



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN**

**“IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICA PARA DETERMINACIÓN DE PERFILES DE  
ÁCIDOS GRASOS EN LECHE DE CABRAS ESTABULADAS Y MIXTAS.”**

**TESIS**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**  
**INGENIERA EN ALIMENTOS**  
**PRESENTA:**  
**LINDA TREJO CABALLERO**

**ASESORAS:**  
**DRA. SARA ESTHER VALDÉS MARTÍNEZ**  
**M.EN C. MARÍA OLIVIA NOGUEZ CÓRDOVA**



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.

FACULTAD DE ESTUDIOS

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**



**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la **Tesis:**

Implementación de técnica para determinación de perfiles de ácidos grasos en leche de cabras estabuladas y mixtas

...

Que presenta la pasante: **Linda Trejo Caballero**

Con número de cuenta: **406007061** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**

**“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de noviembre de 2011.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Sara Esther Valdés Martínez	
<b>VOCAL</b>	Dra. María Eugenia Ramírez Ortiz	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Ignacio Martínez Trejo	
<b>1er SUPLENTE</b>	I.A. Sandra Margarita Rueda Enríquez	
<b>2do SUPLENTE</b>	M. en C. Julieta González Sánchez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

## DEDICATORIAS

Mi tesis la dedico con mucho amor y cariño.

A Dios, por permitirme vivir día a día rodeada de personas valiosas y por mostrarme que la vida es ya de por sí hermosa por el simple hecho de existir.

A la UNAM por brindarme la oportunidad de formar parte de la máxima casa de estudios, en ella me forme como profesionista y como persona.

A mi mamá, por apoyarme, brindarme su amor siempre, y ser un digno ejemplo de fortaleza, por que gracias a ella es que he logrado concluir esta meta, por padecer mis tropiezos y compartir mis logros. Te amo Eugenia.

A mi Papá, por creer en mi y estar ahí cuando lo necesite, soy la mujer que soy también gracias a ti, gracias a tus exigencias y motivaciones este es el fruto de todo ese trayecto...Te amo Pedro.

A Gaude, mi angel de la guarda...espero que estés orgulloso de mi, tu fuiste uno de mis motores para seguir adelante a pesar de todo. Nunca te olvidaré.

A mis hermanos: Marú, Martha, Toño, Isi y Pili, gracias por apoyarme, aconsejarme y hacerme crecer como persona, ustedes son muy importantes para mi.

Al profesor José Luis Buenrostro, quien fue un modelo a seguir durante mi estancia en la Universidad, gracias por motivarme y escucharme cuantas veces fue necesario, por estar conmigo en las buenas y en las no tan buenas.

A la Dra. Sara Esther Valdés Martínez, por permitirme ser parte de su equipo de trabajo, por su apoyo incondicional durante el desarrollo de este proyecto.

A la M. en C. Ma. Olivia Noguez Córdova por ser de gran ayuda en el avance y mejora de mi proyecto, por compartir conmigo sus conocimientos y enriquecer los míos.

A todos mis amigos: muchas gracias por estar conmigo en todo este tiempo donde he vivido momentos felices y tristes, recuerden que siempre los llevaré en mi corazón donde quiera que este.

Por último, me resta decir, que sin ustedes a mi lado no lo hubiera logrado, tantos desvelos sirvieron de algo y aquí esta el fruto. Les agradezco a todos ustedes con el alma el haber llegado a mi vida y el compartir tantos momentos. Es un placer recorrer el camino junto a personas tan valiosas como lo son mi familia, mis amigos y mis profesores. ¡Gracias!

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>6</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>8</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>9</b>
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b>	<b>9</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>10</b>
<b>1. Antecedentes</b>	<b>10</b>
<b>1.1. Cromatografía de gases</b>	<b>10</b>
1.1.1. Historia	12
1.1.2. Diagrama típico de un cromatógrafo de gases	12
1.1.3. Modelo del proceso cromatográfico	14
1.1.4. Tipos de cromatografía de gases	15
1.1.5. Características que debe poseer la muestra	16
1.1.6. Gas acarreador (fase móvil) y gases auxiliares	21
1.1.7. Componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases	22
1.1.7.1. Horno cromatográfico	23
1.1.7.2. Puerto de inyección	24
1.1.7.3. Detectores	25
1.1.7.4. Columnas	30
1.1.7.4.1 Columnas empaquetadas (rellenas)	30
1.1.7.4.2 Columnas capilares (abiertas)	31
1.1.7.5. Electrómetro, amplificador o dispositivo de salida de la señal cromatográfica.	31
1.1.7.5.1. Cromatograma	32
<b>1.2. Leche</b>	<b>32</b>
1.2.1. Concepto	32
1.2.2. Leche de cabra	33
1.2.3. Cabras estabuladas y no estabuladas	33
1.2.4. Composición química	34
1.2.4.1. Lípidos	37

1.2.4.1.1.	Ácidos grasos	39
1.2.4.1.2.	Importancia de los ácidos grasos en alimentos	40
1.2.4.1.3.	Condiciones que desnaturalizan la grasa láctea	41
<b>MARCO EXPERIMENTAL</b>		<b>42</b>
<b>ANÁLISIS GENERAL</b>		<b>91</b>
<b>CONCLUSIONES</b>		<b>93</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		<b>95</b>
<b>ANEXO</b>		<b>98</b>

## INTRODUCCIÓN

El presente proyecto incluye de manera general los antecedentes, es decir, el marco teórico indispensable para tener las bases, o un mayor conocimiento del mismo, siendo esta la parte en la que se incluyen conceptos tan básicos como lo que es la cromatografía de gases, los tipos existentes de esta técnica analítica, el modelo del proceso cromatográfico, las características que debe tener la muestra para poder llevar a cabo un análisis cromatográfico, los componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases y la descripción de los mismos, incluso los tipos de inyección de una muestra, así como información respecto a las cabras, su alimentación, leche propia de estos animales y su composición química, entre otros puntos importantes para el desarrollo del proyecto.

La cromatografía de gases es básicamente la separación de una mezcla de compuestos en componentes separados, es una herramienta de análisis para la detección y cuantificación de los compuestos inmersos dentro de una mezcla, en este caso para la determinación de perfiles de ácidos grasos provenientes de la leche de cabra la cual ha estado adquiriendo mayor mercado a últimas fechas, con lo cual el objetivo de este proyecto es conocer el perfil de estos componentes procedentes de la leche de cabra así como el efecto de la alimentación en la composición en ácidos grasos. La importancia de determinar ácidos grasos en alimentos radica en conocer la cantidad de ácidos grasos que proveen, los cuales cumplen funciones dentro del organismo, tales como el aporte energético y su participación en el metabolismo.

Por otro lado, la fase experimental se divide en tres etapas, siendo las siguientes: 1) Procedimiento para el arranque del equipo y elaboración de un método que permita llevar a cabo el montaje de la técnica, 2) Montaje de la técnica para determinación de perfiles de ácidos grasos y 3) Análisis cromatográfico de leche de cabras estabuladas y mixtas (estabuladas - no estabuladas) para la determinación de perfiles de ácidos grasos. Cabe mencionar que en esta etapa se



obtuvieron cromatogramas que indican la presencia de ácidos grasos específicos así como la concentración en la que estaban presentes en cada una de las muestras preparadas. Finalmente se incluyen los resultados obtenidos en tal proyecto, así como su análisis y las conclusiones a las que se llegaron una vez terminada la experimentación.

## JUSTIFICACIÓN

En primer lugar, debe considerarse que México es el segundo país de la región que más productos lácteos ingiere ([www.promexico.gob.mx](http://www.promexico.gob.mx)). El 19% del valor de la producción de la industria alimentaria en México corresponde a la elaboración de productos lácteos tales como yogurt, quesos, bebidas lácteas fermentadas, cremas, mantequillas, cajetas, dulces de leche, entre otros.

Por otro lado, debe considerarse la importancia metabólica que tienen los ácidos grasos así como los aportes energéticos al organismo de las personas que consuman productos procedentes de leche de cabra.

La leche de cabra ha sido estudiada, sin embargo hay pocos estudios relacionados con los perfiles de ácidos grasos de la leche a lo largo de la lactación y como el tipo de alimentación que estas reciben afecta la composición de la leche y en específico el perfil de ácidos grasos de la misma, por lo cual resulta importante estudiarla, considerando que es primordial conocer los factores que influyen en una mayor producción de ácidos grasos.

Es importante también saber que los ácidos grasos son sustancias necesarias para nuestra salud. Son, junto con los azúcares, la principal fuente de energía para nuestro organismo y que hay más de veinte ácidos grasos diferentes que intervienen en nuestro metabolismo, que mayoritariamente provienen de la dieta.

En conclusión la elaboración de este proyecto tiene la finalidad de estudiar los efectos que tiene la alimentación, para determinar si la composición de la dieta, tiene efecto sobre el perfil de los ácidos grasos de la grasa proveniente de leche de cabra durante todo el periodo de lactación.

Tomando en cuenta lo ya mencionado, los objetivos del presente estudio fueron:

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la alimentación en el perfil de ácidos grasos mediante una técnica cromatográfica en leche de cabras estabuladas y mixtas (estabuladas – no estabuladas).

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1.- Desarrollar un procedimiento de operación del Cromatógrafo de Gases Varian 3800 mediante el apoyo de manuales, para la implementación de una técnica para determinación de perfiles de ácidos grasos procedentes de grasa butírica de leche de cabra.

2.- Desarrollar una técnica cromatográfica para la determinación de perfiles de ácidos grasos provenientes de leche de cabras estabuladas y mixtas.

3.-Validar la técnica para determinación de perfiles de ácidos grasos mediante una curva de calibración con ácidos grasos estándar, para determinar su confiabilidad.

4.- Implementar la técnica para la determinación del perfil de ácidos grasos de leche proveniente de cabras estabuladas y mixtas, mediante cromatografía de gases para facilitar el estudio de compuestos procedentes de grasa láctea.

5.-Analizar el efecto de la alimentación de las cabras estabuladas y mixtas mediante un análisis de varianza para un modelo factorial con observaciones repetidas, para determinar cual sistema de alimentación favorece la mayor producción de ácidos grasos.

## MARCO TEÓRICO

### 2. Antecedentes

#### 2.1. Cromatografía de gases

La denominación de cromatografía proviene de dos términos griegos, y los cuales literalmente significa “escribir en colores”, los términos son: *cromatos* que significa color y *grafía* sufijo que significa *escritura, descripción*. Esta definición se dio por el primer uso que tuvo esta técnica de separación, que fue realizada por el químico ruso Tswett, quien en 1903 separó mediante ella extractos vegetales coloreados.

La cromatografía es uno de los métodos físico-químicos de separación de más amplia utilización en el mundo, ya que cubre prácticamente todos los campos de análisis de las ciencias (Noa, 2005).

La cromatografía es la separación de una mezcla de compuestos (solutos) en componentes separados. Según la IUPAC, al ser separados los componentes de la muestra, estos se distribuyen en dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras que la otra es móvil. Con la separación de la muestra en los componentes individuales, es más fácil de identificar (cualificar) y medir la cantidad (cuantificar) de los componentes diversos de la muestra.

Existen numerosas técnicas e instrumentos correspondientes para la separación de compuestos, como la cromatografía en papel, en capa fina etc., y la cromatografía de gases (CG) es una de estas técnicas.

De acuerdo a la naturaleza de las fases se pueden distinguir diferentes tipos de separaciones cromatográficas que se muestran en la Tabla 1.

Fases		Estacionaria	
		Sólida	Líquida
Móvil	Gaseosa	Cromatografía gas-sólido	Cromatografía gas-líquido
	Líquida	Cromatografía de adsorción en columna y cromatografía en capa fina	Cromatografía líquido-líquido o de partición (cromatografía de papel, fase reversa)

**Tabla 1. Tipos de separaciones cromatográficas existentes (Noa, 2005)**

Se estima que de 10-20% de los compuestos conocidos pueden ser analizados por cromatografía de gases, entre ellos se incluyen compuestos orgánicos ya que la fabricación de éstos constituye la parte más extensa de la industria química, la industria petroquímica, en particular, utiliza muy ampliamente esta técnica (Walton, 1983). Para que sea conveniente realizar un análisis con CG, el compuesto debe tener suficiente volatilidad y estabilidad térmica (J&W, 1998/99).

De todas las técnicas analíticas, la CG ofrece la mayor selección de los componentes instrumentales. Si bien esta característica contribuye a la enorme potencia y flexibilidad de la técnica, presenta al analista con la tarea de enormes proporciones a menudo de la selección y operación de la configuración de hardware óptima para adaptarse a un análisis particular.

Una buena comprensión de la elección de los componentes y su funcionamiento es un requisito previo para un análisis cromatográfico de éxito (Baugh, 1993).

Por otro lado, en el estudio de ácidos grasos en específico para la determinación simultánea de ésteres metílicos, la CG es una de las técnicas más empleadas, su

exactitud es limitada por la complejidad del proceso de calibración, la pureza de las sustancias empleadas como estándares, los cambios en los estándares como consecuencia de su manipulación y almacenamiento, la imposibilidad para identificar y cuantificar todos los ésteres en la muestra y la complejidad de las muestras por sí mismas (Narváez,2005).

### **2.1.1. Historia**

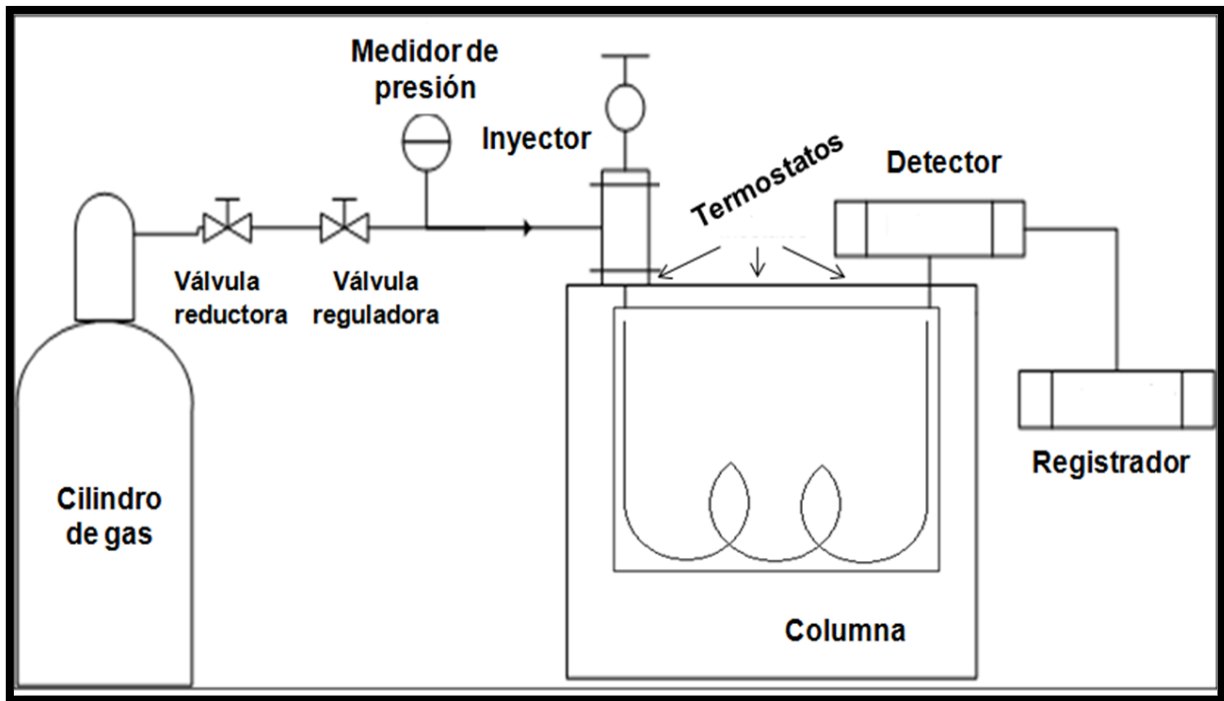
Desde la década de los 50, en la que Martin y James en el año 1952 descubrieron la cromatografía gas-líquido hasta el desarrollo cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC, por sus siglas en inglés), la cromatografía de gases puede considerarse como el método de separación más importante.

En la actualidad la CG es una técnica analítica usada rutinariamente en multitud de laboratorios universitarios, de investigación o industriales, debido a su alta resolución, sensibilidad y selectividad (Hernández, 2002).

### **2.1.2. Diagrama típico de un cromatógrafo de gases**

Desde un punto de vista funcional, un equipo de cromatografía de gases está compuesto de tres módulos específicos: un inyector, una columna y un detector, reunidos en una única instalación (Rouessac, 2003).

Los componentes básicos del cromatógrafo son los siguientes que se muestran en la Figura1:



**Figura 1. Diagrama típico de un cromatógrafo de gases (Hernández, 2002)**

Las partes que conforman al equipo son (Hernández, 2002):

- Fuente de gas portador con los correspondientes reguladores y medidores de presión.
- Sistema para introducción de las muestras (inyector)
- Columna cromatográfica, con un medidor de caudal a la salida.
- Detector.
- Sistema para el tratamiento de datos y registrador.

Una descripción mas detallada de las partes del equipo y su función en el mismo se mencionará posteriormente.

