

INVESTIGACION

Medida del grado de insaturación de aceites y grasas comestibles por espectroscopia infrarroja y su relación con el índice de yodo

Por S. Muniategui*, P. Paseiro y J. Simal.

Area de Nutrición y Bromatología. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología.
Facultad de Farmacia.
Universidad de Santiago de Compostela.
15706 Santiago de Compostela (España)

RESUMEN

Medida del grado de insaturación de aceites y grasas comestibles por espectroscopia infrarroja y su relación con el índice de yodo.

Se describe un método de espectroscopia IR para determinar de forma rápida el grado de insaturación de grasas y aceites comestibles, basado en la medida de la banda correspondiente al enlace olefínico a 3007 cm⁻¹. Por medio del programa de análisis cuantitativo SINGLE se calcula la absorbancia neta, el área, la 1ª derivada y la 2ª derivada de la banda a 3007 cm⁻¹ y se estudia la relación de estos parámetros con el índice de yodo. La mejor correlación y el menor índice de error se obtiene con las medidas de la absorbancia neta ($r=0,9992$; ind. error=1,75%) y el área ($r=0,9992$; ind. error=1,77%) de dicha banda.

PALABRAS-CLAVE: Aceite comestible - Espectrofotometría infrarroja - Grado de insaturación (determinación) - Grasa comestible - Índice de yodo.

SUMMARY

Measurement of the degree of unsaturation of oils and fats using infra-red spectroscopy and its relationship with iodine value.

An spectroscopy method to fast determination of the degree of unsaturation of oils and fats is described by measurement of intensity of the olefinic band at 3007 cm⁻¹. Using SINGLE program, the peak height and peak area and also 1st derivate and 2nd derivate at 3007 cm⁻¹ are calculated and relationships between these parameters and iodine values are studied. The best relationships were obtained with the measurements of net absorbance ($r=0,9992$; error index=1,75%) and area ($r=0,9992$; error index=1,77%).

KEY-WORDS: Edible fat - Edible oil - Infrared spectrophotometry - Iodine number - Unsaturation degree (determination).

1. INTRODUCCION

La espectrofotometría de infrarrojo tiene amplias aplicaciones analíticas, en el campo de los aceites y grasas, como así lo demuestran numerosos trabajos que estudian los principales grupos funcionales en los mismos, hallando correlaciones entre estructuras específicas y los espectros que resultan de ellos (1, 2, 3).

En el espectro IR de un aceite o una grasa existen una serie de bandas características, con ciertas variaciones en los distintos tipos de muestras lipídicas, como son las ocasionadas por el enlace olefínico (=CH a 3010 cm⁻¹), metilo y metilen (CH₂ y CH₃ a 2950, 2850, 1470 cm⁻¹), carbonilo esterificado (COOR a 1750 cm⁻¹), ácido libre (COOH a 1710 cm⁻¹), enlace trans (965, 941 cm⁻¹), enlace cis (1460 cm⁻¹), etc. (4).

El grado de insaturación se mide normalmente determinando el índice de yodo y se ha intentado aplicar la espectroscopia infrarroja para hallar una relación entre ambos parámetros. Así Sinclair et al. (5) establecen la relación existente entre la absorbancia infrarroja (cociente entre las absorbancias de la banda a 2941 cm⁻¹ y la diferencia entre 2941 y 3030 cm⁻¹) y el número de dobles enlaces de una serie de ésteres metílicos de ácidos grasos insaturados. Chapman (6), sugiere que la espectroscopia infrarroja se podría emplear en la determinación del grado de insaturación de mezclas de ácidos grasos.

Otros estudios, como el de Arnold y Hartung (7) obtienen una relación lineal entre la absorbancia del enlace C-H olefínico a 3030 cm⁻¹ y C-H alifático a 2857 cm⁻¹ con el índice de yodo de grasas y aceites. Anderson et al. (8) hallan esa relación lineal mediante la absorbancia IR diferencial máxima a 3030 cm⁻¹ (enfrentando muestras de mantequillas y aceites vegetales con solución de triestearina). Más recientemente Kochhar y Rossell (9) realizan una recopilación bibliográfica sobre las aplicaciones de la espectrofotometría IR a la determinación de la insaturación de aceites.

En este trabajo se pretende comprobar la existencia de una correlación entre la medida del grado de insaturación de aceites y grasas comestibles por espectrofotometría IR (mediante la banda hacia 3007 cm⁻¹) y el índice de yodo determinado por el método de Hanus que se utiliza como referencia.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Muestras.

