

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

**FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA**



DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN ALIMENTOS

POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

INFORME DE SUFICIENCIA PARA OPTAR EL TÍTULO

PROFESIONAL DE LICENCIADO EN QUÍMICA

ELVIRA CAMASITA QUISPE

LIMA-PERU

2002

AGRADECIMIENTO

A mis padres por su constante apoyo, y a mi familia por hacer posible la culminación de este trabajo.

En ocasiones los hombres tropiezan con la verdad, pero la mayoría se rehacen rápidamente, y siguen a toda prisa su marcha, como si nada hubiera sucedido.

WINSTON CHURCHILL.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I.- INTRODUCCIÓN A LA QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS

1.1 Introducción	2
1.2 Objetivos	3
1.3 Antecedentes generales de ácidos grasos omega 3 y omega 6	3
1.4 Lípidos	5
1.4.1 Funciones generales de los lípidos	5
1.4.2 Clasificación de los lípidos	5
1.4.2.1 Lípidos simples	5
1.4.2.2 Lípidos compuestos	8
1.4.2.3 Lípidos derivados	8
1.4.3 Digestión y utilización de las grasas	9
1.4.4 Recomendaciones en disminución de las grasas	10
1.4.5 El colesterol.	12
1.4.5.1 Colesterol LDL	12
1.4.5.2 Colesterol HDL	12
1.5 Los ácidos grasos esenciales	14
1.6 Química general y reacciones de los ácidos grasos	16
1.6.1 Ácidos grasos saturados	18
1.6.2 Ácidos grasos insaturados	19
1.7 Aceites vegetales	22
1.7.1 Composición típica de los aceites vegetales	22
1.7.1.1 Aceites láuricos	22
1.7.1.2 Aceite de palma	22
1.7.1.3 Aceite de oliva	22
1.7.1.4 Aceite de maní	24
1.7.1.5 Aceite de semilla de algodón	24
1.7.1.6 Aceite de girasol	24
1.7.1.7 Aceite de soya	24

1.8 Propiedades de los ácidos grasos	25
1.8.1 Solubilidad de los ácidos grasos	25
1.9 Diferencias entre los aceites	28
1.9.1 Tipos de aceites	28
1.9.1.1 Aceites vírgenes	28
1.9.1.2 Aceites mixtos	28
1.9.1.3 Aceites de girasol, maíz y soya	28
1.9.1.4 Aceite refinado	29
1.10 Norma CODEX para el aceite de oliva, virgen y refinado y para el aceite de oliva refinado residual	29
1.10.1 Composición esencial y factores de calidad	29
1.10.2 Índices físicos y químicos	29
1.11 Importancia de los ácidos esenciales omega 3 y omega 6	31
CAPÍTULO II.- CROMATOGRAFÍA DE GASES	
2.1 Definición	32
2.2 Fundamento de la cromatografía	32
2.2.1 Cromatógrafo de Gases	33
2.3 Inyección	35
2.3.1 Inyección Splitless	35
2.3.2 Inyección Split	36
2.3.3 Inyección temperatura programable	38
2.3.4 Inyección On-Column	38
2.4 Técnica Headspace.	38
2.4.1 Headspace Estático	39
2.4.2 Headspace Dinámico	39
2.5 Columna	40
2.5.1 Columnas empacadas	40
2.5.2 Columnas capilares	40

2.6 Fases estacionarias	41
2.7 Espesor de la película	42
2.8 Gas portador	43
2.9 Soporte	43
2.10 Detectores	45
2.10.1 Clasificación de los detectores	45
2.10.1.1 Detector de Ionización de Llama	46
2.10.1.2 Detector de Captura Electrónica	48
2.11 Cuantificación	49
2.11.1 Métodos basados en estándares internos	49
2.11.2 Adición estándar	50
2.11.3 Calibración externa	51
2.11.4 Normalización de área	51

CAPÍTULO III.- PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Descripción de las pruebas de rutina	52
3.1.1 Análisis de alimentos que precisan separación total de lípidos	52
3.1.1.1 Método de hidrólisis ácida	52
3.1.1.2 Método internacional	53
3.1.1.3 Método de coagulación	53
3.2 Análisis químicos de muestras de productos lácteos y aceite de oliva	53
3.2.1 Normas Técnicas utilizadas para el análisis químico	54
3.2.1.1 AOAC Método Oficial 955.30 Queso. Preparación de muestras	54
3.2.1.2 AOAC Método Oficial 905.02 Grasa en leche. Método Roesse-Gottlieb	54
3.2.1.3 Método utilizado para extracción de grasa en la muestra de queso	55
3.2.1.4 ISO 5509 Grasas y aceites animal y vegetal. Preparación de metil ésteres de ácidos grasos	55

3.3 Ecuaciones y mecanismos de reacciones	59
3.4 Análisis cromatográfico de aceite de oliva y queso	62
3.4.1 Método cromatográfico para ácidos grasos del aceite de oliva (origen vegetal)	62
3.4.1.1 Análisis cromatográfico de la Serie 14 Oil	63
3.4.1.2 Análisis cromatográfico para ácidos grasos del aceite de oliva (origen vegetal)	65
3.4.2 Método cromatográfico para ácidos grasos de la muestra de queso (origen animal)	68
3.4.2.1 Análisis cromatográfico de ácidos grasos del queso	69
3.5 Especificaciones técnicas de las muestras de aceite de oliva	71
3.6 Resultados experimentales	72
3.6.1 Resultados de las muestra de aceite vegetal	72
3.6.2 Resultados de los ensayos denominados RING TEST DE FAPAS	82
3.6.3 Resultados de la muestra de queso	88
CAPÍTULO IV.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS	89
CAPÍTULO V.- CONCLUSIONES	92
CAPÍTULO VI.- BIBLIOGRAFÍA	93
CAPÍTULO VII.- ANEXOS	95

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO I

1.1 Necesidades diarias de grasas	11
1.2 Efecto de los ácidos grasos sobre el colesterol	13
1.3 Ácido Linoleico	13
1.4 Colesterol en algunos alimentos	15
1.5 Ácidos grasos saturados	20
1.6 Ácidos grasos saturados con un doble enlace	20
1.7 Ácidos grasos insaturados con dos dobles enlaces	21
1.8 Ácidos grasos insaturados con tres dobles enlaces	21
1.9 Porcentaje de cada tipo de ácido graso en los diversos aceites vegetales	23
1.10 Solubilidad en agua de los ácidos grasos	27
1.11 Solubilidad de ésteres de ácidos grasos en agua	27
1.12 Composición de ácidos grasos en el aceite de oliva	30
1.13 Datos de índice de densidad relativa e índice de refracción de aceite de oliva	30

CAPÍTULO II

2.1 Tamaños de partículas del soporte líquido (malla)	44
---	----

CAPÍTULO III

3.1 Especificaciones de la muestra A de aceite de oliva	71
3.2 Especificaciones de la muestra B de aceite de oliva	71
3.3 Composición porcentual de ácidos grasos en la muestra A de aceite de oliva (Primer resultado)	73
3.4 Composición porcentual de ácidos grasos en la muestra B de aceite de oliva (Primer resultado)	74
3.5 Composición de ácidos grasos en porcentaje y en peso en la muestra A de aceite de oliva (Primer resultado)	75

3.6	Composición de ácidos grasos en porcentaje y en peso en la muestra B de aceite de oliva (Primer resultado)	75
3.7	Composición de ácidos grasos en la muestra de prueba Series 14 Oil (en porcentaje)	76
3.8	Resumen de la composición de ácidos grasos en porcentaje en la muestra Series 14 Oil	76
3.9	Composición porcentual de ácidos grasos en la muestra A de aceite de oliva (Segundo resultado)	77
3.10	Composición porcentual de ácidos grasos en la muestra B de aceite de oliva (Segundo resultado)	78
3.11	Composición de ácidos grasos en porcentaje y en peso en la muestra A de aceite de oliva (Segundo resultado)	79
3.12	Composición de ácidos grasos en porcentaje y en peso en la muestra B de aceite de oliva (Segundo resultado)	79
3.13	Resumen de resultados de ácidos grasos obtenidos en la muestra A de aceite de oliva (en porcentaje)	80
3.14	Resumen de resultados de ácidos grasos obtenidos en la muestra B de aceite de oliva(en porcentaje)	81
3.15	Composición de ácidos grasos de la muestra Series 14 Oil (en porcentaje)	83
3.16	Resumen de las grasas obtenidas en la muestra en las Series 14 Oil	83
3.17	Valores asignados y desviaciones estándar para la muestra de prueba	84
3.18	Número y porcentaje de z-scores satisfactorios	84
3.19	Composición de ácidos grasos de la muestra de queso fresco (en porcentaje)	88
3.20	Resumen de ácidos grasos encontrados en la muestra de queso fresco	88

CAPÍTULO IV

4.1 Resumen de resultados obtenidos de la composición de grasas en la muestra A de aceite de oliva(en porcentaje)	90
4.2 Resumen de resultados obtenidos de la composición de grasas en la muestra A de aceite de oliva(en gramos)	90
4.3 Resumen de resultados obtenidos de la composición de grasas en la muestra B de aceite de oliva (en porcentaje)	91
4.4 Resumen de resultados obtenidos de la composición de grasas en la muestra B de aceite de oliva (en gramos)	91

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

1.1 Los tres ácidos más abundantes en el aceite de oliva	4
1.2 Estructuras de la glicerina y monoacilglicérido	6
1.3 Algunas estructuras de diacilglicéridos y triacilglicéridos	7
1.4 Algunos ácidos grasos saturados	19

CAPÍTULO II

2.1 Esquema de un Cromatógrafo de Gases	34
2.2 Inyección Split/ Splitless	35
2.3 Esquema de un detector de ionización de llama (FID)	47
2.4 Esquema de un detector de captura electrónica (ECD)	48

CAPÍTULO III

3.1 Análisis de ácidos grasos en la muestra de Series 14 Oil por Cromatografía de Gases	64
3.2 Análisis de ácidos grasos en la muestra A de aceite de oliva por Cromatografía de Gases	66
3.3 Análisis de ácidos grasos en la muestra B de aceite de oliva por Cromatografía de Gases	67
3.4 Análisis de ácidos grasos procedentes del queso fresco por Cromatografía de Gases	70
3.5 z-scores para mono-insaturados	85
3.6 z-scores para poli-insaturados	86
3.7 z-scores para saturados	87

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

DSR: Desviación Estándar Relativa

σ_p Valor del target por la desviación estándar

Target: Objetivo

CODEX: Códice

ECD: Detector de Captura Electrónica

FID: Detector de Ionización de Llama

FAME: Éster Metílico de Ácidos Grasos

FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme): Esquema para la evaluación del rendimiento del análisis de alimentos

HDL: Lipoproteína de alta densidad

ISO: Organización Internacional para la Normalización

IY: Índice de yodo

LDL: Lipoproteína de baja densidad

RT: Tiempo de retención

RSD_R: Desviación Estándar Relativa de Reproducibilidad

Rapeseed Oil: Aceite de semilla de colza

x: Resultado reportado por un laboratorio

\bar{X} : Valor asignado convencionalmente

Z: z-Scores

u: Incertidumbre

$\omega 3$ y $\omega 6$: Omega 3 y omega 6

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Analito.- Sustancia que debe analizarse.

Celita (Celite).- Conocido como Diatomita, Tierra Diatomácea. Material adsorbente que contiene más del 75 % de silica cristalina (menos de 75 % de cristobalita y menos de 5 % de cuarzo).

Codex (código).- Palabra latina, quiere decir "cepa, tronco con raíces". Se le da este nombre a un conjunto de hojas escritas a mano, en manuscritos generalmente de forma rectangular, sean de papiro o de pergamino.

Codex Alimentarius Commission (Comisión de alimentos del código).- Creada por la FAO y WHO en 1963 para desarrollar normas de comidas, pautas y textos relacionados como los códigos de práctica. Los propósitos principales de este Programa es proteger la salud de los consumidores y asegurar prácticas de comercio justas en el comercio de comida, y promover la coordinación de todo el trabajo de normas de comida emprendida por las organizaciones gubernamentales y no-gubernamentales internacionales.

Cromatograma.- Gráfico de señal de detector en función del tiempo.

Desviación Estándar (Desviación Típica).- Es la magnitud s que caracteriza la dispersión de los resultados, dada por la fórmula:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

donde:

x_i = resultado de la i-ésima medición.

\bar{X} = media aritmética de los n resultados considerados.

n = número de resultados.

Desviación Estándar Relativa (DSR).- Llamado también coeficiente de variación (CV) o desviación típica relativa, es la desviación estándar expresada como fracción de la media. Normalmente se expresa en porcentaje.

$$CV(\%) = (S / \bar{X}) \times 100$$

donde:

S = Desviación Estándar

\bar{X} = media aritmética de los n resultados considerados.

Headspace.- Accesorio utilizado en un cromatógrafo de gases para la inyección de muestras muy inestables.

Incertidumbre.-Parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podría razonablemente ser atribuido al mensurando.

Material de referencia certificado (MRC), m° .- Material de referencia, acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de sus propiedades están certificados por un procedimiento que establece su trazabilidad con una realización exacta de la unidad en la que se expresan los valores de la propiedad y para el cual cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con la indicación de un nivel de confianza.

Make-up Gas.-Gas adicional de gas inerte que mantiene un flujo constante entre la columna cromatográfica y el detector.

Media (Valor promedio, media aritmética).- Es la suma de todas las observaciones o mediciones dividida por el número de las mismas.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Mensurando.- Magnitud particular sujeta a medición.

Prueba Interlaboratorio.- Medida de la precisión realizada por diferentes laboratorios sobre la misma muestra, en diferentes condiciones (diferentes analistas, aparatos, días, etc.)

Las pruebas interlaboratorios para la evaluación de métodos se lleva a cabo con métodos estandarizados. Todos los laboratorios utilizan el mismo método (ISO 5725, 1986)

Porapak (Relleno de la fase estacionaria).-Consiste de un polímero versátil disponible con ocho tipos diferentes de propiedades químicas. La polaridad aumenta entre el Porapak P y el Porapak T. Porapak QS y Porapak PS son versiones silanizadas de Porapak Q y Porapak P, respectivamente.

Polímero	Área de superficie m ² /g	Densidad de empaque (g/ml)
Porapak P	100-200	0.27
Porapak PS	100-200	0.27
Porapak Q	500-600	0.34
Porapak QS	500-600	0.34
Porapak R	450-600	0.30
Porapak S	300-450	0.35
Porapak N	225-350	0.38
Porapak T	250-350	0.43

OV-1701 CB, SE-54 CB, Carbowax.- Fases estacionarias fabricadas a base de silicona, ésteres y otros materiales fabricados específicamente para utilizar como fases estacionarias en Cromatografía de Gases. De acuerdo al compuesto químico tiene una temperatura mínima y máxima de uso. Por ejemplo:

OV Metilsiliconas.

Temperatura mínima/máxima de funcionamiento

1) OV-1701, Vinyl, 3 g

0° C / 250 ° C.

2) β - β Oxydipropionitrilo, 50 g

0° C / 75 ° C.

Repetibilidad.- Grado de concordancia entre resultados de sucesivas mediciones del mismo mensurando, mediciones efectuadas con aplicación de la totalidad de las mismas condiciones de medición.

Notas

1. Estas condiciones se denominan condiciones de repetibilidad.
2. Las condiciones de repetibilidad comprenden
 - el mismo procedimiento de medición
 - el mismo observador
 - el mismo instrumento de medición utilizado en las mismas condiciones.
 - el mismo lugar.
 - repetición durante un corto período de tiempo.

Reproducibilidad.- Grado de concordancia entre los resultados de las mediciones del mismo mensurando efectuadas bajo diferentes condiciones de medición.

Notas

1. Para que una expresión de la reproducibilidad sea válida, es necesario especificar las condiciones que han variado.
2. Las condiciones variables pueden comprender:
 - principio de medición.
 - método de medición.
 - observador
 - instrumento de medición.
 - patrón de referencia.
 - lugar.
 - condiciones de utilización.
 - tiempo.
3. La reproducibilidad puede expresarse cuantitativamente por medio de las características de la dispersión de los resultados.

Respuesta del detector.- La magnitud de señal por una determinada cantidad de muestra.

Robustez.- El estudio de robustez evalúa los efectos de pequeños cambios en las condiciones operacionales del análisis sobre la fiabilidad del método analítico.

Septo (Septum).- El septo del inyector es una parte expansible y debe sustituirse en una base rutinaria. La frecuencia de sustitución depende del número de inyecciones y si éstas se realizan manualmente o con ayuda de un muestreador automático. En general el septo tiene que sustituirse cada 50-100 inyecciones, o cuando empiezan a aparecer síntomas de fuga a nivel del septo. Estos síntomas incluyen cambios en los tiempos de retención, reducciones en la respuesta del detector, o una caída de la presión de descarga de la columna.

Selectividad del detector.- Cantidades iguales de distintas clases de compuestos no siempre producen la misma respuesta en el detector.

Sensibilidad del detector.- Es el cambio en la respuesta con el cambio en la cantidad detectada.

Sesgo (bias).- Tendencia de una estimación a desviarse de un valor correcto en una dirección.

Split Injection (Inyección en modo dividido).- Donde solamente parte de la cantidad de muestra y solvente inyectada ingresa a la columna. El remanente de la muestra y solvente es venteadado a la atmósfera.

Split Injection (Inyección en modo no dividido).- Donde toda la muestra y solvente inyectada ingresa a la columna.

Purga del septo (Septum purge).- La función del venteo de la purga del septo es para remover algunos componentes volátiles que lixivian fuera del septo debido al puerto de la inyección siendo mantenido en una temperatura elevada. Cuando el venteo del modo dividido es cerrado, se cierra el venteo de la purga del septo (y viceversa) para asegurar

que durante la inyección splitless ambos venteos sean cerrados. Si el venteo de la purga del septo no es cerrado, algunos de los componentes de la muestra más volátiles puede ser venteadas.

Venteo del modo dividido (Split vent).- Porción de muestra eliminada a la atmósfera cuando se utiliza el modo de inyección dividida.

Trazabilidad.-Propiedad del resultado de una medición o de un patrón tal que pueda relacionarse con referencias determinadas, generalmente a patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas las incertidumbres determinadas.

SUMMARY

The present inform of sufficiency is based on the determination of Fatty Acids in Foods by the method of Gas Chromatography. Many of the foods that we consume during the day provide us of energy, vitamins, mineral and also fat. The fats are important for the feeding due to their energy value and to their high content in the essentials fatty acids $\omega 3$ and $\omega 6$.

The chapter I is specifically about the lipids or fatty and especially its constituents as they are the fatty acids, more important components of the fats, saturated chemically lineal substances and insaturated with the carboxilo function. These fatty acids, are distributed in different fatty and oils that are ingested in the feeding and they are those responsible for diverse favorable or unfavorable effects for the cardiovascular health.

The Chapter II tries about applied methodology that is the Gas Chromatography, separation technique where the components to be removed distribute phases between two, one of those which constitutes a stationary channel of great superficial development and another is a fluid that passes along the stationary channel. The components of the sample are also distributed between gassy mobile phase and stationary phase and some components interact in more measurement with the stationary phase, causing a slower movement through the column and thus obtain the separation. It is carried out according to the volatility of the components of the sample.

The description of the used norms and analytic method used for the determination of fatty acids in the samples of olive oil and cheese are detailed in the Chapter III, likewise the chromatograms and obtained results. In the Chapter IV one has the discussion of the results.

Finally, in Chapter V are showed analysis results, which are achieved using the method of Gas Chromatography on the determination of Fatty Acids in Foods.

RESUMEN

El presente informe de suficiencia se basa en la determinación de Ácidos Grasos en Alimentos por el método de Cromatografía de Gas. Muchos de los alimentos que consumimos durante el día nos proporcionan de energía, vitaminas, minerales y también grasa. Las grasas son importantes para la alimentación debido a su valor energético y a su elevado contenido en los ácidos grasos esenciales $\omega 3$ y $\omega 6$.

El capítulo I trata específicamente de los lípidos o grasa y en especial de sus constituyentes como son los ácidos grasos, componentes más importantes de las grasas, sustancias químicamente lineales saturadas e insaturadas con la función carboxilo. Estos ácidos grasos, están distribuidos en diferentes grasas y aceites, que se ingieren en la alimentación y son los responsables de diversos efectos favorables o desfavorables para la salud cardiovascular.

El Capítulo II trata acerca de la metodología aplicada que es la Cromatografía de Gas, técnica de separación donde los componentes a desglosar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales constituye un lecho estacionario de gran desarrollo superficial y otra es un fluido que pasa a lo largo del lecho estacionario. Además los componentes de la muestra se distribuyen entre la fase móvil gaseosa y la fase estacionaria y algunos componentes interactúan en mayor medida con la fase estacionaria, causando un movimiento más lento a través de la columna y así obteniéndose la separación. Esto se lleva a cabo según la volatilidad de los componentes de la muestra.

La descripción de las normas utilizadas y método analítico utilizados para la determinación de ácidos grasos en las muestras de aceite de oliva y queso se detallan en el Capítulo III, así también los cromatogramas y resultados obtenidos. En el Capítulo IV se tiene la discusión de resultados.

Finalmente, en el Capítulo V se muestra los resultados de los análisis, los cuales son logrados utilizando el método de Cromatografía de Gas en la determinación de ácidos grasos en alimentos.

INTRODUCCIÓN

Los seres humanos necesitamos para sobrevivir y desarrollarnos normalmente, solamente una pequeña cantidad de componentes individuales. Agua, para compensar las pérdidas producidas por la evaporación, sobre todo a través de los pulmones, y como vehículo en la eliminación de solutos a través de la orina. Energía, destinada al mantenimiento de la actividad vital de las células y al desarrollo de trabajo. La energía metabólica puede obtenerse de distintas fuentes, como son la grasa, carbohidratos y proteínas. Las proteínas, para utilizarlas como fuente de aminoácidos utilizables para construir las proteínas del propio organismo y también como fuente de nitrógeno biodisponible para sintetizar otras sustancias.

Las grasas o lípidos junto con las proteínas y carbohidratos son uno de los componentes estructurales de las células vivas. Juegan un rol nutricional muy importante en la dieta humana. Es una fuente concentrada de energía, provee 9 Kcal. por gramo de grasa. En contraste, cada gramo de carbohidratos y proteínas proveen solamente aproximadamente 4 Kcal. Adicionalmente, la grasa es el portador de las vitaminas liposolubles, A, D, E, y K. Los lípidos son también importantes en los bloques de construcción de las membranas de la célula, síntesis de hormonas, retinol, sales de la bilis, etc. Están presentes en los aceites vegetales (oliva, maíz, girasol, cacahuete, etc.), que son ricos en ácidos grasos insaturados, y en las grasas animales (tocino, mantequilla, manteca de cerdo, etc.), ricas en ácidos grasos saturados.

En los alimentos que normalmente consumimos siempre nos encontramos con una combinación de ácidos grasos saturados e insaturados.

CAPÍTULO I.- INTRODUCCIÓN A LA QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS

1.1 INTRODUCCIÓN

Los alimentos son mezclas complejas de sustancias cuyos componentes sirven por una parte para la nutrición del hombre, es decir, para la síntesis e intercambio de sustancias destinadas a la constitución y funcionamiento del organismo, así como a la obtención de energía. Además se caracterizan también por poseer otras propiedades, como aspecto, olor, sabor y consistencia, que determinan el valor culinario de un alimento, lo que les confiere importancia para la aceptación de este. De acuerdo con cuál sea la composición del alimento, prevalece uno u otro aspecto.

Los componentes de los alimentos son las proteínas, grasas, hidratos de carbono, vitaminas, sales minerales y otros componentes (ácido málico, láctico y cítrico, alcohol).

Las grasas se constituyen principalmente de una combinación de ácidos grasos saturados e insaturados. Los ácidos grasos saturados son más difíciles de utilizar por el organismo, ya que sus posibilidades de combinarse con otras moléculas están limitadas por estar todos sus posibles puntos de enlace ya utilizados o "saturados". Esta dificultad para combinarse con otros compuestos hace que sea difícil romper sus moléculas en otras más pequeñas que atraviesen las paredes de los capilares sanguíneos y las membranas celulares. Por eso, en determinadas condiciones pueden acumularse y formar placas en el interior de las arterias (arteriosclerosis).

Los ácidos grasos son los componentes más importantes de las grasas, sustancias químicamente lineales saturadas e insaturadas con la función carboxilo.

Estos ácidos grasos, están distribuidos en diferentes grasas y aceites, que se ingieren en la alimentación y son los responsables de diversos efectos favorables o desfavorables para la salud cardiovascular.

Las grasas son importantes para la alimentación debido a su valor energético y a su elevado contenido en los ácidos grasos esenciales $\omega 3$ y $\omega 6$.

1.2 OBJETIVOS

- Descripción del procedimiento de extracción de la grasa en la muestra de queso fresco.
- Descripción de los métodos normalizados (ISO 5509) para la determinación de ácidos grasos en alimentos como queso y aceite de oliva.

