

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**PERFIL DE ACIDOS GRASOS DEL ACEITE
DE ALMENDRA DE CAPULIN (*Prunus serotina*)**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
BARBOSA SANCHEZ ANA LARISSA



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2003

1



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Envío a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional

NOMBRE: Barbosa Sánchez Ana Larissa
Ana Larissa
FECHA: 6 de febrero
FIRMA: [Firma]

Jurado asignado:

Presidente BERNARDO LUCAS FLORENTINO
Vocal FRANCISCO ROJO CALLEJAS
Secretario BERTHA JULIETA SANDOVAL GUILLÉN
1er sup. INÉS MIRANDA MARTÍNEZ
2do sup. MARIA TERESA PLATA JIMÉNEZ

El tema se desarrolló en el laboratorio 111 del Dep. de Farmacia en el Edif. "E" y el laboratorio 101 del Depto. de Q. Analítica en el Edif. "B" de Posgrado de la Facultad de Química.

FIRMA

Asesor del Tema. BERNARDO LUCAS FLORENTINO
Supervisor técnico. CARMEN LABASTIDA RUBIO
Sustentante. BARBOSA SÁNCHEZ ANA LARISSA

[Firma]
[Firma]
[Firma]

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento a la **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO** y **FACULTAD DE QUÍMICA** por haberme brindado la oportunidad de pertenecer y formar parte de la máxima casa de estudios

M.C Bernardo Lucas Florentino

Por haber sido parte fundamental en el desarrollo de este trabajo además de brindarme sus conocimientos pero sobre todo su apoyo incondicional.

M.C Carmen Labastida Rubio

Gracias por su amistad, su paciencia, pero sobre todo por ser una fuente de conocimientos que perduraran por siempre en mi formación profesional.

M.C Angela Sotelo

Por haberme facilitado los equipos necesarios para la realización de este trabajo

Dr. Rafael Castillo y la M.C Alicia Hernandez

Gracias por el apoyo brindado ya que ustedes fueron una parte importante en la realización de este trabajo.

M.C Georgina Duarte Lisci

M.C Francisco Rojo Callejas

Gracias por haber pertenecido a mi formación profesional y ser parte inspiradora de mi realización profesional

M.C Lucia Cornejo

M.C Rosa Maria Argote.

Prof. Julieta Sandoval

Sra. Vicki

Gracias por su amistad, su apoyo, sus consejos , por la fortaleza de su espíritu reflejado cuando brindan ayuda a las personas.

DEDICATORIAS

**Mi lema para todo lo que emprendo es:
LO HARE.**

Tomado de La anécdota del luchador que no se da por vencido

La mejor manera de demostrarle a alguien que lo quiere es formar parte de su vida, y tu siempre serás parte importante de ella, te agradezco todo el empeño, la dedicación con que siempre me has apoyado en mis decisiones.

Enrique

Cynthia, Tabare, Fernando, Brenda, Jorge

Les dedico esta Tesis, por el simple echo de ser mi familia esperando que algún día ustedes también cumplan sus metas

A mis Abuelos Gloria, Abundio, mi tía, Martha

Gracias por pertenecer a su familia, por su preocupación y fortaleza ante los problemas.

Erika

Gracias por ser parte de mi vida, convertir los momentos difíciles en agradables.

A mis amigos que han influenciado en mi vida, con los cuales he pasado momentos agradables, siempre he aprendido algo de ellos: Lilian, Isela, Ma Auxilio, Lisette, Lupita, Rosi, Felipe, Carmen, Poncho.

Sra. Rosita Sr. Manuel

Gracias por haberme brindado su confianza, su apoyo en los momentos mas difíciles que he vivido, y formar parte de este trabajo.

INDICE

RESUMEN	5
I. ANTECEDENTES	7
1.1 GÉNERO <i>Prunus</i>	7
1.2 GRASAS Y ACEITES	10
1.3 PROCESAMIENTO DE GRASAS	15
1.4 IDENTIFICACIÓN DE GRASA	19
1.5 SISTEMA CROMATOGRÁFICO	20
II. PARTE EXPERIMENTAL	24
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	53
BIBLIOGRAFÍA	54

INTRODUCCIÓN

Con el propósito de encontrar nuevos recursos para la alimentación y nutrición en nuestro país, se han requerido estudiar fuentes alternativas de alimentos, algunos de los cuales ya son consumidos en forma restringida. Dentro de la gran biodiversidad de la flora mexicana, existen especies cuya potencialidad productiva es alta y puede ser fuente de nutrimentos para la alimentación humana y animal; sin embargo, estos recursos vegetales están infrautilizados, tal es el caso del "capulín" (*Prunus serotina*). El capulín es una especie de amplio intervalo de adaptabilidad, tanto al suelo como a las condiciones climáticas adversas (heladas y sequías) y su distribución en nuestro país es amplia.

Se menciona en trabajos recientes, que la almendra de capulín se puede considerar como fuente de proteína (>30%) y de grasa (>40%). Para el caso de la fracción grasa se reporta un alto índice de yodo, confirmándose este valor por la alta concentración ácido oleico y linoleico; así como de un ácido graso poli-insaturado aun no identificado en concentraciones altas (26-35%).

El objetivo de presente trabajo es caracterizar física y químicamente la grasa cruda, refinada e hidrogenada de la almendra de capulín, mediante análisis fisicoquímico y cromatografía de gases, Además de comparar los perfiles de ácidos grasos entre la grasa de almendra de capulín (*Prunus serotina*) y cereza (*Prunus cerasus*).

En este trabajo se encontraron ácido oleico (38%), linoleico (28%) y erúxico (11%), en altas concentraciones, el ácido esteárico (4%), palmítico (5%), araquidónico (4%), eicosapentenioco (4%), γ -linolénico (0.8%) y vaccénico (0.8%) en menores cantidades. La grasa cruda de almendra de capulín y aceite refinado no son aptas para consumo humano, de acuerdo a sus parámetros fisicoquímicos y la cantidad de ácido erúxico sobrepasa el límite establecido (< 5%), al ser hidrogenada la grasa disminuye la cantidad de ácido erúxico (0.6%) y aumenta el ácido vaccénico (16%), por lo que se recomienda hacer ensayos biológicos de toxicidad aguda y subcrónica para las diferentes grasa hidrogenadas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- **Caracterizar física y químicamente la grasa cruda y procesada de la almendra de capulín (*Prunus serotina*).**

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- **Establecer las condiciones de refinamiento de la grasa cruda.**
- **Hidrogenar a diferentes tiempos y correlacionar con algunos parámetros fisicoquímicos.**
- **Establecer el perfil de los ácidos grasos en el aceite crudo, refinado e hidrogenado parcial y totalmente.**
- **Identificar el ácido graso desconocido de la almendra de capulín, comparando con el perfil de ácidos grasos de la almendra de cereza.**

I. ANTECEDENTES

1.1 GÉNERO *Prunus*

La familia de las *Rosaceas* es una extensa variedad de plantas que se dividen en varios géneros (ver más adelante), dentro de los cuales se puede destacar al género *Prunus*.

El nombre de *Prunus* se le asigna a un amplio grupo de árboles y arbustos, estas plantas son muy apreciadas por sus frutos deliciosos, los cuales se dan en primavera. Algunas variedades son decorativas (por lo que no producen frutos comestibles), otras desarrollan formas silvestres, algunas crecen una producción y calidad alta, sus flores crecen largas y muy abundantes, los climas en los cuales se desarrollan estas variedades son fríos, templados y calientes, se incluyen en este género árboles y arbustos de almendro, albaricoque, cerezo y árboles de durazno.^{19, 20,28}

Dentro de este género se han realizado muy pocos estudios acerca de la fracción lipídica en las almendras de cereza, chabacano, durazno, determinándose su composición por cromatografía de gases, resonancia magnética, UV y análisis térmico gravimétrico, encontrándose cantidades apreciables de ácido oleico y linoleico, en menor cantidad palmítico y en trazas araquidonico, se puede destacar el alto porcentaje de ácidos grasos insaturados (88%-94%).¹

Posteriormente se realizo otro estudio para determinar los ácidos grasos y triglicéridos de la cereza (*P. Avium*), este estudio reveló que dentro de este género también se encontraban los mismo ácidos grasos que en la cereza (*P. Cerasus*), a diferencia que esta ultima contenía un ácido graso poco común (α -eleostearico C_{18:3} (9c,11t,13t), ya que en la naturaleza se encuentran estructuras conjugadas en cis son poco comunes en trans.⁷

1.1.1 CAPULÍN (*Prunus serotina*)

El capulín ha tomado diversos nombres de acuerdo a la zona geográfica donde se encuentre; capulincillo y capulín (en la mayor parte de su área de distribución en México), picota (España), blackcherry (E.U), cerezo americano (Europa).

El capulín originario del norte de América, se encuentra ampliamente distribuido en la zona tropical de México, tanto en la costa del pacífico como en la vertiente del golfo de México, desde Sinaloa hasta Chiapas y desde el norte de Veracruz y la huasteca a la parte sur de la península de Yucatán respectivamente (Fig. 2). Es un árbol o arbusto minoico caducifoleo, que alcanza de 5 a 10 m de altura con ramas color grisáceo o café, algo colgantes, tiene hojas lustrosas verde oscuras con dientes encorvados; copa ancha de forma ovoide, cuya sombra es densa, y su crecimiento es de moderado a rápido y vive de 30 a 40 años. Los frutos negro purpúreos de cáliz persistente, sabor agradable y comestibles maduros a finales de verano, caracterizan a esta especie reconocida en México por sus frutos, propiedades medicinales de las hojas tiernas y toxicidad de sus semillas (Fig. 1). La almendra de la semilla contiene ácido oleico y linoleico así como un ácido graso poliinsaturado.^{26,28}

CONDICIONES DE DESARROLLO DEL CAPULÍN

- ✓ CLIMA : templado, tolera bajas temperaturas.
- ✓ SUELO: Tolerancia a suelos poco profundos, ácidos, húmedos, pedregosos.
- ✓ EXPOSICIÓN: soleada no tolera la sombra.
- ✓ PODA: tolera bien la poda, sobre todo de aclareo.
- ✓ RIEGO: baja necesidad.
- ✓ FERTILIZACIÓN: no requiere.
- ✓ ENFERMEDADES: no es susceptible a enfermedades ni plagas.
- ✓ CONTAMINACIÓN AMBIENTAL: se desarrolla bien en ambientes contaminados.^{19, 20}



Figura 1. Esquema de las hojas y el fruto del capulín



Figura 2. Área de frecuencia y distribución del capulín en México

1.1.2 CEREZA (*Prunus cerasus*)

La cereza es producida por un árbol frutal de la familia de las *Rosáceas*, de unos cinco metros de altura, que tiene tronco liso y ramoso, copa abierta, hojas ásperas lanceoladas y flores blancas. El fruto del cerezo (Fig.3), es una drupa con caballo largo, casi redondo, de unos 2 cm de diámetro, con surcos laterales, piel lisa de color encarnado rojo oscuro, pulpa muy jugosa, dulce y comestible que ofrece algunos minerales (antimonio), es una rica fruta empalagosa y ácida, difieren la europea de la americana. La semilla tiene 12-15% de fruta, 72% de cáscara y 28% de almendra conteniendo 8.3% de aceite, el cual contiene una mayor cantidad ácidos linoleico, oleico, α -eleosteárico, palmítico, esteárico, araquidónico y en menor cantidad eicosenoico y palmitoleico. El aceite refinado se usa en la manufactura de ciertos cosméticos y aceites para ensaladas ^{1,7,15,23,28}

