

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA
CATEDRA DE ANALISIS QUIMICO, BROMATOLOGIA Y TOXICOLOGIA
Prof. Dr. D. RAFAEL GARCIA VILLANOVA

POSIBILIDADES PARA LA DETERMINACION DE ACIDOS DE LAS GRASAS Y ACEITES VEGETALES POR COMPLEXOMETRIA INDIRECTA CON Pb(II) Y ESTABLECIMIENTO DE UN NUEVO INDICE EN LOS MISMOS DENOMINADO "COMPLEXOMETRICO".

III.—PROPUESTA DE UN NUEVO INDICE DENOMINADO "COMPLEXOMETRICO"

por

M.^a C. LOPEZ MARTINEZ y R. GARCIA VILLANOVA

Ars Pharm. X, 75 (1969)

J U S T I F I C A C I O N

Estando constituidas fundamentalmente las grasas naturales por glicéridos de los ácidos de las grasas, de características químicas tan similares, aunque sus propiedades físicas (solubilidad, punto de fusión, etc.) difieran en muchos casos notoriamente, la identificación de estos glicéridos que constituyen las grasas, se hace imposible en muchos casos por las técnicas analíticas actuales.

El establecimiento de determinados índices de las mismas ha auxiliado considerablemente a la identificación de las grasas naturales, estableciendo para muchas de ellas unas constantes químicas y fisicoquímicas que las caracterizan.

Cuando se presentan en mezclas, el problema se hace en muchos casos imposible de resolver cuantitativamente, aún cuando cualitativamente se tenga la seguridad de que no están en estado de pureza.

La determinación de varios índices en las mismas puede ayudar al esclarecimiento de su pureza o a la sospecha de mezclas, que si han sido realizadas con fines de lucro por personal competente, pueden lograrse constantes en las mismas de notable similitud con las que presentan las grasas puras.

Esto nos ha conducido al establecimiento de un nuevo índice en las grasas, que denominamos "INDICE COMPLEXOMETRICO".

La notable concordancia de esta constante en los aceites vegetales estudiados por nosotros de igual naturaleza, pero de distinta procedencia, y la diferencia, en muchos casos considerable, con otros de naturaleza distinta, podrá ayudar a la identificación de las grasas aportando un nuevo dato que en ocasiones pueda decidir el juicio en mezclas sospechosas.

Por tanto y ajustándonos al criterio seguido en la definición de muchos índices (1) en las grasas y mientras una revisión practicada en las mismas y discutida en reunión de carácter internacional no acuerde la aplicación de un criterio más racional en concordancia con el estado actual de la ciencia, el índice propuesto por nosotros queda en principio definido:

"ÍNDICE COMPLEXOMETRICO" de una grasa, es el número de miligramos de dihidrato de la sal disódica del ácido etilendiaminotetracético (EDTA) necesarios para secuestrar el catión divalente que ha sido precipitado por los aniones de los ácidos de las grasas procedentes de la hidrólisis alcalina de un gramo de grasa".

Aún cuando la técnica desarrollada por nosotros emplea el Pb(II) como precipitante, que ofrece ciertas ventajas, con Ba(II) y Mg(II) se consiguen resultados similares como han demostrado BOSCH y GARCÍA-VILLANOVA (2, 3 y 4) y MARIN-AZNAR y GARCÍA-VILLANOVA (5 y 6) respectivamente.

PARTE EXPERIMENTAL

Disoluciones empleadas:

EDTA 0,05 M y 0,02 M.—18,61 ó 7,44 g. respectivamente de EDTA disódico puro y desecado a 80° se disuelven en agua y se completa hasta 1.000 ml. en matraz aforado.

Nitrato de plomo 0,05 M y 0,02 M.—16,56 ó 6,62 g. respectivamente de (NO₃)₂ Pb puro y desecado a 100° C. se disuelven en agua y completan a 1.000 ml. en matraz aforado.

Disolución de ácido tartárico 1 M.—150 gramos de ácido tartárico puro se disuelven hasta 1.000 ml. en agua destilada.

Disolución reguladora de pH 10.—94 g. de nitrato amónico y 794 de hidróxido amónico (D = 0,923) en agua destilada hasta 1.000 ml.

Disolución de fenoltaleína.—1 g. de la misma en 100 ml. de etanol de 96°.

Disolución de Negro de Eriocromo T.—1 g. de la sustancia en 100 ml. de metanol.