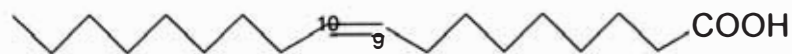
1.3 ANTECEDENTES GENERALES DE ÁCIDOS OMEGA 3 Y OMEGA 6

Desde 1929 Burr propuso que el ácido Linoléico C18:2 (18 átomos de carbono y dos dobles enlaces, $\omega 6$) y posiblemente el ácido Linolénico C18:3 (18 átomos de carbono y tres dobles enlaces, $\omega 3$) debían considerarse como ácidos grasos pues su ausencia en las dietas como tales, se traducían en síndromes típicos carenciales.

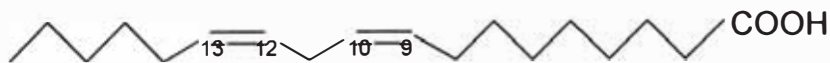
El descubrimiento de las Prostaglandinas que son derivados de los llamados ácidos grasos esenciales (Linoléico, Linolénico) y tienen una acción similar a las hormonas, en particular en la estimulación de la contracción de los músculos suaves, control de las inflamaciones y descenso de la presión sanguínea, dio una mejor explicación a la importancia de estos ácidos grasos.

La popularidad de los ácidos grasos Omega 3 y Omega 6 comenzó en la década de los 70, cuando un grupo de investigadores daneses demostró que el bajo índice de mortalidad por infartos al corazón en los esquimales de Groenlandia, se debía a la elevada ingesta de estos nutrientes en una alimentación basada casi exclusivamente en productos marinos (un promedio de 400 gramos al día).

Ya desde 1980, hasta hoy se han publicado en diversas revistas especializadas y alrededor de todo el mundo, más de 5000 artículos sobre los ácidos grasos Omega 3 y Omega 6.



ACIDO OLEICO



ACIDO LINOLEICO



ACIDO PALMITICO

Figura 1.1 Los tres ácidos grasos más abundantes en el aceite de oliva: Ácido oleico, arriba (18 átomos de carbono y un doble enlace en posición 9:10), ácido linoleico, en el centro, (18 átomos de carbono con dos dobles enlaces aislados, en posiciones 9:10 y 12:13), ácido palmítico, abajo, (16 átomos de carbono sin ningún doble enlace). De todos los ácidos grasos, el ácido oleico es el que más abunda en la naturaleza. El ácido linoleico es el precursor de las prostaglandinas y su carencia puede conducir a ciertas afecciones cutáneas. El hombre no lo sintetiza en su organismo.

1.4 LÍPIDOS

Los lípidos son compuestos de origen biológico que se disuelven en disolventes no polares como el cloroformo o el dietil éter. El nombre lípido viene de la palabra griega lipos, que significa grasa.¹ En general, el término grasa se emplea para referirnos a los materiales sólidos, a la temperatura ordinaria, mientras que el término aceite se refiere a los que son líquidos en las mismas condiciones.²

Los lípidos, como las grasas y aceites, demuestran propiedades en los alimentos. Atributos sensoriales tales como sabor, textura, y apariencia de los alimentos son afectados por sus puntos de fusión y estructuras cristalinas. Adicionalmente las grasas también interactúan con los constituyentes de los alimentos para crear propiedades deseables.³

1.4.1 FUNCIONES GENERALES DE LOS LÍPIDOS

- 1.- Como componentes estructurales de las membranas celulares.
- 2.- Como depósitos de reserva intracelulares de combustible metabólico.
- 3.- Como una forma de transporte de combustible metabólico.
- 4.- Como agentes de protección de las paredes celulares de muchas bacterias, de las hojas de las plantas superiores, del exoesqueleto de los insectos y de la piel de los vertebrados.

Existen diversas clases y sub-clases de lípidos, la mayor parte de las cuales pueden hallarse en forma de especies moleculares diferentes según la estructura de sus ácidos grasos componentes.

1.4.2 CLASIFICACIÓN DE LOS LÍPIDOS

1.4.2.1.- LÍPIDOS SIMPLES.- Son aquellos que están formados por ácidos grasos más un alcohol.

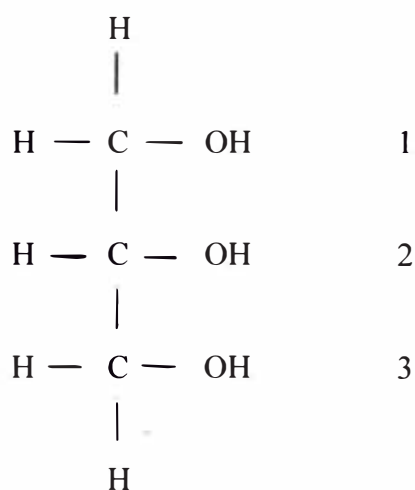
-Grasas Neutras.- Son ésteres de los ácidos grasos del alcohol glicerina. Reciben el nombre de acilglicéridos, grasas neutras o glicéridos.

Son los componentes principales de los depósitos o acumulaciones de grasas en las células animales y en las vegetales.

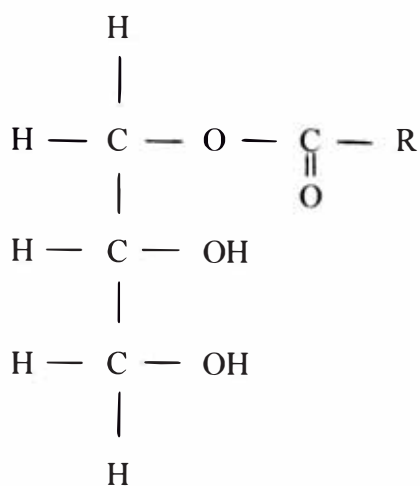
Cuando los tres grupos hidrófilo de la glicerina se hallan esterificados con ácidos grasos, la estructura recibe el nombre de triacilglicérido o triglicérido. En la naturaleza también se encuentran los diacilglicéridos y los monoacilglicéridos

Los triacilglicéridos pueden ser:

- Sencillos, cuando contienen una sola clase de ácido graso en las tres posiciones.
- Mixtos, cuando contienen dos o tres ácidos grasos diferentes.



Glicerina.



Monoacilglicérido

Figura 1.2 Estructuras de la glicerina y monoacilglicérido.

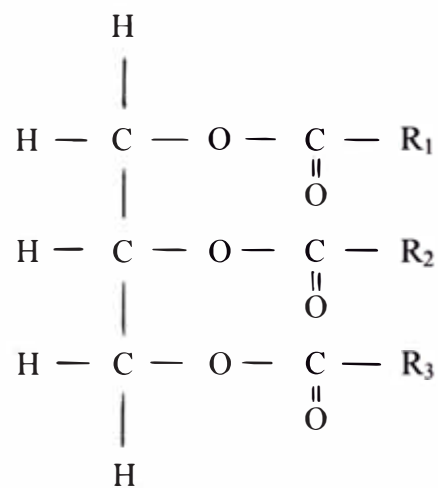
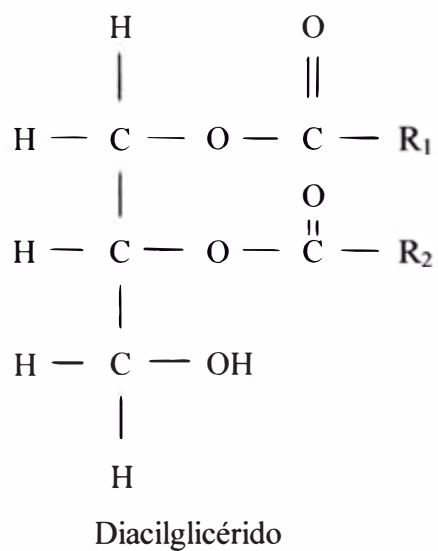


Figura 1.3 Algunas estructuras de diacilglicéridos y triacilglicéridos

Los triacilglicéridos desempeñan el papel fundamental de almacenar combustible, en forma de gotitas de grasa en las células.⁴

-Ceras.- Son ésteres de los ácidos grasos superiores con alcoholes monohidroxílicos de cadena larga.

Se encuentran como recubrimiento protector de la piel, pelo y plumas, sobre las hojas y los frutos de las plantas superiores y sobre la cutícula del exoesqueleto de muchos insectos.

1.4.2.2 LÍPIDOS COMPUESTOS.- Constituidos por fracción lipídica más otro grupo orgánico de distinta naturaleza como proteínas, carbohidratos, etc.

-Fosfoglicéridos.- Reciben el nombre de glicerilfosfátidos y se encuentran casi por completo en las membranas celulares. En estos compuestos uno de los hidrófilos primarios de la glicerina se halla esterificado por el ácido fosfórico, en lugar de por un ácido graso.

Todos los fosfoglicéridos poseen una cabeza polar y dos colas hidrocarbonadas no polares, por lo cual se les denomina lípidos anfipáticos o polares.

Los fosfoglicéridos más abundantes en las plantas superiores son:

- a) Fosfoglicérido de etanolamina (cefalina)
- b) Fosfoglicérido de colina (lecitina)

Estos dos fosfoglicéridos se hallan relacionados metabólicamente y son los componentes lipídicos principales de la mayoría de las membranas en las células animales.

1.4.2.3.-LÍPIDOS DERIVADOS.-Son los que teniendo naturaleza lipídica, presentan actividad fisiológica diferente a la de los demás lípidos.⁴

- Esteroides.- Son los derivados del núcleo del perhidrociclopentanofenantreno que contiene tres anillos de ciclohexano condensados con la ordenación propia del fenantreno.

Entre los más importantes se hallan:

- Ácidos biliares.
- Hormonas sexuales.
- Hormonas adrenocorticales.

-Venenos cardíacos.

-Venenos de los sapos.

-Esteroles.

El colesterol es el esteroles más abundante en los tejidos animales y se encuentra en forma libre y combinada.

El colesterol no se halla presente en las plantas, las cuales contienen otros tipos de esteroides, que se conocen con el nombre de fitosteroides. Se encuentran entre ellos el estigmasterol y el sitosterol.

- Prostaglandinas.-Actúan como moduladores de la actividad hormonal, estimulando la contracción de los músculos de fibra lisa, provocan el descenso de la presión sanguínea y se oponen a la acción de hormonas tales como la vasopresina.

Las prostaglandinas se forman a partir de ácidos grasos poli-insaturados, por acción oxidante que cierra un anillo de ciclo pentano, en la zona media de la cadena del ácido graso.

- Terpenos.- Son considerados componentes lipídicos menores de las células. Están contruidos por múltiples unidades del hidrocarburo de cinco átomos de carbono isopreno.

1.4.3 DIGESTIÓN Y UTILIZACIÓN DE LAS GRASAS⁵

Las grasas enlentecen el proceso de digestión, lo que da una sensación de saciedad en el estómago más prolongada. Las grasas son el nutriente más difícil de digerir por nuestro aparato digestivo, y el que más sobrecarga la función de las dos principales glándulas digestivas: el hígado y el páncreas. Por ello se recomienda una dieta muy pobre en grasas en caso de hepatitis o de pancreatitis.

En el intestino delgado, por acción de la bilis y la lipasa contenida en el jugo pancreático, las grasas son descompuestas en sus componentes principales, glicerina y ácidos grasos. De esta forma atraviesan la barrera intestinal y pasan al torrente circulatorio. En el hígado y el tejido adiposo, el organismo vuelve a unir los distintos elementos formadores de las grasas sintetizando las suyas propias a partir de la glicerina de los ácidos grasos absorbidos.

El organismo utiliza a las grasas como combustible de alta capacidad energética. Un gramo de grasa produce 9 calorías al quemarse (metabolizarse), es decir, más del doble que la misma cantidad de hidratos de carbono o de proteínas.

1.4.4 RECOMENDACIONES EN DISMINUCIÓN DE LAS GRASAS

Las recomendaciones del grupo de estudio OMS pueden condensarse en cuatro puntos:

1. Disminuir la cantidad total de grasa que se ingiere en la alimentación. La dieta omnívora típica de los países desarrollados contiene como promedio un 45 % de sus calorías en forma de grasa, lo cual es un porcentaje demasiado alto. Existen evidencias claras de que el riesgo de ciertos tipos de cáncer (por ejemplo el de la mama, el de próstata y el de colon) está directamente relacionado con la cantidad total de grasa en la dieta. Diariamente no se deben ingerir más de 300 miligramos de colesterol.
2. Disminuir el consumo de ácidos grasos saturados, hasta llegar a eliminarlos por completo. Estos ácidos grasos proceden principalmente de los alimentos de origen animal. A medida que disminuye la ingestión de ácidos grasos saturados, se observa una reducción progresiva de la mortalidad producida por las enfermedades cardiovasculares.
3. Mantener un consumo mínimo de ácidos grasos poli-insaturados, que se encuentran principalmente en los frutos secos, en los aceites de semillas (de germen de trigo, de maíz, de soya, de girasol, etc.) y también en los pescados. Estos ácidos grasos poli-insaturados, incluyen los llamados ácidos grasos esenciales, que resultan imprescindibles en la dietas.
4. Los ácidos grasos mono-insaturados, como el aceite de oliva, deben cubrir la diferencia entre la ingestión total de las grasas, y la suma de los ácidos grasos saturados e insaturados.

La dieta vegetariana a base de fruta, cereales, verduras y hortalizas, satisface plenamente estas recomendaciones de la OMS; por ser pobre en grasas totales y rica en ácidos grasos mono y poli-insaturados. No así la alimentación basada en carnes y derivados, que aporta un exceso de ácidos grasos saturados de procedencia animal.

Tabla 1.1
Necesidades diarias de grasas (OMS)⁶

NECESIDADES DIARIAS DE GRASAS		
	% de la energía total requerida	Para una dieta promedio de 2000 calorías equivale a:
Total de grasas:		
- Límite inferior	15 %	300 calorías
- Límite superior	30%	600 calorías
Ácidos grasos saturados:		
- Límite inferior	0%	0 calorías
- Límite superior	10%	200 calorías
Ácidos grasos poli-insaturados:		
- Límite inferior	3%	60 calorías
- Límite superior	7%	140 calorías
		33 gramos
		67 gramos
		0 gramos
		22 gramos
		7 gramos
		16 gramos

1.4.5 EL COLESTEROL⁵

El colesterol es un lípido derivado del grupo de los esteroides que se encuentra exclusivamente en los alimentos de procedencia animal, y que nuestro organismo fabrica además en el hígado. Su función en el organismo es la de servir como materia prima para la síntesis de las hormonas sexuales, entre otras, de las sales biliares y de las membranas celulares.

Aunque es una sustancia imprescindible para la vida, cuando su nivel aumenta en la sangre tiende a depositarse en las paredes de las arterias, deteriorándolas y estrechando su luz, lo que se conoce como arteriosclerosis. Por ello, un nivel alto de colesterol predispone a un mayor riesgo de infarto de miocardio, trombosis y falta de riego sanguíneo en las extremidades.

El colesterol circula en la sangre unido a unas sustancias llamadas lipoproteínas. Según a que tipo de lipoproteínas esté unido el colesterol se lo llama de forma diferente, y tiene efectos también distintos:

1.4.5.1 COLESTEROL LDL.-Es el colesterol que circula por la sangre unido a lipoproteínas de baja densidad, LDL en abreviatura (Low Density Lipoprotein, en inglés). Representa aproximadamente el 75 % del colesterol sanguíneo total. El colesterol LDL favorece la formación de la arteriosclerosis. Es el llamado “colesterol malo” o nocivo.

1.4.5.2 COLESTEROL HDL.-Circula unido a las lipoproteínas de alta densidad en abreviatura (High Density Lipoprotein, en inglés). Recientemente se ha puesto de manifiesto que este tipo de colesterol, al que se le llama coloquialmente “colesterol bueno”, tiene una acción preventiva de la arteriosclerosis. Cuanto más alto sea su nivel en la sangre, tanto mejor.

De la tabla 1.2 se deduce que el aceite de oliva, aunque disminuye poco el colesterol total, ejerce un efecto protector sobre la formación de la arteriosclerosis al aumentar el “colesterol bueno” transportado por las lipoproteínas de alta densidad (colesterol HDL).

Tabla 1.2
Efecto de los ácidos grasos sobre el colesterol⁵

Tipo de ácidos grasos	Fuente	Efecto sobre el colesterol	
		LDL	HDL
Saturados	Grasas animales	Aumento	Aumento
Mono-insaturados	Aceite de oliva, aguacate	Disminución	Ligero aumento
Poli-insaturados	Aceites de semillas y pescado	Disminución	Disminución

Tabla 1.3
Ácido Linoléico en algunos alimentos⁵

Alimento	Contenido en gramos por cada 100 gramos	Cantidad de alimento en gramos que proporciona los 6 gramos diarios recomendados
Nueces	32	19
Almendras	11	55
Soya (seca)	10	60
Aguacate	1.8	333
Huevos	1.2	500
Carne de vaca	0.6	1 000
Salmón	0.2	3 000
Leche	0.08	7 500

Los aceites de semillas, ricos en ácidos grasos poli-insaturados, disminuyen el colesterol total, pero también el colesterol HDL del efecto protector, por lo que su efecto global sobre la disminución del riesgo de arteriosclerosis, aun siendo importante, no es completo. En vista de todo ello, una recomendación acertada es la de combinar el uso de aceite de oliva con el de los aceites de semillas, no mezclándolos, sino alternando su uso.

Los pescados, especialmente los grasos, contienen ácidos grasos poli-insaturados que hacen descender el nivel del colesterol. Pero hay que recordar que por pertenecer al reino animal, también contienen colesterol, que es absorbido y pasa por la sangre. Debido a ello, el efecto global del pescado sobre el colesterol sanguíneo, así como su acción protectora sobre la arteriosclerosis, no son tan marcados como se espera.

1.5 LOS ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES ⁶

Son ácidos grasos poli-insaturados que nuestro organismo no es capaz de sintetizar, y que necesitamos ingerir de forma continuada durante toda nuestra vida. Por ello se los ha llamado vitamina F (de fat, en inglés) aunque no son realmente una vitamina.

Son el ácido linoléico y ácido linolénico, que se encuentran principalmente en el germen de los cereales (trigo, maíz, avena, etc) y en los frutos secos (nueces, almendras, avellanas, etc). Los alimentos animales también los contienen aunque en una proporción hasta diez veces menor, y siempre acompañados de ácidos grasos saturados, nocivos para la salud.

Un déficit de estos ácidos grasos esenciales se manifiesta por retraso en el crecimiento, sequedad de la piel, dermatitis, y alteraciones nerviosas y genitales.

La OMS ha establecido que como mínimo, se deben ingerir un 3% de ácidos grasos poli-insaturados, de los que el más importante es el ácido linoléico. Esto representa 8 gramos diarios, de los que unos 6, como mínimo deben ser ácido linoléico.

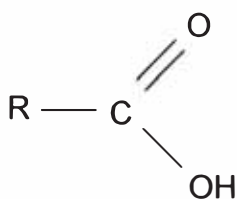
Tabla 1.4
 Colesterol en algunos alimentos⁵

Alimento	Contenido en miligramo por cada 100 gramos	Cantidad de alimento en gramo que proporciona los 300 mg máximos tolerados diariamente.
Sesos	2 195	14
Yema de huevo	1 281	23
Hígado	309	97
Grasa de carne	300	100
Mantequilla	219	137
Queso Gruyere	110	273
Langosta	95	316
Carne de ternera	83	361
Lomo de cerdo	72	417
Embutidos de cerdo	68	441
Pollo, cordero	68	441
Bacalao	55	545
Ostras	50	600
Leche completa	13.6	2 206
Yogur no desnatado	12.7	2 362
Leche semidesnatada	7.5	4 000
Leche desnatada	2	15 000
Fruta	0	-
Cereales	0	-
Verduras y hortalizas	0	-

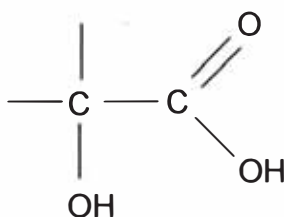
1.6 QUÍMICA GENERAL Y REACCIONES DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos, componentes más importantes de las grasas, son sustancias químicamente lineales saturadas e insaturadas con la función carboxilo.

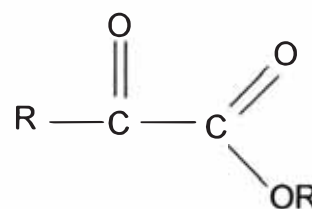
Químicamente, son ácidos monocarboxílicos alifáticos (fórmula general RCOOH). Esto produce como ácidos grasos libres, como ésteres, y como ésteres de glicerol en el glicerol. Ellos son también un componente de los fosfolípidos los cuales son glicerol, ácidos grasos, ácido fosfórico, y una combinación base de nitrógeno. Los compuestos de ácidos grasos- carbohidratos que contienen nitrógeno pero no ácido fosfórico son los glicolípidos. El término de ácidos grasos incluye ambos saturados e insaturados, ácidos carboxílicos con enlace normal y ramificado. En algunas instancias esto ha sido extendido para incluir hidróxidos, ácidos ceto y ácidos alifáticos conteniendo grupos alicíclicos. Las fórmulas estructurales para un ácido graso, α - ácido hidróxido, y ácido ceto se presenta a continuación:



Ácido Graso



α - ácido hidróxido



Ácido ceto

Se debe notar que los ácidos hidróxidos y ácidos ceto pueden experimentar las mismas reacciones que los ácidos grasos.

Los ácidos grasos se comportan como ácidos débiles debido a sus grupos carboxílicos. Por lo que, ellos son solubles, y dan reacciones ácidas con los indicadores. Las sales metálicas de estos ácidos los jabones producidos por la adición de soluciones álcalis, particularmente el hidróxido de sodio y el hidróxido de potasio los cuales dan jabones solubles en agua. Las sales de calcio y sales de metales pesados (Hierro, plata, cobre, etc.) son insolubles en agua. Los ácidos carboxílicos de peso molecular más alto son insolubles en agua pero disuelven en soluciones acuosas de hidróxido de sodio diluido. Solamente pocos de otras clases de compuestos

orgánicos más ácidos que el agua tienen esas características de solubilidad. Las soluciones acuosas de bicarbonato de sodio pueden ser usados para determinar la presencia de ácido por la evolución de dióxido de carbono.⁷



Insoluble en

Soluble en

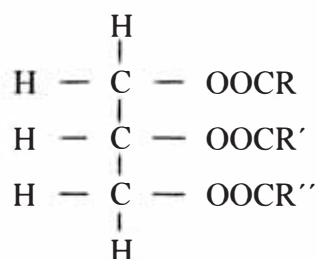
Agua

agua.

(Si $R > 6$)

Los ésteres son sustancias orgánicas producidas por la reacción de un alcohol con un ácido. Los ésteres insaturados pueden ser reducidos a sus correspondientes ésteres saturados catalíticamente. Los ésteres pueden también ser reducidos a un alcohol con el mismo número de átomos de carbono. Las reacciones de oxidación de ácidos grasos y ésteres son muy importantes para el enlace carbono en los puntos de insaturación. Los fragmentos resultantes desde la oxidación pueden ser analizados por información producida por Cromatografía de Gases en las posiciones de los enlaces dobles.

Los aceites y grasas son ésteres de glicerol de los ácidos grasos más alto y son conocidos como glicéridos. Los triglicéridos contienen alrededor de 95% de ácidos grasos y 5% de glicerol. Su fórmula general es la siguiente:⁷



Desde el punto de vista estructural, un triacilglicérido puede considerarse formado por la condensación de una molécula de glicerol con tres ácidos grasos, para dar tres moléculas de agua y una de un triglicérido.⁵ Son grasas y aceites de origen animal y

vegetal; incluyen sustancias tan comunes como los aceites de cacahuate, soya, maíz y girasol; la mantequilla, la manteca de cerdo y el sebo. Los triacilglicéridos pueden ser simples, es decir, poseen tres grupos acilo iguales. Sin embargo es más común que sean triacilglicéridos mixtos, los cuales cuentan con grupos acilos diferentes.

La hidrólisis de los glicéridos libera los ácidos grasos. Los ácidos en los glicéridos producidos naturalmente son ácidos grasos de enlace recto y usualmente contiene un número de átomos de carbono.

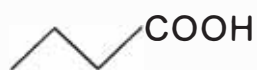
Los ácidos pueden contener ácidos grasos libres; el contenido de ácidos grasos libres es usualmente dependiente sobre el grado para el cual las grasas tienen experimentado hidrólisis enzimática. Las grasas pueden también contener fosfolípidos, glicolípidos, y material insaponificable, principalmente esteroides, especialmente colesterol. Las propiedades de una grasa están determinadas largamente por las propiedades de los ácidos en el triglicérido. Las grasas llegan a tener el punto de fusión más alto y más fácilmente solidificable según aumenta el promedio del peso molecular y decrece la insaturación. Las reacciones de las grasas son reacciones de grado grande de los componentes de ácidos grasos.