1.2 GRASAS Y ACEITES

Es difícil dar una definición de estos compuestos, ya que existen muchas discrepancias entre los autores, pues algunos le dan su significado de acuerdo a su solubilidad y otros a su composición, aquí se utilizará la segunda que es la más apropiada para el estudio realizado. Son sustancias de origen vegetal o animal que consisten predominantemente en mezclas de ésteres de glicerina con los ácidos grasos (Fig. 4). En general el término "GRASA" se usa para referirse a los materiales sólidos a la temperatura ordinaria; mientras que el término "ACEITE" se refiere a los que son líquidos y refinados a las mismas condiciones, (compuestos por 95% triglicéridos, 5% monoglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos libres, fosfolípidos, ésteres, alcoholes grasos y vitaminas liposolubles). Los triglicéridos se forman por la condensación de una molécula de glicerol con tres ácidos grasos dando tres moléculas de agua y una de triglicérido ^{3,4,6}

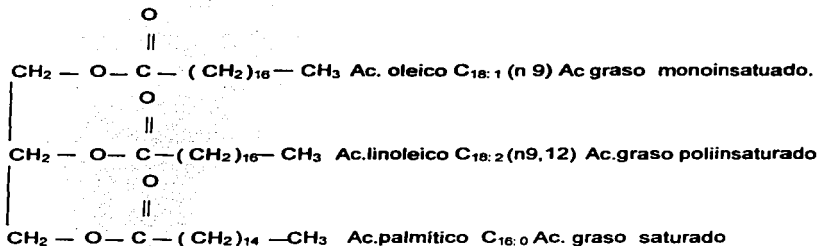


Figura 3. Ejemplo de un triglicérido

1.2.1 ACIDOS GRASOS

Los ácidos grasos se agrupan en diversas categorías como se muestra a continuación.³

1.2.1.2 ACIDOS GRASOS SATURADOS

Contienen solamente enlaces carbono-carbono simples, que se denominan "saturados" y son los menos activos químicamente, están constituidos principalmente por ácidos de 4 a 24 átomos de carbono; su temperatura y punto de fusión aumenta con la longitud de la cadena ya que los de C_4 a C_8 son líquidos a 25°C mientras que los de C_{10} en adelante son sólidos.^{3,30}

1.2.1.3 ACIDOS GRASOS INSATURADOS.

Si existen uno o más enlaces dobles carbono-carbono se les denomina "insaturado". Debido a la presencia de insaturaciones, estos compuestos tienen una gran reactividad química ya que están propensos a transformaciones oxidativas y de isomerización, son muy abundantes en los aceites vegetales y

marinos, su temperatura de fusión disminuye con el aumento de las dobles ligaduras y ésta es siempre menor que la de los saturados para una misma longitud de cadena. Los que contienen solo una insaturación se llaman monoinsaturados y los de más de una insaturación se les llama poliinsaturados. De todos ellos los más importantes son los ácidos linoleico, linolénico, araquidónico, eicosapentenoico (EPA) y docosahexanoico (DHA), que contienen respectivamente 2,3,4,5 y 6 dobles enlaces. ^{3,12,30}

1.2.1.4 ACIDOS GRASOS ESENCIALES.

Los ácidos grasos esenciales se denominan así por que no pueden ser sintetizados por el organismo y deben ser suministrados por la dieta. La mayoría de estos ácidos grasos, tiene funciones muy específicas en el organismo además de prevenir problemas cardiovasculares y enfermedades coronarias, este tipo de compuestos se pueden encontrar en diversos productos de origen vegetal.³

1.2.1.4.1 ACIDO LINOLEICO(18:2 n 6)

El ácido linoleico consta de 18 carbonos conteniendo dos dobles ligaduras la primera, se encuentra en el carbono número seis, es un precursor de un grupo especial de prostaglandinas además de ser precursor de los ácidos grasos ω -3. La deficiencia de ácido linoleico puede surgir como condición secundaria de otras alteraciones, como desnutrición proteico-energética o absorción deficiente de las grasas. En consecuencia desnutrición e insuficiencia de ácido linoleico, este ácido se puede encontrar en el aceite de maíz, soya y de algunos vegetales. ^{12,14}

1.2.1.4.2 ACIDO ARAQUIDÓNICO (20:4 n 3)

El ácido araquidónico se considera esencial porque es un constituyente vital de las membranas celulares, además de tener funciones similares a las hormonas como prostaglandinas, troboxanos y protacilinas ya que regulan una amplia diversidad de procesos fisiológicos. Este ácido es el producto primario de la

desaturación (conversión de ácido linoleico a α -linolénico) y la elongación (presíntesis de los ácidos grasos) ^{12,25}

1.2.1.4.3 ACIDO EICOSAPENTENOICO EPA (20:5 n3)

El EPA es un ácido poliinsaturado el cual puede encontrarse en peces de agua fría (concentraciones altas), se puede considerar como esencial ya que es el precursor de la producción de eicosanoides, enriquece la membrana celular fosfolipídica, además de que reduce problemas cardiovasculares (nivel de triglicéridos), previene la trombosis y es un metabolito del ácido γ -linolénico en los mamíferos. ^{12,14}

1.2.1.5 ACIDOS GRASOS TÓXICOS.

Los lípidos de origen vegetal o animal, forman parte de los constituyentes importantes en la dieta humana, pero algunos de estos compuestos han presentado problemas de toxicidad aguda al ser ingeridos, lo cual ha provocado que en las tres últimas décadas se traten de identificar, aislar y caracterizar. Entre los más importantes tenemos al ácido erúxico. El cual consta de 22 carbonos y una doble ligadura en el carbono 9, es muy abundante en los aceites de semilla del género *Brassica*, donde se han detectado niveles del 20 al 45 % de los ácidos grasos totales. Por ejemplo el aceite de colza, es un miembro de este género *Brassica*, en el que se han detectado niveles considerables de ácido erúxico, el cual es el responsable de ocasionar lesiones al miocardio, lipólisis y lesiones patológicas. El efecto biológico al ingerir alimentos que contienen ácido erúxico, en un inicio provoca una acumulación de lípidos en el músculo cardíaco y finalmente hay necrosis y fibrosis en el miocardio. Al administrarse el aceite por largos períodos llegan a afectar al riñón, el corazón, y más fuertemente la tiroides ocasionando hipotiroidismo. El ácido cetoleico (C_{22,1} n 11) es un homólogo del ácido erúxico y no presenta diferencia en los efectos patológicos en comparación al ácido erúxico al afectar el músculo cardíaco. Se ha demostrado en estudios de nutrición, que los aceites marinos que contiene

cantidades considerables de ácidos insaturados se pueden hidrogenar parcialmente para eliminar el ácido erúcido o su homólogo.^{2, 12,16,18}

1.2.1.6 ÁCIDOS GRASOS DE LA FAMILIA DE LAS ROSACEAS POR ZONAS

Dentro de la extensa familia botánica de las *Rosáceas* se puede encontrar diversos géneros, los cuales se dividen en dos grupos, tropicales y subtropicales, dentro de cada grupo se pueden encontrar los ácidos grasos más representativos de cada género.²⁴

1.2.1.6.1 ARBUSTOS DE ZONAS SUBTROPICALES

Los arbustos de zonas subtropicales incluyen los siguientes géneros: *Prunus*, *Rubus*, *Crataegus*, *Cydonia*, los ácidos grasos de estas especies contienen, ácidos oleico, linoleico y ocasionalmente linoléico.^{13, 24}

Los aceites de la semilla de las especies de *Prunus*, incluyendo almendra, albaricoque, cereza, ciruela y laurel contienen ácidos grasos insaturados oleico y linoleico predominando este último, ya que forma parte del 20 - 40% del total de los ácidos.¹³

1.2.1.6.2 ARBUSTOS DE ZONAS TROPICALES.

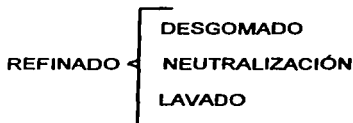
Los géneros representativos de este grupo de arbustos son: *Licania* y *Perinarium* contienen una proporción de ácidos saturados elevada oleico y linoleico (10-11%), predominan componentes altamente insaturados conjugados de ácidos C₁₈ (eleostearico, licanico).¹³

1.3 PROCESAMIENTO DE LAS GRASAS

1.3.1 ACEITE CRUDO.

El término "aceite crudo" se aplica al aceite no procesado después de haberlo extraído de la materia prima ya sea animal (proceso térmico) o vegetal (prensado o mezcla de disolventes). El aceite crudo debe someterse a un proceso de purificación para ser consumido. En algunos casos el aceite crudo tiene calidad adecuada y no necesita ser sometido a un proceso posterior (aceite de oliva).^{6,27}

1.3.2 REFINADO



El proceso de refinado se realiza en aceites vegetales para reducir o eliminar el contenido de ácidos grasos libres otras impurezas (fosfolípidos, lipoproteínas y sustancias mucilaginosas). Al llevar a cabo los pasos que a continuación se describen y en conjunto integran la refinación, los aceites presentan una composición más o menos diferente al aceite crudo.^{8,30}

1.3.2.1 DESGOMADO

Los aceites crudos que se destinan a la alimentación poseen niveles relativamente altos de fosfátidos, por lo que son sometidos a desgomado el cual se efectúa casi siempre por hidratación de los fosfátidos con el objeto de hacerlos insolubles en el aceite lo cual se realiza antes del refinado para elimina

la mayoría de estos compuestos. El proceso generalmente conlleva al tratamiento de aceite crudo con una cantidad limitada de agua para hidratar los fosfátidos y conseguir separarlos por centrifugación, (ya que tienden a producir pérdidas elevadas por neutralización y dificultades ocasionales por sedimentos)^{3,6,30}

1.3.2.2 NEUTRALIZACIÓN

El método clásico se basa en una acción de saponificación que se lleva a cabo por la adición de hidróxido de sodio al 12-15% en la cantidad precisa para que sólo reaccione con los ácidos grasos libres, cuya concentración se determina previamente. El aceite se mezcla con la sosa y se calienta para acelerar la reacción, produciéndose una pasta jabonosa que se separa por centrifugación. En estas condiciones, el aceite todavía contiene una cierta concentración de jabones, los cuales se separan con un lavado subsecuente que consiste en mezclar el aceite con agua caliente y someterlo nuevamente a una centrifugación intensa.^{6,30}

1.3.2.3 BLANQUEO O DECOLORACIÓN

Este tratamiento se les da a los aceites después de haberlos neutralizado para eliminar las sustancias coloridas y remover algunos compuestos trazas de metales, jabones y productos de oxidación. El método más común se basa en un proceso de adsorción donde se utilizan diversos agentes adsorbentes, principalmente arcillas neutras, arcillas ácidas activadas ó carbón activado siendo éste el más efectivo aunque tiene sus inconvenientes porque es caro y retiene una gran cantidad de aceite; por esta razón, para lograr mejores resultados a veces se mezclan arcillas neutras con 5-10% de carbón activado.^{6,30}

1.3.3 HIDROGENACIÓN

Cuando se hace el tratamiento de grasas y aceites utilizando hidrógeno en presencia de un catalizador, se obtiene como resultado la adición de este compuesto a los dobles enlaces carbono-carbono (Fig. 5)



Figura. 4 Proceso de hidrogenación.