Nitrato amónico 1 M.—80 g. del mismo en agua destilada hasta 1.000 ml.

Disolución de ácido nítrico.—50 ml. de ácido nítrico (D = 1,33) en agua destilada hasta 500 ml.

Disolución alcohólica de KOH al 8 %—8 g. de KOH en lentejas exenta de carbonatación se disuelven en la mínima cantidad de agua destilada y se completa con etanol de 96° hasta 100 ml. Conviene renovarla con frecuencia.

Etanol de 40°.—420 ml. de alcohol etílico de 96° se completan con agua hasta 1.000 ml.

Método.—5 g. de aceite, pesados exactamente en un matraz de 150 ml. se saponifican a reflujo con 40 ml. de disolución alcohólica al 8 % hirviendo suavemente durante 15-20 minutos. Se trasvasa cuantitativamente el líquido de saponificación a un matraz aforado de 500 ml., lavando con unos 40 ml. de etanol de 40° y completando con agua hasta el enrase. Se logra así una disolución al 1 % de la grasa.

En sendos vasos de precipitados de 250 ml. se ponen 3-4 porciones de 50 ml. de la disolución de grasa hidrolizada y se añaden a cada uno 1 gota de disolución de fenoltaleína y disolución de ácido nítrico gota a gota hasta viraje.

Se agregan 3 ml. de disolución de nitrato amónico y se precipita en cada vaso con 25 ml. de (NO₃)₂ Pb 0,05 M en agitación constante. Es útil el empleo de un magneto-agitador.

El precipitado se deja reposar 10 minutos y se filtra después por filtro de pliegues lavando con 80 ml. de agua destilada en dos porciones.

Al líquido filtrado se agrega 5 ml. de disolución de ácido tartárico, 5 ml. de disolución reguladora de pH 10 y 7 gotas de Negro T de Eriocromo, valorando con EDTA 0,05 M hasta viraje al azul. Se halla la media de las 3-4 titulaciones que deberán ser concordantes.

De emplear las disoluciones 0,02 M. de Pb (II) y EDTA se parten de 25 ml. de la disolución de grasa hidrolizada al 1 % siguiendo exactamente cuanto se indica pero precipitando con 50 ml. de nitrato de plomo 0,02 M. y valorando con EDTA de igual molaridad.

En las Tablas I a V se exponen los resultados medios encontrados en cada una de las 10 muestras de aceite de oliva, soja, girasol, cacahuete y algodón, todos ellos de garantía de origen, aunque de procedencia distinta. No ha sido posible en la actualidad, continuar el establecimiento de este índice complexométrico en otros aceites por no disponer de un mínimo estimable de muestras de procedencia conocida, lo que esperamos poder continuar cuando esto se consiga.

La varianza, la desviación típica y la desviación media se han calculado para cada una de las concentraciones ensayadas sobre el total de ellas, o sea con una población de datos igual a 100.

TABLA I

ACEITE DE OLIVA

Muestra n.º	n.º de determinaciones	Grasa puesta g.	Pb(II) ml.	EDTA ml. (media)	EDTA p/1 g. grasa mg. (media)
1	10	0,500 (*)	25	7,76	641,62
2				8,01	632,33
3				7,67	644,98
4				7,79	640,89
5				8,14	627,51
6				8,17	626,40
7				7,55	649,45
8				8,03	631,60
9				8,06	630,44
10				7,72	643,11
1	0,250 (**)	50	50	28,61	636,87
2				28,55	638,64
3				28,57	638,04
4				28,54	638,94
5				28,72	632,99
6				28,58	637,77
7				28,73	633,30
8				28,65	635,67
9				28,76	632,40
10				28,16	632,41

(*) Disolución de Pb (II) y EDTA 0,05 M.

(**) Disolución de Pb (II) y EDTA 0,02 M.