Para los ácidos grasos, según su cantidad de carbonos en la molécula, cambia el punto de fusión. A mayor cantidad de carbonos, aumenta su punto de fusión, y viceversa. Así mismo, la presencia de enlaces dobles reduce el punto de fusión. En idéntica cantidad de carbonos a temperatura ambiente, los ácidos grasos insaturados son líquidos, y los saturados son sólidos.

Se conocen unos 70 ácidos grasos que se pueden clasificar en dos grupos:

1.6.1 ÁCIDOS GRASOS SATURADOS.- sólo tienen enlaces simples entre los átomos de carbono. Son ejemplos de este tipo de ácidos el mirístico (14C); el palmítico (16C) y el esteárico (18C) como se puede apreciar en la tabla 1.5.

Químicamente, todos los átomos de carbono (menos el átomo terminal) están unidos a dos átomos de hidrógeno, es decir, que están “saturados” de hidrógeno. Este tipo de grasas provienen del reino animal - excepto el aceite de coco y el de cacao- y son sólidas a temperatura ambiente. Su consumo está relacionado con un aumento del colesterol sanguíneo y con la aparición de enfermedades cardiovasculares.⁵



ACIDO BUTIRICO



ACIDO CAPROICO



ACIDO LAURICO

Figura 1.4 Algunos ácidos grasos saturados

1.6.2 ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS (mono-insaturadas y poli-insaturadas).- tienen uno y varios enlaces dobles en su cadena respectivamente y sus moléculas presentan codos, con cambios de dirección en los lugares dónde aparece un doble enlace. Son ejemplos el oleico (18C, un doble enlace) y el linoléico (18C y dos dobles enlaces).

Los ácidos grasos mono-insaturados contienen un doble enlace entre dos de sus átomos de carbono, o más de uno cuando se trata de ácidos grasos poli-insaturados. Las fuentes más importantes de estos ácidos son los vegetales, especialmente las nueces, almendras y otros frutos secos oleaginosos y el germen de los cereales.

La grasa del pescado también contiene ácidos grasos insaturados. Suelen ser líquidos a temperatura ambiente (aceites), y por no tener saturados todos sus átomos de carbono con átomos de hidrógeno, conservan una mayor capacidad para reaccionar con otras sustancias y para ser metabolizados. ⁵

Tabla 1.5
Ácidos grasos saturados

Nombre común	Nombre Sistemático	Fórmula empírica
Butírico	n-butanoico	$C_4 H_8 O_2$
Isovaleriánico	Iso-pentanoico	$C_5 H_{10} O_2$
Caproico	n-hexanoico	$C_6 H_{12} O_2$
Caprílico	n-octanoico	$C_8 H_{16} O_2$
Cáprico	n-decanoico	$C_{10} H_{20} O_2$
Laúrico	n-dodecanoico	$C_{12} H_{24} O_2$
Mirístico	n-tetradecanoico	$C_{14} H_{28} O_2$
Palmítico	n-hexadecanoico	$C_{16} H_{32} O_2$
Esteárico	n-octadecanoico	$C_{18} H_{36} O_2$
Arcaico	n-eicosanoico	$C_{20} H_{40} O_2$

Tabla 1.6
Ácidos Grasos insaturados con un doble enlace

Nombre Común	Nombre Sistemático	Fórmula Empírica
Caproleico	9-decenoico	$C_{10} H_{20} O_2$
Lauroleico	9-dodecenoico	$C_{12} H_{22} O_2$
Miristoleico	9-tetradecenoico	$C_{14} H_{26} O_2$
Palmitoleico	9-hexadecenoico	$C_{16} H_{30} O_2$
Oleico	9-octadecenoico	$C_{18} H_{34} O_2$
Elaídico	Trans-9-octadecenoico	$C_{18} H_{34} O_2$
Cetoleico	11-docosenoico	$C_{22} H_{42} O_2$
Erúxico	13-docosenoico	$C_{22} H_{42} O_2$

El ácido Oleico es un ácido graso mono-insaturado de 18 átomos de carbono, que se encuentra sobre todo en el aceite de oliva (el 93 % de este se halla constituido por glicerina y ácido oleico), y también en otros aceites de semilla.

Los ácidos grasos insaturados, como el del aceite de oliva, y especialmente los poli-insaturados, que se encuentran en el germen del trigo, en las nueces, en las semillas de girasol, en la soya y en las pepitas de la uva, son sin ninguna duda, los más saludables. Tienen además la interesante propiedad de reducir la producción de colesterol en el organismo.⁵

Los ácidos grasos insaturados más abundantes en los organismos superiores son los ácido oleico, linoleico y araquidónico.

Tabla 1.7

Ácidos grasos insaturados con dos dobles enlaces

Nombre Común	Nombre Sistemático	Fórmula Empírica
Sórbico	3,4-hexadienoico	$C_6 H_8 O_2$
Linoleico	9,12-octadecadienoico	$C_{18} H_{32} O_2$

Tabla 1.8

Ácidos grasos insaturados con tres dobles enlaces

Nombre Común	Nombre Sistemático	Fórmula Empírica
Hexagónico	9-hexadecatrienoico	$C_{16} H_{26} O_2$
Linolénico	9,12,15-octadecatrienoico	$C_{18} H_{30} O_2$
Eleostearico	9,12,13-octadecatrienoico	$C_{18} H_{30} O_2$

1.7 ACEITES VEGETALES

1.7.1 COMPOSICIÓN TÍPICA DE LOS ACEITES VEGETALES

Entre los aceites vegetales más conocidos y utilizados, como los que se muestran en la tabla 1.9, se encuentran variaciones apreciables en cuanto a la distribución típica de los ácidos grasos que los componen. Así por ejemplo, varía el índice de yodo (IY), que mide el grado total de saturación, y las proporciones relativas de monoeno y polienos, además de algunas otras variaciones relacionadas con las características genéticas de la planta y el clima de regiones diversas.

1.7.1.1 ACEITES LAURICOS

El aceite de coco y de pulpa de palma, contienen, ya en estado crudo, alrededor de 50 % de ácidos grasos saturados, por lo cual no resulta extraño que sean sólidos en climas templados. Totalmente hidrogenados, tienen como punto de fusión 33 ° C y 39 ° C, respectivamente.

Su alto grado de insaturación implica que resistan la oxidación. Si llega a formarse un poco de ácidos grasos libres, el cambio de sabor es evidente; esto último ocurre por hidrólisis de los triglicéridos.

En su lugar de origen, se usan estos aceites para cocinar y son muy apreciados en pastelería y en la fabricación de margarinas. Son muy costosos.

1.7.1.2 ACEITE DE PALMA

Contiene un poco menos de 50% de ácidos grasos saturados. Se funde a 34° C – 36 ° C. Si se hidrogena bajando su IY en solo ocho puntos, se puede obtener una grasa con un punto de fusión de 42° C-44° C; y totalmente endurecido, el punto de fusión es de 58° C.

Su textura depende especialmente de la oleodipalmitina, su calidad es ideal para su aprovechamiento en margarinas y aceites para cocinar.

1.7.1.3 ACEITE DE OLIVA

El aceite de oliva es muy apreciado, tal cual es, para ensaladas y para cocinar, por lo que no hay mayor incentivo para hidrogenarlo. Su estabilidad se debe principalmente a su alta concentración de ácidos grasos monoinsaturados. (C18:1, Oleico, 74 %)

Tabla 1.9

Porcentaje de cada tipo de ácido graso en los diversos aceites vegetales⁴

Aceite	Índice de Yodo	Átomos de carbono: enlaces dobles						
		16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	
Coco	10	9	--	2.5	7	2.5	--	
Pulpa de palma	16	8	--	2.5	14	2.5	--	
Palma(Nigeria)	57	40	Trazas	5	40.5	12	Trazas	
Oliva	85	11.5	1.5	2	74	9	1.5	
Maní (Nigeria)	88	10	--	3.5	59	20	Trazas	
Algodón	107	25	Trazas	2.5	18	52	Trazas	
Girasol	132	6.5	Trazas	5	23	63	Trazas	
Soya	137	10	Trazas	3.5	21	56	8	

1.7.1.4 ACEITE DE MANI

Es excelente para todo uso. Se le utiliza bastante para freír, cocinar y en mezclas de margarina. Cuando su índice de yodo se baja a unos 72, forma un sólido blando de un punto de fusión cercano a 30° C. Totalmente endurecido, su punto de fusión llega a 62° C. Tiene relativamente pocos ácidos grasos saturados y poliinsaturados; si el aceite crudo se ha dañado por oxidación, el aceite ya refinado totalmente y medianamente endurecido, puede tener gusto a cera.

1.7.1.5 ACEITE DE SEMILLA DE ALGODÓN

Si se compara el contenido en ácidos grasos poliinsaturados de este aceite con el del maní se observa que hay mucho más, aproximadamente 52%.

Desde hace muchos años, en los países donde abunda, el aceite de semilla de algodón se hidrogena. Cuando está totalmente endurecido, tiene un punto de fusión de 62° C mientras que cuando está hidrogenado a 80 de índice de yodo da una grasa cuyo punto de fusión varía de 30° C a 34 ° C.

1.7.1.6 ACEITE DE GIRASOL

Es muy apreciable su uso como componente líquido de la margarina puesto que es rico en la forma de ácido linoleico (C 18:2), ácido graso esencial del cual el organismo puede sintetizar lo que necesita del importante ácido araquidónico.

En Turquía, país donde abunda se le hidrogena. Cuando lo está a un 84 de índice de yodo da un punto de fusión de 32 ° C y cuando lo está totalmente, su punto de fusión es 68° C.

1.7.1.7 ACEITE DE SOYA

Desde la década de los 30 se ha progresado tanto en su calidad, cultivo y elaboración, que actualmente se ha convertido en el cultivo oleaginoso más importante del mundo. Tiene un contenido relativamente bajo en ácidos grasos saturados, aproximadamente 10 %; el ácido linoléico lo hace vulnerable al ataque del oxígeno atmosférico, y como consecuencia, a la pérdida del sabor y, finalmente, a la rancidez.

Lo ideal es lograr un aceite ligeramente hidrogenado que todavía contenga un 1% ó 2% de ácido linoléico y así se conserva bien. Luego de esto, se fracciona el aceite

para retirar el pequeño porcentaje de triglicéridos de mayor punto de fusión; luego de desodorizar, se obtiene un aceite líquido de mayor calidad y estabilidad, útil en ensaladas.

Cuando el índice de yodo del aceite de soya se ha reducido por hidrogenación a unos 100, se obtiene un sólido blanco cuyo punto de fusión es menos de 30 ° C. El aceite totalmente endurecido funde a 68 ° C.

Además de estos aceites, puede hacerse una ligera mención de otros aceites vegetales también importantes como el aceite de maíz y de arroz.

El aceite de arroz es un subproducto del arroz, pero se está produciendo en cantidades siempre crecientes. Puliendo el arroz se obtiene afrecho, que contiene aproximadamente 14 % del aceite. Durante la primera media hora del proceso es preciso calentar el afrecho a 80-90° C para destruir algunas de las enzimas que contiene y así evitar su acidificación, que puede llegar hasta 15 % si el afrecho no ha sido esterilizado. Luego se compacta el afrecho y el aceite se extrae como solvente.

Una vez separado un 3 % de ceras, queda un aceite de buena calidad. La harina restante tiene 25 % de proteínas y cantidades más pequeñas de otros valiosos ingredientes, por lo que constituye una buena fuente de alimento para animales.⁴

1.8 PROPIEDADES DE LOS ÁCIDOS GRASOS

1.8.1 SOLUBILIDAD DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos poseen una zona hidrófila, el grupo carboxilo (-COOH) y una zona lipófila, la cadena hidrocarbonada que presenta grupos metileno (-CH₂-) y grupos metilo (-CH₃) terminales.

Por eso las moléculas de los ácidos grasos son anfipáticas, pues por una parte, la cadena alifática es apolar y por tanto, soluble en disolventes orgánicos (lipófila), y por otra, el grupo carboxilo es polar y soluble en agua (hidrófilo).

Desde el punto de vista químico, los ácidos grasos son capaces de formar enlaces éster con los grupos alcohol de otras moléculas. Cuando estos enlaces se hidrolizan con un álcali, se rompen y se obtienen las sales de los ácidos grasos correspondientes, denominados jabones, mediante un proceso denominado saponificación

Debido a la variedad de muestras en el cual los ácidos grasos se encuentran, es importante tener información sobre la solubilidad de los ácidos grasos y sus ésteres en un número de solventes usados generalmente. Varias generalizaciones son hechas con respecto a las propiedades de solubilidad de los ácidos grasos y sus ésteres. Primero, con respecto a la solubilidad en agua, los ácidos son completamente miscibles cerca de cuatro átomos de carbono en donde el punto de la solubilidad disminuye rápidamente. Los ácidos que tienen 10 o más átomos de carbono son esencialmente insolubles en agua. Los ácidos de los metil ésteres son generalmente menos solubles en agua que los ácidos, otra vez disminuye la solubilidad con el incremento del número de carbono de los ácidos grasos padres. El mismo patrón es observado en la solubilidad de los ácidos grasos o sus ésteres en metanol y acetona. El punto más importante es la diferencia de solubilidad entre los ácidos saturados e insaturados o ésteres en acetona y metanol. En general, un ácido de 18 átomos o su éster teniendo un doble enlace tendría una solubilidad a una temperatura particular por lo menos 100 veces más grande que el compuesto saturado equivalente. Un ácido C18 o su éster teniendo dos dobles enlaces tendría una solubilidad al menos 100 veces más grande que su equivalente con un doble enlace. Una similar declaración puede ser hecha para los ácidos con tres dobles enlaces o sus ésteres. Estas características de la solubilidad forman las bases para la purificación de muchos de los ácidos y ésteres.

Para los ácidos grasos, según su cantidad de carbonos en la molécula, cambia el punto de fusión. A mayor cantidad de carbonos, aumenta su punto de fusión, y viceversa. Así mismo, la presencia de enlaces dobles reduce el punto de fusión.⁷

Tabla 1.10
Solubilidad de los ácidos grasos en agua⁷

Ácido	Solubilidad (g/100g de agua a 20 °C)
Fórmico	Miscible en todas proporciones
Acético	Miscible en todas proporciones
Propanoico	Miscible en todas proporciones
1-Butanoico	Miscible en todas proporciones
Iso-Butírico	20
n-Valérico	4
Caproico	1.082
Octanoico	0.068
Capríco	0.015
Laúrico	Insoluble

Tabla 1.11
Solubilidad de ésteres de ácidos grasos en agua⁷

Ester de ácido graso	g/ 100 g agua a 20° C-22 ° C
Metil formato	30
Metil acetato	25-32
Metil propionato	5
Metil Buritato	1.7
Etil formato	10
Etil acetato	8.5
Etil propionato	1.7
Propil formato	2.1
Propil acetato	1.9
Propil buritato	0.16
Isopropil acetato	3.2

1.9 DIFERENCIAS ENTRE LOS ACEITES.- Si bien todos los aceites son materias grasas de origen vegetal, no todos son iguales ni en su composición ni en su obtención. Con respecto a este punto se puede decir que básicamente existen dos formas de obtener aceite:

- Por procedimientos mecánicos en los que utiliza grandes presiones y eventualmente, un aumento de la temperatura.
- Por procedimientos químicos de extracción de solventes y su posterior refinado.

1.9.1 TIPOS DE ACEITES

1.9.1.1 Aceites vírgenes: Esta mención sólo sirve para el aceite de oliva porque es el único producto de esta familia presente en el mercado, que no ha sufrido el proceso químico del refinado. Se considera que es directamente el jugo de las aceitunas, obtenido por medios mecánicos. El sabor del aceite de oliva virgen es muy característico porque a más pureza, mayor es su acidez.

1.9.1.2 Aceites mixtos: Cuando un aceite es producto de la mezcla de oliva virgen y de aceite de oliva refinado, recibe la denominación de “aceite de oliva”. En el resto de los aceites mezcla debe figurar la denominación de “aceite mezcla de...” incluyéndose la lista completa de los aceites que integran el producto en orden descendente de calidad. Estos aceites por lo general son ricos en ácidos poliinsaturados que pueden servir para la cocción debido a su escasa degradación por acción del calor.

1.9.1.3 Aceites de girasol, maíz y soya: Estos aceites son grasas poli-insaturadas que están destinadas preferentemente al consumo crudo por su menor resistencia al calor. Con frecuencia son vendidos como “aceites dietéticos”, clasificación que no es verdadera porque contiene la misma cantidad de calorías que cualquier aceite. No obstante es importante recordar que ningún aceite vegetal contiene colesterol, a menos que se lo caliente. En este procedimiento, cambia la composición química de los ácidos grasos del aceite, saturándose. Esta condición puede ser la base para que el organismo genere colesterol de forma similar a los alimentos de origen animal.

Por esta razón, se recomienda que estos aceites sean utilizados sólo en forma cruda para condimentar y no para cocinar.

1.9.1.4 Aceite refinado: esta característica indica que el aceite fue elaborado con métodos químicos. Según las normas de etiquetado, todos los aceites de semillas deben decir “aceite refinado de...”. El resto de las menciones como “extra fino o puro”, no tienen significación definida ni aportan ningún dato de calidad superior.

1.10 NORMA CODEX PARA EL ACEITE DE OLIVA, VIRGEN Y REFINADO, Y PARA ACEITE DE OLIVA REFINADO RESIDUAL ⁸

1.10.1 Composición esencial y factores de calidad

Los límites de composición esencial y factores de calidad del aceite virgen de oliva muestran ampliamente los valores mínimos y máximos, en el que se toma en cuenta las características de todos los producidos en nuestro país. Las características y límites de los índices físicos y químicos y los valores de la composición de los ácidos grasos para la variedad de aceites de oliva vírgenes producidos en un área de crecimiento de oliva. La composición de ácidos grasos se muestra en la tabla 1.8.

1.10.2 Índices físicos y químicos

El índice de refracción señala la refracción que experimenta un rayo luminoso al pasar por una sustancia grasa, lo cual también depende de la composición de la misma.

Para su determinación se ha creado aparatos llamados refractómetros como por ejemplo el oleo refractómetro de Abbé y que consiste en esencia en una disposición determinada de dos prismas y algunos otros dispositivos.⁴

Tabla 1.12

Composición de ácidos grasos en aceite de oliva⁸

Ácido Graso	Composición (% m/m de metil ésteres)
Ácido Oleico	56.0— 83.0
Ácido Palmítico	7.5— 20.0
Ácido Linoleico	3.5— 20.0
Ácido Estearico	0.5— 3.5
Ácido Palmitoleico	0.3— 3.5
Ácido Linolénico	0.0— 1.5
Ácido Mirístico	0.0— 0.05
Ácido Araquídico	Solamente cantidades pequeñas
Ácido Behénico	Solamente cantidades pequeñas
Ácido Gadoleico	Solamente cantidades pequeñas
Ácido Lignocérico	Solamente cantidades pequeñas
Ácido Erucico	No se presenta en cantidades perceptibles
Ácido Láurico	No se presenta en cantidades perceptibles

Tabla 1.13

Datos de índices de densidad relativa e índice de refracción de aceite de oliva⁸

Tipo de aceite de oliva	Densidad Relativa (20°C/agua a 20°C)	Índice de refracción($n_D^{20^\circ\text{C}}$)
Virgen	0.910— 0.916	1.4677— 1.4705
Refinado	0.910— 0.916	1.4677— 1.4705
Refinado y residual	0.910— 0.916	1.4680---1.4707

1.11 IMPORTANCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES OMEGA 3 Y OMEGA 6

Las publicaciones médicas empiezan ahora a difundir artículos cautelosamente optimistas sobre los ácidos grasos esenciales, en especial desde que, se demostró que los aceites de pescado reducían el riesgo de enfermedad cardiaca. Los ácidos grasos esenciales tienen otras funciones en el cuerpo especialmente en las paredes celulares, donde controlan la fluidez y actúan como guardianes que ayudan a verificar el acceso a la célula. Sin embargo, parece que las prostaglandinas son la clave de una enorme diversidad de enfermedades, en las que desempeñan un papel las deficiencias funcionales de dos ácidos grasos esenciales. Los dos ácidos grasos que son esenciales pertenecen a las familias omega-3 y omega-6.⁶

Ahora las investigaciones y publicaciones científicas comienzan a demostrar una nueva faceta del Omega 3 que incidiría no solamente en el desarrollo de ciertos tipos de cáncer(inhibiéndolos) sino también en el tratamiento de tumores y hasta en la atenuación de los efectos de los tratamientos que combaten esta enfermedad.

Los investigadores ofrecen varias teorías sobre como funcionan los ácidos grasos Omega 3, todo hacer suponer que éstos cambian favorablemente las membranas de las células del sistema inmunológico, reducen los niveles de prostaglandina E2, un químico inmuno supresor, y alteran las señales celulares. El primer efecto mejoraría la función inmunológica y los otros inhibirían la proliferación de tumores.

Faltan más estudios sobre las propiedades beneficiosas del Omega 3. Se conoce que este ácido actúa sobre el sistema inmunológico de diferentes maneras y aunque aun está lejos de afirmar que esta sustancia cura el cáncer, algo que demorará muchos años, ya se utiliza para el tratamiento de esta enfermedad y ayuda a superar los efectos de la radioterapia.

CAPÍTULO II. CROMATOGRAFÍA DE GASES

2.1 DEFINICIÓN.- Es una técnica de separación en la que los componentes a desglosar se distribuyen entre dos fases. Una de esas fases es un lecho estacionario de gran desarrollo superficial, y la otra fase es un gas el cual pasa a través o a lo largo del lecho estacionario.

La cromatografía de gas es una técnica para la separación de sustancias volátiles por filtración a vapor gas sobre una fase estacionaria. Si la fase estacionaria es un sólido se le llama Cromatografía Gas –Sólido (G.S.C). Esto depende sobre todo de las propiedades adsorptivas del empaque de las columnas para separar muestras, fundamentalmente gases.

Si la fase estacionaria es un líquido, se le llama cromatografía líquida gaseosa (G.LC). El líquido es extendido como una película sobre un sólido inerte y la base para la separación es la partición de la muestra dentro y fuera de esa película líquida.⁹

2.2 FUNDAMENTO DE LA CROMATOGRAFÍA

En la cromatografía de gases la fase móvil está integrada por la mezcla a resolver y, en la mayoría de los casos, por un gas no retenible o inerte adicional, que sirve para llevar en sí o para empujar la mezcla y los componentes después de su separación. Este gas inerte recibe el nombre de gas portador. La fase estacionaria puede ser sólido, en cuyo caso la retención selectiva de los componentes de la mezcla a resolver se debe a fenómenos consecutivos de adsorción y desadsorción, o por un líquido depositado sobre un soporte sólido, en cuyo caso son de absorción y desabsorción. El soporte sólido puede ser un relleno de la columna o bien la pared interior del tubo que la forma.¹⁰

-Adsorción.-En cromatografía de adsorción, también conocido como G.S.C. (Cromatografía de Gas-Sólido), los componentes son adsorbidos sobre un sólido, fase estacionaria. La fase estacionaria puede consistir de materiales tales como carbón activado, sílica gel, óxido de aluminio, o Porapak.

El principio de la separación está basado en el hecho de que los varios componentes pueden ser más o menos adsorbidos fuertemente por el adsorbente. En el proceso de adsorción, los componentes de una muestra gaseosa o líquida son reversiblemente unidos con la fuente del adsorbente.¹⁰

-Partición.- Para la separación de los componentes individuales, la partición entre las fases es importante. En contacto de la fase móvil con la fase estacionaria, un componente i de una fase es transferido hacia el otro, y este conduce a diferentes concentraciones de este componente en las dos fases. El ratio de las concentraciones esta dado por la constante de equilibrio K_i .

$$K_i = \frac{C_i(s)}{C_i(m)}$$

Donde:

$C_i(s)$ = Concentración del componente i en la fase estacionaria.

$C_i(m)$ = Concentración del componente i en la fase móvil.

Durante el transporte de la fase móvil, el equilibrio de la partición es continuamente reestablecido en las varias secciones de la columna a lo largo de su longitud. Cada una de estas pequeñas longitudes de la columna es conocida como un plato teórico (HEPT = Altura equivalente de un plato teórico). El número de esos platos teóricos es una medida del poder de separación de una columna. El número de platos teóricos es grande si las secciones de la columna de este tipo son pequeñas (altura de pequeños platos)^{11,13}

2.2.1 EL CROMATÓGRAFO DE GASES

Los principales componentes en un sistema de cromatografía gaseosa son: la fuente de gas portador (reservorio), el inyector de la muestra, la columna cromatográfica y el horno de la columna, el detector, la electrónica de tratamiento de la señal y el sistema de registro de la señal. (Ver figura 2.1).