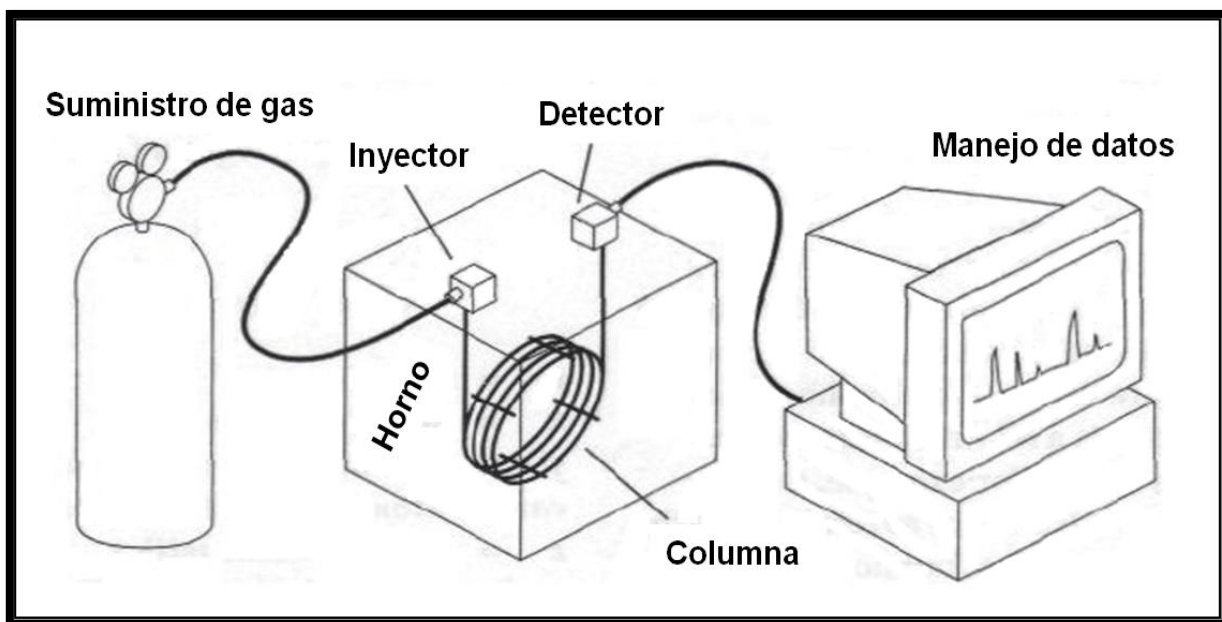
### **2.1.3. Modelo del proceso cromatográfico.**

En términos generales uno de los gases (llamado gas acarreador o portador) desemboca en el inyector, a través de la columna y, a continuación en el detector. Una muestra se introduce en el inyector por lo general mediante una jeringa o un dispositivo de muestreo exterior. El inyector por lo general se calienta a 150-250 ° C lo que hace que la muestra pueda vaporizar los solutos volátiles y a su vez transportados en la columna por el gas portador. La columna se mantiene en un horno de temperatura controlada. El viaje de solutos a través de la columna va a cierta velocidad que es principalmente determinada por sus propiedades físicas, y la temperatura y la composición de la columna.

El viaje a través de diversos solutos en la columna se da a ritmos diferentes. El soluto más rápido en movimiento sale (eluye) primero de la columna y a continuación, es seguido por el resto de solutos en el orden correspondiente. A medida que cada soluto eluye de la columna y que entra en el detector, este se calienta dando lugar a una señal electrónica que se genera en la interacción del soluto con el detector.

El tamaño de la señal es registrado por un sistema de datos y en función del tiempo transcurrido para producir un cromatograma. El cromatograma ideal tiene picos muy juntos, sin superposición de los picos. Los picos que se superponen se llaman coeluidos, esto significa que eluyeron casi al mismo tiempo, encimándose la respuesta de los compuestos en el detector. La Figura 2 describe gráficamente lo anterior explicado (J&W, 1998/99).





**Figura 2. Modelo cromatográfico (J&W, 1998/99).**

#### **2.1.4. Tipos de cromatografía de gases**

Existen dos tipos de cromatografía en fase gaseosa:

- Cromatografía gas-sólido (CGS)
- Cromatografía gas-líquido (CGL)

El tipo de cromatografía depende según se utilice una fase estacionaria sólida o líquida (sobre un soporte sólido, o directamente sobre la pared interna de la columna), respectivamente (Hernández, 2002).

Las principales diferencias entre cromatografía de gases y cromatografía de líquidos se muestran a continuación en la tabla 2.

<b>Característica</b>	<b>Cromatografía de gases</b>	<b>Cromatografía de líquidos</b>
Interacción con moléculas	Baja	Alta
Interacción fase móvil- analito	No	Si
Función fase móvil	Transporte	Transporte-interacción moléculas
Difusión	Alta	Baja
Resolución	-----	Mejor
Equilibrio de separación	Más rápido	-----
Velocidad de separación	Alta	Baja
Tensión superficial	No	Si
Separación sin columna	No	Si
Densidad	Baja	Alta
Fuerza centrífuga como fuerza motriz de la fase móvil	No	Si
Viscosidad.	Baja	Alta

**Tabla 2. Diferencias principales entre cromatografía de gases y cromatografía de líquidos.**

#### **2.1.5. Características que debe poseer la muestra**

La separación de compuestos sin transformaciones previas, para lograr una buena separación se requiere que las muestras cumplan las condiciones siguientes:

- Que sean compuestos en estado gaseoso, o bien en estado líquido y sólido, con presiones de vapor de por lo menos 0.3 mm de mercurio a la temperatura máxima de la fase estacionaria empleada.
- Que no se descompongan a las temperaturas de trabajo de la separación.
- Que no se adsorban o descompongan y que sean detectables a la salida

Antes de someter a cualquier sustancia a su análisis cromatográfico, se requiere conocer algunas de sus propiedades físico-químicas (Hernández, 2002).

A continuación en la tabla 3 se mencionan cada una de ellas así como la importancia de conocer dichas propiedades, considerando que definen y/o determinan al llevar a cabo un análisis cromatográfico.

<b>Propiedades físicoquímicas</b>	<b>Importancia</b>
Estructura química del soluto y peso molecular	Definen en gran medida que tipo de técnica de separación cromatográfica se deberá utilizar, por ejemplo la técnica de cromatografía de gases se emplea generalmente para sustancias de bajo peso molecular (1 a 200-400 Da).
Punto de ebullición	Determina el estado físico de la sustancia, o sea, si ésta es volátil a temperatura ambiente o superior podrá ser analizada mediante cromatografía de gases u otra técnica cromatográfica sin problema alguno.
Estabilidad térmica	La cromatografía de gases será utilizable siempre y cuando la sustancia a analizar sea estable térmicamente a la temperatura de operación del cromatógrafo de gases. Si se descompone con la temperatura, es necesario aplicar antes del análisis un proceso de derivatización para convertirla en su derivado volátil, o aplicar otro tipo de separación cromatográfica, como HPLC.

**Tabla 3. Propiedades físicoquímicas importantes para la realización de un análisis cromatográfico (Noa, 2005).**

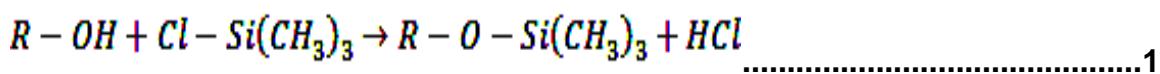
Polaridad y solubilidad	De acuerdo con su polaridad, una sustancia podrá ser soluble en disolventes apolares o polares. La solubilidad define si un compuesto es analizable o no mediante técnicas cromatográficas. Las sustancias insolubles no son generalmente analizables directamente, ya que se requiere aplicar previamente un proceso de derivatización o hidrólisis, que permite convertirlas en derivados solubles.
Toxicidad	Si la toxicidad de la sustancia por analizar es elevada, no se recomienda la aplicación manual de grandes concentraciones ni utilizar sistemas de detección no destructivos. En los casos necesarios, se deben implementar las medidas de seguridad en la manipulación de ésta, apropiadas para prevenir la ocurrencia de perjuicios en la salud del analista.
Concentraciones a detectar y estado físico de la sustancia de interés	La concentración utilizada y el sustrato de interés determinan el proceso de preparación de la muestra que se aplicará. Salvo excepciones, es indispensable purificar en algún grado la muestra para su aplicación a cualquier sistema cromatográfico, especialmente si las concentraciones a medir son bajas, es decir, a un nivel de residuos.
Complejidad de la separación	Si la separación implica numerosas sustancias con características comunes o no, ello define las condiciones de operación del equipo utilizado: las separaciones relativamente simples son menos exigentes en este sentido, y pueden aplicarse diversas variantes de acuerdo a la conveniencia o factibilidad del usuario, en tanto las separaciones de muchas sustancias en un mismo análisis requieren de condiciones de separación muy definidas y optimizadas.

**Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas importantes para la realización de un análisis cromatográfico (Continuación...) (Noa, 2005).**

Las muestras a separar por cromatografía de gases pueden ser de diferente naturaleza y estado físico pero necesariamente han de pasarse al estado de vapor. En cuanto al tamaño de la muestra, se dice que para las columnas analíticas ordinarias, varia entre unas pocas décimas 1 µl y 20 µl. Si la columna empleada es rellena, el volumen a inyectar será de unos 20 µl, y en el caso de las columnas capilares dicha cantidad es igual o menor de 1 µl (Hernández, 2002).

Por otra parte algunas muestras que no poseen las propiedades mencionadas en la tabla 3 así que requieren para su análisis de una derivatización, puede estimarse que entre el 80 y 90% de los compuestos orgánicos no son adecuados para su determinación directa por cromatografía de gases debido a su baja volatilidad. Tal el es caso de una gran cantidad de muestras biológicas, como proteínas, hidratos de carbono, aminoácidos, etc. Una solución a esta aplicabilidad limitada está en la preparación de derivados adecuados, para lo que se utilizan normalmente los métodos de sililación, acilación y esterificación.

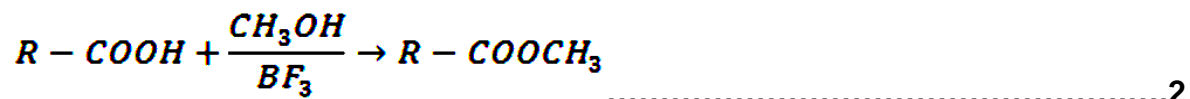
La sililación es la técnica de derivatización más empleada, y consiste en la sustitución de algún átomo de hidrógeno activo del analito por un grupo trialquilsilil, tal como  $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ , así por ejemplo, la reacción entre un alcohol y trimetilclorosilano transcurre como se muestra en la ec. 1.



Estos procesos se llevan a cabo normalmente usando piridina como disolvente y suelen ocurrir muy rápidamente.

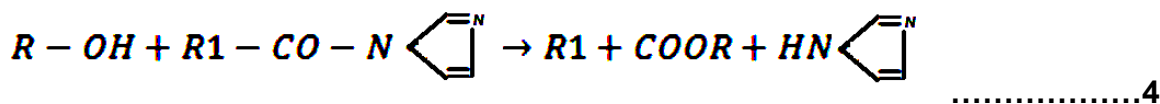
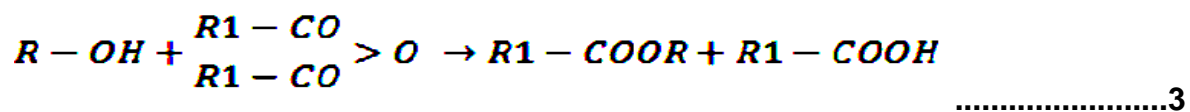
La esterificación consiste generalmente en la formación de ésteres metílicos, para lo cual se pueden emplear distintos reactivos, utilizándose con frecuencia trifluoruro de boro en metanol, aunque no en todos los casos, también puede

emplearse metóxido de sodio en metanol, la reacción se lleva a cabo como se muestra en la ec. 2.



La esterificación es empleada para modificar los lípidos y de esa manera lograr las propiedades químicas y físicas que se desean en los aceites y grasas empleadas en la industria de alimentos (Badui, 2006; Texpa, 2009).

La acilación con anhídrido de ácido o con acil-imidazoles se usa para transformar alcoholes y aminos primarias y secundarias en derivados estables (Hernández, 2002). En aplicaciones cromatográficas, la reacción de acilación se usa principalmente para convertir las clases anteriores de compuestos en derivados que sean más adecuados para cromatografía, o que dan una mayor respuesta en la detección cromatográfica que el compuesto original. La reacción se puede dar de las siguientes dos formas:



Los métodos de derivatización tiene un inconveniente y ese reside en que se requiere una cantidad de muestra relativamente grande y puede haber perdida de alguno de los componentes de interés (Hernández, 2002).

### **2.1.6. Gas acarreador (fase móvil) y gases auxiliares**

Los gases se suministran normalmente por cilindros a presión, aunque los dispositivos comerciales están disponibles para proporcionar aire o nitrógeno filtrado de la atmósfera y el hidrógeno por medios químicos o electrolíticos. Es de suma importancia que todos los gases sean tan limpios como sea posible ya que cualquier tipo de contaminación puede interferir con la cromatografía o hacer señales de ruido del detector (Baugh, 1993).

Los suministros de gas deben estar conectados al cromatógrafo con tubería de cobre. Se debe evitar el tubo de polímero ya que el oxígeno de la atmósfera es capaz de penetrar las paredes de la tubería y entrar en la corriente de gas en su interior. Si eso sucediese el oxígeno degradará la mayor parte de la fase estacionaria de la columna a temperaturas de funcionamiento elevadas (Baugh, 1993).

El gas portador, que actúa como fase móvil y transporta los componentes de la muestra a través de la columna hasta el detector, deberá ser una especie químicamente inerte respecto al analito y relativamente barata, ya que es expulsado a la atmósfera al final del proceso cromatográfico. En la práctica, los gases más utilizados son: helio, nitrógeno, hidrógeno, argón y dióxido de carbono, especialmente los tres primeros.

La elección de la fase móvil se hace normalmente en orden al costo, disponibilidad e inercia química, así como también en función del detector utilizado y, ocasionalmente, en cuanto a la eficacia de la separación. En este sentido, con nitrógeno suelen obtenerse separaciones más eficaces que con hidrógeno o helio, lo cual puede ser debido a su menor coeficiente de difusión. Por otro lado, el empleo de hidrógeno presenta algunos problemas ya que es altamente inflamable, puede formar mezclas explosivas con el aire y a veces puede reaccionar con los

componentes de la muestra para originar estructuras hidrogenadas (Hernández, 2002).

El gas acarreador debe estar exento de trazas de hidrocarburos, de vapor de agua y de oxígeno, ya que se comportan como impurezas perjudiciales para las fases estacionarias y pueden reducir la sensibilidad de algunos detectores (Rouessac, 2003).

Es importante considerar que los gases deben ser seleccionados según los requisitos del tipo de detector utilizado, también deben ser inertes, estar libres de agua y completamente puros (Mendoza, 2010).

### **2.1.7. Componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases**

Un cromatógrafo de gases es esencialmente un dispositivo que permite que una pequeña cantidad de muestra sea introducida en un sistema de entrada donde se convierte en vapor y se pasa a una columna cromatográfica. Para proporcionar las condiciones adecuadas para la cromatografía, la columna se mantiene dentro de un horno y un flujo de gas portador inerte a través de ésta. Un detector se instala en la salida de la columna para supervisar los componentes separados que eluyen de la columna. El detector proporciona una señal eléctrica que se amplifica y alimenta a una grabación o un dispositivo de procesamiento de datos de la cual pueden obtenerse resultados significativos.

El rendimiento del cromatógrafo, y por lo tanto la calidad, de los resultados generados, no sólo depende del diseño de los componentes, sino también de lo bien que se controlan, en particular con respecto a las temperaturas y las tasas de flujo de gas. La mayoría de cromatógrafos modernos, utilizan un microprocesador en el corazón del sistema de control. El uso de esta tecnología tiene el beneficio añadido de una interfaz de usuario mejorada, una mejor capacidad de



programación, almacenamiento de método, un mayor control externo, y el diagnóstico inteligente del sistema (Baugh, 1993).

### **2.1.7.1. Horno cromatográfico**

La partición de solutos entre el gas acarreador y la fase estacionaria es altamente dependiente de la temperatura del sistema cromatográfico. Si bien este es un atributo deseable, al permitir condiciones que pueden ser adaptadas a un análisis particular, también impone exigencias extremas a la temperatura del sistema que controla si la separación a alcanzar es repetible.

La columna cromatográfica se debe calentar de manera uniforme y como resultado de esto, la forma más eficaz de que las columnas tengan la calefacción requerida es utilizar un horno de baño de aire con control de temperatura.

Los hornos cromatográficos son en esencia cajas que contienen una resistencia, en el cual se monta la columna cromatográfica. El calor de la resistencia se distribuye en todo el horno por medio de un ventilador de circulación de gran alcance. Se requiere de una buena circulación del aire para mantener la temperatura uniforme a lo largo de toda la longitud de la columna. Un sensor de temperatura se encuentra en una posición cuidadosamente seleccionada en el horno. La salida del sensor se introduce en el sistema de control de la temperatura del horno en el que se compara con la temperatura y espera volver a los ajustes realizados de forma automática (normalmente utilizando un microprocesador) a la temperatura del elemento de calefacción, según proceda.

Los hornos están disponibles en una gama de tamaños. Los hornos grandes ofrecen un mejor acceso y son capaces de aceptar más inyectores, detectores, etc., sin embargo, tienen una mayor capacidad térmica y por ello su calefacción o

enfriamiento puede ser más lenta y será más difícil el mantener una temperatura uniforme en el horno (Baugh, 1993).

### **2.1.7.2. Puerto de inyección**

Es aquí donde se introduce la muestra al sistema donde se vaporiza con disturbios mínimos al sistema y se transporta a la columna por el gas acarreador. La inyección de la muestra puede ser con microjeringa de modo manual o inyección con automuestrador. En el caso de la inyección manual la muestra debe ser inyectada rápidamente con la finalidad de obtener picos reproducibles, delgados y afilados (Mendoza, 2010).

Existen distintas técnicas de carga de muestra utilizando la microjeringa, las cuales son las siguientes:

- Sólo muestra.
- Muestra-aire: en este caso se absorbe una cantidad igual de muestra como de aire. Por ejemplo, si se absorbe 1  $\mu$ l de muestra y posteriormente 1  $\mu$ l de aire.
- Aire-muestra-aire: Casi igual que en el caso anterior, a diferencia de que se inyecta la misma cantidad de aire antes y después de la muestra que se pretende analizar.
- Disolvente-aire-muestra-aire: se repite el procedimiento de la técnica de inyección anterior, pero debe considerarse la misma cantidad de disolvente antes del aire y la muestra.

La finalidad de introducir aire en la jeringa es para que el porcentaje de error sea menor, por que de ese modo se tiene una cantidad más precisa a la que se pretende inyectar. Así mismo para realizar la inyección debe introducirse la jeringa en el puerto de inyección hasta la altura de la septa. Cabe mencionar que la técnica de inyección más apropiada es la de aire-muestra-aire (Mendoza, 2010).