El objetivo de la hidrogenación es aumentar la estabilidad evitando la oxidación y/o alterando las propiedades de fusión de los aceites mediante la reducción del grado de insaturación. La hidrogenación es una reacción catalítica, que exige el uso de un catalizador (paladio, rodio y platino).^{6,10,16}

El paladio favorece la hidrogenación selectiva induce la producción de isómeros posicionales y geométricos. La mayoría de los catalizadores comerciales, tienden a aumentar el contenido de ácido esteárico y de ácidos grasos trans. La llamada hidrogenación selectiva se basa en que los ácidos grasos más insaturados son más afines al catalizador y, por lo tanto, se convierten primero es decir el linoléico se transforma en linoleico antes de que pase a esteárico (Fig. 6).^{6,17}

Durante el contacto con el catalizador, tienen lugar reacciones de isomerización. Los dobles enlaces pueden ser reposicionados (isomerización posicional) o pueden cambiar de configuración cis a trans (trans isomerización) (Fig.3). Los ácidos grasos trans tienen un punto de fusión más alto que sus isómeros cis y por lo tanto contribuyen a incrementar el punto de fusión.^{10, 17}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

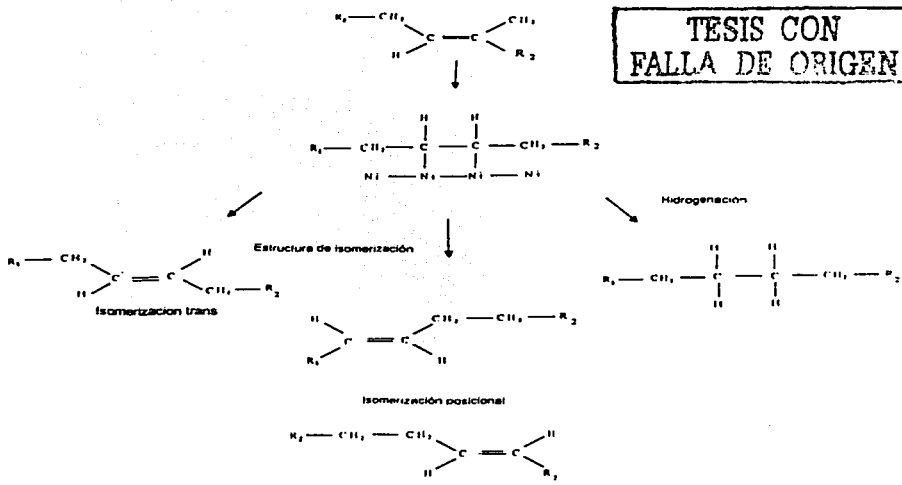


Figura 5. Mecanismo de reacción durante la hidrogenación

La pureza del hidrógeno es de gran importancia y se requiere del 99.8% ya que las impurezas pueden disminuir el rendimiento en la hidrogenación. Las impurezas pueden ser divididas en 2 categorías; las que actúan como veneno del catalizador (azufre, cloro, monóxido de carbono, agua, oxígeno), y las que disminuyen o paran la reacción debido a su acumulación en la parte superior del hidrogenador (gases como nitrógeno, argón, metano). Existen otros factores que intervienen con la hidrogenación como lo son la temperatura, concentración del catalizador y actividad catalítica, como se muestra en el cuadro 1. Estos factores regulan el proceso de hidrogenación de acuerdo al efecto deseado como:

- El aumento en la estabilidad hacia la oxidación.
- Selectividad sobre los ácidos poliinsaturados.

- Convertir aceites líquidos en grasas de consistencia semisólida que sea de mayor utilidad en el uso alimentario.

Cuadro1. Efecto de los cambios en las condiciones de hidrogenación

Condición	Efecto sobre selectividad	Efecto sobre Isomerización
Incremento de temperatura	Más alta	Más alta
Incremento en presión (hidrógeno)	Más baja	Más baja
Incremento en la agitación	Más baja	Más baja
Incremento concentración del catalizador	Más alta	Más alta

1.4 METODOS PARA IDENTIFICAR LA COMPOSICIÓN DE LAS GRASAS

Los métodos modernos de procesamiento industrial y la preocupación por los aspectos de salud y seguridad de los nuevos aceites y productos grasos que se utilizan en la dieta han conducido al desarrollo de técnicas y procedimientos analíticos para obtener información detallada acerca de su naturaleza, carácter y composición.

Los nuevos procedimientos también son de utilidad para identificar el origen biológico de aceites o grasas y la presencia de grasas extrañas, con la ayuda de cromatografía de gases se pueden realizar todos estos procedimientos.

1.4.1 CARACTERIZACIÓN DE LÍPIDOS POR CROMATOGRFÍA DE GASES

La composición de ácidos grasos se ha determinado por cromatografía de gases, resonancia magnética, UV y análisis térmico gravimétrico. La introducción comercial de la cromatografía de gases hizo posible la determinación rápida y precisa de la composición de los ácidos grasos en los aceites y las grasas tras efectuar la conversión de los ésteres de triglicéridos metílicos que son mas volátiles. En la actualidad, gracias a las fases estacionarias novedosas, al avanzado equipo de cromatografía de gases y el uso de columnas capilares que

avanzado equipo de cromatografía de gases y el uso de columnas capilares que tienen gran poder de resolución, se conoce con detalle la composición isomérica geométrica y posicional de los triglicéridos en los ácidos grasos. Sin embargo para fines más generales se pueden utilizar procedimientos más sencillos de cromatografía de gases que se basan en columnas no tan específicas y un detector de ionización de flama que permiten obtener perfiles de ácidos grasos con suficiente detalle.

1.4.2 SISTEMA CROMATOGRÁFICO

La cromatografía de gases es un proceso mediante el cual una mezcla es separada en sus componentes por medio de una fase gaseosa móvil que pasa a través de una fase estacionaria, la cual va reteniendo los compuestos. La eficiencia de las columnas y los detectores hacen posible la medición exacta y precisa de las cantidades y constituyentes separados en la mezcla. Los cromatógrafos de gases constan básicamente de las siguientes partes^{18, 21} (ver Fig. 6)

1. Gas acarreador.
2. Sistema de inyección.
3. Columna.
4. Horno de columna.
5. Procesamiento de señal
6. Procesamiento de señal
7. Identificación y cuantificación

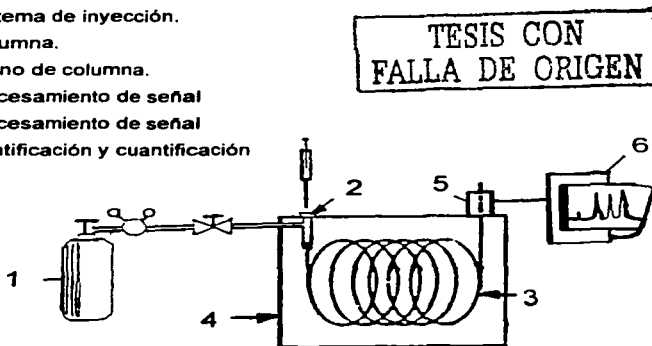


Figura 6. Partes principales de un cromatógrafo de gases

1.4.2.1 GAS ACARREADOR

El propósito primario de este gas es transportar los componentes volátiles de la muestra a través de la columna. El gas debe de ser inerte y no reaccionar con la muestra, ni con la fase estacionaria, es importante que sea de alta pureza. Para el detector de ionización de flama (FID) se usa helio, nitrógeno e hidrógeno. El hidrógeno es el gas más recomendable ya que tiene una máxima eficiencia en columnas capilares.^{18, 21}

1.4.2.2 SISTEMA DE INYECCIÓN

Existen cuatro diferentes sistemas de inyección (directa, *split-splitless*, *on column*, temperatura de vaporización programada).

El inyector *on column* (Fig. 7) es una de las mejores opciones en sistemas de inyección, ya que el líquido es introducido dentro de la columna, este método que en su mayoría es utilizado en columnas capilares, elimina los errores asociados a vaporización de la muestra antes de entrar a la columna ó pérdidas de la misma, es una buena opción para cuantificar y analizar trazas.^{5, 18}

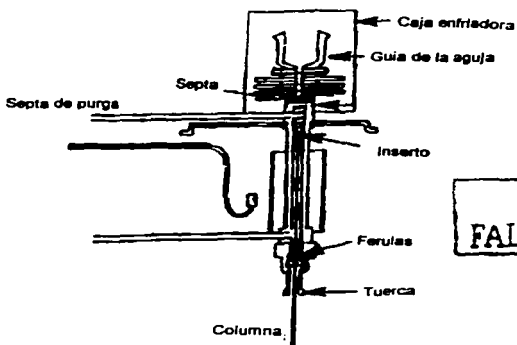


Figura 7. Diagrama comercial de un inyector *On-Colum*

1.4.2.3 COLUMNAS

En la columna cromatográfica se efectúa la separación de diversos compuestos la más utilizada en la actualidad son las capilares.¹¹

Para determinar ésteres metílicos de ácidos grasos se utiliza una columna capilar cuya fase polar es de polietilglicol. Las columnas capilares tienen grandes beneficios como: ^{8, 11,21}

- Gran poder de resolución.
- Incremento en la velocidad de análisis.
- Gran sensibilidad.
- Capta un amplio intervalo de componentes eluidos.
- Menor interferencia con los contaminantes.