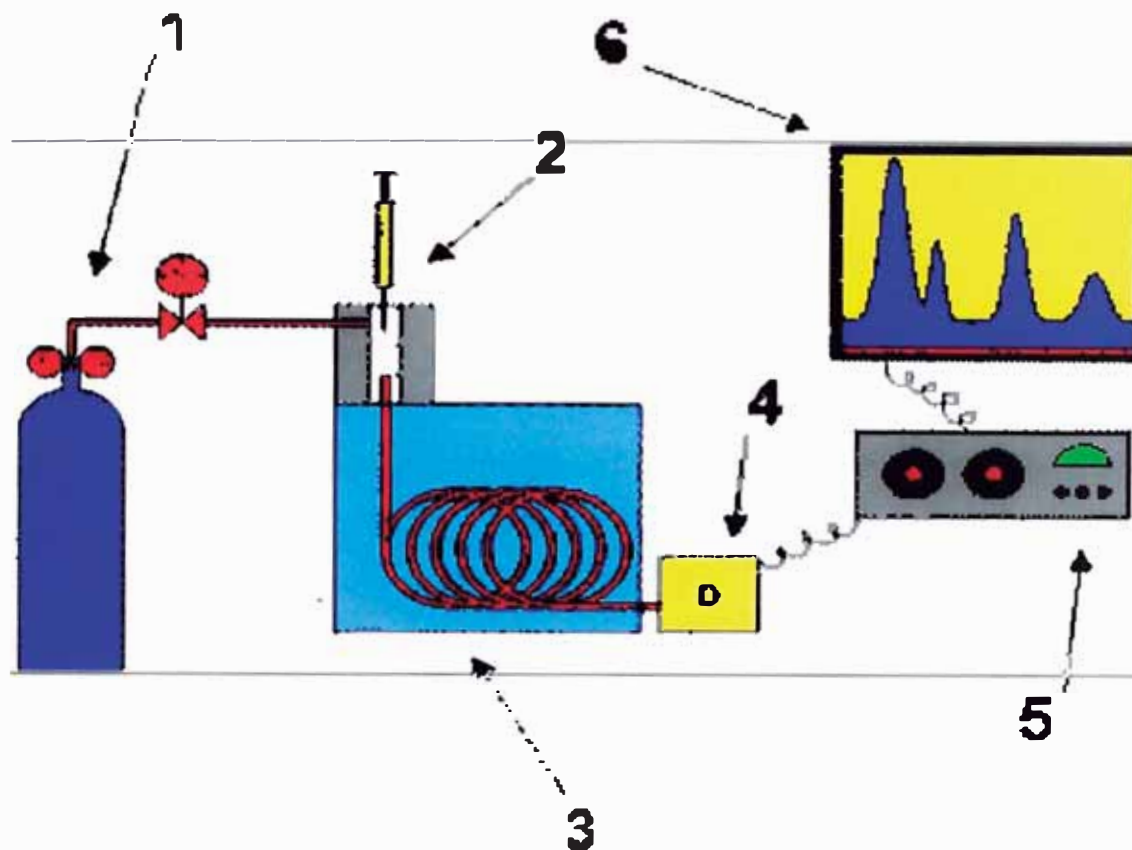


Figura 2.1 Esquema de un Cromatógrafo de Gases

1. Reservorio de gas / controles de los gases
2. Inyector de la muestra (vaporizador)
3. Columna cromatográfica y horno de la columna
4. Detector
5. Electrónica de tratamiento de la señal (amplificador)
6. Registro de la señal (computadora)

2.3 INYECCIÓN

En Cromatografía de Gas, las muestras deberían ser introducidas dentro del sistema de análisis en la forma de vapor. La vaporización puede ser alcanzada también durante o después de la introducción de la muestra. Se debe considerar lo siguiente:

- Introducción y vaporización de la muestra.
- Inyección por jeringa exacta y reproducible.
- Las técnicas de inyección son independientes de la muestra.

Las muestras líquidas pueden ser inyectadas dentro del cromatógrafo de gas por medio de una micro jeringa, mientras que las muestras sólidas deberían ser disueltas con anterioridad para la inyección. El método más simple de vaporización es usar un sistema de inyección caliente. La introducción de la muestra es el único paso crítico en cromatografía de gas. Los problemas pueden incluir reacción de los componentes de la muestra con cada uno o la discriminación debido a los componentes.

En principio, hay cuatro tipos de inyección de muestra:

- Inyección Splitless
- Inyección Split
- Inyección Temperatura programable.
- Inyección On- Column

2.3.1 INYECCIÓN SPLITLESS.- Este método es muy útil para diluir muchas soluciones. Cuando la inyección splitless es usada, la columna es sobrecargada con el solvente. Por esta razón, la temperatura en la parte superior de la columna es mantenida baja (10-20° C abajo del punto de ebullición del solvente) entonces esos componentes de baja volatilidad y el solvente se condensan. Esta condensación produce los componentes a ser determinados. El método no es recomendado para los componentes volátiles, porque éstos son eluidos desde la columna con el solvente. El cuidado debe ser tomado en este procedimiento para prevenir el sobrecargado del inyector por la cantidad de líquido inyectado. El inserto del inyector tiene un volumen interior de 0,4 ml. Como el líquido es rápidamente vaporizado en el inyector, el material puede introducir el frío corriente arriba si la cantidad del líquido es grande, y la condensación puede ocurrir. Esto puede ser una fuente de contaminación en análisis subsecuentes.^{11,13}

2.3.2 INYECCIÓN SPLIT.- En la inyección Split, solamente una parte de la muestra es entregada a la columna. Este método es usado con las columnas capilares. Aquí, la muestra es inyectada dentro del flujo del gas portador a través del septo, vaporizado en el tubo vaporizante, y luego mezclado con el gas portador. El gas puede ser dividido dentro de dos flujos por medio de una válvula de aguja ajustable infinitamente, el cual debe ser ajustado en tanto que una muy pequeña proporción de la muestra es entregada a la columna. Este método es usado cuando las concentraciones en la muestra son altas, ya que la capacidad de una columna capilar es baja. Durante el proceso, el septo es continuamente limpiado con el gas portador para prevenir que algunas sustancias liberadas desde este por el mismo alcancen la columna e interfieran con el análisis. Si la cantidad de la muestra aplicada es demasiado grande, la capacidad de separación de la columna capilar es reducida debido al sobrecargado. El resultado es una separación ineficiente. Las columnas capilares tienen un flujo bajo, y una muestra que contiene altas concentraciones de los componentes debe ser consecuentemente dividido para prevenir un pico inicial ancho. En Splitting, solamente una pequeña proporción de la muestra es entregada a la columna, el resto es sacado vía la válvula splitter(válvula separadora) . Es importante tener un flujo alto a través del inyector, en tanto que la muestra alcanza la columna rápidamente. Si el flujo es bajo, el intervalo del tiempo de la muestra en el inyector es demasiado grande, y el pico de inicio llega a ser ancho.^{13, 14}

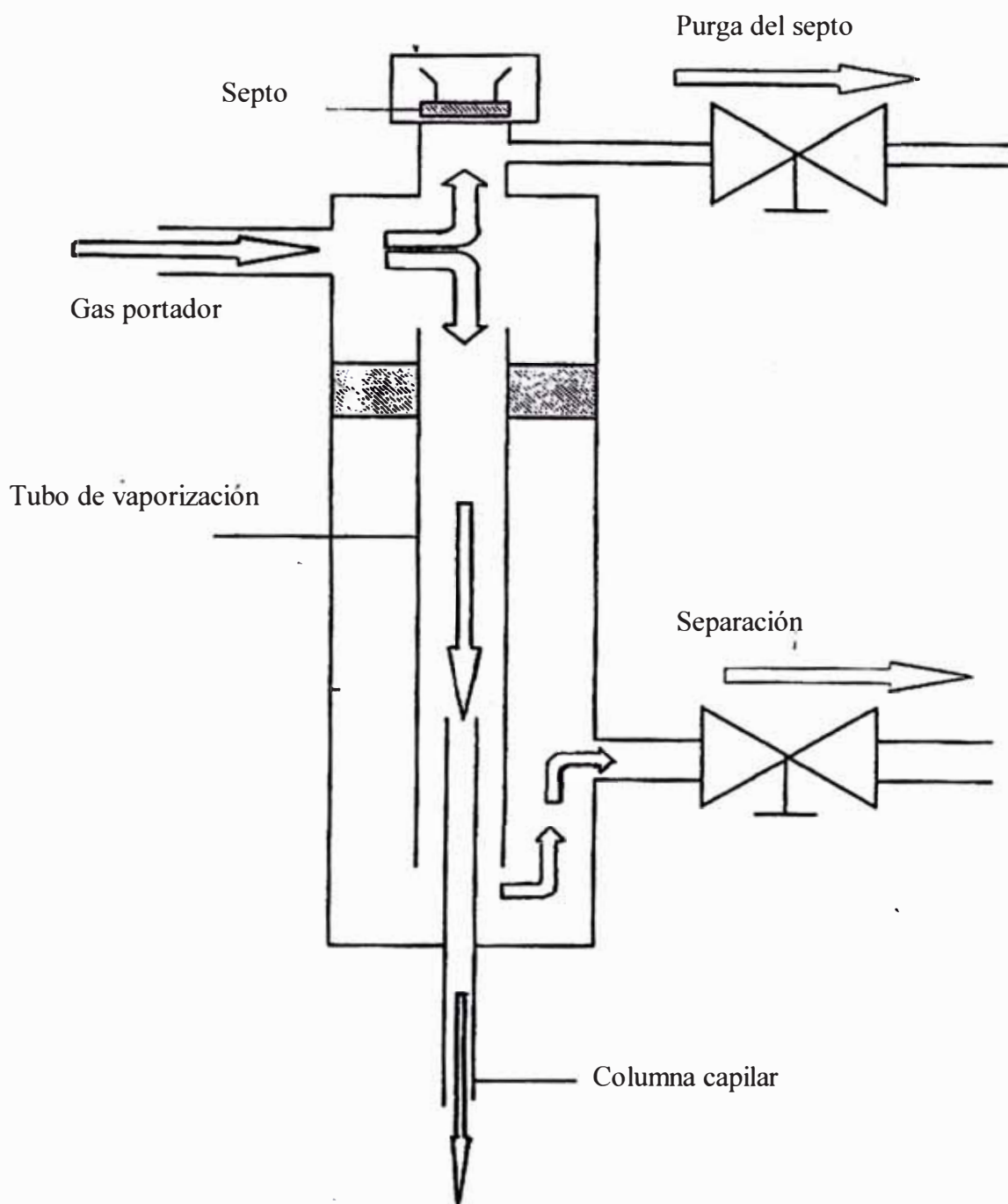


Figura 2.2 Inyección Split/Splitless

2.3.3 INYECCIÓN TEMPERATURA PROGRAMABLE.- En este método de inyección, la muestra líquida es inyectada dentro de un inyector frío. Después de la introducción de la muestra, el inyector es mantenido a temperatura programable de calentamiento, en donde el split es programable por un “evento-programa” (un programa auxiliar). Dependiendo de la temperatura de la columna, un efecto en la parte de arriba de la columna puede ser producido. La ventaja de este procedimiento es que el solvente puede ser removido por un split de tiempo-controlado antes que la separación actual tome lugar.^{11, 13}

2.3.4 INYECCIÓN ON-COLUMN.-En este método, la muestra es inyectada directamente dentro de la columna. Aquí, la muestra no está contenida en el inserto de vidrio. Las columnas con un diámetro interior pequeño son inconvenientes para esta técnica de introducción de muestra. Como la inyección on-column es un método splitless, solamente las muestras de bajas concentraciones pueden ser inyectadas. Este método es conveniente para componentes polares y térmicamente inestables.¹⁵

2.4 TÉCNICA HEADSPACE

La cromatografía de gases en combinación con la técnica Headspace (HS), conocida como Cromatografía de Gas Headspace (HSGC), juega un rol dominante en la investigación de componentes volátiles en muestras de química clínica, bioquímica, química de alimentos, y en análisis de medio ambiente. En contraste a la inyección líquida usual, el cual es un método de análisis directo, este es un método de análisis indirecto para la determinación de sustancias volátiles en muestras líquidas o sólidas, y es usado cuando los métodos para la determinación de sustancias volátiles en alta ebullición, inestables, o muestras de baja volatilidad, especialmente en trazas, no dan resultados satisfactorios.

Esta técnica de inyección tiene ventajas sobre otros métodos de análisis de sustancias volátiles con respecto al poder de separación, sensibilidad, facilidad de manipular, y posibilidades de automatización, y la técnica de headspace está por lo tanto llegando a ser más y más ampliamente usada.¹⁵

2.4.1 HEADSPACE ESTÁTICO

En headspace estático, la muestra está en un sistema estático cerrado en donde las condiciones están en equilibrio termodinámico. Después de establecer el equilibrio, la muestra es removida directamente del espacio de vapor encima de la muestra y transferida al cromatógrafo de gas.

Para análisis reproducibles, es importante que el equilibrio entre las fases debe primero ser establecido. Este equilibrio es influenciado por el tiempo de acondicionamiento y la temperatura. El traslado de la muestra para el análisis de Cromatografía de Gases puede ser por medio de la sobrepresión o bajo presión, aunque el cuidado debe ser tomado la temperatura no solamente del recipiente de la muestra si no también del dispositivo de medida es mantenido constante. Los recipientes HS (viales) son sellados con un PTFE (politetrafluoro etileno) o septo de silicona-cubierta aluminio. El septo por si mismo es protegido de la sobre presión del espacio interior por la tapa de aluminio. Antes de cada análisis, la determinación de un blanco con un vial vacío HS es llevado a cabo para detectar si algún constituyente de los materiales del septo o vial está siendo emitido.¹⁵

2.4.2 HEADSPACE DINÁMICO

En un headspace dinámico, hay extracción de gas continua de la sustancia volátil que está siendo analizada. En este caso, la concentración de la sustancia eluída cambia constantemente con el tiempo hasta que se aproxima a cero asintóticamente. El headspace dinámico es por consiguiente independiente de la matriz, la cantidad total es removida desde la muestra. La muestra, líquida o sólida, está en un recipiente el cual es continuamente purgado con un gas inerte (gas portador). Este método proporciona una corriente de gas bien diluida, para que un estado de concentración sea incluido antes del análisis. Esto puede ser alcanzado por el uso de un medio de adsorción, un estado de enfriamiento, o una combinación de ambos.^{16, 17}

2.5 COLUMNA.- Es el lugar donde ocurre la separación. Se dice que es el corazón de un cromatógrafo. Los materiales con los cuales generalmente se pueden elaborar

las columnas son: cobre, aluminio, acero inoxidable, vidrio ó teflón. El relleno puede ser un sólido, ó un líquido recubriendo un sólido. Todos los materiales deben ser térmicamente y químicamente estables, es decir, las temperaturas requeridas durante el análisis no deben descomponer los materiales de la columna y los materiales deben ser inertes, libres de óxidos y sitios activos.

Las columnas de separación para la partición cromatográfica son:

Columnas empacadas.

Columnas capilares.

2.5.1 COLUMNAS EMPACADAS.- Esto consiste de vidrio o tubos de acero con un diámetro interno (ID) de 1-50 mm. Las columnas con un diámetro interno más grande que 5 mm son usados para cromatografía de gas preparativa.

Los empaques de las columnas consisten de un adsorbente sólido (ejemplo silica gel) con un área superficial tan grande como sea posible y una distribución más o menos uniforme de granos medidos. Para la partición cromatográfica, el empaque actúa como un material portador y es impregnado con un líquido. Debido a su gran área superficial, los empaques de la columna pueden tomar grandes cantidades de líquido y son por lo tanto particularmente sustituible para la separación de componentes volátiles y gases.¹³

2.5.2 COLUMNAS CAPILARES.-Esto consiste de silica fundida (dióxido de silicio), vidrio álcali o vidrio borato. Sus diámetros internos varían entre 30 y 500 μm . Las longitudes de la columna están usualmente entre 1 y 100 m.

Hay tres tipos de columnas capilares:-Columnas capilares empacadas en donde el empaque es un adsorbente (por ejemplo silica gel). Estos son usados por la cromatografía de adsorción solamente, no cromatografía de partición, y son adecuados para componentes fuertemente polares.

-Columnas capilares de película delgada, en donde la fase líquida es aplicada a las paredes internas de la columna en la forma de una película delgada. Hoy día, el líquido puede también ser enlazado químicamente a la pared de la columna.

-Columnas capilares de cubierta delgada, el cual consiste de una película, cubierta finamente dividida de material portador en el cual es luego por el mismo cubierto con la fase líquida. ^{11,12}

2.6 FASES ESTACIONARIAS

En la Cromatografía de partición, un amplio rango de componentes es usado como fases estacionarias líquidas:

Polysiloxanos (siliconas) con varios sustituyentes no polares y polares.

Polietileno glicoles.

Hidrocarburos.

Ésteres.

Poliésteres.

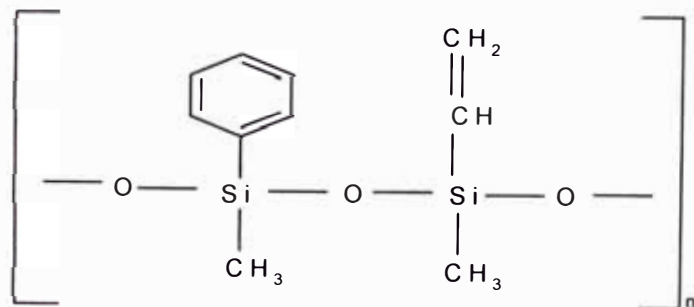
Las fases estacionarias pueden diferir en polaridad. Ejemplos de las más comúnmente fases usados son:

SE-54 CB, no polar:

94% metilsilicona.

5% fenilsilicona.

1% vinilsilicona.



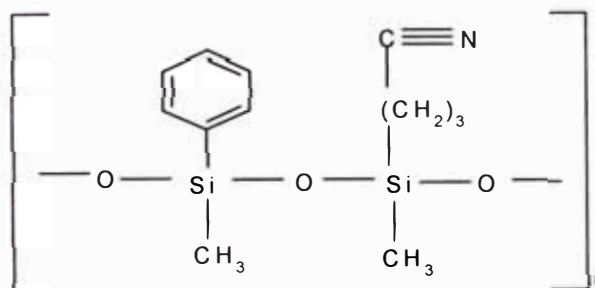
Temperatura máxima 300-320 ° C.

-OV-1701 CB, de polaridad media:

88% metilsilicona.

7% fenilsilicona.

5% cianopropilsilicona.



Temperatura máxima 280° C.

-Carbowax, polar:



Material con $n > 500$ es conocido como Carbowax 20 M.

Cuando parcialmente esterificado con ácido tereftálico o ácido nitrotereftálico, este es conocido como WG 11 o FFAP (fase libre de ácidos grasos).

Temperatura máxima 220° C.¹⁶

2.7 ESPESOR DE LA PELÍCULA

La uniformidad de aplicación y el espesor de la cubierta de la fase estacionaria tienen una gran influencia sobre la calidad y el poder de separación de la columna:

Películas delgadas: 0.10 – 0.15 μm para muestras de baja volatilidad.

Grosor de películas medias: 0.2-0.3 μm para separaciones estándar

0.5 mm para problemas de separación especial.

Como PCBs (bifenilos policlorados)

Películas más delgadas: 1-5 μm para sustancias volátiles

Análisis de trazas (diferencias de grandes

concentraciones)

2.8 GAS PORTADOR

En cromatografía de gases, la fase móvil es el gas. Los gases usados incluyen nitrógeno, helio, e hidrógeno. Los gases son introducidos desde un cilindro de gas y son alimentados vía válvula de presión reducida dentro del cromatógrafo de gas. Como ellos tienen viscosidades diferentes, los gases tienen diferentes flujos, y esto afecta el número de platos teóricos. Se debe tener en cuenta las características:

- Inerte.
- Helio, Argón, Nitrógeno, Hidrógeno (Naturaleza).
- Selección por detector, costo, disponibilidad.
- Presión regulada para presión de entrada constante.
- Flujo controlado para velocidad de flujo constante.

2.9 SOPORTE

La función básica del soporte es la de retener la fase estacionaria. Idealmente debe ser un material inerte que "mantiene" la fase estacionaria sobre su superficie como una película delgada.

La mayoría de los soportes cromatográficos está hecha de diatomita. Químicamente es casi todo sílice, con algunas impurezas. También se conoce como Tierras Diatomáceas ó Kieselguhr (palabra alemana). Domina el campo de los soportes debido a su estructura, superficie y disponibilidad.

Para seleccionar un soporte se debe tener en cuenta:

La estructura, ó características físicas (contribuye a la eficiencia de la columna cromatográfica):

- Tamaño de partícula
- Diámetro del poro
- Densidad
- Área superficial

La química de superficie ó características superficiales (gobierna la participación del soporte en los resultados de la separación).

-Grupos silanoles activos

-Iones metálicos

Además de las características anteriores, la selección del soporte va a depender también de:

-La naturaleza de la muestra

-La naturaleza de la fase líquida

-El uso que se le va a dar a la columna

-General

-Específico

-Soporte líquido

- Sirve como base para la fase líquida
- Incrementa el área de superficie disponible para la muestra
- Partículas porosas pequeñas de tamaño uniforme
- Alta concentración de sílica
- Tamaño de partículas estandarizadas (malla)

Tabla 2.1

Tamaños de partículas del soporte líquido (malla)

Tamaño de malla	Rango de diámetro medio
60/80	177-260 μ m
80/100	149-177 μ m
100/120	125-149 μ m
120/140	105-125 μ m

2.10 DETECTORES

Los componentes eluidos desde la columna son detectados por el detector, el cual emite una señal eléctrica proporcional (un voltaje). Un detector es un dispositivo para revelar la presencia de las sustancias eluidas a la salida de la columna cromatográfica. El Detector es un dispositivo capaz de convertir una propiedad física, no medible directamente, en una señal elaborable y ofrecernos información sobre la naturaleza y magnitud de la propiedad física.

En cromatografía un detector funciona comparando una propiedad física entre el gas portador puro y el mismo gas portador llevando cada uno de los componentes que previamente se han separado en la columna, esta acción se traduce en una señal tipo eléctrica, que posteriormente se amplificará mediante un registrador gráfico ó integrador permitiendo indicar el momento que salen de la columna los componentes.

2.10.1 CLASIFICACIÓN DE LOS DETECTORES

Estos pueden ser clasificados:

- Detectores según su Grado de Selectividad :
 - Universales. Responde a la mayoría de los solutos que pasan por él.
 - Específicos ó Selectivos. Exhibe una gran respuesta a un grupo particular de sustancias con un mínimo de respuesta a otras.
- Detectores Destructivos y No destructivos. Esta clasificación, obviamente, es en referencia a si la muestra es destruida o no.
- Detectores según su Modo de Respuesta:
 - Dependientes del Flujo Másico. Producen una señal que es proporcional a la cantidad de soluto que pasa a través de él en la unidad de tiempo pero es independiente del volumen de gas portador requerido para la elusión.
 - Dependiente de la Concentración. Dan una señal proporcional a la cantidad de soluto por unidad de volumen de gas portador que pasa a través de él.

- Detectores según el proceso de detección Ionización, Óptico-Espectroscópico, Electroquímico, etc.

2.10.1.1 DETECTOR DE IONIZACIÓN DE LLAMA

El Detector de Ionización de Llama responde para componentes que producen especies cargadas eléctricamente en combustión en una llama Hidrógeno/Aire. Dan una corriente de ionización muy débil, pero capaz de ser puesta de manifiesto mediante un diseño electrónico adecuado.¹⁵

La corriente de ionización de la llama de hidrógeno-aire, en ausencia de cualquier sustancia, se debe a la presencia de iones H_3O^+ acompañados de trazas de iones NO^+ y NH_4^+ . Esta corriente de fondo aparece cuando se somete a una diferencia de potencial. Al aparecer en la llama una sustancia extraña habrá una variación en la corriente de fondo debida a la aparición de nuevas especies iónicas o, incluso, modificación de las que había.

