

# MÁSTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA Y GESTIÓN DE LA CADENA AGROALIMENTARIA

TRABAJO FIN DE MÁSTER



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**Título del trabajo:**

EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE ACEITES DE FRITURA  
UTILIZANDO FOURIER TRANSFORM NEAR INFRARED  
SPECTROSCOPY

**Autor/a:** Estrella Muñoz Marchal

**Director/a:** Prof<sup>a</sup>. Ana Garrido Varo

Prof<sup>a</sup>. Dolores Pérez Marín

Córdoba, Julio 2016





Departamento de Producción Animal

ANA GARRIDO VARO, Catedrática de Universidad del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba y DOLORES PÉREZ MARÍN, Profesora Titular de Universidad del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba

**INFORMAN:**

Que el Trabajo Fin de Máster titulado “EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE ACEITES DE FRITURA UTILIZANDO FOURIER TRANSFORM NEAR INFRARED SPECTROSCOPY”, ha sido realizado por Dña. ESTRELLA MUÑOZ MARCHAL, bajo su dirección, para la obtención del título de Máster Universitario en Ingeniería y Gestión de la Cadena Agroalimentaria por la Universidad de Córdoba, es un trabajo original e inédito y reúne los requisitos necesarios para su exposición y defensa en la modalidad de artículo científico.

Y para que conste, firman el presente informe en Córdoba a 13 de Julio de 2016

Fdo.: Prof<sup>a</sup>. Ana Garrido Varo

Fdo.: Prof<sup>a</sup>. Dolores Pérez Marín



**ARTÍCULO CIENTÍFICO**

<b>Resumen</b>	<b>-15-</b>
<b>Summary</b>	<b>-16-</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>-17-</b>
<b>2. Material y Métodos</b>	
2.1. <i>Preparación de las muestras</i>	<b>-21-</b>
2.2. <i>Análisis de Referencia</i>	<b>-22-</b>
2.3. <i>Instrumentación NIRS</i>	<b>-22-</b>
2.4. <i>Tratamiento matemático y estadístico</i>	<b>-23-</b>
<b>3. Resultados y Discusión</b>	
3.1. <i>Caracterización química de los aceites de fritura</i>	<b>-24-</b>
3.2. <i>Optimización de la señal espectral</i>	<b>-25-</b>
3.3. <i>Desarrollo de calibraciones para la predicción</i> <i>de la composición química de los aceites de fritura</i>	<b>-27-</b>
3.4. <i>Validación externa de las calibraciones</i>	<b>-36-</b>
3.5. <i>Tecnología NIRS versus métodos de referencia convencionales</i>	<b>-43-</b>
<b>4. Conclusiones</b>	<b>-49-</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>-49-</b>
<b>Referencias</b>	<b>-51-</b>
<b>Anejo I</b>	<b>-57-</b>



## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACPs: Análisis de Componentes Principales

AV: Acidvalue

Cal: Calibración

C-H: Enlaces carbono-hidrógeno

cm<sup>-1</sup>: 1/centímetros

CV: Coeficiente de variación

DGF: Fats of German Society for Fat Science

DT: Desviación típica

EVO: Aceite de oliva virgen Extra

FProb: valor de probabilidad de que una muestra sea anómala

FT: Transformada de Fourier

FT-NIRS: Espectroscopía NIRS por Transformada de Fourier

h: Horas

InGaAs: Arseniuro de Indio y Galio

MGR: Aceite refinado de germen de maíz

MPA: Multi Purpose Analyzer

NIRS: Near Infrared Reflectance Spectroscopy

nm: Nanómetros

OOCB: Aceite de oliva CB 0'4

OOL: Aceite de oliva Light

OP: Aceite de orujo de oliva

OP+RS: Aceite de orujo de oliva + aceite de colza

OSI: Estabilidad oxidativa

pAV: Valor de p-anisidina

PLS: Regresión en Mínimos Cuadrados Parciales

POL: Aceite de oleína de Palma

PTG: Triglicéridos polimerizados

$R^2$ : Coeficiente de determinación de calibración

$R^2_{CV}$ : Coeficiente de determinación para validación cruzada

$R^2_{MAX}$ : Coeficiente de determinación máximo

$R^2_V$ : Coeficiente de determinación para validación externa

RCHO: Aldehídos

RER:

RMSEE: Root Mean Square Error of Estimation

RMSECV: Root Mean Square Error of Cross Validation

RMSEL : Root Mean Square Error of the reference data

RMSEP: Root Mean Square Error of Prediction

$RMSEP_{(C)}$ : Root Mean Square Error of Prediction corrected for bias

RPD: Ratio of standard error of performance to standard deviation

$RPD_{CV}$ : Ratio of standard error of performance to standard deviation for cross validation

SBR: Aceite refinado de soja

SF+E+A: Aceite refinado de girasol, antioxidantes E306 y E304, antiespumante E-900

SFHO: Aceite refinado de girasol alto oleico

SFHO+E+A: Aceite refinado girasol alto oleico, antioxidantes E306 y E304, antiespumante E-900

SFHO+MGR+A: Aceite refinado de girasol alto oleico + Aceite refinado de germen de maíz, antiespumante E-900

SFR: Aceite refinado de girasol

SFR+POL: Aceite refinado de girasol + aceite de oleína de palma

SNV: Standard Normal Variate

TFM: Trabajo Fin de Máster

TPM: Compuestos polares totales

vs: Versus

°C: grados Celsius



## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1:** Espectros con rango espectral completo(800-2500 nm) FT-NIR de muestras representativas del conjunto muestral de aceites de fritura obtenidos con el instrumento MPA Bruker.

**Figura 2:** Resultados de validación para el parámetro acidez

**Figura 3:**Resultados de validación para el parámetro p-Anisidina

**Figura 4:** Resultados de validación para el parámetro compuestos polares totales

**Figura 5:** Resultados de validación para el parámetro índice de peróxidos

**Figura 6:**Resultados de validación para el parámetro estabilidad oxidativa

**Figura 7(a):**Histograma de frecuencia del colectivo de calibración para el parámetro PV

**Figura 7(b):** Histograma de frecuencia del colectivo de validación para el parámetro PV

**Figura 8(a):**Histograma de frecuencia del colectivo de calibración para el parámetro OSI

**Figura 8(b):** Histograma de frecuencia del colectivo de validación para el parámetro OSI

**Figura 9:** Evolución acidez vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas

**Figura 10:**Evolución p-anisidina vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas

**Figura 11:** Evolución compuestos polares totales vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas

**Figura 12:**Evolución peróxidos vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas

**Figura 13:** Evolución estabilidad oxidativa vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas



## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1:** Tipos de aceites empleados en el proceso de fritura y posteriormente analizados

**Tabla 2:** Caracterización química de los parámetros estudiados y valor de RMSEL

**Tabla 3:** Caracterización química de los colectivos de calibración y validación

**Tabla 4:** Estadísticos de validación cruzada para la predicción NIR de los parámetros estudiados (Rango espectral completo; 833.33-2222.22 nm)

**Tabla 5:** Estadísticos de validación cruzada para la predicción NIR de los parámetros estudiados (Rango espectral optimizado)

**Tabla 6:** Estadísticos de Validación externa para las mejores calibraciones obtenidas con OPUS para los parámetros estudiados.

**Tabla 7:** Valores de  $F Prob$  para las muestras detectadas como anómalas para cada uno de los parámetros analíticos



# **Evolución de la calidad de aceites de fritura utilizando Fourier Transform Near Infrared Spectroscopy**

A. Calero<sup>[1]</sup>, E. Muñoz<sup>[2]</sup>, D. Pérez<sup>[2]</sup>, L. Pérez<sup>[1]</sup>, A. Garrido<sup>[2]</sup>

<sup>[1]</sup>Departamento I+D, DEOLEO S.A. Carretera Nacional IV Km. 388. C.P.: 14610 Alcolea (Córdoba). Spain.

<sup>[2]</sup> Departamento de Producción Animal. ETSIAM. Universidad de Córdoba (UCO). Campus de Rabanales Ctra. Nacional IV-km. 396. C.P.: 14071 Córdoba, Spain.



## RESUMEN

Durante el proceso de fritura, todos los aceites, sin importar la fuente de procedencia, presentan cambios nutricionales y cualitativos, incluso llegando a generar elementos tóxicos. Se han desarrollado un gran número de procedimientos analíticos para evaluar los cambios producidos en el aceite de fritura con el fin de determinar cuándo éste debe ser desechado, pero dichos métodos oficiales propuestos por organismos nacionales e internacionales precisan de equipamiento analítico sofisticado, mucho tiempo y personal altamente cualificado. De ahí, la necesidad de desarrollar métodos de análisis automatizados que reemplacen a dichos métodos tradicionales. La tecnología de Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (tecnología NIRS), es una candidata idónea para la determinación, rápida y de bajo coste, de la calidad del aceite de fritura. En esta Tesis Fin de Máster, se ha evaluado la capacidad de un instrumento FT-NIRS MPA Bruker (4500 a 12000  $\text{cm}^{-1}$ ; 833.33 nm a 2222.22 nm) para la predicción cuantitativa de los parámetros acidez (AV), p-anisidina (pAV), compuestos polares totales (TPM), índice de peróxidos (PV) y estabilidad oxidativa (OSI). Se han analizado 562 muestras de aceites de fritura de hasta 14 tipos de aceite distintos, algunos de ellos con aditivos, procedentes de un ensayo de aceites de fritura realizado por el Departamento de I+D, de la empresa DEOLEO S.A. Las calibraciones obtenidas explican el 96%, 95%, 99%, 92% y 91% de las variaciones existentes en AV, pAV, TPM, PV y OSI, existentes en la colección en estudio. La similitud entre los valores del error del método de referencia (RMSEL= 0.01%; 5.86 meqO<sub>2</sub>/kg; 0.26%; 0.93 meqO<sub>2</sub>/kg y 0.10 h para AV, pAV, TPM, PV y OSI, respectivamente) y el error de predicción (RMSEP=0.02; 8.17; 0.53; 2.07 y 0.62). Los resultados obtenidos muestran que la espectroscopía NIR puede reemplazar a los métodos tradicionales, en estudios de degradación termo-oxidativa en aceites de fritura.

**Palabras clave:** deep-fat frying, frying oil quality FT-NIR, acid value, anisidine value, total polar compounds, peroxide value, oxidative stability index

## SUMMARY

During the frying process, all oils, regardless of their source, have nutritional and quality changes, even going to generate toxic elements. A large number of analytical methods have been to evaluated changes in the frying oil in order to determine when it should be discarded. However, these official methods proposed by national and international organizations require sophisticated analytical equipment, long analysis time and highly-qualified staff. Hence, the need to develop automated analysis methods to replace such traditional methods. Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS technology) is an ideal candidate for the rapid and affordable determination of the quality of frying oil. In this Master thesis, it has been evaluated the ability of a FT-NIRS MPA Bruker instrument ( $4500-12000\text{ cm}^{-1}$ ;  $833.33-2222.22\text{ nm}$ ) for the quantitative prediction of parameters such as acid value (AV), p-anisidine value (pAV), total polar compounds (TPM), peroxide value (PV) and oxidative stability (OSI). A total of 562 samples -of frying oil up to 14 different types of oil, some with additives from a frying oils test conducted by the Department of R&D, the company DEOLEO S.A- were used. The calibrations obtained account for 96%, 95%, 99%, 92% y 91% in the variations of AV, pAV, TPM, PV and OSI existing in the collection under study. The similarity between the error values of the reference method (RMSEL=0.01%; 5.86 meqO<sub>2</sub>/kg; 0.26%; 0.93 meqO<sub>2</sub>/kg and 0.10 hours for AV, pAV, TPM; PV and OSI, respectively) and the prediction error (RMSEP=0.02; 8.17; 0.53; 2.07 and 0.62). The results show that NIR spectroscopy can replace the traditional methods in studies of thermo-oxidative degradation in frying oils.

**Keywords:** deep-fat frying, frying oil quality FT-NIR, acid value, anisidine value, total polar compounds, peroxide value, oxidative stability index



## 1. INTRODUCCIÓN

El proceso de fritura es una técnica de procesado de alimentos, ampliamente extendida, mediante la cual se someten los alimentos a un proceso de calentamiento a temperatura elevada (175-180°C), mediante inmersión en aceite y en presencia de aire. No existe ningún otro tipo de procesado de alimentos, que someta a los mismos a condiciones tan extremas de temperatura, y durante un tiempo tan elevado, como es la fritura. Como consecuencia de este proceso de exposición a elevada temperatura, presencia de aire y humedad, y de la interacción entre los componentes de la matriz del alimento y el aceite, si bien se destruyen bacterias, toxinas y ciertos enzimas y se disminuye la humedad relativa del alimento, sin embargo, el proceso de fritura, también afecta negativamente a la calidad del aceite, ya que da lugar a una serie de reacciones químicas, como la hidrólisis y la degradación térmica y oxidativa, que conllevan la disminución de los componentes nutricionales y la formación de algunos compuestos químicos de sabores y olores no deseables e incluso tóxicos<sup>[1, 2]</sup>. Desde el punto de vista industrial y asimismo de los consumidores, interesa que el aceite resista el mayor número de ciclos de fritura posibles, con la mínima alteración de sus propiedades, ya que supone una menor reposición con el consiguiente ahorro económico, al mismo tiempo que se reduce el riesgo de la aparición de sustancias indeseables en el alimento frito. Por lo que si se quiere garantizar un buen uso del aceite, se debe monitorizar cómo evoluciona la calidad del mismo, cuando está expuesto a varias frituras<sup>[3, 4, 5]</sup>.

Las múltiples reacciones que ocurren y la gran diversidad de productos que se generan durante el proceso de fritura han sido estudiados en numerosos trabajos y pueden agruparse en tres grandes categorías: reacciones oxidativas, hidrolíticas y degradaciones térmicas<sup>[3,6-9]</sup>. Los compuestos totales polares (TPM) y triglicéridos polimerizados (PTG) son los parámetros más fiables para la determinación del deterioro de los aceites de fritura. La primera conferencia de “aceites y grasas de fritura usados” organizada por la “Fats of German Society for Fat Science” (DGF) y celebrada en 1995<sup>[10]</sup>, y todas las que han continuado, muestran y discuten la gran cantidad de parámetros analíticos utilizados para el control y evaluación de aceites de fritura, y se propone el valor de p-Anisidina como parámetro útil para evaluar el deterioro oxidativo<sup>[11, 12]</sup>, puesto que cuando las alteraciones oxidativas predominan fuertemente sobre las térmicas, pueden aparecer graves defectos sensoriales antes de que los compuestos polares y PTG lleguen a los límites recomendados. En muchos países se han establecido normativas, dirigidas a

organismos oficiales de control de alimentos, para limitar los compuestos polares de 24 a 27% para así reducir el abuso en el número de frituras con un mismo aceite <sup>[13]</sup>. Concretamente en España, este parámetro está regulado por la Orden de 26 de enero de 1989 por la que se aprueba la Norma de Calidad para los Aceites y Grasas Calentados, la cual indica que el valor de p-anisidina, debe ser inferior al 25%, determinado de acuerdo con el método analítico descrito en dicha orden.

La evaluación de la calidad del aceite de fritura es un tema importante tanto para los operadores de fritura como para los organismos oficiales de control alimentario <sup>[3]</sup>. Para asegurar la calidad de los alimentos fritos, es muy importante minimizar el grado de degradación termo-oxidativa en aceites de fritura. La composición de la grasa en el alimento frito tiene prácticamente la misma composición que la grasa frita usada. Debido a esto, la calidad del aceite determinará la calidad de los alimentos fritos. Según el VI Congreso Internacional en Deep-Frying <sup>[14]</sup>, es altamente recomendable evitar el uso de aceites/grasas con ácidos grasos trans y/o altos niveles de ácidos grasos saturados, puesto que pueden ser de alto riesgo para la salud del consumidor, así como el uso de aceites vegetales ricos en ácido linoleico ya que, a altas temperaturas, éste se descompone en acroleína, la cuál es considerada cancerígena (el aceite de girasol es el más usado para fritura y tiene un 57% de linoleico pero se usa mucho porque es el más económico).