1.4.2.4 HORNO DE COLUMNA

Para la separación de una mezcla de sustancias con puntos de ebullición muy diferentes, la temperatura del horno puede programarse y así obtener mejores separaciones en menos tiempo.²⁰

El control de la temperatura de la columna es uno de los procedimientos más fáciles y eficaces para promover la separación. La temperatura programada consiste en el aumento lineal de la temperatura de la columna con el tiempo. La programación de la temperatura es muy útil para muestras de mezclas con puntos de ebullición muy distintos.^{5, 8,21}

1.4.2.5 DETECTORES

El propósito del detector es reconocer el paso de las sustancias que son eluidas por el gas acarreador conforme salen de la columna. Todos los detectores están diseñados para producir una señal eléctrica como resultado de algún efecto físico causado por la sustancia que está siendo eluida. El detector más común es el de ionización de flama (FID) que es muy sensible y tiene un amplio rango de respuesta.^{11,18,21}

1.4.2.6 FOTOAMPLIFICADOR E INTEGRADORES

La señal que se produce en el detector es procesada mediante un microprocesador que genera un gráfico de separación de las sustancias (un cromatograma). Existen equipos de integración eléctrica (integrador) y procesadores de datos (microprocesador), este último es el más utilizado en la actualidad ya que tiene diversos beneficios, permite optimizar la calidad de los resultados y procesarlos cuando se necesite.²¹

1.4.3 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN

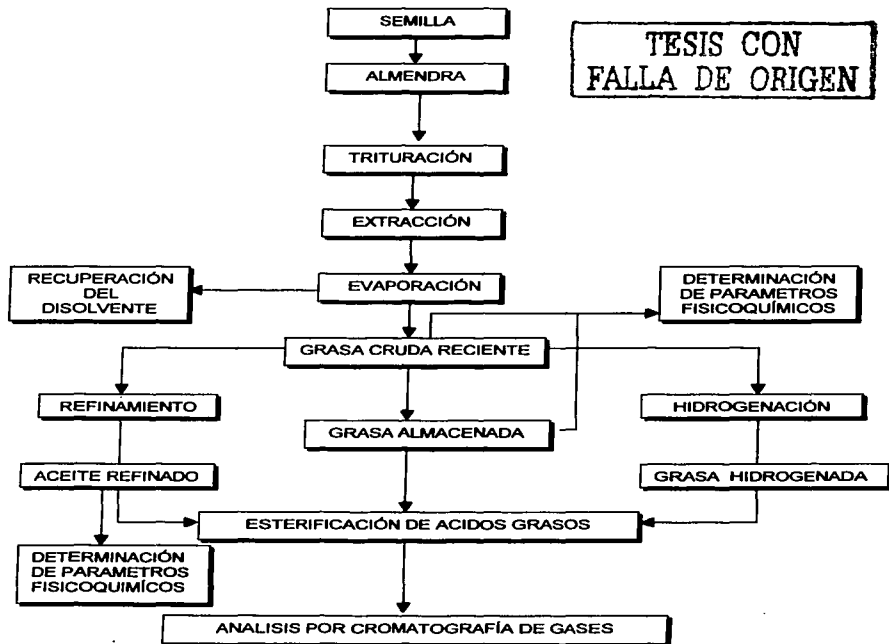
La identificación de los compuestos de interés se realiza comparando los tiempos de retención de estándares comerciales y la muestra problema.

Para poder realizar un análisis cualitativo - cuantitativo, es necesario que a la muestra se le añada una sustancia de referencia no contenida previamente en ella. Dicha sustancia, llamada estándar interno deberá tener un tiempo de retención similar al de los componentes de interés, pero deberá separarse claramente de ellos y de otros picos.

Se preparan soluciones con diferentes concentraciones de los componentes de interés y una cantidad fija del estándar interno y se obtienen las áreas bajo los picos de cada componente y del estándar interno. Se añade la misma cantidad del estándar interno a la solución de muestra y se miden nuevamente las áreas de los picos. Al hacer referencia a los tiempos de retención relativos de cada compuesto y sus áreas junto con la área del estándar interno, es posible calcular la concentración del componente en la muestra.^{11,18,21}

II. PARTE EXPERIMENTAL

En el presente estudio se partió de la semilla de capulín, de la cual se separó la almendra en forma manual y se realizaron los pasos que se describen en el siguiente diagrama.



2.1.1 ORIGEN DE LA SEMILLA

Las semillas de capulín pertenecen al pueblo de Azayanca, la compra se realizó en Huamantla municipio de Tlaxcala. La extracción de las semillas se realizó mediante lavados con agua para eliminar la pulpa y se secaron al sol.

Las cerezas fueron obtenidas del mercado de San Cosme, Cd. De México, D. F. a las frutas se elimino la pulpa, se lavaron con agua y se secaron al sol.

2.1.2 OBTENCIÓN DE LA ALMENDRA DE CAPULÍN

PROCEDIMIENTO

Para extraer la almendra de la semilla de capulín, fraccionar la semilla en el mortero cuidando de no dañar la almendra, recolectar aproximadamente 150 g, colocar las almendras en un vaso de licuadora para fraccionarlas, cuidar de no moler por completo las almendras.

El procedimiento para obtener la almendra de las semillas de cereza fue el mismo que para capulín, al igual que el método para extraer la grasa.

2.1.3 MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE LA GRASA (SOXHLET)

POCEDIMIENTO

Las almendras trituradas y pesadas colocarlas en un cartucho de papel filtro, taparlas con un algodón (no apretar el algodón contra la muestra), colocar el cartucho en el extractor.

Se conecta un matraz de bola con piedras de ebullición al extractor y éste al refrigerante. Agregar hexano por el refrigerante hasta un poco mas de la mitad del matraz de bola, calentar con canastilla de calentamiento, controlando la temperatura con un termostato (60-70 °C) durante 15 hr. Para verificar que se ha extraído toda la grasa, se dejar caer una gota de la descarga sobre papel filtro, al evaporarse el hexano no debe de dejar residuo de grasa.

Una vez extraída toda la grasa, quitar el cartucho con la muestra desengrasada, eliminar el disolvente concentrando la grasa mediante rotavapor a una temperatura de 50 ° C./ presión reducida.

2.2 PRUEBAS FÍSICAS

2.2.1 DENSIDAD RELATIVA

FUNDAMENTO

Presenta la relación directa con el estado de insaturación de los ácidos grasos e indirecta con el peso molecular.

PROCEDIMIENTO

Colocar el picnómetro en una estufa de calentamiento durante 6 horas o más para mantener a peso constante, posteriormente llenar el picnómetro de grasa hasta la marca de aforo, tapanlo correctamente y pesarlo, este mismo procedimiento se hace por triplicado.

CÁLCULOS

v = volumen de muestra en el picnómetro.

m = peso de la muestra

$$\text{densidad relativa } \rho = \frac{m}{v}$$

2.2.2 PUNTO DE FUSIÓN

FUNDAMENTO

Método en el cual a una temperatura y condiciones específicas la muestra pasa de estado sólido a líquido de acuerdo al estado original de la muestra.

PROCEDIMIENTO

Muestra sólida

Para determinar el punto de fusión en muestras sólidas se requiere de un equipo Fisher. En la plancha del termostato colocar un portaobjeto y encima una pequeñísima parte de muestra cubriéndolo con el portaobjetos. Con la perilla del termostato ajustar el gradiente de temperatura a 20°C/min. Observar por el lente de aumento cuando la muestra comience a fundirse (temperatura inicial), hasta que la muestra esté completamente fundida (temperatura final). Las temperaturas se reportaran en intervalos.

Muestras fluidas

Llenar un capilar con la muestra hasta tener una columna de aproximadamente 10mm (0.2mL de volumen) se sella el capilar a la flama, congelar el capilar con hielo seco y metanol, rápidamente colocar la columna junto a un termómetro de tal manera que la columna coincida con el bulbo del termómetro cuidar de no descongelarla y suspender en un recipiente con agua fría en hielo seco y metanol. Comenzar el calentamiento gradualmente a una tasa de 0.5°C / min, llevando a cabo una agitación moderada. Tomar como punto de fusión la lectura en el termómetro a la cual la muestra se torna transparente. Generalmente se reporta como un intervalo.

2.2.3 INDICE DE REFRACCIÓN

FUNDAMENTO

El índice de refracción está basado en la relación que existe entre la velocidad de la luz en la sustancia, y el aire, así que mide el cambio de dirección de luz en el aceite.

Líquido	Índice de refacción	Temperatura
Agua destilada	1.0330	20°C
Agua destilada	1.3325	25°C

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Quando se calibra el equipo la escala izquierda debe indicar 0% mientras que la derecha proporciona el valor de índice de refracción según la temperatura.

Para leer el índice de refracción limpiar la superficie del prisma con un disolvente ligero (alcohol, acetona), colocar una gota del aceite justo en medio de las 2 marcas indicadoras en el prisma, cerrar la tapa del prisma y colocarla frente a una fuente luminosa (natural o artificial).

Al levantar la tapa del ocular se observa el campo uniformemente iluminado con una línea horizontal a la mitad y dos líneas que se intersectan. Alguna de las zonas se oscurecerá, con el tornillo que se encuentra del lado izquierdo del refractómetro se moverá esta zona.

Colocar la zona oscura del campo en la parte inferior y con el tornillo del lado derecho, enfocar y oscurecer con mayor nitidez el campo inferior sin rebasar la línea horizontal se observa en la escala izquierda los grados Brix y en la derecha el índice de refracción.

2.3 PRUEBAS QUÍMICAS

2.3.1 ÍNDICE DE YODO (Método de Hanus)

FUNDAMENTO

El valor de yodo se define como el peso de yodo que absorben 100 partes de la muestra en peso. Las dobles ligaduras de los ácidos grasos no saturados presentes reaccionan con una cantidad definida del halógeno y por lo tanto, el valor de yodo es una medida del grado de instauración.

PROCEDIMIENTO

Pesar 0.2500 g de muestra en un matraz Erlenmeyer con tapón de teflón y disolver en 10 mL de cloroformo (CHCl_3). Con bureta graduada añadir 25 mL de solución de Hanus y dejar reposar en la oscuridad durante 30 minutos, con agitación ocasional.

Para resultados más precisos, es conveniente cumplir con los mismos tiempos de drenado de bureta y estancia en la oscuridad en todas las determinaciones.

Añadir 10 mL de la solución al 15 % de yoduro de potasio; agitar vigorosamente y añadir 100 mL de agua destilada recientemente hervida y fría, cuidando de lavar cualquier residuo que quede en el tapón de teflón. Titular con la solución de tiosulfato de sodio 0.1 N hasta que el color amarillo de la solución casi desaparezca, a mitad de la titulación añadir unas gotas de solución de almidón al 1% (si la muestra es muy colorida no se percibe el color azul) y continuar titulado hasta que el color azul de la solución desaparezca completamente (cuando no se percibe el color azul se titula hasta desaparición del color de la muestra). Hacia el final de la titulación, tapar el matraz y agitar vigorosamente para que el yodo remanente en la solución de cloroformo sea también titulado, y se elabora un blanco bajo las mismas condiciones.

$$\text{Índice de yodo} = \frac{\text{g de yodo absorbido}}{\text{g de muestra}}$$

2.3.2 ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN

FUNDAMENTO

La cantidad hidróxido de potasio que se requieren para saponificar los ácidos grasos de la grasa. Es inversamente proporcional al peso molecular de los ácidos grasos.

PROCEDIMIENTO

Pesar 2 g de aceite o de grasa en un matraz cónico y agregar exactamente 25 ml de la solución de hidróxido de potasio, unir un condensador de reflujo al matraz y calentar en agua en ebullición durante una hora con agitación frecuente, agregar 1 mL de fenoltaleína. Titular el exceso de álcali, en caliente, con ácido clorhídrico, analizar un blanco de manera simultánea.

$$\text{Valor de saponificación} = \frac{\text{mg de KOH}}{\text{gramos de muestra}}$$

2.3.3 ÍNDICE DE ACIDEZ

FUNDAMENTO

La cantidad en miligramos de hidróxido de potasio que se necesitan para neutralizar los ácidos grasos libres de un gramo de muestra.

