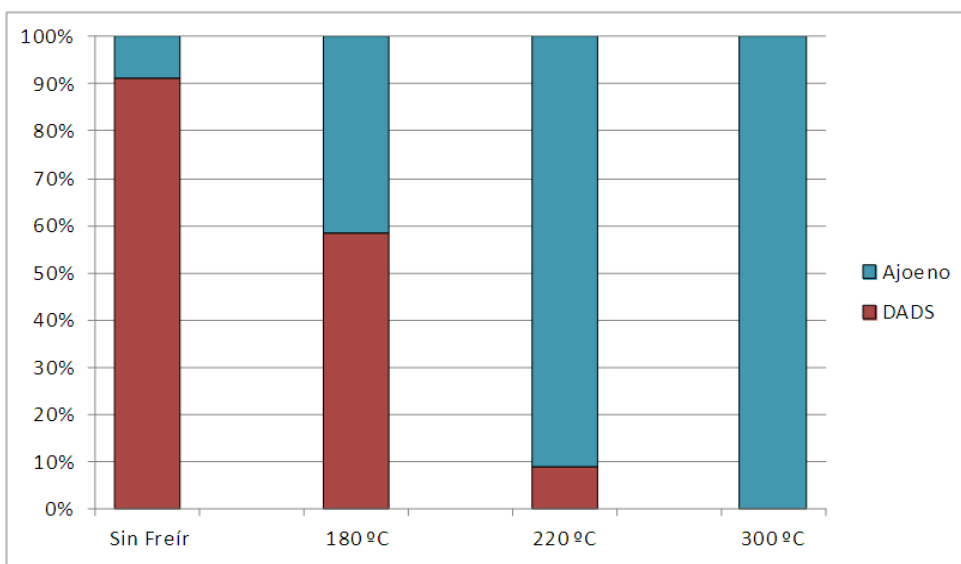
En cuanto al aceite C3 sin freír este exhibió los compuestos organoazufrados DAS, DADS, DATS y ajoeno. Cuando se emplearon temperaturas de 180°C se evidenció DAS y DADS en concentraciones de 26,37 ppm y 0,75 ppm, respectivamente que correspondieron aproximadamente a un 10% y 95% menos del contenido de estos compuestos en el aceite sin freír (figura 3.17). A temperaturas de 220°C y 300°C sólo se presentó DATS en concentraciones 5

veces menores a las halladas en el aceite sin freír, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.



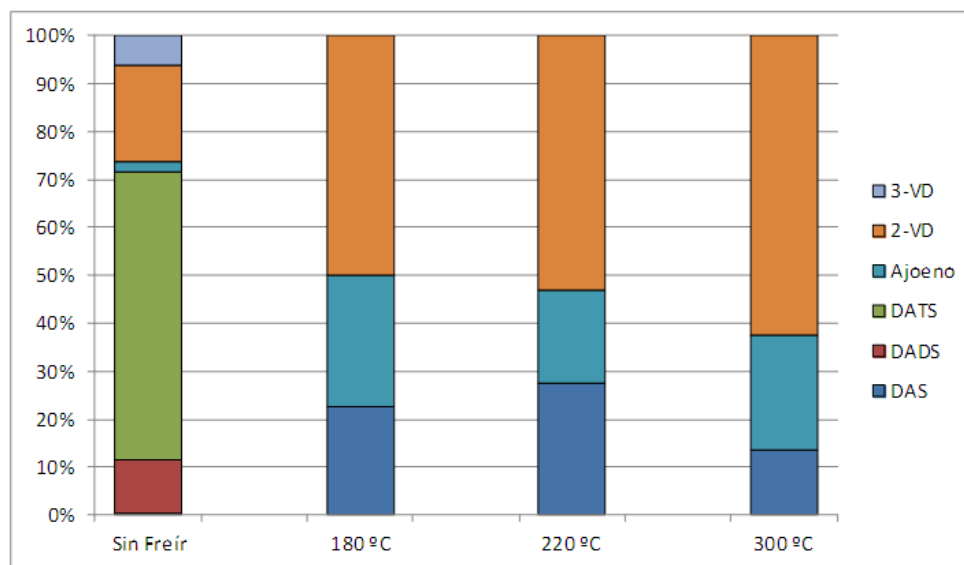
**Figura 3.17:** Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles presentes en C3: ‘aderezo de canola y ajo’ obtenidos mediante HPLC-UV sometidos a diferentes temperaturas de fritura. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialiltrisulfuro.

DADS y ajoeno fueron detectados y cuantificados en el aceite C4 luego de sometido a la cocción mediante fritura a las temperaturas de 180°C y 220°C, mientras que a una temperatura de 300°C solo se detectó y cuantificó ajoeno. La concentración de ajoeno fue aumentando con el incremento de la temperatura, en un rango de concentración de 17,60 ppm a 21,35 ppm. En tanto la concentración de DADS disminuyó a medida que aumentó la temperatura reduciéndose en aproximadamente un 90% su concentración cuando la temperatura fue de 220°C.



**Figura 3.18:** Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles en C4: ‘aceite de oliva al ajo’ obtenidos mediante HPLC-UV sometidos a diferentes temperaturas de fritura. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro.

El aceite C5 presentó a las temperaturas de 180°C, 220°C y 300°C los compuestos DAS, ajoeno y 2-VD. Para dichos compuestos se pudo observar que las concentraciones fueron disminuyendo a medida que aumentó la temperatura hasta llegar a concentraciones menores a 1 ppm.



**Figura 3.19:** Gráfico correspondiente al perfil porcentual de compuestos organoazufrados volátiles en C5: 'aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito' obtenidos mediante HPLC-UV sometido a diferente temperatura de fritura. DAS: dialil sulfuro; DADS: dialil disulfuro; DATS: dialil trisulfuro.

Antecedentes previos han destacado la existencia de diferencias en cuanto al perfil y concentración de compuestos volátiles que pueden hallarse en ajo sometido a diferentes tratamientos térmicos, especialmente en aquellos métodos que involucran calentamientos en aceites o bien en horno convencional, entre otros (Lawson, 1993, Yu y col., 1989, 1993, 1994, Kim y col., 1995, Cavagnaro y col., 2007). Además de los procesos de generación del flavor, la cocción mediante fritura y horneado implican pérdidas de compuestos volátiles responsables del sabor. Esto se cree depende del tipo, tiempo y temperatura implicados en los diferentes tratamientos térmicos. Yu y col., 1993, reportaron que la fritura causó las menores pérdidas de compuestos volátiles, aún menores a las observadas en muestras de ajo horneadas. Entre los compuestos mayoritarios se encontró a DADS, tanto en muestras fritas, cocidas en aceite como en cocidas en horno microondas. Su contenido en estas muestras estuvo entre el 29 al 40%. Los resultados hallados en este trabajo de tesis se encontraron en un rango de valores más amplio a lo anteriormente mencionado, ya que el contenido de DADS representó entre un 3 y 58% en los aceites fritos a 180°C. Cuando la temperatura de fritura fue de 220°C y 300°C, DADS representó el 9 y 100% en los aceites en los cuales fue detectado.

En cuanto a DATS, estos autores reportaron que el contenido del mismo fue muy bajo, alrededor del 4 al 7%, esto se encontró en discrepancia con lo hallado en los aceites saborizados con ajo sometidos a las condiciones de ensayo comprendidas en esta tesis ya que este organoazufrado representó en algunos aceites saborizados el 100%. Fue el único sulfuro detectado en los aceites sometidos a las tres temperaturas de fritura ensayadas.

Las diferencias en las concentraciones de sulfuros en los aceites saborizados con ajo sometidos a condiciones de fritura, evidencia cambios que se debe principalmente a la temperatura implicada en el proceso de calentamiento. En general, podemos destacar a partir de los resultados obtenidos que los sulfuros: DAS y DADS fueron los más inestables y volátiles, mientras que DATS fue más estable bajo las mismas condiciones, esto puede atribuirse a varios factores, tales como: punto de ebullición, punto de fusión y presión de vapor de cada compuesto. DATS presenta mayor punto de ebullición, punto de fusión y menor presión de vapor con respecto a los otros sulfuros haciéndolo más estables frente a las condiciones ensayadas. Un comportamiento similar de estos sulfuros volátiles ha sido reportado por Lawson, 1993. Este autor informo que la cocción de ajo machacado a temperatura de ebullición (aproximadamente 100°C) en un recipiente abierto durante 10 minutos retiene el 21% de los tiosulfatos y durante 20 minutos se retiene un 7% de los tiosulfatos, pero el 97% de los sulfuros se evapora.

Además de los sulfuros antes mencionados, se destacó la presencia de vinilditiinas y ajoeno. El contenido de ajoeno representó un aumento en las concentraciones con el aumento de la temperatura en un rango de 27 al 41%; 19 al 91% y 24 al 100% para las temperaturas de 180°C, 220°C y 300 °C, respectivamente. Para 2-VD, el contenido representó entre un 50 al 73% a las tres temperaturas de frituras ensayadas. Investigaciones realizadas anteriormente han señalado que estos compuestos organoazufrados son más estables que el correspondiente tiosulfinato a partir del cual se originan (es decir más estables que alicina), (Lawson y col., 1991; kamel y Saleh, 2000). Entre los aceites saborizados con ajo, solo C2, presentaba en su composición alicina. Cuando el mismo fue sometido a cocción mediante fritura, este tiosulfinato fue transformado a ajoeno. Esto fue evidenciado durante la fritura a la temperatura de 220°C, durante la cual la concentración de ajoeno se triplicó respecto de la concentración en el aceite sin freír. Sin embargo a una temperatura de fritura de 300°C la concentración tanto de ajoeno como vinilditiinas fue afectada significativamente.

La transformación de alicina a diferentes subproductos es influenciada por la polaridad del medio así como el tiempo de almacenamiento y la temperatura (Iberl y col., 1990). Estos factores son los responsables del perfil de productos de reacción como así también de las proporciones de ambos isómeros de ajoeno y vinilditiinas presentes (Yu y col., 1989). Ambos factores, esto es altas temperaturas y las condiciones no polares dadas por los aceites vegetales serían los responsables del contenido de ajoeno y vinilditiinas hallados, en los aceites saborizados mediante maceración (que tenían alicina) (Yu y col., 1993). Las variaciones asociadas a los diferentes métodos de saborización, constituyen también otra de las causas de las diferencias en la composición de los aceites (Iberl y col., 1990). Pero además, Hibi, 1997, advirtió que la composición de ácidos grasos del aceite y/o grasa es un factor importante que determina la cantidad y/o rendimiento de ajoeno a formarse u obtener. Propuso que el utilizar aceites que contienen triglicéridos de ácidos grasos de longitud de cadena media, permite alcanzar los más altos rendimientos en las concentraciones de ajoeno. Este efecto en conjunto con la acción de la temperatura, permitieron observar las concentraciones más altas de ajoeno en los aceites C2 y C4.