Es importante resaltar, que los cambios en las propiedades del aceite durante el proceso de fritura, están afectados por su naturaleza y asimismo, por la del alimento frito, además de aspectos técnicos como el ratio alimento/aceite, la superficie expuesta al aire y la temperatura <sup>[15, 16]</sup>. Massons *et al.* (1997) <sup>[17]</sup> indican que la patata es la matriz de fritura más idónea para los estudios de evaluación del propio aceite, ya que en relación a otras matrices (precocinados, enharinados, etc.) su interferencia en el aceite es mínima.

Por todo lo anterior es imprescindible, el seguir profundizando en la búsqueda de aceites que mantengan su calidad tras la fritura y al mismo tiempo, profundizar en el estudio de los factores que afectan al deterioro de la calidad. Es imprescindible que haya diferentes pruebas que permitan controlar el proceso de degradación de aceites de fritura. Ningún único parámetro es suficiente para predecir la calidad del aceite y finalmente la calidad del alimento. Sin embargo, los métodos oficiales propuestos por organismos nacionales e internacionales, precisan de equipamiento analítico sofisticado, personal altamente cualificado, requieren un largo tiempo para la preparación de la muestra, son de alto coste y además son métodos lentos. Ello hace que sea difícil y poco realista, el que

puedan ser incorporados de forma rutinaria en laboratorios de industrias, siendo más apropiados para laboratorios oficiales, bien dotados de personal e instrumentación. [18, 19].

Numerosos trabajos científicos han mostrado el potencial de la tecnología denominada “Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano” (tecnología NIRS) para reemplazar a los métodos tradicionales (físico-químicos y sensoriales) de diferentes tipos de grasas y aceites, así como para la autenticación y detección de fraudes [15, 18].

La literatura científica sobre aplicaciones de la tecnología NIRS al análisis de grasas y aceites es abundante [20, 21] pero la relacionada con el análisis de aceites de fritura es más limitada [3]. La tecnología NIRS presenta numerosas ventajas frente al análisis mediante métodos convencionales, si bien los trabajos realizados particularmente por Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup> y Gertz *et al.* (2013)<sup>[19]</sup> sugieren la necesidad de mayor información sobre los factores por separado, que intervienen en el proceso de fritura e indican, que aún hay muchos interrogantes hasta que se generalice dicho método en la industria y laboratorios del mundo.

En las tablas 1, 2, 3 y 4 del Anejo I se recogen los trabajos más recientes relativos al uso de la tecnología NIRS para el análisis de aceites de fritura y se puede observar que, si bien algunos trabajos utilizan instrumentos tales como FossNIRSystemsmodel 6500 y Perkin-Elmer 1600 series FTIR, los trabajos más recientes y que utilizan grandes colecciones de muestras, utilizan el equipo Bruker - MPA FT-NIR, similar al utilizado en nuestro trabajo, siendo todos estos trabajos los realizados por el equipo de investigación del Doctor Gertz. Sin embargo, Gertz y Behmer (2014) <sup>[22]</sup> indican, que es necesario hacer un precalentamiento de aproximadamente 10 minutos en un bloque térmico para evitar soluciones turbias, lo que pensamos, podría no ser clave para obtener ecuaciones de alta capacidad predictiva, y presenta la desventaja del incremento en el tiempo de análisis, ya que conlleva un paso más, previo a la recogida del espectro y asimismo, incrementa el coste del equipamiento necesario para realizar el análisis NIRS.

En cuanto al tipo de aceites, cabe destacar, que la gran mayoría de trabajos NIRS realizados hasta el momento, usan mezclas de aceites de fritura obtenidos de freidurías, restaurantes, etc. cuya composición se desconoce, al igual que se desconoce el número de frituras que han sufrido, el período de tiempo al que han estado sometidos a calentamiento, las temperaturas empleadas para freír los alimentos y la matriz alimentaria utilizada. Además, generalmente, en las freidurías el proceso de fritura es continuo, mientras que en las freidoras domésticas dicho proceso es discontinuo.

De ahí, la importancia de nuestro estudio experimental donde se conocen todos los aspectos citados anteriormente. En primer lugar, se conoce la composición de los distintos tipos aceites, y mezclas entre ellos, usados. No sólo se han evaluado los aceites típicos usados para freír producidos por DEOLEO, sino asimismo en otras industrias, y mejorados químicamente (con la adición de antioxidantes y antiespumantes) para ver la evolución que sufren los mismos al ser sometidos a un proceso de fritura discontinua. En los trabajos revisados, este hecho no se ha contemplado, ya que los aceites eran recogidos de freidurías donde el aceite estaba en continuo calentamiento durante las horas de trabajo de los locales. Sin embargo, en nuestro diseño experimental, el proceso de fritura es discontinuo, como se explica en el apartado de *Material y Métodos*.

Por último cabe destacar que en todos los trabajos de la revisión bibliográfica se desconoce el tipo de matriz alimentaria que emplean durante el proceso de fritura, puesto que en una freiduría, se fríen diversos tipos de alimentos mientras que en nuestro estudio se ha utilizado, una única matriz alimentaria, la patata, pues es el alimento que menos transferencia tiene con el aceite, alterando muy poco las propiedades tanto del aceite como las del alimento. De todos los trabajos realizados, solo uno de ellos, Juárez *et al.* (2011), usó un proceso de fritura discontinuo, utilizando tres matrices de alimentos distintas (milanesas, churros y patatas) <sup>[23]</sup>.

Muchos laboratorios del mundo, tanto pertenecientes a industrias, como de servicios analíticos privados y públicos y de centros de investigación y universidades, realizan trabajos de I+D, utilizando métodos químicos tradicionales, para evaluar la calidad de aceites de fritura. A pesar de ellos, el proceso de fritura todavía es escasamente conocido<sup>[5]</sup>, debido en parte, a la gran cantidad y complejidad de factores que intervienen en dicho proceso y asimismo, a las razones argumentadas anteriormente con respecto a las necesidades de instrumental y personal. Ello provoca por ejemplo, el que muchos de los trabajos relacionados con la evaluación de la calidad de aceites de fritura por métodos tradicionales, solo se realicen en un número reducido de muestras, solo se analicen los parámetros de más fácil implementación y menor coste, muchos no se realicen sobre matrices alimentarias, sino sometiendo solo el aceite a frituras continuas o discontinuas, etc. todo ello complica el avance en el conocimiento de lo que industriales y consumidores desean conocer, esto es, qué aceite o aceites, utilizados en la fritura de muy diversos alimentos, son los más adecuados desde el punto de vista nutricional, organoléptico y de salud.

El objetivo del presente trabajo es doble, de una parte desarrollar y validar ecuaciones para la predicción cuantitativa de acidez, p-anisidina, compuestos polares totales, índice de peróxidos y estabilidad oxidativa y por otra parte, mostrar el valor que la tecnología NIRS podría aportar a los estudios de la calidad de aceites de fritura, para laboratorios de industrias del sector del aceite, y de forma particular para la empresa DEOLEO S.A.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1.Preparación de las muestras

El conjunto de aceites de fritura utilizados está constituido por 14 tipos de aceites vegetales distintos (refinado de girasol, refinado de girasol alto oleico, germen de maíz, refinado de soja, oleína de palma, oliva virgen extra, oliva y diferentes mezclas entre ellos, en algunos casos con antioxidantes añadidos) proporcionados por el departamento de I+D+i de la empresa DEOLEO S.A. donde se llevó a cabo el estudio experimental y descritos en la *tabla 1*.

**Tabla 1: Tipos de aceites empleados en el proceso de fritura y posteriormente analizados**

<b>FRI1</b>	Aceite refinado de girasol( <b>SFR</b> )
<b>FRI2</b>	Aceite refinado de girasol alto oleico( <b>SFHO</b> )
<b>FRI3</b>	Aceite refinado de germen de maíz( <b>MGR</b> )
<b>FRI4</b>	Aceite de refinado de soja( <b>SBR</b> )
<b>FRI5</b>	Aceite refinado de girasol, antioxidantes E306 y E304, antiespumante E-900( <b>SF+E+A</b> )
<b>FRI7</b>	Aceite refinado de girasol alto oleico, antioxidantes E306 y E304, antiespumante E-900( <b>SFHO+E+A</b> )
<b>FRI8</b>	Aceite de oliva virgen Extra( <b>EVO</b> )
<b>FRI9</b>	Aceite de oliva CB 0'4( <b>OOCB</b> )
<b>FRI10</b>	Aceite de oliva light( <b>OOL</b> )
<b>FRI11</b>	Aceite de orujo de oliva( <b>OP</b> )
<b>FRI12</b>	Aceite refinado de girasol + oleína de palma( <b>SFR+POL</b> )
<b>FRI15</b>	Aceite refinado de girasol alto oleico + aceite refinado de germen de maíz, antiespumante E-900( <b>SFHO+MGR+A</b> )
<b>FRI16</b>	Aceite de orujo de oliva + aceite de colza( <b>OP+RS</b> )
<b>FRI17</b>	Aceite de oleína de palma( <b>POL</b> )

El diseño experimental llevado a cabo es algo totalmente novedoso, en el ámbito de investigación en la calidad de aceites de fritura, ya que, la mayoría de estudios que utilizan la tecnología NIRS, analizan aceites recogidos en diversos restaurantes de freiduría, sin saber a cuántas frituras han sido sometidos los mismos o si existen mezclas

de aceites de distintos tipos. En nuestro diseño experimental, los diferentes tipos de aceite fueron sometidos a un proceso de fritura discontinuo, alcanzando los 180-185°C y posteriormente, enfriados hasta los 45-50°C antes de la siguiente fritura. El proceso se realizó por triplicado en tres freidoras idénticas (mismo lote de fabricación y con los mismos usos), completando un número de frituras limitado, hasta llegar al 25% de compuestos polares o como límite 50 frituras. El producto empleado en el proceso de fritura fue la patata, puesto que como hemos indicado anteriormente, es la matriz más idónea para los estudios de evaluación del propio aceite. Tras cada proceso de fritura y, de cada freidora, se recogió un bote de 60 ml de cada muestra de aceite para ser analizada en laboratorio por los métodos de referencia para acidez, índice de peróxidos, compuestos polares totales, p-anisidina y estabilidad oxidativa (rancimat) y posteriormente, analizarlas usando espectroscopía NIR. Un total de 563 muestras de aceites de fritura, procedentes de cada deterioro de fritura en cada tipo de aceite, fueron obtenidas del proceso de fritura.

## **2.2. Análisis de referencia**

Del conjunto total de muestras, cada parámetro analítico fue determinado de acuerdo con las normas internas de DEOLEO S.A. La acidez de las muestras de aceite de fritura fue determinada usando el método CA02-077L (basada en la norma ISO660:2009). Todos los resultados del análisis de acidez fueron expresados en % de ácido oleico. Para la determinación del índice de peróxidos se empleó el método CA02-083L (basado en la norma ISO3960:2010). El método CA02-101L se usó para la determinación del índice de p-anisidina (basado en la norma ISO6885:2008); para la determinación de compuestos polares totales se utilizó la Sonda Testo 270 y por último, para la determinación de la estabilidad oxidativa, se llevó a cabo el test Rancimat (Metrohm 892 Professional Rancimat).

## **2.3. Instrumentación NIRS**

Los datos espectrales fueron recogidos en el instrumento FT-NIR MPA (Multi Purpose Analyzer), Bruker Optik GmbH, dotado de detector InGaAs e interferómetro RockSolid y que permite trabajar por transmisión en el rango espectral comprendido entre 4000 a 12500  $\text{cm}^{-1}$  (800 a 2500nm). Se fijaron como parámetros de recogida de datos espectrales 32 escaneos por segundos con una resolución de 8  $\text{cm}^{-1}$ , usando viales desechables de 8 mm, a una temperatura controlada de 50°C (mediante termostato interno del instrumento).

El tiempo de medida fue aproximadamente de 20 segundos. Todos los datos espectrales fueron recogidos utilizando el software OPUS versión 7.5.

#### **2.4. Tratamiento matemático y estadístico**

Con el fin de predecir los parámetros acidez, índice de peróxidos, compuestos polares totales, p-anisidina y estabilidad oxidativa, se desarrollaron modelos cuantitativos con el programa QUANT del software OPUS 7.5 (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Germany).

Las 562 muestras de aceite de fritura obtenidas durante el proceso de fritura fueron divididas en colectivo de calibración y validación mediante análisis de componentes principales con un pretratamiento de primera derivada + SNV y 17 puntos de suavizado, y a continuación, se seleccionó, con la opción “factorizar” del programa QUANT, un 20% para validación externa y 80% para calibración y validación cruzada.

Para el desarrollo de las ecuaciones de calibración se utilizó el método de regresión PLS (Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales), junto con validación cruzada para la selección del número óptimo de términos de la regresión. Se evaluaron todos los pre-tratamientos de la señal, de derivación y de corrección del efecto Scatter que aparecen en el programa QUANT siendo primera derivada con SNV (Standard Normal Variate) y segunda derivada y, 17 puntos de suavizado en ambos casos, los más frecuentes. También se desarrollaron calibraciones utilizando las dos opciones que ofrece el programa QUANT, esto es la de “regiones de optimización definidas por el usuario” y escribimos el rango completo, y a continuación en la pestaña “optimizar” marcamos NIR para la utilización de una región espectral predeterminada (en nuestro caso, se utilizó el rango espectral completo), así como la opción denominada “NIR” pero sin escribir ningún rango, para la realización de todas las combinaciones posibles de regiones y/o tramos espectrales, calculando la mejor de las regiones en base al menos RMSECV.

La evaluación y elección de los mejores modelos de calibración para cada uno de los parámetros estudiados se realizaron en función de los siguientes estadísticos: RMSEE(Error típico de calibración); RMSECV (Error típico de validación cruzada);  $R^2$  (Coeficiente de determinación de calibración) y  $R^2_{CV}$  (Coeficiente de determinación para validación cruzada), RPD (Ratio of standard error of performance to standard deviation), y CV (Coeficiente de variación), ambos evaluados según los criterios propuestos por Williams y Sobering (1996)<sup>[24]</sup>.

Para la evaluación de los resultados de la validación externa, se empleó el protocolo de validación recomendado por Windham *et al.* (1989)<sup>[25]</sup>, basado en los estadísticos:

RMSEP (Error típico de predicción), RMSEP (c) (Error típico de predicción corregido para el sesgo), bias,  $R^2_v$  (coeficiente de determinación para la validación); estableciéndose como límites: 0.60 x RMSEE para el estadístico bias; 1.30 x RMSEE para RMSEP(c); 0.6 mínimo de  $R^2_v$  [26]. También indica que la diferencia entre las medias y las desviaciones típicas de los valores de laboratorio y los predichos NIRS no deben ser superiores al 20% y que la pendiente de la recta de regresión obtenida entre datos de referencia y los predichos NIRS debe oscilar entre 0,9 y 1,1.

El error típico de laboratorio (RMSEL) representa el error típico de muestras analizadas por duplicado mediante el método de referencia y es un parámetro estadístico de gran importancia para poder evaluar posteriormente los estadísticos de validación y particularmente el RMSEP. La ecuación empleada para su cálculo es:

$$RMSEL = \sqrt{\frac{\sum(Y_1 - Y_2)^2}{2N}}$$

Siendo:  $Y_1 - Y_2$  = Diferencia entre el valor del parámetro en la muestra en la primera medida y en su duplicado.