El propósito del puerto de inyección es permitir la inyección de una muestra en el cromatógrafo de gases de una forma reproducible y repetible. La muestra debe ser representativa y sin ningún cambio químico específico.

Los puertos de inyección son los siguientes (Mendoza, 2010):

- Puerto de inyección megaboro.
- Puerto de inyección empacado con flujo purga.
- Puerto capilar Split/Splitless: El modo split se emplea cuando se pretende realizar análisis de componentes mayoritarios, y el modo splitless para análisis de componentes traza.
- Puerto capilar solo Split.
- Control electrónico.

Teóricamente suele considerarse que la muestra se introduce en el sistema cromatográfico de forma que ocupa una capa de espesor infinitamente pequeño. Sin embargo, en la realidad, la muestra ocupa un volumen finito, y a veces relativamente grande, tal como sucede en cromatografía de gases, donde un microlitro de una sustancia líquida inyectada puede ocupar un volumen del orden de 0.5 ml cuando se vaporiza a 250°C, y ello representa varios centímetros de longitud de columna (Hernández, 2002).

### **2.1.7.3. Detectores**

Hay muchos tipos de detectores que se utilizan en cromatografía. La razón de esta proliferación se refiere a la necesidad de sistemas de detección para proporcionar respuestas selectivas a determinados grupos de compuestos para simplificar los cromatogramas de muestras complejas. Detectores diferentes dan diferentes tipos de selectividad.

Según el grado de selectividad se pueden clasificar de la siguiente manera:

a) no selectivos (o universal): detectores de respuesta a todos los compuestos que difieren del gas portador.

b) selectivos: detectores de respuesta a una serie de compuestos que tienen algunas sustancias químicas comunes o la propiedad física.

c) detectores específicos: responden a un compuesto químico único (Baugh, 1993).

Algunos detectores son universales, es decir, son sensibles a prácticamente todos los compuestos eluidos, y otros son mucho más sensibles a un tipo particular de moléculas. Un detector específico que sólo ve algunos tipos de productos, dará un cromatograma más sencillo.

Podemos dividir los detectores en dos grupos: los que sólo conducen a valores de tiempo de retención, y los que proporcionan, entre otras cosas, informaciones estructurales de los compuestos detectados. Todos los detectores dan una respuesta que depende de la concentración molar o másica de la disolución en el gas portador.

Es posible conectar varios detectores en serie (Rouessac, 2003). Algunos de los detectores más empleados se describen en la tabla 4.

## DETECTORES

### Detector de ionización de flama (FID)

- **Principio:** Se basa en la conductividad eléctrica de los gases. A temperatura y presión normal, los gases se comportan como aislantes, pero si en su interior existen átomos o moléculas cargadas eléctricamente, o electrones libres, se produce un incremento en la conductividad.
- **Ventajas:** Prácticamente considerado universal para compuestos orgánicos es el detector por excelencia de la cromatografía de gases actual. Es fácil de usar, ofrece una respuesta muy estable.
- **Recomendación de aplicación:** Compuestos orgánicos volátiles que además de contener carbono, contienen elementos como hidrógeno, oxígeno, flúor, cloro, bromo, azufre o nitrógeno, por ejemplo benceno, tolueno, nitrobenzeno, isopreno, pineno, limoneno y muchos otros más.

### Detector de conductividad térmica (TCD)

- **Principio:** Se fundamenta en la medida de las variaciones de la conductividad térmica de las mezclas gaseosas en función de su composición. Este detector es capaz de detectar cualquier compuesto que tiene una conductividad térmica diferente a la del gas portador.
- **Ventajas:** Este detector universal, utilizado desde los comienzos de la cromatografía de gases, se ha mostrado durante mucho tiempo su gran utilidad, es relativamente sencillo y no muy caro. Su miniaturización permite utilizarlo con columnas capilares. Es de sensibilidad media si se compara con otros detectores.
- **Recomendación de aplicación:** Es universal, responde adecuadamente a una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos.

### Detector termoiónico (NPD)

- **Principio:** Su fundamento se basa en un pequeño cilindro de cerámica, dopado con una sal alcalina (por ejemplo:  $\text{Rb}_2\text{SO}_4$ ) al que se le aplica una tensión eléctrica para mantener un pequeño plasma (800°C) alimentado

por una mezcla aire/hidrógeno. A diferencia del FID no se trata de una verdadera llama.

- **Ventajas:** Muy sensible a los compuestos nitrogenados o fosforados.
- **Recomendación de aplicación:** Se aplica básicamente en la detección de compuestos nitrogenados (N) o fosforados (P).

#### **Detector de captura de electrones (ECD)**

- **Principio:** Una corriente de nitrógeno ionizada por un haz de electrones generados por medio de una fuente radiactiva  $\beta$  de energía débil, circula entre dos electrodos sometidos a una diferencia de potencial (ddp) de una centena de voltios, si las moléculas contienen un halógeno (F, Cl, Br) atraviesan la zona entre los dos electrodos, captan una parte de electrones para formar iones mucho más pesados y por lo tanto más móviles.
- **Ventajas:** Selectivo y extremadamente sensible a las moléculas que contienen átomos muy electronegativos, tales como haluros.
- **Recomendación de aplicación:** un detector popular para la determinación de trazas de pesticidas y residuos de halocarbonos en muestras ambientales (Hernández, 2002). Sensible a derivados halogenados de compuestos orgánicos por lo cual es muy utilizado en el análisis de plaguicidas clorados.

#### **Detector de fotoionización (PID)**

- **Principio:** Su fundamento se basa en irradiar el compuesto eluido con una lámpara UV que emita fotones muy energéticos.
- **Ventajas:** Es bastante selectivo y funciona a más de 400°C y que no es destructivo, la ionización es reversible y sólo afecta una pequeña fracción de las moléculas de cada compuesto.
- **Recomendación de aplicación:** Apto tanto para hidrocarburos como para derivados que contienen S o P.

#### **Detector de conductividad electrolítica (HECD)**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Principio:</b> El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno o aire (según el modo de operación) y pasa a un tubo de reacción catalítica climatizada donde las reacciones de oxidación o reducción ocurren. Los productos de la reacción se pasan (a través de un depurador en algunos casos) en una celda de conductividad a través de un electrolito (por ejemplo, propanol) se bombea. La conductividad del electrolito es continuamente monitoreado por dos electrodos. Como los productos de reacción del analito se disuelven en el electrolito, su conductividad cambia y se produce una respuesta.</li> <li>▪ <b>Ventajas:</b> Los diferentes modos de operación son posibles gracias a la selección de los gases de reacción apropiada, el catalizador, temperatura de reacción, lavador de gases en línea, y el electrolito.</li> <li>• <b>Recomendación de aplicación:</b> Se utiliza en el modo de halógenos, para la determinación de los halocarbonos volátiles en el agua utilizando purga y trampa de extracción.</li> </ul>
<p><b>Detector de llama fotométrica (FPD):</b></p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Principio:</b> El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y se quema en una celda a través del cual el aire pasa, los compuestos liberados de la columna son quemados en la llama. Algunas de las formas de luminiscencia de estas especies que emiten luz en una longitud de onda característica de los elementos específicos que contienen. Esta emisión es controlada por un tubo fotomultiplicador que proporciona la señal cromatográfica.</li> <li>• <b>Ventajas:</b> ofrece una respuesta altamente específica con compuestos que contengan fósforo o azufre.</li> <li>• <b>Recomendación de aplicación:</b> Aplicaciones ambientales en pesticidas o herbicidas que contengan estos elementos P o S. Se ha utilizado para detección de moléculas que tienen boro, arsénico, germanio, selenio, cromo y estaño.</li> </ul>

**Tabla 4. Detectores empleados en Cromatografía (Baugh, 1993; Hernández, 2002; Rouessac, 2003).**

#### **2.1.7.4. Columnas**

La columna constituye la parte esencial del sistema cromatográfico y de la que depende el éxito o fracaso de los análisis. En ella está contenida la fase estacionaria, que determina la selectividad y la eficacia de las separaciones (Hernández, 2002). Existen dos tipos de columnas, las columnas empaquetadas (o columnas rellenas) y las columnas capilares (o columnas abiertas), y ambas tienen diferente eficacia. En las columnas empaquetadas, la fase estacionaria está inmobilizada por la impregnación o por reacción química con el soporte poroso, mientras que en las columnas capilares una fina capa de fase estacionaria se deposita o une mediante un enlace químico en la superficie interna de la columna (Rouessac, 2003). Hasta hace poco tiempo, la mayor parte de las cromatografías de gases se realizaban con columnas empaquetadas o de relleno, mientras que actualmente se utilizan más las columnas tubulares abiertas o capilares (Hernández, 2002).

A continuación se describen las columnas empaquetadas y las columnas capilares:

##### **1.1.7.4.1 Columnas empaquetadas (rellenas)**

Estas columnas de un diámetro de  $1/8$  ó  $1/4$  de pulgada (3.18 o 6.35 mm) y de 1 a 3 m de largo, se construyen utilizando como armazón un tubo de acero o de vidrio, cuya pared interna se trata para evitar posibles efectos catalíticos sobre la muestra. Son capaces de soportar un caudal de gas portador que va de 10 a 40 ml/ min. Contienen un soporte poroso e inerte. Se trata de sólidos que tienen una superficie específica de 2 a 8 m<sup>2</sup>/g que presentan bajo formas de granos esféricos de alrededor de 0.2 mm. de diámetro. Se obtienen a partir de tierra de diatomeas, silicatos fósiles cuyo esqueleto es químicamente comparable al de la sílice amorfa, y de un aglomerante (Rouessac, 2003).



#### **1.1.7.4.2 Columnas capilares (abiertas)**

Son generalmente de sílice fundida muy pura de alta calidad obtenida por combustión de tetraclorosilano ( $\text{SiCl}_4$ ) en una atmosfera de oxígeno. El diámetro interno del tubo que sirve para fabricar estas columnas varía de 100 a 500  $\mu\text{m}$  ( $\pm 10 \mu\text{m}$ ), su espesor es de 50  $\mu\text{m}$  y su longitud de 12 a 100 m. Estas columnas se hacen menos frágiles gracias a un revestimiento externo de un polímero térmicamente estable, lo que permite enrollarlas en un soporte metálico ligero de forma circular. Algunos fabricantes proponen también columnas hechas a partir de un capilar metálico (aluminio, níquel o acero) que permiten, con ciertas fases estacionarias, temperaturas del orden de  $450^\circ\text{C}$ . La pared interna de la columna sufre varios tratamientos previos para acondicionarla para una buena inmovilización de la fase estacionaria. La fase estacionaria recubre la pared interna de un espesor controlado de 0.5 a 5  $\mu\text{m}$ . Se puede tratar de un simple depósito o mejor, de una unión por enlaces covalentes eventualmente seguidos de una reticulación del polímero sobre la pared interna. Este depósito puede obtenerse bien por evaporación de una disolución o por polimerización al entrar en contacto con la pared (Rouessac, 2003).

#### **2.1.7.5. Electrómetro, amplificador o dispositivo de salida de la señal cromatográfica.**

Es un accesorio registrador que permite obtener automáticamente curvas, haciendo posible ver los resultados del análisis. El registrador se halla conectado al detector, recibiendo de éste una señal en forma de corriente eléctrica muy débil que aumenta o que disminuye cuando un sustrato pasa por el detector. Si se hace pasar esta corriente por una resistencia eléctrica de valor elevado, se establece entre los extremos de ésta una diferencia de potencial, siendo esta diferencia de potencial la que rige los movimientos que darán lugar a la imagen proyectada en la

computadora. La línea dibujada por el registrador es, por lo tanto, la representación gráfica de dicha diferencia de potencial en función del tiempo. Mediante una calibración adecuada este gráfico da la concentración de sustrato en función del volumen del gas de arrastre que ha circulado. La posición de un pico particular en el eje de tiempos da la identidad de la sustancia que produce dicho pico, el área encerrada bajo el pico, entre la curva trazada y la línea base, da la cantidad de la sustancia en cuestión (Walton, 1978).

#### **2.1.7.5.1. Cromatograma**

El cromatograma es una imagen que traduce visualmente en una pantalla o en un papel la evolución, en función del tiempo, de un parámetro que depende de la concentración instantánea del soluto a la salida de la columna. El tiempo de elución se lleva al eje de las abscisas, y la intensidad de la señal detectada, al eje de ordenadas. La línea base corresponde al trazado obtenido en ausencia del compuesto eluido. La separación se completa cuando el cromatograma presenta tantos picos que vuelven a la línea base como compuestos hay en la mezcla de análisis.

Un constituyente se caracteriza por su tiempo de retención ( $t_R$ ) que representa el tiempo transcurrido en el instante de inyección y el determinado cuando el pico correspondiente en el cromatograma alcanza su máximo (Rouessac, 2003).

## **2.2. Leche**

### **2.2.1. Concepto**

La leche es el producto integral proveniente del ordeño total e ininterrumpido de una hembra lechera, sana, bien alimentada y no agotada, recogida de forma limpia y que no contiene calostro (Luquet, 1991).

Debido a su alto valor nutritivo, ya que sus componentes se encuentran en la forma y en las proporciones adecuadas las leches, en general, representan el alimento más balanceado y apropiado para las crías. Además de proporcionar prácticamente todos los nutrientes necesarios, también contienen diferentes sustancias que actúan como parte fundamental de los sistemas inmunológico y de protección de un recién nacido. De la misma manera, las leches de otros mamíferos (vaca, camella, oveja, cabra, etcétera) contienen compuestos exclusivos para cada especie que son utilizados biológicamente de una manera única por sus respectivas crías (Badui, 2006). El término leche se emplea para referirse a la leche de vaca, cuando la leche es de otra especie animal, se menciona el origen, como leche de cabra.

### **2.2.2. Leche de cabra**

Es la secreción natural posparto de la glándula mamaria de la cabra después del calostro, sin substracción alguna de sus componentes y sin tratamiento térmico (NMX-F-728-COFOCALEC-2007).

### **2.2.3. Cabras estabuladas y no estabuladas**

La diferencia entre las cabras estabuladas y las no estabuladas radica en como son criadas las cabras, en específico al tipo de alimentación que se les provee a dichos animales. Las cabras estabuladas son aquellas que son criadas en establos y alimentadas dentro del mismo, en el caso de las cabras no estabuladas son aquellas que son alimentadas al libre pastoreo. Cuando las cabras son alimentadas dentro y fuera del establo se denominan mixtas. Las cabras consumen alimentos entre el 3 al 7 % de su peso corporal por día. En cuanto a agua, consumen más o menos del 3 al 10 % de su peso corporal, si son lecheras o comen pasto seco necesitan consumir más agua. Pueden consumir pasturas naturales o pasturas artificiales.

- Pasturas naturales: las cabras consumen más de 449 especies diferentes de plantas.
- Pasturas artificiales más recomendadas: Concentrados de alfalfa, pastos, sorgo forrajero, caña de azúcar, centeno, avena (Sucin, 2003).

#### 2.2.4. Composición química

La composición química de la leche de cabra se muestra en la tabla 5 que aparece a continuación:

<b>Componentes principales de 100 gramos de porción comestible</b>	
<b>Componente</b>	<b>Gramos</b>
Agua	86.6
Proteína	3.7
Grasa	3.9
Hidratos de carbono	4.2
Ácidos orgánicos	0.1
Sales minerales	0.8

**Tabla 5. Componentes principales de 100g de porción comestible de leche de cabra. Composición química de los alimentos (Souci-Fachmann-Kraut, 1998)**

La tabla 6 muestra la composición detallada de 100 gramos de una porción comestible, de sales minerales, vitaminas, aminoácidos, hidratos de carbono, lípidos y finalmente otros componentes, que en este caso solo se menciona al ácido cítrico.

Composición detallada de 100 gramos de porción comestible									
Lípidos		Hidratos de carbono		Aminoácidos		Vitaminas		Sales minerales	
855 mg	Ácido palmítico	4200 mg	Lactosa	130 mg	Arginina	60 µg	Vitamina A	40 mg	Sodio
415 mg	Ácido esteárico	Otros componentes		80 mg	Histidina	35 µg	Carotenos	175 mg	Potasio
930 mg	Ácido oleico	130 mg	Ácido cítrico	230 mg	Isoleucina	250 ng	Vitamina D	14 mg	Magnesio
100 mg	Ácido linoleico			390 mg	Leucina	100 µg	Vitamina E	130 mg	Calcio
35 mg	Acido linolénico			340 mg	Lisina	50 µg	Vitamina B <sub>1</sub>	11 µg	Manganeso
10 mg	Colesterol			95 mg	Metionina	150 µg	Vitamina B <sub>2</sub>	60 µg	Hierro
				180 mg	Fenilalanina	300 µg	Nicotinamida	25 µg	Cobre
				230 mg	Treonina	330 µg	Ácido pantoténico	300 µg	Zinc
				50 mg	Triptófano	40 µg	Vitamina B <sub>6</sub>	105 mg	Fosforo
				240 mg	Tirosina	4 µg	Biotina	135 mg	Cloro
				280 mg	Valina	1 µg	Ácido Fólico	15 µg	Flúor
						70 ng	Vitamina B <sub>12</sub>	4 µg	Yodo
						2 mg	Vitamina C		

Tabla 6. Composición detallada de 100 gramos de porción comestible (Souci-Fachmann-Kraut, 1998).

#### 2.2.4.1. Lípidos

Las grasas son los ésteres de cadenas más o menos largas de ácidos grasos con el alcohol trivalente glicerol (triglicéridos). Hasta el momento se han encontrado en la naturaleza aproximadamente unos 200 tipos de ácidos grasos, de los cuales sólo pocos aparecen en las grasas alimenticias en concentraciones considerables (Baltes, 2006).

La palabra lípido proviene del griego *lipos*, que significa grasa y cuya aplicación no ha sido bien establecida; originalmente se definía como una sustancia insoluble en agua, pero soluble en disolventes orgánicos como cloroformo, hexano y éter de petróleo; con esta consideración de solubilidad, existen muchos otros compuestos, como terpenos, vitaminas y carotenoides que están incluidos.