La aparición de una sustancia orgánica en la llama de hidrógeno aire provoca un fuerte aumento de la corriente de ionización, siempre que el compuesto orgánico contenga unidades C-H en su molécula.¹⁰

La reacción del radical libre es



Estas especies cargadas, bajo la influencia de un campo eléctrico, son capturados sobre un electrodo colector y medido por un electrómetro, cuya salida es amplificada. El campo de aplicación del detector de ionización de llama es muy grande, que responde a casi todos los componentes orgánicos. Una desventaja es que esto es a menudo demasiado inespecífico e insensitivo para análisis de medio ambiente y los análisis de residuos.¹⁵

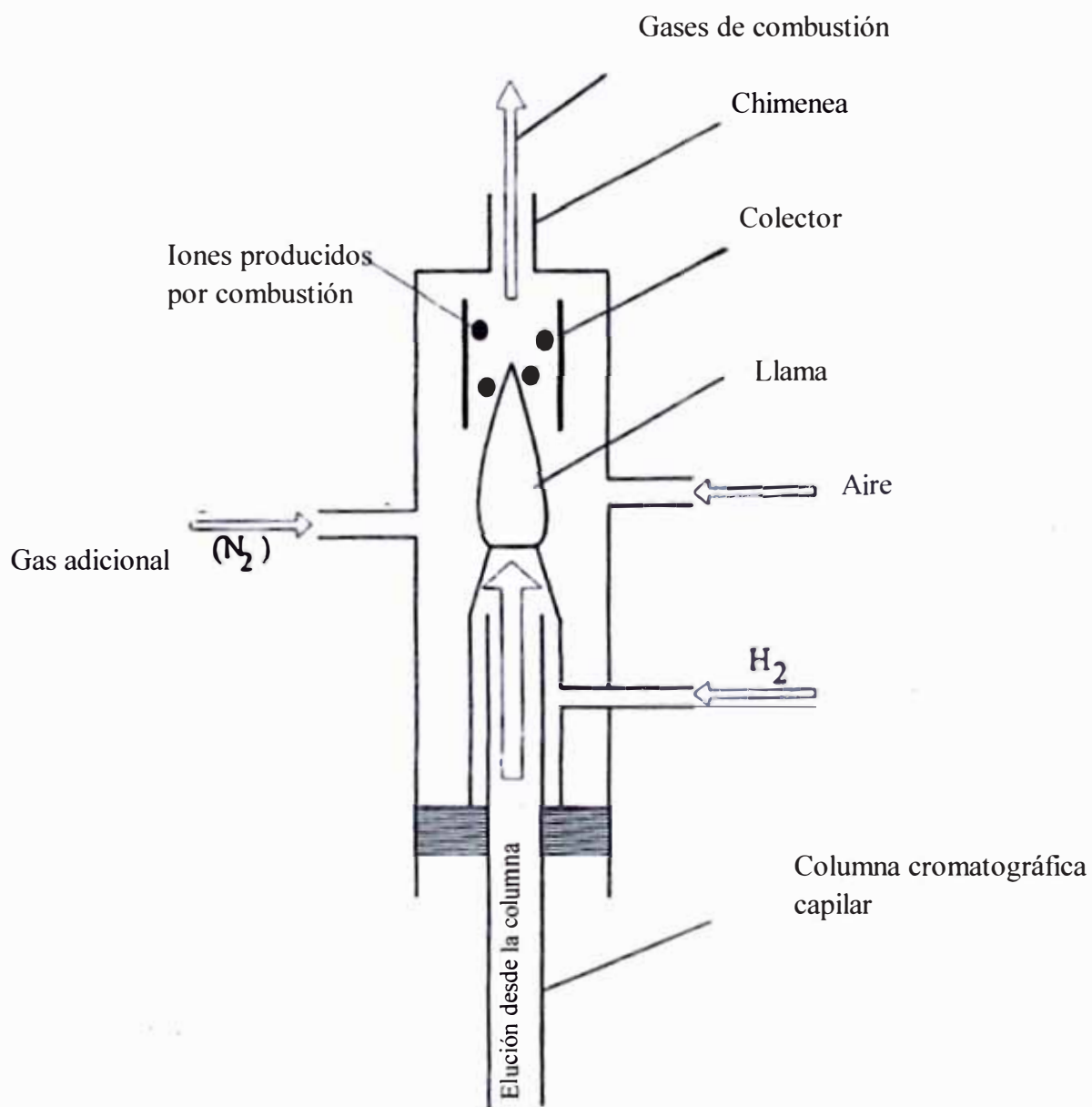


Figura 2.3.- Esquema de un detector de ionización de llama (FID)

2.10.1.2 DETECTOR DE CAPTURA ELECTRÓNICA

El detector de Captura Electrónica es especialmente conveniente para el halógeno, sulfuro, y compuestos nitro, es decir, compuestos que son capaces de capturar electrones. Debido a su alta selectividad y sensibilidad, esto es muy usado para análisis de residuos por ejemplo para hidrocarburos halogenados y agentes de protección de plantas.

Los rayos beta emitidos desde el cátodo ionizan el gas portador (gas carrier), de tal modo los electrones se liberan. Si un voltaje pulsado es aplicado para el electrodo en la celda, esos electrones son capturados, que producen una corriente eléctrica. Si las moléculas electrofílicas son introducidas dentro de la celda, estos absorben electrones y llegan a ser negativamente ionizados. La densidad del electrón en el detector por lo tanto decrece, así que un pequeño número de electrones son capturados en cada pulso. El número total de electrones capturados por unidad de tiempo puede ser mantenido constante por el incremento de la frecuencia de pulso cuando el número de electrones decrece. La frecuencia de pulso es luego proporcional a la concentración de las moléculas electrofílicas pasando a través del detector.¹⁸

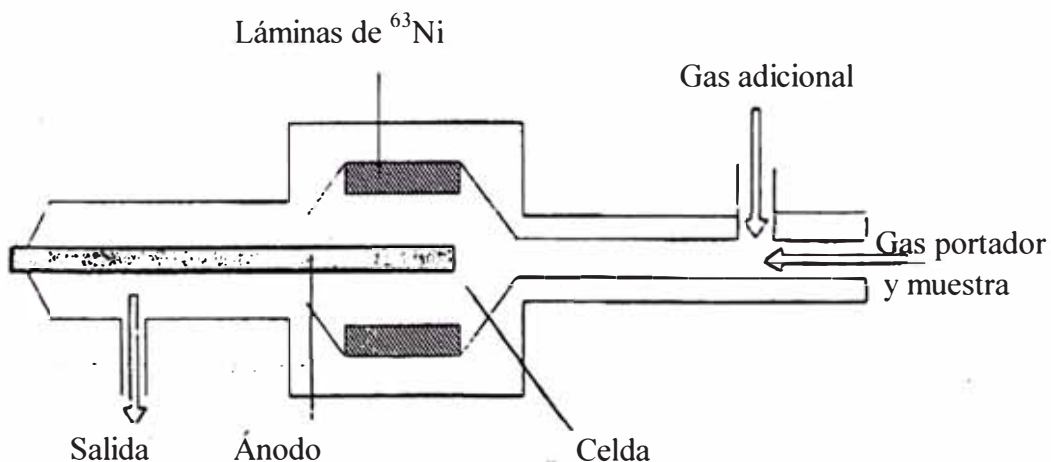


Figura 2.4 Esquema de un detector de Captura electrónica (ECD)

2.11 CUANTIFICACIÓN

El análisis cuantitativo determina la masa o concentración de uno o más componentes de la muestra, comparando el porcentaje de composición de los componentes en esta.

Los errores comunes en cuantificación son:

- Diferencias en las respuestas entre detectores.
- Cambios de respuestas debido a la temperatura, el flujo o cambios de corriente.
- Contaminación de la muestra.
- Pérdida de muestra durante la inyección.
- Error de cálculos.
- Técnica pobre de muestreo.
- Sesgo del operador.
- Errores al azar.

Para tener una estimación del análisis se deben usar los promedios y las desviaciones estándar.

2.11.1 MÉTODOS BASADOS EN ESTÁNDARES INTERNOS

En la evaluación usando un estándar interno, una cantidad conocida de otro componente es mezclada con la muestra. Este componente debe satisfacer las condiciones siguientes:

- Este no debe estar ya presente en la muestra.
- Este debe ser químicamente similar al componente de interés.
- Este debe tener similares propiedades de retención.
- Este no debe reaccionar con la muestra o químicamente cambiar la muestra.

La cuantificación es realizada por comparación del área del pico estándar con el área pico de la muestra. Un factor (el factor de respuesta) entre la muestra y el estándar debe ser hallado, como cantidades iguales de muestra y estándar son detectados por el detector con sensibilidades muy diferentes.

El factor de respuesta del componente i es calculado desde:

$$f_i = \frac{A_{st} \times G_i}{A_i \times G_{st}}$$

Donde:

f_i = Factor respuesta del componente.

G_i = Cantidad pesada del componente.

G_{st} = Cantidad pesada del estándar.

A_{st} = Área del pico del estándar.

A_i = Área del pico del componente.

El componente i es calculado según:

$$Componente_i = \frac{A_i \times f_i \times Z_{st}}{E \times f_{st} \times A_{st}}$$

Donde:

E = Cantidad pesada de la muestra sin estándar interno.

f_{st} = Factor respuesta del estándar interno.

Z_{st} = Cantidad pesada del estándar interno.

La desventaja de este método es que el estándar interno es necesario para cada componente del grupo.

2.11.2 ADICIÓN ESTÁNDAR

Aquí, es adicionado una cantidad definida del componente a ser cuantificado. El cambio en el área del pico ocasionado por el incremento de la concentración es usado para cuantificar el componente. La cuantificación mejorada es obtenida si varias concentraciones son añadidas a la muestra, así que una línea recta es obtenida cuando las áreas de los picos son graficados versus las concentraciones.

Una línea recta puede ser obtenida en función de los resultados (regresión lineal). El coeficiente regresión r^2 da una medida de la linealidad. La proximidad de r^2 es la unidad, lo más exacto es la relación entre X e Y representada por una línea recta.¹⁵

La concentración de la muestra por el método de adición estándar es calculada según:

$$C = \frac{C_{st} \times A_o}{A_{st} - A_o}$$

Donde:

C = Concentración de la muestra.

C_{st} = Concentración del estándar.

A_i = Área del pico del componente en la muestra sin adición.

A_{st} = Área del pico del componente en la muestra con estándar.

2.11.3 CALIBRACIÓN EXTERNA

En este método, los componentes a ser determinados son añadidos individualmente en cantidades definidas. Las áreas de los picos obtenidas son luego graficadas versus la concentración. Este método es también usado para la preparación de una curva de calibración. Las desventajas del método son el consumo del tiempo en la producción de las curvas y los efectos de la matriz los cuales son ignorados^{11,13}

2.11.4 NORMALIZACIÓN DE ÁREA

Por normalización, se calcula el porcentaje de la composición por medida del área de cada pico y dividiendo las áreas individuales por el área total.

$$\%A_i = \frac{A_i \times 100}{A_t}$$

Cuando se analiza componentes con punto de ebullición cercano de una serie homóloga, este método puede ser usado para calcular porcentaje en peso. Esto supone que todos los picos fueron eluidos, y que cada componente tiene la misma respuesta del detector.¹⁹

Donde:

A_i = Área del componente i de la muestra.

A_t = Área total de los componentes de la muestra.

$\% A_i$ = Porcentaje del componente i de la muestra.

CAPÍTULO III.- PARTE EXPERIMENTAL

Los lípidos comestibles, tanto de origen vegetal como animal, están dentro de los llamados lípidos neutros (triglicéridos o triacilglicéridos). Tanto los productos lácteos y el aceite de oliva, tienen propiedades que dependen de su composición de ácidos grasos que los constituyen, como de la distribución en la molécula de la glicerina.

3.1 DESCRIPCIÓN DE LAS PRUEBAS DE RUTINA

La aplicación prolongada del calor en la extracción puede provocar una descomposición del lípido; de especial importancia, si se desea estudiar posteriormente la composición de sus ácidos grasos por cromatografía gaseosa. Depende por lo tanto del material, la técnica que se elegirá para la determinación de los lípidos.

3.1.1 ANÁLISIS DE ALIMENTOS QUE PRECISAN SEPARACIÓN TOTAL DE LÍPIDOS

Para alimentos (pan, queso, huevo, cacao, productos dietéticos) que precisan, para la separación total de los lípidos un tratamiento ácido previo, puede aplicarse una de las técnicas siguientes:

3.1.1.1 Método de la hidrólisis ácida: 1 a 5 g de la muestra (según su contenido en lípidos) seca y molida se adicionan en un vaso cubierto (o en un matraz con refrigerante de aire) de 10 ml de agua y 10 ml de HCl concentrado. Se calienta al baño de agua hirviente, manteniendo la ebullición de la mezcla por media a una hora y agitando con varilla, a intervalos de 5 minutos. Se deja enfriar y se agrega 1 g de celita u otro adsorbente similar. Sobre un embudo de Büchner (de filtración al vacío), se colocan 2 discos de papel filtro endurecido y se vacía encima una suspensión de unos 3 g de adsorbente en unos 20 ml de agua. Inmediatamente se vacía la mezcla hidrolizada, se enjuaga varias veces el vaso o matraz con agua enfriada, la cual se vierte también sobre el Büchner hasta que el filtrado salga transparente. Una vez seca

la masa, se desprende con uno de los discos, se disgrega con varilla y se seca a la estufa; luego se extrae con éter en un agotador.

También se puede seguir otro camino, diluyendo con agua la mezcla clorhídrica enfriada y extrayendo dentro de cualquiera de los tubos descritos en el método de Roese-Gottlieb, con 25 ml de éter etílico y después de agitar, con 25 ml de éter de petróleo. Luego se continúa como se indica en dicho método. AOAC 905.02

3.1.1.2 Método internacional: 100 ml de HCl 4N caliente se vierten sobre 5 g del producto pulverizado y mezclado con piedra pómez y se hierve suavemente a reflujo durante 15 minutos. Por el refrigerante se vierten 100 ml de agua caliente y se filtra en caliente por filtro plegado y húmedo. El residuo con el filtro se lava bien, se seca y se extrae 4 horas con éter de petróleo y la grasa se seca a 100 ° C hasta constancia de peso.

3.1.1.3 Método de coagulación: 10 g (cacao o chocolate raspado) se disuelven en 150 ml de agua a 80 ° C. Cuando ya no quedan grumos se deja enfriar y se agregan 10 ml de solución cúprica de Fheling. A los 10 minutos se filtra por filtro plegado y humedecido (de 15 cm.) y se lava. El filtro se extiende y se deja secar al aire para extraerlo luego con éter de petróleo. Después de 2 horas de extracción, se separa el residuo con una espátula (sin romper el filtro) y se mezcla en un mortero con 5 g de Na SO₄ anhidro. Esta mezcla se coloca nuevamente en el filtro, se vuelve a extraer 3 a 4 horas y se continúa como el método anterior.²⁰

3.2 ANÁLISIS QUÍMICO DE MUESTRAS DE PRODUCTOS LÁCTEOS Y ACEITE DE OLIVA

Los aceites y grasas vegetales así como los productos lácteos son muy empleados en la alimentación diaria. Para el análisis del aceite de oliva se procedió con la Norma ISO 5509 y para el caso de la muestra de queso fresco, primeramente se extrae la grasa para luego utilizar la Norma ISO 5509. A continuación se presentan las normas técnicas que se pueden utilizar para el correspondiente análisis de estos alimentos.

3.2.1 NORMAS TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EL ANÁLISIS QUÍMICO

Las Normas Técnicas utilizadas para la determinación de los ácidos grasos son las siguientes:

- AOAC Método Oficial 955.30 Queso. Preparación de muestras.
- AOAC Método Oficial 905.02 Grasa en leche. Método Roese – Gottlieb.
- ISO 5509 Aceite y grasas animal y vegetal. Preparación de metil ésteres de ácidos grasos.

3.2.1.1 AOAC Método Oficial 955.30. Queso. Preparación de muestras (33.7.02)

Cortar tajadas de muestra y pasar tres veces a través de un picador. Moler más en el picador de alimentos, o cortar o destrozarse muy finamente y mezclar a fondo.

Con crema de requesón y quesos similares, poner 300-600g de muestra a una temperatura menor de 15° C en una taza de un litro de una licuadora de alta velocidad y licuar por mínimo tiempo (2-5 minutos) requerido para obtener mezclas homogéneas. La temperatura final debe ser menor o igual a 25° C.

3.2.1.2 AOAC Método Oficial 905.02. Grasa en Leche. Método Roese -Gottlieb (33.2.25)

Pesar, lo más cercano a 10 g de muestra dentro de un frasco extracción de grasa o tubo. Adicionar 1.25 ml de NH₄OH (2 ml si la muestra es agria) y mezclar vigorosamente. Adicionar 10 ml de alcohol y mezclar bien. Adicionar 25 ml de éter (todo el éter debe estar libre de peróxido), tapar con tapón (caucho sintético) no afectado por los solventes usuales de grasa, y agitar muy vigorosamente 1 minuto. Enfriar, si es necesario; adicionar 25 ml de éter de petróleo (rango de ebullición 30°C-60°C) y repetir vigorosamente la agitación. Centrifugar el frasco en aproximadamente 600 rpm o permitir parar hasta que el líquido superior esté prácticamente limpio. Decantar la solución de éter dentro de un frasco conveniente o plato de metal. Lavar la boca y tapa del frasco de extracción o tubo con mezclas de partes iguales de los dos éteres y adicionar los lavados al frasco pesado o plato. Repetir la extracción del líquido remanente en el frasco o tubo dos veces, usando 15 ml de cada solvente cada tiempo adicionando agua si es necesario, pero omitir el enjuague con los solventes mezclados después de la extracción final.

Evaporar los solventes completamente sobre un baño de vapor a temperatura que no cause salpicaduras o saltos (añadir previamente astillas de ebullición). Secar la grasa hasta peso constante en un horno a $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ o en horno de vacío a $70^{\circ}\text{C}-75^{\circ}\text{C}$ bajo una presión menor o igual a 50 mm Hg (6.7kPa). Pesar el frasco enfriado o plato, sin limpiar antes de pesar. Remover la grasa completamente del contenedor con 15-25 ml de éter de petróleo caliente, secar, y pesar como antes. Pérdida de peso = Peso de grasa. Corregir peso de la grasa con la determinación del blanco sobre los reactivos usados. Si el blanco es mayor a 0.5 mg, purificar o reemplazar los reactivos. La diferencia entre la determinación de duplicados obtenidos simultáneamente por el mismo analista debería ser menor a 0.03 g grasa / 100 g de producto.

3.2.1.3 Método utilizado para extracción de grasa en muestra de queso.

Luego de preparar la muestra, pesar 10g en un vaso y adicionar 1.25 ml de NH_4OH y mezclar bien apoyando la bagueta por las paredes del vaso. Adicionar 10 ml de etanol y mezclar bien. Adicionar 25 ml de éter y mezclar, enseguida adicionar 25 ml de éter de petróleo (rango de ebullición $30^{\circ}\text{C}-60^{\circ}\text{C}$) y mezclar nuevamente. Decantar y filtrar el extracto utilizando sulfato de sodio anhidro a un balón pesado. Repetir la extracción dos veces utilizando 25 ml de éter de petróleo filtrando el extracto orgánico de manera similar a la primera extracción. Luego, evaporar el solvente en un extracto de Soxhlet por 5 minutos.

3.2.1.4 ISO 5509 Grasas y aceites animal y vegetal – Preparación de metil ésteres de ácidos grasos.

En un frasco introducir la porción de prueba. Ver anexo 1 y el anexo 2. Adicionar la cantidad apropiada (Ver anexo 1) de la solución hidróxido de sodio metanólico y hervir. Conectar el condensador de reflujo al frasco.

Si los ácidos grasos contienen más de dos dobles enlaces, remover el aire desde el frasco por enjuague del frasco con nitrógeno seco inmediatamente colocar al reflujo por unos pocos minutos.

Hervir bajo reflujo hasta que las gotas de grasa desaparezcan, agitar el frasco por unos minutos cada 30 segundos a 1 minuto para prevenir que el hidróxido de sodio forme alrededor de las paredes del frasco. Esto usualmente toma 5 minutos a 10

minutos, pero en casos excepcionales esto puede tomar más tiempo. Adicionar la cantidad apropiada de la solución metanólica de trifluoruro de boro a través de la parte de arriba del condensador.

Continuar hirviendo por 3 minutos. En el caso de aceites con largas cadenas de ácidos grasos, tales como pescados, continuar hirviendo por 30 minutos.

Adicionar la cantidad apropiada de isooctano a la mezcla hirviendo a través de la parte superior del condensador.

Remover el frasco desde la fuente caliente y remover el condensador de reflujo. Inmediatamente, sin permitir que el frasco se enfríe, adicionar 20 ml de cloruro de sodio. Tapar el frasco y agitar esto vigorosamente al menos 15 segundos.

Adicionar más de la solución de cloruro de sodio saturada para traer el nivel del líquido de la mezcla dentro del cuello del frasco. Permitir que las dos fases se separen.

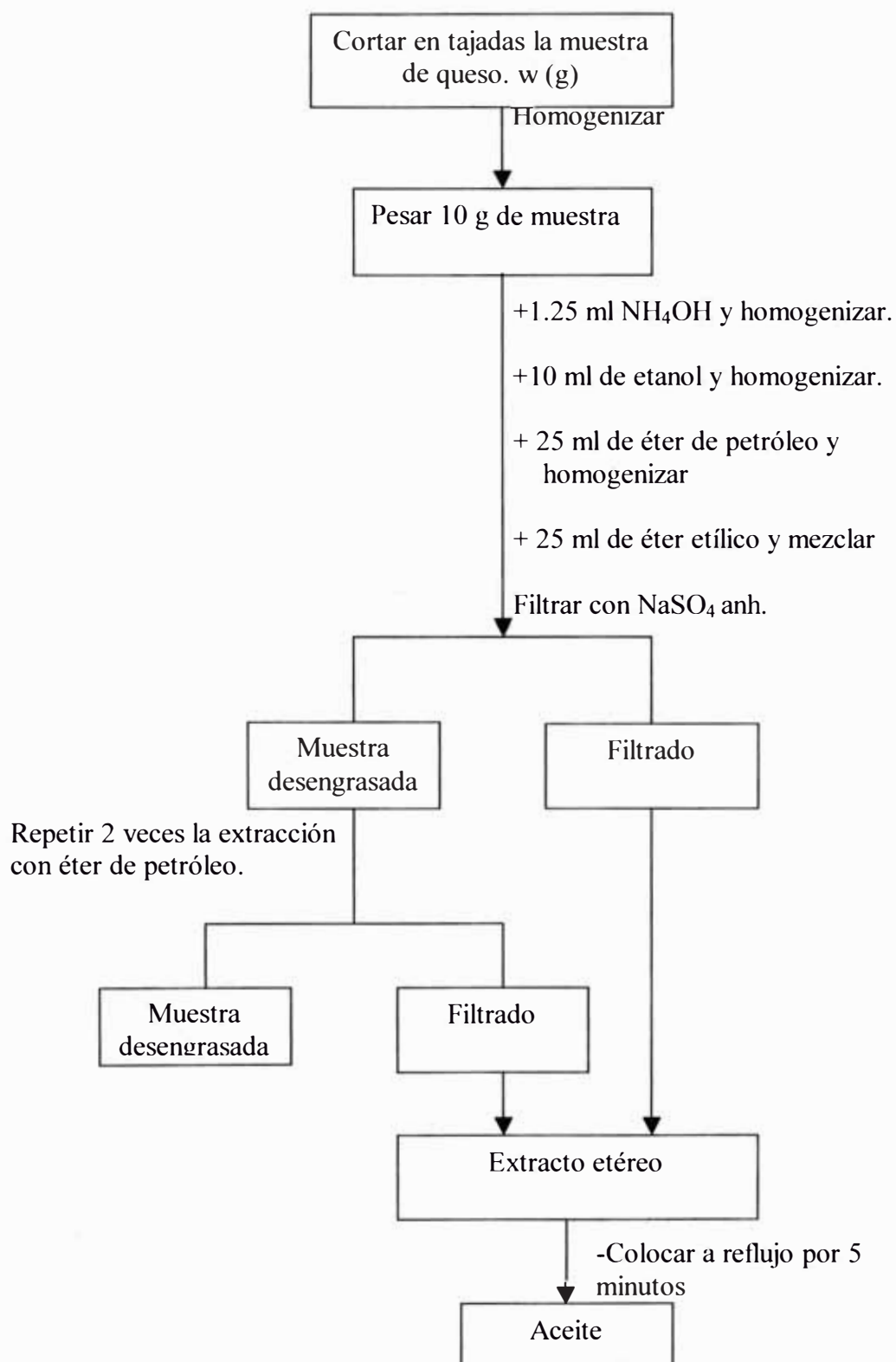
Transferir 1 ml o 2 ml de la capa superior de isooctano dentro de un frasco de vidrio pequeño (vial) de 4ml, y adicionar una cantidad pequeña de sulfato de sodio anhidro para remover algunas trazas de agua.