N = Número de muestras totales que se analizan por duplicado.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Caracterización química de los aceites de fritura

Como se ha comentado anteriormente en el apartado de *Material y Métodos*, un estadístico imprescindible para evaluar posteriormente el error de predicción de las ecuaciones NIR, es el error típico de laboratorio (RMSEL). A pesar de su importancia y ser uno de los parámetros analíticos recomendados a incluir en trabajos científicos NIR, no es frecuente encontrar tal información en la mayor parte de dichos trabajos.

Este error ha sido calculado para cada parámetro estudiado, según la fórmula indicada en *Material y Métodos*. Se realizó el cálculo para las muestras indicadas en la *tabla 2*, analizadas por duplicado por los métodos de referencia y se consideró como valor del RMSEL para cada parámetro, la media del valor obtenido para cada freidora.



**Tabla 2:** Caracterización química de los parámetros estudiados y valor de RMSEL

<b>MEDIA DE LAS TRES FREIDORAS</b>					
	<b>ACIDEZ</b>	<b>P-ANISIDINA</b>	<b>POLARES</b>	<b>PERÓXIDOS</b>	<b>OSI</b>
<b>N</b>	110	105	183	110	110
<b>Rango</b>	0,115-0,575	5,883-171,785	6-25,75	2,11-32,98	0,135-7,62
<b>RMSEL</b>	<b>0,01</b>	<b>5.86</b>	<b>0,26</b>	<b>0,93</b>	<b>0,10</b>
<b>Media</b>	0,29	62,19	17,43	9,18	2,46
<b>CV</b>	3,37	9,43	1,51	10,12	4,14
<b>DT</b>	0,12	36,59	4,40	6,64	1,88
<b>R<sup>2</sup><sub>MAX</sub></b>	0,993	0,974	0,996	0,980	0,997

En la literatura científica NIRS revisada, no se han encontrado datos referentes al cálculo del RMSEL, lo cual sería muy deseable para una posterior comparación de los resultados obtenidos en este proyecto, con los obtenidos por otros autores.

Los datos de la *tabla 2*, una vez estimado el valor de RMSEL son muy útiles y necesarios para calcular el valor de R<sup>2</sup> máximo que se espera pueda obtenerse, teniendo en cuenta dicho valor y la desviación típica (DT) de la población, aplicando la conocida ecuación de Mark y Workman (1991) [27]:

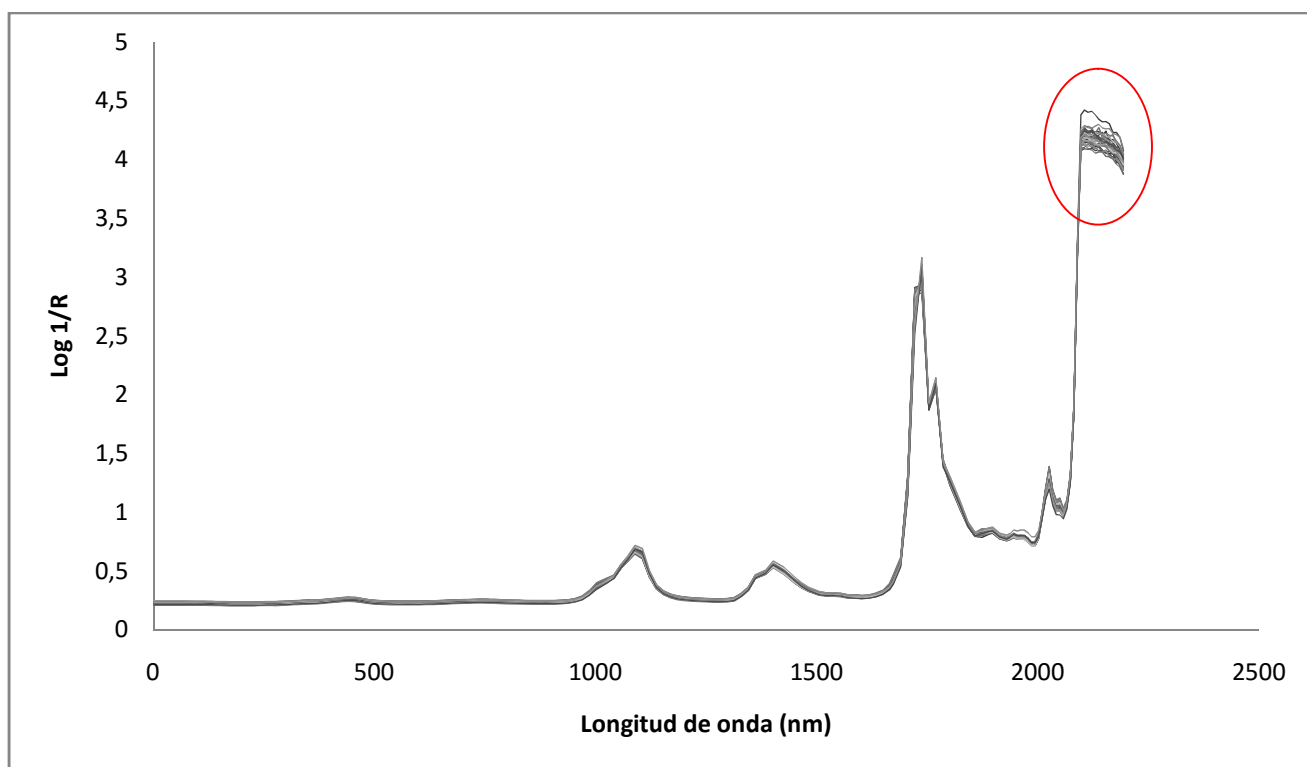
$$R^2_{MAX} = 1 - (RMSEL/DT)^2$$

Como se observa el R<sup>2</sup><sub>MAX</sub> es para todos los parámetros analíticos mayor de 0,97, lo cual indica que la magnitud del error del método de referencia frente a la DT de las muestras es muy bajo, lo que es muy deseable para disminuir la incertidumbre de la estima, y abre enormes expectativas sobre la posibilidad de obtención de ecuaciones de alta capacidad predictiva, ya que el RMSEL está incluido en los valores del error de las calibraciones (RMSEE, RMSECV, RMSEP).

### **3.2.Optimización de la señal espectral**

Un aspecto crítico en la evaluación de un determinado instrumento y/o modo de análisis NIRS es el de conocer si el rango total del que disponemos es adecuado o existen regiones del mismo que presentan altos niveles de ruido, y por tanto, una baja calidad de la señal espectral. En la *figura 1* están representados los espectros de un determinado número de muestras, representativas de todas las tipologías de aceites estudiados en este

trabajo, para el rango espectral completo proporcionado por el equipo utilizado, que comprende desde 800 hasta 2500 nm.



**Figura 1:** Espectros con rango espectral completo FT-NIR de muestras representativas del conjunto muestral de aceites de fritura obtenidos con el instrumento MPA Bruker (800-2500 nm)

En la *figura 1* podemos observar que la región inicial tiene unos niveles de absorbancia de prácticamente cero, y en la región final se aprecia un alto nivel de ruido, visible a simple vista ya que muestra máximos y mínimos muy acusados en dicha región y sin un patrón claro. Los picos más relevantes en la región NIR (1725 nm, 1760 nm; 2144 nm; 2308 nm; 2350 nm y 2382 nm) coinciden con los observados en otras grasas y aceites por diferentes autores (Murray y Williams, 1987<sup>[28]</sup>; Shenk y Westerhaus, 1995a<sup>[29]</sup>; Garrido *et al.*, 2004<sup>[20]</sup>).

Para poder delimitar de forma más precisa la región espectral a estudiar, Hruschka<sup>[30]</sup> y McClure<sup>[31]</sup> indican que, mediante el pre-tratamiento de los datos espectrales con una derivada de primer orden, un segmento de derivación de un “datapoint” y sin suavizado, es posible resaltar aquellas zonas del espectro que presentan oscilaciones aleatorias en los valores de absorbancia. Dado que el programa QUANT no permite realizar suavizado de un data point, se ha utilizado, en este caso, el mínimo disponible en dicho software, que

es de 5 data points. Tras la aplicación de dicha derivada ( no se muestran resultados) se observa, que la región de trabajo óptima es la comprendida entre 12000 y 4500  $\text{cm}^{-1}$  (833.33 nm a 2222.22 nm), siendo esta la seleccionada para el posterior trabajo de desarrollo de calibraciones.

### 3.3.Desarrollo de calibraciones para la predicción de la composición química de aceites de fritura.

El programa QUANT realiza la selección del colectivo de calibración y validación usando el análisis de componentes principales (ACPs), utilizando la información correspondiente a la proyección de las muestras en el espacio definido por las dos primeras componentes principales, para la selección de las muestras de calibración y validación. Tras la realización de dicho análisis, se seleccionó del colectivo total (N=562) un 80% para calibración y validación cruzada y un 20% de muestras para validación externa, como se ha explicado en el apartado anterior de *Material y Métodos*. Puesto que no todas las muestras poseían datos de referencia para todos los parámetros analíticos estudiados, en la *tabla 3* se recogen los estadísticos media, desviación típica (DT), rango y coeficiente de variación (CV) correspondientes a los colectivos de calibración y validación, así como el número de muestras que conforman cada grupo. Como puede observarse, el colectivo de validación está formado por muestras representativas del total de la varianza y comprendido entre los valores máximos y mínimos establecidos por el grupo de calibración para los parámetros estudiados.

**Tabla 3: Caracterización química de los colectivos de calibración y validación**

	Colectivo de Calibración				Colectivo de Validación			
	Nº muestras	Rango	Media	DT	Nº muestras	Rango	Media	DT
Acidez (%)	274	0.09-0.58	0.28	0.12	69	0.1-0.57	0.29	0.13
p-Anisidina (meqO <sub>2</sub> /kg)	263	1.59-173.66	60.10	38.33	66	3.55-144.75	57.77	36.01
Polares (%)	449	6-26	17.22	4.41	113	7-25.5	17.43	4.85
Peróxidos (meqO <sub>2</sub> /kg)	274	0.72-35.53	8.77	6.40	69	1.05-33.94	9.47	7.33
OSI (h)	274	0.1-10.21	2.61	2.00	69	0.15-7.73	2.51	2.04

Desarrollar calibraciones NIR para su uso práctico en la industria oleícola, requiere disponer de un elevado número de muestras representativas de los aceites que en el futuro quieran ser analizados en rutina en dicha industria, tanto para sus trabajos de I+D, como

para el control de calidad de los aceites que se comercializan. Además de la necesidad de disponer de estas grandes bases de datos, para el desarrollo y validación de calibraciones, los resultados mostrados en la *tabla 3*, han permitido caracterizar químicamente un elevado número de muestras de aceites crudos y sometidos a frituras, algo poco habitual en los trabajos clásicos de estudios de evolución de la calidad en aceites de fritura, donde por las restricciones debidas al alto coste analítico, en general el número de muestras, tipos de aceites, número de frituras, etc, es muy reducido.

Por tanto, consideramos, que los datos de la *tabla 3* constituyen, por sí mismos, una información de alto interés científico y técnico, al haber sido obtenidos con muy diferentes tipologías de aceites, varias freidoras, varios tiempos de fritura discontinua y utilizando una matriz alimentaria (patata).

Resaltar, que para el parámetro acidez se observan valores tan bajos como 0,09 (correspondiente al aceite de refinado de soja (SBR)) hasta valores máximos de acidez de 0,58 alcanzado por la muestra de aceite refinado de girasol alto oleico (SFHO) en la fritura número 50, que como hemos indicado se fijó como uno de los criterios de selección del número de frituras.

El hecho de encontrar valores tan bajos de acidez se explica porque nuestro estudio incluye aceites refinados procedentes de semillas como girasol, colza, germen de maíz, etc. que en crudo tienen un valor de acidez entorno a 0,1-0,2%. En el caso de compuestos polares totales, el máximo valor obtenido es 26 (correspondiente al aceite refinado de girasol), ya que el diseño experimental fijaba como criterio el número de frituras que no superara el máximo de 25% TPM, que fija la reglamentación española vigente. En cuanto a los peróxidos, como es de esperar, se observa una amplia variabilidad (0,72-35,53) siendo el aceite refinado de germen de maíz al que corresponde el valor más bajo (0,72) y el aceite de oliva CB 0'4 corresponde al valor más alto (35,53). Otros estudios relativos a la evolución química de aceites de fritura muestran rangos más restringidos en algunos o varios de estos parámetros (András *et al.*, 2010<sup>[32]</sup>) e incluso muy superiores (Gertz y Behmer, 2014<sup>[22]</sup>; Gertz *et al.*, 2013<sup>[19]</sup>; Choo Lum *et al.*, 2007<sup>[33]</sup>). Es obvio, que las diferencias en las tipologías de aceite, el tipo de matriz alimentaria, la temperatura de fritura, etc., son las causas responsables de estas diferencias.

Como se ha indicado en el apartado de *Material y Métodos*, se desarrollaron calibraciones tanto para la región completa de trabajo (833.33 nm a 2222.22 nm) como para diferentes regiones espectrales, como es habitual en los trabajos FT-NIR realizados. Asimismo se ensayaron diferentes pre-tratamientos de la señal. En las *tablas 4 y 5* se

recogen los estadísticos correspondientes a las calibraciones NIRS desarrolladas para la predicción de la composición química de aceites de fritura, para el rango espectral completo y para el mejor rango espectral seleccionado, tras el proceso de optimización realizado por el programa QUANT del software OPUS.

**Tabla 4: Estadísticos de validación cruzada para la predicción NIR de los parámetros estudiados (Rango espectral completo; 833.33-2222.22 nm)**

Parámetro	N	Rango	Pre-tratamiento	PLS	$R^2_{cv}$	RMSECV	RPD	RER	CV RMSECV
Acid value (AV)	274	0.09-0.58	1ª Derivada +SNV	16	0.97	0.02	5.51	24.50	7.14
p-Anisidine value (AnV)	260	1.59-173.66	2ª Derivada	19	0.96	7.51	5.08	22.91	12.50
Total Polar Compounds (TPM)	449	6-26	2ª Derivada	19	0.99	0.52	8.55	38.46	3.02
Peroxides value (PV)	274	0.72-35.53	1ª Derivada	13	0.90	2.00	3.20	17.41	22.81
Oxidation Stability (OSI)	270	0.1-10.25	1ª Derivada + MSC	19	0.94	0.48	3.95	21.15	18.39

Comparando las tablas anteriores, se puede observar que los estadísticos tradicionales para evaluar los resultados en validación cruzada, tales como  $R^2_{cv}$  y, RMSECV, utilizando tanto el rango completo, como el rango seleccionado como óptimo por el programa QUANT, son muy similares en ambos casos, e incluso ligeramente mejores en el caso de las calibraciones desarrolladas con el rango completo. Por tal razón, se optó por aquellas ecuaciones obtenidas con el rango espectral completo. Sorprende el hecho de que la región espectral óptima para el parámetro p-anisidina sea muy reducido (2022,29-2254,38 nm). Conviene indicar que el fundamento del análisis de p-anisidina es de la formación de una base de Schiff de color amarillo, entre el reactivo y el grupo carbonilo de los compuestos que se han formado en la degradación del aceite, fundamentalmente aldehídos (RCHO)<sup>[11]</sup>. Los picos de absorción presentes en diferentes grasas y aceites en la región espectral considerada como óptima para p-anisidina, han sido relacionados con el segundo sobretono de enlaces C-H y combinaciones de este con otros grupos. Además se ha mostrado que las absorciones a 2150 y 2190 nm<sup>[20]</sup> incrementa, cuanto mayor es el grado de insaturación de una grasa. Por todo ello, parece lógico que esta región sea de gran importancia para cuantificar los compuestos de oxidación secundaria, medidos por el método de p-anisidina.