Se han elegido muestras de aceites y grasas comestibles frecuentemente utilizadas, de forma que cubran un rango amplio de valores de insaturación o índice de yodo. Se analizan muestras comerciales de aceites de oliva, almendra, maíz, soja, girasol y pepita de uva, así como manteca de cacao y de cerdo. Estas dos últimas se emplean desecadas a 40° C.

2.2. Reactivos.

Tetracloruro de carbono Uvasol para espectroscopía.

2.3. Material y aparatos.

En la obtención de los espectros de absorción infrarroja se han empleado:

- Espectrofotómetro de infrarrojo Perkin-Elmer 681.
- Estación de datos Perkin-Elmer modelo 3600, dotada con los programas PE680 y SINGLE de Perkin-Elmer.
- Cubetas de cloruro sódico de 0,5 mm de espesor.

2.4. Condiciones de medida IR.

Se realiza el barrido infrarrojo en la región entre 3100 y 2900 cm^{-1} .

Operando en doble haz; rendija ancha (3 cm^{-1} a 1100 cm^{-1}) y velocidad de «scan» de 567 $\text{cm}^{-1}/\text{min}$.

2.5. Procedimiento

1) Índice de yodo:

El índice de yodo se determina por duplicado según el método de Hanus (10).

2) Espectroscopía infrarroja:

Se preparan disoluciones de las muestras al 5% (p/v) en tetracloruro de carbono.

Una serie de disoluciones se utiliza para la calibración y otra para la validación del método.

Se obtienen las rectas de calibrado para cada uno de los parámetros evaluados frente a los valores del índice de yodo obtenidos por el método de referencia, considerando las siguientes medidas:

- **ABSORBANCIA NETA (altura):** basada en la diferencia entre la absorbancia a 3007 cm^{-1} y la línea base que une los valores de absorbancia a 3030 y 2990 cm^{-1} (Figura 1).

- **AREA:** referida a la integración del área del espectro que encierra la anterior línea base (Figura 2).

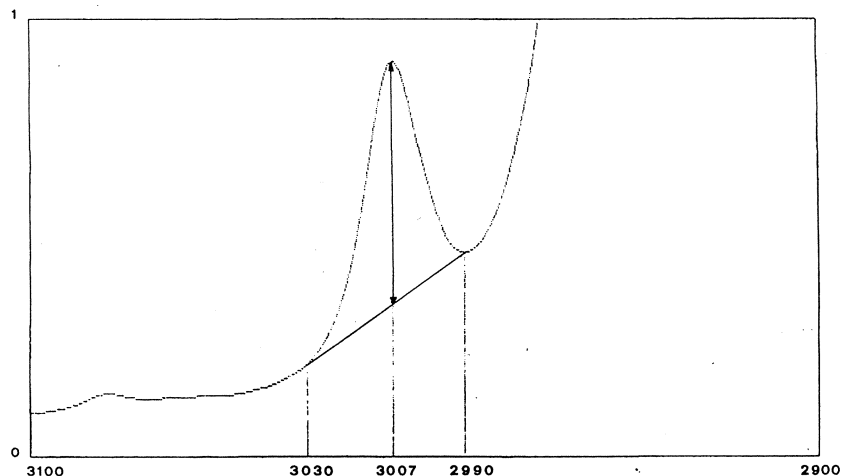


Figura 1

Medida de la Absorbancia neta (altura). (Diferencia entre la absorbancia a 3007 cm^{-1} y la línea base que une los valores de absorbancia a 3030 y 2990 cm^{-1}).

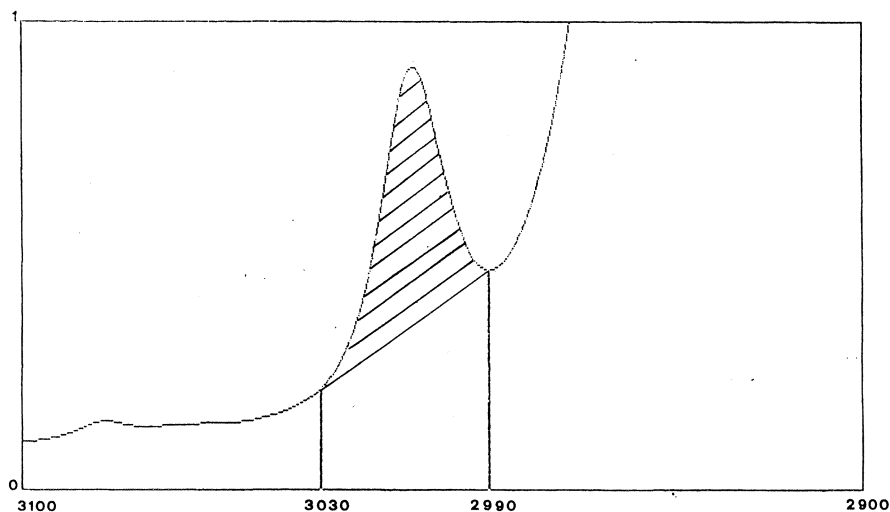


Figura 2

Medida del Área. (Integración del área del espectro que encierra la línea base que une los valores de absorbancia a 3030 y 2990 cm^{-1}).

