

187



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

FACULTAD DE QUIMICA

**METODO DE ANALISIS DE ACEITES  
VEGETALES COMESTIBLES**

**TESIS**

*Que para obtener el título de:*

**Q U I M I C O**

*PRESENTAN:*

REYNA DEL CARMEN LABASTIDA RUBIO

LILIA OFELIA SANTARRIAGA RIVERA

HUMBERTO RAMON GOMEZ RUIZ

1975



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Tesis

1975

FECHA

PROC. PET-1308 137



QUÍMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE: Prof. Enrique García Galeano  
VOCAL: Prof. Armando Manjarrez Moreno  
SECRETARIO: Prof. Rosa Ma. González Muñoz  
PRIMER SUPLENTE: Prof. Carmen Rivera Muñoz  
SEGUNDO SUPLENTE: Prof. Carlos Romo Medrano

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

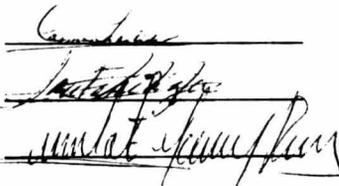
DEPARTAMENTO DE CROMATOGRAFIA DE LA DIVISION DE ESTUDIOS  
SUPERIORES DE LA FACULTAD DE QUIMICA DE LA UNIVERSIDAD -  
NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

SUSTENTANTES

REYNA DEL CARMEN LABASTIDA RUBIO

LILIA OFELIA SANTARRIAGA RIVERA

HUMBERTO RAMON GOMEZ RUIZ



ASESOR DEL TEMA

DR. ARMANDO MANJARREZ M.

A G R A D E C I M I E N T O S

Al Dr. Fransisco Javier Garfias, Jefe de la División de Estudios Superiores de la Facultad de Química, -  
quién nos permitió la realización de este trabajo.

Al Dr. Armando Manjarrez Moreno, con sincero agradecimiento por su apoyo y orientación en el desarrollo de esta tesis.

Al Ing. German Espinoza Ch., por sus valiosos consejos.

## I N D I C E

- I INTRODUCCION
- II ANTECEDENTES
- III IMPLEMENTACION DEL METODO
  - 1) DISCUSION
  - 2) TECNICA PROPUESTA
  - 3) OBSERVACIONES EXPERIMENTALES
- IV RESULTADOS
- V CONCLUSIONES
- VI REFERENCIAS

## I.- INTRODUCCION

El objetivo del presente trabajo es la implementación de un método que proporcione los resultados más adecuados en el análisis de aceites vegetales comestibles, que pudieran aplicarse en los estudios básicos necesarios para la posible elaboración de una nueva norma aplicable a estos productos.

Los métodos actuales de análisis de aceites vegetales comestibles sólo determinan algunos parámetros que están directamente relacionados con el contenido de ácidos grasos, pero no especifican cuáles son éstos y en qué proporción se encuentran; esto queda perfectamente definido por el método que tratamos de implementar.

Para el desarrollo de este trabajo se seleccionaron las siguientes semillas cuyos aceites comestibles son los de mayor consumo en nuestro país: Ajonjolí, Variedades Ciano, Instituto 15 e Instituto 71. Cártamo, Variedad Gila, Girasol, Variedades Krasnodarest, Vmiink y Peredovik, Algodón y Soya.

## II.- ANTECEDENTES

Las normas actuales para los aceites y grasas comestibles que se consumen en nuestro país, comprenden a diversas especificaciones que analizan diferentes parámetros relacionados con la naturaleza y calidad de esos productos.

Es indudable que la calidad de los diversos aceites y grasas comestibles depende, entre otros factores, del tipo y cantidad de ácidos grasos y alcoholes así como de los triglicéridos precursores de los anteriores. Entre las determinaciones empleadas en nuestro país para tratar de conocer el contenido de los anteriores componentes se encuentran:

1.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación del Índice de Yodo por el Método de Wijs. D.G.N.-F-152 -- 1970.

El índice de yodo es una medida de la insaturación de las grasas y aceites y se expresa en términos del número de centigramos de yodo absorbido por gramo de muestra.

En este método, la muestra es tratada con la solución de Wijs (solución del complejo cloruro-yoduro de relación conocida) durante 30 minutos, luego se agrega yoduro de potasio y se titula con tiosulfato de sodio valorado adicionándole almidón como indicador. Al mismo tiempo, se tratan por lo menos dos testigos.

El índice de yodo corresponde al número promedio de dobles ligaduras en la grasa, pero no indica la distribución de éstas en los ácidos grasos presentes.

2.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de Materia Insaponificable. D.G.N.-K-306-1972.

La materia insaponificable de las grasas se define como aquella substancia que es soluble en disolventes de grasas pero no es saponificada por álcalis caústicos.

Estas substancias están formadas principalmente por alcoholes alifáticos superiores, esteroides, pigmentos e hidrocarburos.

En este método se saponifica la muestra y la materia -- insaponificable se extrae con éter, se lava con etanol y se -- evapora a sequedad determinando su peso. Posteriormente se disuelve en etanol neutro y se titula con sosa valorada.

Este método no nos dice en qué proporción se encuentran ni cuáles son los componentes de la materia insaponificable.

3.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación del Índice de Peróxido. D.G.N.-F-154-1969.

El índice de peróxido indica los miliequivalentes de -- peróxido por Kg. de grasas o aceite.

Se disuelve la muestra en una solución de ácido acético-cloroformo 3:2 y se añade yoduro de potasio; posteriormente se deja reposar un minuto y se titula con tiosulfato de sodio-

valorado. Se hace una prueba en blanco.

El grado de peroxidación se mide por la cantidad de yodo libre que la grasa oxidada libera del yoduro de potasio.

Los peróxidos no tienen sabor ni olor, pero al romperse forman aldehídos que tienen un fuerte olor y sabor desagradable. Debido a esto, los resultados de este método están sujetos a variación.

4.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación del Índice de Titer. D.G.N.-F-149-1970.

El índice de Títer es el punto de solidificación de los ácidos grasos de los aceites y grasas vegetales o animales.

La muestra se saponifica con glicerina cáustica durante 15 a 30 minutos a una temperatura no mayor de 150°C, se enfría y se agrega agua, calentando hasta que el jabón se disuelva. - Posteriormente se agrega ácido sulfúrico al 30% y se hierve -- hasta que los ácidos grasos estén completamente transparentes y separados. Se desecha la fase acuosa y los ácidos se lavan con agua hasta que ésta tenga un pH neutro, luego se secan con sulfato de sodio anhidro y se filtran.

Se llena el tubo Titer con los ácidos grasos hasta el aforo y se regula la temperatura de tal manera que no esté a más de 20°C arriba del Titer esperado.

El índice de Titer corresponde a la temperatura más alta alcanzada por el termómetro debida a la solidificación del conjunto-

de ácidos grasos del aceite, pero no sabemos cuáles ni cuántos son.

5.- Norma Oficial del Método de Prueba para la Determinación del Índice de Acidez. D.G.N.-F-101-1970.

Se entiende por índice de acidez el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres en un gramo de aceite.

A la muestra se le agrega etanol neutro y si la disolución no es completa en frío se calienta en baño vapor, luego se agrega fenolftaleína y se titula con una solución valorada de hidróxido de potasio.

Este método nos da el índice de acidez del aceite pero no especifica que tipo de ácidos grasos libres se valoran.

6.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación del Índice de Saponificación (Método de Koettstorfer). D.G.N.-F-174-1970.

El índice de saponificación es la cantidad de hidróxido de potasio necesario para saponificar un gramo de aceite o grasa.

El método consiste en saponificar la muestra con potasa alcohólica a reflujo durante 30 minutos. Luego se titula con ácido clorhídrico valorado usando como indicador fenolftaleína y además se hace un testigo.

Este método no dice cuáles ni cuántos son los ácidos --

grasos liberados del glicerol durante la saponificación.

7.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Identificación de Aceite de Nabo en Aceites y Grasas Vegetales o Animales (Método de Twitchell) D.G.N.-F-175-1970.

Este método consiste en obtener primero los ácidos grasos libres del aceite, separando después los ácidos grasos líquidos y, de los sólidos se separa el ácido erúcico que es característico del aceite de nabo. La identificación de este ácido se hace por medio del punto de fusión.

Este método además de ser muy lento, no es específico del aceite de nabo ya que el ácido erúcico se ha encontrado en otras crucíferas.

8.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Identificación de Aceite de Cacahuete en Aceites y Grasas Vegetales o Animales (Método de Bellier) D.G.N.-F-178-1970.

Se saponifica la muestra con una solución alcohólica de hidróxido de potasio y cuando presente un aspecto claro se agrega ácido acético, se calienta y se agrega etanol con 1% de ácido clorhídrico y por último, se vuelve a calentar a 19°C.

Cuando el aceite tiene aproximadamente un 5% de aceite de cacahuete, aparece un precipitado o turbidez. Existen otros aceites que producen precipitado, pero el de cacahuete se destruye al volver a calentar y enfriar a 19°C. Este método es de apreciación por lo que se presta a errores.

9.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Identificación de Aceites de Algodón en Aceites y Grasas Vegetales o - Animales (Reacción cualitativa de Halphen) D.G.N.-F-177-1970.

A la muestra se le agrega el reactivo de Halphen (solución de 1% de azufre en disulfuro de carbono y alcohol amílico) y se calienta agitando hasta ebullición, luego se le agrega cloruro de sodio y se calienta durante dos horas.

El aceite de algodón se identifica por el desarrollo -- de una coloración rojo cereza cuya intensidad depende del grado de calentamiento, lo cual ya es una limitación del método.- Otra desventaja consiste en que el aceite Kapok da la misma -- reacción con igual o mayor intensidad.

10.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de la Presencia de aceite de Ajonjolí en Aceites y Grasas Vegetales o Animales (Métodos de Villavecchia y Baudouin) - -- D.G.N.-F-155-1970.

a) Método de Villavecchia: A la muestra se le agrega -- ácido clorhídrico y reactivo de Villavecchia (etanol-furfural-100:2) se agita y se deja reposar hasta el rompimiento de la - emulsión.

b) Método de Baudouin: Se trata la muestra con el reactivo de Baudouin (1% de sacarosa en ácido clorhídrico) se agita y se deja reposar hasta que se rompa la emulsión.

Si al romperse la emulsión en la parte inferior aparece

un color rosa o carmesí y si al agregar agua y agitar 15 segundos el color persiste, quiere decir que hay presencia de aceite de ajonjolí.

La desventaja de este método consiste en que si no se observa el color tan pronto como sea posible, se verá cubierto por el desarrollo de otros colores no característicos, los cuales también se pueden formar al tratar de aumentar la sensibilidad de la reacción al agregar más reactivo.

11.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de la Densidad Relativa en los Aceites y Grasas Vegetales o Animales. D.G.N.-F-75-1972.

La densidad relativa es la relación del peso de un volumen dado del aceite y el peso de un volumen igual de agua en las mismas condiciones de presión y temperatura, en las grasas esta propiedad no varía lo suficiente como para que tenga esta prueba aspectos analíticos importantes.

12.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación del Índice de Refracción con el Refractómetro de Abbe en Aceites y Grasas Vegetales o Animales. D.G.N.-F-74-1971.

Al igual que en el método anterior el índice de refracción no es una propiedad que varíe lo suficiente y por lo tanto, tiene poca relevancia.

La base analítica de todas las anteriores determinaciones consiste en conocer de una manera más o menos indirecta la

cantidad y tipo de ácidos grasos, alcoholes y el producto de esterificación entre ambos: los triglicéridos. Estas determinaciones, aunque precisas, no pueden establecer la especificidad de los componentes mencionados; son determinaciones de tipo -- cuantitativo general, pero no cualifican los diversos tipos de los componentes presentes.

En la tecnología actual se cuenta con un tipo de análisis muy poderoso para conocer los tipos y cantidades presentes de ácidos grasos en los aceites y grasas comestibles: la cromatografía en fase vapor. Los trabajos acerca de la aplicación de este método son numerosísimos y su eficacia de todo punto probada. De hecho, la Sociedad Americana dedicada al estudio de los aceites comestibles lleva a cabo un método (AOCS) - --- (Cc 1 62) en el cual los glicéridos presentes se convierten a los ácidos y alcoholes respectivos. Los ácidos grasos a su vez se transforman en sus ésteres metílicos, los que se someten -- al análisis por cromatografía en fase vapor. De acuerdo a esta metodología, el tiempo en que emergen del sistema cromatográfico cada uno de los componentes identifica a cada uno de ellos, y la cantidad de los mismos puede ser determinada por diversas técnicas propias del método; este tipo de análisis es rápido - y requiere poca cantidad de muestra.

Es indudable que contando con un arma tan poderosa como la descrita, quizás dentro de muy poco tiempo numerosos países

incluyan en las normas de sus aceites y grasas comestibles determinaciones basadas en la cromatografía en fase vapor, sin embargo, debe tenerse en cuenta que este tipo de comestibles son de origen natural y por lo tanto, permanentemente variables en su composición. La causa de estos cambios no se ha podido explicar claramente pero si se han llevado a cabo investigaciones que los ponen en evidencia. Se mencionan a continuación -- varias conclusiones recientes sobre dicho tema.

De acuerdo a la familia, género o aún especie, la combinación de ácidos grasos en la planta es específica cualitativa y cuantitativamente (15).

La composición de la grasa en la planta varía dependiendo de la especie a que pertenezca, pero se ha visto que aún -- en la misma planta existen variaciones, y aún más, dentro de -- la misma semilla (15,16).

También se ha investigado sobre la variación en la composición de ácidos grasos (principalmente en la semilla) durante la maduración (17,18).

En cuanto al modo de unión de los ácidos grasos a la molécula de glicerol, se ha encontrado de una manera general que al carbono central se unen los ácidos grasos insaturados y los saturados se unen en los carbonos 1 y 3 (19,20).

Un factor muy importante por considerar es la influencia del medio ambiente sobre la composición del aceite de la --

planta. Se hicieron varios estudios sobre este hecho y de una manera general se observó que una planta capaz de existir en diferentes climas produce, cuando crece en un clima frío, más ácidos insaturados que cuando crece en un clima caliente (16).

Entre los trabajos realizados con respecto al fenómeno anterior, se han efectuado comparaciones del aceite de girasol que crece en el norte y en el sur de los Estados Unidos, encontrándose que el aceite difiere principalmente en la insaturación (21).

También se han evaluado los cambios en composición de ácidos grasos durante varios años, de aceites vegetales como soya, girasol y ajonjolí, cultivados en diferentes áreas (22).

Existe un trabajo más completo sobre el girasol, en el cual se informa acerca del estudio de 8 a 15 variedades en dos lugares diferentes (Europa Central y Africa Oriental) durante dos años. Se efectuó el análisis del aceite basándose en la relación de ácidos linoleico y oleico y se encontró que en climas fríos aumentaba el contenido de linoleico y disminuía el de oleico, encontrándose lo contrario en el clima caliente (23).

Por todo lo anterior es necesario conocer las variantes entre los aceites de una misma especie, pero de distinta procedencia geográfica, e investigar las relaciones cuantitativas que existen entre sus ácidos grasos. De acuerdo a estas -

relaciones podrían establecerse el máximo de variaciones permitidas que a la postre serían las bases para el establecimiento de una nueva norma de especificaciones para este tipo de aceites.

III.- IMPLEMENTACION DEL METODO

De acuerdo a la literatura reciente se encontró que la cromatografía en fase vapor es la técnica más rápida, reproducible y precisa para el análisis de los ácidos grasos en general (23,24). También es posible determinar glicéridos en forma directa, sin embargo, estas técnicas tienen serias limitaciones, entre ellas se encuentra el que los glicéridos son compuestos de elevado peso molecular y por lo tanto su punto de fusión es alto, lo que obliga a que las condiciones cromatográficas sean muy severas y se tornen muy especiales. Para el análisis directo de los glicéridos se necesitan columnas cortas (para tener tiempo de retención razonable) con una baja concentración de fase líquida, la cual debe ser muy estable a altas temperaturas (24). Además de esto, el equipo que se utiliza debe contar con un sistema de programación de temperatura muy eficiente y capaz de alcanzar temperaturas de 350°C; sin embargo a pesar de contar con todo lo necesario los cromatogramas no son satisfactorios, ya que se obtienen separaciones de glicéridos de distinto peso molecular con lo cual no se aclara qué ácidos grasos componen la muestra. Otra desventaja es que la separación de los compuestos no es lo suficientemente eficaz como para llevar a cabo un análisis cuantitativo -- preciso.

La otra forma de llevar a cabo el análisis de aceites- o grasas es convertir los glicéridos presentes a sus componentes primarios, esto es a glicerol y ácidos grasos, los cuales se tratan con un agente esterificante para reducir su polaridad y su tensión de vapor (7,8,24,25,26). Aparte se decidió - seguir esta técnica de análisis puesto que en la literatura - actual como ha quedado asentado se encuentran relaciones consistentes entre el tipo y cantidades de los diferentes ácidos grasos presentes en los aceites vegetales y la calidad de los mismos.

De esta manera la técnica para realizar el análisis de un aceite por Cromatografía en fase vapor, consistirá en:

a) Convertir los glicéridos en sus componentes prima-- rios (glicerol y ácidos grasos), para lo cual se lleva a cabo una hidrólisis (básica o ácida). Posteriormente, se separan - los ácidos grasos mediante acidificación y extracción con disolventes.

b) Los ácidos grasos libres se esterifican con metanol con ayuda de algún catalizador (ácido sulfúrico, sales de plata, trifluoruro de boro, etc.), con el objeto de hacerlos más volátiles y así facilitar su análisis.

c) Los ésteres metílicos de ácidos grasos se someten - al análisis cromatográfico en fase vapor y de los resultados- obtenidos del cromatógrafo, se hace la identificación y cuantificación de los mismos.