Otro aspecto importante a destacar es que aún a la temperatura más alta de fritura ensayada, los aceites saborizados con ajo contuvieron aún compuestos organoazufrados. Esto puede deberse a la estabilidad de los compuestos presentes (ajoeno y vinilditiinas) frente a la temperatura como así también a un efecto protector del medio o matriz (aceite). Conclusiones semejantes han sido alcanzadas luego de la cocción del ajo en leche entera en un recipiente abierto donde se observó que bajo estas condiciones se causó una rápida pérdida de alicina y otros tiosulfatos (sólo 0,5% se mantuvo después de 10 min), pero el 70% de los sulfuros formados fueron retenidos, incluso después de 40 min, presumiblemente debido a un efecto protector de la grasa de la leche (Lawson, 1993). También fue observado este comportamiento en dientes de ajo aplastados o picados fritos en aceite de soja caliente durante 1 minuto en un wok, donde se retuvo alrededor del 16% de los sulfuros en el aceite (Lawson, 1993; Verma y col., 2008).

### 3.5. CONCLUSIONES PARCIALES

- En función de los ensayos realizados para este capítulo fue posible evidenciar que la temperatura de fritura conduce significativamente a modificaciones cuali-cuantitativas en los aceites saborizados con ajo durante su empleo culinario.
- Estas modificaciones implicaron cambios en sus propiedades físico-químicas y sensoriales, como así también cambios en el perfil y concentración de compuestos organoazufrados presentes.
- Los test analíticos aplicados para evaluar el proceso oxidativo de los aceites saborizados permitieron evidenciar cierto deterioro de los aceites saborizados como consecuencia de su empleo culinario.
- Si bien la información obtenida a partir de la determinación de IP e IA son de utilidad para conocer el comportamiento de los aceites saborizados con ajo durante su empleo culinario, es necesario realizar otros estudios en los cuales se incluyan otras metodologías analíticas que permitan un análisis más certero del estado oxidativo de los aceites saborizados.
- En cuanto al color de los aceites saborizados fue posible evidenciar modificaciones en los parámetros determinados a partir del sistema CIELAB.
- Los cambios más significativos fueron observados en las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ . Estos implicaron variaciones en las tonalidades del color de los aceites que en algunos casos resultaron en coloraciones atípicas.
- Con respecto al parámetro luminosidad (L), los cambios advertidos dependieron tanto del aceite vegetal como de la temperatura de fritura. No obstante a 300°C la luminosidad de todos los aceites saborizados fue afectada negativamente.
- En lo que concierne al perfil de compuestos organoazufrados, se denotó una inestabilidad diferencial entre los sulfuros frente a la temperatura de fritura.
- Se advirtió la transformación a ciertos compuestos organoazufrados, efecto que dependió no solo de la temperatura de fritura sino también del aceite vegetal.
- Otro aspecto importante a destacar es que aún a la temperatura más alta de fritura, los aceites saborizados con ajo aún contuvieron compuestos organoazufrados que evidencian importantes propiedades benéficas para la salud. Esto puede deberse a que los compuestos presentes (ajoeno y vinilditiinas) poseen una gran estabilidad frente a la temperatura sumado a un posible efecto protector del medio o matriz (aceite).
- Se obtuvo información de gran utilidad ya que permite conocer el comportamiento de los compuestos organoazufrados frente a procesos culinarios y estimar como serán afectadas las propiedades biológicas que éstos potencialmente pudieran ejercer.



# **CAPÍTULO 4**

## **CONCLUSIONES GENERALES**

Del trabajo realizado en la presente tesis, se puede concluir:

- Se logró caracterizar aceites saborizados con ajo disponibles en el comercio local en cuanto a indicadores de calidad bromatológica, color, perfil y concentración de compuestos organoazufrados.
- La evaluación comparativa del perfil de compuestos organoazufrados presentes en aceites saborizados a escala de laboratorio versus los aceites comercializados permitió identificar la modalidad de saborización con la cual fueron preparados.
- El empleo culinario en la cocción mediante fritura de los aceites saborizados con ajo condujo a cambios en sus propiedades físico-químicas y sensoriales, como así también a modificaciones cuali- y cuantitativas del perfil de compuestos organoazufrados.

Se puede entonces concluir que los resultados obtenidos en esta tesis permitieron confirmar las hipótesis:

***“Indicadores de calidad bromatológica, el color y el perfil de compuestos organoazufrados permiten caracterizar y diferenciar aceites saborizados con ajo obtenidos mediante diferentes procedimientos de saborización”.***

***“Los indicadores de calidad bromatológica, el color y el perfil de compuestos organoazufrados de aceites saborizados con ajo sufren modificaciones cuali-cuantitativas durante su empleo como medio en la cocción mediante fritura”.***

Finalmente, dado que el Código Alimentario Argentino no establece parámetros de calidad para la comercialización de aceites saborizados y no reglamenta diferencias en función de los procesos de saborización, los resultados obtenidos por el presente trabajo pueden contribuir aportando información que permita la creación de una nueva reglamentación de este alimento.

# **CAPÍTULO 5**

## **BIBLIOGRAFÍA**

**BIBLIOGRAFÍA**

- ABDALLA, A.; ROOZEN, J. 1999. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chemistry*. Vol. 64, p. 323-329.
- ALADEDUNYE, F.; PRZYBYLSKI, R. 2009. Degradation and nutritional quality changes of oil during frying. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Vol. 86, n° 2, p. 149-156.
- ALI, M. 1995. Mechanism by which garlic (*Allium sativum*) inhibits cyclooxygenase activity. Effect of raw versus boiled garlic extract on the synthesis of prostanoids. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. Vol. 53, n° 6, p. 397-400.
- ALI, M.; BORDIA, T.; MUSTAFA, T. 1999. Effect of raw versus boiled aqueous extract of garlic and onion on platelet aggregation. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. Vol. 60, p. 43-47.
- ALI, M.; THOMSON, M.; AFZAL, M. 2000. Garlic and onions: their effect on eicosanoid metabolism and its clinical relevance. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. Vol. 62, n° 2, p. 55-73.
- ALVÍDREZ-MORALES, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, B.; JIMÉNEZ-SALAS, Z. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista Salud Pública y Nutrición*. Vol. 3, n° 3, p. 1-6.
- AMAGASE, H.; PETESCH, B.; MATSUURA, H.; KASUGA, S.; ITAKURA, Y. 2001. Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of Nutrition*, Vol. 131, p. 955-962.
- AMAGASE, H. 2006. Clarifying the Real Bioactive Constituents of Garlic. *The Journal of Nutrition*, Vol. 136, p. 716-725.
- AMORATI, R.; FOTI, M.; VALGIMIGLI, L. 2013. Antioxidant activity of essential oils. Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, p. A-L.
- ANTOUN, N.; TSIMIDOU, M. 1997. Gourmet olive oils: stability and consumer acceptability studies. *Food Research International*. Vol. 30, n° 2, p. 131-136.
- ARAYA, L.; LUTZ, R. 2003. Alimentos funcionales y saludables. *Revista Chilena de Nutrición*. Vol. 30, n° 1, p. 8-14.
- ARNAULT, I.; CHRISTIDES, J.; MANDON, N.; HAFFNER, T.; KAHANE, R.; AUGER, J. 2003. High-performance ion-pair chromatography method for simultaneous analysis of alliin, deoxyalliin, allicin and dipeptide precursors in garlic products using multiple mass spectrometry and UV detection. *Journal of Chromatography A*. Vol. 991, n°1, p. 69-75.
- ARNAULT, I.; HAFFNER, T.; SIESS, M.; VOLLMAR, A.; KAHANE, R.; AUGER, J. 2005. Analytical method for appreciation of garlic therapeutic potential and for validation of a new formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 37, p. 963-970.
- AVATO, P.; TURSI, F.; VITALI, C.; MICCOLIS, V.; CANDIDO, V. 2000. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. *Phytomedicine*. Vol.7, n° 3, p. 239-243.
- AYADI, M.; GRATI-KAMOUN, N.; ATTIA, H. 2009. Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavored by selected Tunisian aromatic plants. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 47, p. 2613-2619
- AYE, R. 1989. Garlic preparation and processing. *Cardiology in Racrice*. Vol. I, p. 4-5.
- BAIANO, A.; GAMBACORTA, G.; LA NOTTE, E. 2010. Aromatization of olive oil. *Transworld Research Network*. Vol. 661, p. 1-29.
- BDN Alimentación / Food Consulting <http://bdnhome.com>. 1993. Aceites de fritura. Alimentacion, equipos y tecnología. Abril y Mayo, p. 1-12.

- BENSMIRA, M.; JIANG, B.; NSABIMANA, C.; JIAN, T. 2007. Effect of lavender and thyme incorporation in sunflower seed oil on its resistance to frying temperatures. *Food Research International*. Vol. 40, p. 341-346.
- BENZIE, I. 1996. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement, and dietary influences. *International Journal of Food Science and Nutrition*. Vol. 46, p. 233.
- BLOCK, E. 1985. The chemistry of garlic and onion. *Scientific American*. Vol. 252, p. 114-119.
- BLOCK, E.; NAGANATHAN, S.; PUTMAN, D.; ZHAO, S. 1992. *Allium* Chemistry: HPLC analysis of thiosulfinates from onion, garlic, wild garlic (Ramsoms), leek, scallion, shallot, elephant (Great-Headed) garlic, chive, and chinese chive. Uniquely high allyl to methyl ratios in some garlic samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 40, nº 12, p. 2418-2430.
- BLOCK, E.; PUTMAN, D.; ZHAO, S. 1992. Allium chemistry: GC-MS analysis of thiosulfinates and related compounds from onion, leek, scallion, shallot, chive, and chinese chive. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 40, p. 2431-2438.
- BLOCK, E. 2010. *Garlic and other Alliums: The Lore and the Science*. Ed. Royal Society of Chemistry Publishing. Cambridge, UK. 454 p.
- BORDIA, A.; ARORA, S.; KOTHARI, L.; JAIN, K.; RATHORE, B.; RATHORE, A.; DUBE, M.; BHU, N. 1975. The protective action of essential oils of onion and garlic in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*. Vol. 22, nº 1, p. 103-109.
- BORDIA, A.; VERMA, S.; SRIVASTAVA, K. 1998. Effect of garlic (*Allium sativum*) on blood lipids, blood sugar, fibrinogen and fibrinolytic activity in patients with coronary artery disease. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. Vol. 58, nº 4, p. 257-263.
- BOSKOU, D.; BLEKAS, G.; TSIMIDOU, M. 2006. Olive Oil Composition. En *Olive Oil Chemistry and Technology*. Ed. AOCS Publishing, p. 41-76
- BREWSTER, J. 1994. Onions and other Vegetable *Alliums*. The Biochemistry and Food Science characterization and their determination by HPLC. *Planta Medica*. Vol. 56, p. 02-211.
- BRINKMANN, B. 2000. Quality criteria of industrial frying oils and fats. *European Journal of Lipid Science and Technology*. Vol. 102, p. 539-541.
- BURBA, J. 2006. Panorama sobre la producción y comercialización de ajo en la Argentina. En *Foro Nacional de Ajo*. Zacatecas-México. MX 20-22 de abril de 2006.
- CALVO-GÓMEZ, O.; MORALES-LOPEZ, J.; LÓPEZ, M. 2004. Solid-phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometric analysis of garlic oil obtained by hydrodistillation. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1036, p. 91-93.
- CAVAGNARO, P.; CAMARGO, A.; GALMARINI, C.; SIMON, P. 2007. Effect of cooking on garlic (*Allium sativum* L.) antiplatelet activity and thiosulfinates content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55, nº 4, p. 1280-1288.
- CHATZILAZAROU, A.; GORTZI, O.; LALAS, S.; ZOIDIS, E.; TSAKNIS, J. 2006. Physicochemical changes of olive oil and selected vegetables oil during frying. *Journal Foods of Lipids*. Vol. 13, p. 27-35.
- CHEFTEL, J.; CHEFTEL, H. 1992a. Los principales sistemas bioquímicos alimentarios comportamiento durante los tratamientos. En *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Ed. Zaragoza-Acribia. Cap 2, Vol. 1, p 215-235.
- CHEFTEL, J.; CHEFTEL, H. 1992b. Agentes y mecanismos de deterioración de los alimentos. En *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Ed. Zaragoza-Acribia. Cap 3, Vol. 1, p 265-289.
- CODONY, R.; GUARDIOLA, R.; BOU, R.; TRES, A. 2010. Valoración analítica y nutricional de las grasas. XXVI Curso de Especialización Fedna. Madrid. p 175-206.