Tabla 5: Estadísticos de validación cruzada para la predicción NIR de los parámetros estudiados (Rango espectral optimizado)

Parámetro	N	Rango	Región espectral (nm)	Pre-tratamiento	PLS	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RMSECV	RPD RMSECV	RER RMSECV	CV RMSECV
Acid value (AV)	274	0.09-0.58	1024.32-1333.62 2022.29-2254.38	1ª Derivada +SNV	20	0.97	0.02	5.63	24.50	7.14
p-Anisidine value (pAV)	260	1.59-173.66	2022.29-2254.38	Normalización vectorial (SNV)	18	0.97	6.70	5.71	25.68	11.15
Total Polar Compounds (TPM)	449	6-26	1332.94-1639.83 1834.80-2246.59	Normalización vectorial (SNV)	16	0.99	0.49	9.05	40.82	2.85
Peroxides value (PV)	274	0.72-35.53	832.28-1333.62 1834.80-2174.95	1ª Derivada + Sustracción de línea recta	11	0.92	1.75	3.65	19.89	19.95
Oxidation Stability (OSI)	270	0.1-10.25	1332.94-1639.83 1834.80-2262.29	Normalización vectorial (SNV)	18	0.93	0.54	3.71	18.80	20.69

En cuanto al posible efecto del pre-tratamiento del dato espectral, como se observa en las *tablas 4 y 5*, no parece existir una tendencia concreta que permita realizar recomendaciones para el uso preferente de uno frente a otros. Fernandez-Cabanás *et al.* (2007)<sup>[34]</sup>, utilizando un programa automático de calibración evalúan un total de 49 combinaciones de pre-tratamientos de la señal espectral usando diferentes derivadas y correcciones de Scatter, para el desarrollo de ecuaciones en grasa animal y concluyen, que el espectro de grasa animal (muy similar al de grasa vegetal) presenta picos de ancho de banda muy pequeños (contrariamente a los que ocurre en otros productos agroalimentarios) y que por tanto, las calibraciones son muy sensibles a dichas combinaciones de pre-tratamientos, no siendo posible el dictar recomendaciones de un tratamiento determinado. Nuestra experiencia con el trabajo NIRS en diferentes tipos de grasas y los resultados mostrados en las *tablas 4 y 5*, confirman que es recomendable siempre el evaluar, con cada colectivo en estudio, diferentes pre-tratamientos. En los trabajos de revisión NIRS consultados (*tabla 2* del Anejo I), tampoco es posible concluir sobre este aspecto, observándose como para el mismo parámetro analítico (por ejemplo, p-anisidina) unos autores, como Gertz *et al.*, (2013)<sup>[19]</sup> utilizan como pretratamiento primera derivada con normalización y otros, como Andrés *et al.* (2010)<sup>[32]</sup>, segunda derivada.

Es importante destacar que los valores del estadístico  $R^2_{cv}$  son muy elevados (0.90-0.99), para todos los parámetros analíticos evaluados. De acuerdo a los criterios establecidos por Shenk y Westerhaus (1991b)<sup>[26]</sup> las calibraciones con coeficientes de determinación superiores a 0.90, pueden considerarse como de una precisión y exactitud excelente. Es sabido que el RMSECV por sí mismo, no debe ser evaluado, salvo que los colectivos de calibración tuvieran idéntica media, DT, rango y cobertura del mismo. Lo cual no es frecuente. En su lugar se propone, el utilizar asimismo otros estadísticos que permiten estandarizar el valor del RMSECV, bien sea a nivel de la DT (RPD) del rango (RER) y de la media (CV%). En nuestro caso, todas las calibraciones superan las recomendaciones establecidas para los valores de RPD y RER por Williams y Norris (2001)<sup>[35]</sup>, quienes indican que valores de RPD entre 3 y 5, y valores de RER mayores que 10, son deseables para asegurar la correcta utilización de una calibración NIR para su uso en control de calidad. Resaltar que las calibraciones con valores mayores de RPD y RER son los correspondientes a compuestos polares totales (RPD= 8.55 y RER= 38.46) y los menores, correspondientes al resto de parámetros, acidez, p-anisidna, índice de peróxidos y

estabilidad oxidativa, aunque ambos estadísticos siempre se sitúan por encima de los límites recomendados (*tabla 4*).

El realizar comparaciones de los estadísticos NIR obtenidos por diferentes autores no es tarea fácil, pero afortunadamente existen recomendaciones científicas sólidas para ello. Así, es importante tener en cuenta cuando se evalúan ecuaciones NIR, lo que Fearn (2014) <sup>[36]</sup> indica en su artículo sobre “uso y abuso” del estadístico  $R^2$ . Concretamente dicho autor indica, que mientras el estadístico  $R^2$  es un estadístico muy útil, para evaluar calibraciones NIRS presenta ciertas limitaciones, siendo una de las principales, el hecho de que dicho estadístico es igual a  $1/(1-R^2)$ , por tanto, depende asimismo, del rango de valores del parámetro en el colectivo en estudio. Por tal razón, Fearn (2014) <sup>[36]</sup> indica, que ambos estadísticos probablemente no son los más adecuados cuando se comparan calibraciones para el mismo analito, en diferentes ensayos, como por ejemplo en una revisión de la literatura. En las *tablas 4 y 5* se confirma este hecho, ya que se observa una correlación elevada entre el estadístico  $RPD_{cv}$  y el valor  $R^2_{cv}$ . Así, por ejemplo, los mínimos valores de ambos estadísticos se obtienen para el parámetro PV y los más elevados para TPM (*tablas 4 y 5*).

Como primera aproximación para comparar las calibraciones aquí desarrolladas, con las obtenidas por otros autores utilizaremos los estadísticos  $R^2$ , RPD, RER y CV, los cuales en los casos que no aparecían reflejados en los trabajos correspondientes, han sido calculados expresamente por los autores de este trabajo, para posibilitar la discusión de los resultados.

#### ➤ ACIDEZ

La literatura científica NIRS revisada (*tabla 1* del Anejo I) muestra valores de  $R^2$  comprendidos entre 0,93 y 0,97, para el parámetro AV, siendo el valor de  $R^2_{cv}$  de 0,97, similar al obtenido por Gertz y Behmer (2014) <sup>[22]</sup> (*tabla 1* del Anejo I). Teniendo en cuenta las diferencias existentes entre los diferentes ensayos, en cuanto a la tipología de aceite, características químicas de los diferentes colectivos utilizados por diferentes autores, etc., en esta primera aproximación además del estadístico  $R^2$ , realizaremos la comparación con los estadísticos RPD y RER. Con respecto al primero, los valores de 3.13 y 3.91 obtenidos por Andrés *et al.* (2010) <sup>[32]</sup> son inferiores al obtenido en el presente trabajo (RPD=5.51). Estos resultados hacen sospechar que el valor del RMSEL para el parámetro de acidez de los datos de dichos autores, sea superior al obtenido en nuestro



trabajo, ya que si tenemos en cuenta los valores del otros estadístico que conforma el valor del RPD, esto es la DT, cabría esperar RPD similares al obtenido en nuestro trabajo, ya que la DT de los colectivos utilizados por Andrés *et al.* (2010)<sup>[32]</sup> son muy similares e incluso muy superiores en uno de los casos, (0.15 y 0.72) a la DT de nuestro colectivo (0.12) .

Una situación similar ocurre con los valores del RER, en este caso, dicho estadístico está muy influenciado por el valor mínimo y máximo (rango) del colectivo de calibración. Andrés *et al.* (2010)<sup>[32]</sup> obtuvieron unos valores de RER de 11.25 (para aceite de girasol) y 12.72 (aceite de semilla del colza), en nuestro caso el valor del RER es de 23.33, lo cual puede explicarse por el menor rango del colectivo de calibración utilizado por Andrés *et al.* (2010)<sup>[32]</sup> (0.23-0.77 en el caso del aceite de girasol y 0.15-2.49 en el aceite de semilla del colza) en relación al nuestro (0.09-0.58). En cambio, Gertz *et al.* (2013)<sup>[19]</sup> obtienen un valor RER de 34.85, superior al nuestro, lógica consecuencia del muy superior rango del colectivo de calibración (0.05-9.67) utilizado por dichos autores, probablemente debido a que se trata de aceites de diversa tipología con numerosas frituras puesto que son aceites recogidos de freidurías.

### ➤ p-ANISIDINA

La aplicación NIR en la estimación de la p-Anisidina puede ser muy importante para la práctica en la industria oleícola porque este parámetro es tóxico y una rápida estimación de su toxicidad puede ser valiosa <sup>[37]</sup>. Por tal razón, entre otras, ha sido uno de los parámetros más estudiados en los últimos estudios científicos NIRS revisados (*tabla 2* del Anejo I). Para una mejor comparación de los resultados obtenidos con los de otros autores, usaremos los estadísticos  $R^2_{cv}$ , RPD y RER. Con respecto al primero, el grupo de investigación dirigido por Gertz obtiene un valor de 0.95 en ambos estudios sucesivos (2013 y 2014)<sup>[19,22]</sup>, valor este muy similar e incluso inferior, al obtenido en el presente trabajo(0,96), si bien, dichos autores citan valores de RER de 25.23 y 28.55 ligeramente superiores al nuestro (RER=22.91), lo cual viene explicado por el uso de un rango ligeramente más amplio del colectivo de calibración (0.1-177.9) con respecto al usado en este trabajo(1.59-173.66).

Como se puede observar en la *tabla 2* del Anejo I, Andrés *et al.* (2010)<sup>[32]</sup> para la predicción de p-Anisidina en aceites de semilla de colza y de girasol, obtuvieron valores de RPD de 1.46 y 1.02, respectivamente muy inferiores, al mostrado en la *tabla 4*(5.08).

Ello se podría atribuir principalmente al hecho, del alto valor del RMSECV (27.78 y 28.66) que obtuvieron frente al nuestro (RMSECV= 7.51). Este error tan elevado podría explicarse en parte, por el modo en que se analiza el material, puesto que las muestras son recogidas a temperaturas concretas durante el proceso de fritura, por tanto un error en la precisión del tiempo supone un mayor error a la hora de determinar químicamente la muestra. De nuevo también emitir la hipótesis probable, acerca del RMSEL para el parámetro p-anisidina de los datos de Andrés *et al.* (2010)<sup>[32]</sup>, en relación al reflejado en la tabla 2.

### ➤ COMPONENTES POLARES TOTALES

En los artículos científicos NIRS revisados (*tabla 3* del Anejo I), los valores de  $R^2$  obtenidos por diferentes autores, son muy elevados (0.96-0.99). Concretamente, Choo Lum *et al.* (2007)<sup>[33]</sup> obtuvo un valor de  $R^2$  de 0.99, igual al obtenido en este proyecto. Puesto que todos los autores analizan muestras procedentes de freidurías, con composición, tiempo de fritura y matriz desconocida, es necesario el estudio de otros estadísticos como RER y RPD para poder comparar con mejor exactitud los resultados obtenidos en esta tesis con los de otros autores. De este modo, los valores de 30.94 y 21.83 obtenidos por Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup> y Gertz *et al.* (2013)<sup>[19]</sup> para el estadístico RER, son inferiores al obtenido en el presente trabajo (RER=38.83), a pesar de que dichos autores usan un rango mucho más elevado (1.8-46.1 y 1.8-50.3, respectivamente) que el usado por nosotros (6-26), el cual está limitado por el máximo de 26% TPM establecido en la normativa vigente.

Sin embargo, como se observa en la *tabla 3* del Anejo I, Choo Lum *et al.* (2007)<sup>[33]</sup>, que obtuvo un valor  $R^2$  (0.99) igual al nuestro, presenta un valor RPD=4.70 con un pretratamiento de 1ª derivada, mientras que el RPD obtenido en el presente trabajo es de 8.55, con un pretratamiento de 2ª derivada usando un rango tres veces más pequeño (6-26) al empleado por dicho autor (2.18-62.93). También destacar que la región espectral utilizan dichos autores es la comprendida entre 700-1100 nm, mientras que nosotros evaluamos el rango completo (800-2500 nm). Además es muy probable que el RMSEL de los datos de dichos autores sea superior al obtenido en nuestro trabajo.

## ➤ **ÍNDICE DE PERÓXIDOS**

El valor del  $R^2$  (0.90), obtenido en este trabajo, se encuentra comprendido en el rango de valores para este estadístico (0.89 y 0.99) obtenidos por otros autores (*tabla 4* del Anejo D).

Cabe destacar que de todos los parámetros analíticos estudiados, las calibraciones para PV, son las que alcanzan más bajos valores de  $R^2$ , RPD y RER, si bien todos ellos dentro de los límites recomendados. Esto también es frecuente en calibraciones NIRS desarrolladas por otros autores, utilizando diferentes tipos de aceites crudos y se explica principalmente por los mayores errores intralaboratorio de esta determinación frente a la de otros parámetros analíticos<sup>[20]</sup>. De hecho, en la *tabla 2* se confirma que el CV del PV es el más elevado de todos los parámetros analíticos estudiados.

András *et al.* (2010)<sup>[32]</sup> obtiene valores de RPD para PV de 1.8 y 3.67 para aceite de colza y girasol respectivamente. Sin embargo, Yildiz *et al.* (2001)<sup>[38]</sup> obtuvo un RPD de 11.1, si bien este último estudio ha sido realizado utilizando un único tipo de aceite (soja) sometido a condiciones de oxidación poco representativas de la fritura industrial y/o doméstica. El valor obtenido en nuestro trabajo (RPD=3.20), se encuentra más cercano al obtenido por Andrés *et al.* (2010)<sup>[32]</sup>, en las calibraciones desarrolladas para aceite de girasol. Esta similitud parece lógica ya que nuestro colectivo tiene una muy alta representación de aceite de girasol frente al de colza.

En el caso del estadístico RER, Andrés *et al.* (2010)<sup>[32]</sup> obtuvieron valores de 9.22 y 15.08 para aceites de colza y de girasol. De nuevo, se confirma, que el valor de este estadístico, obtenido en nuestro trabajo (RER=17.05), si bien superior, es mas comparable al obtenido por dichos autores en las calibraciones de aceite de girasol.

## ➤ **ESTABILIDAD OXIDATIVA**

En la revisión bibliográfica realizada no se han encontrado ningún trabajo de obtención de calibraciones NIRS, para el parámetro estabilidad oxidativa, siendo este parámetro de valor informativo para evaluar la estabilidad al calor de los aceites de fritura<sup>[39]</sup>. El método de rutina utilizado para su determinación es el test Rancimat, un análisis de referencia tedioso que si bien no nos garantiza o predice el comportamiento real futuro de un aceite de fritura, sin embargo resulta muy útil para evitar la introducción de aceites de baja estabilidad en la producción<sup>[4]</sup>. Dado lo tedioso de dicho método, y teniendo en cuenta los estadísticos obtenidos  $R^2_{CV}$  (0.94), RPD (3.95) y RER (21.28) podemos decir,

que las calibraciones obtenidas son de una excelente capacidad predictiva y de alto valor para su uso en rutina en el laboratorio de DEOLEO, SA, y otros laboratorios.

### 3.4. Validación externa de las calibraciones

Las mejores ecuaciones obtenidas en calibración para los distintos parámetros fueron validadas externamente. El número de muestras utilizadas para la validación y para cada uno de los parámetros analíticos, junto con los estadísticos de validación, se muestran en la *tabla 6*.

Un primer comentario a los datos de la *tabla 6*, es la confirmación de la excelente precisión y exactitud de las ecuaciones desarrolladas, cuando las mismas se utilizan para predecir muestras que no han contribuido a la obtención de las calibraciones. Así los valores del estadístico  $R^2_V$ , son de nuevo superiores a 0.9 en todos los casos, y los valores de RPD y RER superan asimismo, a los criterios establecidos por Williams (2001)<sup>[35]</sup>. En cuanto a los valores del RMSEP estos son, ligeramente superiores a los valores de RMSECV, lo cual confirma que dicho estadístico, es un buen estimador del RMSEP<sup>[40]</sup>, cuando se utiliza un procedimiento de validación cruzada adecuado.