## 1) DISCUSION

OBTENCION DE MUESTRAS

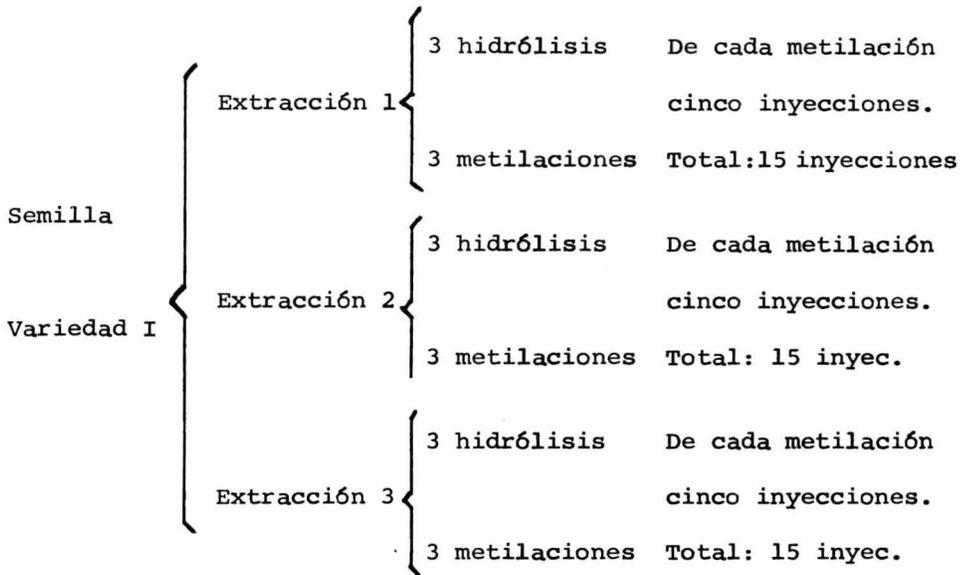
En cualquier trabajo de índole analítica es importante la obtención de muestras representativas. En el presente estudio las muestras analizadas procedieron de dos fuentes: La primera representada por los aceites puros directamente extraídos de las semillas en el laboratorio con el fin de obtener resultados representativos y la segunda por los aceites comerciales obtenidos en el mercado. Para llevar a cabo una comparación entre éstos y el aceite puro.

La selección de los tipos de aceites se llevó a cabo de acuerdo con su importancia comercial, siendo las de mayor consumo: el de cártamo, ajonjolí, girasol, soya y algodón. Por lo que se obtuvieron las semillas de cada uno de estos tipos en sus distintas variedades, así como los distintos aceites comerciales elaborados con esas semillas.

Las semillas empleadas para la obtención de los distintos tipos de los aceites en estudio, se seleccionaron únicamente por su variedad, sin saber a qué temporada y a qué región del país correspondían. En realidad, son una mezcla de las distintas regiones del país y de todas las temporadas.

Con el fin de que los resultados sean representativos, fue necesario preparar un número suficiente de muestras para poder obtener un valor promedio. Debido a esto, se llevaron a

cabo tres extracciones de cada variedad y de igual forma, tres hidrólisis y tres metilaciones para cada extracción. Para cada metilación se obtuvieron cinco cromatogramas tal como se puede observar en el siguiente diagrama:



De esta manera para cada variedad de semilla se tuvieron 45 valores. De este modo, para cada tipo de aceite se tuvieron los valores de cada una de sus variedades, con lo cual se pudo obtener un valor promedio para cada tipo de aceite. El procedimiento es el mismo para los aceites comerciales, a excepción del proceso de extracción, el cual se substituyó tomando 3 muestras del aceite del mismo lote de producción.

## EXTRACCION

Con el fin de que los resultados obtenidos en este estudio permitieran una evaluación de los aceites comestibles puros que proceden de las semillas seleccionadas, se estudiaron los procesos industriales de extracción para llevarla a cabo de una manera similar.

En la industria de los aceites hay tres métodos principales de extracción: por fusión, prensado y mediante disolventes.

En la extracción por fusión, la grasa se obtiene por medio del calentamiento del tejido que la contiene. Esta extracción se aplica casi exclusivamente para la producción de aceites y grasas animales.

Tanto la extracción por prensado como la extracción por disolventes, tienen por objeto obtener aceites o grasas de semillas oleaginosas, y en sus etapas iniciales de operación son iguales en cuanto al almacenamiento en silos o bodegas y manejo de semillas por medio de diferentes sistemas (neumáticos, gusanos, etc.). Sin embargo, las plantas de extracción por medio de disolventes tienen radios más amplios de operación, puesto que pueden trabajar cualquier oleaginosa con óptimos rendimientos. Esta versatilidad permite utilizar semillas, tanto de bajo contenido de aceite como la soya con el 18%, como de alto contenido como el ajonjolí con el 50% de

aceite. En cambio, el prensado no puede operar económicamente las semillas con bajo contenido de aceite, que son las que más se cultivan en el país: como el cártamo, soya y algodón. Además, los aceites comerciales sufren una serie de procesos después de la extracción, ya que como sabemos, el aceite en su estado crudo no es apto para el consumo humano, por lo que debe ser sometido a un proceso de refinación que tiene por objeto eliminar la acidez, gomas y parte de la pigmentación; en este proceso el aceite es tratado con una solución de sosa caústica, que lo neutraliza y en donde el jabón formado engloba las gomas y parte de la pigmentación.

El color del producto refinado es más obscuro que el deseado para su presentación al público, por lo cual se somete a un blanqueo que se logra tratando el aceite con tierra y carbón activado, los cuales por adsorción logran reducir el color al grado deseado. Muchos aceites vegetales tienen un sabor fuerte, no apetecible al paladar de la mayoría de los consumidores, por lo que se someten a una deodorización consistente en calentar al glicérido y sujetarlo a una destilación con arrastre de vapor a vacío, lo que elimina el olor, sabor y poca acidez todavía presente en el aceite.

Por lo que se explicó anteriormente se pudo concluir que el mejor método de extracción era por disolventes, aunque después de esto, no se les hiciera la deodorización, refina --

ción y blanqueo; procesos efectuados en los aceites comercia--  
les, por lo que puede haber en éstos pequeñas diferencias en -  
cuanto a la cantidad de ácidos grasos muy ligeros y muy pesa--  
dos.

La extracción se efectuó con disolventes empleando un -  
soxhlet. Sin embargo, el problema consistió en probar cuál di-  
solvente era el mejor y el tiempo que se debería dejar para --  
una óptima extracción.

El primer disolvente utilizado fue el éter de petróleo-  
el cual es muy volátil, pero tiene el inconveniente de que al-  
inyectarlo al cromatógrafo de gases aparecen series de fraccio-  
nes que pueden interferir con alguna fracción ácido graso de -  
bajo peso molecular.

Al probar con hexano, se vió que además de ser muy volá-  
til y de presentar una sola fracción en el cromatograma, es --  
un compuesto no polar que facilita aún más la extracción del -  
aceite.

Para conocer el tiempo de extracción, se siguió el pro-  
ceso mediante análisis cromatográfico en placa delgada, obser-  
vándose una cromatoplaaca cada media hora, con lo cual se - --  
observó que para extraer la totalidad del aceite se necesitan-  
nueve horas; con este tiempo la extracción es casi completa --  
quedando cuando mucho, de un 0.5 a un 0.7% de aceite en la se-  
milla.

### HIDROLISIS

En presencia de agua o vapor de agua, las grasas se hidrolizan en ácidos grasos libres y glicerol. La reacción es -- catalizada biológicamente por enzimas y químicamente por ácidos y bases.

Para obtener los ácidos grasos de los aceites se utilizó la hidrólisis básica, que convierte los triglicéridos en -- jabones solubles en agua y glicerol. Se utilizó esta técnica -- debido a que daba un mayor rendimiento y una mejor eficiencia -- en la hidrólisis del aceite, en menos tiempo y a menor temperatura evitando así la polimerización de los ácidos grasos.

### METILACION DE LOS ACIDOS GRASOS

Para efectuar la metilación de los ácidos grasos provenientes de la hidrólisis de los aceites, se tomó en cuenta -- lo siguiente: La velocidad con que podía efectuarse la reacción, el rendimiento del producto y las transposiciones en las moléculas que causan ciertos métodos de metilación en los ácidos grasos insaturados.

De los métodos más usados se probaron los siguientes:

Primero se esterificó a los ácidos grasos con metanol y como catalizador ácido sulfúrico (3, 4, 5, 6 y 7) correspondiente al 1% de la mezcla. Se calentó a reflujo y se tomaron diferentes tiempos. El tiempo de reacción varía mucho, pues depende

del peso molecular de los ácidos grasos, ya que mientras mayor cantidad de ácidos grasos pesados contenga el aceite, la reacción será más lenta y como consecuencia de ésto el tiempo será mayor. Al probar a diferentes tiempos, se obtuvo la mayor eficiencia a las seis horas de reacción.

La misma prueba se llevó a cabo con ácido clorhídrico - como catalizador (8) siendo el tiempo de reacción un poco más largo. Además de que cuando se trató de disminuir el tiempo de la reacción, se vió que el rendimiento bajó notablemente. Este método, al igual que el anterior también ofreció un buen rendimiento, pero un tiempo de reacción demasiado largo originando reacciones secundarias.

Otra de las técnicas probadas fue la esterificación con diazometano (9,10,11). El diazometano se preparó agregando una solución de hidróxido de potasio al 50% a una solución etérea de N-nitroso metil urea. Esta solución se agrega a una solución etérea de los ácidos grasos con lo cual se generan los ésteres. El reactivo debe de estar recién preparado para obtener un buen rendimiento.

El tiempo de reacción es corto y da buen rendimiento, - sin embargo, la desventaja de este método es que el reactivo, - aparte de ser tóxico es explosivo y causa cambios estructurales en el ácido orgánico por productos de adición del diazometano - en los enlaces etilénicos, formando pirazolinás.

De los métodos buscados en la literatura, se pudo concluir que hay dos métodos bastante eficientes para esterificar los ácidos grasos que son: esterificación con sales de plata e yodo-metano (12) y esterificación con trifluoruro de boro-metanol (13,14). La esterificación de los ácidos grasos se puede llevar a cabo sin isomerizaciones por el método de las sales de plata con el haluro de alquilo, pero este método es aplicable cuando otras formas de esterificación pudieran causar isomerizaciones.

Por otro lado, la esterificación con trifluoruro de boro-metanol se lleva a cabo rápidamente, aunque este método se ha informado como poco efectivo cuando los lípidos a tratar -- contienen grupos epoxi, hidroperoxi, e hidroxilo o ciclopropeno (13). Cuando se probó el método se observó que el tiempo de -- reacción es muy corto, da muy buenos rendimientos, casi no ocurren reacciones laterales significativas y la isomerización -- que se produce es mínima.

#### ANÁLISIS CROMATOGRAFICO

En una revisión de la literatura se encontró que son -- cuatro las fases líquidas que más se han utilizado para el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos. Estas fases son -- del tipo silicona, hidrocarburos saturados de alto peso molecular, polímeros de tipo aromático y ésteres del ácido succínico.

De esta manera se decidió probar estas fases para seleccionar aquella con la que se obtuvieran los mejores resultados.

El material de la columna así como el largo de ésta y el porcentaje de fase líquida que debían llevar se determinó mediante datos obtenidos en la literatura. Se seleccionó el acero inoxidable como material de la columna, ya que además de ser el más común no existe la posibilidad de que los ésteres metílicos de ácidos grasos se descompongan con la temperatura. De acuerdo con la literatura el largo de la columna se fijó en dos metros y un diámetro exterior de 1/8" que es lo que se recomienda para trabajos analíticos. Por último, la preparación del empaque se llevó a cabo mediante el método de impregnación y evaporación de disolvente en rotavapor. El llenado de las columnas se realizó con la ayuda de un vibrador eléctrico y aplicación de vacío.

La cantidad de fase líquida que estos empaques debían tener se limitó a tres porcentajes en peso: 1%, 5% y 10%, dentro de los cuales se debía encontrar la condición óptima. Los soportes de estos empaques fueron dos: CHROMOSORB W-AW y CHROMOSORB W-AW-HMDS, ambos son tierras de diatomeas blancas lavadas con ácido. La diferencia es que el CHROMOSORB W-AW-HMDS está tratado con un sililante (hexametildisilazano) para hacerlo más inerte.

Con estas condiciones establecidas se decidió probar la

primera fase líquida SE-30, la cual es un polímero de silicón de elevado peso molecular que ha sido muy utilizado para el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos.

Al tener las columnas ya preparadas y estabilizadas se procedió a determinar las mejores condiciones de trabajo, esto es, la determinación del flujo y la temperatura en la que se logre la mejor separación de los compuestos. Para determinar la temperatura de trabajo se seleccionó un flujo arbitrario de 50 ml/min y se inyectaron estándares a varias temperaturas - - siendo la mejor aquella en la que se obtuvo la separación más exacta pero sin deformación de picos. Los estándares utilizados fueron: miristato de metilo, estearato de metilo y araquidato de metilo. Para determinar el flujo óptimo se empleó la curva de Van Deemter (22). Las condiciones óptimas encontradas fueron: 28 ml/min de gas acarreador y 210°C de temperatura.

Una vez llevado a cabo lo anterior se procedió a inyectar los ésteres metílicos de los ácidos grasos obtenidos del aceite de ajonjolí, muestra seleccionada como estándar para -- probar las columnas.

Los resultados obtenidos en las columnas de SE-30 no -- fueron muy satisfactorios. Con la columna de menor porcentaje de fase líquida el tiempo de análisis fué demasiado corto lo que provocó que la mayoría de los picos se traslaparan haciendo prácticamente imposible un análisis cualitativo de los com-

ponentes contenidos en la muestra. Con las columnas de 5 y 10% de fase líquida el tiempo de análisis fue más largo, los picos se separaron más, sin embargo, la separación del estearato de metilo, el oleato de metilo y del linoleato de metilo era muy pobre, lo que presentaba un problema de identificación, haciendo además muy difícil la obtención de un análisis cuantitativo correcto. En las tres columnas se probó variar algunos parámetros como elevar la temperatura, subir el flujo y utilizar programación de temperatura; con esto se mejoró un poco el aspecto de los cromatogramas aunque no lo suficiente como para resolver los problemas de cuantificación e identificación.

La fase líquida FFAP es una modificación del Carbowax 20M al que se le ha tratado con ácido 2-nitrotereftálico que no requiere que los ácidos grasos se metilen ya que éstos se pueden inyectar directamente lo que en un principio es muy atractivo debido a que se elimina el procedimiento de preparación de la muestra.

Los empaques y columnas se prepararon de la manera antes descrita y en las mismas concentraciones de fase líquida, lo único que varió fue el disolvente utilizado ya que para FFAP se recomienda el cloruro de metilo. Una vez preparadas las columnas se estabilizaron a 245°C durante 48 hrs. con un flujo de 10 ml/min.

Una vez estabilizadas las columnas se procedió a deter-

minar el flujo y temperatura óptimos de la misma manera, sólo que ahora los estándares utilizados fueron los ácidos y no los ésteres. Se usaron el ácido mirístico, ácido oleico y el ácido araquídico encontrándose las mejores condiciones de 225°C y 25 ml/min de flujo.

Al determinar el flujo y la temperatura óptimos se observó que el último componente tardaba mucho en aparecer y se presentaba muy deformado, lo cual hizo suponer que las columnas no iban a ser de utilidad. Sin embargo, se decidió hacer la prueba con los ácidos grasos del aceite de ajonjolí confirmando así las dudas. El tiempo de análisis fue extremadamente largo (1:30 hrs.) y además se presentó otro problema, no existía separación alguna entre el ácido esteárico y el oleico y el linoleico y araquídico. Sin embargo, se observó que estas columnas, en especial la del porcentaje 5% funciona muy bien para ácidos grasos ligeros es decir, del fórmico al láurico ( $C_1 - C_{10}$ ). Con estas mismas columnas se decidió hacer otra prueba que consistió en inyectar los ésteres metílicos de los ácidos grasos con el objeto de observar si al reducir la polaridad y aumentar la tensión de vapor de los componentes se lograba una mejor separación. Esta prueba tampoco tuvo éxito: el tiempo de análisis se redujo notablemente pero las columnas no eran lo suficientemente selectivas como para poder diferenciar entre 1, 2 y 3 dobles ligaduras, esto es, la resolución entre-

estearato y oleato de metilo seguía siendo mala y la separación de linoleato y araquidato de metilo mejoró pero no lo suficiente. Asimismo se decidió probar ciertas variaciones como en los casos anteriores: subir el flujo, bajar y elevar la temperatura y utilizar programación de temperatura aunque a pesar de esto el aspecto de los cromatogramas no mejoró lo suficiente.

Debido a los resultados obtenidos se decidió probar otra fase líquida también muy utilizada para el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos. Esta fase es APIEZON-L, un hidrocarburo de alto peso molecular.

Con dicha fase se procedió de la misma manera que con las anteriores: preparación de empaque, llenado de columna, estabilización, determinación de flujo óptimo y determinación de temperatura óptima. Como resultado de lo anterior se encontró que las condiciones óptimas de trabajo son: 220°C de temperatura y 20 ml/min de flujo.

Una vez determinadas las condiciones en que se iba a operar, se inyectaron los ésteres metílicos de los ácidos grasos de aceite de ajonjolí que se estaban utilizando para probar las columnas.

Los resultados obtenidos en estas columnas tampoco fueron satisfactorios ya que los picos tardaban mucho en salir de la columna (1:45 hrs.) lo que da lugar a una mayor dispersión-

de los componentes obteniendo así picos muy anchos y por consi-  
guiente poco útiles para un análisis cuantitativo. Además se -  
volvió a presentar el mismo problema que se había tenido con -  
las otras columnas, o sea, la separación entre los picos impor-  
tantes del cromatograma; oleato de metilo y linoleato de meti-  
lo (era muy mala.) La apariencia del cromatograma indicaba que-  
era inútil tratar de obtener la separación por algún medio, --  
por lo tanto no se intentó variar el flujo o la temperatura ni  
utilizar programación de la misma. Como resultado de lo ante--  
rior se decidió probar con otra fase líquida.

La nueva fase utilizada fue DEGS (succinato de dietilen-  
glicol), dicha fase ha sido ampliamente utilizada para el aná-  
lisis de ésteres metílicos de ácidos grasos. Sin embargo, re--  
sulta algo curiosa ya que todas las fases que se recomiendan -  
para el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos son fa-  
ses no polares debido a las características de éstos, además -  
de ser fases cuya temperatura máxima de operación es muy alta,  
y el DEGS es una fase polar con una temperatura máxima de ope-  
ración de 200°C. Otro punto interesante lo constituye el he-  
cho de que en todos los reportes encontrados en la literatura -  
concernientes a esta fase se utilizaban porcentajes de fase lí-  
quida muy altos, es decir de 10 a 30%, razón por la cual se de-  
cidió desechar la columna de 1% y preparar en su lugar una de-

15%. además cuando se probaron las otras fases líquidas los mejores resultados se habían obtenido con la columna de 1%.

Unicamente con esta variación se prepararon las columnas y se estabilizaron por 48 hrs. a 198°C y 10 ml/min de flujo. Se determinaron el flujo y la temperatura óptimos al igual que en los casos anteriores, encontrándose éstos a 195°C y 30-ml/min.