La solución de isooctano por lo tanto obtenida puede ser inyectada como sigue:

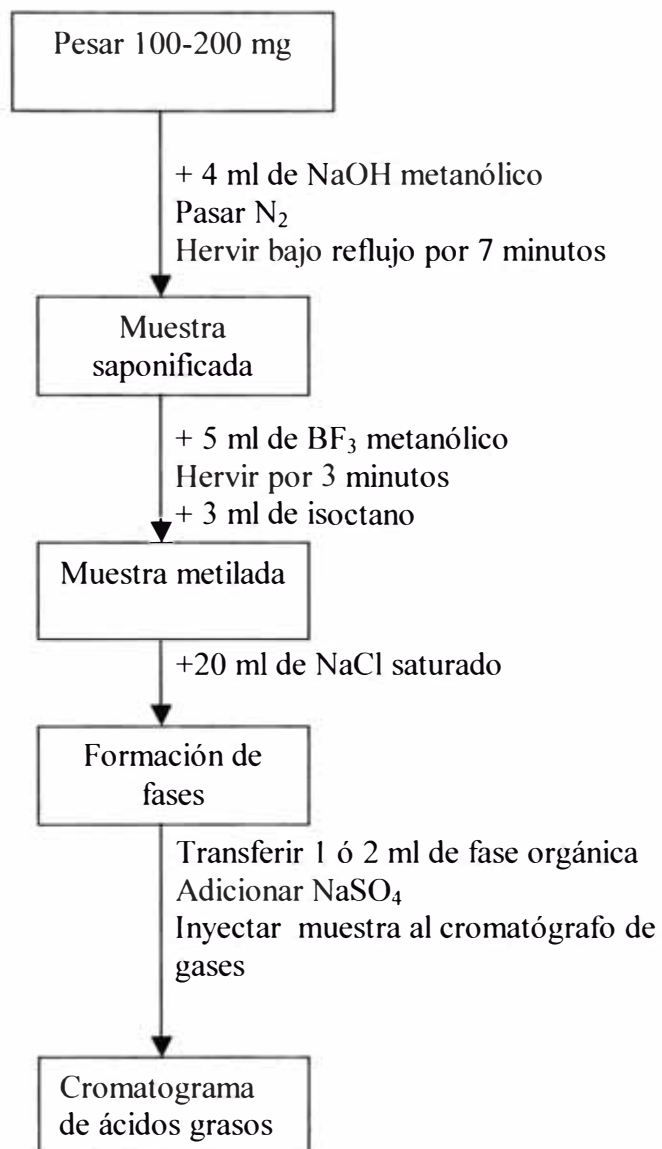
- a) Directamente a una columna empacada por Cromatografía Gas-Líquida.
- b) Después de una dilución apropiada con isooctano para sistemas de columna capilar.

ESQUEMA 3.1

Diagrama de proceso para la extracción de grasa en la muestra de queso fresco



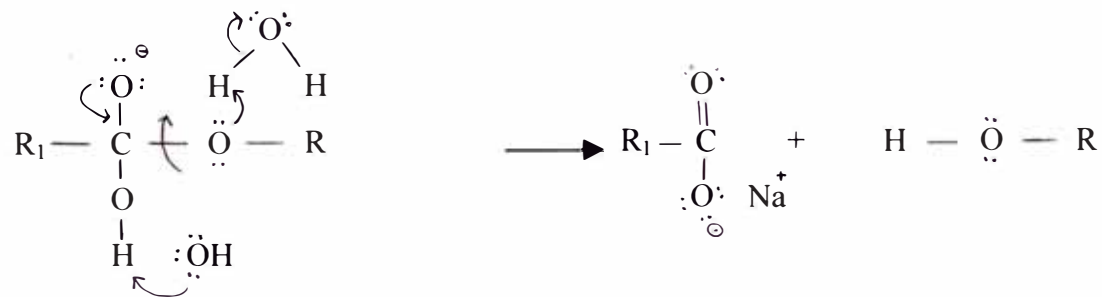
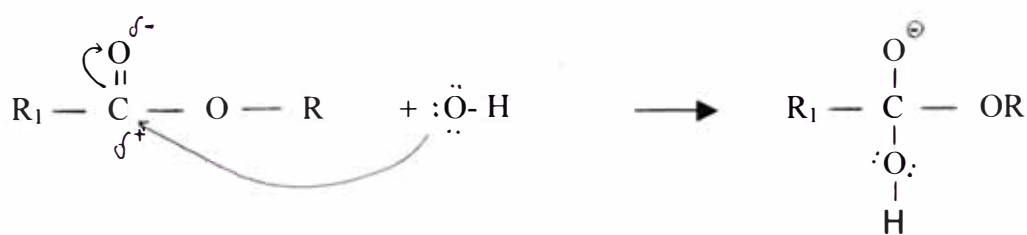
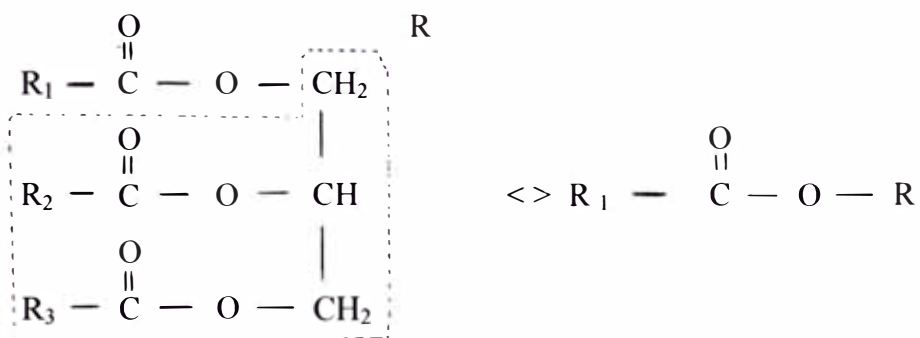
ESQUEMA 3.2
Diagrama de proceso para la determinación de ácidos grasos en muestras de aceite
vegetal y animal

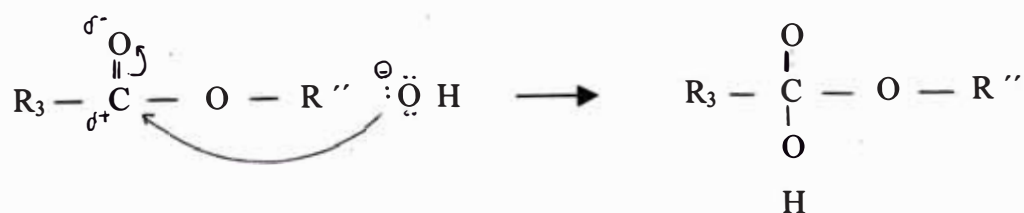
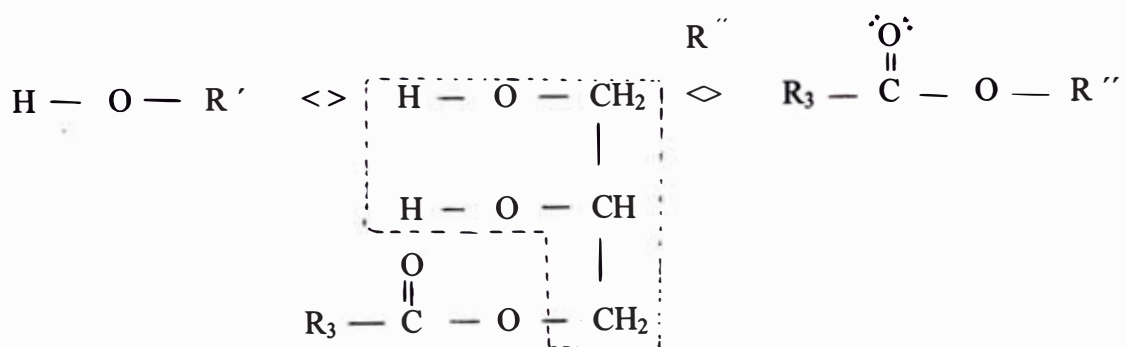
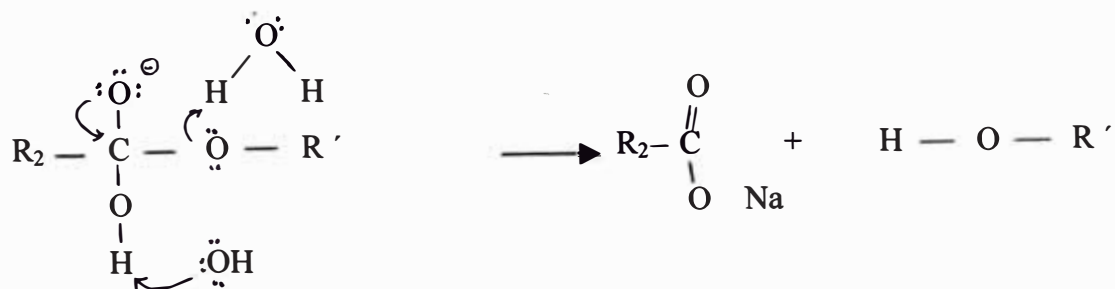
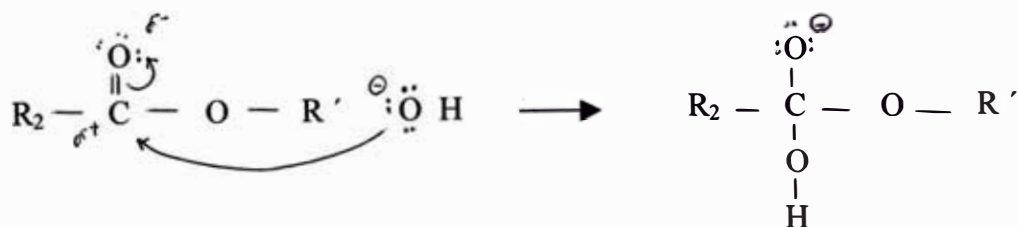
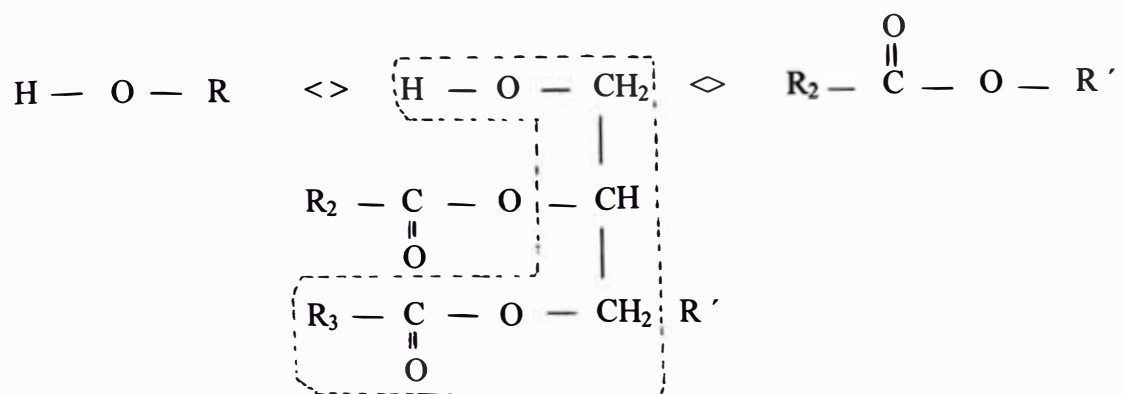


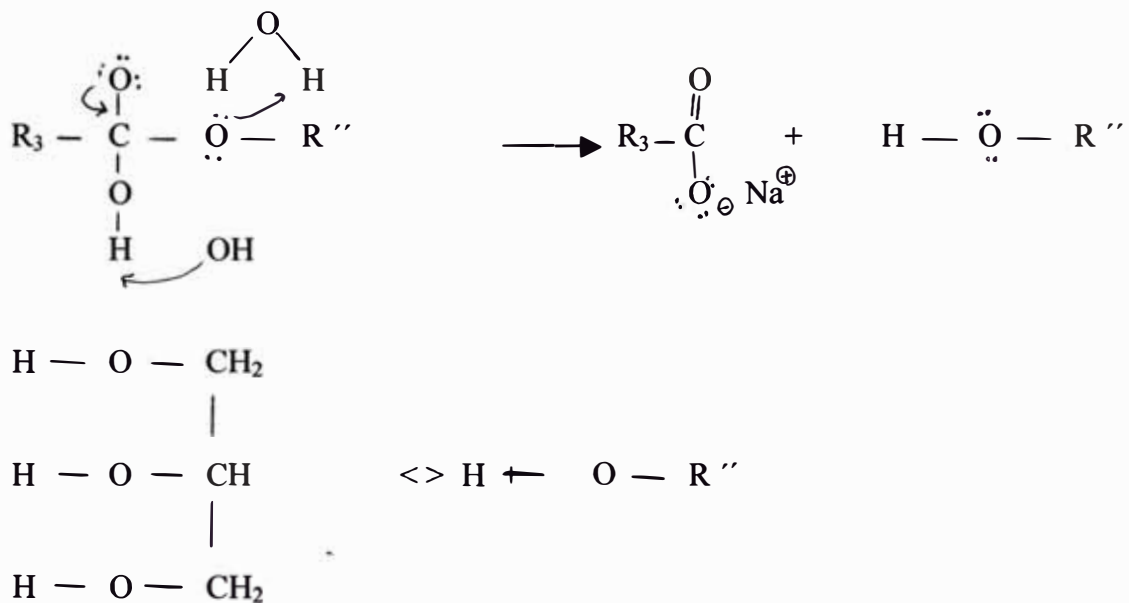
3.3 ECUACIONES Y MECANISMOS DE REACCIONES

Las ecuaciones y los mecanismos utilizados en ambos procesos analíticos son:

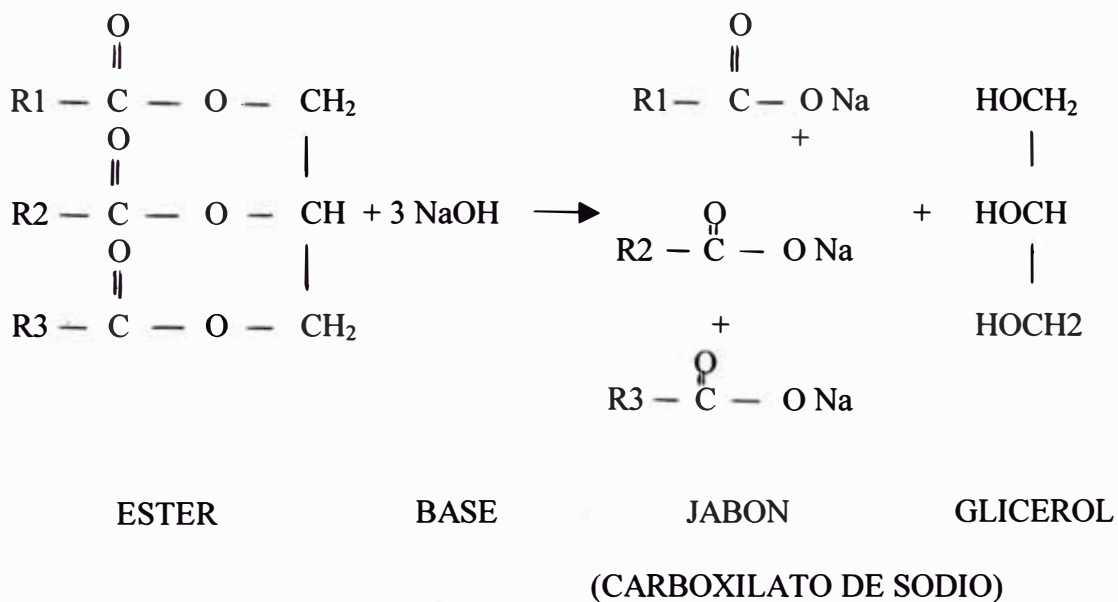
4.4.1 Mecanismo de Saponificación: Hidrólisis de ésteres promovida por bases.







Reacción de Saponificación



3.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE ACEITE DE OLIVA Y QUESO

A continuación se describe el análisis cromatográfico de ácidos grasos en alimentos como aceite de oliva y queso fresco. Además se incluye el análisis de una muestra de aceite vegetal, llamada Serie 14 Oil, la cual se utilizó en una prueba InterLaboratorio FAPAS (Food Analysis Assessment Scheme)

3.4.1 Método Cromatográfico para ácidos grasos del aceite de oliva (origen vegetal)

Las condiciones cromatográficas para la determinación de ácidos grasos de origen vegetal es la siguiente:

Equipo: Cromatógrafo de Gas VARIAN 3800.

Inyector:

Potencia del horno: Encendido.

Temperatura (°C)	Velocidad (C/min)	Tiempo Sostenido (min)	Tiempo total (min)
250	0	41.25	41.25

Tiempo (min)	Estado del Split	Proporción del Split
Inicial	Encendido	100

Horno de la columna:

Temperatura (°C)	Flujo (C/min)	Tiempo sostenido (min)	Tiempo total (min)
100	0.0	0.00	0.00
190	5.0	10.00	28.00
210	1.0	0.00	48.00

Detector de Ionización de Llama:

Potencia del horno: Encendido

Temperatura: 270° C

Electrónica: Encendido

Constante de tiempo: Rápido

Tiempo (min)	Alcance	Autocero
-----------------	---------	----------

Inicial	12	Si

Calibración:

Tipo de cálculo: % (Normalización)

Número de niveles de calibración: 1

3.4.1.1 Análisis Cromatográfico de la serie 14 Oil

El estándar utilizado para la identificación de los picos de cada ácido graso es el Mix Rapeseed Oil. En la figura 3.1 se ilustra los cromatogramas de la muestra de prueba así como también del estándar.

Esta muestra ya fue analizada anteriormente y los resultados se muestran en la tabla 3.7 con la finalidad de tener una muestra referencial para controlar el proceso analítico.

La columna empleada para la separación es una columna capilar, Omegawax, de 30 metros de longitud, 0.32 mm de diámetro interno y 0.25 μm de película delgada.

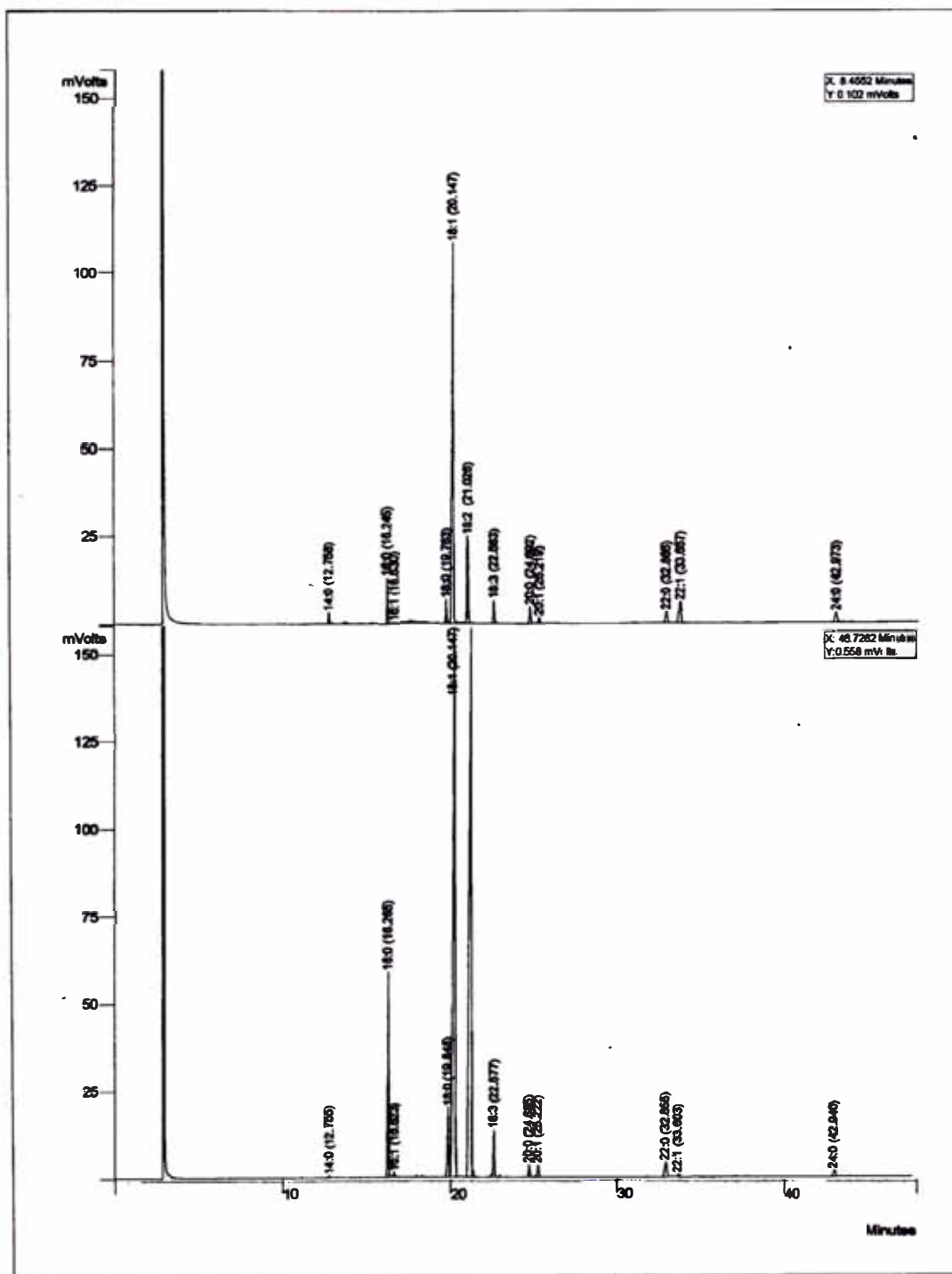


Figura 3.1 Análisis de Ácidos Grasos en la muestra Series 14 Oil por Cromatografía de Gas. El Cromatograma de la parte de arriba corresponde a la muestra y el de la parte de abajo es del estándar Mix Rapeseed Oil.

3.4.1.2 Análisis Cromatográfico de ácidos grasos del aceite de Oliva

Para el análisis de la muestra de origen vegetal como el aceite de oliva se buscó dos muestras de diferente composición de ácidos grasos las cuales se expenden al público para consumo humano. Las cuales son:

El primer frasco corresponde al aceite de oliva “El Olivar” de un litro de capacidad con fecha de vencimiento de Junio del 2003 que se identificó como muestra A.

En la figura 3.2 se comparan los cromatogramas tanto de la muestra A de aceite de oliva y del estándar utilizado, el de la parte superior corresponde a la muestra y el de la parte inferior corresponde al estándar. (Mix Rapeseed Oil)

Con el método empleado es posible la identificación de los ácidos grasos del aceite de oliva desde un número de C4 hasta C24. A cada ácido graso le corresponde un tiempo de retención según el estándar utilizado, el cual es una mezcla de 12 ácidos grasos. Por ejemplo, el ácido mirístico C14 le corresponde un tiempo de retención de 12.75 minutos (RT), el ácido oleico (C18:1) tiene un tiempo de 20.14 minutos, etc.

Se observa también dos ácidos grasos en mayores proporciones que son al ácido oleico y el ácido linoleico.

Como se puede observar se logra identificar los ácidos grasos de la muestra, previamente saponificados, que van desde C14 hasta C24, obteniéndose en mayores proporciones los correspondientes al ácido Linoléico (18:1) y ácido Oleico (18:2). Los ácidos grasos son bien separados y pueden ser rápidamente cuantificados.

El segundo frasco corresponde al aceite de Oliva “Carbonell” de un litro de capacidad con fecha de vencimiento de Junio del 2003, lote 4327512012 la cual se identificó como muestra B. En la figura 3.3 se ilustra la comparación de esta muestra con el estándar Mix Rapeseed Oil.

En la figura 3.3 se ilustra los cromatogramas de la Muestra B del aceite de oliva y el estándar Mix Rapeseed, el de la parte superior corresponde a la muestra y el de la parte inferior corresponde al estándar.

En el cromatograma se observa en mayor proporción el ácido oleico que tiene un tiempo de retención de 20,01 minutos y en segundo lugar con un tiempo de retención de 17,6 minutos al ácido palmítico

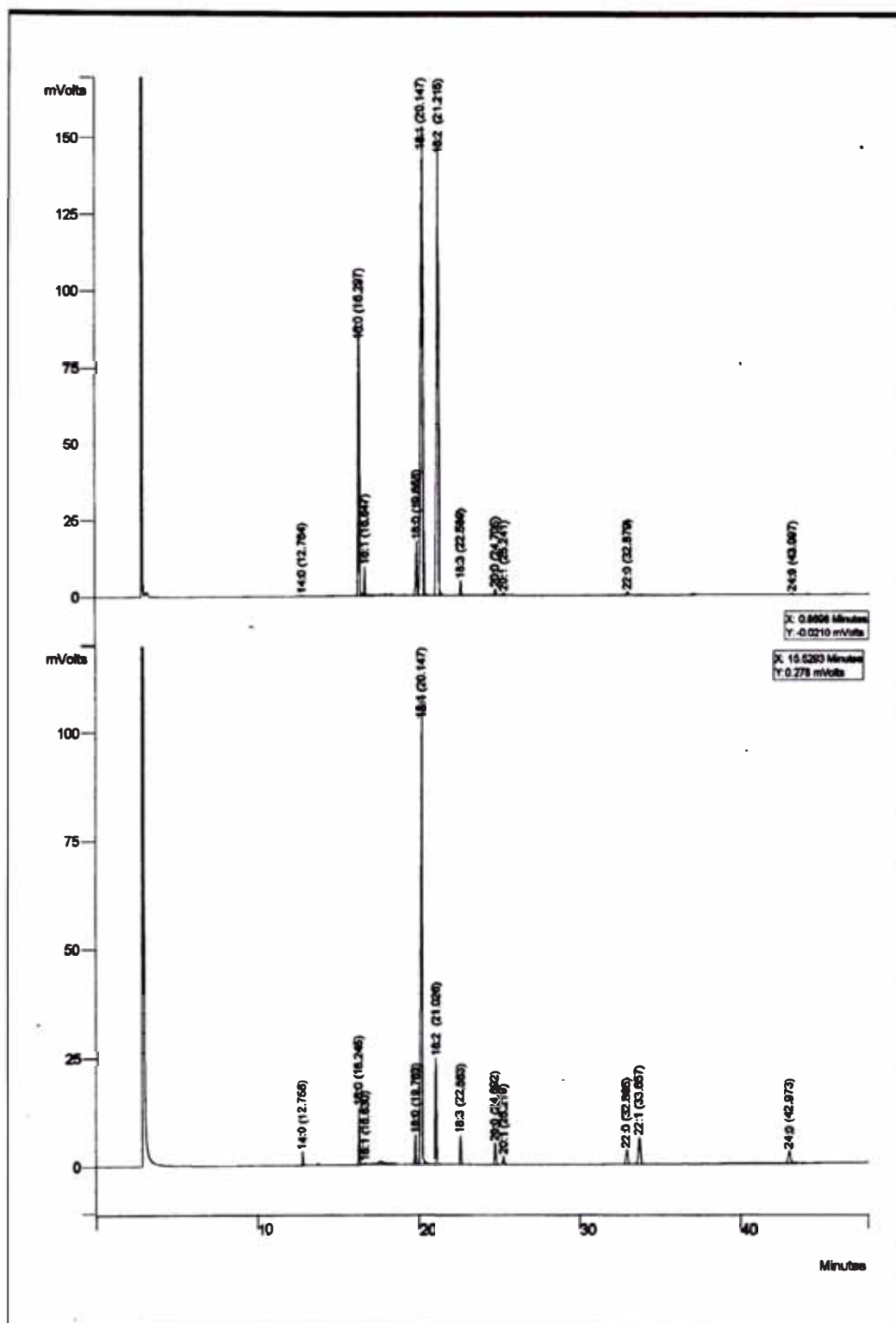


Figura 3.2 Análisis de Ácidos Grasos en la muestra A de Aceite de Oliva por Cromatografía de Gas. El Cromatograma de la parte superior corresponde a la muestra y el de la parte inferior es del estándar Mix Rapeseed Oil.