- 1.^a DERIVADA (MAX): valor de la 1.^a derivada a 3015 cm⁻¹ (Figura 3).
- 1.^a DERIVADA (MIN): valor de la 1.^a derivada a 3002 cm⁻¹ (Figura 3).
- 1.^a DERIVADA (MAX-MIN): medida pico a pico de

la 1.^a derivada entre el mínimo a 3002 cm⁻¹ y el máximo a 3015 cm⁻¹ (Figura 3).

- 2.^a DERIVADA (MIN): medida de la distancia desde su mínimo a 3008 cm⁻¹ hasta la línea base formada por sus dos máximos a 3020 y 2995 cm⁻¹ (Figura 4).

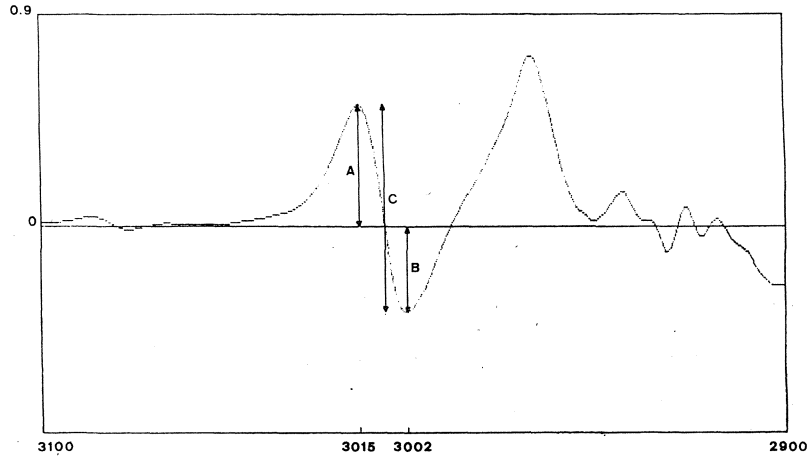


Figura 3

Medida de la 1.^a Derivada. A) 1.^a Derivada (máx): 1.^a derivada a 3015 cm⁻¹. B) 1.^a Derivada (mín): 1.^a derivada a 3002 cm⁻¹. C) 1.^a Derivada (máx-mín): Medida pico a pico de la 1.^a derivada entre el mínimo a 3002 cm⁻¹ y el máximo a 3015 cm⁻¹.

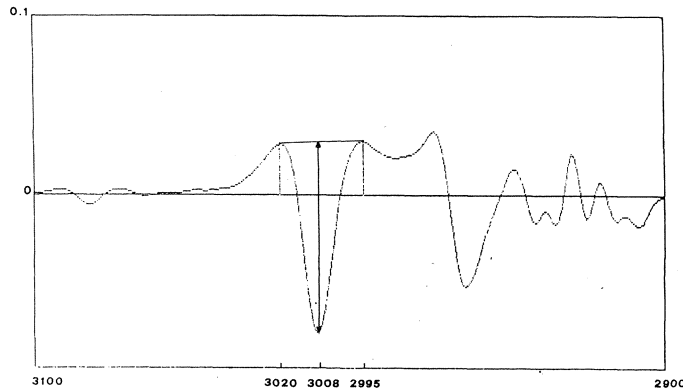


Figura 4

Medida de la 2.^a Derivada (mín). (Medida de la distancia desde su mínimo a 3008 cm⁻¹ hasta la línea base formada por sus dos máximos a 3020 y 2995 cm⁻¹).