Una vez llevado a cabo lo anterior se procedió a probar las columnas con los ésteres metílicos de ácidos grasos del -- aceite de ajonjolí. En las tres columnas se obtuvieron magníficos resultados aunque eran notablemente mejores en la de 15%. En dicha columna se separaron perfectamente bien el estearato, oleato y linoleato de metilo, siendo la separación hasta la línea base, separándose también hasta dicha línea el palmitato - del palmitoleato de metilo ( $C_{16}$  Y  $C_{16:1}$ ) y el araquidato del - linolenato de metilo ( $C_{20}$  Y  $C_{18:3}$ ). Lo más sobresaliente de esta operación fue que se logró en sólo 30 minutos.

Esta columna presentaba un inconveniente: los ésteres metílicos de ácidos grasos ligeros aparecían muy pegados al - pico del disolvente lo que representaba un problema cuantitativo. Sin embargo, ésto se resolvió al utilizar programación de temperatura con un programa muy corto de 170-175°C a 195°C con una velocidad de programa muy lenta de 4°C/min. con lo -- que se logró separar del  $C_8$  al  $24$  sin ninguna dificultad.

Lo anterior no representaba ningún problema para el trabajo -- por realizar ya que los aceites vegetales no contienen ácidos-grasos ligeros, siendo el más ligero el láurico  $C_{12}$  que se separa bastante del pico del disolvente razón por la cual no hubo necesidad de utilizar programación de temperatura para este trabajo.

Se probaron dos soportes con todas las columnas: el -- CHROMOSORB W-AW y el CHROMOSORB W-AW-HMDS, aunque con la fase-DEGS se decidió utilizar el CHROMOSORB W-AW-HMDS debido a que dicha fase es polar y no se deseaba hacer más polar el sistema con un soporte sin tratar. Los resultados fueron excelentes.

Análisis cualitativo.- Para realizar el análisis cualitativo de los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentes en las muestras se utilizaron varios métodos con el objeto de tener una mayor seguridad en los resultados. Al principio y -- tan solo como guía se utilizaron los valores de tiempo de retención reportados en la literatura. Estos valores no pueden ser absolutos ya que son muy difíciles de reproducir debido a que están sujetos a diversas variables: flujo, temperatura, -- etc. Este método consiste en determinar el tiempo que tarda -- en eluir un compuesto dado a partir del punto de su inyección, o bien desde el frente del disolvente hasta el vértice del pico de la señal obtenida en el registrador.

En el laboratorio se determinaron los tiempos de reten-

ción encontrando en algunos casos variaciones notables entre los reportados y los obtenidos.

El segundo método utilizado fué el método gráfico, el cual consiste en la elaboración de una gráfica que relaciona el logaritmo del tiempo de retención con el número de átomos de carbono de los ésteres metílicos. Cuando se elabora con series homólogas de compuestos, como en el presente caso, se obtienen líneas rectas de pendientes específicas. Debe elaborarse una gráfica para compuestos saturados, otra para los que tienen una doble ligadura, otra para los de dos dobles ligaduras y así sucesivamente. La ventaja que este método presenta es que sólo se necesita inyectar de 3 a 4 compuestos de la serie para elaborar la gráfica con la que se pueden identificar todos los compuestos de dicha serie. Las gráficas que se utilizaron en este trabajo aparecen en la figura (1).

Para la utilización de gráficas de este tipo se necesita verificar periódicamente que los valores del tiempo de retención no se hayan alterado, lo cual suele ser muy común debido al desgaste de la columna.

El tercer método utilizado para identificar los compuestos o fracciones que aparecían en el cromatograma fue el de adición de estándares. Esta técnica es muy laboriosa y requiere de mucho tiempo aunque se trata de una técnica que casi no deja lugar a dudas. La técnica antes mencionada consiste en --

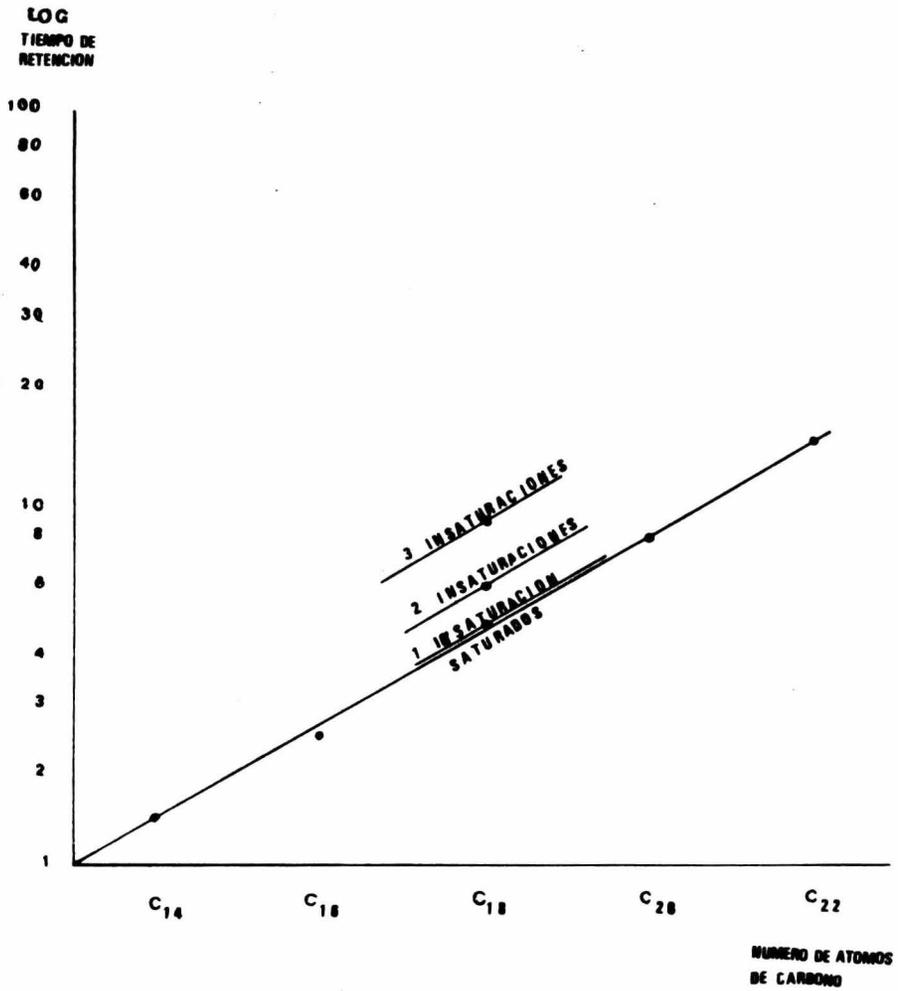


FIG. 1

dependerá de la estabilidad de la línea base del aparato. Figura (2).

El segundo método es el de triangulación. Mediante este método se construye un triángulo trazando la tangente a los -- puntos de inflexión de cada parte de la curva, calculando después el área de éste triángulo. El método antes descrito plantea un problema: el de no considerar partes del pico, como se observa en la Figura (3). Este no es un error constante ya que para cada pico, la cantidad de área no considerada es distinta dependiendo de la asimetría que presente.

El último método, es decir el planimétrico, consiste -- en medir las áreas de los picos con ayuda de un planímetro. Este método es bastante más exacto que los dos anteriores puesto que mediante el mismo, las áreas obtenidas son reales por más distorsionado que esté el pico. Por otra parte, el método antes descrito es demasiado lento y por consiguiente inútil cuando se trata de integrar un gran número de picos.

Existe otro método conocido como cortar y pesar, que -- consiste en recortar y pesar los picos, pesando posteriormente una unidad de papel ( $1 \text{ cm}^2$  ,  $10 \text{ cm}^2$  , etc.) para obtener de esta forma los resultados. Como se puede observar, dicho método presenta muchas limitaciones debido a que no existe uniformidad en el papel, éste puede absorber humedad y lo que es peor, se destruye el cromatograma.

pico ya que los detectores de los aparatos de cromatografía están diseñados de tal manera que el área es proporcional a la cantidad de componente que pasa por el detector.

Las técnicas que pueden utilizarse para medir el área bajo un pico son varias y se pueden clasificar en dos grupos: las técnicas manuales y las técnicas de integración automática. Las técnicas manuales como su nombre lo indica, no requieren de una instrumentación especial, basta con reglas y planímetros. Por otra parte, las técnicas de integración automática requieren de instrumentación especial como integradores mecánicos o de disco e integradores electrónicos, aparatos que se adaptan a los registradores y que automáticamente integran las áreas.

Los métodos manuales más utilizados son: el método general (o de la altura por la amplitud a la mitad de la altura) el de triangulación y el planimétrico. El método de medir la altura por la amplitud a la mitad de la altura es uno de los más utilizados y consiste en considerar que un pico es proporcional al producto de su altura por la amplitud a la mitad de la altura. Este método plantea tan solo un requisito: el que los picos tengan la apariencia de curvas gaussianas, o sea, que no es aplicable a picos asimétricos. La forma en que se trabaja con este método es dibujando la línea base común para todos los picos, por lo que la exactitud con que se construya ésta,-

dependerá de la estabilidad de la línea base del aparato. Figura (2).

El segundo método es el de triangulación. Mediante este método se construye un triángulo trazando la tangente a los -- puntos de inflexión de cada parte de la curva, calculando después el área de éste triángulo. El método antes descrito plantea un problema: el de no considerar partes del pico, como se observa en la Figura (3). Este no es un error constante ya que para cada pico, la cantidad de área no considerada es distinta dependiendo de la asimetría que presente.

El último método, es decir el planimétrico, consiste -- en medir las áreas de los picos con ayuda de un planímetro. Este método es bastante más exacto que los dos anteriores puesto que mediante el mismo, las áreas obtenidas son reales por más distorsionado que esté el pico. Por otra parte, el método antes descrito es demasiado lento y por consiguiente inútil cuando se trata de integrar un gran número de picos.

Existe otro método conocido como cortar y pesar, que -- consiste en recortar y pesar los picos, pesando posteriormente una unidad de papel ( $1 \text{ cm}^2$ ,  $10 \text{ cm}^2$ , etc.) para obtener de esta forma los resultados. Como se puede observar, dicho método presenta muchas limitaciones debido a que no existe uniformidad en el papel, éste puede absorber humedad y lo que es peor, se destruye el cromatograma.

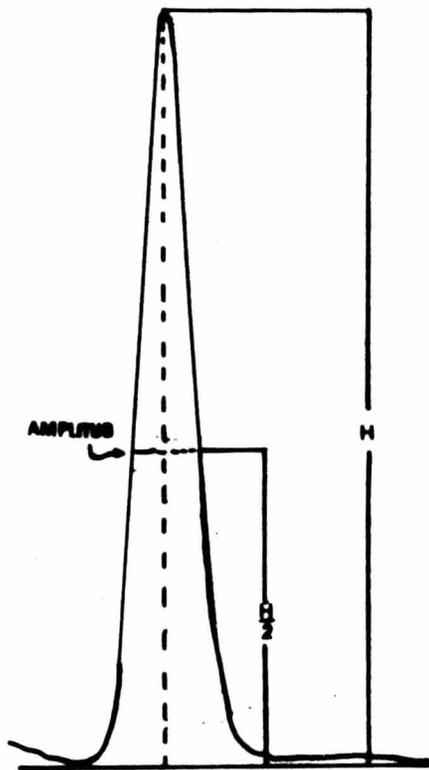
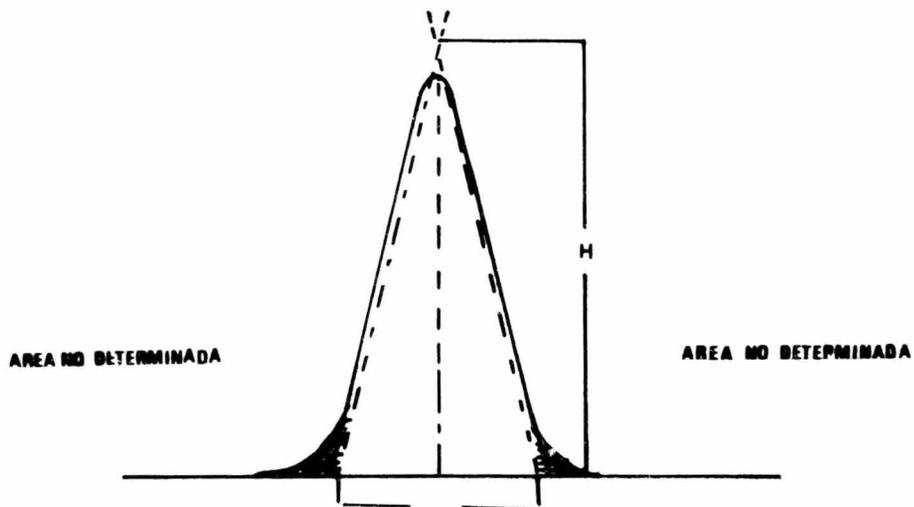


FIG. 2

MEDICION DE AREA POR TRIANGULACION



$$\begin{aligned} \text{AREA} &= \text{BASE} \times \text{ALTURA} / 2 \\ &= B \times H / 2 \end{aligned}$$

FIG. 3

FORMA DE MEDIR AREAS DE PICOS

NO RESUELTOS

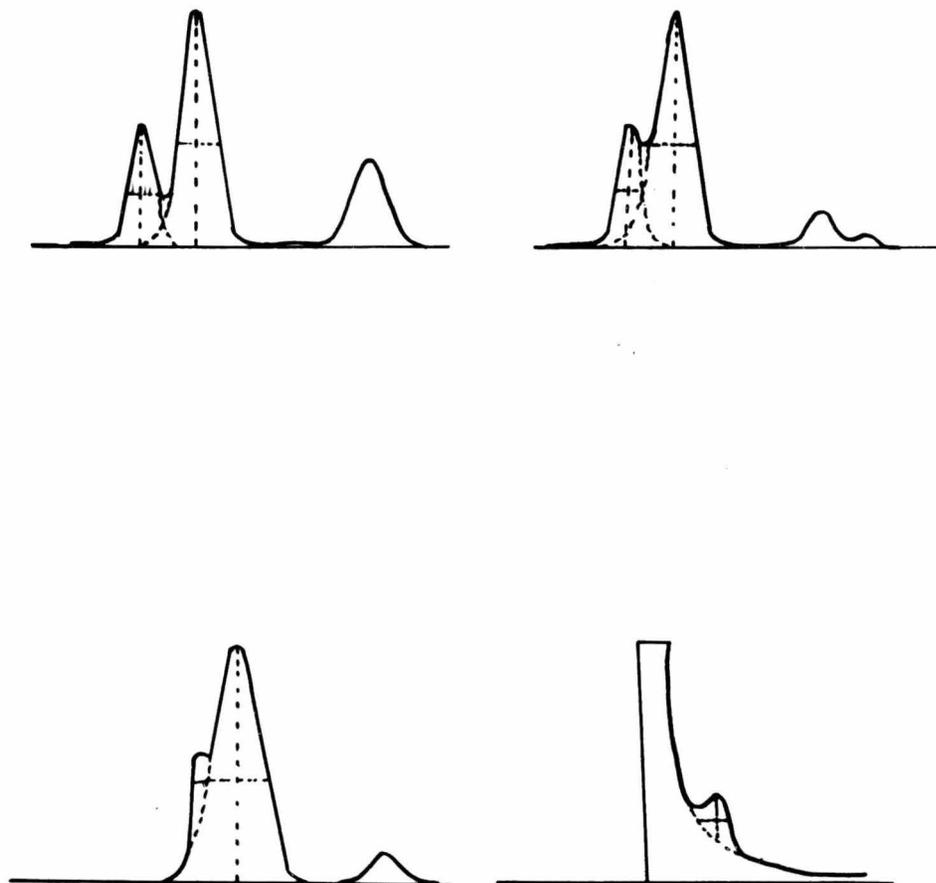


FIG. 4

De los métodos antes expuestos se decidió utilizar el - de medir la altura por la amplitud a la mitad de la altura, el cual además de ser bastante exacto, es muy rápido.

Ahora bien, en este trabajo se presentaron cromatogra-- mas en que se tenían picos que no estaban perfectamente resuel~~tos~~ (como es común en los análisis cromatográficos). La forma re~~com~~endada por varios autores para calcular las áreas de estos picos se muestra en la Figura (4).

Existen varios métodos para determinar tales relaciones siendo quizá el más ampliamente usado el conocido como de normalización interna. Sin embargo, para la aplicación de este mé~~to~~do es necesario cubrir varios requisitos: primero se debe te~~ne~~ner la certeza de que todos los componentes en la mezcla han - registrado un pico, esto es, que el 100% de lo inyectado pase por el detector, y segundo, que todos los picos del cromatogra~~ma~~ hayan sido positivamente identificados.

Si se cubren estos requisitos, los cálculos son entonces muy sencillos ya que la suma de todas las áreas corresponderá al 100% por lo que cada área será igual a un determinado por-- centaje.

La técnica denominada "Factor de respuesta", está basa da en que la respuesta de los componentes eluidos no es igual, esto es, si se inyectan dos componentes en la misma concentra ción, las áreas que produzcan no serán necesariamente iguales.

En el presente caso, donde se utilizó un detector de ionización de flama, lo anterior significa físicamente que un compuesto se ioniza más fácilmente que otro.

Es muy importante considerar lo anterior ya que se necesita introducir en los cálculos un factor que homologue la respuesta del detector. Este factor se conoce con el nombre de factor de respuesta y la manera de emplearlo es la siguiente:

$$\% X = \frac{f_x \cdot A_x}{f_i \cdot A_i} \cdot 100$$

donde:

% X = Porcentaje del compuesto

$f_x$  = Factor de respuesta del compuesto

$A_x$  = Area del pico correspondiente al compuesto

Los factores de respuesta para un gran número de compuestos se encuentran publicados en la literatura; sin embargo, no se pudieron encontrar los factores para todos los ésteres metílicos de ácidos grasos detectados, por lo que hubo que determinarlos en el laboratorio.

Se determinaron los factores de respuesta para 15 ésteres metílicos de ácidos grasos, tomando como unidad el área del mg. de estearato de metilo, encontrándose que los factores de respuesta de los otros ésteres metílicos de ácidos grasos están

muy cercanos a la unidad. De esta manera si las áreas no se co  
rrigen, el error es despreciable como se puede observar en la-  
Figura (5). Esto es lógico, ya que los ésteres metálicos de --  
ácidos grasos son químicamente muy similares, por lo que la va  
riación de su comportamiento en el detector es mínima.