VARIANZA V = 96,16

V = 17,63

(*) DESVIACION TIPICA σ = 9,8

(**) σ = 4,1

DESVIACION MEDIA σ_m = 0,98

σ_m = 0,41

TABLA II
ACEITE DE SOJA

Muestra n. ^o	n. ^o de determinaciones	Grasa puesta g.	Pb(II) ml.	EDTA ml. (media)	EDTA p/ 1 g. grasa mg. (media)
1	10	0,500 (*)	25	8,50	614,13
2				8,41	617,44
3				8,42	620,82
4				8,47	615,24
5				8,59	610,77
6				8,61	610,03
7				8,47	562,35
8				8,61	610,03
9				8,50	614,13
10				8,64	608,91
1	0,250 (**)	50	50	29,26	617,55
2				29,05	624,70
3				29,26	618,45
4				29,49	612,92
5				29,61	608,92
6				29,59	607,72
7				29,27	618,15
8				29,25	617,85
9				29,35	614,86
10				29,37	614,27

(*) Disolución de pb(II) y EDTA 0,05 M.

(**) Disolución de Pb(II) y EDTA 0,02 M.

VARIANZA $V = 141,61$

(*) DESVIACION TIPICA $\sigma = 11,9$

DESVIACION MEDIA $\sigma_m = 1,19$

$V = 73,73$

(**) $\sigma = 8,5$

$\sigma_m = 0,85$

TABLA III
ACEITE DE GIRASOL

Muestra n.º	n.º de determinaciones	Grasa puesta g.	Pb(II) ml.	EDTA ml. (media)	EDTA p/ 1 g. grasa mg. (media)
1	10	0,500 (*)	25	9,00	595,86
2				8,83	601,86
3				8,83	601,84
4				8,45	615,98
5				8,81	602,58
6				8,72	605,91
7				8,29	621,94
8				8,45	615,98
9				8,66	609,63
10				8,76	605,93
1		0,250 (**)	50	29,66	606,23
2				29,76	602,64
3				29,71	603,83
4				29,69	604,73
5				29,34	615,16
6				29,39	613,67
7				29,76	602,65
8				29,36	614,57
9				29,31	616,06
10				29,74	603,24

(*) Disolución de Pb(II) y EDTA 0,05 M.

(**) Disolución de Pb(II) y EDTA 0,02 M.

VARIANZA	V = 214,71	V = 64,79
(*) DESVIACION TIPICA	$\sigma = 14,6$	(**) $\sigma = 8,04$
DESVIACION MEDIA	$\sigma_m = 1,46$	$\sigma_m = 0,80$

TABLA IV
ACEITE DE CACAHUETE

Muestra n.º	n.º de deter- minaciones	Grasa puesta g.	Pb(II) ml.	EDTA ml. (media)	EDTA p/ 1 g. grasa mg. (media)
1	10	0,500 (*)	25	7,13	661,12
2				7,03	667,83
3				7,05	668,09
4				6,99	670,33
5				7,07	667,35
6				7,00	669,95
7				7,18	663,25
8				7,26	663,28
9				7,26	660,24
10				7,08	667,03
1	10	0,250 (**)	50	27,45	671,44
2				27,43	671,44
3				27,40	674,42
4				27,49	670,23
5				27,42	672,33
6				27,37	673,82
7				27,64	665,78
8				27,79	661,31
9				27,67	663,89
10				27,44	667,57

(*) Disolución de Pb(II) y EDTA 0,05 M.

(**) Disolución de Pb(II) y EDTA 0,02 M.

	VARIANZA	V = 30,71		V = 32,92
(*)	DESVIACION TIPICA	$\sigma = 5,5$	()	$\sigma = 5,7$
	DESVIACION MEDIA	$\sigma_m = 0,55$		$\sigma_m = 0,57$

TABLA V

ACEITE DE ALGODON

Muestra n.º	n.º de determinaciones	Grasa puesta g.	Pb(II) ml.	EDTA ml. (media)	EDTA p/ 1 g. grasa mg. (media)
1	10	0,500 (*)	25	8,18	626,03
2				8,20	625,29
3				8,22	624,54
4				8,16	626,78
5				8,20	625,29
6				8,24	623,80
7				8,22	627,52
8				8,25	623,43
9				8,11	628,64
10				8,23	624,17
1	0,250 (**)	50	50	29,00	625,29
2				29,05	624,80
3				29,06	624,40
4				29,06	624,40
5				29,06	624,40
6				28,98	624,98
7				29,06	624,40
8				29,03	624,99
9				29,08	623,50
10				29,02	625,53

(**) Disolución de Pb(II) y EDTA 0,02 M.

(**) Disolución de Pb(II) y EDTA 0,02 M.