Diversos autores indican, que la correcta interpretación del valor del RMSEP (estadístico que indica la incertidumbre de la estima), debe realizarse mediante su comparación con los valores del RMSEL<sup>[41, 42, 36]</sup>. Sin embargo y como hemos indicado anteriormente esto no es frecuente en los trabajos NIRS. En nuestro caso los datos mostrados en la *tabla 2*, nos permiten confirmar que los valores de RMSEP en relación al RMSEL son de 2.34; 1.32; 2.10; 2.11 y 6.2 para AV, pAV, TPM, PV y OSI respectivamente. Shenk y Westerhaus (1996)<sup>[41]</sup> señalan que valores del RMSEP de 1-1.5 y de 2-3 veces el valor del ETL, indican una incertidumbre de la estima excelente y elevada respectivamente, y que las ecuaciones son adecuadas para su uso en rutina. El elevado valor alcanzado para esta relación en el caso de OSI, podría ser explicado si se tiene en cuenta, la elevada diferencia existente entre los valores de OSI, de los aceites crudos y los sometidos a fritura. Por tanto, quizás hubiera sido más correcto, haber asegurado una ponderación más adecuada de muestras de fritura y aceites crudos, en el colectivo utilizado para la estima del ETL (*tabla 1*). En la revisión bibliográfica revisada (*tablas 1-4* del Anejo I) se observa que a excepción de los trabajos de Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup> y Gertz *et al.* (2013)<sup>[19]</sup>, ningún trabajo realiza validación externa de las calibraciones, aspecto este de gran importancia para evaluar la capacidad de ecuaciones NIRS para su posterior uso en

**Tabla 6:** Estadísticos de Validación externa para las mejores calibraciones obtenidas con OPUS para los parámetros estudiados.

<b>Parámetro</b>	<b>N</b>	<b>Rango</b>	<b>Media</b>	<b>DT</b>	<b>R<sup>2</sup><sub>v</sub></b>	<b>RMSEP</b>	<b>RMSEP<sub>C</sub></b>	<b>RMSEP<sub>C</sub> límite</b>	<b>Pen- diente</b>	<b>Bias</b>	<b>Bias límite</b>	<b>RPD RMSEP</b>	<b>RER RMSEP</b>	<b>CV RMSEP</b>
<b>Acid value (AV)</b>	69	0.1-0.57	0.29	0.13	0.96	0.0234	0.0221	0.023	0.95	-0.001	±0.01	5.32	20.09	8.07
<b>p-Anisidine value (pAV)</b>	66	3.55- 144.75	60.10	36.01	0.95	7.74	7.67*	6.994	0.97	1.370	±3.23	4.69	18.24	13.40
<b>Total Polar Compounds (TPM)</b>	113	7-25.5	17.43	4.85	0.99	0.547	0.538*	0.521	0.97	-0.003	±0.24	8.84	33.82	3.14
<b>Peroxide value (PV)</b>	69	1.05- 33.94	9.47	7.33	0.93	1.96	1.97	2.067	0.90	0.005	±0.95	3.72	16.78	20.70
<b>Oxidation Stability (OSI)</b>	69	0.15- 7.73	2.51	2.04	0.91	0.62	0.615*	0.441	0.86	0.107	±0.20	3.32	12.22	24.70

rutina. Además los trabajos realizados por el Dr. Gertz y su equipo, son los más adecuados para realizar la comparación con los resultados obtenidos en el presente trabajo, ya que ambos han sido realizados con un instrumento similar. Desafortunadamente, la información disponible en ambos trabajos, no nos ha permitido conocer el RMSEL de cada uno de los parámetros analíticos, para los datos mostrados, ni asimismo los estadísticos RPD y CV, aspecto este que hubiera sido muy deseable, para realizar una mayor discusión de las razones de las diferencias, en la capacidad predictiva de las ecuaciones desarrolladas en uno y otro trabajo. A pesar de estas limitaciones, podemos decir que los valores del estadístico  $R^2_v$  son muy similares a los obtenidos en este proyecto, 0.96 para AV, 0.95 para p-AV y 0.96 para TPM. Éste último, es incluso inferior si los comparamos al nuestro,  $R^2_v$  de 0.99.

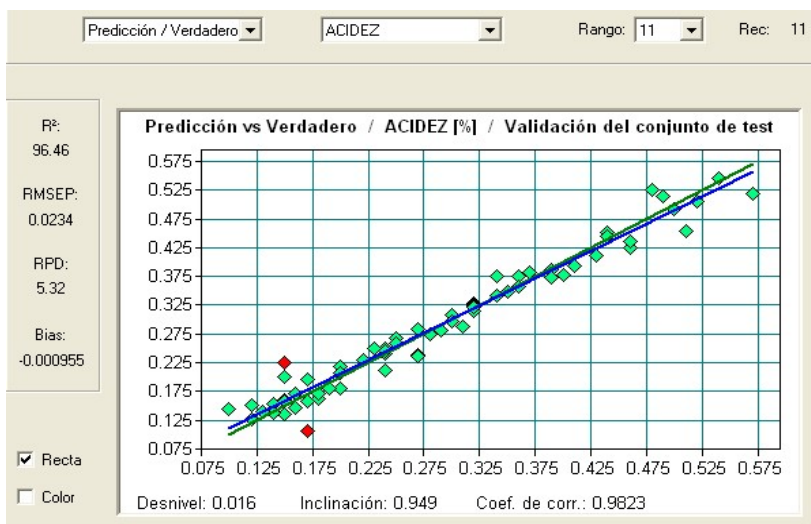
En cuanto al valor del RER (estadístico que nos permite estandarizar el valor del RMSEP), para poder comparar nuestros datos con los obtenidos por Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup> y Gertz *et al.* (2013)<sup>[19]</sup>, podemos concluir que para los parámetros contemplados en los trabajos anteriores los valores del RER (acidez 32.95-26.98; p-anisidina 25.23-28.55, polares 21.83-30.94), son de un orden muy similar a los obtenidos en el presente trabajo. Las pequeñas diferencias existentes, en los valores de  $R^2_v$  y RER, entre los datos obtenidos por Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup> y Gertz *et al.* (2013)<sup>[19]</sup> y los nuestros, pueden atribuirse a las diferencias en las características de las muestras utilizadas. Así mientras Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup> analizan muestras recogidas de freidurías donde se desconoce su composición y el tiempo de fritura al que han estado sometidos y Gertz *et al.* (2013)<sup>[19]</sup> estudian mezclas de aceites de composición también desconocida en distintos grados de oxidación y en distintos laboratorios, en nuestro caso y como se ha indicado anteriormente, conocemos cada tipo de aceite, su mezcla, su grado de oxidación y de fritura etc; lo que hace que los rangos para los parámetros analíticos estudiados sean muy diferentes. En el caso de la acidez, Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup> y Gertz *et al.* (2013)<sup>[19]</sup> evalúan aceites con rangos mayores (0-5.7 y 0.05-9.7) a los empleados en este trabajo (0.09-0.58) y esto, como hemos indicado anteriormente, afecta tanto al valor del  $R^2$  como al RER. Una ventaja adicional de las calibraciones aquí desarrolladas, con respecto a las obtenidas por Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup>, es el hecho de que el análisis FT-NIRS realizado por Gertz y Behmer (2014)<sup>[22]</sup> incluye una etapa de precalentamiento de las muestras durante 10 minutos en un bloque térmico para evitar

soluciones turbias, lo que no solo incrementa el tiempo de análisis sino asimismo añade al coste del instrumento y software el correspondiente al bloque calefactor.

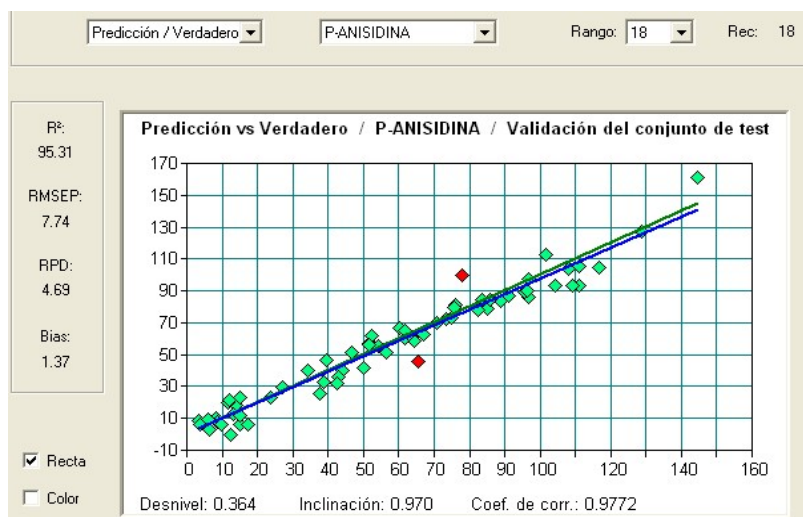
En nuestro caso, cada vial con la correspondiente muestra a analizar se introduce en el instrumento FT-NIR sin previo calentamiento, es decir, cuando se somete a la fritura, se deja enfriar a temperatura ambiente y posteriormente en el instrumento alcanza la temperatura de 50°C a la que trabaja dicho instrumento para recoger su espectro.

Finalmente y como se observa en la *tabla 6*, los estadísticos de validación  $RMSEP_{(c)}$ , bias y pendiente, cumplen en la mayoría de los casos, para todos los parámetros estudiados, los criterios recomendados por Windham *et al.* (1989)<sup>[25]</sup>. Una excepción la constituye el hecho de que para las ecuaciones de p-anisidina, compuestos polares totales y estabilidad oxidativa, el  $RMSEP_{(c)}$  supera el valor límite de dicho estadístico, si bien en el caso de pAV y TPM, los valores del  $RMSEP_{(c)}$  y del  $RMSEP_{(c)}$  límite son muy similares, y probablemente esto indica una escasa repercusión desde el punto de vista práctico, en el análisis de rutina. En cualquier caso, y en base a nuestra experiencia previa en el desarrollo de calibraciones NIRS en grasas y aceites<sup>[20]</sup>, y de los resultados aquí obtenidos, podemos emitir la hipótesis de que los límites del  $RMSEP_{(c)}$  establecidos por Windham *et al.* (1989)<sup>[25]</sup>, penalizan o son muy restrictivos, para ecuaciones de alta capacidad predictiva. Este hecho se muestra claramente en el caso de las ecuaciones de pAV y TPM, de excelente capacidad predictiva. Un caso diferente lo constituye la interpretación de la superación del límite del RMSEP en el caso del parámetro OSI. Este hecho podría estar causado, por la escasa representación que algunas muestras extremas (alto valor de OSI) del colectivo de validación, poseen en el colectivo de calibración, como discutiremos más tarde.

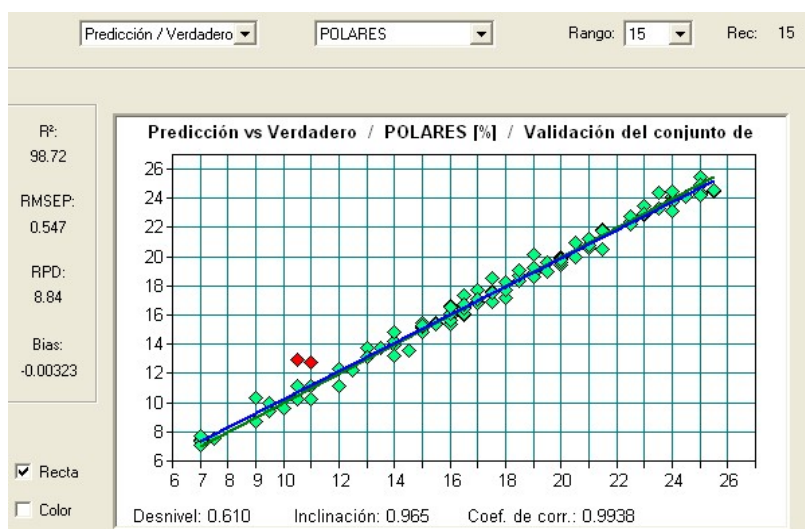
En cualquier caso quisimos profundizar en las razones que explicarían este hecho y asimismo, en aquellas responsables de que los valores de la pendiente para el parámetro OSI, no cumpla con los requisitos establecidos para dicho estadístico (0.9-1.1), contrariamente a lo que ocurre para el resto de parámetros analíticos. En las *figuras 2, 3, 4, 5 y 6* se pueden visualizar los valores de referencia vs. a los predichos para las muestras de validación y para cada parámetro analítico. Las muestras marcadas en rojo, son aquellas muestras que por una razón u otra, muestran valores de referencia que difieren significativamente de los valores predichos.



**Figura 2: Resultados de validación para el parámetro Acidez**

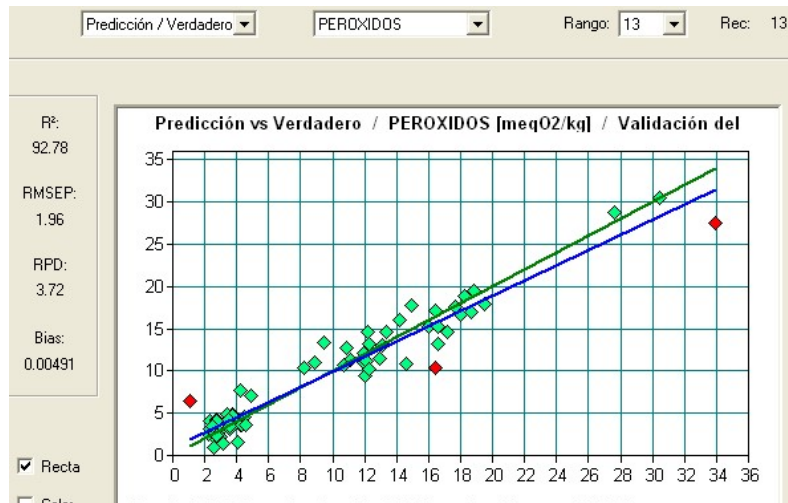


**Figura 3: Resultados de validación para el parámetro p-Anisidina**

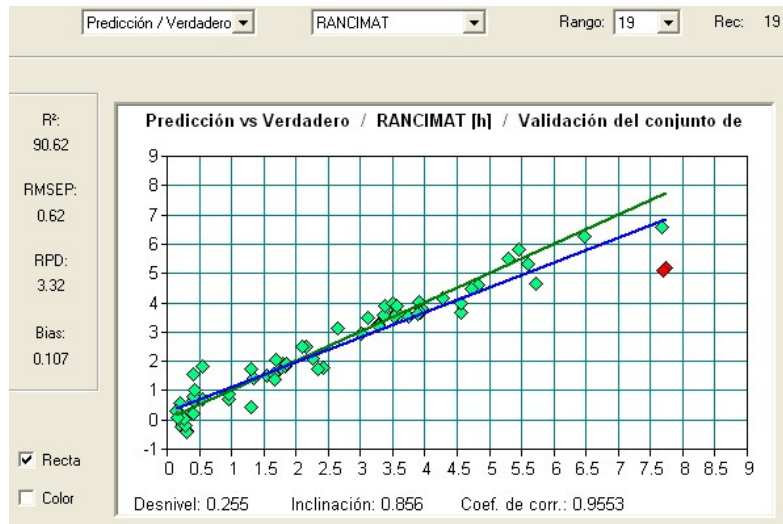


**Figura 4: Resultados de validación para el parámetro compuestos polares totales**





**Figura 5: Resultados de validación para el parámetro índice de peróxidos**



**Figura 6: Resultados de validación para el parámetro estabilidad oxidativa**

Los resultados de las figuras anteriores se complementan con la información que aporta el programa QUANT, para la detección de muestras anómalas. Dicha información aparece sintetizada en la *tabla 7*, donde se muestran el valor de referencia, el predicho NIR, la diferencia entre ambos (residual) y el estadístico denominado *F Prob*.