Los lípidos son grupos de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque también contienen fósforo y nitrógeno. Desempeñan muchas funciones en los tejidos, además de que son la fuente energética más importante, ya que cada gramo genera 9 kcal (38.2 kJ) porque en su estructura contienen más átomos de carbono que producen 4 kcal/g (17 kJ/g) cada uno; muchos cumplen una actividad biológica, unos son parte estructural de las membranas celulares y de los sistemas de transporte de diversos nutrimentos, otros son ácidos grasos indispensables, vitaminas y hormonas. También actúan como aislantes naturales en el hombre y en los animales, ya que, por ser malos conductores del calor, el tejido adiposo mantiene estable la temperatura del organismo (Badui, 2006).

Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos, y contribuyen a la textura y, en general, a las propiedades sensoriales y de nutrición.

El número de sustancias consideradas como lípidos es muy grande y la manera de clasificarla resulta difícil; existen diversos métodos para hacerlo, cada uno con sus propias ventajas y desventajas, pero todos se basan en las propiedades físicas o químicas que los caracterizan (Badui, 2006).

A pesar de las discrepancias que existen sobre la naturaleza química de los lípidos, la clasificación con base en la solubilidad es la más vigente. El número de sustancias consideradas como lípidos es muy grande y la manera de clasificarlas resulta en ocasiones difícil; existen diversos métodos para este fin, cada uno con sus propias ventajas y desventajas, pero todos ellos basados en las propiedades físicas o químicas que los caracterizan.

La clasificación más común es dividirlo en tres grandes grupos tal como lo muestra la tabla 7. Los simples abarcan las grasas y los aceites y por lo tanto resultan ser los más abundantes e importantes para el tecnólogo de alimentos. Los lípidos compuestos son aquellos que están integrados por una parte lípidica y otra que no lo es, unidas covalentemente; destacan los fosfolípidos y los glucolípidos, en ocasiones también se incluyen las lipoproteínas, pero dado que sus integrantes (proteínas y lípidos) se enlazan hidrófoba y electrostáticamente, algunos autores no los consideran en este grupo.

<b>Lípidos simples:</b> Ésteres de ácidos grasos y alcoholes.	<b>Grasas y aceites</b>		<b>Ceras</b>
	Ésteres de glicerol con ácidos monocarboxílicos. Ej.: aceite de oliva		Ésteres de alcoholes monohidroxilados y ácidos grasos. Ej.: cera de abeja
<b>Lípidos compuestos:</b> Lípidos simples conjugados con moléculas no lipídicas.	<b>Fosfoglicéridos</b>	<b>Glucolípidos</b>	<b>Lipoproteínas</b>
	Ésteres que contienen ácido fosfórico en lugar de un ácido graso, combinado con una base de nitrógeno. Ej.: Glicerofosfolípido.	Compuestos de hidratos de carbono, ácidos grasos y esfingonisol, llamados también cerebrósidos. Ej.: Glucoesfingolípido:	Integradas por lípidos y proteínas. Ej.: Lipoproteínas sanguíneas.
<b>Lípidos asociados</b>	Ácidos grasos, pigmentos, vitaminas liposolubles, esteroides, hidrocarburos. Ej.: Retinol (Vitamina A).		

**Tabla 7. Clasificación de los lípidos.**

En la leche de cabra la influencia de los factores alimentarios es importante, dado que la glándula mamaria extrae de la sangre los ácidos grasos de cadena larga que contiene, y que provienen de la alimentación, de las reservas corporales, de las biosíntesis en ciertos órganos (en particular el hígado) y también de los microorganismos del rumen. Más de la mitad de los ácidos grasos ramificados C<sub>15</sub> a C<sub>17</sub> de la leche proceden de esta última vía.

Los lípidos alimentarios se hidrolizan en el rumen, y los ácidos grasos sufren una hidrogenación por la acción de los microorganismos. La concentración de grasa



disminuye 3 puntos cuando las cabras ingieren un régimen pobre en materias grasas, lo que se debe a la reducción de la secreción de los C<sub>18</sub>.

El aumento de la concentración de grasa y la mayor concentración de los ácidos grasos C<sub>18</sub> que tienen lugar en el momento del inicio del pastoreo al aire libre son factores ligados a la riqueza de la hierba en ácidos grasos de cadena larga.

La distribución de forrajes y granulados a los animales aumenta el porcentaje de ácidos grasos insaturados y disminuye el de los ácidos grasos saturados. La disminución del nivel energético ingerido va reduciendo la cantidad de heno y manteniendo estable la cantidad de alimentos concentrados consumidos que a su vez hace que disminuya claramente la producción de leche, de materias grasas y de compuestos nitrogenados, y que se eleve el porcentaje de ácidos grasos cortos y de C<sub>18</sub> mientras que los C<sub>10</sub> y C<sub>16</sub>, salvo el C<sub>14</sub> tienden a disminuir (Luquet, 1991).

#### **2.2.4.1.1. Ácidos grasos**

Con este término se conoce cualquier ácido monocarboxílico alifático que pueda liberarse por hidrólisis de las grasas naturales (Fennema, 1985). Los ácidos grasos pueden ser saturados o insaturados. Cuando los átomos de carbono de un ácido graso están unidos por un enlace simple se dice que es un ácido graso saturado. Una o varias dobles ligaduras en la cadena del ácido graso indican un ácido graso insaturado o no saturado. En el caso de que un ácido este unido a una molécula de glicerol se forma un monoacilglicérido, cuando son dos ácidos grasos se le llama diacilglicérido y cuando son tres ácidos grasos unidos a la molécula de glicerol se les denomina triacilglicéridos (Texpa, 2009). La tabla 8 que se presenta a continuación muestra los ácidos grasos saturados, más comunes en alimentos.

Abreviatura	Nombre común	Nombre científico	Fórmula
4:0	Butírico	Butanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH
6:0	Caproico	Hexanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH
8:0	Caprílico	Octanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
10:0	Cáprico	Decanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH
12:0	Láurico	Dodecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH
14:0	Mirístico	Tetradecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
16:0	Palmítico	Hexadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH
18:0	Estearico	Octadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH

**Tabla 8. Ácidos grasos saturados (Badui, 1999; Fennema, 1985; Texpa, 2009)**

En la Tabla 9, se muestran los ácidos grasos poliinsaturados más comunes en alimentos.

Abreviatura	Nombre común	Nombre científico	Fórmula
16:1	Palmitoleico	9-hexadecanoico	C <sub>15</sub> H <sub>29</sub> COOH
18:1	Oleico	9-octadecanoico	C <sub>17</sub> H <sub>33</sub> COOH
18:2	Linoleico	9,12-octadecadienoico	C <sub>17</sub> H <sub>31</sub> COOH
18:3	Linolénico	9,12,15 octadecatrienoico	C <sub>17</sub> H <sub>29</sub> COOH
20:4	Araquidónico	5, 8, 11, 14-eicosatetraenoico	C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> COOH

**Tabla 9. Ácidos grasos poliinsaturados (Badui, 1999; Fennema, 1985; Texpa, 2009)**

#### 2.2.4.1.2. Importancia de los ácidos grasos en alimentos

Los lípidos de los alimentos se consumen en forma de grasas visibles, que han sido separadas de fuentes animales o vegetales, como la mantequilla, la manteca y las grasas plastificantes, o como componentes de alimentos básicos, como la leche, el queso y la carne. La fuente más importante cuantitativamente de aceites

vegetales son las semillas de soya, algodón, cacahuate, árboles como la palma, así como la oliva y el coco.

Los lípidos de la dieta juegan un papel importante en la nutrición. Suministran calorías y ácidos grasos esenciales, son vehículo de vitaminas y mejoran la sensación bucal de los alimentos, pero durante décadas han venido siendo objeto de controversia con respecto a su toxicidad, su contribución a la obesidad y al riesgo a sufrir ciertas enfermedades (Fennema, 1985).

#### **2.2.4.1.3. Condiciones que desnaturalizan la grasa láctea**

Las grasas pueden sufrir diferentes cambios químicos conocidos como rancidez que además de reducir el valor nutritivo del alimento, producen compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables.

Las principales causas de deterioro de la grasa son los procesos de hidrólisis y la oxidación. En el deterioro de la grasa intervienen factores tanto endógenos como exógenos, tales como temperatura ambiental, potencial redox, composición química del alimento, condiciones de almacenamiento, la luz, entre otros.

Uno de los fenómenos que afectan a las grasas es la lipólisis, la cual es la hidrólisis total o parcial de los enlaces éster de los lípidos que se produce por la acción de enzimas lipolíticas (lipasas) y en ciertas condiciones, por efecto de las altas temperaturas se da la liberación de ácidos grasos (Texpa, 2009).

La hidrólisis de los enlaces éster de los lípidos (lipólisis) se produce por acción enzimática o por calentamiento en presencia de agua y tiene por consecuencia la liberación de ácidos grasos. Las grasas de los tejidos de los animales vivos están prácticamente exentas de ácidos grasos libres. Pueden formarse, sin embargo, por vía enzimática tras el sacrificio de los animales. Las grasas comestibles de los animales de abasto no suelen refinarse, por lo que es importante fundirlas

tempranamente. Las temperaturas a las que suele efectuarse la fusión inactivan los enzimas responsables de la hidrólisis lipídica. La liberación, por hidrólisis, de ácidos grasos de cadena corta es la responsable de la aparición de sabores a rancio (rancidez hidrolítica) en la leche cruda (Fennema, 1985).

Por otro lado también se presenta en algunos casos la auto oxidación, en sí la oxidación de los lípidos es una de las causas principales del deterioro de los alimentos. Produce profundas preocupaciones económicas en la industria alimentaria, porque da lugar a la aparición de sabores y olores anómalos, generalmente denominados “a rancio” (enranciamiento oxidativo), en los alimentos que contienen grasas (Fennema, 1985), todo esto aunado a la generación de compuestos tóxicos.

## **MARCO EXPERIMENTAL**

### **CUADRO METODOLÓGICO**

Para poder desarrollar la etapa experimental fue necesario establecer desde un inicio los objetivos, a continuación se presenta en la figura 3 en la cual se mencionan tales objetivos y la secuencia en que estos se cumplieron:

**Objetivo general:** Implementar la técnica de cromatografía de gases para determinar perfiles de ácidos grasos en grasa butírica, la que será aplicada en leche de cabras estabuladas y mixtas (estabuladas-no estabuladas).

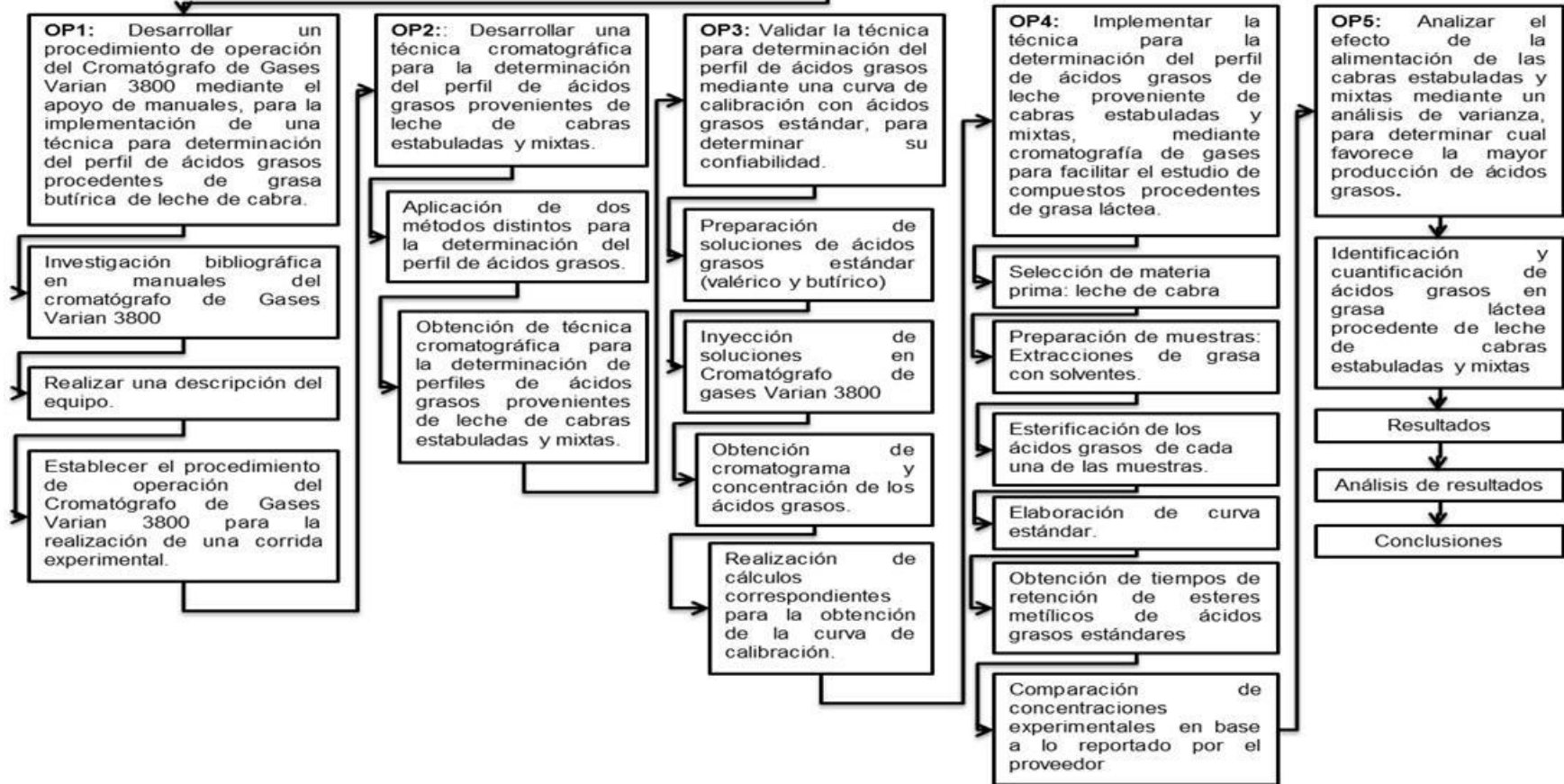


Figura 3. Cuadro metodológico.

## **Objetivo Particular 1**

Para el cumplimiento de este objetivo se consultaron los manuales del Cromatógrafo de Gases Varian 3800 (Varian, 1998), y se desarrolló un procedimiento, que incluye la operación del equipo, así como la edición del método para poder llevar a cabo las corridas correspondientes, pero previo a eso fue necesario incluir una descripción del equipo para tener un mayor conocimiento del mismo y sus partes.

### **Descripción del equipo**

**Equipo:** Cromatógrafo de Gases Varian 3800.

**Ubicación:** Nave 2000 de la carrera de Ingeniería en Alimentos que se encuentra en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1.

A continuación se muestran las vistas del Cromatógrafo de Gases, siendo estas la superior, frontal y lateral. Del mismo modo se muestran las medidas del equipo en centímetros.

**1.1 Vista Superior:** Aquí se puede apreciar el puerto de inyección donde se inyectan las muestras para el análisis de las mismas, también se aprecia el interruptor para encender o apagar el equipo.

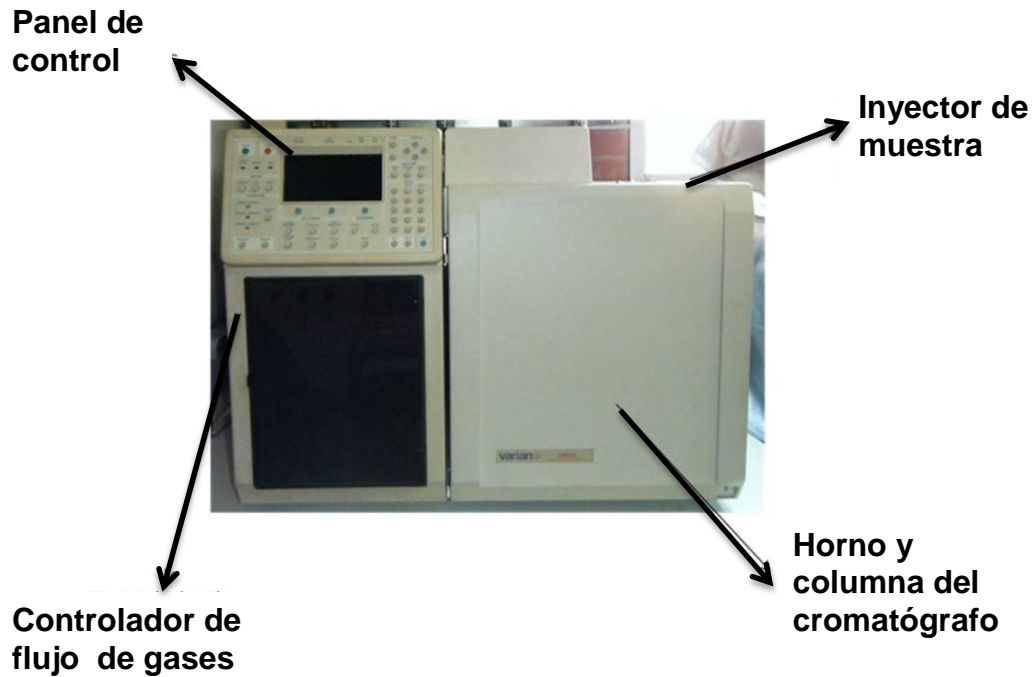
**Interruptor para  
encendido /apagado del  
equipo**



**Puerto de  
inyección**

**Figura 4. Vista superior del Cromatógrafo de Gases.**

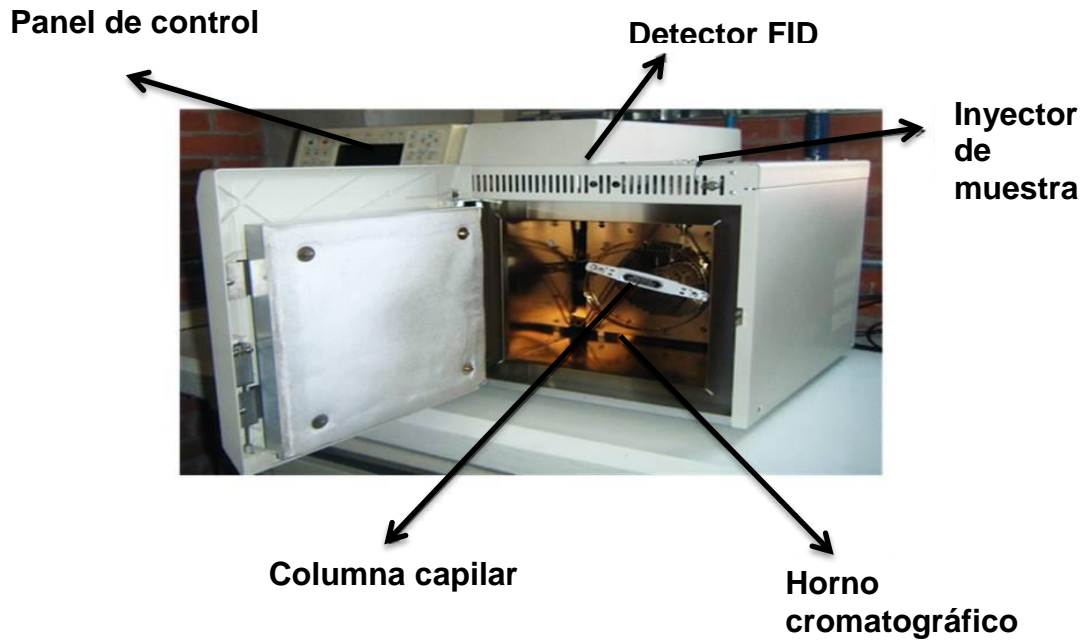
**1.2 Vista frontal:** en la siguiente fotografía se ve el Cromatógrafo de Gases de frente, del lado izquierdo se encuentra el panel de control, en el cual se pueden ingresar las condiciones cuando el equipo no esta conectado a una computadora, debajo de dicho panel esta el controlador de flujo de los gases. Hacia el lado derecho, se ubica el horno del equipo, dentro del cual esta montada la columna capilar. En la parte superior como ya se menciono esta el puerto de inyección por donde la muestra ingresa hacia la columna.