F I G U R A 5

## FACTORES DE RESPUESTA

CAPROATO DE METILO -----	0.930
HEPTANOATO DE METILO -----	0.795
CAPRILATO DE METILO -----	0.969
PELARGONATO DE METILO -----	0.935
CAPRATO DE METILO -----	1.042
UNDECANOATO DE METILO -----	0.897
LAURATO DE METILO -----	0.997
MIRISTATO DE METILO -----	0.920
PALMITATO DE METILO -----	0.992
ESTEARATO DE METILO -----	1.000
ARAQUIDATO DE METILO -----	0.966
BEHENATO DE METILO -----	0.970
UNDECILINATO DE METILO -----	0.874
OLEATO DE METILO -----	1.090
LINOLEATO DE METILO -----	1.102

2 TECNICA PROPUESTA

## Material utilizado

- 1 matraz de fondo redondo de 100 ml 24/40 pyrex
- 1 matraz de fondo redondo de 25 ml 14/35 pyrex
- 1 termómetro
- 1 vaso de precipitados de 250 ml
- 1 vaso de precipitados de 100 ml
- 1 vaso de precipitados de 25 ml
- 1 embudo de separación de 60 ml
- 1 embudo de separación de 125 ml
- 1 rotavapor al vacío
- 1 parrilla
- 1 reóstato
- 1 Cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama
- 1 Registrador
- 1 Jeringa de 10  $\mu$ l

## HIDROLISIS:

En un matraz de fondo redondo de 25 ml se colocan 0.8g. de aceite y 3 ml. de potasa alcohólica al 20% y se calienta durante 20 min. a reflujo regulando que la temperatura no exceda de 60°C. Al irse formando las sales de los ácidos grasos se observa que las dos fases que se tenían inicialmente se -- convierten en una sola. Al terminar el tiempo de hidrólisis,-

el aceite saponificado se coloca en un embudo de separación de 125 ml. y se añaden 20 ml. de agua, lavando con esa misma cantidad de agua las paredes del matraz para eliminar completamente las sales de los ácidos. Se agita el matraz disolviendo los grumos de jabón que se forman y se le adicionan 10 ml. de hexano. De las dos fases formadas la superior será la orgánica, en donde se encuentra el glicerol y en la inferior o fase acuosa, se encuentran las sales de los ácidos grasos.

Para efectuar la separación de los ácidos grasos, la fase acuosa se pone en un matraz de 125 ml. y se le adiciona, gota a gota, ácido clorhídrico concentrado hasta un pH de 3. Los ácidos ya liberados se pasan a un embudo de separación de 125 ml. añadiéndoles 20 ml. de hexano y agitando repetidas veces; se deja en reposo hasta que las dos fases se hayan separado completamente y se descarta la fase acuosa. La porción de ácidos grasos -hexano se lava con dos porciones de 25 ml. de agua, para eliminar el ácido clorhídrico en exceso. La porción de hexano se seca con sulfato de sodio anhidro hasta que la disolución esté completamente cristalina, después de lo cual se filtra y se elimina el hexano en un rotavapor a vacío.

En todo el proceso de saponificación y liberación de los ácidos grasos se trató de evitar el uso de lubricantes en las uniones y llaves de embudos, matraces y refrigerantes uti

lizados, para evitar contaminaciones con otro tipo de grasas.

#### METILACION DE LOS ACIDOS GRASOS CON TRIFLUORURO DE BORO Y METANOL

Se colocan en un matraz de 25 ml los ácidos grasos proce dentes del aceite hidrolizado anteriormente, se les adiciona- 3 ml. de una solución de trifluoruro de boro - metanol al 15% en peso y dos o tres gotas de ácido sulfúrico concentrado. El ácido sulfúrico da a la solución un color blanquecino que de- saparece a medida que se van formando los ésteres metílicos, - apareciendo dos fases, ya que los ésteres son insolubles en - metanol. La reacción se puede llevar a efecto en un tubo de - ensayo con una duración de dos minutos, pero para tener una - metilación completa, se calienta a reflujo durante diez minu- tos. Después de este tiempo la solución se transfiere a un em budo de separación de 60 ml. y se le agregan siete ml. de he- xano el cual extrae los ésteres metílicos; se descarta la fa- se acuosa y la porción superior se seca en un vaso de precipi tados de 30 ml. con sulfato de sodio anhidro. Cuando la solu- ción está completamente cristalina se filtra.

#### ANALISIS CROMATOGRAFICO:

Los ésteres metílicos obtenidos de la metilación se dilu yen a un volumen de cinco ml. con hexano. A continuación se - toma un microlito de esta solución con una jeringa, teniendo- cuidado de que no queden burbujas dentro del cuerpo de la je-

ringa con el fin de no falsear el volúmen de la inyección y poder llevar a cabo las inyecciones lo más reproducible.

La solución se introduce al cromatógrafo por el inyector y simultáneamente se pone en operación el registrador marcando el punto donde se inyectó. La atenuación de la señal -- del detector se coloca en una posición relativamente sensible ( $1 \times 10^{-9}$  en el aparato empleado) y se observa la aparición de los picos, llevando a cabo pruebas para mantener los picos dentro del papel del graficador y aumentar el tamaño de los picos pequeños. Todo esto se logra variando la posición del atenuador. Se toman los datos de atenuación del cromatograma obtenido de la primera inyección para llevar a cabo los siguientes cromatogramas. Esto se puede observar claramente en la Figura (6), en donde se puede concluir que el primer cromatograma no sirve para un análisis cualitativo ni cuantitativo, aunque nos proporciona la información necesaria para poder -- llevar a cabo los demás cromatogramas.

Una vez obtenidos los datos de atenuación se efectúan cinco inyecciones de cada muestra y de los cromatogramas obtenidos se procede a identificar y cuantear los componentes de la siguiente manera:

Identificación. -- Se determinan los tiempos de retención ajustados y se comparan con los obtenidos en los estándares, -- con lo cual se obtiene una primera idea de cuáles son los éste

DETERMINACION DE LAS ATENUACIONES CORRECTAS

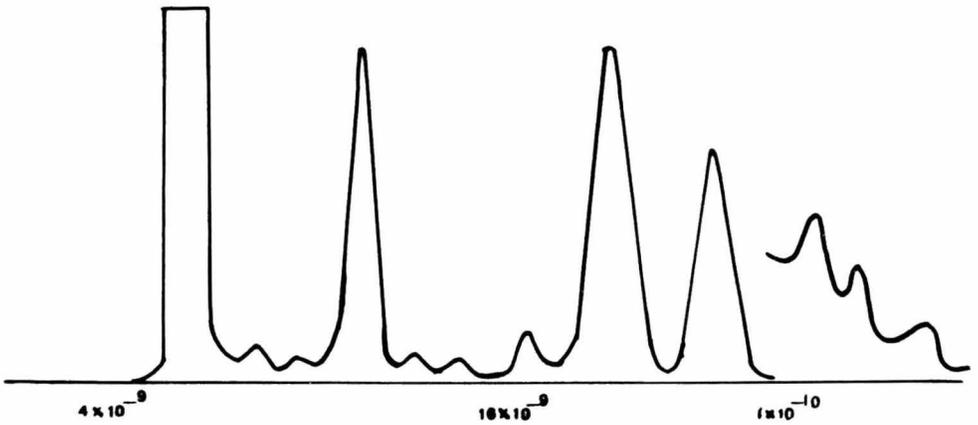
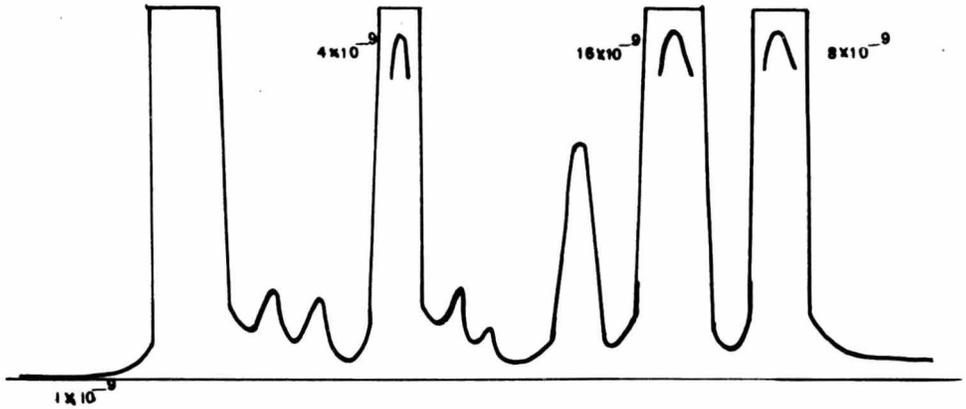


FIG. 6

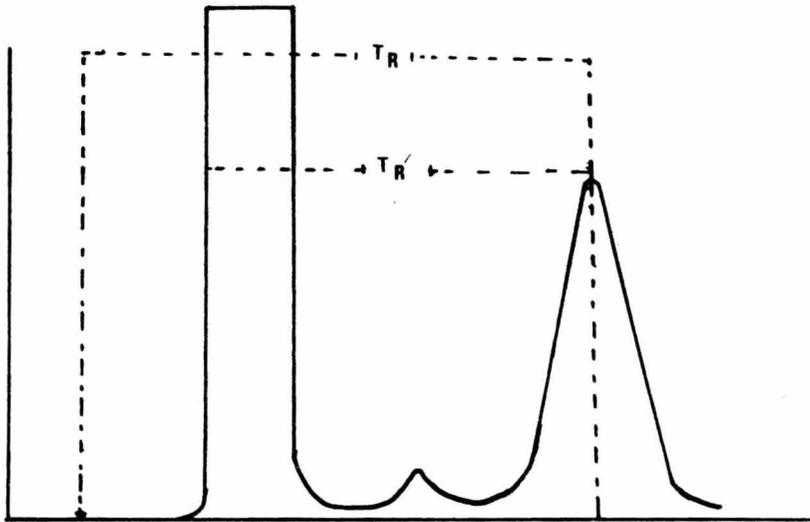
res metflicos de ácidos grasos que contiene la muestra. En la Figura (7) se muestra la forma de determinar el tiempo de retención ajustado.

Una vez que se tiene el primer indicio de cuáles son los componentes que puede contener la muestra, es necesario comprobar su presencia mediante otro método como el de adición de estándares, que consiste en agregar a la muestra problema una pequeña cantidad del compuesto supuestamente contenido en la muestra. De esta manera, se añade a la muestra de uno a cinco  $\mu$ l. de una solución estándar en concentración de 10 mg. por 10 ml. Si el compuesto adicionado se encontraba contenido en la muestra, se observará en el cromatograma el aumento de tamaño de uno de los picos, en caso contrario, se observará la aparición de un nuevo pico como se muestra gráficamente en la Figura (8). De esta forma todos los compuestos de la muestra pueden quedar positivamente identificados y se puede proceder a cuantearlos.

Con el fin de llevar a cabo el análisis cuantitativo se siguió el método de normalización interna midiendo las áreas mediante el método general (altura por la amplitud a la mitad de la altura), como se ilustra en el siguiente ejemplo:

De la Figura (9) se obtuvieron los siguientes datos:

MEDIDA DEL TIEMPO DE RETENCION Y  
TIEMPO DE RETENCION AJUSTADO



$T_R =$  TIEMPO DE RETENCION

$T'_R =$  TIEMPO DE RETENCION AJUSTADO

FIG. 7

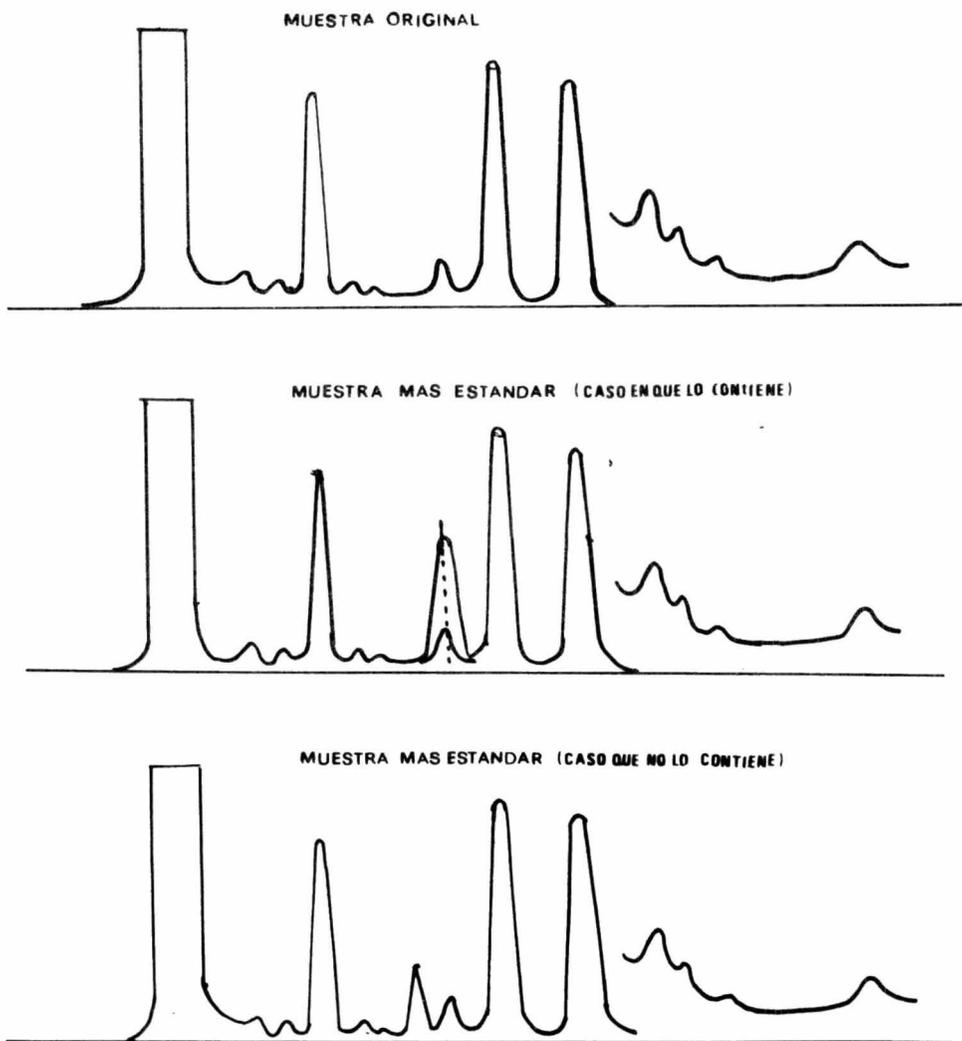


FIG. 8

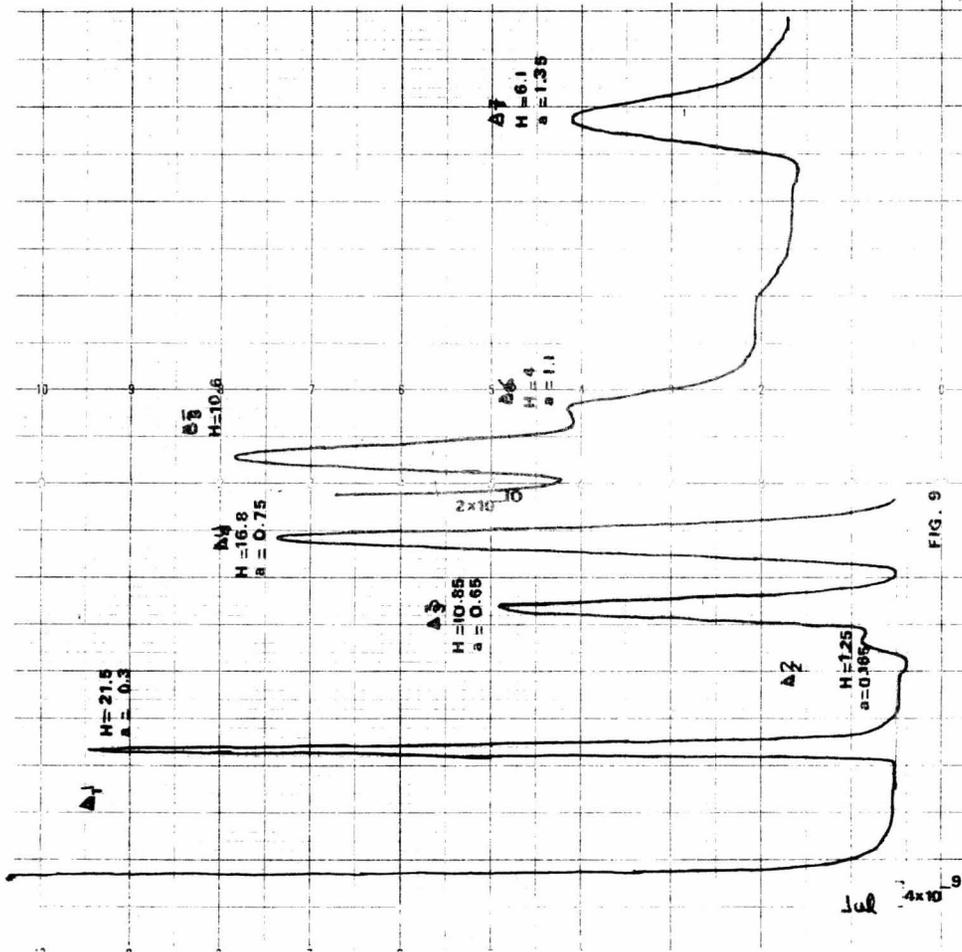


FIG. 9

Area del pico	Altura H	Amplitud a H/2	Atenuación	Factor de res puesta	Area
A <sub>1</sub>	=21.55 cm	x 0.3 cm	x 4x10 <sup>-9</sup>	x 1	= 258.60
A <sub>2</sub>	= 1.25	x 0.65	x16x10 <sup>-9</sup>	x 1	= 130.00
A <sub>3</sub>	=10.85	x 0.65	x16x10 <sup>-9</sup>	x 1	= 1128.40
A <sub>4</sub>	=16.80	x 0.75	x16x10 <sup>-9</sup>	x 1	= 2016.00
A <sub>5</sub>	=10.60	x 0.80	x 2x10 <sup>-10</sup>	x 1	= 16.96
A <sub>6</sub>	= 4.00	x 1.10	x 2x10 <sup>-10</sup>	x 1	= 8.80
A <sub>7</sub>	= 6.10	x 1.35	x 2x10 <sup>-10</sup>	x 1	= 16.47

Nota: Los valores de atenuación se consideraron como sigue:

$10^{-9} = 10$  y  $10^{-10} = 1$  con el objeto de simplificar los cálculos.