- CORZO-MARTÍNEZ, M.; NIEVES, C.; VILLAMIEL, M. 2007. Biological properties of onions and garlic. *Trends in Food Science and Technology*. Vol. 18, p. 609-625.
- DANA, D.; SAGUY, S. 2001. Frying of nutritious foods: obstacles and feasibility. *Food Science Technology Research*. Vol. 7, nº 4, p. 265-279.
- DIMITRIOS, B. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 17, nº 9, p. 505-512.
- DZIEDZIC, S.; HUDSON, B. 1994. Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*. Vol. 14, p. 45-51.
- ERNST, E. 1987. Cardiovascular effects of garlic (*Allium sativum*): a review. *Pharmatherapeutica*. Vol. 5, p. 83-89.
- FERNANDEZ CEDI L.N.; ALVAREZ DE LA CADENA L.; YAÑEZ L.; SOSA MORALES M.E. 2010. Deterioro del aceite de soya y oleína de palma durante el freido de papas a la francesa. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Guanajato, p. OT341-OT3410.
- FENWICK, G.; HANLEY, A. 1985. The genus *Allium*. Part 2. Critical Review in Food Science and Nutrition. Vol. 22, p. 273-377.
- FOUSHEE, D.; RUFFM, J.; BANERJEE, U. 1982. Garlic as a natural agent for the treatment of hypertension: A preliminary report. *Cyrobios*. Vol. 34, p. 145-152.
- FRITSCH, C. 1981. Measurements of frying fats deterioration: a brief review. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Vol. 58, p. 272-274.
- GAMBACORTA, G.; FACCIA, M.; PATI, S.; LAMACCHIA, C.; BAIANO, A.; LA NOTTE, E. 2007. Changes in the chemical and sensorial profile of extra virgin olive oils flavored with herbs and spices during storage. *Journal of Food Lipids*. Vol. 14, p. 202-215.
- GÓMEZ GÓMEZ, N. 2008. Cinéticas de ácido pirúvico durante el proceso de secado constante y variable de ajo. Instituto Politécnico Nacional. Centro interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca. Juárez, México. p. 1- 93.
- GONZÁLEZ, R.; CAMARGO, A.; BURBA, J. 2007. Obtención de un estándar secundario de cuantificación para la síntesis y purificación de alicina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. Vol. 39, nº 2, p. 61-70.
- GONZÁLEZ, R. 2009. Caracterización del germoplasma argentino de ajo por su composición en compuestos organoazufrados y su relación con los potenciales efectos benéficos para la salud humana. Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias y Facultad de Ciencias Médicas. Mendoza, Argentina. 128p.
- GOUVEIA, A.; DUARTE, C.; COSTA, M.; BERNARDO-GIL, M.; MOLDÃO-MARTINS, M. 2006. Oxidative stability of olive oil flavored by *Capsicum frutescens* supercritical fluid extracts. *European Journal of Lipid Science and Technology*. Vol. 108, p. 421-428.
- GUNSTONE, F. 2002. Vegetables oils in food technology: composition, properties and uses. Blackwell Publishing, p 1-352.
- HARRIS, J.; COTTRELL, S.; PLUMMER, S.; LLOYD, D. 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 57, nº 3, p. 282-286.
- HELOU, L.; HARRIS, I. 2000. Garlic. En *Forensic Science and Medicine: Herbal Products: Toxicology and Clinical Pharmacology*, Ed. Tracy and Kingston Humana Press Inc., Totowa-NJ. Cap 8, p 123-149.
- HIBI, T. 1997. Method of processing garlic and preparing ajoene-containing edible oil products. U.S.Patent nº 5,612,077.18 de Marzo de 1997.
- IBERL, B.; GEORG, W.; KNOBLOCH, K. 1990. Products of allicin transformation: ajoene and dithiins, Characterization and their determination by HPLC. *Planta Medica*. Vol. 56, p. 202-211.

- ICIEK, M.; KWIECIEN, I.; WLODEK, L. 2009. Biological properties of garlic and garlic-derived organosulfur compounds. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. Vol. 50, nº 3, p. 247-265.
- IQBAL, S.; BHANGER, M. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*. Vol. 100, p. 246-254.
- JANSEN, H.; MÜLLER, B.; KNOBLOCH, K. 1987. Allicin characterization and its determination by HPLC. *Planta Medica*. Vol. 53, p. 559-562.
- JIMENEZ-PATIÑO, P. 2010. Efecto de la adición de extractos de hojas de olivo o palto en la estabilidad termooxidativa de aceites de diferente insaturación. Universidad de Chile. 119p.
- KAMEL, A.; SALEH, M. 2000. Recent studies on the chemistry and biological activity of the organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*). *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol. 23, p. 455-485.
- KIM, S.; WU, C.; KUBOTA, K.; KOBAYASHI, A. 1995. Effect of soybean oil on garlic volatile compounds isolated by distillation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 43, p. 449-452.
- KIM, S.; KUBOTA, K.; KOBAYASHI, A. 1997. Antioxidative activity of sulfur-containing flavor compounds in garlic. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. Vol. 61, p. 1482-1485.
- KIMBARIS, A.; SIATIS, N.; DAFERERA, D.; TARANTILIS, P.; PAPPAS, C.; POLISSIOU, M. 2006. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics Sono Chemistry*. Vol. 13, p 54-60
- KOCH, H.; JAGER, W. 1980. *Dtsch Apoth Ztg*. Vol. 130, p. 2469-2474
- LAMAS GOMES DA COSTA, H. 2012. Azeites aromatizados: Estudo da influência do agente aromatizante na composição química e resistência à oxidação. Instituto Politécnico de Bragança.
- LAMPI, A.; KATAJA, L.; KAMAL-ELDIN, A.; PIIRONEN, V. 1999. Antioxidant activities of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherols in the oxidation of rapeseed oil triacyloglycerols. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Vol. 76, nº4, p. 749-755.
- LANZOTTI, V. 2006. The Analysis of Onion and Garlic. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1112, p. 3-22.
- LAWSON, L.; WANG, Z.; HUGHES, B. 1991. Identification and HPLC quantitation of the sulfides and dialk(en)yl thiosulfinates in commercial garlic products. *Planta Medica*. Vol. 57, p 363-370.
- LAWSON, L.; HUGHES, B. 1992. Characterization of the formation of allicin and other thiosulfinates from garlic. *Planta Medica*. Vol. 58, nº 4, p. 345-350.
- LAWSON, L.; RANSOM, D.; HUGHES, B. 1992. Inhibition whole blood platelet aggregation by compounds in garlic clove extract and commercial garlic products. *Thrombosis Research*. Vol. 65, p. 141-156.
- LAWSON, L. 1993. Bioactive organosulfur compounds of garlic and garlic products: role in reducing blood lipids. En *Human Medicinal Agents from Plants*. Ed. American Chemical Society-Washington, D.C., cap. 21, p. 303-330.
- LAWSON, L. 1998. Garlic: Review of its medicinal effects and indicated active compounds. En *Phytomedicines*. Ed. American Chemical Society-Washington, D.C., cap. 14, p. 176-209.
- LEE, S.; KIM, N.; LEE, D. 2003. Comparative study of extraction techniques for determination of garlic flavor components by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Vol. 377, nº 4, p. 749-756.

- LERCKER, G.; CARRASCO PANCORBO, A. 2010. El proceso culinario de fritura y el uso de aceite de oliva en el mismo. El aceite de oliva virgen: tesoro de Andalucía. Ed. Fundación Unicaja, Malaga-España, cap 10, p. 289-323.
- LIBBY, P. 2001. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*. Vol. 104, p. 365-372.
- LOCATELLI, D.; ALTAMIRANO, J.; GONZÁLEZ, R.; BERTON, P.; CAMARGO, A. 2011. Desarrollo de una metodología analítica para la cuantificación de compuestos organoazufrados (OSCs) volátiles en ajo mediante cromatografía gaseosa (GC). En Actas del VI Congreso Argentino de Química Analítica, Santa Fe, Argentina. [cd-rom]
- LUCERO, A. 2012. Transformaciones de compuestos organoazufrados presentes en *Allium sp* sometidos a diversas condiciones experimentales. Desarrollo y validación de un método analítico para su determinación. Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza, Argentina. 105p.
- MACPHERSON, L.; GEIERSTANGER, B.; VISWANATH, V.; BANDELL, M.; EID, S.; HWANG, S.; PATAPOUTIAN, A. 2005. The pungency of garlic: activation of TRPA1 and TRPV1 in response to allicin. *Current Biology*. Vol. 15, n° 10, p. 929-934.
- MAGARIÑOS, C.; BAUZÁ, M. 2003. Determinación del color de aceites de oliva vírgenes (Mendoza -Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. Vol. 35, n° 2, p 71-76.
- MAKHEJA, A.; VANDERHOEK, J.; BAILEY, J. 1979. Inhibition of platelet aggregation and thromboxane synthesis by onion and garlic. *Lancet*, p. 1-781.
- MAKHEJA, A.; BAILEY, J. 1990. Antiplatelet constituents of garlic and onion. *Agents and Actions*. Vol. 29, p. 360-363.
- MANIAK, B.; SZMIGIELSKI, M.; PIEKARSKI, W.; MARKOWSKA, A. 2009. Physicochemical changes of post-frying sunflower oil. *International Agrophysics*. Vol. 23, p. 243-248.
- MARTIN-LAGOS, A.; OLEA SERRANO, M.; RUÍZ LOPEZ, M. 1995. Determination of organic sulphur compounds in garlic extracts by gas chromatography and mass spectrometry. *Food Chemistry*. Vol. 53, p. 91-93.
- MASKAN, M. 2003. Change in colour and rheological behaviour of sunflower seed oil during frying and after adsorbent treatment of used oil. *European Food Research and Technology*. Vol. 218, p. 20-25.
- MIETHING, H. 1988. HPLC-analysis of the volatile oil of garlic bulbs. *Phytotherapy Research*. Vol. 2, n° 3, p. 149-151.
- MILNER, J. 2000. Functional foods: the US perspective. *American Journal of Clinical Nutrition* Vol. 71, p. 1654S–1659S.
- MOYANO, M.; HEREDIA, F.; MELENDEZ-MARTINEZ, A. 2010. The color of olive oils: The pigments and their likely health benefits and visual and instrumental methods of analysis. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 9, p. 278-291.
- MUSTARD, J.; KINLOUGH, R.; PACKHAM, M. 1987. Platelet activation an overview. *Agents Actions Suppl*. Vol. 21, p. 23-36.
- NAGOURNEY, R. 1998. Garlic: medicinal food or nutritious medicine? *Journal of Medicinal Food*. Vol. 1, n° 1, p. 13–28.
- NAVAS SANCHEZ, J. 2005. Optimización y control de la calidad y estabilidad de aceites y productos de fritura. Universidad de Barcelona. España. 416p
- NAVAS, P.; CARRASQUERO-DURÁN, A.; FLORES, I. 2006. Effect of black tea garlic and onion on corn oil stability and fatty acid composition under accelerated oxidation. *International Journal of Food Science and Technology*. Vol. 41, p. 243-247.