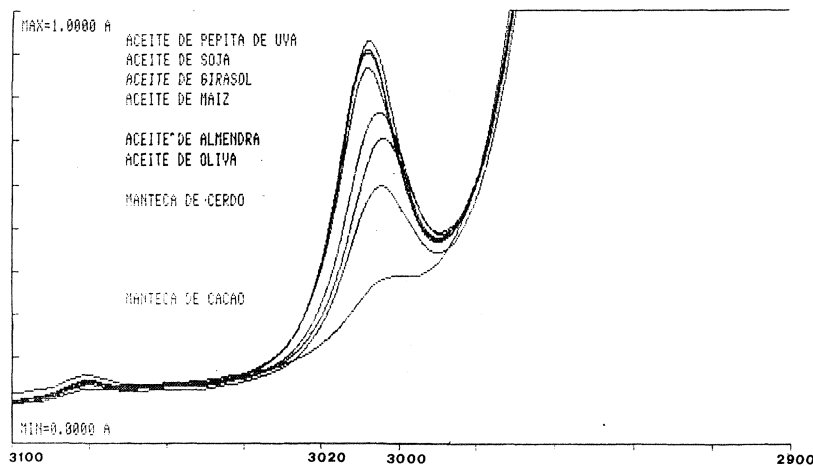


Figura 5

Espectros de IR entre 3100 y 2900 cm⁻¹ de las muestras de aceites y grasas estudiadas.

Los espectros IR de las muestras estudiadas, pueden verse en la Figura 5.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Precisión

Se comprobó la precisión en las medidas obteniendo el espectro de IR de una misma muestra 7 veces consecutivas. Los valores figuran en la Tabla I, resultando para todos los parámetros medidos una precisión satisfactoria (Cv% menor al 1,8%, salvo en el caso de la 2.^a derivada min, que es del 3%).

3.2. Calibración

El estudio de calibración se ha realizado con ocho aceites y grasas comestibles distintas, ya que es la capacidad máxima de operación que tiene el programa SNGLE. En estas medidas se cubre un intervalo amplio de valores de insaturación (Índice de yodo de 20 a 130).

En la Tabla II se presenta el calibrado para cada uno de los parámetros medidos por IR, donde figura la pendiente, ordenada en el origen, índice de error % y coeficiente de correlación.

En todos los casos se observa una buena correlación entre la medida infrarroja y el índice de yodo (método de referencia). El menor índice de error se obtiene con las

Tabla I
Precisión de cada una de las medidas IR realizadas para el aceite de almendra.

	Altura	Area	D ₁ max	D ₁ min	D ₁ max-min	D ₂ min
1	94.4	96.3	95.3	94.0	94.6	92.7
2	93.2	94.6	92.9	93.7	93.3	87.4
3	96.8	98.0	95.3	93.2	94.3	92.6
4	94.9	96.2	94.3	93.6	93.9	91.7
5	93.8	96.0	90.8	92.2	91.5	89.1
6	94.0	95.4	93.8	91.1	92.4	86.1
7	94.4	95.4	92.2	92.0	92.1	87.8
\bar{X}	94.5	96.0	93.5	92.8	93.2	89.6
S _{n-1}	1.1475	1.0653	1.6608	1.0628	1.1830	2.6955
Cv%	1.21	1.11	1.78	1.15	1.27	3.01

Tabla II
Valores de calibración para cada uno de los parámetros de medida IR.

	Absorbancia neta	Area	D ₁ max	D ₁ min	D ₁ max-min	D ₂ min
Pendiente	0.00475	0.08196	0.00369	-0.00371	0.00740	-0.00113
Ordenada origen	-0.0645	-1.3573	0.0330	0.0896	-0.0546	0.0039
Índice Error (%)	1.75	1.77	2.78	4.07	3.11	4.27
Coef. correlación	0.9992	0.9992	0.9979	0.9956	0.9975	0.9952
N ^o de medidas: 8						

medidas de la absorbancia neta y del área (índice de error <2%); y el mayor error con la 1ª derivada máx. y la 2ª derivada mín. (índice de error > 4%).

3.3. Validación

En la Tabla III se recogen para los distintos aceites y grasas comestibles estudiados los valores de insaturación determinados por el método de referencia (método de Hanus) y los medidos por IR. De la aplicación del test «t» de las diferencias entre pares de valores (11) frente al

método de referencia, se observa en todos los casos que no existen diferencias significativas entre dichas medidas.

4. CONCLUSIONES

Se comprueba que existe correlación entre la medida del grado de insaturación de un aceite o grasa comestible por medida directa de la banda a 3007 cm⁻¹ del espectro de IR correspondiente al enlace olefínico y el valor del índice de yodo hallado experimentalmente.

De las distintas formas de medida estudiadas se ob-

Tabla III
Valores de insaturación determinados por el método de referencia y por las distintas medidas IR para cada una de las muestras analizadas.