**Figura 5. Vista frontal del Cromatógrafo de Gases.**

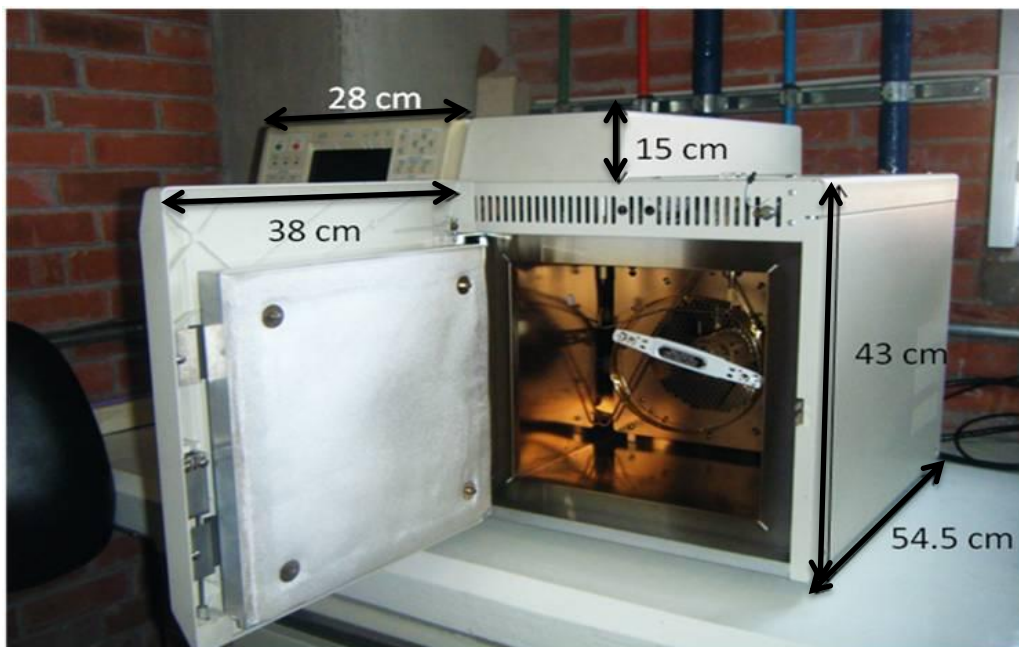
**1.3 Vista lateral:** En la figura 6 se observa el panel de control nuevamente, el puerto de inyección y la columna ubicada dentro del horno y aunque no se ve el detector, debe saberse que la salida de la columna hacia el lado izquierdo es la que va a hacia el detector por eso es que se indica su ubicación, en cuanto a la entrada de la columna, esta se ubica del lado derecho donde esta el puerto de inyección.





**Figura 6. Vista lateral del Cromatógrafo de Gases.**

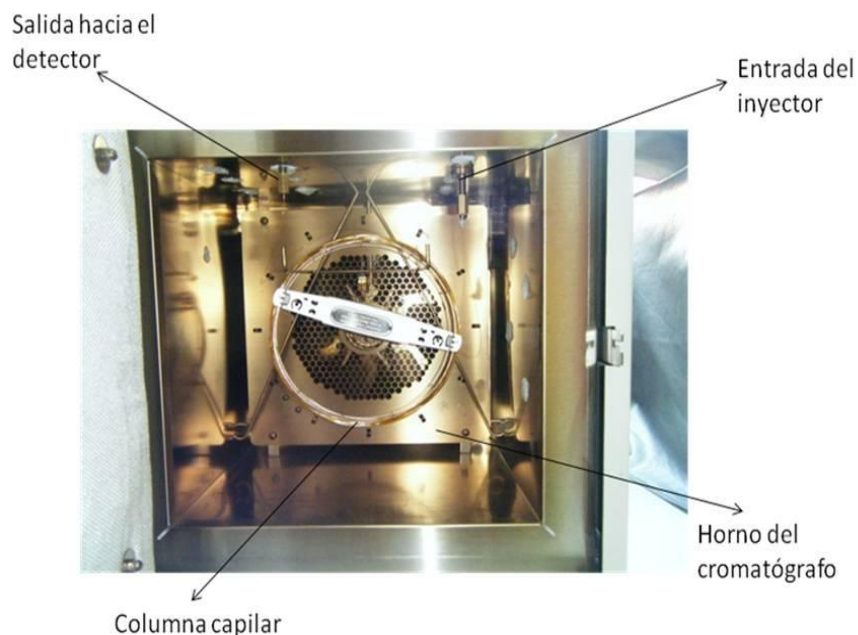
**1.4 Medidas del equipo:** en la figura 7 se muestra el equipo con sus dimensiones: en altura, ancho y largo de cada una de sus partes.



**Figura 7. Dimensiones en cm. del Cromatógrafo de Gases.**

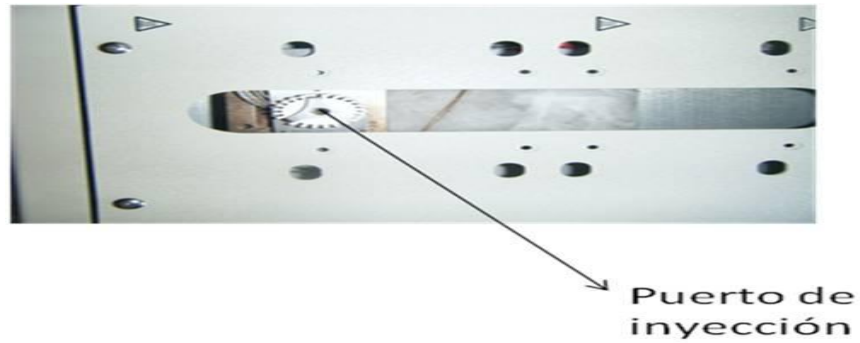
**2. Componentes fundamentales:** En esta sección se mencionan y describen de manera general las partes que componen al equipo.

**2.1 Columna:** En esta, se lleva a cabo la separación de los componentes de la muestra. La columna de este equipo es capilar, en la cual se encuentra depositada la fase estacionaria, dicha fase y de acuerdo al tipo de análisis, puede ser polar, no polar o medianamente polar. En particular, la columna que se emplea tiene una longitud de 30 m de largo y un diámetro interno de 0.25 mm. En la figura 8 se muestra la columna dentro del horno del Cromatógrafo de Gases, como puede observarse tal columna esta conectada tanto al puerto de inyección como al detector.



**Figura 8. Columna capilar del Cromatógrafo de Gases.**

**2.2 Puerto de inyección:** en el se lleva a cabo la inyección de la muestra hacia el sistema, donde ésta es vaporizada y transportada a la columna por el gas acarreador. En la figura 9 se muestra el puerto de inyección del cromatógrafo el cual se encuentra en la parte superior del mismo.



**Figura 9. Puerto de inyección de muestras en el equipo.**

**2.3 Detector:** reconoce y da respuesta a los componentes de la muestra que eluyen (salen) de la columna. El tipo de detector que tiene este Cromatógrafo de Gases es FID, es decir un detector de ionización de la flama., el cual sirve para análisis de alta sensibilidad y en aquellos que no se desea registrar el agua o los gases inertes. Posee una alta sensibilidad, excepto para ácidos inorgánicos y agua.

**2.4 Adquisición de datos:** En esta parte del análisis, el equipo convierte la señal electrónica del detector a una señal digital, la envía a un registrador queda como resultado un cromatograma, el cual provee información manual o automatizada para identificar y conocer las concentraciones de los componentes de la muestra.

**3. Tablero de control:** En esta sección se muestra la figura 10 en la cual se indica cada una de las partes del panel de control, entre las cuales se encuentran la de inicio e interrupción de una corrida; otra sección para editar métodos y llevar a cabo alguna prueba en específico, etc. De manera general, el tablero sirve para tener un control del equipo, con el puede saberse el estado y condiciones del mismo, todo esto se describe más a detalle a continuación.

**3.1 Tablero de control:** La siguiente figura se presenta con la finalidad de que se conozca de manera visual el panel de control y sus partes, para así familiarizarse con el mismo (Varian, 1998)

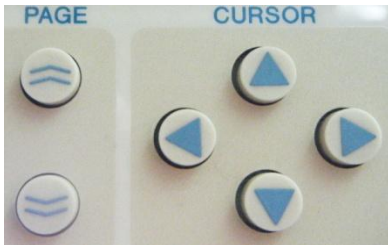


**Figura 10. Panel de control del Cromatógrafo de gases.**

**3.2 Secciones:** A continuación se describen cada una de las partes correspondientes al tablero de control.

### Sección Tablero

### Descripción de función



**Página y cursor (*Page and cursor*):** esta sección es utilizada para navegar por la pantalla y desplazarse en ella.

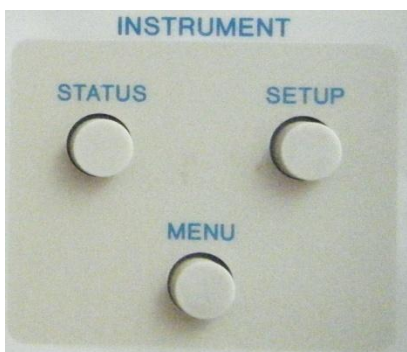


**Edición de Tabla (*Table Edit*):** Se utiliza para editar las entradas de un método a generar, por ejemplo, los programas de temperatura o de eventos con hora. Para agregar una rampa de temperatura, es decir programar el incremento de varias temperaturas en un mismo método, se oprime la tecla de “new line” (nueva línea), si se requiere eliminar una línea en la tabla, se oprime “delete line” (eliminar línea), y en caso de que se quiera limpiar por completo un método, se oprime “clear table” (limpiar tabla).

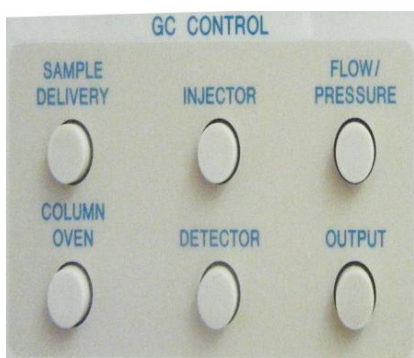


**Entrada (*Entry*):** Contiene las teclas numéricas (0-9, punto decimal, el signo de menos, y el infinito), incremento (INCR) y decremento (DECR), y la tecla ENTER. La tecla HELP (ayuda) da una explicación del contexto sensible para el parámetro en el que está el cursor. Esta sección sirve para introducir las condiciones que serán requeridas para llevar a cabo las pruebas, las temperaturas de los componentes del equipo, los tiempos a los cuales se mantendrá a esa temperatura, etcétera.

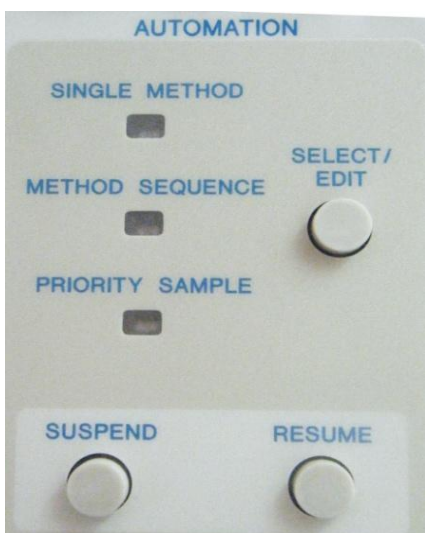




**Instrumento (*Instrument*):** Contiene el programa de instalación y las claves de estado que le permiten modificar la configuración del cromatógrafo de gases y ver el estado de los componentes instalados.



**Control GC (*GC Control*):** Permite el acceso inmediato a las condiciones actuales en las que se encuentran el inyector, columna, detector, etc., y a cada sección cuando se este en la construcción de un método o ver el estado de cada uno de los componentes para dicho método.



**Automatización (*Automation*):** Esta sección no esta activada ya que el equipo no cuenta con un inyector de muestras automático, por lo que la muestra se inyecta manualmente con una microjeringa.

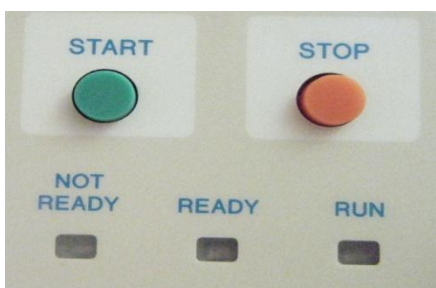


**Método (*Method*):** Permite editar o activar cualquiera de los ocho métodos disponibles, con esto se refiere a que se permite la introducción de las condiciones con las cuales se efectuarán las

pruebas, la memoria permite editar, modificar 8 métodos, por ejemplo, puede introducirse un método para el calentamiento del equipo, otro en el cual se introduzcan rampas de temperatura para una prueba determinada, e incluso otro para el enfriamiento del equipo una vez que ya se terminaron las pruebas, o incluso puede hacerse un método que incluya los tres anteriormente mencionados.

**Activar (*Activate*):** Esta parte del panel de control permite activar uno de los ocho métodos disponibles, se selecciona el método a activar mediante las teclas de incremento y decremento, una vez que se selecciono el método se presiona “activar ahora”.

**Editar (*Edit*):** Permite seleccionar uno de los ocho métodos para efectuar alguna modificación, el método activo es el que se muestra, lo que hace tener acceso para la modificación del método activo.



**Inicio/interrupción (*Start/ Stop*):** Contiene las teclas START (inicio) y STOP (paro) para iniciar o interrumpir manualmente una corrida. No está

listo, listo, y luces de corrida que indican el estado del cromatógrafo de gases. Por ejemplo: en caso de que el equipo se este estabilizando la luz de “not ready” estará encendida, si el equipo ya esta en las condiciones adecuadas para llevar a cabo la prueba aparecerá en encendido “ready”, con lo cual puede procederse a inyectar la muestra a analizar, y finalmente en el caso de que se haya llevado a cabo la inyección y la muestra este dentro de la columna, la luz de “run” será la que estará encendida.

## Procedimiento para llevar a cabo una corrida experimental

1. Abrir las válvulas de paso del gas acarreador así como los auxiliares, las cuales suministran de gas al cromatógrafo, considerando que el gas acarreador debe estar a una presión de 80 lb/in<sup>2</sup> y los gases auxiliares a 60 lb/in<sup>2</sup>.
2. Encender la computadora que esta conectada al Cromatógrafo de gases.
3. Se procede al encendido del equipo, levantar la palanca del interruptor (*switch*) que se encuentra debajo de la mesa que da soporte tanto al cromatógrafo de gases y la computadora, así como a otros equipos.
4. Deslizar hacia la derecha el interruptor que se encuentra en la parte superior del equipo para que se inicialice el equipo. En la figura 1 se muestra la ubicación del interruptor.
5. Esperar a que el cromatógrafo reconozca la conexión con la computadora y viceversa.
6. Una vez que se hayan reconocido mutuamente, abrir el programa correspondiente al cromatógrafo de gases: "Varian chromatography Workstation", versión 4.51 1989-1996.
7. Proceder a la creación de un método: Dar click en "System control/Automation"
8. Dar click en "file", luego en "method file", y finalmente en "new".
9. Se desplegara una pantalla, seleccionar "3800 GC", y dar click en OK.
10. Ahora dar click en "Sections", luego en "New", de la pantalla desplegada dar click en "ADC Board" y posteriormente en OK.
11. Nuevamente dar click en "Sections", luego en "New", y de la pantalla desplegada dar click en "Data handling" y finalmente en OK.
12. De nuevo dar click en "Sections", en seguida en "New", en la pantalla que se despliega automáticamente, dar click en "Report" y en último lugar en OK. De este modo se completan las 4 partes que debe tener el método para su correcto funcionamiento.
13. Una vez creado el método, dar click en "Sections" y seleccionar la opción de "3800 GC", para establecer las condiciones de operación. Aparecerán



varias pantallas, correspondientes al inyector, detector, horno, y cada una de las partes del equipo en las cuales se deben introducir las condiciones requeridas. Conforme se vayan introduciendo las condiciones darle "Save" a cada una de las pantallas, para que se guarde en el método.