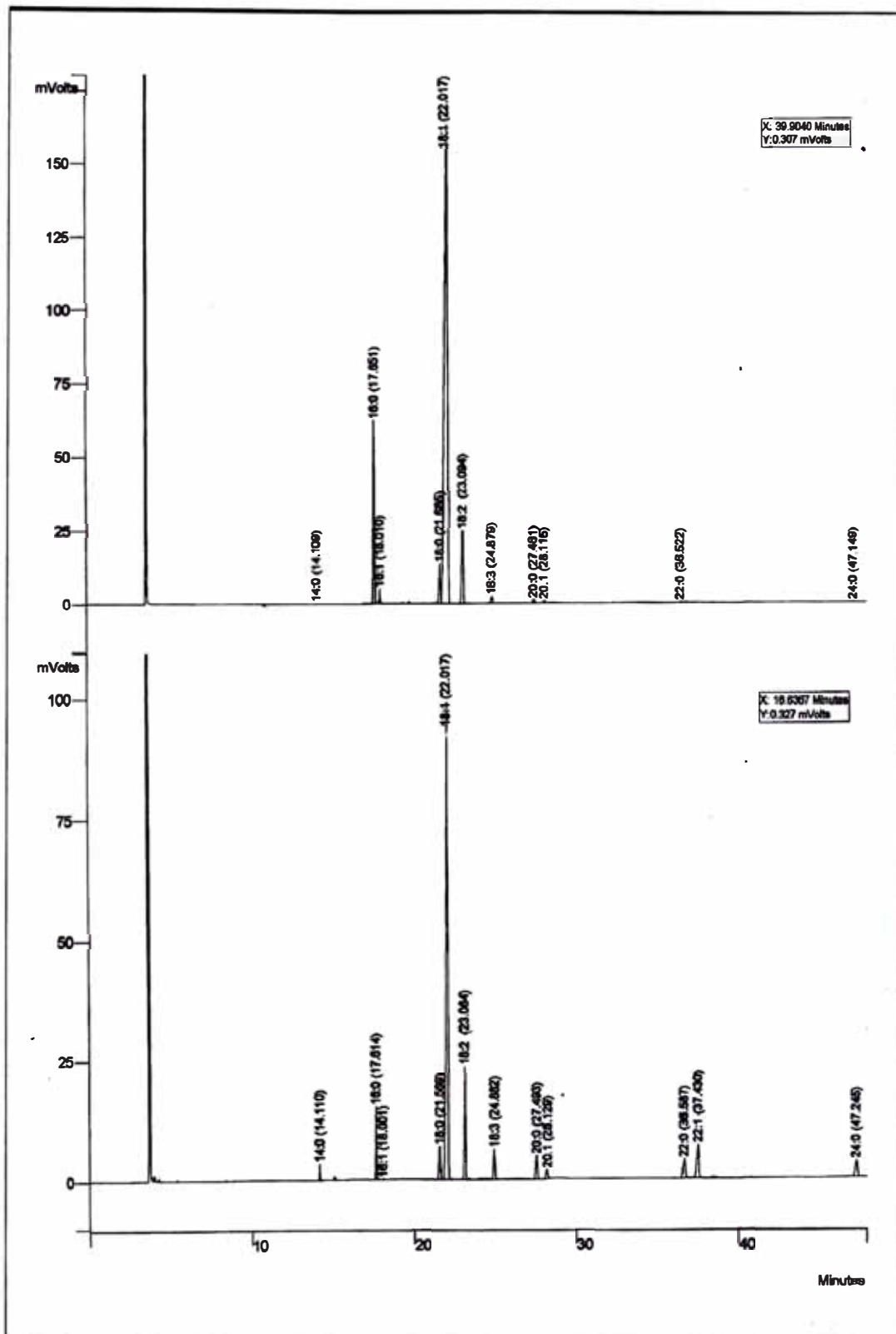


Figura 3.3 Análisis de Ácidos Grasos en la muestra B de Aceite de Oliva por Cromatografía de Gas. El Cromatograma de la parte superior corresponde a la muestra y el de la parte inferior es del estándar Mix Rapeseed Oil.

3.4.2 Método Cromatográfico para ácidos grasos de la muestra de queso (origen animal)

Las condiciones cromatográficas para la determinación de ácidos grasos de origen animal es la siguiente:

Equipo: Cromatógrafo de Gas VARIAN 3800.

Inyector:

Potencia del horno: Encendido.

Temperatura (° C)	Velocidad (C/ min)	Tiempo Sostenido (min)	Tiempo total (min)
250	0	20.00	20.00

Tiempo (min)	Estado del Split	Proporción del Split
Inicial	Encendido	50

Horno de la columna:

Temperatura (°C)	Flujo (C/min)	Tiempo sostenido (min)	Tiempo total (min)
50	0.0	8.0	8.0
210	10.0	26.0	50.0

Detector de Ionización de Llama:

Potencia del horno: Encendido

Temperatura: 270° C.

Electrónica: Encendido.

Constante de tiempo: Rápido.

Tiempo (min)	Alcance	Autocero

Inicial	12	Si

Calibración:

Tipo de cálculo: % (Normalización)

Número de niveles de calibración: 1

3.4.2.1 Análisis Cromatográfico de ácidos grasos del queso

Se ilustra en la figura 3.4 el cromatograma de la muestra de queso fresco, donde la grasa fue primero extraída con éter, para luego realizar la saponificación, antes del análisis cromatográfico.

Las condiciones cromatográficas empleadas para esta muestra de origen animal es el mostrado en 3.4.2. En el cromatograma se observa los ácidos grasos desde C4 hasta C24.

Para la identificación de los ácidos grasos de este tipo de muestra se utilizó dos estándares Supelco 37 Component FAME Mix y el FAME Mix Rapeseed Oil.

La composición de ácidos grasos de la grasa del queso (derivado de la leche) es muy compleja y se observan 22 ácidos grasos entre saturados, insaturados. En este cromatograma se observa que hay en mayor proporción grasa insaturada; el más abundante es el palmítico (16:0) seguido del oleico (18:1) y además hay una aportación del ácido mirístico (14:0) y del ácido esteárico (18:0).

Además otra característica es la presencia de ácidos grasos de cadena corta, como el butírico (4:0), el ácido caproico (6:0).

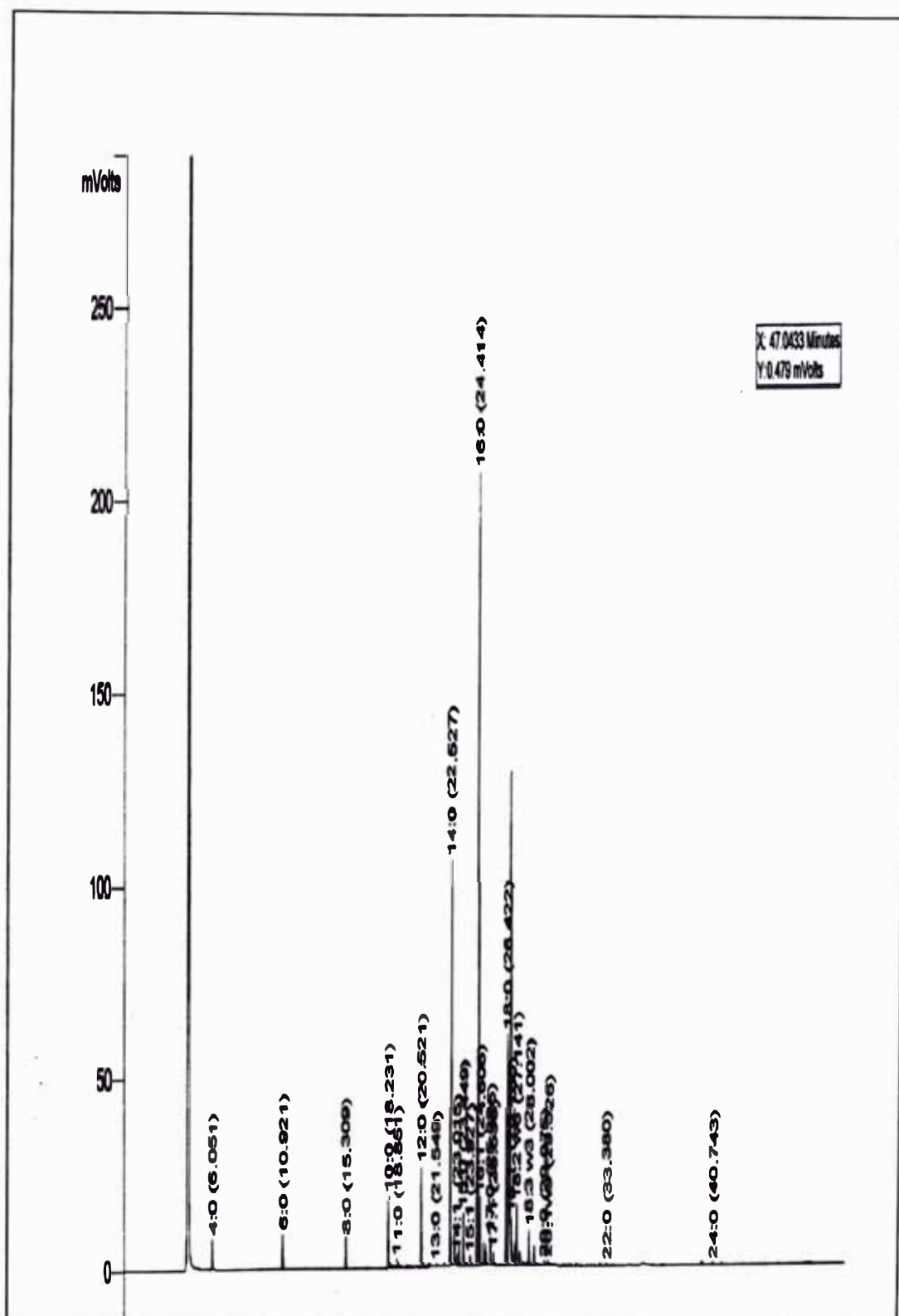


Figura 3.4 Análisis de Ácidos Grasos procedentes del queso fresco por Cromatografía de Gas.

3.5 ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LAS MUESTRAS DE ACEITE DE OLIVA

Las etiquetas nutricionales de las muestras A y B de aceite de oliva se muestran a continuación en la tabla 3.1 y 3.2.

Tabla 3.1

Especificaciones de la muestra A de Aceite de Oliva

Grasa	14 g
Poliinsaturados	2.0 g
Monoinsaturados	10,0 g
Saturados	2,0 g

Tabla 3.2

Especificaciones de muestra B de Aceite de Oliva

Grasa	12,8 g
Poliinsaturadas	0,9 g
Monoinsaturadas	10,1 g
Saturadas	1,8 g

3.6 RESULTADOS EXPERIMENTALES

3.6.1 RESULTADOS DE LAS MUESTRAS DE ACEITE VEGETAL

Los resultados obtenidos en la determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases se muestran en la tabla 3.3 y corresponde a la muestra A de aceite de Oliva. En este aceite de oliva se obtiene un porcentaje de 42.42 % de ácido oleico (18:1) y de un 39.44 % de ácido linoleico (18:2). A continuación le sigue en tercer lugar el ácido palmítico (16:1). Esta muestra se analizó por duplicado. Según la norma Codex el ácido oleico para un aceite de oliva debe estar entre 56 % y 83% del total de grasa. Se tiene también calculada la desviación estándar relativa que nos dice que los resultados son precisos, no existiendo grandes dispersiones entre los resultados. Este es un primer resultado.

En la tabla 3.4 se aprecia los resultados de la muestra B, la cual también se analizó por duplicado, obteniéndose en mayor proporción el ácido oleico (18:1) de 78.79 % del total de grasa. En segundo lugar en proporción se tiene al ácido palmítico (16:0). La diferencia que hay entre las dos muestras de aceite de oliva se debe principalmente a la composición de ácidos grasos mono-insaturados y poli-insaturados, como se aprecia en la tabla 3.5 y 3.6.

En la tabla 3.5 se aprecia que la muestra A tiene una cantidad de 43.6 % de ácidos grasos mono-insaturados y para el caso de los ácidos grasos poli-saturados un porcentaje de 40.25 % y la muestra B tiene un porcentaje de 79% de ácidos grasos mono-insaturados y 6 % de ácidos grasos poli-insaturados

Durante el análisis de las muestras de aceite de oliva se preparó una muestra, la cual se utilizó en una prueba Interlaboratorio, cuyos resultados se conocen con la finalidad de asegurar el proceso analítico. No obstante se decidió repetir un segundo análisis para chequear los resultados obtenidos. Ver tabla 3.7. De la misma manera se comprueba el resultado obtenido la primera vez.

Los ensayos fueron realizados en SGS del Perú en el área de Cromatografía de Gases del Laboratorio de Instrumental Orgánica.

Tabla 3.3
Composición porcentual de ácidos grasos en la muestra A de Aceite
de oliva(Primer resultado)

Ácidos Grasos	Cn:m	Muestra A	Muestra A-1	Promedio (%)	DSR
Mirístico	14:0	0.05	0.05	0.05	0.00
Palmítico	16:0	11.56	11.29	11.43	1.67
Palmitoleico	16:1	1.14	0.92	1.03	15.10
Esteárico	18:0	2.98	2.99	2.99	0.24
Oleico	18:1	42.30	42.53	42.42	0.38
Linoleico	18:2	39.32	39.55	39.44	0.41
Linolénico	18:3	0.81	0.82	0.82	0.87
Araquídico	20:0	0.43	0.41	0.42	3.37
Gadoleico	20:1	0.19	0.20	0.20	3.63
Behénico	22:0	0.33	0.35	0.34	4.16
Lignocérico	24:0	0.13	0.13	0.13	0.00

n = Número de carbonos.

m = Número de dobles enlaces.

DSR = Desviación Estándar Relativa

Tabla 3.4
Composición porcentual de ácidos grasos en la muestra B de
de aceite de oliva (Primer resultado)

ACIDOS GRASOS	C n:m	Muestra B	Muestra B-1	Promedio (%)	DSR (%)
Mirístico	14:0	0.02	0.04	0.03	47.14
Palmitico	16:0	10.13	9.90	10.02	1.62
Palmitoleico	16:1	0.64	0.65	0.65	1.10
Estearico	18:0	3.32	3.32	3.32	0.00
Oleico	18:1	79.39	78.19	78.79	1.08
Linoleico	18:2	5.19	5.26	5.23	0.95
Linolénico	18:3	0.61	0.62	0.62	1.15
Araquídico	20:0	0.40	0.42	0.41	3.45
Gadoleico	20:1	0.27	0.28	0.28	2.57
Behénico	22:0	0.11	0.12	0.12	6.15
Lignocérico	24:0	0.05	0.06	0.06	12.86

n = Número de carbonos.

m = Número de dobles enlaces.

DSR = Desviación Estándar Relativa

Tabla 3.5
Composición de ácidos grasos en porcentaje y en peso en la muestra A
(Primer resultado)

Ácidos Grasos	Porcentaje (%)	Peso (g)
Saturados	15.35	2.15
Monoinsaturados	43.64	6.11
Poliinsaturados	40.25	5.64
Total	99.24	13.90

Tabla 3.6
Composición de ácidos grasos en porcentaje y en peso en la muestra B
(Primer resultado)

Ácidos Grasos	Porcentaje (%)	Peso (g)
Saturados	13.9	1.79
Monoinsaturados	79.0	10.10
Poliinsaturados	5.8	0.75
Total	98.7	12.64

Tabla 3.7
Composición de ácidos grasos en la muestra de prueba Series 14 Oil
(en porcentaje)

Ácidos Grasos	Cn:m	Porcentaje (%)
Mirístico	14:0	0.07
Palmitico	16:0	6.88
Palmitoleico	16:1	0.14
Estearico	18:0	3.33
Oleico	18:1	40.76
Linoleico	18:2	42.66
Linolénico	18:3	2.29
Araquidico	20:0	0.71
Gadoleico	20:1	0.68
Behénico	22:0	1.22
Erúcico	22:1	0.17
Lignocérico	24:0	0.50

n = Número de carbonos.

m = Número de dobles enlaces.

DSR = Desviación Estándar Relativa

Tabla 3.8
Resumen de la composición de Ácidos Grasos en porcentaje
en la muestra Series 14 Oil

Ácidos Grasos	Porcentaje (%)
Saturados	12.71
Monoinsaturados	41.75
Poliinsaturados	44.95
Total	99.41

En la tabla 3.9 y 3.10 se muestran los ácidos grasos encontrados de la muestra A y B respectivamente. Con estos resultados se comprueba que la muestra A tiene mayor cantidad de enlaces dobles.

Tabla 3.9

Composición porcentual de ácidos grasos en la muestra A de aceite de oliva
(Segundo resultado)

Ácidos Grasos	Cn:m	Muestra A	Muestra A-1	Promedio (%)	DSR
Mirístico	14:0	0.04	0.04	0.04	0.00
Palmítico	16:0	11.45	11.32	11.39	0.81
Palmitoleico	16:1	0.91	0.90	0.91	0.78
Estearico	18:0	2.99	3.01	3.00	0.47
Oleico	18:1	42.59	42.63	42.61	0.07
Linoleico	18:2	39.67	39.60	39.64	0.12
Linolénico	18:3	0.82	0.82	0.82	0.00
Araquídico	20:0	0.42	0.41	0.42	1.70
Gadoleico	20:1	0.19	0.18	0.19	3.82
Behénico	22:0	0.36	0.36	0.36	0.00
Lignocérico	24:0	0.12	0.13	0.13	5.66

n = Número de carbonos.
DSR = Desviación Estándar Relativa

m = Número de dobles enlaces.

Tabla 3.10
Composición porcentual de ácidos grasos en la muestra B de aceite de oliva
(Segundo resultado)

ACIDOS GRASOS	C n:m	Muestra B	Muestra B-1	Promedio (%)	DSR (%)
Mirístico	14:0	0.02	0.02	0.02	0.00
Palmítico	16:0	9.46	9.79	9.63	2.42
Palmitoleico	16:1	0.58	0.60	0.59	2.40
Estearico	18:0	3.34	3.29	3.32	1.07
Oleico	18:1	79.39	78.86	79.13	0.47
Linoleico	18:2	5.31	5.32	5.32	0.13
Linolénico	18:3	0.62	0.62	0.62	0.00
Araquídico	20:0	0.42	0.40	0.41	3.45
Gadoleico	20:1	0.27	0.28	0.28	2.57
Behénico	22:0	0.12	0.12	0.12	0.00
Lignocérico	24:0	0.05	0.05	0.05	0.00

n = Número de carbonos.
DSR = Desviación Estándar Relativa

m = Número de dobles enlaces.

Tabla 3.11
Composición de Ácidos Grasos en porcentaje
y en peso en la muestra A de aceite de oliva
(Segundo resultado)

Ácidos Grasos	Porcentaje (%)	Peso (g)
Saturados	15.3	2.2
Monoinsaturados	43.7	6.1
Poliinsaturados	40.5	5.7
Total	99.5	13.9

Tabla 3.12
Composición de Ácidos Grasos en porcentaje y
en peso en la muestra B de aceite de oliva
(Segundo resultado)

Ácidos Grasos	Porcentaje (%)	Peso (g)
Saturados	13.5	1.73
Monoinsaturados	80.0	10.24
Poliinsaturados	5.9	0.76
Total	99.4	12.73

Tabla 3.13

Resumen de resultados de ácidos grasos obtenidos en la muestra A de aceite de oliva (en porcentaje)

ACIDOS GRASOS	C n:m	1	2	3	4	Promedio %	DSR
Mirístico	14:0	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	11.76
Palmitico	16:0	11.56	11.29	11.45	11.32	11.43	0.79
Palmitoleico	16:1	1.14	0.92	0.91	0.90	0.96	6.08
Estearico	18:0	2.98	2.99	2.99	3.01	2.99	0.70
Oleico	18:1	42.30	42.53	42.59	42.63	42.41	0.55
Linoléico	18:2	39.32	39.55	39.67	39.60	39.42	0.64
Linolénico	18:3	0.81	0.82	0.82	0.82	0.82	0.61
Araquídico	20:0	0.43	0.41	0.42	0.41	0.42	3.11
Gadoleico	20:1	0.19	0.20	0.19	0.18	0.19	3.12
Behénico	22:0	0.33	0.35	0.36	0.36	0.36	1.40
Lignocérico	24:0	0.13	0.13	0.12	0.13	0.13	6.28

n = Número de carbonos.

m = Número de dobles enlaces.

DSR = Desviación Estándar Relativa.

Tabla 3.14
Resumen de resultados de ácidos grasos obtenidos en la Muestra B de aceite de oliva
(en porcentaje)

ACIDOS GRASOS	C n:m	1	2	3	4	Promedio %	DSR
Mirístico	14:0	0.02	0.03	0.02	0.02	0.03	22.2
Palmitico	16:0	10.13	9.90	9.46	9.79	9.82	2.84
Palmitoleico	16:1	0.64	0.65	0.58	0.60	0.62	5.35
Estearico	18:0	3.32	3.32	3.34	3.29	3.32	0.62
Oleico	18:1	79.39	78.19	79.39	78.86	78.96	0.72
Linoleico	18:2	5.19	5.26	5.31	5.32	5.21	1.13
Linolenico	18:3	0.61	0.62	0.62	0.62	0.62	0.81
Araquídico	20:0	0.40	0.42	0.42	0.40	0.41	2.82
Gadoleico	20:1	0.27	0.28	0.27	0.28	0.28	2.10
Behénico	22:0	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12	4.26
Lignocérico	24:0	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	9.52

n = Número de carbonos.

DSR = Desviación Estándar Relativa

m = Número de dobles enlaces.

3.6.2 RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DENOMINADOS RING TEST DE FAPAS

El material de prueba para FAPAS Series 14 fue enviado en Marzo 2002. Cada participante recibió un material de prueba (mezcla de aceite) para ser analizado para mono-insaturados, poli-insaturados y saturados. Ciento seis preparados del material de prueba fueron distribuidos para 29 países (29). Noventa participantes (90), aproximadamente el 85 %, retornaron resultados dentro del tiempo- escala demandado por el plan.

Los resultados obtenidos por el laboratorio son los que se muestran en la tabla 3.15.

Los resultados dados por los participantes para reportar sus datos para mono-insaturados, poli-insaturados y saturados están como porcentaje del total de ácidos grasos. En este contexto los saturados son ácidos grasos sin dobles enlaces, mono-insaturados son ácidos grasos con un doble enlace y poli-insaturados son ácidos grasos con 2 o más dobles enlaces. A cada participante le fue dado un número de laboratorio, asignado en orden de recepción de resultados.

El mejor estimado de la verdadera concentración del analito, X , fue derivado desde los resultados suministrados por los participantes. En cada caso el valor asignado fue calculado como el medio robusto de la data. (Ver tabla 3.17).

Los z-scores de los participantes fueron calculados según:

$$z = \frac{(x - \bar{X})}{\sigma_p}$$

donde: x = resultado reportado de los participantes.