PROCEDIMIENTO

Neutralizar etanol con NaOH 0.1 N usando fenolftaleína (color levemente rosado). Pesar de 1 a 10 g de aceite en un matraz Erlenmeyer, añadir 50 mL de etanol neutralizado y caliente. Titular con NaOH 0.1 N agitar constantemente hasta que el color rosa permanezca durante 15 segundos, preferentemente la titulación no debe de consumir más de 10 mL.

$$\text{Índice de acidez} = \frac{\text{mg de KOH}}{\text{gramos de muestra}}$$

$$\% \text{ de ácido Oleico} = \frac{\text{mL KOH (N NaOH) (0.282) (100)}}{\text{gramos de muestra}}$$

2.4 TRATAMIENTO DE LA GRASA

2.4.1 REFINACIÓN

Para llevar a cabo este tratamiento de la grasa cruda, emplear en la metodología porcentajes de los reactivos a adicionar, los cuales se refieren a la cantidad de grasa que se procesa, y consta básicamente de: desgomado, neutralización y blanqueo los cuales se describen a continuación.

2.4.1.1 DESGOMADO

FUNDAMENTO

Consiste en la extracción acuosa de diversos compuestos hidrosolubles tales como proteínas, hidratos de carbono y fosfátidos, que es posible separar ya que establecen una fase inmisible con el aceite.

MATERIAL Y REACTIVOS

- Ácido fosfórico 0.1 % (v / v)
- Centrifuga clínica
- Tubos para centrifuga
- Pipetas Pasteur
- Hidróxido de sodio 15 % (w / v)

PROCEDIMIENTO

Mezclar el aceite con 3% de ácido fosfórico al 0.1% y calentar a una temperatura de 54 °C durante 5 minutos, centrifugar a 2400 r.p.m. y colectar con pipeta Pasteur dejando las gomas en el tubo de centrifuga.

2.4.1.2 NEUTRALIZACIÓN

FUNDAMENTO

Se efectúa básicamente para neutralizar los ácidos grasos libres que contengan los aceites, pero también neutraliza los monoacilglicéridos, los fosfolípidos y los agentes quelantes que pudieran quedar del desgomado.

PROCEDIMIENTO

Para poder llevar a cabo este proceso se necesita el valor promedio del Índice de acidez reportado como % de ácido Oleico y calcular la cantidad de KOH para neutralizar los ácidos grasos libres en el aceite, con los siguientes cálculos.

CÁLCULOS

$$I.A = \frac{56 \text{ g KOH / mol}}{282 \text{ g de ac. Oleico / mol}} = \text{g de KOH / 100 g de muestra}$$

$$\text{g de aceite} = \frac{\text{g de KOH / 100 g de aceite}}{282 \text{ g ác. Oleico / mol}} = \text{g de KOH}$$

$$\text{g de KOH} = \frac{100 \text{ ml}}{15 \text{ g}} = \text{mL de KOH al 15\% que se adiciona al aceite}$$

I.A = Índice de acidez referido a % de ác. Oleico / 100 g de muestra

P.M del ác. Oleico = 282 g / mol

P.M de KOH = 56 g / mol

Para neutralizar el total de ácidos grasos libres, adicionar 10% mas del hidróxido de potasio al 15% del obtenido en los anteriores cálculos, adicionar el hidróxido de potasio gota a gota (sin agitar) calentar a 54° C por 5 minutos y centrifugar la mezcla a 2400 r.p.m., separar el aceite del sedimento, lavar el aceite con 3% de agua caliente y someterlo a una nueva centrifugación a 2400 r.p.m. por 20 minutos

2.4.1.3 BLANQUEO

FUNDAMENTO

El blanqueo se realiza después de la neutralización de los aceites para eliminar las sustancias que le imparten un determinado color. El método más común se basa en un proceso de adsorción que utiliza diversos agentes adsorbentes.

MATERIAL Y REACTIVOS

- Silicato de aluminio
- Carbón activado
- Papel filtro
- Filtro Millipore "M" (ASTM 10 – 15)

PROCEDIMIENTO

Los reactivos que se adicionan en este paso dependen de la cantidad de aceite neutralizado tomándose como 100%, calcular los porcentajes a adicionar de reactivos. Añadir 2 % de silicato de aluminio y 0.4 % de carbón activado al aceite neutralizado agitar hasta que el aceite y los compuestos queden mezclados, posteriormente separar por filtración rápida con papel filtro de celulosa y finalmente pasar el aceite a un embudo Millipore de tamaño de poro "M" de vidrio (ASTM 10-15)

2.4.2 HIDROGENACIÓN

FUNDAMENTO

Es un proceso por el que se añade hidrógeno directamente a los puntos de insaturación de los ácidos grasos impartiendo estabilidad deseada y otras propiedades a diversos productos grasos comestibles. El hidrógeno gaseoso reacciona con la grasa a una temperatura y presión concretos, en presencia de un catalizador.

EQUIPOS

- Rotavapor
- Hidrogenador Parr modelo 391

MATERIAL Y REACTIVOS

- Embudo de vidrio de filtración de poro fino
- Matraces de bola
- Reactor (botellas de reacción de vidrio grueso 250 ml)
- Papel filtro (Whatman # 1)
- Acetato de etilo (R.A)
- Catalizador Pd / C al 5% (Aldrich No. 596)
- Tanque de nitrógeno comprimido
- Tanque de hidrógeno purificado 99.99%

PROCEDIMIENTO

Pesar 4 g de grasa cruda, colocar en el vaso de reacción y 5% de catalizador Pd/C de acuerdo a la grasa pesada (cuidando de no tirar catalizador es flamable) adicionar 250 mL de acetato de etilo bajo atmósfera de nitrógeno, (burbujeando nitrógeno en la adición de grasa, catalizador y disolvente). Se cubre la boca del vaso de reacción para impedir la entrada de oxígeno, posteriormente se coloca el vaso de reacción en el soporte del hidrogenador después de haberlo tapado herméticamente con el tapón de hule que contiene el tubo que suministra

el hidrógeno, se coloca la chaqueta de protección, sujetándola con 2 bandas de contacto al tubo del columpio para evitar cualquier inestabilidad del reactor. Una vez montado el equipo se abre el tanque de hidrógeno hasta que el primer manómetro llegue a una presión de 90 lb. / in², manteniéndose esta presión, posteriormente se abre la primera llave de paso (la cual está conectada con el vaso de reacción) hasta alcanzar una presión de 60lb / in² (está lectura se verifica en un segundo manómetro) manteniéndolo constante, después abrir la segunda llave de paso y se deja pasar el hidrógeno al vaso de reacción hasta que la presión del segundo manómetro disminuya a 40 lb. / in², en este momento se cierra la segunda llave de paso y se abre de nuevo la primera llave con el fin de alcanzar de nuevo la presión de 60 lb/in². Este procedimiento se lleva a cabo dos veces mas, con esto se asegura que el vaso de reacción contiene el suficiente hidrógeno para comenzar la hidrogenación.

Teniendo todo listo, el manómetro de la primera llave debe de marcar 60 lb. / in² y abierta la segunda llave de paso en el momento de la hidrogenación, se enciende el equipo, tomando el tiempo en que se inició la hidrogenación y registrando el consumo de hidrógeno, por medio de la lectura de la presión que marca el manómetro en contacto con el frasco de reacción, efectuar la hidrogenación a diferentes tiempos. La hidrogenación total se presenta cuando ya no se observa disminución de la presión en el manómetro, lo cual nos indica que no hay más consumo de hidrógeno.

Terminado los tiempos seleccionados para la hidrogenación apagar el equipo, abrir la llave de vacío para eliminar el hidrógeno que no se consumió dentro del vaso de reacción, cerrar el tanque de hidrógeno quitar las tiras de contacto junto con la chaqueta de protección y finalmente retirar el tapón de hule del frasco, filtrar el catalizador al vacío con un embudo de filtración de vidrio de poro fino y papel filtro del número 1 cuidando que el catalizador no se seque, ésto con ayuda de acetato de etilo, eliminar el disolvente en un rotavapor a una temperatura de 50°C/ presión reducida.

2.4.3 PREPARACIÓN DE ESTERES METÍLICOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS

FUNDAMENTO

Se saponifican los triglicéridos para formar sales de potasio de los ácidos grasos, las cuales se acidifican y se tratan con BF_3 en metanol para obtener los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

EQUIPOS

- Centrífuga
- Estufa de calentamiento

MATERIAL Y REACTIVOS

- Cinta de teflón
- Jeringa de vidrio de 500 μl
- Matraces aforados de 5 y 10 ml
- Pipetas volumétricas de 1, 2 y 5 ml
- Tubos de vidrio con tapón de rosca
- Ácido clorhídrico (R.A)
- Hidróxido de potasio (R.A)
- Hexano (R.A)
- Metanol (R.A)
- Tolueno grado cromatográfico (R.A)
- Trifloruro de boro en metanol (Supelco # 389)

PROCEDIMIENTO

Pesar 20 mg de aceite en un matraz aforado de 5 mL, y aforar con la mezcla de disolventes tolueno- hexano 80:20, tomar 0.5mL colocándolos en un tubo y agregar 2 mL de estándar interno, evaporar a sequedad el disolvente con nitrógeno gaseoso, agregar al tubo 2mL de KOH al 5% en metanol, tapar con cinta de teflón y cerrar muy bien con el tapón de rosca, calentar por 1 hora a una

temperatura de 80° C en la estufa, dejar enfriar a temperatura ambiente, posteriormente agregar 2 mL de ácido clorhídrico al 10% en metanol, y 100 μ L de trifloruro de boro en metanol, volver a tapar con cinta de teflón, calentar por 1 hora a 80° C, y enfriar a temperatura ambiente, agregar 3 mL de la mezcla de disolvente tolueno-hexano 80:20 y 7 mL de agua destilada. Tapar con teflón cerrar y agitar con vortex durante 1 minuto. Extraer los ésteres metílicos de la fase orgánica con una pipeta Pasteur, transfiriéndolos a un matraz aforado de 10 mL, y hacer dos extracciones más, llevando a aforo con la mezcla de disolventes. Inyectar 1 μ L en el cromatógrafo de gases. El material se lava y se enjuaga con disolventes.

CONDICIONES DEL CROMATOGRAFO DE GASES

Se utilizó un cromatógrafo de gases HP modelo 5890 serie II Columna capilar Omegawax™ 320 de 30 m X 0.32 mm D.I X 0.25 μ m de espesor Tmax= 280°C. Programa de temperatura. temperatura inicial 40° C /min. Rampa de 10° C /min. hasta 280° C durante 7 min. Inyector *On Colum* temperatura 3° C mayor a la de la columna durante el programa de temperatura. Detector de ionización de flama (FID) temperatura de 280° C.

Gas acarreador: hidrógeno

Gas auxiliar: nitrógeno 30mL/min

Hidrógeno del detector: 30mL/min

Aire del detector: 300mL/min.