$$\text{Area total} = A_1 + A_2 + A_3 + A_4 + A_5 + A_6 + A_7 = 3575.23$$

Para obtener los porcentajes:

$$A_t \text{ -- } 100\%$$

$$A_m \text{ -- } x\% \quad x\% = \frac{A_m \times 100}{A_t}$$

donde: A<sub>t</sub> = Area total

A<sub>m</sub> = Area de cada pico

Así tenemos que:

$$\% A_1 = \frac{A_1 \times 100}{A_t} = \frac{258.60 \times 100}{3575.23} = 7.233 \%$$

$$\% A_2 = \frac{A_2 \times 100}{A_t} = \frac{130.00 \times 100}{3575.23} = 3.636 \%$$

$$\% A_3 = \frac{A_3 \times 100}{A_t} = \frac{1128.40 \times 100}{3575.23} = 31.561 \%$$

$$\% A_4 = \frac{A_4 \times 100}{A_t} = \frac{2016.00 \times 100}{3575.23} = 56.387 \%$$

$$\% A_5 = \frac{A_5 \times 100}{A_t} = \frac{15.16.96 \times 100}{3575.23} = 40.474 \%$$

$$\% A_6 = \frac{A_6 \times 100}{A_t} = \frac{8.80 \times 100}{3575.23} = 0.246 \%$$

$$\% A_7 = \frac{A_7 \times 100}{A_t} = \frac{16.16.47 \times 100}{3575.23} = 40.460 \%$$

Ahora bien, de la identificación se tiene que:

A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> = Palmitato de metilo	C <sub>16</sub> =	7.2 %
A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> = Estearato de metilo	C <sub>18</sub> =	3.6 %
A <sub>3</sub>	A <sub>3</sub> = Oleato de metilo	C <sub>18:1</sub> =	31.6 %
A <sub>4</sub>	A <sub>4</sub> = Linoleato de metilo	C <sub>18:2</sub> =	56.4 %
A <sub>5</sub>	A <sub>5</sub> = Araquidato de metilo	C <sub>20</sub> =	0.5 %
A <sub>6</sub>	A <sub>6</sub> = Linolenato de metilo	C <sub>18:3</sub>	0.2 %
A <sub>7</sub>	A <sub>7</sub> = Behenato de metilo	C <sub>22</sub> =	0.5 %

Como ya se indicó, con los 45 valores obtenidos de cada variedad de cada semilla, se obtuvieron los promedios de sus ácidos grasos como se muestra a continuación:

$$V_1 V_1^{(1)}(1) V_1 V_1^{(2)}(2) V_1 V_1^{(3)}(3) \dots$$

$$V_2 V_2^{(1)}(1) V_2 V_2^{(2)}(2) V_2 V_2^{(3)}(3) \dots$$

$$E_1 E_1 M_1 V_3 V_3^{(1)}(1) V_3 V_3^{(2)}(2) V_3 V_3^{(3)}(3) \dots P_1 = VP_1(1), VP_1(2), VP_1(3) \dots$$

$$V_4 V_4^{(1)}(1) V_4 V_4^{(2)}(2) V_4 V_4^{(3)}(3) \dots$$

$$V_5 V_5^{(1)}(1) V_5 V_5^{(2)}(2) V_5 V_5^{(3)}(3) \dots$$

$$\begin{array}{llll}
 & V_1 (1) & V_1 (2) & V_1 (3) \dots \\
 & V_2 (1) & V_2 (2) & V_2 (3) \dots \\
 E_1 M_2 & V_3 (1) & V_3 (2) & V_3 (3) \dots & P_2 = VP_2(1), VP_2(2), VP_2(3) \dots \\
 & V_4 (1) & V_4 (2) & V_4 (3) \dots \\
 & V_5 (1) & V_5 (2) & V_5 (3) \dots
 \end{array}$$

$$\begin{array}{llll}
 & V_1 (1) & V_1 (2) & V_1 (1) \dots \\
 & V_2 (1) & V_2 (2) & V_2 (1) \dots \\
 E_1 M_3 & V_3 (1) & V_3 (2) & V_3 (1) \dots & P_3 = VP_3(1), VP_3(2), VP_3(3) \dots \\
 & V_4 (1) & V_4 (2) & V_4 (1) \dots \\
 & V_5 (1) & V_5 (2) & V_5 (1) \dots
 \end{array}$$

Donde:

E = Extracción

M = Metilación

V = Valor en porcentaje (el número entre paréntesis es --  
el compuesto).

P = Promedio

VP = Promedio de los valores (el número entre paréntesis -  
es el compuesto).

Por lo que el valor promedio para cada extracción es:

$$PE_1 = \frac{P_1 + P_2 + P_3}{3} = \frac{VP_1(1) + VP_2(1) + VP_3(1), \quad VP_1(2) + VP_2(2) + VP_3(2),}{3} \\
 , VP_1(3) + VP_2(3) + VP_3(3), \dots$$

$$PE_1 = PE_1(1), PE_1(2), PE_1(3), \dots$$

Y lo mismo tendremos para cada extracción:

$$PE_2 = PE_2 (1), PE_2 (2), PE_2 (3), \dots$$

$$y \quad PE_3 = PE_3 (1), PE_3 (2), PE_3 (3), \dots$$

Por lo que el promedio de cada compuesto para la semilla será:

$$P_{\text{total}} = \frac{PE_1 + PE_2 + PE_3}{3} = \frac{PE_1 (1) + PE_2 (1) + PE_3 (1),}{3}$$

$$\frac{PE_1 (2) + PE_2 (2) + PE_3 (2),}{3}$$

$$\frac{PE_1 (3) + PE_2 (3) + PE_3 (3), \dots}{3}$$

Mediante este procedimiento se obtienen los valores promedio para cada componente en los aceites de las semillas.

### 3.- OBSERVACIONES EXPERIMENTALES.

#### a) EXTRACCION:

En la Figura (10) se describe el aparato utilizado en la extracción, el cual consiste en un matraz de 250 ml de boca 24/40, un soxhlet y el refrigerante.

La semilla se muele previamente y se colocan aproximadamente 40 g. de la misma en un papel filtro. El papel, en forma de cono se introduce en el soxhlet, se adicionan 250 ml de hexano y se somete a reflujo a 60°C durante nueve horas.

Una vez extraído el aceite, se filtra con papel filtro de poro cerrado para evitar la presencia de la harina de las semillas en el filtrado. Hay que tener especial cuidado de lavar bien el papel filtro con hexano, ya que gran parte del aceite se absorbe en él. Por último se elimina totalmente el hexano en un rotavapor al vacío.

#### b) PREPARACION DE LA COLUMNA.

Los pasos en la preparación de una columna cromatográfica son dos: primero, la preparación del empaque y segundo, el llenado de la columna.

Para preparar el empaque es necesario conocer la capacidad del tubo que se va a utilizar y la manera más práctica de conocerla es llenando una unidad de éste, digamos un metro con soporte, una vez que esta bien lleno, se vacía cuidadosa-

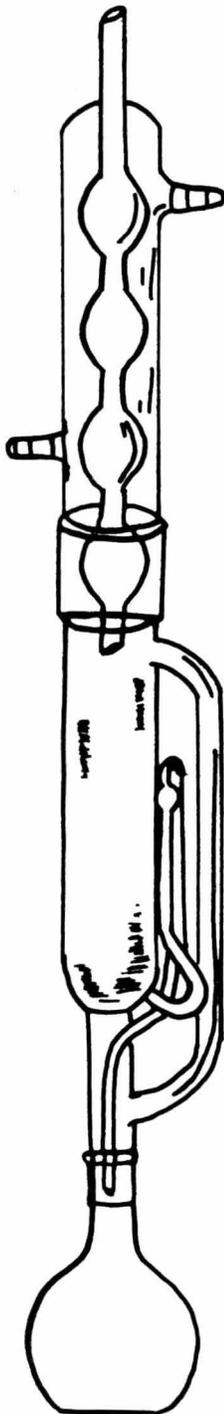


FIG. 10

mente y se pesa. Para tubo de acero inoxidable de 1/8" de diámetro exterior, éste valor oscila alrededor de 0.18 g/m. Mediante este dato se efectúan los cálculos necesarios para preparar la cantidad de empaque requerido. Considerando pérdidas durante la preparación y llenado, se consideró una capacidad de 2.4 g/m. De esta manera, para preparar una columna de 2 m. con un empaque al 15% de fase líquida se necesitan:

Cálculos:

Capacidad x largo del tubo = total (fase líquida soporte)

2.4 g/m x 2 m. = 4.8 g de empaque.

4.8 g --- 100 %

x g --- 15 % x = 0.72 g. de fase líquida

x' = 4.08 g. de soporte

Ahora bien, para conocer la cantidad de mililitros que se deben utilizar para disolver la fase líquida es necesario consultar las tablas existentes en la literatura para este propósito (22).

Para la fase DEGS con el soporte CHROMOSORB W-AW-HMDS se recomienda utilizar cloroformo y las cantidades que deben pesarse son:

4.8 g de empaque

0.72 g de fase líquida - DEGS

4.08 g de soporte - CHROMOSORB W-AW-HMDS

8.16 ml de disolvente - cloroformo

Una vez pesadas estas cantidades, se procede a preparar el empaque. Es conveniente pesar el soporte en un matraz de bola de 150 ml ya que en ese matraz se va a evaporar el disolvente, eliminando así los transvases. Las demás sustancias se pesan o miden por separado: la fase en un vaso de precipitados de 25 ml y el disolvente en una probeta de 10 ml.

Técnica.- La fase líquida se disuelve en la cantidad mínima posible de disolvente y se agrega al matraz de bola -- que contiene el soporte, procurando que el líquido no resbale por las paredes con el fin de evitar que se pierda la fase. - Después se lava el vaso de precipitados que contenía la fase líquida con pequeñas porciones de disolvente hasta agotar éste, agregando el disolvente de cada lavado al matraz de bola, procurando también que éste no toque las paredes del matraz.- Una vez que se ha pasado todo al matraz de bola, se coloca éste en un rotavapor para eliminar el disolvente y dejar que la fase líquida recubra homogéneamente las partículas de soporte. Este paso requiere de atención especial, ya que si el disolvente se elimina rápidamente, el soporte no quedará uniformemente recubierto. La evaporación del disolvente debe ser de preferencia lenta. Asimismo, se debe tener cuidado de que el giro del matraz sea el adecuado, ya que si éste gira demasiado rápido se corre el riesgo de romper las partículas y si su

giro es lento, el recubrimiento del soporte por la fase líquida no será homogéneo. Debe dejarse el empaque en el rotavapor hasta que se haya evaporado la totalidad del disolvente.

Antes de empezar con la segunda fase del proceso de -- preparación de la columna, es necesario tener preparado el tubo que se va a utilizar. Para preparar dicho tubo es necesario comenzar por cortar el tubo de la longitud necesaria y abocardar las puntas. Una vez llevado a cabo lo anterior es necesario lavar el tubo para eliminar la grasa y las rebabas del metal que queden dentro de él; esto se hace primero, pasando una solución de ácido clorhídrico al 10% por el tubo, -- aproximadamente de 50 a 75 ml y después, pasando de 100 a 150 ml de agua destilada por el mismo, con el objeto de eliminar el ácido que haya quedado dentro del tubo; finalmente se pasan de 75 a 100 ml de acetona para eliminar la grasa del tubo y se seca mediante una corriente de aire.

Una vez listos el tubo y el empaque, se procede a llenar el tubo con el empaque, esto se hace tapando un extremo del tubo con un pedazo de lana de vidrio silanizada y se conecta a una bomba de vacío; por el otro extremo, se adapta un embudo. Una vez llevado a cabo esto, se agregan pequeñas porciones de empaque y simultáneamente se vibra la columna a todo lo largo para hacer que el empaque baje y de esta manera se vaya llenando el tubo. Esta operación se repite hasta que-

se observa que ya no entra más empaque en el tubo, en ese momento se deja de agregar el empaque y se vibra la columna por unos 5 minutos más. Si el nivel de empaque ha bajado, se agrega un poco más de empaque y se vuelve a vibrar. Esto se repite hasta tener la seguridad de que la columna está completamente llena. Una vez llena la columna, se desconecta del vacío, se le quita el embudo y ese mismo extremo se tapa con la lana de vidrio silanizada. Se colocan las tuercas y ferrules necesarios, así como una etiqueta indicando las características de la columna. Una vez lista esta columna, se dobla del tamaño y la forma que requiera el equipo que se va a utilizar.

c) Determinación de factores de respuesta.

Para estas determinaciones es necesario tomar como unidad el factor de respuesta de algún compuesto estándar, generalmente se toma el benceno. Posteriormente se pesan cantidades iguales del compuesto de referencia y del compuesto del cual se quiere determinar su factor, se inyectan, se obtiene el cromatograma y se integran las áreas. Los cálculos son los siguientes:

$$C_a = C_b$$

$$f_a \cdot A_a = F_b \cdot A_b$$

$$F_b = \frac{F_a \cdot A_a}{A_b} = \frac{1 \cdot A_a}{A_b}$$

siendo:

$C_a$  = concentración de a en peso.

$C_b$  = concentración de b en peso.

$f_a$  = factor de respuesta de a

$f_b$  = factor de respuesta de b

$A_a$  = área de a

$A_b$  = área de b

Esto se efectúa para cada componente del cromatograma.

Una vez que se conocen los factores de respuesta de to dos los componentes, es necesario introducir este factor de - corrección en los cálculos, como se describió anteriormente.- En este estudio se empleó como referencia, es decir, como fac tor de respuesta igual a la unidad el estearato de metilo, de bido a que el benceno interfería con algunos de los componen- tes del cromatograma.

VI.- RESULTADOS

Los resultados obtenidos con las semillas de cártamo, ajonjolí, girasol, algodón y soya siguiendo la técnica descrita se informan en la tabla I.

En la tabla II se observan los resultados obtenidos al mezclar diversos aceites. Como se podrá observar, los valores obtenidos con la técnica desarrollada coinciden notablemente con los valores teóricos calculados a partir de las composiciones obtenidas experimentalmente con cada uno de los aceites.

En la tabla III se encuentran los análisis llevados a cabo con distintos aceites comerciales. Como era de esperarse, dada la disimilitud de los procesos de extracción y refinación empleados en la industria, los valores no presentan la coincidencia anterior. Por este motivo no aparecen en la tabla.

Si la técnica en cuestión llegase algún día a ser la base para estudios de normalización básica o de controles de calidad, los procesos de manufactura comerciales tendrán que ser repetidos con la mayor fidelidad posible al seguir el método analítico desarrollado en este estudio.

En teoría si se cuenta con la técnica adecuada para detectar los distintos ácidos grasos provenientes de los aceites comestibles, se podrá conocer su concentración rela-

tiva. Así mismo si se parte del concepto que como en todo producto natural, estas relaciones tendrán variaciones, se tendrá por fuerza que conocer la magnitud de estas variaciones experimentando con muestras de distintas zonas geográficas, temporadas, tipo de proceso para su extracción, etc.

Como se indicó anteriormente, este trabajo tiene por objeto proponer una técnica para llevar a cabo el estudio correspondiente para conocer las variaciones posibles así como los límites de las mismas.

Ante la imposibilidad de poder trabajar con muestras comerciales auténticas, se trabajó con semillas proporcionadas oficialmente por la Productora Nacional Agrícola.

También es posible por el método propuesto a continuación conocer las adulteraciones y contaminaciones frecuentes en este tipo de productos.

Diferenciar entre un aceite vegetal y animal, es poco problemático ya que su composición química es diferente: los aceites de origen animal tienen un considerable contenido de ácidos grasos cáprico y caprónico, mientras que los de origen vegetal, presentan un alto contenido de ácidos oleico y linoléico.

Una vez que se ha establecido su fuente, se presenta el problema de identificar el tipo de aceite, por ejemplo, -

diferenciar un aceite de cártamo de un aceite de ajonjolí ya que ambos son de origen vegetal. Estas diferencias más que - cualitativas son cuantitativas, así podemos ver que el aceite de cártamo tiene un gran contenido de ácidos insaturados- (linoléico) mientras que en el de ajonjolí predominan los sa turados tanto como los insaturados. Así mismo de las diferentes variedades analizadas, la única que llega a tener  $C_{14}$  en una cantidad apreciable es el algodón, por lo que, si con éste se adulterara cualquier otro aceite la identificación sería obvia, al analizar la mezcla y ver que aparece el pico - del mirístico (  $C_{14}$  ).

Para cualquier aceite una vez obtenidos los resultados numéricos, se puede checar si coinciden estos valores -- con los obtenidos para el aceite puro ( con un márgen de tolerancia del 5% que es lo que considera la Secretaría de Industria y Comercio como contaminación y no como adulteración). En el caso de que los valores numéricos no coincidan, se supone que existe una adulteración.

Conociendo los ácidos grasos presentes así como su - concentración relativa se puede llevar a cabo un desarrollo- matemático que nos permita obtener las fracciones de los aceites adulterantes utilizando "n" ecuaciones con "n-1" datos de los porcentos de sus componentes en el aceite puro, además - de los datos de la mezcla que se quiera analizar.

Suponiendo que A, B, C, ..., N son aceites puros, a, b,

c, ..., n-1 son los componentes de cada aceite, tenemos:

$$A + B + C + D + \dots + N = 1$$

$$Aa + Ba + Ca + Da + \dots + Na = a_{\text{mezcla}}$$

$$Ab + Bb + Cb + Db + \dots + Nb = b_{\text{mezcla}}$$

$$Ac + Bc + Cc + Dc + \dots + Nc = c_{\text{mezcla}}$$

$$Ad + Bd + Cd + Dd + \dots + Nd = d_{\text{mezcla}}$$

hasta:

$$An-1 + Bn-1 + Cn-1 + Dn-1 + \dots + Nn-1 = n-1_{\text{mezcla}}$$

que es un sistema de "n" ecuaciones con "N" incógnitas que se puede resolver por medio de determinantes.

Para ilustrar esta técnica se escogió una mezcla de -- tres aceites que se inyectó al cromatógrafo. Los datos de los componentes de los aceites puros, son los siguientes:

Aceite	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>
A = Ajonjolí	44.425	39.779
C = Cártamo	12.991	77.202
G = Girasol	35.806	50.882
Mezcla	32.257	54.687

Donde la mezcla escogida fué: 50% Girasol, 25% Ajonjolí y 25% Cártamo.