NAVAS HERNANDEZ, P. 2010. Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Castilla La Mancha. Ciudad Real. España. 307p.

Official and Provisional Methods of Analysis (AOAC Methods). Protocols 965.33 y 969.17.

O'KENNEDY, N.; CROSBIE, L.; VAN LIESHOUT, M.; BROOM, J.; WEBB, D.; DUTTARROY, A. 2006. Effects of antiplatelet components of tomato extract on platelet function in vitro and ex vivo: a time-course cannulation study in healthy humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 84, n° 3, p. 570-579.

PATRAS, A.; BRUNTON, N.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 21, p. 3–11.

RABINOWITCH, H.; CURRAH, L. 2002. Sulfur compounds in *Alliums* in relation to flavor quality. En *Allium Crop Science: Recent advances*. Ed. Rabinowitch and Currah, CABI Publishing, New York. p. 357–379.

RAHMAN, K. 2003. Garlic and aging: new insights into an old remedy. *Ageing Research Reviews*. Vol. 2, p. 39-56.

ROJAS URIBE, E.; NARVAEZ RINCON, P. 2011. Método de análisis de calidad del aceite durante el freído por inmersión para pequeñas y medianas empresas. *Ingeniería e Investigación*. Vol. 31, n° 1, p. 83-92.

ROUSEFF, R. 2002. Analytical methods to determine volatile sulfur compounds in foods and beverages. American Chemical Society, p. 1-24.

SANCE, M.; GONZÁLEZ, R. BAUZÁ, M.; CAMARGO, A. 2013. Deshidratación de ajo para la elaboración de fitofármacos. En *100 Temas sobre Producción de Ajo*. Ed Camargo, Ediciones INTA, La Consulta. Mendoza, Argentina. Vol. 5., cap. 4, p. 164-169.

SÁNCHEZ-GIMENO, A.; NEGUERUELA, A.; BENITO, M.; VERCET, A.; ORIA, R. 2008. Some physical changes in Bajo Aragón extra virgin olive oil during the frying process. *Food Chemistry*. Vol. 110, p. 654-658.

SANCHEZ MORENO, C.; LARRAURI, J.; SAURA-CALIXTO, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juice and related polyphenolic constituents. *Food Research International*. Vol. 32, n° 6, p. 407- 412.

SÁNCHEZ-MUNIZ, F.; CUESTA, C.; GARRIDO-POLONIO, M. 1994. Evaluation of sunflower oil used for frying by different analytical indexes and column and gas chromatography. *Z Ernährungswiss*. Vol. 33, p. 16-23.

SCHEUERMANN E.; CEA M.; SCHOCH S.; OJEDA M.; IHL M. 2002. Estudio de la estabilidad de aceite comestible de girasol coloreado con pigmentos clorofílicos y con adición de oleoresina de orégano (*Origanum vulgare* L.) durante el almacenamiento en oscuridad. *Grasas y Aceites*. Vol. 53. n° 3, p. 289-297

SHARMA, G.; PRASAD, S. 2006. Optimization of process parameters for microwave drying of garlic cloves. *Journal of Food Engineering*. Vol. 75, n° 4, p. 441-446.

SILAGY, C.; NEIL, A. 1994. Garlic as a lipid lowering agent a meta-analysis. *J. R. Coll. Physicians Lond*. Vol. 28, p. 39–45.

SIMÓN, P.; JENDEREK, M. 2003. Flowering, seed production, and the genesis of garlic breeding. *Plant Breeding Review*. Vol. 23, p. 211-243.

SINGH, U.; PRITHIVIRAJ, B.; SARMA, B.; SINGH, M.; RAY, A. 2001. Role of garlic (*Allium sativum* L.) in human and plant diseases. *Indian Journal of Experimental Biology*. Vol. 39, n° 4, p 310-322.

- SINGH, V.; SINGH, D. 2008. Pharmacological effects of garlic (*Allium sativum* L.). ARBS Annual Review of Biomedical Science. Vol. 10, p. 6-26.
- SOTO VARGAS, V.; CAMARGO, A.; GONZÁLEZ, R.; GALMARINI, C. 2007. Síntesis y purificación de ajoeno y su cuantificación en aceites comerciales de ajo. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Vol. 39, n° 1, p 93-100.
- SRIVASTAVA, K.; TAYAGI, O. 1993. Effects of a garlic-derived principle (ajoene) on aggregation and arachidonic acid metabolism in human blood platelets. Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids. Vol. 49, p. 587-595.
- STEVENSON, S.; VAISEY-GENSER M.; ESKIN, N. 1984. Quality control in the use of deep frying oils. Journal of the American Oil Chemists Society. Vol. 61, n°6, p. 1102-1108.
- STICHER, O. 1991. Beurteilung von Knoblauchpräparaten. Dtsch Apoth Ztg. Vol. 131, p. 403-413.
- SULTANA, B.; ANWAR, F.; RAFIQUE ASI, M.; ALI SHAHID CHATHA, S. 2008. Antioxidant potential of extracts from different agro wastes: Stabilization of corn oil. Grasas y Aceites. Vol. 59, n° 3, p. 205-217.
- TAKEOKA, G.; FULL, G.; DAO, L. 1997. Effect of heating on the characteristics and chemical composition of selected frying oils and fats. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 45, n° 8, p. 3244-3249.
- TAN, Y.; ONG, S.; BERGER, K.; OON, H.; POH, B. 1985. A study of the cause of rapid color development of heated refined palm oil. Journal of the American Oil Chemists Society. Vol. 62, p. 999-1006.
- TAYASHREE, J.; GADKARI, V.; JOSHI VIJAAYA, D. 1991. Effect of ingestion of raw garlic on serum cholesterol levels, clotting time and fibrinolytic activity in normal subjects. Journal Postgraduate Medicine. Vol. 37, p. 128-131.
- TOTANI, N.; OHNO, C.; YAMAGUCHI, A. 2006. Is the frying oil in deep-fried foods safe? Journal of Oleo Science. Vol. 55, p. 449-456.
- TOULOUPAKIS, E.; GHANOTAKIS, D. 2010. Nutraceutical use of garlic sulfur containing compounds. En Bio-Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors. Ed. Springel, Italia, cap. 9, p. 110-121.
- TOUS MARTÍ, J.; ROMERO AROCA, A. 1992. Caracterización del color de los aceites de oliva vírgenes de cultivares catalanes. Revista Grasas y Aceites (Edición española). Vol. 43. n° 6, p. 347-351.
- TSAI, C.; CHEN, H.; SHEEN, L.; LII, C. 2012. Garlic: Health benefits and actions. Biomedicine. Vol. 2, p. 17- 29.
- TSUBOI, S.; KISHIMOTO, S.; OHMORI, S. 1989. S-(2-Carboxypropyl) glutathione in Vegetables of Liliiflorae. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 37, n° 3, p. 611-615.
- TYAGI, V.; VASISHTHA, A. 1996. Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying. Journal of the American Oil Chemists Society. Vol. 73(4), p. 499-506.
- VALENZUELA, A.; SANHUEZA, J.; NIETO, S.; PETERSEN, G.; TAVELLA, M. 2003. Estudio comparativo en fritura de la estabilidad de diferentes aceites vegetales. Aceites y Grasas Magazine. Vol. 53, n° 4, p. 568-573.
- VARELA, G. 1988. Current facts about the frying of food. En Frying of Food: Principles, Changes, New Approaches. Ed. Ellis Horwood, Chichester-UK, p. 9-25.
- VELAZQUEZ, J. 2009. Análisis del perfil de ácidos grasos, vitamina E y situación actual de rotulado nutricional en aceites vegetales de mayor comercialización en "pequeñas superficies"

- de Bogotá, Medellín y Barranquilla. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, p. 28-29.
- VELISEK, J.; KUBEC, R.; DAVIDEK, J. 1997. Chemical composition and classification of culinary and pharmaceutical garlic-based products. *Z Lebens unters Forsc A*. Vol. 204, nº 2, p. 161-164.
- VERMA, S.; JAIN, V.; VERMA, D. 2008. Garlic-“the spice of life”: composition, cooking, chemistry and preparations. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. Vol. 2, nº 2, p. 21-28.
- VOIGT, M.; WOLF, E. 1986. Garlic: HPLC determination of garlic components in extracts, powder, and pharmaceuticals. *Dtsch. Apoth. Ztg*. Vol. 126, p. 591-593.
- WANG, D.; WANG, L.; ZHU, J.; CHEM, X.; ZOU, L.; SAITO, M.; LI, L. 2008. *In vitro* and *in vivo* studies on the antioxidant activities of the aqueous extracts of Douchi (a traditional Chinese salt-fermented soybean food). *Food Chemistry*. Vol. 107, p. 1421-1428.
- WANG, J.; CAO, Y.; SUN, B.; WANG, C.; MO, Y. 2011. Effect of ultrasound on the activity of alinase from fresh garlic. *Ultrasonics Sonochemistry*. Vol. 18, p. 534-540.
- WINKLER, G.; LOHMULLER, E.; LANDSHUTER, J.; WEBER, W.; KNOBLOCH, K. 1992. *Dtsch Apoth Ztg*. Vol. 132, p. 2312-2317
- XIAO, H.; PARKIN, K. 2002. Antioxidant functions of selected *Allium* thiosulfinates and S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 50, p. 2488-2493.
- XU, X.; TRAN, V.; PALMER, M.; WHITE, K.; SALISBURY, P. 1999. Chemical and physical analyses and sensory evaluation of six deep-frying oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Vol. 76, nº9, p. 1091-1099.
- YAGHMUR, A.; ASERIN, A.; MIZRAHI, Y.; NERD, A.; GARTI, N. 2001. Evaluation of argan oil for deep-fat frying. *LWT-Food Science and Technology*. Vol. 34, nº 3, p. 124-130.
- YAN, X.; WANG, Z.; BARLOW, P. 1992. Quantitative estimation of garlic oil content in garlic oil based health products. *Food Chemistry*. Vol. 45, p 135-139.
- YIN, M.; HWANG, S.; CHAN, K. 2002. Nonenzymatic antioxidant activity of four organosulfur compounds derived from garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 50, nº 21, p. 6143-6147.
- YIN, M.; CHENG, W. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Science*. Vol. 63, p. 23-28.
- YU, T.; WU, C. 1989. Stability of allicin in garlic juice. *Journal of Food Science*. Vol. 54, nº 4, p 977-981
- YU T.; WU C.; LIOU Y. 1989. Volatile compounds from garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 37, nº 3, p 725-730.
- YU, T.; LIN, L.; HOC, T. 1993. Volatile compounds of deep-oil fried, microwave-heated, and oven-baked garlic slices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 41, p. 800-805.
- YU, T.; LIN, L.; HO, C. 1994. Volatile compounds of blanched, fried blanched, and baked blanched garlic slices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 42, p. 1342-1347.
- YUAN, G.; SUN, B.; YUAN, J.; WANG, Q. 2009. Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. *J. Zhejiang Univ Sci B*. Vol. 10, nº 8, p. 580-588.
- ZAMAN, A.; HELFT, G.; WORTHLEY, S.; BADIMON, J. 2000. The role of plaque rupture and thrombosis in coronary artery disease. *Atherosclerosis*. Vol. 149, nº 2, p. 251-266.