**Tabla 7: Valores de *FProb* para las muestras detectadas como anómalas para cada uno de los parámetros analíticos**

	Muestra	Referencia	Predicho	Diferencia	<i>FProb</i>
<b>Acidez</b>	<b>FRI 4-1-1</b>	0.17	0.1064	0.0636	0.994
	<b>FRI 12-3-10</b>	0.15	0.225	-0.075	0.999
<b>p-Anisidina</b>	<b>FRI 1-3-5</b>	65.01	45.91	19.7	0.990
	<b>FRI 8-2-20</b>	78.09	99.47	-21.4	0.995
<b>TPM</b>	<b>FRI 15-0</b>	10.5	12.98	-2.48	1.000
	<b>FRI 16-1-3</b>	11	12.74	-1.74	0.999
	<b>FRI 9-3-16</b>	33.94	27.49	6.45	0.999
<b>PV</b>	<b>FRI 12-3-1</b>	16.4	10.39	6.01	0.998
	<b>FRI 15-0</b>	1.05	6.509	-5.46	0.996
<b>OSI</b>	<b>FRI 8-2-1</b>	7.73	5.183	2.55	1.000
	<b>FRI 8-3-1</b>	7.69	5.089	2.6	1.000

Dicho estadístico permite calcular si el residual de cada muestra es significativo, utilizando para ello una función de probabilidad, con valores de 0-1. Como se observa, todas las muestras representadas en rojo en las *figuras 2 a 6*, tienen unos valores de *F Prob* próximos a uno. Si observamos detenidamente dichas figuras podemos decir, que las razones para que estas muestras detectadas como anómalas químicas (residual alto), en los datos de validación de acidez, p-anisidina y polares, podrían ser explicadas por la existencia de un error del dato de referencia, y un comentario similar podría hacerse extensivo a la muestra FRI 12-3-1, para el caso del parámetro PV. Esta hipótesis no ha sido posible confirmarla, al no disponer de más cantidad de muestra, para realizar un nuevo análisis de dichas muestras por los métodos de referencia. Sin embargo, como se observa, en las *figuras 7 (a, b) y 8 (a, b)*, estas muestras son similares en valor de referencia, a otras existentes en el colectivo de validación, y que sin embargo son predichas correctamente, por lo que afianzamos nuestra hipótesis de que se trata de errores del dato de referencia. Una situación diferente, se observa para las muestras FRI 9-3-16 (PV = 33,94) y FRI 15-0 (PV = 1,05), y para las muestras FRI 8-2-1 y FRI 8-3-1 (OSI = 7,73 y 7,69), que se consideran extremas de “rango” y, escasamente representadas en el colectivo de calibración, como se observa en los histogramas de frecuencia de valores de PV y OSI para los colectivos de calibración y validación estudiados.

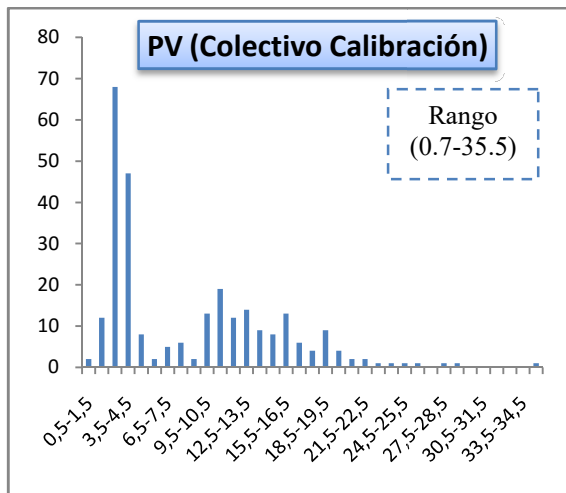


Figura 7(a): Histograma de frecuencia del colectivo de calibración para el parámetro PV

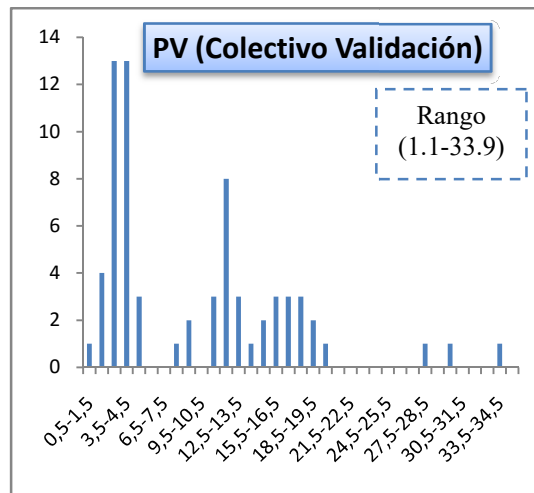


Figura 7 (b): Histograma de frecuencia del colectivo de validación para el parámetro PV

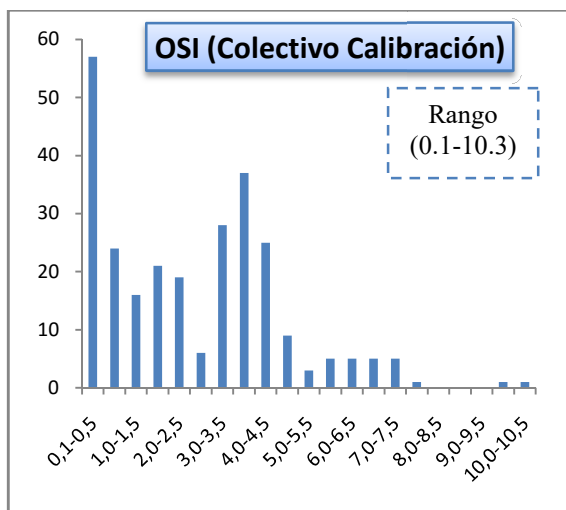


Figura 8 (a): Histograma de frecuencia del colectivo de calibración para el parámetro OSI

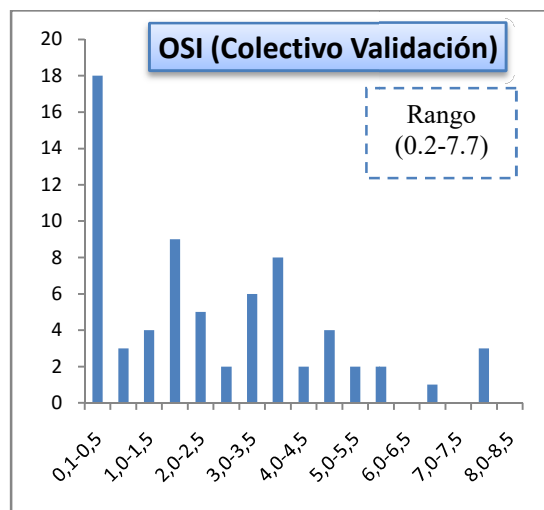


Figura 8 (b): Histograma de frecuencia del colectivo de validación para el parámetro OSI

### 3.5. Tecnología NIRS versus métodos de referencia convencionales

Como ha sido puesto de manifiesto en el apartado de introducción, una de las limitaciones en el estudio del proceso de degradación de aceites de fritura es, la dificultad y el coste que conlleva para los laboratorios el poner a punto numerosos métodos analíticos, muchos de ellos de importante sofisticación analítica y necesitados de personal altamente cualificado, junto con la importancia de ser realizados utilizando un número elevado de muestras y matrices de fritura. Para mostrar el potencial de la tecnología NIRS para este tipo de estudios, en las figuras 9 a 13 se representan los valores analíticos de referencia versus los

valores predichos NIRS para cada una de las muestras de calibración del diseño experimental del presente trabajo.

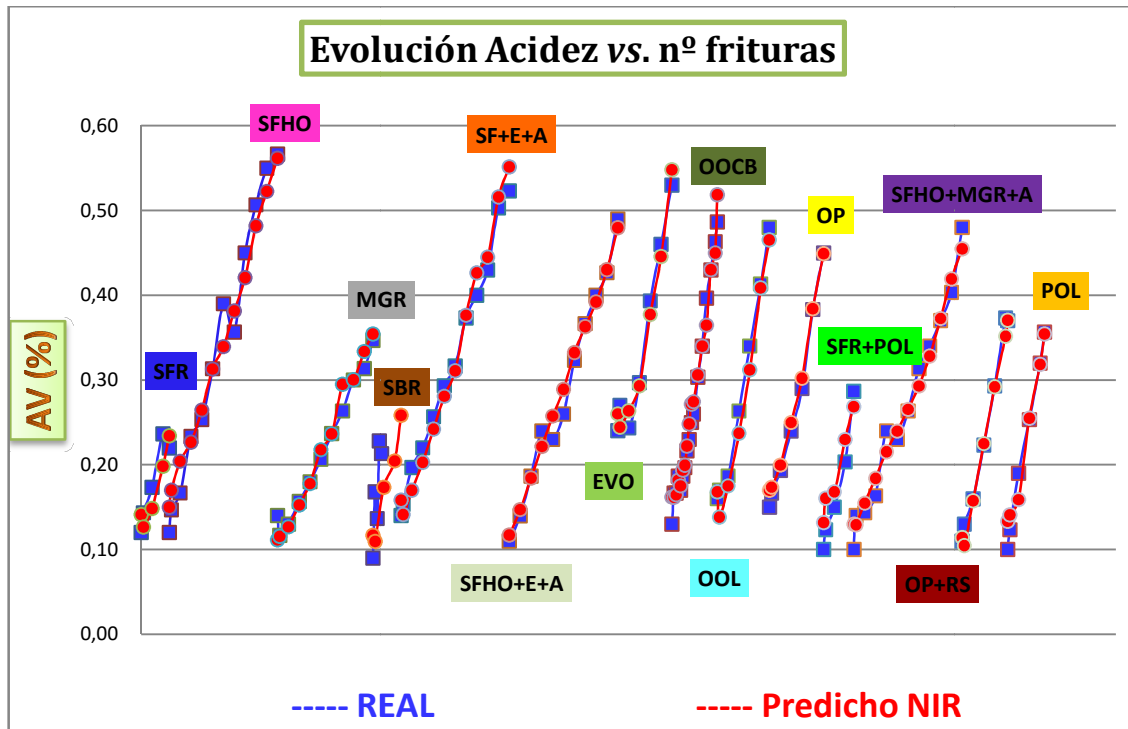


Figura 9: Evolución acidez vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas

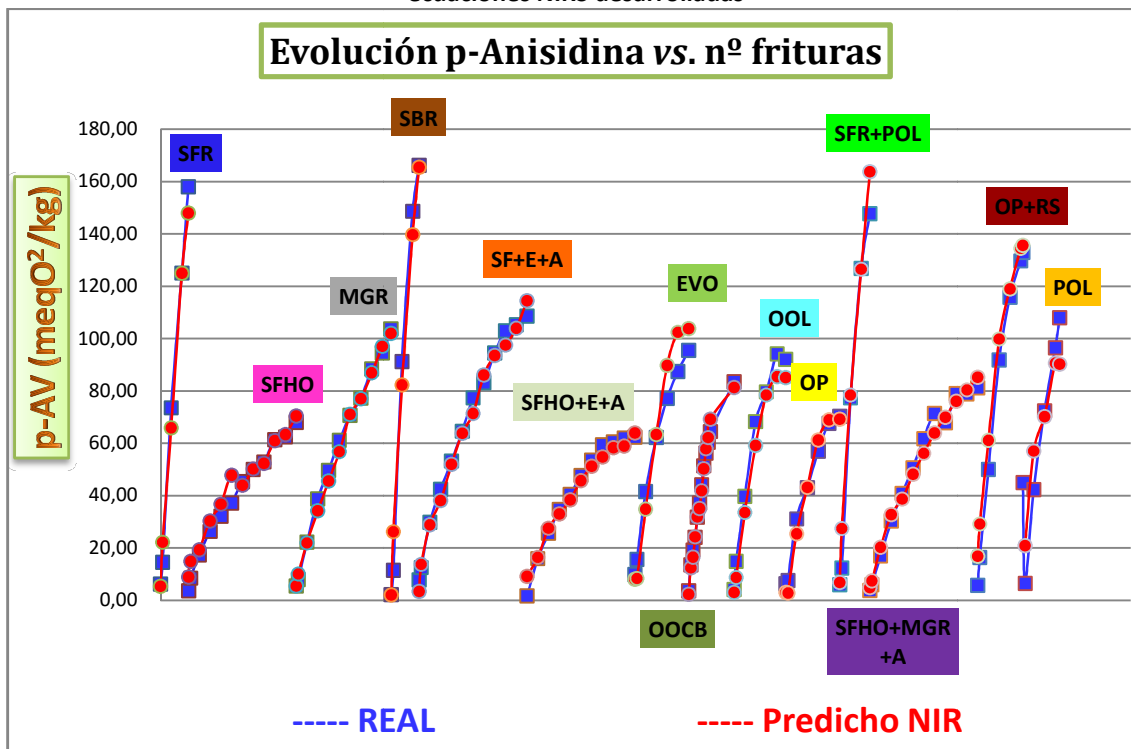


Figura 10: Evolución p-Anisidina vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas

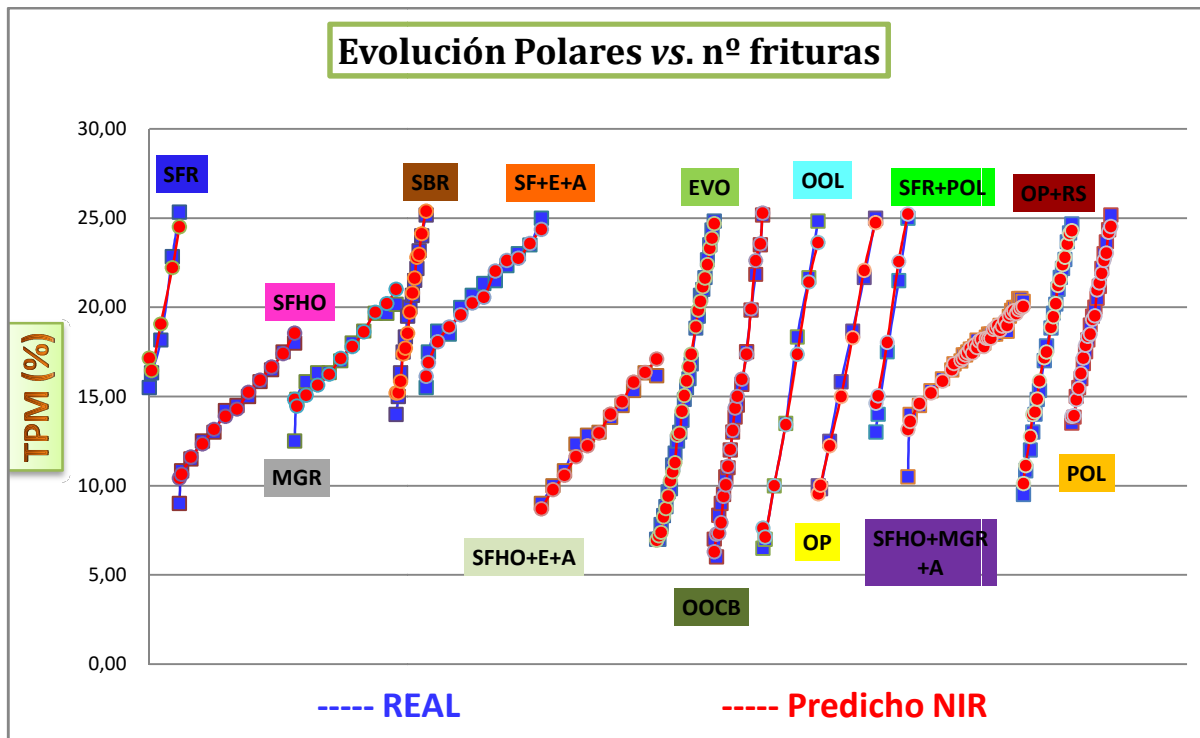


Figura 11: Evolución compuestos polares totales vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas

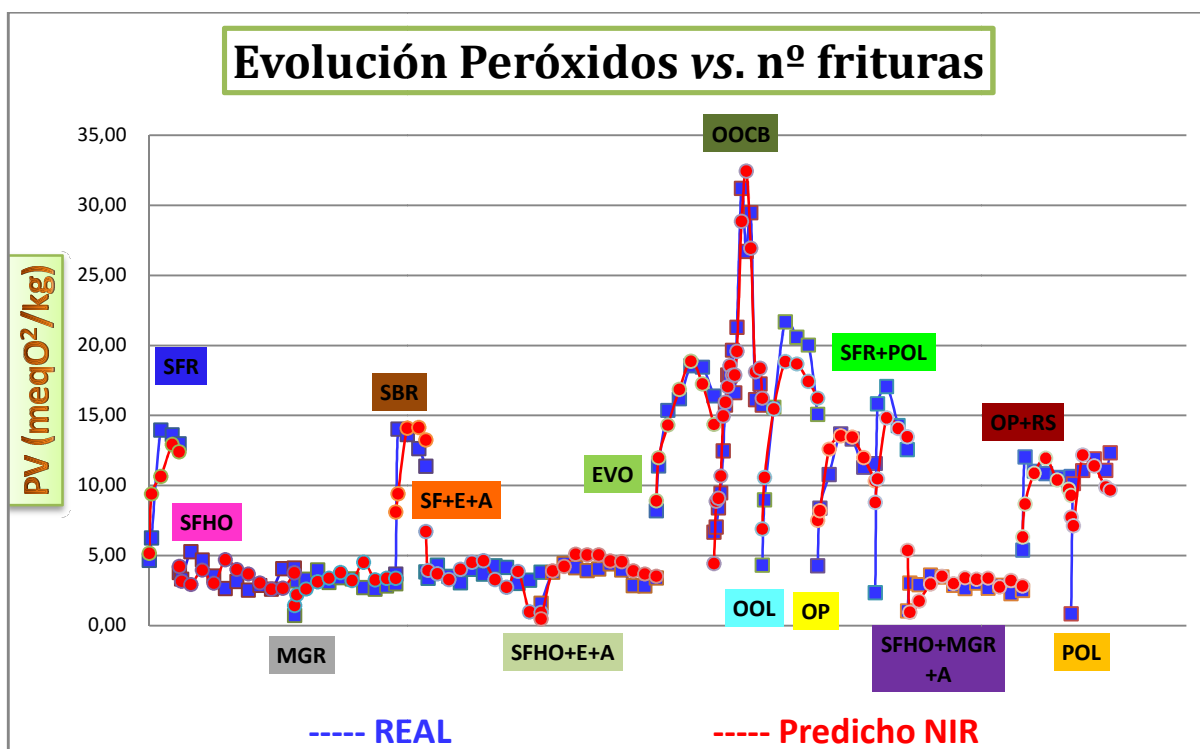
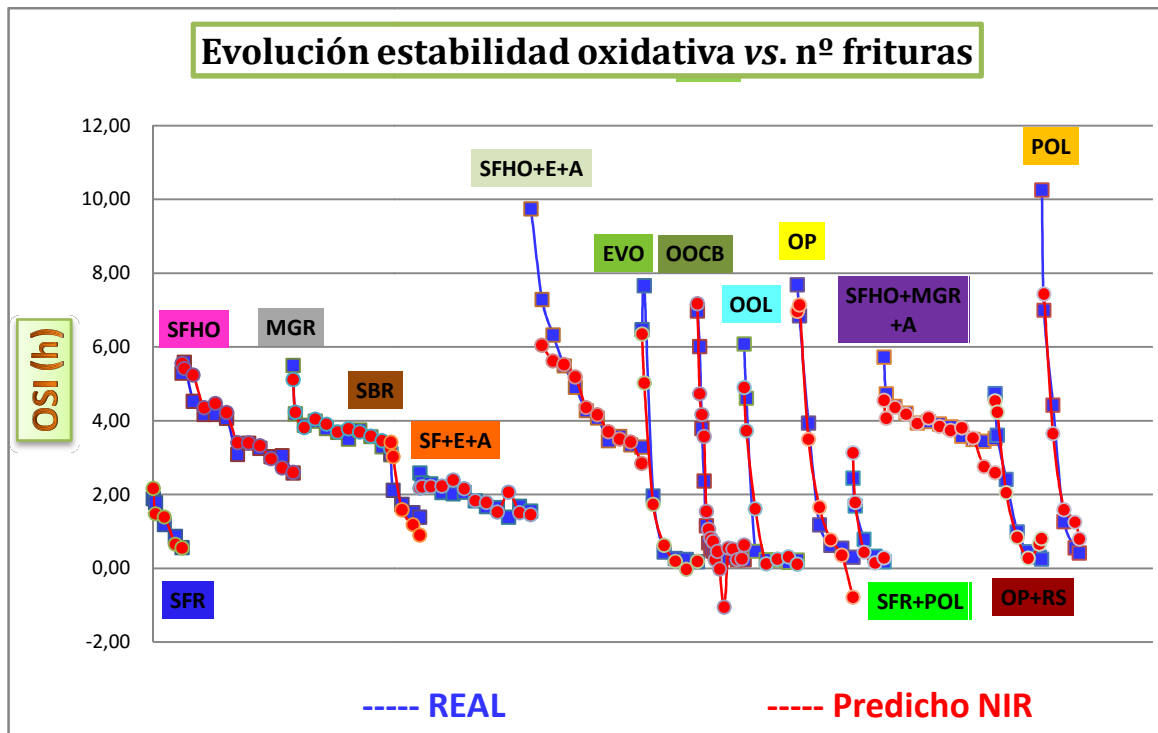


Figura 12: Evolución peróxidos vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas



**Figura 13:** Evolución índice de estabilidad oxidativa vs. nº frituras analizadas con el método de referencia y predichas por las ecuaciones NIRS desarrolladas

Como se observa en todas las gráficas, los valores predichos por la tecnología NIRS son prácticamente iguales a los obtenidos por métodos analíticos convencionales, y ambas representaciones gráficas muestran las mismas tendencias.

Como se ha indicado en la introducción, el número de trabajos científicos que hacen referencia al estudio de degradación de aceites de fritura es muy elevado y muchos de ellos se resumen en varias revisiones recientes [3, 5, 17, 43]. Es importante resaltar, que muchos de los trabajos publicados, se limitan a uno o dos parámetros analíticos, una o dos tipologías de aceites y utilizan un reducido número de muestras. Por tal razón, y aunque no es objetivo de este trabajo el realizar un estudio detallado del valor de cada uno de estos parámetros analíticos, para evaluar la degradación de aceites de fritura, la amplia colección de muestras analizadas y la diversidad de aceites evaluados, nos permiten realizar algunas aportaciones en este sentido.

### ➤ ACIDEZ

El índice de acidez se utiliza como un marcador químico para el control de la calidad y evaluación de aptitud de los aceites de fritura para el consumo humano. De acuerdo con Matthaus (2006) [44], el valor del 2% se define como el límite para rechazar un aceite. El

valor de acidez de los distintos tipos de aceites estudiados aumenta paralelamente con el número de frituras a las que se someten como se puede apreciar en la *figura 9*. La evolución de la acidez con respecto al número de frituras depende de la tipología de aceite, existiendo importantes variaciones en el valor inicial del que se parte y en el valor final alcanzado dependiendo del tipo de aceite. Así por ejemplo, el índice de acidez del aceite de oliva virgen extra utilizado en este trabajo (EVO) fue superior (0.24%), incluso sin someterlo a ninguna fritura, que el aceite de girasol (SFR) cuyo valor de acidez inicial en crudo es de 0.12%.

### ➤ **p-ANISIDINA**

El índice de p-anisidina nos aporta una medida de la oxidación secundaria de los productos y es muy útil para evaluar la evolución del aceite<sup>[45]</sup>. Concretamente, el valor de p-anisidina es una medida del contenido de aldehído no volátil en un aceite, formado como producto de degradación secundaria de hidroperóxidos de ácidos grasos<sup>[46]</sup>. Un bajo valor de p-anisidina en un aceite indica un menor nivel de oxidación en dicho aceite. Como se observa en la *figura 10*, el valor de p-anisidina incrementa de forma proporcional al número de frituras. Al aplicar mayor número de frituras, se oxigena más el aceite y por consiguiente, se oxida y esto queda reflejado en el aumento del parámetro p-anisidina. En cuanto a los diferentes aceites, destacar que aquellos que tiene adición de antioxidantes, como se ha indicado anteriormente, tienen un valor de p-anisidina más bajo, puesto que su nivel de oxidación es menor que por ejemplo, los aceites refinados de semilla sin ningún aditivo.

### ➤ **COMPONENTES POLARES TOTALES**

Durante los últimos años, los compuestos totales polares y los polímeros de triglicéridos han sido considerados como los métodos más fiables para evaluar los cambios que se producen en las grasas y aceites durante el proceso de fritura y por tanto, varios estudios han demostrado que existe una fuerte correlación entre ellos<sup>[6, 47]</sup>. Se puede decir, que TPM y PTG son los mejores indicadores para comprobar la calidad de un aceite de fritura usado. Sin embargo, cuando las alteraciones oxidativas predominan fuertemente frente a las alteraciones térmicas, aparecen defectos sensoriales (aceites con sabor a pescado) antes de que TPM o PTG alcancen valores críticos. Por ejemplo, esto ocurre en aceites con cantidades de ácido linolénico >3%. Como se observa en la *figura 11*, la cantidad de componentes polares incrementa rápidamente en los aceites vegetales conforme aumentamos el número de

frituras, no superándose en nuestro caso, un número de frituras superior a 50 para no exceder en gran medida el valor máximo permitido de TPM (25%).

### ➤ **ÍNDICE DE PERÓXIDOS**

Se observa como durante la etapa inicial de fritura (*figura 12*), se produce un aumento en el índice de peróxidos que, posteriormente, es seguido por una disminución del mismo al incrementar el número de frituras. Es sabido, que los hidroperóxidos tienden a descomponerse a 180°C para formar productos de oxidación secundaria <sup>[37]</sup>. En cuanto a la evolución de los peróxidos en aquellos aceites con adición de antioxidantes, destacar que en las frituras iniciales, el valor de peróxidos es menor que en el resto de aceites debido a que el efecto antioxidante está relacionado con la capacidad para inhibir o mitigar la formación de radicales libres, precisamente durante las primeras etapas de fritura <sup>[43]</sup>.

### ➤ **ESTABILIDAD OXIDATIVA**

El aumento de la estabilidad oxidativa del aceite de fritura está asociada con el aumento de grado de hidrogenación<sup>[48]</sup>. Existe una gran variabilidad en los resultados obtenidos de la estabilidad oxidativa (*figura 13*) según el tipo de aceite, siendo el valor más alto el representado por el aceite de oliva virgen con 10,25 horas en crudo, sin someter dicho aceite a ningún proceso de fritura. Es decir, que el aceite en crudo que más tiempo tarda en enranciarse es el EVO. Las estabilidades oxidativas, tanto del aceite SFHO+E+A y el SFHO+MGR+A, son las más altas después de la fritura nº 50 siendo ambos aceites de girasol alto oleico con aditivos antioxidantes, de ahí su mayor resistencia a la oxidación. También cabe destacar, que a partir de un número concreto de frituras, cada tipo de aceite mantiene constante su estabilidad oxidativa, generalmente, a partir de la fritura número 20 o 25 en adelante.



#### **4. CONCLUSIONES**

Los estadísticos de validación correspondientes a las ecuaciones NIRS desarrolladas para determinar la composición química de aceites de fritura en el instrumento MPA Bruker, confirman, que es posible utilizar las mismas para el análisis de rutina de los parámetros acidez, p-anisidina, compuestos polares totales, índice de peróxidos y estabilidad oxidativa. Es recomendable ampliar las calibraciones con muestras que han resultado ser anómalas químicas, al estar poco representadas en el colectivo actual de calibración. Asimismo se muestra, que las calibraciones desarrolladas en el presente trabajo, pueden reemplazar a los métodos tradicionales, en los estudios de I+D de degradación termo-oxidativa, en aceites de fritura, con las ventajas significativas que conlleva, en coste y rapidez, y haciendo realmente posible para la industria DEOLEO, S.A. y otras del sector, el extender dichos estudios a un mayor número de analitos, muestras y matrices de fritura.

#### **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo se enmarca dentro de un trabajo más amplio que constituye la Tesis Doctoral de Dña. Antonia María Calero, responsable del departamento de I+D de la empresa DEOLEO, S.A. y que es financiado por dicha empresa, dentro de su línea de investigación e innovación. Los autores quieren agradecer a la empresa por el suministro de muestras, equipo e información, así como a la analista Marta Duránte, por su trabajo en el análisis de las muestras por los métodos tradicionales de laboratorio. La segunda autora ha disfrutado de una beca del I Plan Propio Galileo de Innovación y Transferencia de la Universidad de Córdoba que le ha permitido realizar una estancia de formación en la empresa DEOLEO, S.A., y que ha sido muy útil para la elaboración del TFM.



## REFERENCIAS

- [1] Sam Saguy, I. and Dina Dana (2003). Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. In: Journal of Food Engineering. Vol: 56, págs. 143-152
- [2] Fillion, L. and Henry, C. J. K. (1998). Nutrient losses and gains during frying: a review. In: International Journal of Food Sciences and Nutrition. Vol: 49, págs. 157-168
- [3] Weisshaar, R (2014). Review: Quality control of used deep-frying oils. European Journal of Lipid Science and Technology. Special Issue: Deep-Fat Frying. Volume 116, Issue 6, pages 716-722.
- [4] Gertz *et al.* (2014). Oxidation and structural decomposition of fats and oils at elevated temperatures. In: Eur. J. Lipid Sci. Technol. Vol: 116, págs. 1457-1466.
- [5] Gertz, C. (2014). Fundamentals of the frying process. In: Eur. J. Lipid Sci. Technol. Vol: 116, págs. 669-674
- [6] Gertz, C. (2000). Chemical and physical parameters as quality indicators of used frying fats. Eur. J. Lipid Sci. Technol. Vol: 102, 566–572.
- [7] Warner, K. (2004), in: Gupta, M. K., Warner, K., White, P. J. (Eds.), *Frying Technology and Practice*, AOCS, Champaign, pp. 16–28.
- [8] Zhang, Q., Saleh, A. S. M., Chen, J., Shen, Q. (2012). Chemical alterations taken place during deep-fat frying based on certain reaction products: A review. *Chem. Phys. Lipids*, 165, 662–681.
- [9] Velasco, J., Marmesat, S., Dobarganes, M.C. (2009). Advances in Deep-Fat Frying of Foods, in: Sahin, S., Sumnu, S. G. (Eds.), CRC Press, Boca Raton, pp. 33-56.
- [10] Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft

[11] Tompkins, C., Perkins, E. G. (1999). The evaluation of frying oils with the p-anisidine value. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76, 945–947.

[12] Aladedunye, F. A., Przybylski, R. (2009). Degradation and nutritional quality changes of oil during frying. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86, 149–156.

[13] Stier, R. F. (2013). Ensuring the health and safety of fried foods. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 115, 956–964.