Las ecuaciones son:

$$A + C + G = 1$$

$$39.779A + 77.202C + 50.882G = 54.687$$

$$44.425A + 12.991C + 35.806G = 32.257$$

Donde "A" es igual a"

$$A = \frac{\begin{vmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 54.687 & 77.202 & 50.882 \\ 32.257 & 12.991 & 35.806 \end{vmatrix}}{\text{DIVISOR}} = 0.250586$$

"C" es igual a:

$$C = \frac{\begin{vmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 39.779 & 54.687 & 50.882 \\ 44.425 & 32.257 & 35.806 \end{vmatrix}}{\text{DIVISOR}} = 0.250207$$

y "G" es igual a:

$$G = \frac{\begin{vmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 39.779 & 77.202 & 54.687 \\ 44.425 & 12.991 & 32.257 \end{vmatrix}}{\text{DIVISOR}} = 0.499773$$

Donde "DIVISOR" está dado por:

$$\text{DIVISOR} = \begin{vmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 39.779 & 77.202 & 50.882 \\ 44.425 & 12.991 & 35.806 \end{vmatrix}$$

T A B L A I

ESTERES METILICOS DE LOS ACIDOS GRASOS OBTENIDOS DE LAS SEMILLAS ESTUDIADAS

	C <sub>14</sub>	C <sub>14'1</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>16'1</sub>	C <sub>16'2</sub>	C <sub>17</sub>	C <sub>17'1</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18'1</sub>	C <sub>18'2</sub>	C <sub>18'3</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>20'1</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>22'1</sub>	C <sub>24</sub>
GIRASOL VMLNK	tz	---	7.429	tz	---	tz	---	4.143	36.076	51.039	0.208	0.257	---	0.839	---	---
GIRASOL PEREDOVIK	tz	---	8.13	tz	---	tz	---	3.805	35.413	51.381	0.21	0.26	---	0.79	---	---
GIRASOL KRASNODAREST	tz	---	7.42	tz	---	tz	---	4.856	35.931	50.228	0.169	0.355	---	1.039	---	---
CARTAMO GILA	tz	---	6.833	tz	---	tz	---	2.312	12.991	77.202	0.179	0.246	---	0.23	---	---
AJONJOLI INSTITUTO 71	tz	---	9.709	---	---	---	---	5.746	41.117	42.617	0.029	0.029	---	tz	---	---
AJONJOLI INSTITUTO 15	tz	---	8.72	tz	---	tz	---	6.615	47.122	36.569	0.027	0.875	---	0.109	---	---
AJONJOLI CIANO	tz	---	9.059	---	---	tz	---	4.907	45.037	40.151	0.042	0.747	---	0.139	---	---
SOYA	tz	---	10.938	tz	---	tz	---	2.461	28.107	52.754	tz	5.739	---	tz	---	---
ALGODON	0.907	---	24.808	tz	---	---	---	2.252	18.532	52.896	0.176	0.467	---	tz	---	---

T A B L A   I I

ESTERES METILICOS DE ACIDOS GRASOS OBTENIDOS DE MEZCLAR DISTINTOS ACEITES .

	C <sub>14</sub>	C <sub>14'1</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>16'1</sub>	C <sub>16'2</sub>	C <sub>17</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18'1</sub>	C <sub>18'2</sub>	C <sub>18'3</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>20'1</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>22'1</sub>	C <sub>24</sub>	N.I.
G 90% C 10% (c)			7.576				4.012	33.525	53.515	0.194	0.286			0.823		
(o)			7.49				4.001	33.500	54.000	0.158	0.247			0.810		
G 80% C 20%			7.494				3.823	31.243	56.147	0.193	0.282			0.757		
			7.500				3.815	31.125	56.205	0.201	0.280			0.790		
G 70% C 30%			7.411				3.634	28.962	58.779	0.191	0.278			0.691		
			7.42				3.622	29.100	58.781	0.203	0.292			0.790		
G 60% C 40%			7.329				3.445	26.680	61.411	0.189	0.273			0.625		
			7.299				3.344	26.750	61.402	0.198	0.279			0.673		
G 50% C 50%			7.246				3.257	24.399	64.043	0.188	0.268			0.560		
			7.250				3.260	24.402	64.113	0.202	0.278			0.690		
G 90 A 10			7.809				4.357	36.668	49.773	0.180	0.342			0.808		
			7.858				4.368	36.672	49.785	0.189	0.392			0.812		
G 80 A 20			7.959				4.512	37.530	48.662	0.163	0.393			0.728		
			7.961				4.622	37.552	48.762	0.206	0.399			0.735		
G 70 A 30			8.109				4.668	38.392	47.552	0.147	0.444			0.647		
			8.112				4.677	38.381	47.566	0.244	0.490			0.657		
G 60 A 40			8.259				4.823	39.254	46.441	0.131	0.495			0.567		
			8.247				4.810	39.260	46.453	0.203	0.503			0.599		
G 50 A 50			8.409				4.979	40.116	45.331	0.115	0.547			0.486		
			8.412				4.945	40.122	45.404	0.125	0.582			0.490		
G 90 S 10			7.987				4.027	35.036	51.071	0.176	0.836			0.800		
			7.977				4.116	35.040	51.121	0.186	0.837			0.879		
G 80 S 20			8.315				3.853	34.266	51.257	0.157	1.381			0.711		
			8.325				3.845	34.261	51.322	0.165	1.392			0.703		
G 70 S 30			8.643				3.679	33.496	51.444	0.137	1.925			0.622		
			8.650				3.599	33.502	51.501	0.143	1.939			0.645		
G 60 S 40			8.971				3.505	32.726	51.631	0.118	2.470			0.533		
			8.991				3.603	32.903	51.690	0.173	2.507			0.539		
G 50 S 50			9.299				3.331	31.957	51.819	0.098	3.015			0.445		
			9.355				3.400	31.960	51.820	0.105	3.116			0.450		

T A B L A II (continúa)

		C <sub>14</sub>	C <sub>14'</sub> 1	C <sub>16</sub>	C <sub>16'</sub> 1	C <sub>16'</sub> 2	C <sub>17</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18'</sub> 1	C <sub>18'</sub> 2	C <sub>18'</sub> 3	C <sub>20</sub>	C <sub>20'</sub> 1	C <sub>22</sub>	C <sub>22'</sub> 1	C <sub>24</sub>	N.I.
G	90	A1	10	(c) 0.091		9.374		4.006	34.079	51.084	0.194	0.309		0.800			
				(o) 0.101		9.385		4.019	34.092	51.094	0.202	0.339		0.828			
G	80	A1	20	0.181		11.089		3.811	32.351	51.286	0.192	0.326		0.711			
				0.178		11.185		3.820	32.345	51.305	0.206	0.403		0.798			
G	70	A1	30	0.272		12.804		3.616	30.624	51.487	0.190	0.344		0.622			
				0.260		12.832		3.607	30.629	51.490	0.199	0.329		0.599			
G	60	A1	40	0.363		14.519		3.421	28.896	51.688	0.188	0.361		0.533			
				0.372		14.532		3.429	28.899	51.690	0.192	0.372		0.537			
G	50	A1	50	0.454		16.234		3.226	27.169	51.89	0.186	0.379		0.445			
				0.500		16.237		3.230	27.173	51.92	0.192	0.387		0.447			
C	90	A	10			7.066		2.656	16.134	73.460	0.164	0.302		0.215			
						7.073		2.659	16.139	73.500	0.171	0.322		0.220			
C	80	A	20			7.298		3.001	19.278	69.717	0.150	0.357		0.201			
						7.301		3.009	19.282	69.800	0.162	0.372		0.207			
C	70	A	30			7.531		3.345	22.421	65.975	0.135	0.413		0.186			
						7.539		3.350	22.430	65.980	0.142	0.423		0.190			
C	60	A	40			7.763		3.690	25.565	62.233	0.121	0.468		0.171			
						7.769		3.695	25.570	62.231	0.135	0.472		0.182			
C	50	A	50			7.996		4.034	28.708	58.490	0.106	0.524		0.157			
						7.990		4.042	28.713	58.492	0.117	0.537		0.159			
C	90	G	10			6.916		2.501	15.273	74.570	0.181	0.251		0.296			
						6.922		2.505	15.280	74.575	0.191	0.293		0.283			
C	80	G	20			6.998		2.690	17.554	71.938	0.182	0.255		0.362			
						6.991		2.692	17.565	71.942	0.189	0.235		0.370			
C	70	G	30			7.081		2.879	19.836	69.306	0.184	0.260		0.428			
						7.121		2.813	19.876	69.299	0.174	0.220		0.409			
C	60	G	40			7.163		3.068	22.117	66.674	0.186	0.264		0.494			
						7.179		3.102	22.137	66.690	0.207	0.286		0.490			
C	50	G	50			7.246		3.257	24.399	64.043	0.188	0.268		0.560			
						7.252		3.277	24.403	64.073	0.198	0.270		0.592			

T A B L A II (continúa)

				C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>16'1</sub>	C <sub>16'2</sub>	C <sub>17</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18'1</sub>	C <sub>18'2</sub>	C <sub>18.3</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>20'1</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>22'1</sub>	C <sub>24</sub>	N.I.
C	90	S	10 (c)		7.244				2.327	14.503	74.757	0.161	0.795		0.207			
			(o)		7.262				2.329	14.533	74.787	0.171	0.765		0.218			
C	80	S	20		7.654				2.342	16.014	72.312	0.143	1.345		0.184			
					7.603				2.302	16.102	72.219	0.104	1.310		0.154			
C	70	S	30		8.065				2.357	17.526	69.868	0.125	1.895		0.161			
					8.043				2.316	17.501	69.818	0.105	1.875		0.122			
C	60	S	40		8.475				2.372	19.037	67.423	0.107	2.443		0.138			
					8.495				2.362	19.017	67.403	0.127	2.473		0.143			
C	50	S	50		8.886				2.387	20.549	64.978	0.090	2.992		0.115			
					8.890				2.393	20.573	64.990	0.093	2.991		0.117			
C	90	A1	10	0.091	8.631				2.306	13.545	74.771	0.179	0.268		0.207			
				0.087	8.632				2.310	13.548	74.791	0.182	0.270		0.217			
C	80	A1	20	0.181	10.428				2.300	14.099	71.341	0.178	0.290		0.184			
				0.201	10.439				2.310	14.103	71.391	0.192	0.292		0.188			
C	70	A1	30	0.272	12.226				2.294	14.653	69.910	0.178	0.312		0.161			
				0.300	12.272				2.296	14.657	69.915	0.170	0.307		0.141			
C	60	A1	40	0.363	14.023				2.288	15.207	67.480	0.178	0.334		0.138			
				0.342	14.039				2.292	15.217	67.492	0.192	0.374		0.142			
C	50	A1	50	0.454	15.820				2.282	15.762	65.049	0.177	0.357		0.115			
				0.421	15.932				2.292	15.780	65.073	0.197	0.392		0.119			
A	90	G	10		9.009				5.601	43.563	40.889	0.049	0.751		0.164			
					9.017				5.609	43.572	40.893	0.053	0.759		0.171			
A	80	G	20		8.859				5.445	42.701	47.000	0.066	0.700		0.244			
					8.910				5.502	42.699	47.025	0.059	0.655		0.223			
A	70	G	30		8.709				5.290	41.839	43.110	0.082	0.649		0.325			
					8.750				5.305	41.727	43.128	0.075	0.750		0.272			
A	60	G	40		8.559				5.139	40.977	44.221	0.098	0.598		0.405			
					8.600				5.129	41.021	44.175	0.089	0.601		0.398			
A	50	G	50		8.409				4.979	40.116	45.331	0.115	0.547		0.486			
					8.398				4.899	40.047	45.299	0.178	0.565		0.405			
A	90	C	10		8.976				5.412	41.782	43.521	0.048	0.746		0.098			
					8.950				5.401	41.805	43.600	0.052	0.731		0.075			

T A B L A II (continúa)

				C <sub>14</sub>	C <sub>14'1</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>16'1</sub>	C <sub>16'2</sub>	C <sub>17</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18'1</sub>	C <sub>18'2</sub>	C <sub>18'3</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>20'1</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>22'1</sub>	C <sub>24</sub>	N.I.
A	80	C	20 (c)			8.694				5.067	38.138	47.264	0.062	0.691					0.244
			(o)			8.702				5.120	38.125	47.198	0.071	0.702					0.105
A	70	C	30			8.461				4.723	34.995	51.006	0.077	0.635					0.127
						8.450				4.657	35.001	51.072	0.086	0.701					0.119
A	60	C	40			8.229				4.378	31.851	54.748	0.091	0.580					0.142
						8.301				4.243	31.842	54.765	0.101	0.650					0.170
A	50	C	50			7.996				4.034	28.708	58.490	0.106	0.524					0.157
						8.021				4.125	28.699	58.497	0.117	0.532					0.170
A	90	S	10	0.816		23.421				2.273	19.490	52.882	0.158	0.994					0.000
				0.901		23.501				2.305	19.501	52.892	0.173	0.963					0.007
A	80	S	20	0.726		22.034				2.294	20.447	52.868	0.141	1.521					0.000
				0.697		22.021				2.302	20.435	52.892	0.171	1.632					0.003
A	70	S	30	0.635		20.647				2.315	21.405	52.853	0.123	2.049					0.000
				0.597		20.521				2.299	21.398	52.872	0.143	2.039					0.020
A	60	S	40	0.544		19.260				2.336	22.362	52.839	0.106	2.576					0.000
				0.602		19.195				2.287	22.299	52.879	0.116	2.526					0.022
A	50	S	50	0.454		17.873				2.356	23.320	52.825	0.088	3.103					0.000
				0.460		17.965				2.402	23.450	52.875	0.043	3.079					0.093
A	90	A1	10	0.091		10.724				5.406	41.836	41.091	0.047	0.769					0.075
				0.102		10.726				5.603	41.932	41.121	0.103	0.703					0.179
A	80	A1	20	0.181		12.289				5.055	39.246	42.402	0.062	0.735					0.066
				0.203		12.309				5.073	39.372	42.473	0.012	0.722					0.010
A	70	A1	30	0.272		13.854				4.705	36.657	43.714	0.076	0.702					0.058
				0.292		13.842				4.707	36.602	43.707	0.122	0.603					0.128
A	60	A1	40	0.363		15.419				4.354	34.068	45.026	0.090	0.668					0.050
				0.390		15.427				4.329	34.122	45.122	0.123	0.722					0.102
A	50	A1	50	0.454		16.984				4.004	31.478	46.338	0.104	0.635					0.042
				0.472		16.972				4.122	31.473	46.332	0.122	0.639					0.052
S	90	G	10			10.610				2.635	28.877	52.567	0.020	5.194					0.089
						10.720				2.670	28.892	52.572	0.032	5.222					0.120
S	80	G	20			10.282				2.809	29.647	52.380	0.039	4.649					0.178
						10.263				2.819	29.657	52.383	0.070	4.637					0.137

T A B L A II (continúa)

				C <sub>14</sub>	C <sub>14'1</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>16'1</sub>	C <sub>16'2</sub>	C <sub>17</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18'1</sub>	C <sub>18'2</sub>	C <sub>18'3</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>20'1</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>22'1</sub>	C <sub>24</sub>	N.I.
S	70	G	30 (c)			9.954				2.983	30.417	52.193	0.059	4.105					0.267
			(o)			9.926				2.976	30.429	52.172	0.063	4.172					0.219
S	60	G	40			9.626				3.157	31.187	52.006	0.078	3.560					0.356
						9.639				3.163	31.143	52.106	0.037	3.422					0.236
S	50	G	50			9.299				3.331	31.957	51.819	0.098	3.015					0.445
						9.307				3.323	31.793	51.827	0.092	3.007					0.493
S	90	C	10			10.527				2.446	26.595	55.199	0.018	5.190					0.023
						10.506				2.476	26.540	55.103	0.017	5.107					0.016
S	80	C	20			10.117				2.431	25.084	57.644	0.036	4.640					0.046
						10.129				2.422	25.022	57.602	0.132	4.603					0.006
S	70	C	30			9.707				2.416	23.572	60.088	0.054	4.091					0.069
						9.799				2.403	23.522	60.022	0.017	4.076					0.023
S	60	C	40			9.296				2.401	22.061	62.533	0.072	3.542					0.092
						9.307				2.423	22.123	62.522	0.043	3.427					0.082
S	50	C	50			8.886				2.387	20.549	64.978	0.090	2.992					0.115
						8.907				2.126	20.432	64.907	0.088	2.966					0.107