ZENG, T.; ZHANG, C.; ZHAO, X.; XIE, K. 2013. The roles of garlic on the lipids parameters: a systematic review of the literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol. 53, p. 215–230.

# **ANEXOS**

## ANEXOS

### **Capítulo 2:** Calidad bromatológica, color y perfil de compuestos biactivos de aceites saborizados con ajo.

#### **Análisis Estadístico para estado oxidativo: Índice de Peróxido**

##### **Aceite saborizados con ajo disponibles en el comercio local Sin freír**

###### **Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	15	0,92	0,88	14,73

###### **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	9,73	4	2,43	27,76	<0,0001
Aceites	9,73	4	2,43	27,76	<0,0001
Error	0,88	10	0,09		
Total	10,61	14			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,79564**

Error: 0,0877 gl: 10

Aceites	Medias	n	E.E.	
C3	0,69	3	0,17	A
C4	1,48	3	0,17	A
C5	2,45	3	0,17	B
C2	2,67	3	0,17	B
C1	2,78	3	0,17	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

#### **Análisis Estadístico para estado oxidativo: Índice de Acidez**

##### **Aceite saborizados con ajo disponibles en el comercio local Sin freír**

###### **TEST NO PARAMÉTRICO KRUSKAL WALLIS**

###### **Prueba de Kruskal Wallis**

Vble	Aceite	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
IA	C3	3	1,42	0,00	1,42	13,50	0,0080
IA	C1	3	0,36	0,01	0,36		
IA	C2	3	0,23	0,00	0,23		
IA	C4	3	0,54	0,00	0,54		
IA	C5	3	0,14	0,02	0,14		

Trat.	Ranks
C5	2,00 A
C2	5,00 A B
C1	8,00 A B C
C4	11,00 B C
C3	14,00 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

#### **Análisis Estadístico para Color**

##### **Aceite saborizados con ajo disponibles en el comercio local Sin freír**

###### ➤ **Parámetro L**

###### **TEST NO PARAMÉTRICO KRUSKAL WALLIS**

###### **Prueba de Kruskal Wallis**

Vble	Aceites	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
L	C3	3	29,50	0,15	29,53	13,03	0,0111
L	C1	3	34,09	0,24	34,22		
L	C2	3	35,64	0,22	35,56		
L	C4	3	30,22	0,93	29,88		
L	C5	3	26,56	0,29	26,63		

Trat.	Ranks
C5	2,00 A
C3	5,67 A B
C4	7,33 A B C
C1	11,00 B C
C2	14,00 C

➤ Parámetro a\***TEST NO PARAMÉTRICO KRUSKAL WALLIS****Prueba de Kruskal Wallis**

Vble	Aceite	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
a	C3	3	0,76	0,03	0,75	13,50	0,0090
a	C1	3	-0,87	0,08	-0,88		
a	C2	3	-0,48	0,03	-0,50		
a	C4	3	-1,45	0,12	-1,49		
a	C5	3	-1,11	0,03	-1,11		

Trat.	Ranks
C4	2,00 A
C5	5,00 A B
C1	8,00 A B C
C2	11,00 B C
C3	14,00 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

➤ Parámetro b\***Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
b	15	1,00	1,00	2,15

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	563,28	4	140,82	2100,13	<0,0001
Aceite	563,28	4	140,82	2100,13	<0,0001
Error	0,67	10	0,07		
Total	563,95	14			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,69583**

Error: 0,0671 gl: 10

Aceite	Medias	n	E.E.
C1	5,88	3	0,15 A
C2	7,10	3	0,15 B
C4	8,22	3	0,15 C
C3	19,40	3	0,15 D
C5	19,57	3	0,15 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Análisis Estadístico para el perfil de compuestos organoazufrados (OSCs)****Aceite saborizados con ajo disponibles en el comercio local Sin freír analizados mediante GC.**✓ **DAS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	1,29

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4,75	1	4,75	23763,00	<0,0001
Aceite	4,75	1	4,75	23763,00	<0,0001
Error	8,0E-04	4	2,0E-04		
Total	4,75	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03206**

Error: 0,0002 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.
C3	0,21	3	0,01 A
C4	1,99	3	0,01 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **DADS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	15	0,99	0,98	6,72

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	628,14	4	157,03	165,77	<0,0001
Aceite	628,14	4	157,03	165,77	<0,0001
Error	9,47	10	0,95		
Total	637,61	14			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,61537**

Error: 0,9473 gl: 10

Aceite	Medias	n	E.E.	
C1	5,27	3	0,56	A
C3	8,62	3	0,56	B
C2	16,65	3	0,56	C
C4	19,83	3	0,56	D
C5	22,02	3	0,56	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **2-Vinil-4H-1,3ditiina**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	0,99	8,41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	111269,95	1	111269,95	808,57	<0,0001
Aceite	111269,95	1	111269,95	808,57	<0,0001
Error	550,46	4	137,61		
Total	111820,41	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=26,59358**

Error: 137,6140 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5	3,38	3	6,77	A
C2	275,74	3	6,77	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **3-Vinil-4H-1,2ditiina**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,99	0,99	9,72

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12220,30	1	12220,30	478,33	<0,0001
Aceite	12220,30	1	12220,30	478,33	<0,0001
Error	102,19	4	25,55		
Total	12322,49	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=11,45842**

Error: 25,5481 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5	6,89	3	2,92	A
C2	97,15	3	2,92	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

**Aceite saborizados con ajo disponibles en el comercio local Sin freír analizados mediante HPLC.**

✓ **DAS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,99	0,99	10,76

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1476,25	3	492,08	279,17	<0,0001
Aceite	1476,25	3	492,08	279,17	<0,0001
Error	14,10	8	1,76		
Total	1490,35	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,47142**



Error: 1,7627 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.			
C5	0,37	3	0,77	A		
C1	4,22	3	0,77		B	
C2	16,03	3	0,77			C
C3	28,75	3	0,77			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **DADS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	15	0,89	0,85	15,58

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	579,79	4	144,95	21,30	0,0001
Aceite	579,79	4	144,95	21,30	0,0001
Error	68,04	10	6,80		
Total	647,83	14			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=7,00937**

Error: 6,8041 gl: 10

Aceite	Medias	n	E.E.			
C1	10,34	3	1,51	A		
C5	12,49	3	1,51	A	B	
C3	14,17	3	1,51	A	B	
C2	18,88	3	1,51		B	
C4	27,83	3	1,51			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **DATS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,98	0,98	6,34

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4472,20	3	1490,73	161,02	<0,0001
Aceite	4472,20	3	1490,73	161,02	<0,0001
Error	74,07	8	9,26		
Total	4546,26	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=7,95587**

Error: 9,2582 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.			
C1	28,57	3	1,76	A		
C3	28,88	3	1,76	A		
C5	66,58	3	1,76		B	
C2	68,07	3	1,76		B	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **Ajoeno**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	1,00	1,00	5,30

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1739,26	3	579,75	2473,55	<0,0001
Aceite	1739,26	3	579,75	2473,55	<0,0001
Error	1,88	8	0,23		
Total	1741,13	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,26586**

Error: 0,2344 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.		
C3	1,51	3	0,28	A	
C5	2,36	3	0,28	A	

C4	2,69	3	0,28	A
C2	29,97	3	0,28	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	4,22

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	26157,78	1	26157,78	1877,89	<0,0001
Aceite	26157,78	1	26157,78	1877,89	<0,0001
Error	55,72	4	13,93		
Total	26213,50	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,46079**

Error: 13,9294 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.
C5	22,45	3	2,15
C2	154,50	3	2,15

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

**Aceite saborizados con ajo disponibles en el comercio local Sin freír analizados mediante GC vs. HPLC.**

**“Aceite de ajo en girasol” (C1)**

✓ **DADS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,83	0,79	17,99

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	38,56	1	38,56	19,57	0,0115
Aceite	38,56	1	38,56	19,57	0,0115
Error	7,88	4	1,97		
Total	46,44	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,18195**

Error: 1,9701 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.
C1 (GC)	5,27	3	0,81
C1 (HPLC)	10,34	3	0,81

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

**“Aceite de girasol y ajo” (C2)**

✓ **DADS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,22	0,02	14,58

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7,48	1	7,48	1,12	0,3504
Aceite	7,48	1	7,48	1,12	0,3504
Error	26,82	4	6,70		
Total	34,30	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,86999**

Error: 6,7048 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.
C2 (GC)	16,65	3	1,49
C2 (HPLC)	18,88	3	1,49

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
----------	---	----------------	-------------------	----

Concentración 6 0,97 0,97 5,70

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	22048,71	1	22048,71	146,63	0,0003
Aceite	22048,71	1	22048,71	146,63	0,0003
Error	601,46	4	150,37		
Total	22650,17	5			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=27,79836

Error: 150,3653 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.
C2 (HPLC)	154,50	3	7,08 A
C2 (GC)	275,74	3	7,08 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

#### “Aderezo de canola y ajo” (C3)

✓ **DAS**

##### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,99	0,99	11,92

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1221,80	1	1221,80	410,44	<0,0001
Aceite	1221,80	1	1221,80	410,44	<0,0001
Error	11,91	4	2,98		
Total	1233,70	5			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,91129

Error: 2,9768 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.
C3 (GC)	0,21	3	1,00 A
C3 (HPLC)	28,75	3	1,00 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **DADS**

##### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	1,65

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	46,18	1	46,18	1307,02	<0,0001
Aceite	46,18	1	46,18	1307,02	<0,0001
Error	0,14	4	0,04		
Total	46,32	5			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,42610

Error: 0,0353 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.
C3 (GC)	8,62	3	0,11 A
C3 (HPLC)	14,17	3	0,11 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

#### “Aceite de oliva al ajo” (C4)

✓ **DADS**

##### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,81	0,76	10,04

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	96,12	1	96,12	16,79	0,0149
Aceite	96,12	1	96,12	16,79	0,0149
Error	22,90	4	5,73		
Total	119,02	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,42455**

Error: 5,7258 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C4 (GC)	19,83	3	1,38	A
C4 (HPLC)	27,83	3	1,38	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )**“Aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito” (C5)**✓ **DADS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,87	0,84	12,88

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	136,23	1	136,23	27,56	0,0063
Aceite	136,23	1	136,23	27,56	0,0063
Error	19,77	4	4,94		
Total	156,00	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,03984**

Error: 4,9425 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 (HPLC)	12,49	3	1,28	A
C5 (GC)	22,02	3	1,28	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,99	0,99	8,41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	545,21	1	545,21	462,78	<0,0001
Aceite	545,21	1	545,21	462,78	<0,0001
Error	4,71	4	1,18		
Total	549,92	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,46059**