14. Una vez creado el método, crear una lista de muestras, dentro de "System control" dar click en "file", luego en "Sample list file" y en último lugar en "New".
15. En la pantalla desplegada seleccionar "Generic" y dar click en OK.
16. Aparecerá una pantalla en la cual debes dar nombre a las muestras que serán sometidas al análisis en el cromatógrafo de gases.
17. Dar click de nuevo en "File", luego en "Save as" para darle nombre al listado de muestras y por último agregar notas en caso de ser necesario.
18. Una vez que se ha creado el método y la lista de muestras, se puede proceder a la realización de las pruebas.
19. Primero debe activarse el método, para esto se da click en "System control", luego en "File", en seguida en "method file", y finalmente en "activate", aparecerá una pantalla en la cual se selecciona el método que desee abrir. Luego de seleccionarlo se activa automáticamente.
20. En la pantalla podrán apreciarse las condiciones a las que está el equipo y se indicará cuando el equipo esté listo para llevar a cabo la prueba, mostrando en la parte superior la lectura "ready", del mismo modo en el panel de control del equipo debe aparecer la luz de "ready" encendida.
21. Una vez activo el método, debe activarse la lista de muestras, para esto se da click en "File", después en "Sample list file" y en último lugar en "Activate". De este modo queda activa la lista, y se abre una pantalla en la cual aparecen las muestras a las que se dio nombre previamente, y en la parte de abajo aparece "Begin". Dar click en "Begin" para que se proceda a la inyección de las muestras.
22. Se lleva a cabo la inyección de la muestra en el puerto de inyección, de forma que sea reproducible y repetible. La técnica de inyección recomendable es inyectar 1 µl de aire a la jeringa, luego 1 µl de muestra y

nuevamente 1  $\mu$ l de aire. Siendo de este modo más precisa la inyección de la muestra.

23. La muestra se desplaza dentro de la columna, dependiendo entre otras cosas, de su polaridad, peso molecular etc., el tiempo que tarda en salir un compuesto de la columna, recibe el nombre de tiempo de retención y varía para un mismo compuesto dependiendo de las condiciones de trabajo del cromatógrafo (temperatura constante, con gradiente de temperatura, mezcla de gases etc.).
24. Ya que se haya enfriado el horno, el inyector y el detector, se apaga el equipo, moviendo hacia la izquierda el interruptor que se encuentra en la parte superior del cromatógrafo. Y finalmente se baja la palanca del switch que se menciono en un principio.
25. Finalmente cerrar las válvulas de paso de los gases auxiliares y el gas acarreador.
26. Se imprime el cromatograma, el cual muestra los componentes que se encontraron en la mezcla que se introdujo en el puerto de inyección, y proceder a realizar análisis de los datos obtenidos.

## **Objetivo Particular 2**

Para el desarrollo de la técnica cromatográfica, se tomaron como referencia dos métodos ya establecidos, uno de ellos correspondiente a la Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003. En tal norma se presenta la caracterización del perfil de ácidos grasos C-4 a C-22 aplicando un método de prueba descrito en la Norma Mexicana NMX-F-490-NORMEX-1999. Del mismo modo se tomo como referencia un método desarrollado en la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) el cual esta destinado al empleo en productos lácteos con la finalidad de conocer si la leche se encuentra adulterada.

Considerando las temperaturas referidas en los métodos de la tabla 10 y 11, se procedió a probar con ellos. En primer lugar se presenta el método desarrollado en la Universidad Autónoma Metropolitana.

<b>Temperatura del inyector</b>	250°C
<b>Temperatura del detector</b>	260°C
<b>Flujo del gas acarreador</b>	1 ml/min
<b>Temperatura del horno</b>	50°C durante 2 min, ascendiendo a 220°C con una velocidad de 4°C/ min.
<b>Tiempo total de corrida</b>	44.5 min
<b>Volumen de inyección</b>	1 µl

**Tabla 10. Condiciones Método UAM para perfiles de ácidos grasos (Noa, 2005)**

A continuación se presentan las condiciones cromatográficas del equipo para la determinación de perfiles de ácidos grasos de acuerdo a la NOM-155-SCFI-2003 descrito también en la NMX-F-490-NORMEX-1999.

<b>Temperatura del inyector</b>	250°C
<b>Temperatura del detector</b>	250°C
<b>Flujo del gas acarreador</b>	16.4 ml/min
<b>Temperatura del horno</b>	140°C de inicio a fin del proceso.
<b>Tiempo total de corrida</b>	17 min
<b>Volumen de inyección</b>	1 µl

**Tabla 11. Condiciones Método para determinación de perfiles de ácidos grasos (NOM-155-SCFI-2003)**

Al probar ambos métodos, los compuestos al eluir no formaban picos definidos ni de buena resolución, por lo que se decidió probar con diversas temperaturas que

estuvieran dentro de las ya referidas en la bibliografía, se mantuvo la temperatura del detector a 260°C y 250°C para el inyector, se tomo como temperatura inicial del proceso 80°C ya que 50°C es una temperatura baja relativamente y los compuestos se tardaban en eluir mucho tiempo, y con 140°C los ésteres de los ácidos grasos eluían demasiado rápido y simultáneamente, se probaron nuevas rampas de temperatura lo cual permitió que la elución de los compuestos fuera más espaciada y los picos aun más definidos, también se realizaron pruebas con flujos distintos de gas a través del detector (3 ml/min, 5ml/min).

Las condiciones elegidas para el método que dio lugar a la implementación de la técnica para la determinación de los perfiles de ácidos grasos son las que se mencionan a continuación, en la tabla 12.

<b>Temperatura del inyector</b>	250°C
<b>Temperatura del detector</b>	260°C
<b>Flujo del gas acarreador</b>	5 ml/min
<b>Temperatura del horno</b>	80°C durante 1 min, ascendiendo a 180°C con una velocidad de 10°C/ min, hasta llegar a 220°C con una velocidad de 4°C/min.
<b>Tiempo total de corrida</b>	32 min
<b>Volumen de inyección</b>	1 µl

**Tabla 12. Condiciones elegidas para el método para determinación de perfiles de ácidos grasos.**

### **Objetivo Particular 3**

Para corroborar que los datos obtenidos en las corridas fueran confiables, fue necesario realizar la validación del método ya establecido, siendo esta la finalidad de este objetivo, por lo que se realizó una curva de calibración, en la que se comprueba que los datos que se obtendrán al cuantificar los compuestos que se encuentren en la mezcla que será inyectada en el cromatógrafo de gases serán veraces. La curva de calibración se realizó empleando estándares de dos ácidos grasos, los cuales fueron el ácido valérico y butírico a concentraciones conocidas para verificar que las concentraciones obtenidas en el cromatograma coincidieran con la concentración conocida de las muestras inyectadas.

La preparación se llevo a cabo de la siguiente manera:

Se prepararon soluciones que contenían 0.008, 0.2, 0.4, 0.8, 1.4 y 2 mg de ácido butírico y 0.5 mg de ácido valérico por ml de hexano con la finalidad de que el solvente permitiera la fácil disolución de los ácidos grasos y se tuviera una mezcla completamente homogénea.

Los materiales empleados fueron los siguientes:

- Tubos de ensayo de 10 ml con rosca y tapón.
- Pipetas graduadas de 2-5 ml.
- Jeringa para inyección de muestra de 1  $\mu$ l, para cromatografía de gases.
- Viales de 1,5 ml con tapón.

Los reactivos empleados:

- Ácido butírico
- Ácido valérico
- Hexano grado cromatográfico
- Alcohol (Etanol)

Para obtener los datos de la curva de calibración, se realizó lo siguiente:

En primer lugar se transformó la concentración de cada muestra, ya que el valor inicial era en mg/ml, siendo que para hacer un comparativo con los datos que arroja el software del cromatógrafo, es necesario tenerla en %w. Para ello, se requirió del valor inicial de la densidad relativa a las condiciones de trabajo, las cuales corresponden a:

Densidades (mg/ml)		
Butírico	Valérico	Hexano
0.96	0.93	0.66

**Tabla 13. Densidades de ácidos grasos (butírico y valérico), y disolvente**

Posteriormente se calculó, el valor correspondiente de la concentración en %w, haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$[Butírico](\%w) = \frac{(V_{Butírico} * \rho_{Butírico})}{(V_{Butírico} * \rho_{Butírico}) + (V_{Valerico} * \rho_{Valerico}) + (V_{Hexano} * \rho_{Hexano})}$$

$$[Valerico](\%w) = \frac{(V_{Valerico} * \rho_{Valerico})}{(V_{Butírico} * \rho_{Butírico}) + (V_{Valerico} * \rho_{Valerico}) + (V_{Hexano} * \rho_{Hexano})}$$

$$[Hexano](\%w) = \frac{(V_{Hexano} * \rho_{Hexano})}{(V_{Butírico} * \rho_{Butírico}) + (V_{Valerico} * \rho_{Valerico}) + (V_{Hexano} * \rho_{Hexano})}$$

Donde:

$V_{\text{Hexano}}, V_{\text{Butírico}}, V_{\text{Valérico}} [=]$  mL ( Volumen)

$\rho_{\text{Hexano}}, \rho_{\text{Butírico}}, \rho_{\text{Valérico}} [=]$  mg/mL (Densidad)

Siguiendo lo anterior, se tiene:

<b>[Butírico]</b> mg/ml	<b>m<sub>Butírico</sub></b> Mg	<b>m<sub>Valérico</sub></b> mg	<b>m<sub>Hexano</sub></b> mg	<b>[Butírico]</b> %w	<b>[Valérico]</b> %w	<b>[Hexano]</b> %w	<b>∑ []</b> %w
0.008	0.00768	465	329.99472	0.00097	58.49039	41.50864	100
0.2	0.192	465	329.868	0.02415	58.48615	41.48970	100
0.4	0.384	465	329.736	0.04829	58.48174	41.46997	100
0.8	0.768	465	329.472	0.09657	58.47291	41.43051	100
1.4	1.344	465	329.076	0.16897	58.45968	41.37135	100
2	1.92	465	328.68	0.24133	58.44646	41.31222	100

**Tabla 14. Resultados correspondientes a los valores de la concentración en %w**

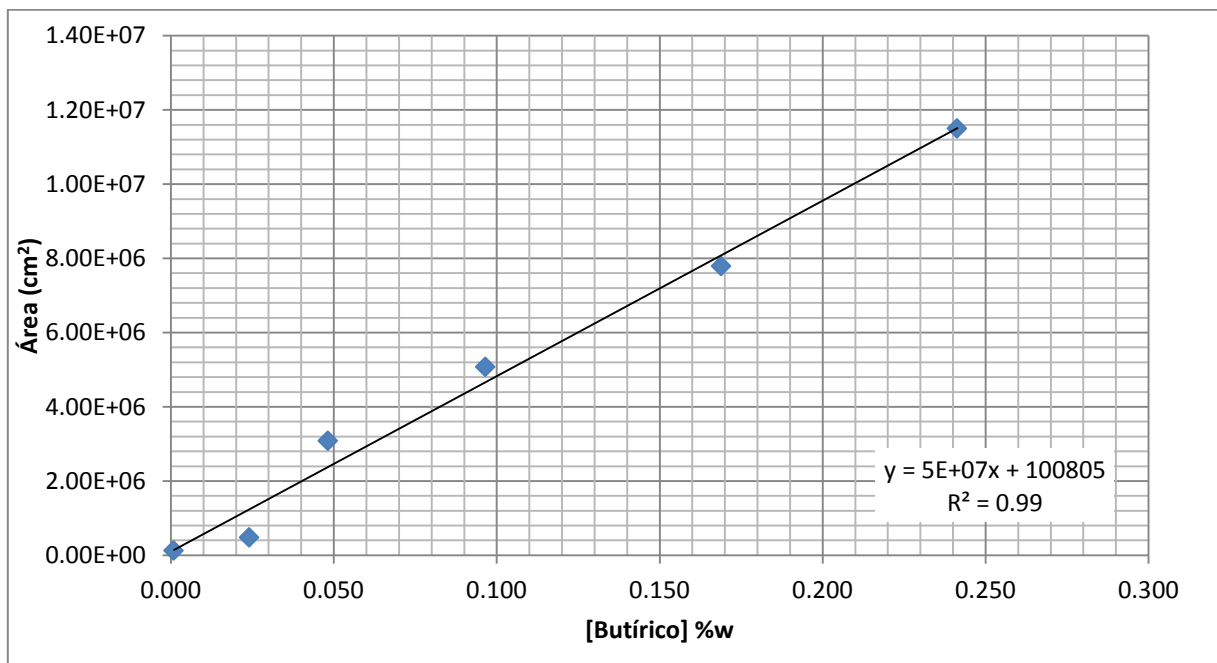
Como ya se mencionó de cada una de las concentraciones de butírico mencionadas, se preparó una disolución, estas fueron inyectadas en el cromatógrafo con las condiciones del método ya establecido, obteniéndose un

área bajo la curva en cada uno, a un tiempo de retención de 2.8 min aproximadamente:

[Butírico] %w	Área cm <sup>2</sup>
0.00097	125167
0.02415	478453
0.04829	3080863
0.09657	5069062
0.16897	7790521
0.24133	11496232

**Tabla 15. Áreas correspondientes a las diferentes concentraciones de butírico**

Los datos obtenidos dieron lugar a la gráfica siguiente, a la curva se le realizó una regresión lineal:



**Figura 11. Regresión lineal de los datos de la tabla 15.**



Como se puede observar, el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) es de 0.99, que se considera un valor muy bueno, por lo que los datos tienen relación lineal entre sí. Se tomaron para el ejemplo los datos de la “muestra 6”, son los siguientes:

<b>Ejemplo muestra 6</b>			
<b>Tiempo (min)</b>	<b>Área (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>[Butírico] %w Curva de calibración Dato calculado</b>	<b>[Butírico] %w Software</b>
2.795	3251670	0.0630173	0.063

**Tabla 16. Datos de muestra para determinación de tiempo de retención**

La concentración del butírico de la curva de calibración se calcula de dos maneras:

1. Gráficamente: Se toma el valor de área bajo la curva correspondiente al tiempo de retención del butírico, siendo en este caso 2.795 min (aproximadamente 2.8), el cual se posiciona sobre el eje de las ordenadas en el valor correspondiente, se direcciona directo a la curva y al topar con ella se baja directo al eje de las abscisas, leyendo así el valor correspondiente de concentración.
2. Despeje de la ecuación: Se sustituye el valor de  $y$ , en la ecuación de la regresión lineal de la curva de calibración y se despeja el valor de  $x$ , teniendo la ecuación siguiente:  $x = \frac{y-b}{m}$ ; donde:  $x$ = concentración del butírico,  $m$ =pendiente de la ecuación,  $b$ = ordenada al origen y  $y$ =área bajo la curva.

Para el análisis estadístico se tomaron 9 muestras más como ejemplo, para demostrar que la desviación entre los datos calculados a partir de la curva de calibración y los que arrojo el software es mínima o inexistente. Los datos son los que aparecen en la tabla siguiente incluyen las 9 muestras más el de la tabla 17, para tener una cantidad representativa de valores correspondientes al ácido butírico.

<b>Tiempo (min)</b>	<b>[Butírico] %w Curva de calibración Dato calculado</b>	<b>[Butírico] %w Software</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación %</b>
2.795	0.0630	0.063	0.0630	6.11647E-06	<b>0.0097</b>
2.801	0.0710	0.071	0.0710	9.61665E-06	<b>0.0135</b>
2.799	0.0591	0.059	0.0590	3.82545E-05	<b>0.0647</b>
2.814	0.0662	0.066	0.0661	0.000105819	<b>0.1599</b>
2.8	0.0761	0.076	0.0760	4.40881E-05	<b>0.0579</b>
2.805	0.0451	0.045	0.0450	6.25082E-05	<b>0.1386</b>
2.778	0.0981	0.098	0.0980	5.92202E-05	<b>0.0603</b>
2.816	0.0350	0.035	0.0350	6.64327E-06	<b>0.0189</b>
2.803	0.0710	0.071	0.0710	2.75772E-06	<b>0.0038</b>
2.797	0.0910	0.091	0.0910	1.67867E-05	<b>0.0184</b>

**Tabla 17. Coeficientes de variación de concentraciones de ácido butírico**

De acuerdo a los valores obtenidos de concentración del ácido butírico, con la curva de calibración, se puede constatar que los datos que arroja el software del programa son datos correctos, ya que la desviación del valor es casi nula, es decir que la dispersión entre los valores es sumamente pequeña. También se determino un promedio de los tiempos de retención obtenidos para el ácido

butírico, y el promedio fue de 2.8008, es decir 2.8 min., con un coeficiente de variación (C.V.) igual a 0.3569%.

#### **Objetivo Particular 4**

Este objetivo se basa en la implementación de la técnica cromatográfica y para eso fue necesario conseguir la materia prima, en este caso la leche de cabras estabuladas y mixtas. En el caso de las cabras estabuladas fueron alimentadas con forraje corte, alfalfa acicalada y un alimento propio de caprinos. Por otro lado en el caso de las cabras mixtas se alimentaron también con estos alimentos más el libre pastoreo. La composición de los alimentos se encuentra en el Anexo. Después se procedió a extraer la grasa láctea de cada una de las muestras, elaborar una curva estándar de los ácidos grasos y de ese modo tener todo listo para poner en marcha la técnica lo cual ya corresponden al objetivo no.5. A continuación esto se describe a más detalle.