Método Hanus (referencia)	Medidas IR						
	Absorbancia neta	Area	D ₁ max	D ₁ min	D ₁ max-min	D ₂ min	
Manteca de cacao	20.1 ^a	21.2 (1.1) ^b	20.4 (0.3)	22.0 (1.9)	22.2 (2.1)	22.1 (2.0)	27.7 (7.6)
Manteca de cerdo	66.5	66.3 (-0.2)	67.9 (1.4)	65.5 (-1.0)	65.3 (-1.2)	65.4 (-1.1)	65.7 (-0.8)
Aceite de oliva	81.4	80.4 (-1.0)	78.1 (-3.3)	79.8 (-1.6)	80.6 (-0.8)	80.2 (-1.2)	79.3 (-2.1)
Aceite de almendra	96.4	94.4 (-2.0)	96.3 (-0.1)	95.3 (-1.1)	94.0 (-2.4)	94.6 (-1.8)	92.7 (-3.7)
Aceite de maíz	121.0	117.1 (-3.9)	117.2 (-3.8)	113.9 (-7.1)	115.3 (-5.7)	114.6 (-6.4)	116.8 (-4.2)
Aceite de girasol	125.0	125.7 (0.7)	124.0 (-1.0)	121.8 (-3.2)	122.0 (-3.0)	121.9 (-3.1)	126.7 (1.7)
Aceite de soja	126.9	126.9 (0.0)	126.8 (-0.1)	121.7 (-5.2)	128.9 (2.0)	125.3 (-1.6)	128.1 (1.2)
Aceite pepita de uva	128.1	131.6 (3.5)	129.3 (1.2)	131.5 (3.4)	130.6 (2.5)	131.0 (2.9)	134.0 (5.9)
$\bar{X} \pm S$		-0.23±2.20	-0.68±1.93	-1.74±3.45	0.81±2.90	-1.29±2.88	0.70±4.30
t calculada ^c		-0.296	-0.997	-1.427	0.790	-1.267	0.460

^a Valor promedio de dos determinaciones

^b diferencia con el valor del método de referencia

^c t calculada para una t teórica (t1- α /2 = 0.05, 7 G.L.) = 2.36

serva que la mayor correlación y menor índice de error se consigue con las medidas de la absorbancia neta y área de la banda del espectro de IR y en menor proporción de la D₁ max, D₁ max-min, D₁ min y D₂ min. Por lo que se propone la medida de la absorbancia neta y área de la banda 3007 cm⁻¹ para determinar la insaturación en muestras de aceites y grasas comestibles por su rapidez, precisión y exactitud.

Es posible medir valores de índice de yodo próximos a 20 con un buen coeficiente de correlación.

REFERENCIAS

- De la Hoz, L.; Sanz, B.; Zugazo, A.; Cambeiro, I.; Ordoñez, J.A. - «Determinación de glicéridos musculares por espectrofotometría IR». - *Grasas y Aceites* 14 (1985) 85-87.
- Ahmed, F.A.; Osman, R.O.; El-Nomany, H.M.; Saadany, S.S. - «Infrared and ultraviolet spectra of some lipids of different structures». - *Grasas y Aceites* 37 (1986) 250-253.
- Cross, A.D.; Alan Jones, R. - «An introduction to practical infrared spectroscopy». - 3ª ed. Butter Worths, London, 1969.
- Morcillo, J.; Maroñero, R. - «Aplicaciones prácticas de la espectroscopía infrarroja». - Facultad de Ciencias, Universidad de Madrid, 1966.
- Sinclair, R.G.; Mackay, A.F. Myers, G.S.; Jones, R.N. - «The infrared absorption spectra of unsaturated fatty acids and sters». - *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 2578.
- Chapman, D. - «The structure of lipids by spectroscopic and X-ray techniques». - John Wiley & Song, New York (1965) 81-82.
- Arnold, R.G.; Hartung, J.E. - «Infrared spectroscopy determination of degree of unsaturation of fats and oils». - *J. Food Sci.* 36 (1971) 166-168.
- Anderson, B.A.; Miller, R.; Pallansh, M.J. - «Measure unsaturation in milkfat and others oils by differential infrared spectroscopy». - *J. Dairy Sci.* 57 (2) (1974) 165-169.
- Kochhar, S.P.; Rossel, J.B. - «Analysis of oils and fats using infrared spectroscopy». - *Int. An.* 5 (1987) 23-26.
- Instituto de Racionalización del Trabajo.-Una Norma Española 55.013.
- Test «t» diferencia entre pares. -Method Performance M.J. Cardone: «Detection and Determination of error in Analytical Methodology. Part. I. In the Method Verification Program». - *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 66 (5) (1983) 1279-1280.

(Recibido: Marzo 1991)