	VARIANZA	V = 26,52		V = 18,93
(*)	DESVIACION TIPICA	$\sigma = 5,1$	(**)	$\sigma = 4,3$
	DESVIACION MEDIA	$\sigma_m = 0,51$		$\sigma_m = 0,43$

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

La determinación del Índice complexométrico presenta, en los cinco aceites ensayados diferencias significativas que permiten diferenciar dichas grasas, aún cuando la diferencia entre los índices complexométricos de los aceites de soja y girasol sea pequeña.

Aún cuando puede realizarse la determinación del índice con 0,5 y 0,25 g. y disoluciones 0,05 y 0,02 M. respectivamente, la desviación típica es menor cuando se opera con 0,25 g y disolución 0,02 M. en todos los aceites ensayados, a excepción del de cacahuete en que son sensiblemente iguales, estimamos más exacta para establecer el índice la cifra obtenida con 0,25 g. de grasa y disoluciones 0,02 M. de Pb (II) y EDTA.

Al operar con 0,25 g. no quiere significar que haya de valorarse con este peso de muestra; puede ensayarse un peso próximo a éste, obtenido con exactitud y hacer el cálculo para 1 g. de aceite, como indica la definición del índice.

CONCLUSIONES

- 1.^a—Se estudia un nuevo índice en los aceites, denominado "índice complexométrico".
- 2.^a—El establecimiento de este índice en los aceites de oliva, soja, girasol, cacahuete y algodón se ha hecho sobre 10 muestras de cada uno, de origen garantizado.
- 3.^a—Las cifras encontradas, cuando se opera con disoluciones de Pb(II) y EDTA 0,02 M. y 0,25 g. de grasa son los que siguen:
Acete de olivas.—Índice complexométrico: 635,96; varianza: 17,63; desviación típica: 4,01 y desviación media: 0,41.
Acete de soja.—Índice complexométrico: 613,97; varianza: 73,73; desviación típica: 8,5 y desviación media: 0,85.
Acete de girasol.—Índice complexométrico: 608,31; varianza: 64,75; desviación típica: 8,04 y desviación media 0,8.
Acete de cacahuete.—Índice complexométrico: 669,03; varianza: 32,97; desviación típica: 5,7 y desviación media: 0,57.
Acete de algodón.—Índice complexométrico: 625,09; varianza: 18,93; desviación típica: 4,3 y desviación media: 0,43.
- 4.^a—Las cifras encontradas al establecer este nuevo "índice complexométrico" en las grasas estudiadas permite diferenciar, en algunos casos con márgenes muy amplios, las grasas de procedencia y solamente el acete de algodón es el que presenta un índice complexométrico muy próximo al de los aceites de oliva y soja.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—GARCIA-VILLANOVA, R.: Técnicas Analíticas Bromatológicas Unificadas. Instituto de Farmacia del Aire. Burgos (España) (1960).
- 2.—BOSCH, F. y GARCIA-VILLANOVA, R.: Ars Farmacéutica.
- 3.—BOSCH, F. y GARCIA-VILLANOVA, R.: Ars Farmacéutica.
- 4.—BOSCH, F. y GARCIA-VILLANOVA, R.: Grasas y aceites.
- 5.—MARIN-AZNA, M.³ T. y GARCIA-VILLANOVA, R.: Anales de Bromatología.
- 6.—MARIN-AZNA, M.³ T. y GARCIA-VILLANOVA, R.: Anales de Bromatología.

RESUMEN

Se propone un nuevo índice en las grasas denominado "complexométrico" y ha sido fijado en los aceites de oliva, soja, cacahuete, girasol y algodón.

El índice complexométrico se define como el número de mg. de dihidrato de la sal disódica del ácido etilendiaminotetracético necesarios para secuestrar el catión divalente que ha sido precipitado por los aniones procedentes de la hidrólisis alcalina de un gramo de grasa.

Las cifras encontradas en los cinco aceites vegetales ensayados permiten distinguir esas grasas y solamente, el aceite de algodón presenta un índice próximo entre los aceites de oliva y soja.

SUMMARY

A new number is proposed for fats called "complexometric number" and it has been established in olive, soybean, sunflower, peanut and cottonseed oils.

The "complexometric number" is the number of disodium ethylenediamine tetra-acetate dihydrate that are necessary to titrate divalent cation that has been precipitated with fatty acid anions from the saponification of one g. of fat.

Te values found in the five vegetable oils that have been assayed can differentiate these fats and only cottonseed oil has a complexometric number between those of olive oil and soybean oil.