T A B L A III

ESTERES METILICOS DE LOS ACIDOS GRASOS OBTENIDOS DE ACEITES COMERCIALES

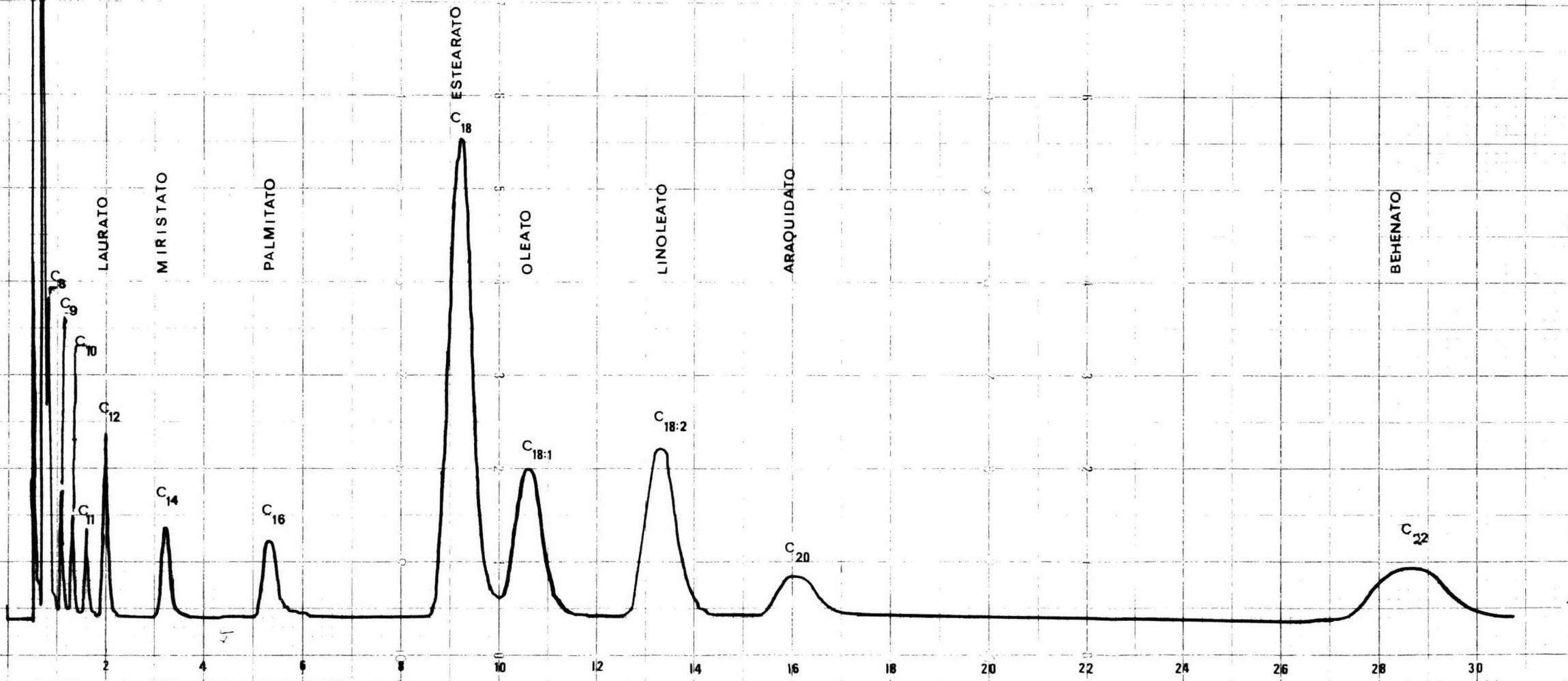
TIPO	C <sub>14</sub>	C <sub>15</sub> '1	C <sub>16</sub>	C <sub>16</sub> '1	C <sub>16</sub> '2	C <sub>17</sub>	C <sub>17</sub> '1	C <sub>18</sub>	C <sub>18</sub> '1	C <sub>18</sub> '2	C <sub>18</sub> '3	C <sub>20</sub>	C <sub>20</sub> '1	C <sub>22</sub>	C <sub>22</sub> '1	C <sub>24</sub>	N.I.
AJONJOLI	tz	---	11.169	tz	---	---	---	4.563	33.532	48.481	tz	2.248	---	tz	---	---	
AJONJOLI	tz	---	11.563	tz	---	---	---	3.943	21.614	55.492	tz	7.188	---	tz	---	---	
AJONJOLI	tz	---	8.827	tz	---	---	---	5.777	38.503	45.417	0.268	1.202	---	---	---	---	
AJONJOLI	tz	---	9.482	tz	---	---	---	4.808	37.853	50.316	0.325	2.12	---	0.148	---	---	
CARTAMO	tz	---	7.316	tz	---	---	---	3.016	15.280	73.209	0.289	0.595	---	0.229	---	---	
CARTAMO	tz	---	7.724	tz	---	---	---	2.958	17.973	54.43	2.271	5.018	---	9.619	---	---	
CARTAMO	tz	---	8.495	tz	---	---	---	2.824	19.899	61.782	0.878	3.411	---	2.705	---	---	
CARTAMO	---	---	7.106	tz	---	---	---	2.975	17.002	71.807	0.316	0.657	---	0.133	---	---	
CARTAMO	tz	---	7.472	tz	---	---	---	2.767	14.065	74.812	0.255	0.453	---	0.169	---	---	
CARTAMO	tz	---	15.42	---	---	---	---	2.94	35.593	44.363	0.336	1.337	---	---	---	---	
CARTAMO	tz	---	13.388	tz	---	---	---	3.301	22.259	56.516	tz	4.532	---	---	---	---	
CARTAMO	tz	---	8.707	tz	---	---	---	2.538	13.947	74.113	0.183	0.506	---	---	---	---	
CARTAMO	tz	---	9.918	tz	---	---	---	4.118	17.764	68.231	0.222	1.78	---	0.288	---	---	
CARTAMO	tz	---	9.766	---	---	---	---	4.435	30.459	53.371	tz	1.966	---	---	---	---	
CARTAMO	tz	---	7.671	tz	---	---	---	3.086	15.184	73.054	0.229	0.497	---	0.273	---	---	
CARTAMO HIDROGENADO	tz	---	10.972	tz	---	---	---	4.113	23.188	54.112	tz	7.611	---	---	---	---	
GIRASOL	tz	---	7.236	tz	---	---	---	7.207	19.565	63.716	0.254	0.768	---	0.847	---	---	0.4

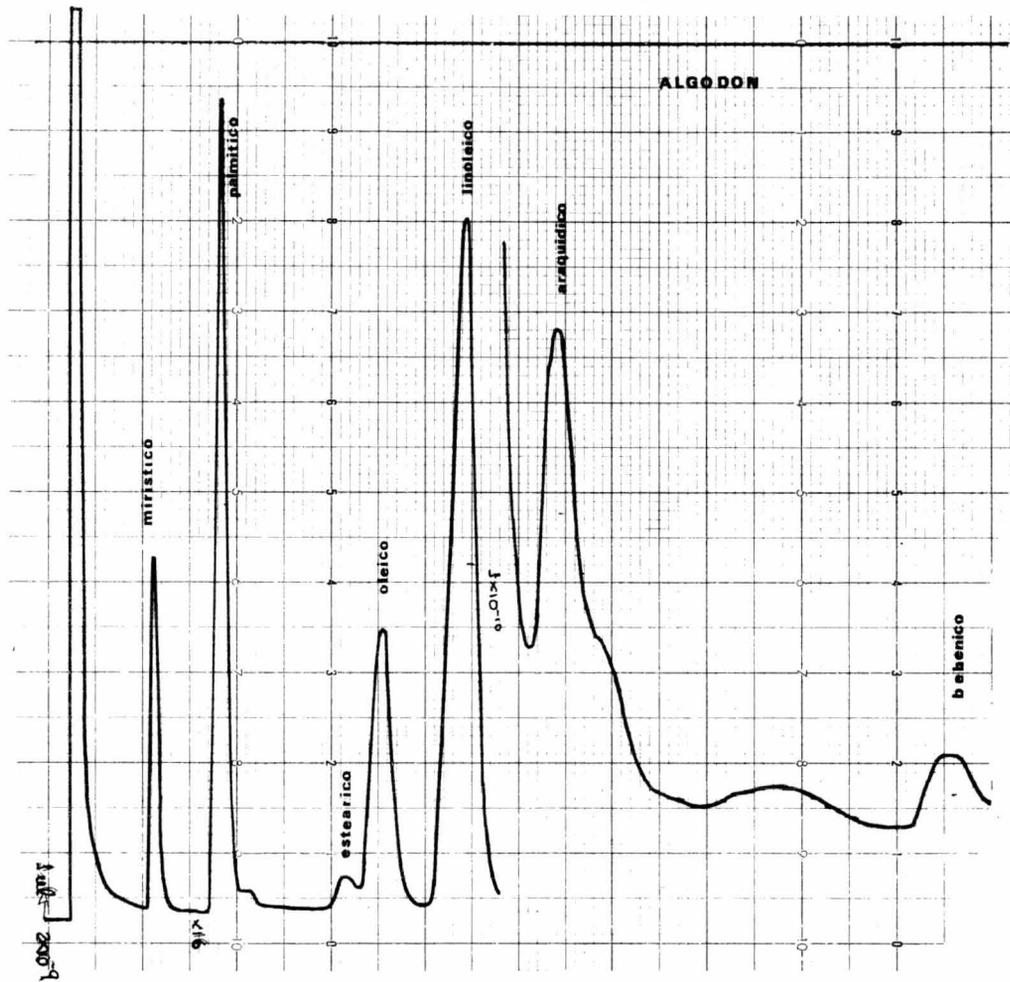
### MEZCLA DE ESTANDARES

#### CONDICIONES

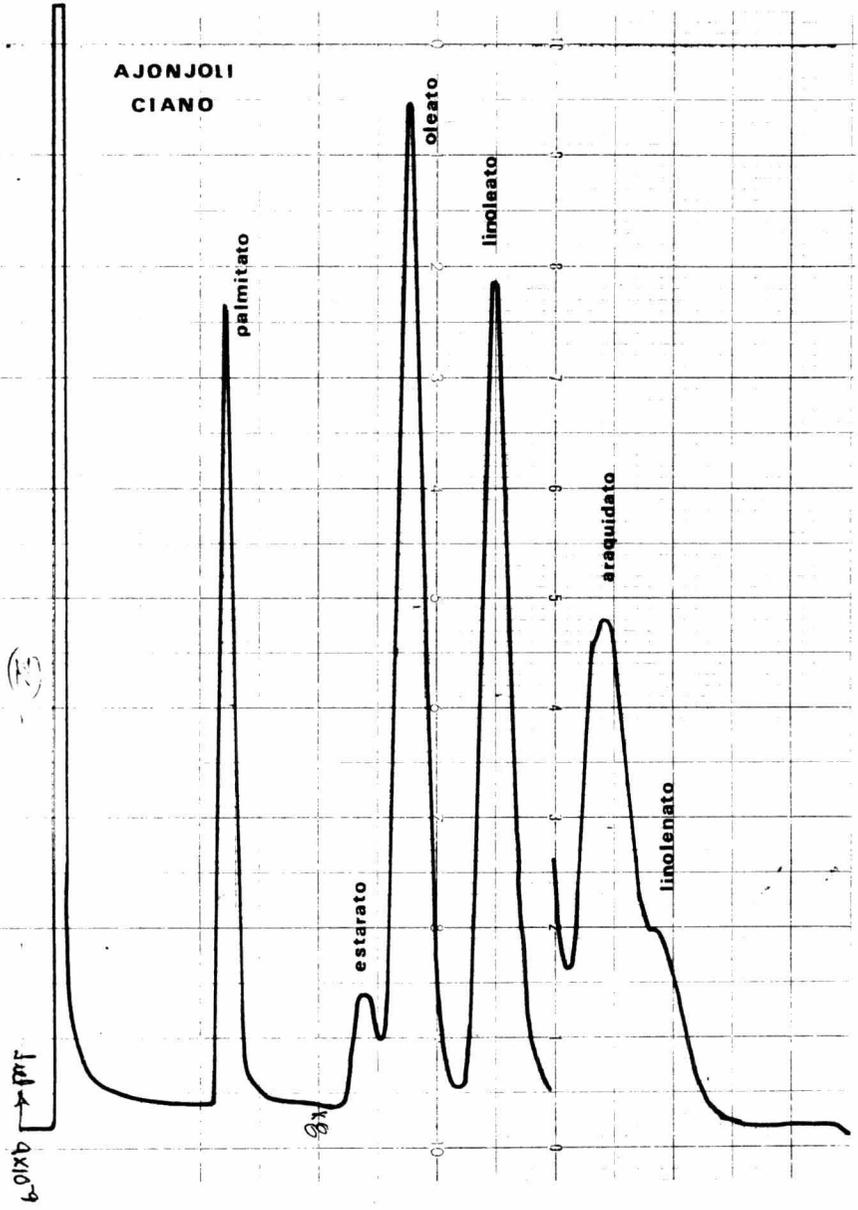
COLUMNA 15 % DEGS CHROM. WAW HMDS  
6 ft. 1/8" acero inoxidable