\bar{X} = el valor asignado.

y σ_p = el valor de target para la desviación estándar.

Los z-scores están dados en el Anexo N ° 5 y los histogramas en las figuras 3.5, 3.6 y 3.7. El número y porcentaje de z-scores en el rango satisfactorio, $|z| \leq 2$, están dados en la tabla 3.18.

Tabla 3.15
Composición de ácidos grasos de la muestra Series14 Oil (en porcentaje)

Ácidos Grasos	Cn:m	1(%)	2(%)	3(%)	4(%)	Promedio
Mirístico	14:0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Palmítico	16:0	6.6	6.5	6.8	6.6	6.6
Palmitoleico	16:1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Esteárico	18:0	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3
Oleico	18:1	40.8	40.8	40.9	40.9	40.9
Linoleico	18:2	42.9	42.8	42.8	42.8	42.8
Linolénico	18:3	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
Araquídico	20:0	0.7	0.7	0.6	0.7	0.7
Gadoleico	20:1	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Behénico	22:0	1.2	1.3	1.1	1.2	1.2
Erúcido	22:1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Lignocérico	24:0	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5

Tabla 3.16
Resumen de las grasas obtenidas en la muestra Series 14 Oil

RESUMEN	Saturados	12.4	12.5	12.4	12.4	12.4
	Mono-insaturados	41.7	41.7	41.8	41.8	41.8
	Poli-insaturados	45.1	45.0	45.0	45.0	45.0
TOTAL IDENTIFICADOS		99.2	99.2	99.2	99.2	99.2

n = Número de carbonos.

m = Número de dobles enlaces.

Tabla 3.17
Valores asignados y desviaciones estándar para la muestra de prueba

Ácidos grasos	Valor asignado				Desviación estándar		Target
	Datos n	\bar{X}	Desviación Estándar robusto, σ	Incertidumbre u	Derivado de		σ_p
Mono-insaturados	90	41.9	0.772	0.081	AOAC, 3%	RSD _R	1.26
Poli-insaturados	90	45.5	0.718	0.076	AOAC, 3%	RSD _R	1.36
Saturados	90	12.3	0.631	0.067	AOAC, 3%	RSD _R	0.615

Tabla 3.18
Número y porcentaje de z-Scores satisfactorios

Ácidos grasos	Número de scores satisfactorios, $ z \leq 2$	Número total de Resultados	% satisfactorio
Mono-insaturados	85	90	94
Poli-insaturados.	83	90	92
Saturados.	78	90	87

Figura 3.5
z-Scores para Monosaturados (41.9% del total de ácidos grasos) en el material de prueba de mezcla de aceite

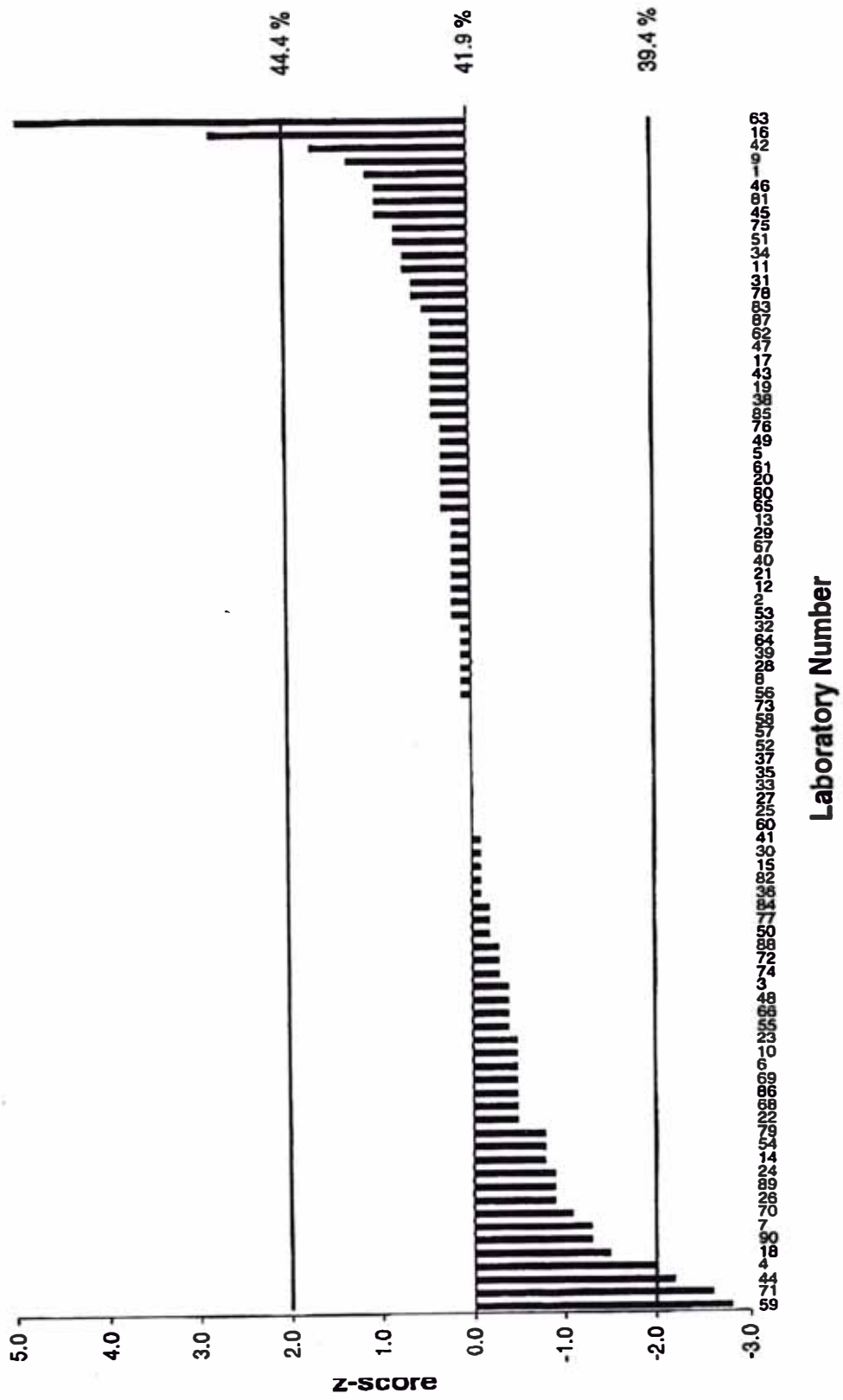


Figura 3.6
z-Scores para Poli-insaturados (45.5% del total de ácidos grasos) en el material de prueba de mezcla de aceite

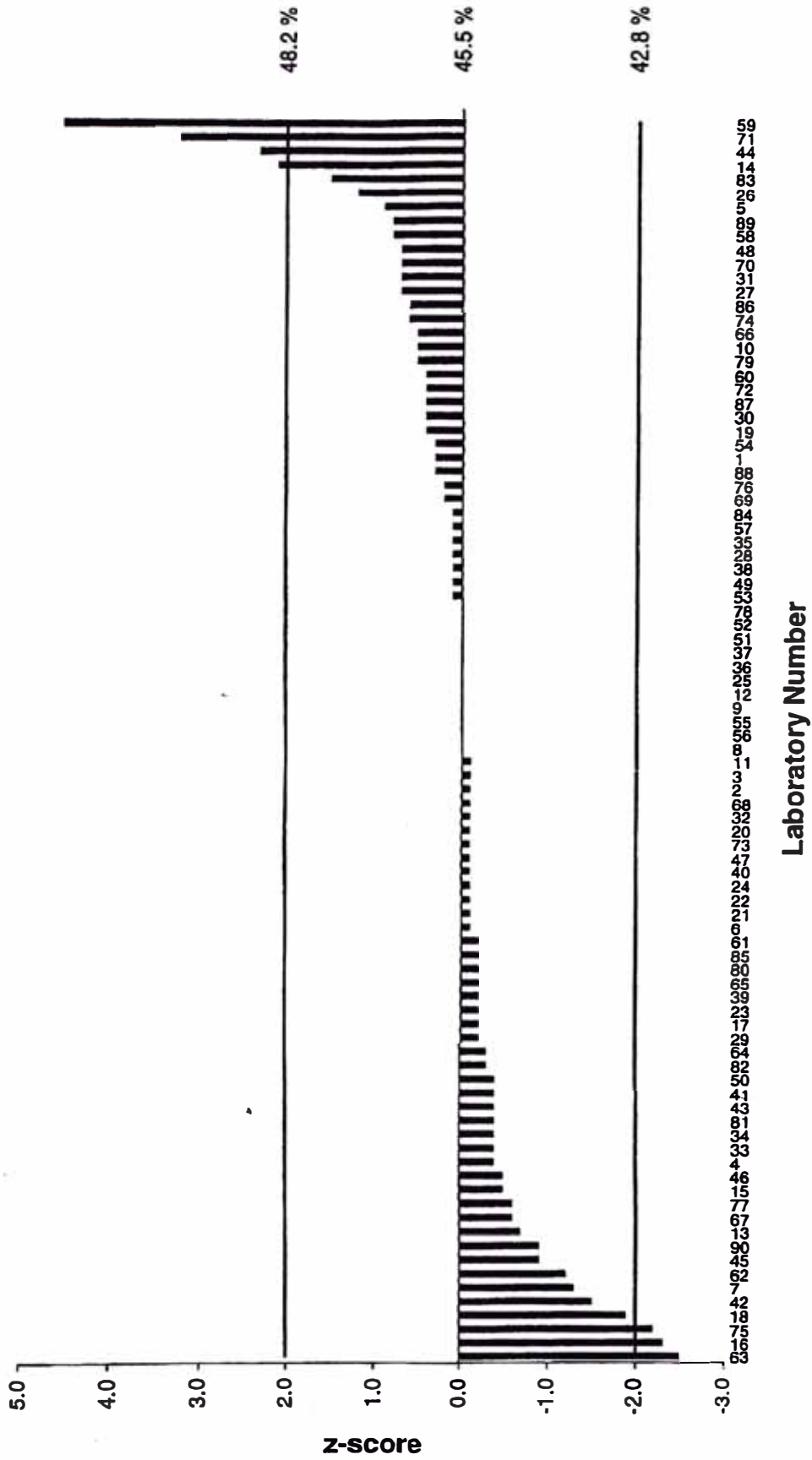
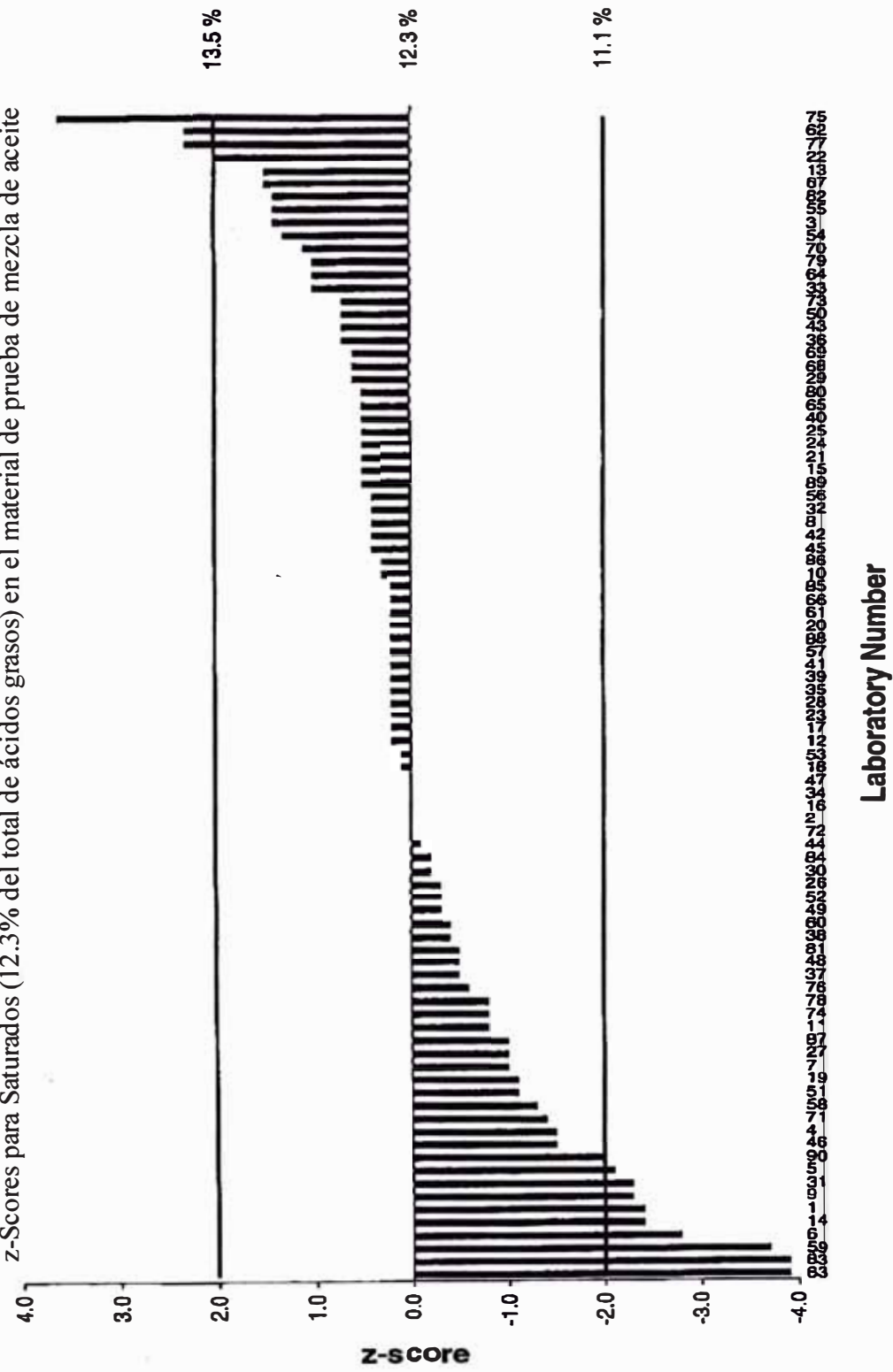


Figura 3.7
 z-Scores para Saturados (12.3% del total de ácidos grasos) en el material de prueba de mezcla de aceite



6.3 RESULTADOS DE LA MUESTRA DE QUESO

En la tabla 3.19 y 3.20 se muestran los resultados de los ácidos grasos en la muestra de queso, encontrándose en mayor proporción las grasas saturadas, alrededor de 60%. Esto es característico de los derivados de la leche, que tienen grasa de origen animal.

Tabla 3.19
Composición de Ácidos Grasos de la muestra de queso fresco

ACIDOS GRASOS	C n:m	1	2	Promedio (%)	DSR
Butírico	4:0	1.09	0.06	1.08	1.97
Caproico	6:0	1.61	1.50	1.56	5.00
Caprílico	8:0	1.09	1.03	1.06	4.00
Cáprico	10:0	2.46	2.34	2.40	3.54
Undecanoico	11:0	0.37	0.35	0.36	3.93
Laúrico	12:0	3.00	2.83	2.92	4.12
Tridecanoico	13:0	0.08	0.08	0.08	0.00
Mirístico	14:0	11.04	10.84	10.94	1.29
Miristoleico	14:1	1.09	1.08	1.09	0.65
Pentadecanoico	15:0	1.37	1.36	1.37	0.52
Cis-10-Pentadecenoico	15:1	0.24	0.27	0.26	8.32
Palmitico	16:0	29.26	29.47	29.37	0.51
Palmitoléico	16:1	1.93	1.94	1.94	0.37
Heptadecanoico	17:0	0.82	0.86	0.84	3.37
Cis-10-Heptadecenoico	17:1	0.44	0.47	0.46	4.66
Estearico	18:0	8.03	8.25	8.14	1.91
Oleico	18:1	22.84	24.08	23.46	3.74
Linoleico	18:2	2.25	2.30	2.28	1.55
Linolenico	18:3	1.33	1.36	1.33	3.19
Araquídico	20:0	0.23	0.23	0.23	0.00
Eicosenoico	20:1	0.37	0.36	0.37	1.94
Behenate	22:0	0.15	0.16	0.16	4.56

n = Número de carbonos.

m = Número de dobles enlaces.

DSR = Desviación Estándar Relativa

Tabla 3.20
Resumen de las grasas encontradas en el queso

RESUMEN	Saturados	60.60	60.36	60.48	0.28
	Mono-insaturados	26.91	28.20	27.56	3.31
	Poli-insaturados	3.55	3.66	3.61	2.16
TOTAL IDENTIFICADOS		91.06	92.22	91.64	0.90

CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La composición de grasa en la muestra A de aceite de oliva se muestra en la tabla 4.1, la cual comparada con la muestra B, tiene un alto contenido de grasas poli-insaturadas, alrededor de 40 % mientras que la muestra B (ver tabla 4.3) tiene un 5.9% de grasas poli-insaturadas.

Esto también se verificó por el índice de yodo que mide el grado de insaturación del aceite de oliva. Utilizando la AOCS (Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils) para la obtención del valor de yodo de aceites y grasas Método Wijs.

El índice de yodo para la muestra A fue de 92.92 y según la AOCS debe estar entre 80-88.

Para la muestra B de aceite de oliva el índice de yodo obtenido fue de 82.07 cumpliendo con la AOCS.

Además, el proceso analítico fue controlado con una muestra referencial o muestra interlaboratorio (Series 14Oil) de la que se conocía la proporción de ácidos saturados e insaturados.

Otro factor importante que se tiene en la mayoría de los aceites vegetales, como el de oliva, es que este se hace más insaturado cuando más frío es el clima y también a medida que aumenta la inmadurez del fruto.²

Respecto a la muestra de queso las condiciones cromatográficas y los estándares utilizados han permitido identificar los ácidos grasos que tienen cadena corta, como los ácidos butírico (4:0), caproico (6:0), caprílico (8:0), etc característicos en los aceites de origen animal.

Tabla 4.1
Resumen de resultados obtenidos de la composición de grasas en la muestra A de aceite de oliva (en porcentaje)

Ácidos Grasos	1(%)	2(%)	3(%)	4(%)	Promedio (%)	DSR
Saturados	15.48	15.22	15.38	15.27	15.34	0.76
Monoinsaturados	43.63	43.65	43.69	43.71	43.67	0.08
Poliinsaturados	40.13	40.37	40.49	40.42	40.35	0.39
Total	99.24	99.24	99.56	99.4	99.36	0.15

Tabla 4.2
Resumen resultados obtenidos de la composición de grasas en la muestra A de aceite de oliva (en gramos)

Ácidos Grasos	1 (g)	2 (g)	3 (g)	4 (g)	Promedio (g)	DSR
Saturados	2.17	2.13	2.15	2.14	2.15	0.76
Monoinsaturados	6.11	6.11	6.12	6.12	6.11	0.08
Poliinsaturados	5.62	5.65	5.67	5.66	5.64	0.39
Total	13.90	13.90	13.94	13.92	13.91	0.15

DSR: Desviación Estándar Relativa.

Tabla.4.3

Resumen de resultados obtenidos de la composición de grasas en la muestra B de aceite de oliva (en porcentaje)

Ácidos Grasos	1 (%)	2 (%)	3 (%)	4 (%)	Promedio (%)	DSR
Saturados	14.03	13.85	13.41	13.67	13.74	1.93
Monoinsaturados	78.68	79.12	80.24	79.74	79.45	0.86
Poliinsaturados	5.80	5.88	5.93	5.94	5.89	1.09
Total	98.51	98.85	99.58	99.35	99.07	0.49

Tabla 4.4

Resumen de resultados obtenidos de la composición de grasas en la muestra B de aceite de oliva (en gramos)

Ácidos Grasos	1 (g)	2 (g)	3 (g)	4 (g)	Promedio (g)	DSR
Saturados	1.80	1.77	1.72	1.75	1.76	1.93
Monoinsaturados	10.07	10.13	10.27	10.21	10.17	0.86
Poliinsaturados	0.74	0.75	0.76	0.76	0.75	1.09
Total	12.61	12.65	12.75	12.72	12.68	0.49

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

- 1.-El método de Cromatografía de Gas es útil para la determinación de ácidos grasos en alimentos, mediante la metilación de estos ácidos antes del análisis cromatográfico, para que de ésta forma puedan ser identificadas por el detector de ionización de llama.
- 2.- El método utilizado permite identificar y cuantificar los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva y en la muestra de queso de manera muy rápida.
- 3.- Existe una buena reproducibilidad de los resultados obtenidos en ambas muestras de aceite de oliva, así como también con los resultados de la muestra Series 14 Oil utilizada en una prueba Interlaboratorio, la cual fue analizada en las mismas condiciones que la muestras de origen vegetal para el control del proceso analítico, ya que se conoce los resultados de este aceite vegetal.
- 4.- El análisis de ácidos grasos en el aceite de oliva, correspondiente a la muestra A, tiene 2.15g de saturados, 6.11 g de mono-saturados y 5.6 g de poli-insaturados.
- 5.-Se concluye que la muestra A no cumple con las especificaciones dadas en su etiqueta nutricional. (Ver tabla 3.1).
- 6.-El ácido linoleico en la muestra A de Aceite de Oliva obtenido es de 39.42 %, el que se encuentra fuera del rango de valores aceptados por la Norma CODEX (de 3.5 % a 20 %).
- 7.-La muestra B de aceite de oliva tiene 1.76 g de saturados, 10.17 g de mono-saturados y 0.75 g de poli-insaturados. Concluyéndose que la muestra B si cumple con lo declarado en su etiqueta nutricional (Ver tabla 3.2).
- 8.-La muestra de queso tiene un contenido de grasa altamente saturada, alrededor de 60 % que corresponde a las 2/3 partes de los ácidos grasos y 30 % de insaturados.

CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA

- 1.-T.W.Graham Solomons , “Química Orgánica”. Segunda edición. Editorial Limusa Wiley. Año 2000. pág 1245-1247.
- 2.-Alton E. Bailey, “Aceites y Grasas Industriales”, Editorial Reverté S.A. Año1988, pág 5.
- 3.-Morrison y Boyd, “Química Orgánica”.Addison Wesley Longman S.A. Año 1998, pág 1243.
- 4.- Universidad de Lima, “Serie Tecnológica de Alimentos.” Lima, pág 5-11.
- 5.-Jay H. Stein, “Medicina General”, Tomo II, Año 1991. pág 33.
- 6.-Jonathan S. Christie, “Los aceites Omega en la Alimentación”, Ediciones Urano. España.1993, pág 32-33.
- 7.-Seaton T. Preston, Jr. , Ronald E. Pankratz. “A guide to the Analysis of Fatty Acids and their esters by Gas Chromatographic”, PolyScience Corporation. 1985, pág A-16/17.
- 8.- FAO/WHO Food Standard Programme Codex Alimentarius Commission CAC / vol xi- Ed 1 Vol XI Codex Standard for edible fats and oils.
- 9.- H. M Mac Fair, E.J. Bonelli Basic Gas Chromatography. Fifth Edition March 1969. Varian Aerograph.
- 10.- J. M. Storm de Gracia. Fundamentos de la Cromatografía de Gases. Segunda Edición. España. Editorial Alhambra.
- 11.-Schlegelmilch, F., Vorlesungsscript Instrumentelle Analytik, Fachhochschule Niederrhein, Krefeld. September 1990.
- 12.- Gunther, W., Schlegelmilch, F., Gaschromatographie mit Kapillar-Trennsaulen, Band 1, Wurzburg: Vogel Verlag, 1986.
- 13.-Schomburg, G., Gaschromatographie, 2. Aufl. Weinheim: VCH Verlag, 1986.
- 14.-Sandra, P., Sample Introduction in Capillary Gas Chromatography. Volumen 1, Heidelberg: Huethig Verlag, 1985.
- 15.-P.Gerards, U.Bons, J.Sawazki, J.Szigan, A. Wertmann, “ GC/MS in Clinical Chemistry”, Wiley-VCH , Weinheim(Federal Republic of Germany), 1999.

16.-Schlegelmilch, F. Analytik fluchtiger Schadstoffe in Umweltproben, FHN-Broschüre Fachhochschule, Niederrhein, Krefeld, 1990.

17.-Hachenberg, H., Die Headspace-Gaschromatographie als Analysen- und Messmethode, 2. Aufl., Hoechst, 1988.

18.-Geisslewr, M., Einführung in die Gaschromatographie, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, 1993.

19.- H.M.McNair , E.J.Bonelli, “ Basic Gas Chromatography” , Varian Aerograph,1969, pág 139.

20.-Hermann Schmidth-Hebbel, “Ciencia y tecnología de los alimentos”, Merck Química Chilena, 1981.

21.-AOAC Método Oficial 955.30 Queso. Preparación de muestras.

22.-AOAC Método Oficial 905.02 Grasa en leche. Método Roese – Gottlieb.

23.-Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids: International Standard: ISO – 5509.

24. Sampling and Analysis of Commercial fats and oils. Iodine Value of Fats and Oils. Wijs Method.