Error: 1,1781 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 (GC)	3,38	3	0,63	A
C5 (HPLC)	22,45	3	0,63	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )**Aceites de ajo destilado en aceites vegetales obtenidos a escala de laboratorio (LDA)**✓ **DADS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	1,00	1,00	1,01

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	231,63	2	115,81	1683,33	<0,0001
Aceite	231,63	2	115,81	1683,33	<0,0001
Error	0,41	6	0,07		
Total	232,04	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,65712**

Error: 0,0688 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
AC + 200 GOB	19,46	3	0,15	A
AG + 200 GOB	26,67	3	0,15	B
AO + 200 GOB	31,83	3	0,15	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

✓ **DATS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	0,98	0,97	2,09

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1506,77	2	753,38	148,13	<0,0001
Aceite	1506,77	2	753,38	148,13	<0,0001
Error	30,52	6	5,09		
Total	1537,28	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,64987**

Error: 5,0860 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
AC + 200 GOB	89,61	3	1,30	A
AO + 200 GOB	116,98	3	1,30	B
AG + 200 GOB	117,14	3	1,30	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )**Análisis Multivariado**

Análisis propio de la matriz de correlación

Valor propio	2,6461	1,3619	1,3265	0,5181	0,1174	0,03
Proporción	0,441	0,227	0,221	0,086	0,02	0,005
Acumulativo	0,441	<b>0,668</b>	0,889	0,975	0,995	1,00

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
DAS_1	0,022	0,589	0,523	0,556	-0,153	0,217
DADS_1	-0,043	-0,634	0,545	0,232	0,473	0,15
DATS_1	-0,526	0,396	-0,004	-0,065	0,642	-0,389
Ajoeno_1	-0,394	-0,068	0,571	-0,486	-0,471	-0,237
2-vinil-4H-1,3 ditiina 1	-0,592	-0,001	-0,195	-0,102	-0,026	0,775
3-vinil-4H-1,2 ditiina 1	-0,464	-0,302	-0,257	0,622	-0,345	-0,349

**Ajo macerado en aceites vegetales obtenidos a escala de laboratorio (LM)**✓ **DAS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,99	0,98	7,17

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1346,85	1	1346,85	263,22	0,0001
Aceite	1346,85	1	1346,85	263,22	0,0001
Error	20,47	4	5,12		
Total	1367,32	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,12797**

Error: 5,1168 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
LGM	16,57	3	1,31	A
LOM	46,53	3	1,31	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **DADS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	1,00	1,00	2,16

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4856,65	2	2428,32	1966,93	<0,0001
Aceite	4856,65	2	2428,32	1966,93	<0,0001
Error	7,41	6	1,23		
Total	4864,05	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,78361**

Error: 1,2346 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
LGM	25,79	3	0,64	A
LCM	46,24	3	0,64	B
LOM	82,00	3	0,64	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **Alicina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,60	0,50	43,18

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10,53	1	10,53	5,98	0,0709
Aceite	10,53	1	10,53	5,98	0,0709
Error	7,05	4	1,76		
Total	17,59	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,00995**

Error: 1,7629 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
LGM	1,75	3	0,77	A
LCM	4,40	3	0,77	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **Ajoeno****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	0,97	0,96	19,05

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	558,10	2	279,05	98,02	<0,0001
Aceite	558,10	2	279,05	98,02	<0,0001
Error	17,08	6	2,85		
Total	575,18	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,22696**

Error: 2,8468 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
LGM	0,90	3	0,97	A
LCM	6,09	3	0,97	B
LOM	19,58	3	0,97	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	1,00	0,99	7,11

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	24099,96	2	12049,98	685,34	<0,0001
Aceite	24099,96	2	12049,98	685,34	<0,0001
Error	105,49	6	17,58		
Total	24205,45	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,50483**

Error: 17,5825 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
LGM	10,56	3	2,42	A
LOM	35,76	3	2,42	B
LCM	130,74	3	2,42	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )**Aceite saborizados con ajo disponibles en el comercio local Sin freír + Aceites con ajo obtenidos a escala laboratorio Sin freír.****Aceite de girasol**✓ **DAS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,94	0,91	12,75

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	355,37	3	118,46	39,40	<0,0001
Aceite	355,37	3	118,46	39,40	<0,0001
Error	24,05	8	3,01		
Total	379,42	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,53384**

Error: 3,0067 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C1	4,22	3	1,00	A
C2	16,03	3	1,00	B
LGM	16,57	3	1,00	B
LGDA	17,58	3	1,00	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )✓ **DADS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,95	0,93	9,41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	515,83	3	171,94	46,55	<0,0001
Aceite	515,83	3	171,94	46,55	<0,0001
Error	29,55	8	3,69		
Total	545,39	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,02551**

Error: 3,6941 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C1	10,34	3	1,11	A
C2	18,88	3	1,11	B
LGM	25,79	3	1,11	C
LGDA	26,67	3	1,11	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )✓ **DATS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	0,99	0,99	5,24

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11811,48	2	5905,74	423,47	<0,0001
Aceite	11811,48	2	5905,74	423,47	<0,0001
Error	83,68	6	13,95		
Total	11895,16	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,35564**

Error: 13,9460 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
C1	28,57	3	2,16	A
C2	68,07	3	2,16	B
LGDA	117,14	3	2,16	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **Alicina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	5,15

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	236,63	1	236,63	1381,78	<0,0001
Aceite	236,63	1	236,63	1381,78	<0,0001
Error	0,69	4	0,17		
Total	237,32	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,93812**

Error: 0,1713 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
AG + AFP	1,75	3	0,24	A
C2	14,31	3	0,24	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )✓ **Ajoeno****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	3,94

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1268,03	1	1268,03	3427,93	<0,0001
Aceite	1268,03	1	1268,03	3427,93	<0,0001
Error	1,48	4	0,37		
Total	1269,51	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,37878**

Error: 0,3699 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
LGM	0,90	3	0,35	A
C2	29,97	3	0,35	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	4,33

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	31080,24	1	31080,24	2437,41	<0,0001
Aceite	31080,24	1	31080,24	2437,41	<0,0001
Error	51,01	4	12,75		
Total	31131,25	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,09513**

Error: 12,7514 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
LGM	10,56	3	2,06	A
C2	154,50	3	2,06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )**Aceite de canola**✓ **DADS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	1,00	1,00	2,28



**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1773,62	2	886,81	2409,68	<0,0001
Aceite	1773,62	2	886,81	2409,68	<0,0001
Error	2,21	6	0,37		
Total	1775,83	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,51979**

Error: 0,3680 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3	14,17	3	0,35	A
LCDA	19,46	3	0,35	B
LCM	46,24	3	0,35	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )✓ **DATS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	2,70

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5532,20	1	5532,20	2158,91	<0,0001
Aceite	5532,20	1	5532,20	2158,91	<0,0001
Error	10,25	4	2,56		
Total	5542,45	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,62892**

Error: 2,5625 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3	28,88	3	0,92	A
LCDA	89,61	3	0,92	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )✓ **Ajoeno****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,82	0,78	34,21

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	31,53	1	31,53	18,68	0,0124
Aceite	31,53	1	31,53	18,68	0,0124
Error	6,75	4	1,69		
Total	38,29	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,94546**

Error: 1,6882 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3	1,51	3	0,75	A
LCM	6,09	3	0,75	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )**Aceite de oliva**✓ **DAS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	1,13

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3196,12	1	3196,12	45270,80	<0,0001
Aceite	3196,12	1	3196,12	45270,80	<0,0001
Error	0,28	4	0,07		
Total	3196,40	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,60235**

Error: 0,0706 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5	0,37	3	0,15	A
LOM	46,53	3	0,15	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **DADS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,99	0,99	6,09

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8181,31	3	2727,10	494,71	<0,0001
Aceite	8181,31	3	2727,10	494,71	<0,0001
Error	44,10	8	5,51		
Total	8225,41	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,13902**

Error: 5,5125 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5	12,49	3	1,36	A
C4	27,83	3	1,36	B
LODA	31,83	3	1,36	B
LOM	82,00	3	1,36	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **DATS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	1,78

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3811,00	1	3811,00	1430,55	<0,0001
Aceite	3811,00	1	3811,00	1430,55	<0,0001
Error	10,66	4	2,66		
Total	3821,65	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,70010**

Error: 2,6640 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5	66,58	3	0,94	A
AO + 200 GOB	116,98	3	0,94	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **Ajoeno**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	0,98	0,98	16,28

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	581,91	2	290,95	162,79	<0,0001
Aceite	581,91	2	290,95	162,79	<0,0001
Error	10,72	6	1,79		
Total	592,63	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,34922**

Error: 1,7873 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5	2,36	3	0,77	A
C4	2,69	3	0,77	A
LOM	19,58	3	0,77	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,98	0,98	3,82

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	265,80	1	265,80	215,36	0,0001
Aceite	265,80	1	265,80	215,36	0,0001
Error	4,94	4	1,23		
Total	270,74	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,51851**

Error: 1,2342 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5	22,45	3	0,64	A
LOM	35,76	3	0,64	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

**Capítulo 3:** Modificaciones cuali-cuantitativas en la calidad bromatológica, color y perfil de compuestos bioactivos de aceites saborizados con ajo durante su empleo culinario.

**Análisis Estadístico para estado oxidativo: Índice de Peróxido (IP)**• **“Aceite de ajo en girasol” (C1) sometido a diferentes condiciones de fritura****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	12	0,99	0,99	5,90

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	25,26	3	8,42	417,09	<0,0001
Aceite	25,26	3	8,42	417,09	<0,0001
Error	0,16	8	0,02		
Total	25,42	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,37151**

Error: 0,0202 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C1 - 300	1,00	3	0,08	A
C1 - 220	1,23	3	0,08	A
C1 - 0	2,78	3	0,08	B
C1 - 180	4,63	3	0,08	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

• **“Aceite de girasol y ajo” (C2) sometido a diferentes condiciones de fritura****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	12	0,98	0,97	5,95

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	36,99	3	12,33	132,17	<0,0001
Aceite	36,99	3	12,33	132,17	<0,0001
Error	0,75	8	0,09		
Total	37,74	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,79864**

Error: 0,0933 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C2 - 0	2,67	3	0,18	A
C2 - 220	4,61	3	0,18	B
C2 - 300	5,76	3	0,18	C
C2 - 180	7,50	3	0,18	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

• **“Aderezo de canola y ajo” (C3) sometido a diferentes condiciones de fritura**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	12	1,00	0,99	3,92

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	24,52	3	8,17	585,13	<0,0001
Aceite	24,52	3	8,17	585,13	<0,0001
Error	0,11	8	0,01		
Total	24,63	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,30903

Error: 0,0140 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 0	0,69	3	0,07	A
C3 - 220	3,23	3	0,07	B
C3 - 300	3,58	3	0,07	C
C3 - 180	4,56	3	0,07	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

• **“Aceite de oliva al ajo” (C4) sometido a diferentes condiciones de fritura**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	12	0,98	0,97	10,88

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	154,77	3	51,59	124,05	<0,0001
Aceite	154,77	3	51,59	124,05	<0,0001
Error	3,33	8	0,42		
Total	158,10	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,68623

Error: 0,4159 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C4 - 0	1,48	3	0,37	A
C4 - 300	4,22	3	0,37	B
C4 - 220	6,79	3	0,37	C
C4 - 180	11,23	3	0,37	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