PREPARACIÓN DEL ESTANDAR INTERNO

Preparación del estándar interno (E₁₃). Se pesan 112.54 mg de ácido tridecanoico en un tubo de ensayo se le agregan 2 mL de HCl al 5% en metanol y 100 μ L de BF₃ metanol, cubrir con teflón la boca del tubo y cerrar, calentar a 80° C durante 1 hr. , se deja enfriar a temperatura ambiente se le adiciona 5 mL de la mezcla de disolventes tolueno-hexano 80:20 y 9 mL de agua destilada. Tapar con

teflón, cerrar agitar con vortex durante 1 minuto y se extrae la fase orgánica con pipeta Pasteur, transferirlo a un vial. El método de extracción de la fase orgánica se realiza dos veces mas, el disolvente en el vial se evapora con nitrógeno gaseoso. De este ácido esterificado se pesan 23 mg, depositándolos en un matraz aforado de 100 mL, se afora con la mezcla de disolventes tolueno-hexano 80:20 para tener una concentración final de 0.23 mg/mL.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros fisicoquímicos analizados en la grasa de la almendra de capulín se expresan en la tabla 1. La densidad relativa en la grasa cruda se puede considerar dentro del límite del grupo oleico-linoleico, sin embargo el aceite refinado se encuentra fuera del intervalo del grupo oleico-linoleico. El punto de fusión indica el alto grado de instauración en la grasa cruda y aceite refinado ya que estos datos son negativos. Los valores disminuyen al aumentar las dobles ligaduras, estos se encuentran fuera del intervalo del grupo oleico-linoleico.

El índice de yodo, es uno de los parámetros más importantes para la identificar un aceite, como se puede observar en la tabla 1 los valores de índice de yodo tanto en grasa cruda como aceite refinado son altos, lo que indica un alto contenido de ácidos grasos insaturados, estos valores se encuentran dentro del intervalo del grupo oleico-linoleico; sin embargo si los valores de índice de yodo son analizados de acuerdo a Kirk y Sawyre (1996) estarían incluidos como aceites secantes, lo cual indica que el aceite y grasa se podrían utilizar con otros fines y no solamente para uso alimentario (polímeros, pinturas, lacas, barnices).

Mientras que el Índice de yodo es un buen parámetro para la identificación de grasa, el índice de saponificación proporciona información acerca del peso molecular de los ácidos grasos, el valor de índice de saponificación en la grasa cruda es alto, indicando que contiene ácidos grasos de peso molecular bajo, mientras que el valor del aceite refinado se encuentra por debajo de este último, ya durante el refinado se eliminan ácidos grasos libres de peso molecular bajo, los valores de la grasa y aceite se encuentran dentro del intervalo del grupo oleico-linoleico. El valor de índice de refracción en la grasa cruda es menor que en el aceite refinado, el paso de la luz en la grasa cruda es mayor, los valores de grasa y aceite refinado se encuentran por arriba del intervalo del grupo oleico-linoleico.

El índice de acidez en la grasa cruda proporciona información de la presencia de ácidos grasos libres si se compara con el aceite refinado ya que el valor de este último disminuye, debido al refinamiento ya que se eliminan ácidos grasos libres, reflejado en el índice de saponificación, ninguno de los dos valores se encuentran dentro del grupo oleico-linoleico. En general mas de la mitad de los parámetros fisicoquímicos que se determinaron a la grasa cruda y aceite refinado de la

almendra de capulín no se encuentran dentro del intervalo del grupo oleico-linoico (densidad relativa, punto de fusión, índice de refracción, índice de refracción).

Tabla 1

PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE LA GRASA CRUDA Y
ACEITE REFINADO DE LA ALMENDRA DE CAPULÍN

PARÁMETRO	Grasa cruda	Aceite refinado	Grupo oleico-linoico ^b
Densidad relativa (a 25° C)	0.9298 ± 0.001 ^a	0.9385 ± 0.002 ^a	0.899-0.927
Punto de fusión (Grados centígrados °C)	-16 a -14	-17 a -13	-5 a 29
Índice de yodo ^c (g de I ₂ /100g de aceite)	130 ± 0.261 ^a	150 ± 6.90 ^a	75 a 150 ^c
Índice de saponificación (mg de KOH/g de aceite)	229 ± 3.08 ^a	202 ± 2.3 ^a	170 a 265
Índice de refracción a 25°C	1.488 ± 0.004 ^a	1.490 ± 0.0002 ^a	1.436 a 1.474
Índice de acidez (% Ác.Oleico)	0.74 ± 0.164 ^a	0.56 ± 0.138 ^a	0.50

a - valor promedio ± desviación estándar (n=3)

b .-Datos tomados de Kirk y Sawyre (1996)

c.-Ceras (30, Grasas animales 30-70, Aceites no secantes 80-110, Aceites semi-secantes 80-140 y Aceites secantes 125-200 Datos tomados de Kirk y Sawyre (1996)

Para obtener mas información acerca del tipo de ácidos grasos de la grasa de la almendra de capulín, en especial del ácido graso desconocido, se procedió a analizar la grasa de capulín y de cereza por Espectroscopía de infrarrojo como se observa en la figura 8 y U.V (figura 9) obteniéndose resultados muy similares.

El espectro de infrarrojo solo proporciona información acerca de los grupos funcionales. El análisis de U.V. indica la frecuencia en donde son absorbidos los compuestos de estas grasas, los espectros de la grasa de capulín y cereza de infrarrojo y U.V se traslapan, se puede decir que se trata del mismo compuesto, solo que en diferente concentración reflejada en la longitud de algunas bandas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

esto se podría confirmar con otros análisis. (Cromatografía de gases, Espectroscopía de masas, Resonancia magnética nuclear)

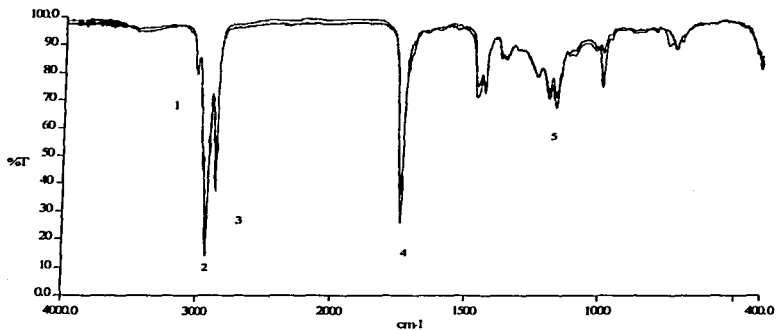


Figura 8 espectro de infrarrojo para ésteres metílicos de los aceites de la almendra de capulín(línea oscura) y cereza(línea tenue). Donde 1 (alquenos) 2,3 (metilos y metilenos) 4 (gpo. Ester) 5 (confirmación de diferentes ésteres)

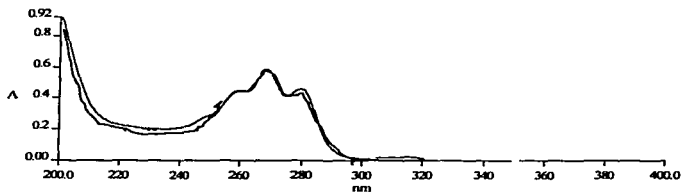


Figura 9 Espectro de UV de los ésteres metílicos de cereza (línea deigada), capulín (línea gruesa)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para confirmar que los perfiles de la grasa de la almendra de capulín y cereza son los mismos, se realizó el análisis por cromatografía de gases a la grasa de almendra de capulín (figura 10) donde cada pico representa un ácido graso.

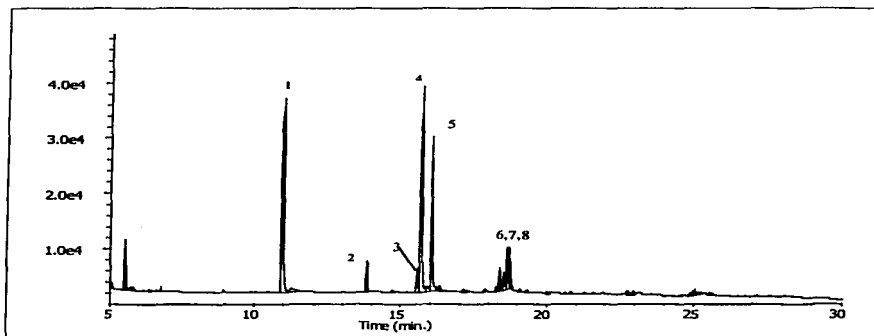


Figura 10 Cromatograma de los ésteres metílicos de grasa de capulín crudo, donde: 1 (Std. Interno E₁₃), 2 (ác. palmítico), 3 (ác. esteárico), 4 (ác. oleico), 5 (ác. linoleico), 6(ác. araquidónico), 7 (ác. eicosapenténico y 8 (ác. erúxico)

En la tabla 2 se describe el perfil de ácidos grasos de la grasa cruda de recién extracción y almacenada, así como el aceite refinado de la almendra de capulín. La grasa cruda tiene niveles considerables de ácido oleico, linoleico además de un alto porcentaje de ácido erúxico. Es importante resaltar la presencia de ácido erúxico, ya que se considera como un ácido graso tóxico, estableciéndose que su presencia no debe de rebasar del 5% del total de ácidos grasos ^{2, 12,16,18}.

El perfil de ácidos grasos en la grasa almacenada se realizó con el fin de verificar si el ácido graso reportado con anterioridad como desconocido²⁹, no fue producto de la oxidación representado en un solo pico, por otro lado se verifica que realmente son un conjunto de ácidos grasos con diferencia en tiempos de

retención muy pequeños (ácido araquidónico, E.PA y erúcico). Dentro del aceite refinado se encuentra un alto contenido de ácido oleico, linoleico y la presencia significativa de ácido vaccénico que no es común y erúcico que a pesar del refinamiento se elimina casi la mitad, pero no se disminuyó lo suficiente para considerarse dentro del límite permisible.

TABLA 2
PERFIL DE ACIDOS GRASOS EN LA GRASA CRUDA RECIENTE,
ALMACENADA^a Y ACEITE REFINADO DE CAPULÍN (expresado en %)

ACIDO GRASO (NOMBRE COMÚN)	# CARBONOS E INSATURACIONES	GRASA CRUDA	GRASA ALMACENADA ^a	ACEITE REFINADO
AC.PALMÍTICO	16:0	5.90	5.43	5.60
AC.ESTEARICO	18:0	4.87	4.39	4.60
AC.OLÉICO	18:1 n9	38.10	39.83	42.08
AC. VACCÉNICO	18:1 n7	0.85	- ^c	1.27
AC. LINOLEICO	18:2 n6	28.57	30.70	32.85
AC.γ-LINOLÉNICO	18:3 n6	0.87	- ^c	1.30
AC.ARAQUIDÓNICO	20:4 n3	4.96	3.46	3.21
AC.EICOSAPENTENOICO	20:5 n3	4.05	3.73	3.16
AC. ERÚCICO ^b	22:1 n9	11.79	12.42	5.88

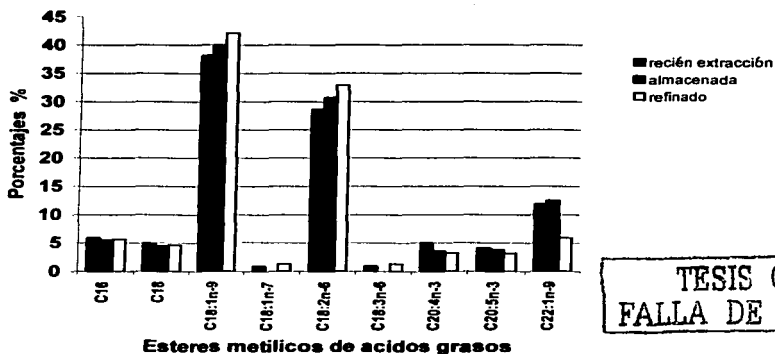
a.- La grasa se mantuvo a -12° C con N₂ gaseoso por 2 meses

b.- El nivel máximo permitido es de 5% datos tomados de Kirk y Sawyre (1996)

c.- No se detecto

En la figura 11 se observa las comparaciones de la grasa de recién extracción, almacenada y aceite refinado, lo mas sobresaliente es la disminución del ácido erúcico en el aceite refinado, en grasa almacenada no se identificaron ácido vaccénico el ácido por ser un isomero del ácido oleico es muy inestable, lo cual provoca que cualquier presencia de oxígeno o luz favorezca la autooxidación, por otro lado el γ-linoléico es muy inestable al tener tres insaturaciones, las cuales lo hacen sensible a la oxidación que es favorecida por las condiciones antes mencionadas.