#### **Materia prima**

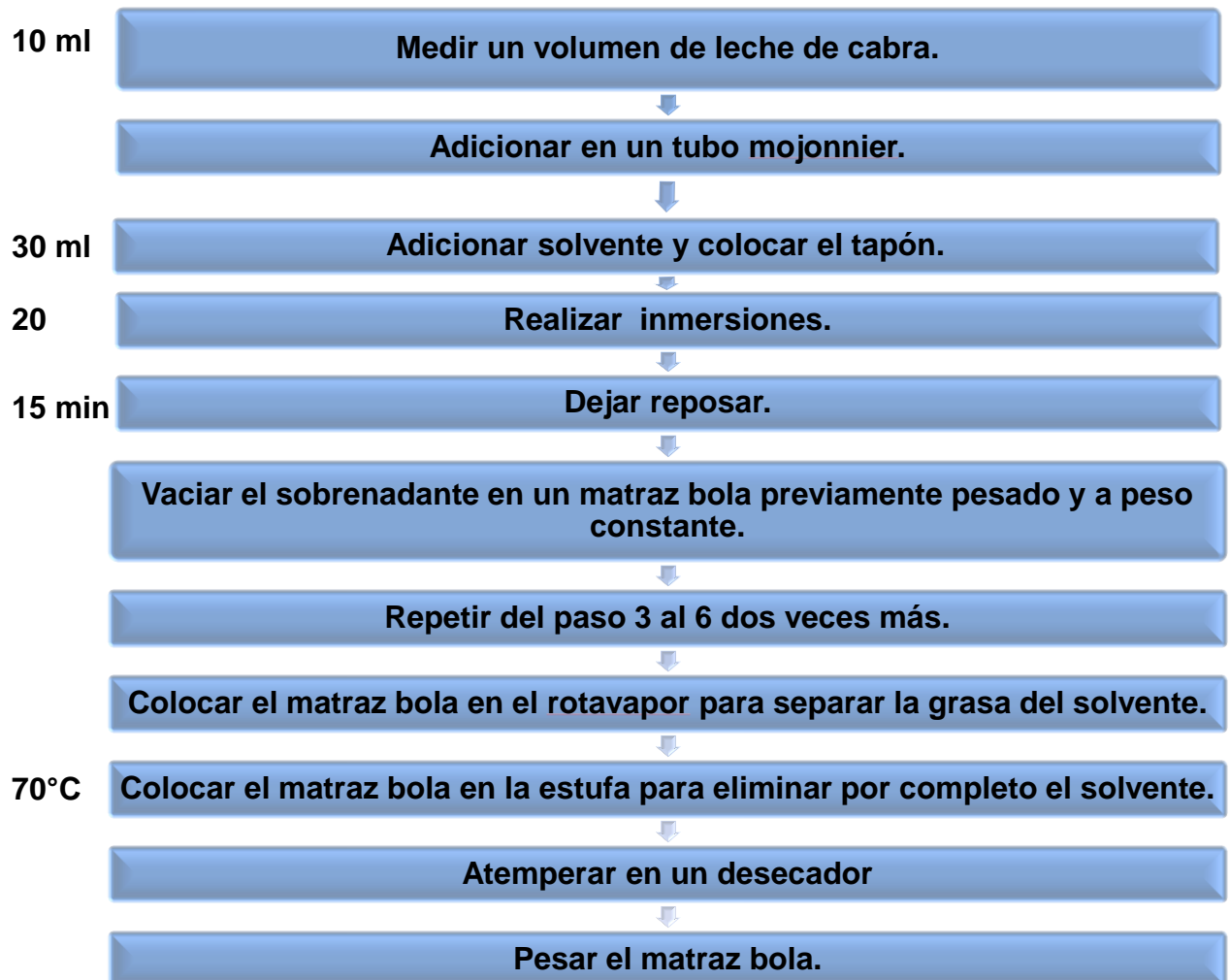
Una vez que se desarrollada la técnica para determinación de perfiles de ácidos grasos, se procedió a implementarla, realizando pruebas a leche de cabras mixtas y estabuladas. En el caso de las cabras estabuladas se tenían muestras a los 15, 60, 150, 195 y 240 días de lactación. Por otro lado, y en el caso de las cabras mixtas (no estabuladas y estabuladas), las muestras existentes eran de 15, 60, 150 y 240 días después de la primera lactación. Las muestras de leche eran de aproximadamente 50 ml, es decir, una muestra representativa y suficiente para la extracción de la grasa láctea.

#### **Preparación de muestra**

Se realizaron extracciones de grasa láctea proveniente de la leche de cabra con los siguientes solventes, con la finalidad de elegir la extracción más adecuada.

- Éter etílico
- Éter de petróleo
- Cloroformo
- Hexano
- Mezcla éter etílico-éter de petróleo

Se procedió como muestra la figura 12:



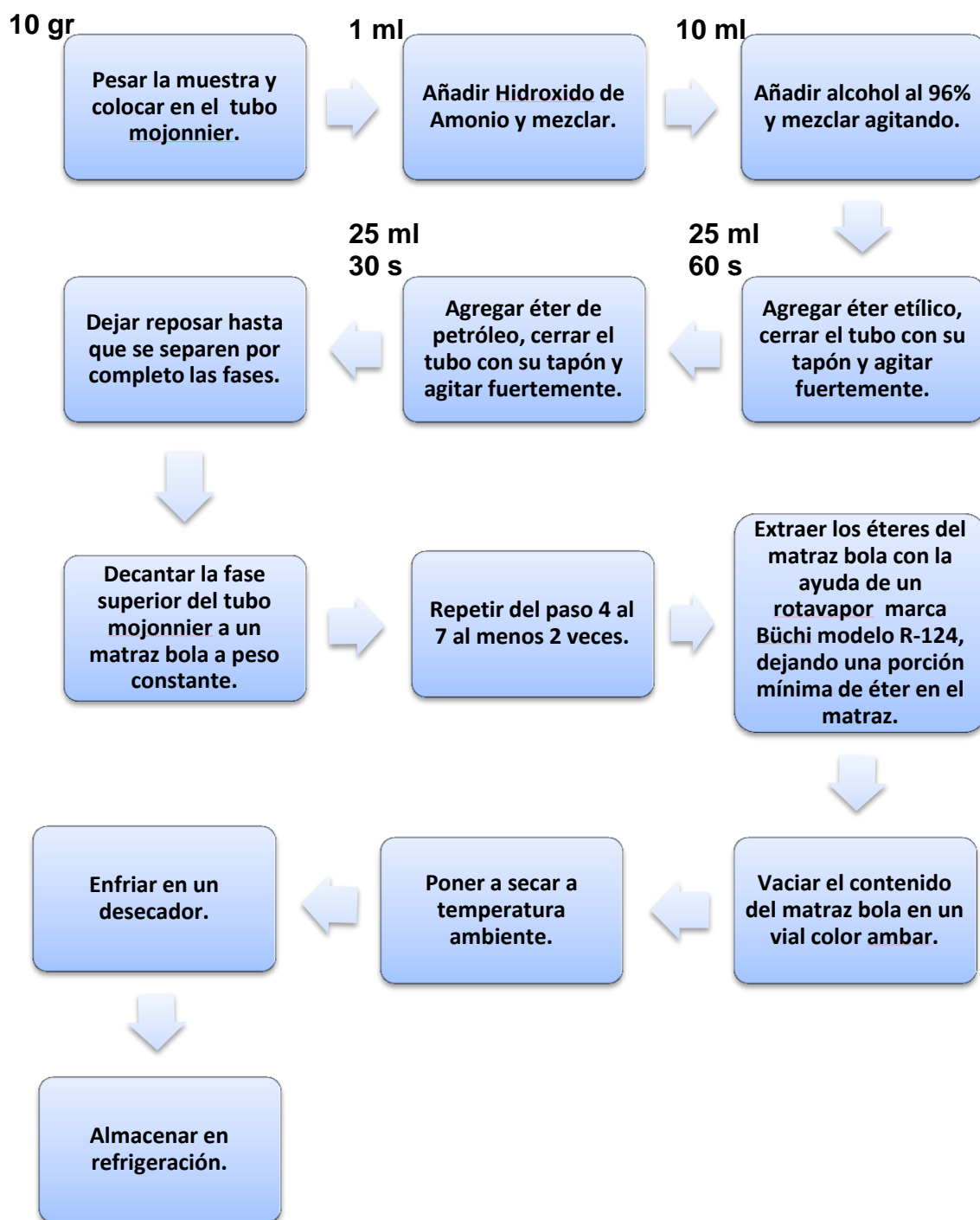
**Figura 12. Procedimiento de extracción de grasa láctea con distintos solventes.**

Este procedimiento se realizó con los distintos solventes, en el caso del cloroformo la muestra se volvió una masa en la cual el solvente quedo atrapado, por lo que no puedo realizarse extracción de la grasa, entonces el cloroformo fue descartado. Los datos de porcentaje de grasa obtenido se muestran en la tabla 18.

<b>Solvente</b>	<b>% grasa obtenido experimentalmente</b>
Éter etílico	0.3356
Éter de petróleo	0.1712
Cloroformo	No se logro la extracción
Hexano	0.0933
Mezcla éter etílico-éter petróleo	0.4151

**Tabla 18. Porcentajes de grasa extraídos con diversos solventes.**

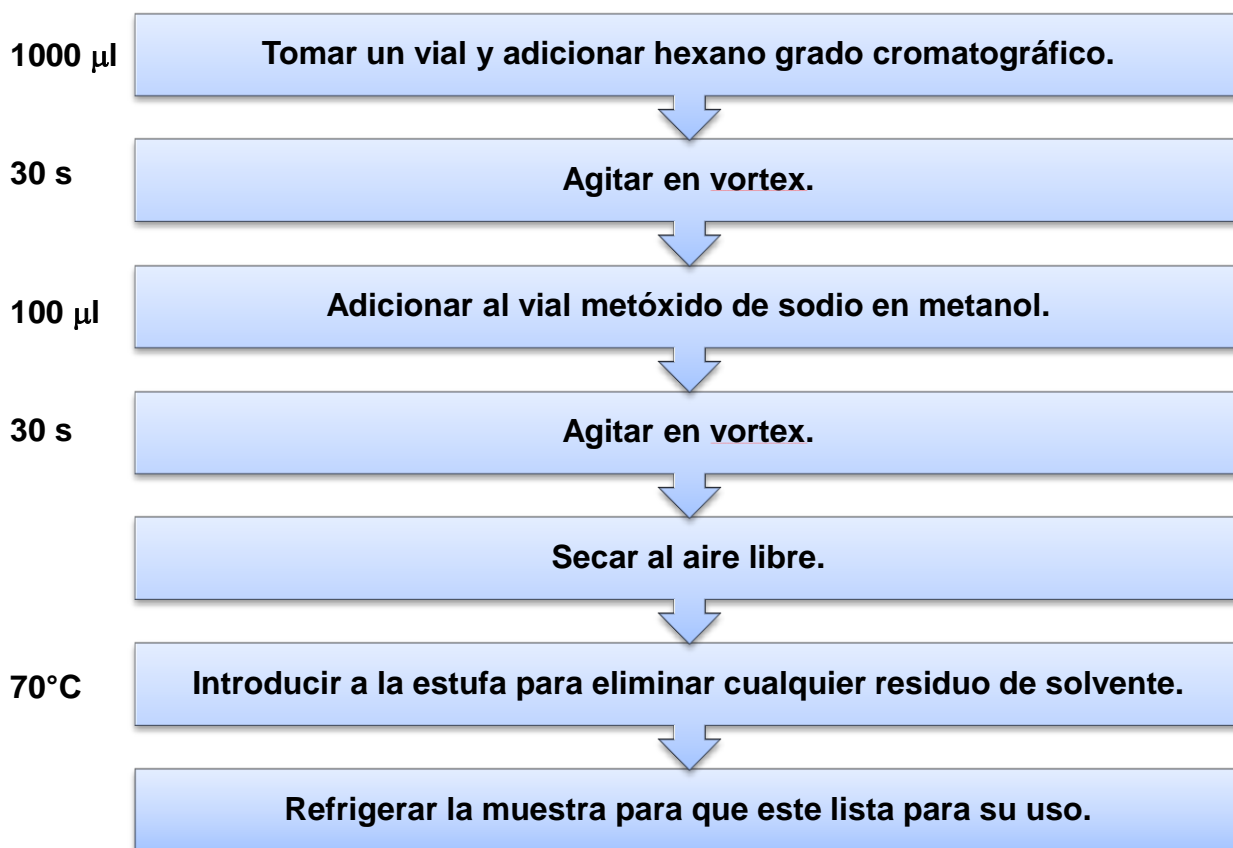
En base a la tabla 18, se observa claramente que la combinación de éter etílico-éter de petróleo es la más adecuada, considerando que se extrae un mayor porcentaje de grasa, sin embargo, el método final para la extracción de la grasa fue el correspondiente a la figura 13 donde se describe la metodología aplicada, ya que con este, se logro un porcentaje mayor de extracción en la muestras, en este caso se realizo una hidrólisis alcalina ya que la grasa en la leche se encuentra emulsificada, el álcali rompe la capa proteínica y esto permite la liberación de la grasa (Pearson,1976). Una vez extraída la grasa de cada una de las muestras, se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de su análisis.



**Figura 13. Procedimiento para extracción de la grasa láctea procedente de leche de cabra.**

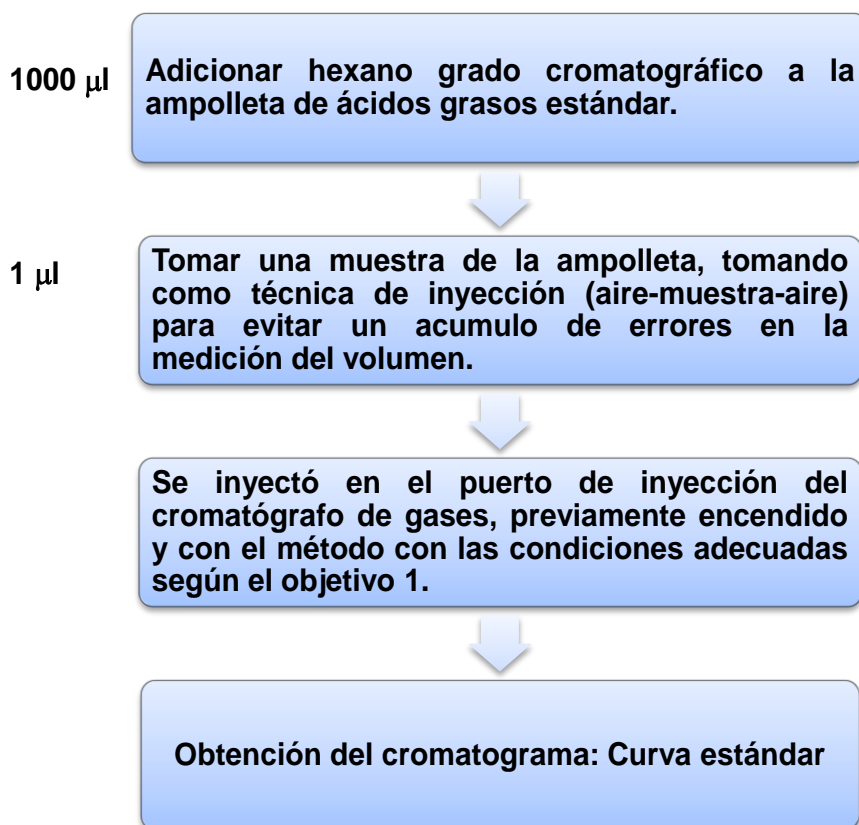
Una vez realizadas las extracciones de la grasa láctea de cada una de las muestras de leche de cabra, tanto de las estabuladas como de las mixtas se dejaron en refrigeración, se procedió a la esterificación de las muestras las cuales se encontraban contenidas en los viales color ámbar.

Aunque se tomo como referencia Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003, se realizó una modificación en el tipo de solvente empleado, ya que la norma sugiere éter de petróleo, y en este caso se empleo hexano grado cromatográfico. La esterificación se llevo a cabo según la figura 14.



**Figura 14. Proceso de esterificación.**

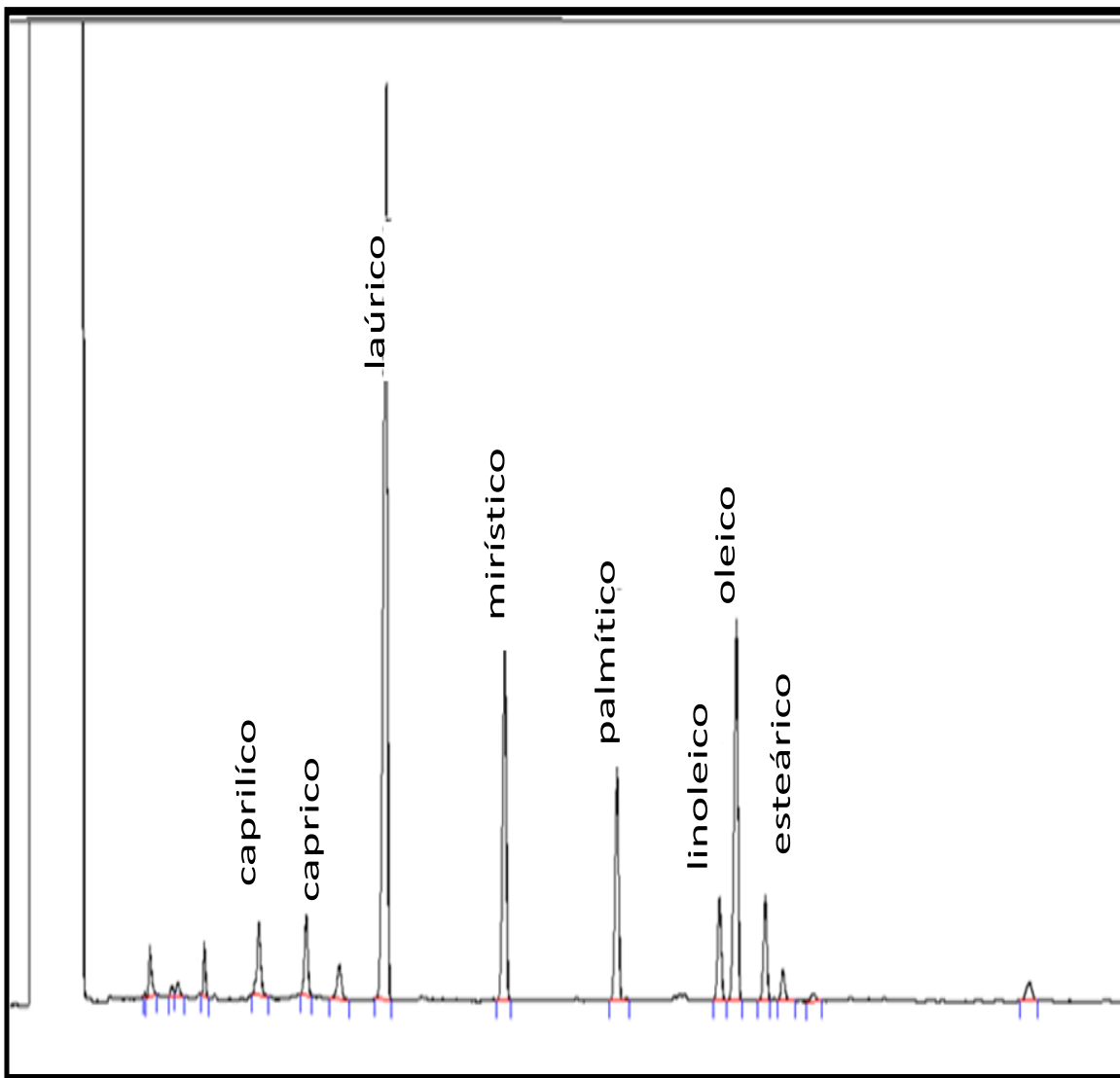
Una vez esterificadas las muestras se almacenaron nuevamente para que estuvieran listas para su uso. Se procedió a realizar la curva estándar empleando estándares de ácido grasos (Sigma F.A.M.E Mix. RM-5) para conocer sus tiempos de retención y el porcentaje de área, y de ese modo hacer una comparación con las muestras de leche de cabra que se inyectarán posteriormente. En el caso de ampollas denominadas F.A.M.E., que son Ácidos grasos metil esterificados por sus siglas en inglés (<http://www.sigmaaldrich.com>) los ácidos grasos ya se encuentran esterificados por lo cual la esterificación sólo se realizó para las muestras de grasa láctea de la leche de cabra. Esto es con la finalidad de que tanto los ácidos grasos estándares como los ácidos grasos presentes en la grasa láctea se encuentren en igualdad de condiciones y obviamente para que pueda ser tomada como referencia la curva estándar al momento de ser inyectadas las muestras en el cromatógrafo. La curva estándar se realizó como se describe en la fig. 15:



**Figura 15. Procedimiento de elaboración de curva estándar**



Se obtuvo el cromatograma propio de la curva estándar, se muestra en la figura 16:



**Figura 16. Curva de estándares de ácidos grasos**

Los tiempos de retención de los esteres metílicos de ácidos grasos estándares fueron los siguientes:

<b>Ester metílico de ácido graso</b>	<b>Tiempo (min)</b>
Caprílico	3.841
Cáprico	4.481
Láurico	5.571
Mirístico	7.186
Palmítico	8.701
Linoleico	10.099
Oleico	10.325
Esteárico	10.709

**Tabla 19. Tiempos de retención de ésteres metílicos de ácidos grasos estándares.**

Una vez inyectada la muestra de esteres metílicos de los ácidos grasos y de haber obtenido los tiempos de retención de los mismos, se verificó que el porcentaje en peso (concentración) que arrojó la computadora concordara con las especificaciones de la ampolla (Sigma F.A.M.E Mix. RM-5), las cuales se encuentran a detalle en el Anexo.