[14] 6<sup>th</sup> International Symposium on Deep-Frying- Errors and Myths of Industrial and Catering Frying: 22-24 May 2011 in Hagen, Germany. In: <http://www.dgfett.de/material/recomm.php> (visitado 12/03/16)

[15] Suaterna Hurtado AC (2009). La fritura de los alimentos: el aceite de fritura. *Perspect Nutr Humana.*; 11:39-53

[16] Innawonga B., Mllikarjunana, P. Irudayarajb J. (2004). The determination of frying oil quality using Fourier transform infrared attenuated total reflectance. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.* Vol: 37, págs.: 23–28.

[17] Massons L., Robert P., Romeroi N., Izaurieta M., Valenzuela S., Ortiz J., Dobarganes, M.C. (1997). Comportamiento de aceites poliinsaturados en la preparación de patatas fritas para consumo inmediato: Formación de nuevos compuestos y comparación de métodos analíticos. *Grasas y Aceites* 220 Vol. 48, fase 5, págs.: 273-281

[18] Chen, J.Y; Zhang, H.; Ma, J.; Tuchiya, T.; Miao, Y. (2015). Determination of the Degree of Degradation of Frying Rapeseed Oil Using Fourier-Transform Infrared Spectroscopy Combined with Partial Least Squares Regression. *International Journal of Analytical Chemistry*; Vol.:2015, 6 págs.

[19] C. Gertz, H.-J. Fiebig and J.N.S. Hancock (2013). FT-Near Infrared (NIR) Spectroscopy -Screening analysis of used frying fats and oils for rapid determination of polar compounds, polymerized triacylglycerols, acid value and anisidine value (DGF C-VI 21a(13), *Eur J Lipid Sci Technol*, 115 (in press).

[20] Garrido, A., García J., Pérez M.D., (2004). Applications in Fats and Oils. Chapter 19. Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture Agronomy Monograph n° 44. Págs. 487-558

[21] Casale M., Simonetti R. (2014) Review: Near infrared spectroscopy for analysing olive oils. *J. Near Infrared Spectrosc.* 22,59-80

[22] Gertz, C. and Behmer, D. (2014). Application of FT-NIR spectroscopy in assessment of used frying fats and oils. In: *Eur. Journal Lipid Science Technology*, 116: 756-762

[23] Juárez, M.D. et al. (2011). Degradation in soybean oil, sunflower oil and partially hydrogenated fats after food frying, monitored by conventional and unconventional methods. In: *Food Control*, Vol: 22, págs. 1920-1927.

[24] Williams, P.C. y Sobering, D.C. (1996). How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. Davies A.M.C. y Williams P.C. (Eds.). En: *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, Chichester, U.K. Pg: 185-188.

[25] Windham, W.R.; Mertens, D.R. and Barton F.E. (1989). Protocol for NIRS calibration: sample selection and equation development and validation. In: *Near Infrared spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality. Agriculture Handbook, n° 643*. Ed. By G.C. Martens, J.S. Shenk, F.E. USDA-ARS, US Government Printing Office, Washington D.C., págs. 96-103

[26] Shenk, J.S. and Westerhaus, M.O. (1991b). Population structuring of Near Infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Science Society of America*, 31 (6), págs.. 1548-1555.

[27] Mark H. y Workman J. (1991). *Statistics in Spectroscopy*. Academic Press, Inc. USA.

[28] Murray, I. y Williams, P.C. (1987). Chemical principles of near-infrared technology. Williams, P.C. y Norris, K. (Eds.) En: *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists Inc., St. Paul, Minnesota, USA. Pg: 17-34.

- [29] Shenk, J.S. y Westerhaus, M.O. (1995a). Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Monograph. NIR Systems Inc., Silver Spring, MD, USA.
- [30] Hruschka W.R. (1987). "Data Analysis: Wavelegth selection methods", in: Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. Ed. by P.C. Williams and K.H. Norris. Amer. Assoc. Cereal. Chem., St. Paul, USA págs. 35-55.
- [31] McClure W.F. (1994). More on derivatives: Part 2. Band shifting and noise. NIR News, 5, págs. 12-14
- [32] András Szabó, György Bázár, László Locsmáncsi and Róbert Romvári. Quality alterations of four frying fats during long-term heating (conventional analysis and NIRS calibration). In: Journal of Food Quality 33 (2010) 42-58.
- [33] Choo Lum Ng et al. (2007). Method for Determining Frying Oil Degradation by Near-Infrared Spectroscopy. In Journal Agricultural and Food Chemistry. Vol: 55, pags. 593-597
- [34] Fernández-Cabanás *et al.* (2007). Fernández-Cabanás, V. M.; Garrido-Varo, A.; García Olmo, J.; De Pedro, E.; Dardenne, P. Optimisation of the spectral pre-treatments used for Iberian pig fat NIR calibrations. In: *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. Vol: 87:1; pags. 104-112
- [35] Williams, P.C. y Norris, K. (2001). Implementation of Near-Infrared Technology. In Near-Infrared Technology in the Agriculture and Food Industries, 2nd edition. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.
- [36] Fearn T. (2014). The overuse of  $R^2$ . Nir News, 5, 32.
- [37] Stavros Lalas (2009). Quality of Frying Oil. In book: Advances in Deep-Fat frying of foods, edited by Serpil Sahin and Servet Gülüm Sumnu (2009). Págs: 57-81
- [38] Yildiz et al. (2001). Method for Determining Oxidation of Vegetable Oils by Near-Infrared Spectroscopy. In: JAOCS, Vol: 78:5, págs. 495-502

- [39] Morton, I.D., and J.E. Chidley. 1988. Methods and equipment in frying. In: *Frying food: Principles, changes, new approaches*, ed G. Varela, A.E. Bender, and I.D. Morton, 37–51. London: Ellis Horwood.
- [40] Shenk J.S., Workman J.Jr. y Westerhaus M. O. (2001). Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products. D. A. Burns y E.W. Ciurczak (Eds.). En: *Handbook of Near Infrared Analysis*. CRC Press, Florida, USA. Pg: 348-383
- [41] Shenk, J.S. y Westerhaus, M.O. (1996) Calibration the ISI way. A.M.C. Davies y P.C. Williams. (Eds.). En: *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, Chichester, UK. Pg: 198-202
- [42] Dardenne, P ( 2009). Some considerations about nirspectroscopy: closingspeech at NIR-2009. <https://www.impublications.com/content/some-considerations-about-nir-spectroscopy>. (Consultado 5 de Julio de 2016)
- [43] Zhang *et al.* (2012). Zhang, Q.; Ahmed, S. M.; Chen, J.; Shen, Q. Chemical alterations taken place during deep-fat frying based on certain reaction products: A review. In *Chemistry and Physics of Lipids*, 165: 662-681.
- [44] Matthäus B. (2006): Utilization of high-oleic rapeseed oil for deep-fat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**: 200–211.
- [45] Zribi *et al.* (2014). Zribi, A.; Jabeur, H.; Aladedunye, F.; Rebai, A.; Matthäus, B.; Bouaziz, M. Monitoring of Quality and Stability Characteristics and Fatty Acid Compositions of Refined Olive and Seed Oils during Repeated Pan-and Deep-Frying Using GC, FT-NIRS, and Chemometrics. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62:10357-10367
- [46] O’Keefe, S. F.; Pike, O. A. Fat characterization. In *Food Analysis*, 4th ed.; Nielsen, S. S., Ed.; Springer: New York, 2010; pp 239\_260.

[47] Farhoosh, R., Tavassoli-Kafrani, M. H., Simultaneous monitoring of the conventional qualitative indicators during frying of sunflower oil. *Food Chem.* 2011, 125, 209–213.

[48] Kazemi *et al.* (2005). Kazemi, S.; Wang, N.; Ngadi, Michael; Prasher, S. O. Evaluation of Frying Oil Quality Using VIS/NIR Hyperspectral Analysis. In: *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Vol. VII. Manuscript FP05



## **ANEJO I**

---



# ANEJO I

**Tabla 1: Resumen de trabajos científicos relacionados con el desarrollo de calibraciones en aceites de fritura (Fuente: Elaboración propia)**

Parámetro	Referencia	Material analizado	Instrumento	Modo de Análisis	Región espectral (del instrumento)	Pre-tratamiento	N	Rango	Media	Región espectral óptima(nm)	Estadísticos de Calibración y Validación						
											Nº PLS	R <sup>2</sup> <sub>v</sub>	RMSEE/ RMSECV SEP/RMSEP	DT	CV <sub>RMSECV</sub>	RPD	RER
ACIDEZ (%)	Gertz y Behmer, 2014	Aceites de freiduría	Bruker - MPA FT-NIR	Transmisión	800-2500 nm	1ª Derivada	586	0-5.7		1332.96-1639.86 1834.83-2404.02	17	0.97	RMSEE=0.18 RMSEP=0.173				32.95
	Gertz <i>et al.</i> 2013	Mezclas complejas de grasas y aceites de fritura usados con composición desconocida en diferentes grados de oxidación y degradación térmica	Bruker - MPA FT-NIR	Transmisión	800-2500 nm	1ª Derivada	339	0.05-9.67		1787.95-2067.4 2215.82-13717.42	12	0.96	RMSEE=0.276 RMSEP=0.259				26.80
	András <i>et al.</i> 2010	Aceite de colza calentado (36h, intervalos de 4h); tª (140, 150, 160, 165, 170, 175, 180° C)	FOSS NIRSystem 6500 spectrometer	Transflectancia	800-2400 nm	2ª Derivada (MPLS)	64	0.15-2.49	0.91			5	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub> = 0.96	RMSEE=0.129 RMSECV=0.184	0.72	20.22	RPD <sub>CV</sub> = 3.91
Aceite de girasol calentado (36h, intervalos de 4h); tª (140, 150, 160, 165, 170, 175, 180° C)		0.23-0.77						0.41			3	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub> = 0.93	RMSEEE=0.039 RMSECV=0.048	0.15	11.71	RPD <sub>CV</sub> = 3.13	RER <sub>CV</sub> =11.25

Tabla 2: Resumen de trabajos científicos relacionados con el desarrollo de calibraciones en aceites de fritura (Fuente: Elaboración propia)

Parámetro	Referencia	Material analizado	Instrumento	Modo de Análisis	Región espectral (del instrumento)	Pre-tratamiento	N	Rango	Media	Región espectral óptima	Estadísticos de Calibración y Validación							
											N° PLS	R <sup>2</sup> <sub>v</sub>	RMSEE/ RMSECV SEP/RMSEP	DT	CV <sub>RMSECV</sub>	RPD	RER	
p-ANISIDINA (meqO <sub>2</sub> /kg)	Gertz y Behmer, 2014	Aceites de freiduría	Bruker - MPA FT-NIR con software	Transmisión	800-2500 nm	1 <sup>a</sup> Derivada + normaliz.	297	0.1-177.9		1332.96-1639.86 1989.73-2175	18	0.95	RMSEE=6.23 RMSEP=6.84				25.23	
	Gertz <i>et al.</i> 2013	Mezclas complejas de grasas y aceites de fritura usados con composición desconocida en diferentes grados de oxidación y degradación térmica	Bruker - MPA FT-NIR	Transmisión	800-2500 nm	1 <sup>a</sup> Derivada + normaliz.	297	0-172.6		1332.98-1639.88 1989.65-2174.86	18	0.95	RMSEE=6.84 RMSEP=6.23				28.55	
	András <i>et al.</i> 2010	Aceite de colza calentado (36h, intervalos de 4h); t <sup>o</sup> (140, 150, 160, 165, 170, 175, 180° C)	FOSS NIRSystem 6500 spectrometer	Transflectancia	800-2400 nm	2 <sup>a</sup> Derivada (MPLS)	64	2.26-211.6	78.1			5	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub> = 0.61	RMSEE=25.24 RMSECV=27.78 CV=35.57	40.5	35.57	RPD <sub>CV</sub> = 1.46	RER <sub>CV</sub> = 7.53
		Aceite de girasol calentado (36h, intervalos de 4h); t <sup>o</sup> (140, 150, 160, 165, 170, 175, 180° C)						4.32-114.4	50.2			3	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub> = 0.68	RMSEEE=28.04 RMSECV=28.66 CV=55.86	29.1	55.86	RPD <sub>CV</sub> = 1.02	RER <sub>CV</sub> = 4.89

**Tabla 3: Resumen de trabajos científicos relacionados con el desarrollo de calibraciones en aceites de fritura (Fuente: Elaboración propia)**

Parámetro	Referencia	Material analizado	Instrumento	Modo de Análisis	Región espectral (del instrumento)	Pre-tratamiento	N	Rango	Media	Región espectral óptima	Estadísticos de Calibración y Validación						
											Nº PLS	R <sup>2</sup> <sub>v</sub>	RMSEE/ RMSECV SEP/RMSEP	DT	CV <sub>RMSECV</sub>	RPD	RER
POLARES (%)	Gertz y Behmer, 2014	Aceites de freiduría	Bruker - MPA FT-NIR con software	Transmisión	800-2500 nm	1ª Derivada + SNV	580	1.8-46.1		1332.96-1470.57 1989.73-2175	18	0.97	RMSEE=1.67 RMSEP=1.56				30.94
	Gertz <i>et al.</i> 2013	Mezclas complejas de grasas y aceites de fritura usados con composición desconocida en diferentes grados de oxidación y degradación térmica	Bruker - MPA FT-NIR	Transmisión	800-2500 nm	1ª Derivada+normaliz.	356	1.8-50.3		1897.89-2164.03	10	0.96	RMSEE=2.02 RMSEP=1.97				21.83
	Choo Lum <i>et al.</i> 2007	Aceites FryMax3500 (comercial de aceite de fritura a base de soja parcialmente hidrogenado) recogidos en freiduría diferentes días (sometidos a 8h/día a 190°C)	FossNIRSystemmodel 6500	Transmisión	400-2500 nm	1ª Derivada  Log (1/T)	60	2.18-62.93		700-1100  1100-2250	9  6	0.99  0.99	RMSEE=1.454 RMSECV=1.73 RMSEP=2.69  RMSEE=0.734 RMSECV=0.731 RMSEP=0.824			4.70  15.35	15.72  51.32

Tabla 4: Resumen de trabajos científicos relacionados con el desarrollo de calibraciones en aceites de fritura (Fuente: Elaboración propia)

Parámetro	Referencia	Material analizado	Instrumento	Modo de Análisis	Región espectral (del instrumento)	Pre-tratamiento	N	Rango	Media	Región espectral óptima	Estadísticos de Calibración y Validación						
											Nº PLS	R <sup>2</sup> <sub>v</sub>	RMSEE/ RMSECV SEP/RMSEP	DT	CV <sub>RMSECV</sub>	RPD	RER
PERÓXIDOS (meqO <sub>2</sub> /kg)	András <i>et al.</i> 2010	Aceite de colza calentado (36h, intervalos de 4h); t <sup>a</sup> (140, 150, 160, 165, 170, 175, 180° C)	FOSS NIRSystem 6500 spectrometer	Trans-reflectancia	800-2400 nm	2 <sup>a</sup> Derivada (MPLS)	64	0-20.1	6.36		4	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub> = 0.89	RMSEE=1.254 RMSECV=2.18	3.94	34.28	RPD <sub>CV</sub> = 1.8	RER <sub>CV</sub> =9.22
		0.24-31.9						8.03		8	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub> = 0.95	RMSEE=1.744 RMSEE=2.10	7.71	26.15	RPD <sub>CV</sub> = 3.67	RER <sub>CV</sub> =15.08	
	Yildiz <i>et al.</i> 2001	Aceite de soja oxidado a diferentes grados (cada 12 h hasta 20meq/kg de valor de peróxidos) bajo una fuente de luz fluorescente	FossNIR Systems model 6500	Transmitancia	400-2500 nm	1 <sup>a</sup> Derivada	75		9.60	1100-2200			0.99	RMSEE=0.557	6.18	CV <sub>RMSEE</sub> =5.8	11.1