TESIS CON
FALTA DE OTIGEN



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Figura 11. Porcentajes de ácidos grasos de tres diferentes etapas del aceite de almendra de capulín

Por otro lado en el aceite de capulín refinado aumentan las cantidades de ácido oleico y linolénico ya que el proceso de refinación elimina ácidos grasos libres (disminución en el índice de acidez tabla 1), en este proceso se afectan otros ácidos como es el caso ácido araquidónico, E.P.A y erúxico los cuales disminuyeron ya que por medio del refinamiento específicamente en el desgomado se eliminan los fosfátidos, los cuales contienen una alta cantidad de ácidos grasos poliinsaturados.

La forma de estabilizar la grasa de la almendra de capulín, es reduciendo la oxidación por medio de la hidrogenación, disminuyendo los niveles de ácidos grasos insaturados, en consecuencia también el ácido erúxico, ya que la hidrogenación se transformarían los ácidos insaturados a los saturados, esto con la ayuda de un catalizador selectivo mas afin a las dobles y triples ligaduras.

Al hidrogenar la grasa de almendra de capulín, se observa que el gasto de hidrógeno aumenta con el transcurso del tiempo de hidrogenación, lo cual no sucede con el rendimiento, éste disminuye conforme transcurre la hidrogenación (tabla 3), esto debido a varios factores, el más común son las impurezas de la grasa, que ocasionan que el catalizador se contamine con diversos compuestos los gases utilizados así como de la grasa que se hidrogena, obteniéndose menores rendimientos. Otro factor importante es la transformación del estado físico de la grasa a temperatura ambiente, adquiriéndose mayor solidez ya que los ácidos grasos insaturados se transforman a ácidos grasos saturados lo cual ocasiona que la composición del aceite cambie (polimorfismo) a estructuras de cristales mas definidos. Otro aspecto importante en el rendimiento, es que conforme aumenta el tiempo de hidrogenación, se provoca que el catalizador se adhiera a la grasa y sea difícil separarlos, por tal motivo gran cantidad de la grasa se tiene que desechar con el catalizador.

TABLA 3
 PROCESO DE HIDROGENACIÓN* Y ALGUNAS CARACTERISTICAS DEL PRODUCTO OBTENIDO

TIEMPO DE HIDROGENACIÓN (min)	GASTO DE HIDRÓGENO lb/in ²	RENDIMIENTO (%)	COLOR	TEXTURA
1	4	84	AMARILLENTO	FLUIDO
5	10	70	BLANCO	SEMI-SÓLIDO
10	23	67	BLANCO	SÓLIDO
17	24	63	AMARILLO INTENSO	SÓLIDO
30	37	13	AMARILLO CLARO	SÓLIDO

*. - A una presión de 60 lb/in² a temperatura ambiente y agitación vigorosa

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Para verificar que la hidrogenación produjo el efecto deseado se realizaron dos pruebas fisicoquímicas que fueron el índice de yodo y el punto de fusión. Para el caso del Índice de yodo, este fue inversamente proporcional al tiempo de hidrogenación (como se observa en la tabla 4), lo cual indica que se disminuye el grado de insaturación y en consecuencia es estable a la oxidación o enranciamiento.

TABLA 4
VARIACIÓN DEL PUNTO DE FUSIÓN E ÍNDICE DE YODO CON EL PROCESO DE HIDROGENACIÓN

TIEMPO DE HIDROGENACION (min.)	ÍNDICE DE YODO (g de I ₂ /100 g de aceite)	PUNTO DE FUSION (grados centigrados)
0	130 ± 0.261 ^a	-16 a -14 ^b
1	103 ± 2.00 ^a	5 a 18 ^b
5	100 ± 1.13 ^a	20 a 34 ^b
10	60 ± 7.18 ^a	35 a 46 ^b
17	57 ± 2.00 ^a	38 a 50 ^b
30	20 ± 2.00 ^a	41 a 52 ^b

a.-Valor promedio ± desviación estándar (n=3)

b.-Intervalo obtenido por triplicado

Por otro lado cabe mencionar que se realizó la regresión lineal para las dos pruebas fisicoquímicas (índice de yodo en función del tiempo de hidrogenación), esto se realizó con el fin conocer la influencia del tiempo de hidrogenación en el índice de yodo (figura 12), donde se puede observar que se tiene un buen ajuste,

con lo que se podría predecir el índice de yodo a un tiempo determinado, con la ecuación de la línea recta. No se puede decir lo mismo para la regresión lineal para el punto de fusión contra tiempo de hidrogenación si se realiza una regresión lineal ya que tenemos un pobre ajuste ($r= 0.78$), pero si se realiza un ajuste bilogarítmico (Fig. 13), se podrían predecir los valores de Y.

DEPENDENCIA DEL ÍNDICE DE YODO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE HIDROGENACIÓN

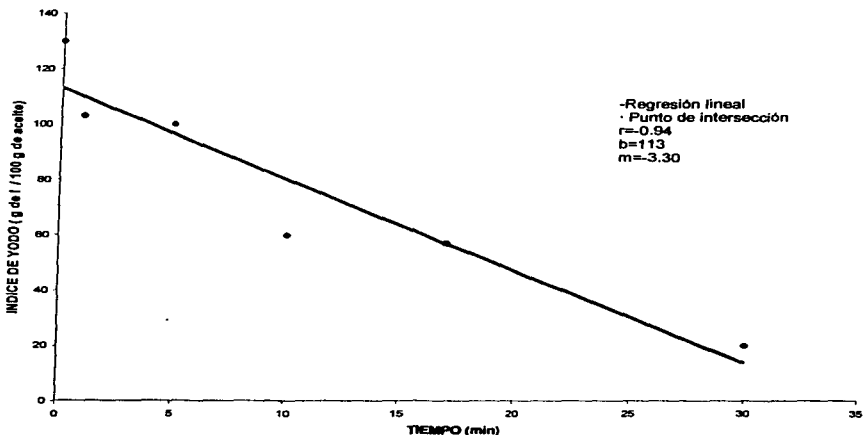


Figura 12 Gráfica de la presentación de la regresión lineal entre el índice de yodo(g de I_2 / 100 g de grasa en función del tiempo de hidrogenación (min)..

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

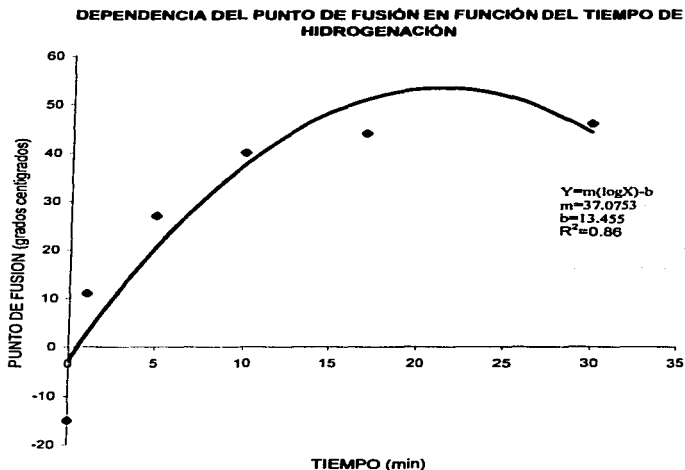


Figura 13 Gráfica en la cual se presenta la regresión lineal entre el punto de fusión (grados centígrados) en función del tiempo de hidrogenación (min)

El punto de fusión es un parámetro fisicoquímico que se debe de manejar con mucho cuidado, ya que se reporta en intervalos y no en un valor puntual preciso, ya que estos intervalos dependerán de la composición de los triglicéridos que conforman los ácidos grasos de la grasa, a medida que aumenta el número de estos ésteres, el punto de fusión se convierte verdaderamente en un intervalo de temperatura, al contener varios ácidos grasos en el triglicérido disminuye el punto de fusión, mientras que en mono o diglicéridos el punto de fusión se aumenta, además el punto de fusión se manejó en muestras fluidas y muestras sólidas.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

En la tabla 5 se observa el perfil de los ácidos grasos en la grasa de capulín sometido a hidrogenación, esto se realizó en 5 diferentes tiempos (1,5,10,17 y 30 minutos), los valores son representados para cada tiempo en porcentajes. En general se puede resaltar que conforme aumentan los tiempos de hidrogenación los ácidos grasos más insaturados son más afines al catalizador por las dobles ligaduras, al transformarse en ácidos grasos saturados, prevaleciendo en mayor cantidad el ácido oleico, estéarico y palmítico, esto se observa mejor a partir de los 10 minutos de hidrogenación ya que los ácidos grasos insaturados linoleico, γ -linolénico, eicosanoico, araquidónico, E.P.A y erúxico son transformados a saturados. Además se producen isómeros del ácido oleico, el ácido vaccénico, la cantidad de este aumenta reflejando un comportamiento logarítmico. A los 17 minutos de hidrogenación alcanza su punto máximo y finalmente disminuye (minuto 30).

En realidad no se conoce lo suficiente del ácido vaccénico, lo único que se puede resaltar es que lo producen los microorganismos a través del ácido oleico y se encuentra en pequeñas cantidades en la mantequilla y en una semilla de origen turco 20% *Draculus vulgaris* (Araceae); se tendrían que realizar estudios más amplios para saber si realmente es apto para el consumo humano en la cantidad en la que se encuentra.