• **“Aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito” (C5) sometido a diferentes condiciones de fritura**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	12	0,99	0,98	3,35

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5,52	3	1,84	221,80	<0,0001
Aceite	5,52	3	1,84	221,80	<0,0001
Error	0,07	8	0,01		
Total	5,59	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,23821

Error: 0,0083 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 - 300	2,13	3	0,05	A
C5 - 220	2,44	3	0,05	B
C5 - 0	2,45	3	0,05	B
C5 - 180	3,88	3	0,05	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

**Análisis Estadístico para estado oxidativo: Índice de Acidez (IA)**

• **“Aceite de ajo en qirasol” (C1) sometido a diferentes condiciones de fritura**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IA (% ac. oleico)	12	0,98	0,98	3,39

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,04	3	0,01	155,92	<0,0001
Aceite	0,04	3	0,01	155,92	<0,0001
Error	6,5E-04	8	8,1E-05		
Total	0,04	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02357**

Error: 0,0001 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C1 - 220	0,22	3	0,01	A
C1 - 300	0,23	3	0,01	A
C1 - 180	0,26	3	0,01	B
C1 - 0	0,36	3	0,01	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

- **“Aceite de girasol y ajo” (C2) sometido a diferentes condiciones de fritura**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IA (% ac. oleico)	12	0,95	0,93	5,08

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,03	3	0,01	47,56	<0,0001
Aceite	0,03	3	0,01	47,56	<0,0001
Error	1,8E-03	8	2,3E-04		
Total	0,03	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03922**

Error: 0,0002 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C2 - 0	0,23	3	0,01	A
C2 - 180	0,27	3	0,01	B
C2 - 220	0,31	3	0,01	C
C2 - 300	0,37	3	0,01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

- **“Aderezo de canola y ajo” (C3) sometido a diferentes condiciones de fritura**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IA (% ac. oleico)	12	1,00	1,00	1,67

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,68	3	0,56	1568,61	<0,0001
Aceite	1,68	3	0,56	1568,61	<0,0001
Error	2,8E-03	8	3,6E-04		
Total	1,68	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04935**

Error: 0,0004 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 300	0,49	3	0,01	A
C3 - 220	1,28	3	0,01	B
C3 - 180	1,34	3	0,01	C
C3 - 0	1,42	3	0,01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

- **“Aceite de oliva al ajo” (C4) sometido a diferentes condiciones de fritura**

**TEST NO PARAMÉTRICO KRUSKAL WALLIS****Prueba de Kruskal Wallis**

Vble	Aceite	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p-valor
IA	C4 - 0	3	0,54	0,00	0,54	1	0,0126
IA	C4 - 180	3	0,70	0,00	0,70		
IA	C4 - 220	3	0,64	0,00	0,64		
IA	C4 - 300	3	0,39	0,03	0,39		

Trat.	Ranks
C4 - 300	2,00 A
C4 - 0	5,00 A B
C4 - 2208,00	B C
C4 - 180	11,00 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )

- **“Aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito” (C5) sometido a diferentes condiciones de fritura**

#### TEST NO PARAMÉTRICO KRUSKAL WALLIS

##### Prueba de Kruskal Wallis

Vble	Aceite	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
IA	C5 - 0	3	0,14	0,02	0,14	7,62	0,0388
IA	C5 - 180	3	0,14	0,02	0,14		
IA	C5 - 220	3	0,15	0,00	0,15		
IA	C5 - 300	3	0,24	0,00	0,24		

Trat.	Ranks
C5 - 180	4,00 A
C5 - 0	4,00 A
C5 - 220	7,00 A B
C5 - 300	11,00 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ )

#### Análisis Estadístico para Color

- **“Aceite de ajo en girasol” (C1) sometido a diferentes condiciones de fritura**

##### ➤ Parámetro L

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
L	12	0,98	0,97	1,48

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	76,69	3	25,56	130,52	<0,0001
Aceite	76,69	3	25,56	130,52	<0,0001
Error	1,57	8	0,20		
Total	78,26	11			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,15721

Error: 0,1959 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.
C1 - 300	27,15	3	0,26 A
C1 - 180	29,38	3	0,26 B
C1 - 220	29,39	3	0,26 B
C1 - 0	34,09	3	0,26 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

##### ➤ Parámetro a\*

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
a	12	0,99	0,99	10,66

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5,61	3	1,87	470,19	<0,0001
Aceite	5,61	3	1,87	470,19	<0,0001
Error	0,03	8	4,0E-03		
Total	5,64	11			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16485

Error: 0,0040 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.
C2 - 220	-1,11	3	0,04 A
C2 - 180	-0,97	3	0,04 A B
C2 - 0	-0,87	3	0,04 B
C2 - 300	0,58	3	0,04 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

##### ➤ Parámetro b\*

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
b	12	0,99	0,98	3,14

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	57,66	3	19,22	211,32	<0,0001
Aceite	57,66	3	19,22	211,32	<0,0001
Error	0,73	8	0,09		
Total	58,39	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,78854**

Error: 0,0910 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C1 - 0	5,88	3	0,17	A
C1 - 220	10,42	3	0,17	B
C1 - 300	10,49	3	0,17	B
C1 - 180	11,57	3	0,17	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

- **“Aceite de girasol y ajo” (C2) sometido a diferentes condiciones de fritura**

➤ **Parámetro L****TEST NO PARAMÉTRICO KRUSKAL WALLIS****Prueba de Kruskal Wallis**

Vble	Aceite	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
L	C2 - 0	3	35,64	0,22	35,56	9,46	0,0237
L	C2 - 180	3	27,90	1,50	27,26		
L	C2 - 220	3	28,79	0,61	28,80		
L	C2 - 300	3	26,19	0,29	26,30		

Trat.	Ranks
C2 - 300	2,00 A
C2 - 180	6,00 A B
C2 - 220	7,00 A B
C2 - 0	11,00 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )➤ **Parámetro a\*****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
a	12	1,00	1,00	26,52

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,66	3	0,89	1743,63	<0,0001
Aceite	2,66	3	0,89	1743,63	<0,0001
Error	4,1E-03	8	5,1E-04		
Total	2,66	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05895**

Error: 0,0005 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C2 - 0	-0,48	3	0,01	A
C2 - 180	-0,16	3	0,01	B
C2 - 220	0,20	3	0,01	C
C2 - 300	0,78	3	0,01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )➤ **Parámetro b\*****TEST NO PARAMÉTRICO KRUSKAL WALLIS****Prueba de Kruskal Wallis**

Vble	Aceite	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
b	C2 - 0	3	7,10	0,08	7,09	9,46	0,0237
b	C2 - 180	3	11,62	1,12	12,00		
b	C2 - 220	3	11,11	0,48	11,07		
b	C2 - 300	3	13,81	0,33	13,74		

Trat.	Ranks
C2 - 0	2,00 A
C2 - 220	6,00 A B
C2 - 180	7,00 A B
C2 - 300	11,00 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

• **“Aderezo de canola y ajo” (C3) sometido a diferentes condiciones de fritura**

➤ **Parámetro L**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
L	12	1,00	1,00	0,35

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	27,87	3	9,29	910,84	<0,0001
Aceite	27,87	3	9,29	910,84	<0,0001
Error	0,08	8	0,01		
Total	27,95	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,26407**

Error: 0,0102 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 300	25,93	3	0,06	A
C3 - 180	29,33	3	0,06	B
C3 - 0	29,50	3	0,06	B
C3 - 220	29,51	3	0,06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

➤ **Parámetro a\***

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
a	12	1,00	1,00	79,06

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16,76	3	5,59	22352,80	<0,0001
Aceite	16,76	3	5,59	22352,80	<0,0001
Error	2,0E-03	8	2,5E-04		
Total	16,77	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04134**

Error: 0,0003 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 220	-1,65	3	0,01	A
C3 - 180	-0,46	3	0,01	B
C3 - 0	0,76	3	0,01	C
C3 - 300	1,44	3	0,01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

➤ **Parámetro b\***

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
b	12	1,00	1,00	0,90

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	139,67	3	46,56	2132,44	<0,0001
Aceite	139,67	3	46,56	2132,44	<0,0001
Error	0,17	8	0,02		
Total	139,85	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,38635**

Error: 0,0218 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 300	11,41	3	0,09	A
C3 - 220	14,88	3	0,09	B
C3 - 0	19,40	3	0,09	C
C3 - 180	19,63	3	0,09	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )



• **“Aceite de oliva al ajo” (C4) sometido a diferentes condiciones de fritura**

➤ **Parámetro L**

**Análisis de la varianza**

**LN L**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
LN L	12	0,99	0,99	0,70

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,40	3	0,13	283,68	<0,0001
Aceite	0,40	3	0,13	283,68	<0,0001
Error	3,8E-03	8	4,7E-04		
Total	0,41	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05699**

Error: 0,0005 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C4 - 300	2,92	3	0,01	A
C4 - 220	3,03	3	0,01	B
C4 - 180	3,04	3	0,01	B
C4 - 0	3,41	3	0,01	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

➤ **Parámetro a\***

**TEST NO PARAMÉTRICO KRUSKAL WALLIS**

**Prueba de Kruskal Wallis**

Vble	Aceite	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
a	C4 - 0	3	-1,45	0,12	-1,49	10,38	0,0153
a	C4 - 180	3	0,81	0,02	0,81		
a	C4 - 220	3	2,94	0,03	2,93		
a	C4 - 300	3	2,68	0,02	2,67		

Trat.	Ranks	
C4 - 0	2,00	A
C4 - 180	5,00	A B
C4 - 300	8,00	B C
C4 - 220	11,00	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

➤ **Parámetro b\***

**LN\_b**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
LN_b	12	1,00	1,00	1,62

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,80	3	0,93	1001,52	<0,0001
Aceite	2,80	3	0,93	1001,52	<0,0001
Error	0,01	8	9,3E-04		
Total	2,81	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07988**

Error: 0,0009 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C4 - 300	1,19	3	0,02	A
C4 - 220	1,77	3	0,02	B
C4 - 0	2,11	3	0,02	C
C4 - 180	2,51	3	0,02	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

• **“Aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito” (C5) sometido a diferentes condiciones de fritura**

➤ **Parámetro L**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
L	12	0,99	0,99	1,12

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	75,72	3	25,24	354,43	<0,0001

Aceite	75,72	3	25,24	354,43	<0,0001
Error	0,57	8	0,07		
Total	76,29	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,69777**

Error: 0,0712 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.		
C5 - 300	20,24	3	0,15	A	
C5 - 220	22,60	3	0,15		B
C5 - 180	25,68	3	0,15		C
C5 - 0	26,56	3	0,15		D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

➤ **Parámetro a\***

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
a	12	1,00	1,00	3,34

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	44,69	3	14,90	3203,87	<0,0001
Aceite	44,69	3	14,90	3203,87	<0,0001
Error	0,04	8	4,7E-03		
Total	44,73	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,17830**

Error: 0,0047 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.		
C5 - 0	-1,11	3	0,04	A	
C5 - 180	2,25	3	0,04		B
C5 - 220	2,96	3	0,04		C
C5 - 300	4,07	3	0,04		D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

➤ **Parámetro b\***

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
b	12	1,00	1,00	1,98

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	179,26	3	59,75	910,54	<0,0001
Aceite	179,26	3	59,75	910,54	<0,0001
Error	0,52	8	0,07		
Total	179,79	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,66982**

Error: 0,0656 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.		
C5 - 300	9,83	3	0,15	A	
C5 - 220	11,17	3	0,15		B
C5 - 180	11,20	3	0,15		B
C5 - 0	19,57	3	0,15		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla:** Coordenadas de color para aceites saborizados con ajo sometidos a fritura.