TEMPERATURAS Columna 190°C  
Detector 210°C  
Inyector 250°C



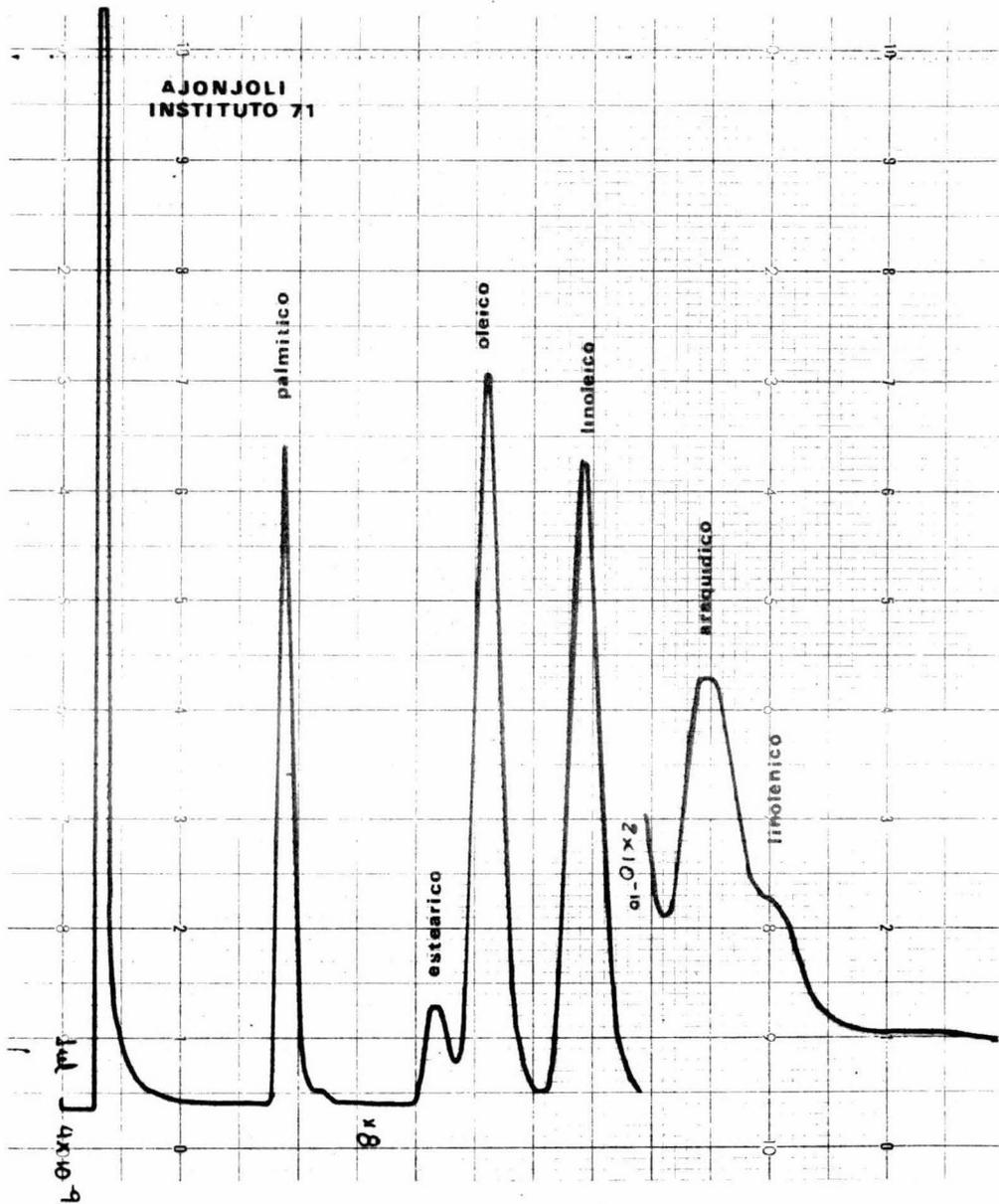


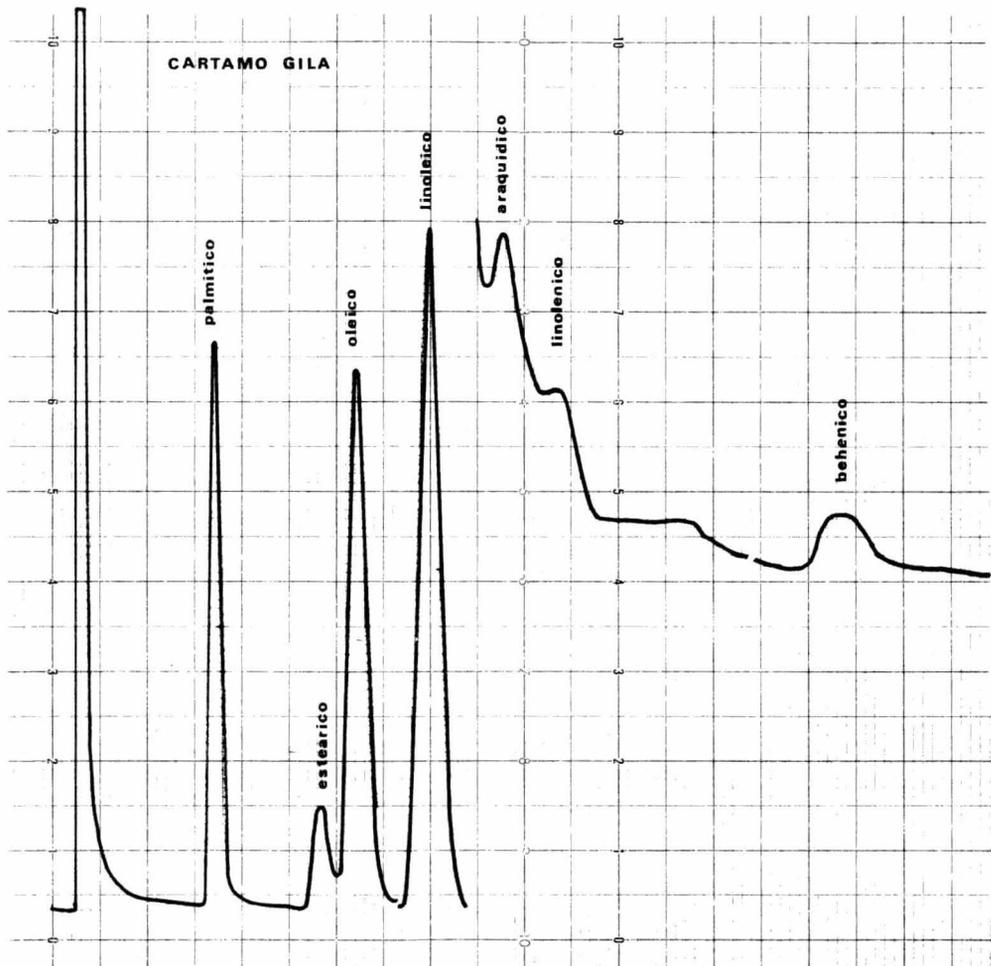
AJONJOLI  
CIANO

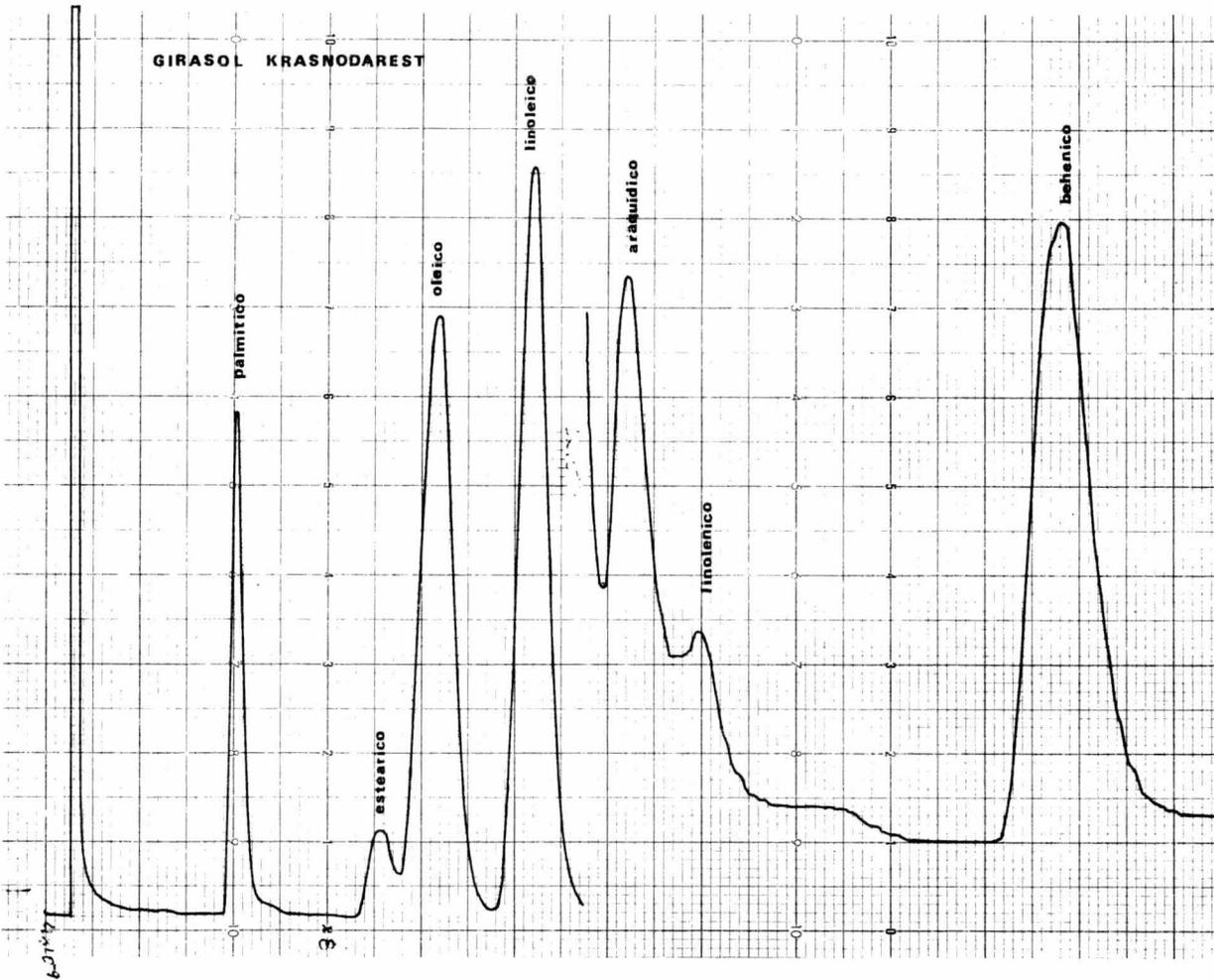




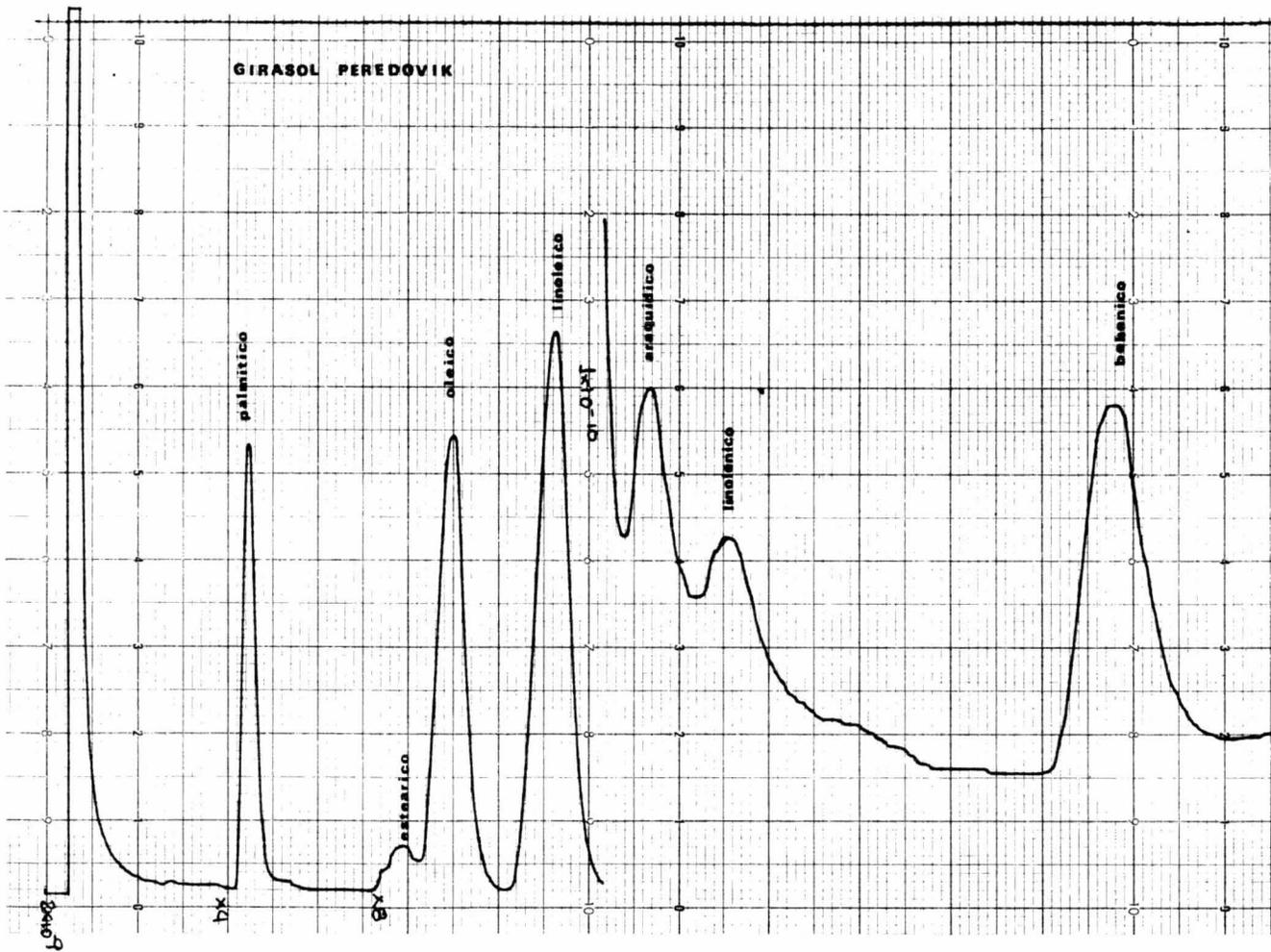
AJONJOLI  
INSTITUTO 71







# GIRASOL PEREDOVIK

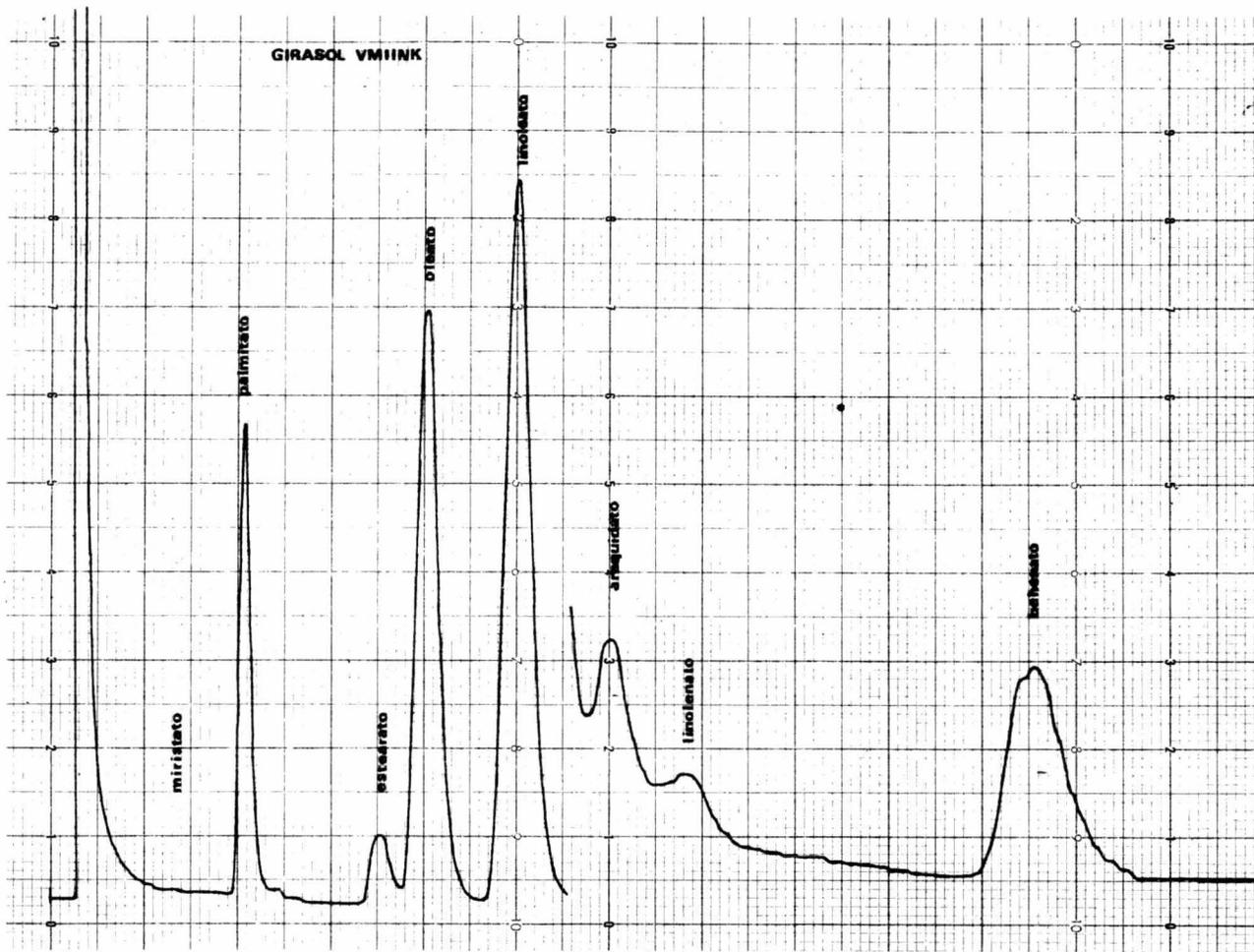


10000

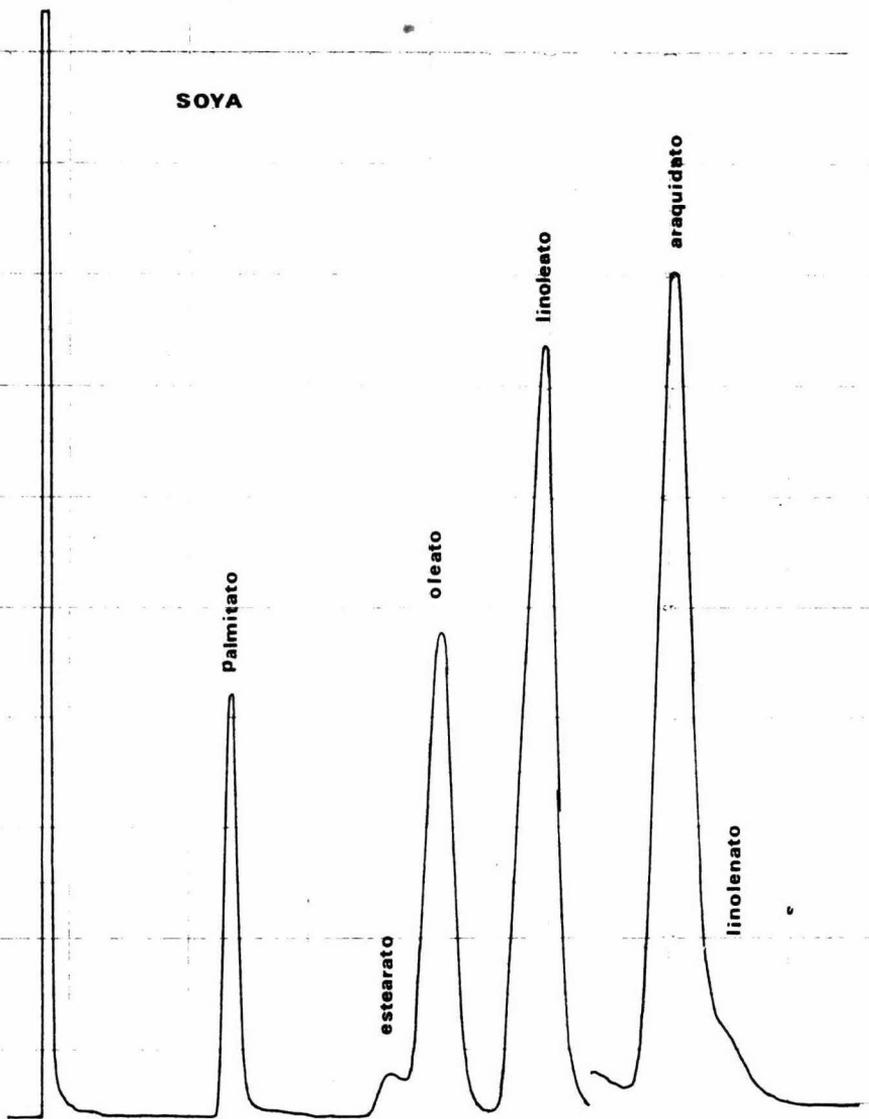
bx

bx

01.0147



**SOYA**



V.- CONCLUSIONES.

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir que comparando esta técnica con cualquiera de los métodos utilizados actualmente se obtienen las siguientes ventajas:

- 1.- Ahorro de tiempo.
- 2.- Confiabilidad de los resultados.
- 3.- Reproducibilidad de un 99% en cada uno de los pasos.
- 4.- Facilidad para detectar adulteraciones comunes.

Es necesario hacer hincapié en que para aplicar la técnica desarrollada, motivo de este trabajo, a escala comercial es necesario conocer los procesos de manufactura comerciales, así como los límites de las relaciones relativas de los ácidos grasos debidas a todos los factores climatológicos y de origen que presenta todo producto natural.

El único aspecto más o menos sofisticado de que hace uso la técnica, es el empleo de un sistema cromatográfico en

fase vapor, sin embargo, estos sistemas en la actualidad forman parte del equipo usual de cualquier laboratorio de análisis.

VI.- REFERENCIAS.

- (1) Collins, R. P. y Morgan, M. E.  
Science 131, 933-4 (1960)
- (2) Hornstein, Irwin.  
Anal. Chem. No. 4, 540-2 (1960)
- (3) Linstead, R. P. y Weedon, C. L.  
A guide to qualitative organic chemical analysis  
Butterworths Scientific Publications, London.  
London p. 16  
(1956)
- (4) Vogel, A. I.  
A textbook of practical organic chemistry.  
Longmans, Green & Co. 3th. edition  
London p. 383, 385-8  
(1957)
- (5) Eister, B.  
Newer methods of preparative organic chemistry  
Interscience p. 513  
New York  
(1948)
- (6) Preston, S. T. y Spreckelmeyer, S.  
A guide to the analysis of fatty acids an their esters  
by Gas Chromatography  
PolyScience Corporation  
(1971)
- (7) Vorbeck, A.  
Anal. Chem. 33, No. 11, 1512-4 (1961)
- (8) Mildreed, Gee.  
Anal. Chem. 37, No. 7, 926-8 (1965)
- (9) Schlenk, H. y Gellerman, J. L.  
Anal. Chem. 32, No. 11, 1412-4, (1960)
- (10) Chanine, M. H.  
J. Am. Oil Chemist Soc. 35, 396 (1958)
- (11) Metcalfe, L. D. h Schmitz, A. A.  
Anal. Chem. 33, No. 3, 363-4 (1961)

- (12) O'connor, R. T.  
J. Am. Oil Chemist Soc. 46, No. 2, 57-9 (1969)
- (13) Chem Abs. 77, 2823j (1972)
- (14) Hilditch, T. P. y Williams, P. N.  
The chemical constitution of natural fats.  
4th edition  
Chapman and Hall  
London  
(1964)
- (15) Chem. Abs. 77, 162031c (1972)
- (16) Idem. 16579w
- (17) Savary, P. et Desnuelle, P.  
Sur la repartition des chaines saturées et insaturées en  
tre les positions externes et internes des triglycérides  
mixtes vegetaux.  
Biochim. Biophys. Acta 50, 319 (1961)
- (18) Mattson, F. H. y Volpenhein, R. A.  
The specific distribution of fatty acids in the glyceri-  
des oy vegetable fats.  
Journal of Biological Chemistry No. 7, 236 (1961)
- (19) Chem. Abs. 77, 18120p (1972)
- (20) Mc Nair, H. M. y Bonelli, E. J.  
Basic Gas Chromatography  
5th edition  
Varian aerograph (1969)
- (21) Bonelli, E. J.  
Lipid Analysis by Gas chromatography  
Varian Aerograph (1968)
- (22) Pelick, N. et al  
Journal of the American Oil Chemist's Society  
38, 506 (1961)
- (23) Morrison, R. T. y Boyd, R. N.  
Organic Chemistry  
2nd edition Allyn and Bacon Inc.  
Boston  
(1966)

- (24) Premysl, M.  
Journal of Chromatography 32, No. 4, 745 (1968)
- (25) Stoffel, W.  
Anal. Chem. 31, No. 2 (1959)

NOTACION

C <sub>14</sub>	=	MIRISTATO DE METILO
C <sub>14:1</sub>	=	MIRISTOLEATO DE METILO
C <sub>16</sub>	=	PALMITATO DE METILO
C <sub>16:1</sub>	=	PALMITOLEATO DE METILO
C <sub>16:2</sub>	=	PALMITODECANOATO DE METILO
C <sub>17</sub>	=	HEPTANOATO DE METILO
C <sub>17:1</sub>	=	HEPTADECANOATO DE METILO
C <sub>18</sub>	=	ESTEARATO DE METILO
C <sub>18:1</sub>	=	OLEATO DE METILO
C <sub>18:2</sub>	=	LINOLEATO DE METILO
C <sub>18:3</sub>	=	OCTADECANOATO DE METILO
C <sub>20</sub>	=	EICOSANOATO DE METILO
C <sub>22</sub>	=	DOCOSANOATO DE METILO
C <sub>22:1</sub>	=	DOCOSADENOATO DE METILO
C <sub>24</sub>	=	TETRACOSANOATO DE METILO
N.I.	=	NO IDENTIFICADO
Tz	=	TRAZAS
G	=	GIRASOL
S	=	SOYA
A1	=	ALGODON
C	=	CARTAMO
A	=	AJONJOLI
(c)	=	CALCULADO
(o)	=	OBTENIDO