El ácido vaccénico no es el único isómero que se produjo con la hidrogenación, si no que también tenemos la presencia de otro isómero, el cual aparece solamente a los 5 min no se pudo identificar, se detecta en una cantidad relativamente alta (10.8%), este tipo de isómeros son muy frecuentes en las hidrogenaciones, y si se toma en cuenta que la hidrogenación que se realizó fue al azar ya que no se variaron parámetros (temperatura, presión de hidrógeno, agitación, concentración del catalizador) que hacen que la hidrogenación sea dirigida hacia la transformación en la configuración de los ácidos grasos o la formación de un isómero específico.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 5
PERFIL DE ÁCIDOS EN LA GRASA DE CAPULIN SOMETIDA A HIDROGENACIÓN
(Expresada en %)

ÁCIDO GRASO (Nombre común)	NÚMERO DE CARBONOS (insaturaciones)	TIEMPO DE HIDROGENACION (en minutos)					
		0	1	5	10	17	30
AC. PALMÍTICO	16:00	5.9	5.47	4.75	5.09	4.28	5.85
AC. ESTÉARICO	18:00	4.87	8.44	14.41	35.22	29.88	74.48
AC. OLEICO	18:1 n9	38.1	44.84	37.68	44.85	49.73	16.3
ISÓMERO	18:01	- ^a	- ^a	10.83	- ^a	- ^a	- ^a
AC. VACCÉNICO	18:1 n7	0.85	7.92	14.03	14.12	16.09	3.36
AC. LINOLEICO	18:2 n6	28.57	24.91	14.05	- ^a	- ^a	- ^a
AC. γ -LINOLÉNICO	18:3 n6	0.87	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a
AC. EICOSENOICO	20:1 n9	- ^a	2.96	1.97	- ^a	- ^a	- ^a
AC. ARAQUIDÓNICO	20:4 n3	4.96	1.91	0.76	- ^a	- ^a	- ^a
AC. EICOSAPENTENOICO	20:5 n3	4.05	1.91	0.83	- ^a	- ^a	- ^a
AC. ERÚCICO	22:1 n9	11.79	1.42	0.64	- ^a	- ^a	- ^a

a.-No se detectó

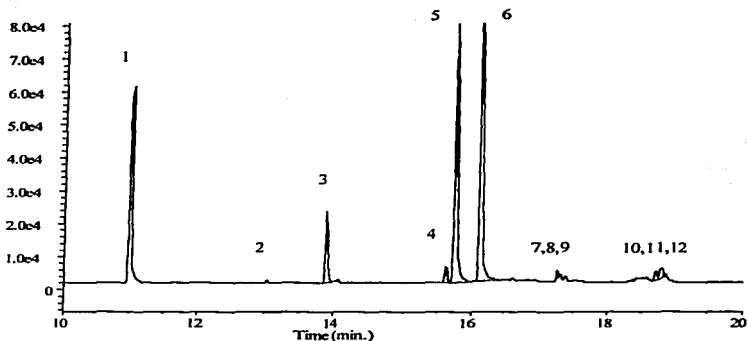


Figura 14 Cromatograma de ésteres metílicos de la grasa de cereza donde: 1(Std. Interno E₁₃), 2(ác. mirístico), 3 (ác.palmitico), 4 (ác. esteárico), 5 (ác. oleico), 6 (ác.linoleico), 7(ác.elcosenoico), 8 (ác. araquidónico), 9 (ác.elcosapentenoico), 10 (ác.erúxico), 11 (ác.docosapentenoico), 12(ác.docosahexanoico)

Con el fin de identificar el ácido graso desconocido de la grasa de almendra de capulín reportado anteriormente²⁹, se procedió a realizar el perfil de ácidos grasos de la grasa de almendra de cereza. En la tabla 6 podemos observar diferencias en el perfil de ácidos grasos de la grasa cruda de la almendra de capulín (*Prunus serotina*) y cereza (*Prunus cerasus*) a diferencia de los espectros de IR y UV (figuras 8 y 9) en las cuales no manifestaron diferencias entre ambas grasas de estas *Rosaceas*. Cabe resaltar la gran proporción de ácido oleico y linoleico por parte de las dos grasas cereza (Fig 14) y capulín, además la grasa de capulín contiene un alto nivel de ácido erúxico (>10%). Sin embargo con el análisis por cromatografía de gases, no fue factible confirmar o rechazar la presencia de ácido eleosteárico que se reporta en la grasa de almendra de cereza⁷: ya que se necesita conseguir el estándar de ácido eleosteárico o realizar otros análisis complementarios a la cromatografía de gases (Resonancia magnética nuclear, Espectroscopia de masas)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 6
PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS PRESENTES EN LA GRASA DE LA ALMENDRA
DE CAPULÍN Y CEREZA

ACIDOS GRASOS (nombre común)	# CARBONOS INSATURACIONES	CEREZA (<i>Prunus cerasus</i>)	CAPULIN (<i>Prunus serotina</i>)
AC. MIRISTICO	14:0	0.268	- ^a
AC. PALMÍTICO	16:0	10.78	5.90
AC. PALMITOLEICO	16:1	- ^a	- ^a
AC. ESTEARICO	18:0	2.43	4.87
AC. OLEICO	18:1 n9	35.63	38.10
AC. VACCÉNICO	18:1 n7	- ^a	0.852
AC. LINOLEICO	18:2 n6	45.76	28.57
AC. LINOLÉNICO	18:3 n3	0.246	- ^a
AC. γ-LINOLÉNICO	18:3 n6	- ^a	0.857
AC. EICOSENOICO	20:1 n9	0.727	- ^a
AC. ARAQUIDÓNICO	20:4 n3	0.918	4.96
AC. EICOSAPENTENOICO	20:5 n3	1.14	4.05
AC. ERÚGICO	22:1 n9	1.42	11.79
AC. DOCOSAPENTENOICO	22:5 n3	0.352	- ^a
AC. DOCOSAHEXANOICO	22:6 n3	0.286	- ^a

a.- No se detectó

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

- De acuerdo a los parámetros fisicoquímicos se pudo caracterizar la grasa cruda de almendra de capulín así como el aceite refinado.
- La grasa de almendra de capulín cruda se puede utilizar con otros fines diferentes a los alimenticios (pinturas, lacas y barnices)
- El perfil de ácidos grasos del aceite de almendra de capulín muestra elevadas concentraciones de ácido oleico, linoleico y en menores concentraciones pero sobresaliente el ácido erúcico.
- Las cantidades de ácido erúcico en la grasa cruda, almacenada y aceite refinado de la almendra de capulín sobrepasa el límite establecido para consumo humano.
- La hidrogenación es una buena herramienta para el procesamiento de la grasa de la almendra de capulín, para poder utilizarla con fines comestibles ya que disminuye sustancialmente el nivel de ácido erúcico.
- Mediante los métodos analíticos actuales se puede identificar el perfil de ácidos grasos en un aceite o grasa.

RECOMENDACIONES

- Para confirmar el efecto del nivel de ácido erúcico se deben de hacer ensayos biológicos de toxicidad aguda y subcrónica
- Hacer ensayos biológicos y de toxicidad con el aceite hidrogenado en 1,5 y 17 minutos para observar el efecto del ácido vaccénico.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Amitabh, C. (1993) Characterization of pit oil from Montmorency cherry (*Prunus serotina*). J.Agric.Food Chem, 4, 879-881.
- 2) Akon, C. and Min, D.(1998) Food Lipid (chemistry, nutrition and biotechnology) Marcel Dekker, pp 465-483, N.Y
- 3) Badui, D. (1999) Química de Alimentos. Editorial Pearson educación, 3ª edición, pág. 233-244. México, D.F.
- 4) Bailes, A. (1979) Aceites y grasas industriales, Editorial Reverte, 1ª edición, pág. 4-58, 474 - 593. Buenos Aires
- 5) Baugh, P. (1993) Gas Chromatography a Practical Approach, Editorial Orlipress, pp 71-74. N.Y
- 6) Belitz, J. (1991) Química de los Alimentos, Editorial Reverte, 2ª edición, pág. 132-206. Barcelona
- 7) Comes, F., Farines, M. and Aumelas, A. (1992) Fatty acid and triacylglycerols of cherry seed oil, JACOS 69, 459-465.
- 8) Elizalde, G. y Rojas, E. (1998) Curso de cromatografía de gases, Dep. de Química Orgánica, Fac. de Química UNAM, Junio. México D.F.
- 9) Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Métodos generales de análisis, 6ª edición, pág. 185-224. México D.F.
- 10) Fessenden, J. y Fessenden, S. (1996) Química orgánica, Gpo. Editorial Iberoamérica, pág. 417-422. N.Y
- 11) Gran, D. (1996) Capillary gas chromatography, John Wiley & Sons, pp 203-208 N.Y.
- 12) Govinid, A. (1981) Naturally occurring food toxicants lipids, Lipid Res. vol 19, Lewis Publishers, Inc. pp 107-119 N.Y
- 13) Guy M, (1994) The national cotton seed Products . Fatty acid seed 12. pp. 1-23
- 14) Hass, M.(2000) Fats lipids and oils, Health world publisher Inc. pp 100-113, San Francisco.
- 15) Hernández, E. (1998) Aspectos nutricionales de los ácidos grasos trans ANIAME. 37, 4-16 México D.F.

- 16) Jamenson, G. (1970) Vegetable fats and oil, Peinhold publishing corporation 2th, pp. 170-173 San Francisco.
- 17) Keilens, M. y Hendrix, M. (1996) Desarrollo en la modificación de grasas características y beneficios de la hidrogenación, interesterificación-fraccionamiento. pág 1-25, México D.F.
- 18) Kirk, S. y Sawyre R. (1996) Composición y análisis de los alimentos de Pearson, Editorial continental, 2ª edición, pág.25-27,65-69,685-708, Barcelona.
- 19) Magaña, A. (1995) Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas de Tabasco Villa Hermosa, pág. 136-146, México.
- 20) Martínez, G. y Chacolo, H. (1994) Los árboles de la ciudad de México, 1ª edición, Editorial Iberoamerica pág. 56-68, México D.F.
- 21) Mc.Nair, H. (1992) Cromatografía de gases.OEA. Editorial Organización de los Estados Americanos, pág 5-40 México D.F.
- 22) Paquot, C. And Hauffenne A. IUPAC, Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives, 7th and Blackwel scientific publication, Oxford, England 1987 Methods 2.321 and 2.301.
- 23) Pennington, T. y Sarukhan, (1998) J. Árboles tropicales de México, Editorial ediciones científicas Universitarias UNAM, 2ª edición, pág. 134-135 358-359, México D.F.
- 24) Percy, T. (1986) The chemical constitution of natural fat, Hildritch Chapman & Hall, pp. 192, 193,380,381. Londres.
- 25) Polienui, H. (2001) Fatty acids, Peinhold publishing, 3ª edition. pp 189-195, California.
- 26) Polunin, O. (1993) Árboles y arbustos de Europa, Editorial ediciones omega. 1ª edición, pág. 94-97 Barcelona.
- 27) Ranken, M. (1988)Manual de industria alimentaria, Editorial acribia, 2ª edición. pag. 119-146, Madrid.
- 28) Sánchez, A. (1981) Flora del valle de México, 3ª edición. pág. 106, 138-139,190-192. México D.F.

- 29) Ruiz, C. (2000) Evaluación bromatológica y toxicológica de la fracción lipídica de la almendra de capulín (*Prunus serotina*) tesis de la Fac. de química UNAM, México
- 30) Zéller, S. (1996) Grasas y aceites alimentarios, Editorial Acribia, 7ª edición, Pág. 1-17, 35-47, Zaragoza.