Aceites saborizados con ajo	Coordenadas		
	L	a	b
	180 °C		
C1	29,38 ± 0,53b	-0,97 ± 0,09a,b	11,57 ± 0,40c
C2	27,90 ± 1,50a,b	-0,16 ± 0,01b	11,62 ± 1,12a,b
C3	29,33 ± 0,07b	-0,44 ± 0,03b	19,63 ± 0,12c
C4	20,86 ± 0,32b	0,81 ± 0,02a,b	12,26 ± 0,32d
C5	25,68 ± 0,41c	2,25 ± 0,09b	11,20 ± 0,35b
	220 °C		
C1	29,39 ± 0,49b	-1,11 ± 0,03a	10,42 ± 0,31b
C2	28,79 ± 0,61a,b	0,20 ± 0,02c	11,11 ± 0,48a,b
C3	29,51 ± 0,06b	-1,65 ± 0,01a	14,88 ± 0,11b
C4	20,73 ± 0,14b	2,94 ± 0,03c	5,85 ± 0,08b
C5	22,60 ± 0,09b	2,96 ± 0,08c	11,17 ± 0,09b
	300 °C		
C1	27,15 ± 0,45a	0,58 ± 0,03c	10,49 ± 0,33b
C2	26,19 ± 0,29a	0,78 ± 0,03d	13,81 ± 0,33b
C3	25,93 ± 0,10a	1,44 ± 0,01d	11,41 ± 0,09a
C4	18,61 ± 0,49a	2,68 ± 0,02b,c	3,28 ± 0,09a
C5	20,24 ± 0,15a	4,07 ± 0,06d	9,83 ± 0,07a

### **Análisis Estadístico para el perfil de compuestos organoazufrados (OSCs) sometidos a diferentes condiciones de fritura**

#### **"Aceite de ajo en girasol" (C1) diferentes condiciones de fritura analizados mediante HPLC.**

✓ **DATS**

#### **Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,90	0,86	18,56

#### **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	666,39	3	222,13	23,54	0,0003
Aceite	666,39	3	222,13	23,54	0,0003
Error	75,50	8	9,44		
Total	741,88	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,03243**

Error: 9,4373 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C1 - 180	9,90	3	1,77	A
C1 - 220	10,79	3	1,77	A
C1 - 300	16,96	3	1,77	A
C1 - 0	28,57	3	1,77	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

#### **"Aceite de girasol y ajo" (C2) diferentes condiciones de fritura analizados mediante HPLC.**

✓ **Ajoeno**

#### **Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,99	0,99	9,53

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	9986,04	3	3328,68	283,19	<0,0001
Aceite	9986,04	3	3328,68	283,19	<0,0001
Error	94,03	8	11,75		
Total	10080,07	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,96439**

Error: 11,7542 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C2 - 180	10,65	3	1,98	A
C2 - 300	18,73	3	1,98	A
C2 - 0	29,97	3	1,98	B
C2 - 220	84,49	3	1,98	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **2-Vinil-4H-1,3ditiina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración12		0,92	0,90	21,22

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	51226,21	3	17075,40	32,66	0,0001
Aceite	51226,21	3	17075,40	32,66	0,0001
Error	4182,32	8	522,79		
Total	55408,53	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=59,78429**

Error: 522,7900 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C2 - 180	36,10	3	13,20	A
C2 - 300	51,43	3	13,20	A
C2 - 0	154,50	3	13,20	B
C2 - 220	188,89	3	13,20	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )**“Aderezo de canola y ajo” (C3) diferentes condiciones de fritura analizados mediante HPLC.**✓ **DAS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,10	0,00	16,28

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8,52	1	8,52	0,42	0,5507
Aceite	8,52	1	8,52	0,42	0,5507
Error	80,47	4	20,12		
Total	88,99	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,16788**

Error: 20,1173 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 180	26,37	3	2,59	A
C3 - 0	28,75	3	2,59	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **DADS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	2,29

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	269,94	1	269,94	9224,89	<0,0001
Aceite	269,94	1	269,94	9224,89	<0,0001
Error	0,12	4	0,03		
Total	270,06	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,38779**

Error: 0,0293 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 180	0,75	3	0,10	A
C3 - 0	14,17	3	0,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

✓ **DATS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	1,00	1,00	2,97

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	949,84	2	474,92	2617,95	<0,0001
Aceite	949,84	2	474,92	2617,95	<0,0001
Error	1,09	6	0,18		
Total	950,93	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,06703**

Error: 0,1814 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 220	7,05	3	0,25	A
C3 - 300	7,13	3	0,25	A
C3 - 0	28,88	3	0,25	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**"Aceite de oliva al ajo" (C4) diferentes condiciones de fritura analizados mediante HPLC.**

✓ **Ajoeno**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,99	0,99	5,14

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	646,85	3	215,62	353,90	<0,0001
Aceite	646,85	3	215,62	353,90	<0,0001
Error	4,87	8	0,61		
Total	651,73	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,04093**

Error: 0,6093 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C4 - 0	2,69	3	0,45	A
C4 - 180	17,60	3	0,45	B
C4 - 220	19,15	3	0,45	B
C4 - 300	21,35	3	0,45	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

✓ **DADS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	0,97	0,96	12,86

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1212,68	2	606,34	110,78	<0,0001
Aceite	1212,68	2	606,34	110,78	<0,0001
Error	32,84	6	5,47		
Total	1245,52	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,86101**

Error: 5,4733 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
C4 - 220	1,87	3	1,35	A
C4 - 180	24,89	3	1,35	B
C4 - 0	27,83	3	1,35	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**“Aderezo a base de aceite de oliva y ajo frito” (C5) diferentes condiciones de fritura analizados mediante HPLC.**✓ **DAS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,99	0,98	11,86

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	70,89	3	23,63	233,30	<0,0001
Aceite	70,89	3	23,63	233,30	<0,0001
Error	0,81	8	0,10		
Total	71,70	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,83213**

Error: 0,1013 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 - 300	0,14	3	0,18	A
C5 - 0	0,37	3	0,18	A
C5 -180	5,11	3	0,18	B
C5 - 220	5,12	3	0,18	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **Ajoeno****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	1,00	1,00	5,08

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	55,45	3	18,48	746,32	<0,0001
Aceite	55,45	3	18,48	746,32	<0,0001
Error	0,20	8	0,02		
Total	55,65	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,41149**

Error: 0,0248 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 - 300	0,25	3	0,09	A
C5 - 0	2,36	3	0,09	B
C5 - 220	3,60	3	0,09	C
C5 -180	6,19	3	0,09	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **2-Vinil-4H-1,3ditiina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	12	0,98	0,97	12,58

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	718,36	3	239,45	123,07	<0,0001
Aceite	718,36	3	239,45	123,07	<0,0001
Error	15,57	8	1,95		
Total	733,92	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,64719**

Error: 1,9457 gl: 8

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 - 300	0,65	3	0,81	A
C5 - 220	9,91	3	0,81	B
C5 -180	11,34	3	0,81	B
C5 - 0	22,45	3	0,81	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Aceite saborizados con ajo disponibles en el comercio local diferentes condiciones de fritura analizados mediante HPLC.**• **Fritura 180°C**✓ **DAS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,91	0,88	26,41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	677,77	1	677,77	39,23	0,0033
Aceite	677,77	1	677,77	39,23	0,0033
Error	69,10	4	17,28		
Total	746,87	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,42244**

Error: 17,2757 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 -180	5,11	3	2,40	A
C3 - 180	26,37	3	2,40	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **DADS****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,99	0,99	12,39

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	873,87	1	873,87	346,21	<0,0001
Aceite	873,87	1	873,87	346,21	<0,0001
Error	10,10	4	2,52		
Total	883,96	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,60160**

Error: 2,5241 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 180	0,75	3	0,92	A
C4 - 180	24,89	3	0,92	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **Ajoeno****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	1,00	1,00	1,49

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	198,40	2	99,20	3392,08	<0,0001
Aceite	198,40	2	99,20	3392,08	<0,0001
Error	0,18	6	0,03		
Total	198,57	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,42842**

Error: 0,0292 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 -180	6,19	3	0,10	A
C2 - 180	10,65	3	0,10	B
C4 - 180	17,60	3	0,10	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina****Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,88	0,85	23,81

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	919,59	1	919,59	28,83	0,0058
Aceite	919,59	1	919,59	28,83	0,0058
Error	127,60	4	31,90		
Total	1047,18	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=12,80364**

Error: 31,8989 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 - 180	11,34	3	3,26	A
C2 - 180	36,10	3	3,26	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

- **Fritura 220°C**

- ✓ **DATS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,63	0,54	19,67

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	21,00	1	21,00	6,83	0,0592
Aceite	21,00	1	21,00	6,83	0,0592
Error	12,30	4	3,08		
Total	33,30	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,97575**

Error: 3,0757 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 220	7,05	3	1,01	A
C1 - 220	10,79	3	1,01	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

- ✓ **Ajoeno**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	0,99	0,99	10,97

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11055,29	2	5527,64	359,55	<0,0001
Aceite	11055,29	2	5527,64	359,55	<0,0001
Error	92,24	6	15,37		
Total	11147,53	8			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,82293**

Error: 15,3739 gl: 6

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 - 220	3,60	3	2,26	A
C4 - 220	19,15	3	2,26	B
C2 - 220	84,49	3	2,26	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

- ✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,92	0,90	31,84

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	48050,76	1	48050,76	47,97	0,0023
Aceite	48050,76	1	48050,76	47,97	0,0023
Error	4006,98	4	1001,74		
Total	52057,74	5			



**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=71,75031**

Error: 1001,7442 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 - 220	9,91	3	18,27	A
C2 - 220	188,89	3	18,27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

• **Fritura 300°C**

✓ **DATS**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	0,99	3,36

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	144,85	1	144,85	883,38	<0,0001
Aceite	144,85	1	144,85	883,38	<0,0001
Error	0,66	4	0,16		
Total	145,50	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,91796**

Error: 0,1640 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C3 - 300	7,13	3	0,23	A
C1 - 300	16,96	3	0,23	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **Ajoeno**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	0,67	0,58	5,67

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10,27	1	10,27	7,97	0,0477
Aceite	10,27	1	10,27	7,97	0,0477
Error	5,16	4	1,29		
Total	15,43	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,57380**

Error: 1,2890 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C2 - 300	18,73	3	0,66	A
C4 - 300	21,35	3	0,66	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

✓ **2-vinil-4H-1,3ditiina**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	6	1,00	1,00	5,29

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3868,42	1	3868,42	2037,17	<0,0001
Aceite	3868,42	1	3868,42	2037,17	<0,0001
Error	7,60	4	1,90		
Total	3876,02	5			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,12391**

Error: 1,8989 gl: 4

Aceite	Medias	n	E.E.	
C5 - 300	0,65	3	0,80	A
C2 - 300	51,43	3	0,80	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