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes experimentales y los que fueron tomados como referencia:

<b>Ester metílico de ácido graso</b>	<b>Concentración Experimental (%)</b>	<b>Concentración Esperada (%)</b>
Caprílico	7	7
Cáprico	5	5
Láurico	48	48
Mirístico	15	15
Palmítico	7	7
Linoléico	3	3
Oleico	12	12
Esteárico	3	3
<b>Sumatoria</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

**Tabla 20. Comparación porcentajes experimentales y esperados en base a lo reportado por el proveedor Sigma**

Lo anterior permite comprobar que el cromatógrafo de gases empleado esta calibrado y esta cuantificando las concentraciones de manera correcta, sin haber desviación entre lo esperado y lo experimental, del mismo modo, se cuenta con la curva estándar que da pie al análisis cromatográfico de las muestras de grasa láctea de leche de cabras estabuladas y mixtas. Esta curva así como los tiempos de retención se toman como referencia para la identificación y cuantificación de los ácidos grasos presentes en las muestras, concluyendo con esta etapa, se pasó a la siguiente.

## Objetivo Particular 5

Para poder llevar a cabo el análisis del efecto de la alimentación de las cabras estabuladas y mixtas en la concentración de ácidos grasos, fue necesaria la identificación y cuantificación de ácidos grasos en las leches de cabras estabuladas y mixtas a las cuales se les siguió durante el periodo de lactación, se llevó a cabo bajo las condiciones establecidas del método desarrollado en el objetivo 2, especificadas en la tabla 12. Se procedió a realizar la inyección de las muestras, se obtuvieron los cromatogramas correspondientes a cada leche en el cual se identificaron los compuestos presentes en cada una de las muestras. El siguiente cromatograma es propio de la cabra estabulada no 2, a los 15 días de inicio de la lactación. Como puede observarse aparece el perfil de ácidos grasos con respecto a la curva estándar en la cual se toma como referencia el tiempo de retención del compuesto, del mismo modo los compuestos con menos carbonos eluyen primero que los ácidos grasos de cadena larga, tal como se aprecia en la Figura 17.

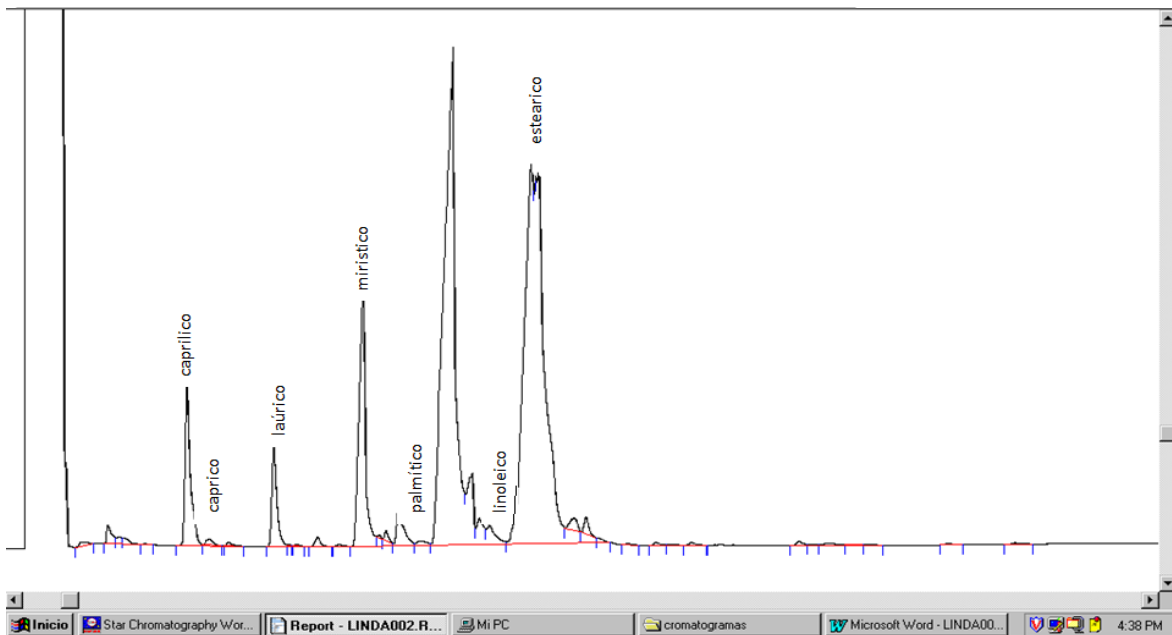
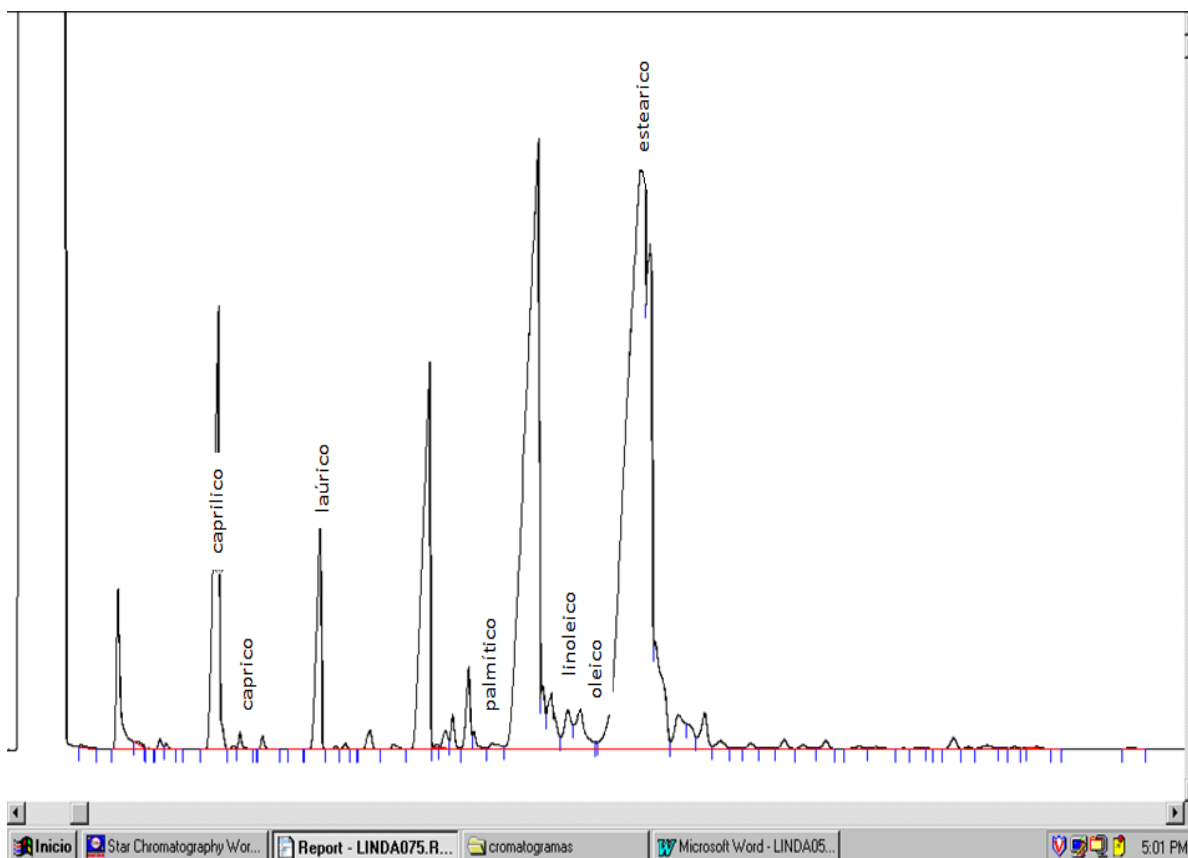


Figura 17. Cromatograma de cabra estabulada no. 2 a 15 días de lactación.

El siguiente cromatograma corresponde a la cabra mixta no.1 a los 15 días de lactación, como puede observarse respecto al método seleccionado se obtuvieron cromatogramas definidos, por lo que se puede decir que hubo eficiencia debido a la obtención de picos delgados y afilados, una buena resolución por que la se logro la separación de los componentes al eluir, aunque los ácidos grasos linoleico, oleico y esteárico que por poseer 18 carbonos cada uno, eluyen casi inmediatamente, y por ultimo que se presento una buena selectividad, ya que la columna tuvo la capacidad de determinar las diferencias químicas y físicas de los picos que se presentaron en cada una de las inyecciones. Con esto puede afirmarse que las condiciones de operación del método fueron las adecuadas para este tipo de muestra.

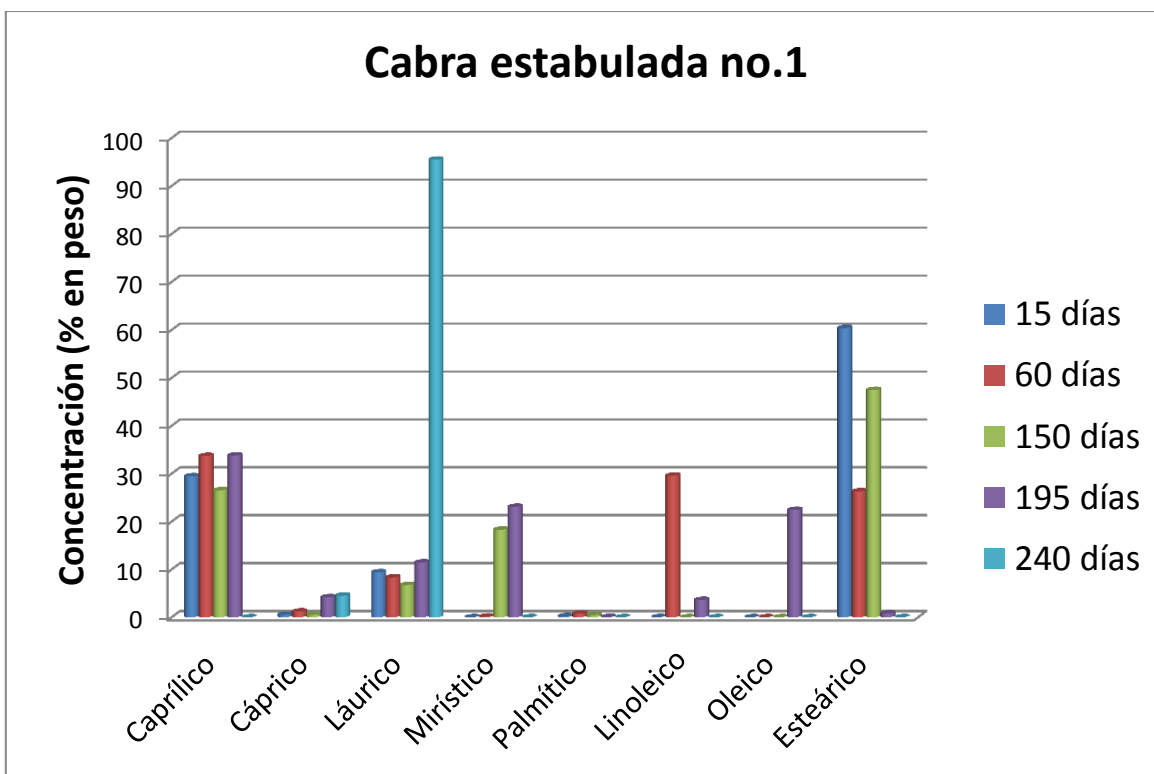


**Figura 18. Cromatograma de cabra mixta no.1 a los 15 días de lactación**

Resultaría innecesario presentar los cromatogramas correspondientes a todas las muestras de grasa láctea, considerando que se obtuvieron 45 cromatogramas, es por esto que se realizaron las gráficas comparativas de cada una de las cabras durante todo el proceso de lactación.

Se presentan a continuación tanto las graficas correspondientes a las cabras estabuladas y las cabras mixtas.

- Cabra estabulada no. 1

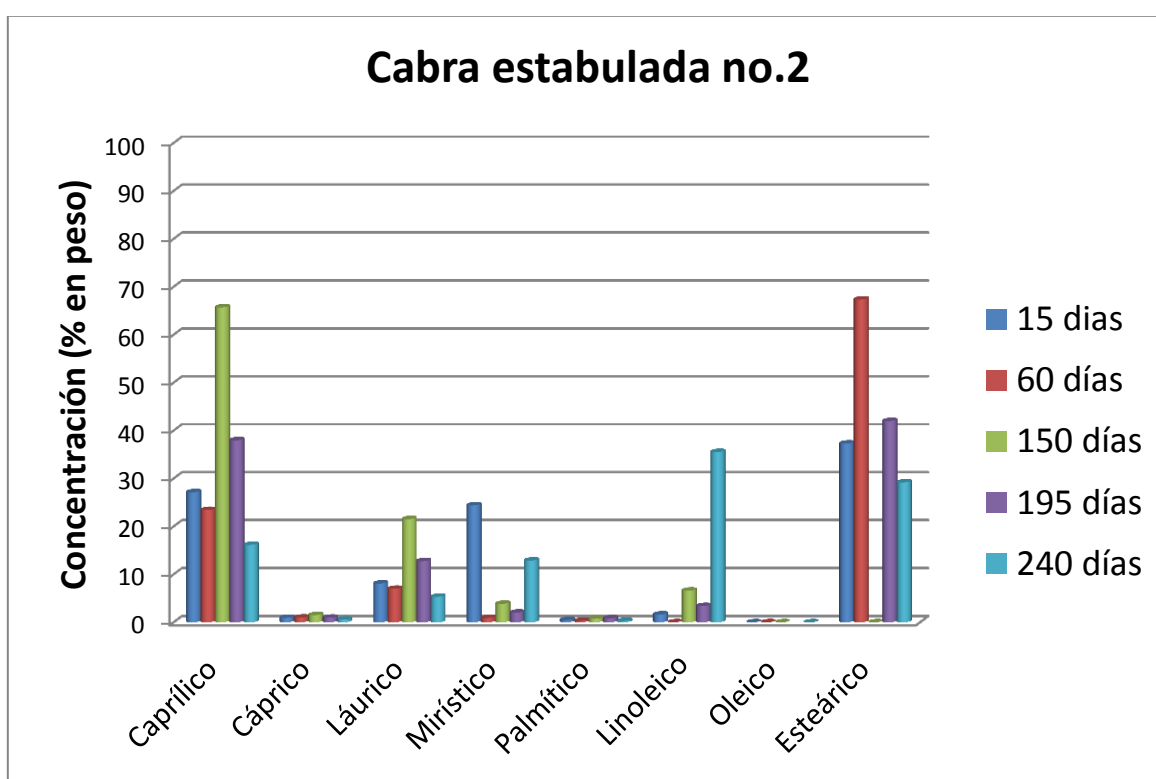


**Figura 19. Perfil de ácidos grasos de cabra estabulada no.1.**

En la gráfica anterior se puede apreciar que se encuentran presentes dos ácidos grasos importantes y característicos de la leche de cabra, que son el ácido graso caprílico (C8) y el cáprico (C10), y aunque el caprílico se encuentra en mayor proporción respecto al ácido cáprico, estos dos ácidos hacen que la leche caprina posea características únicas para la elaboración de quesos, puesto que

intervienen en el sabor de los mismos. En el caso del ácido linoleico que es esencial, se encuentra en proporción muy baja y se fue perdiendo durante el periodo de lactación lo cual es de importancia, considerando que los ácidos esenciales deben ser ingeridos vía alimentación, pero en términos generales como se reporta bibliográficamente la leche de cabra tiene una fracción lipídica en la cual se incluye un menor número de glóbulos de grasa y un alto contenido de ácidos grasos (Badui, 2006) tal como se muestra en la gráfica.

- Cabra estabulada no.2

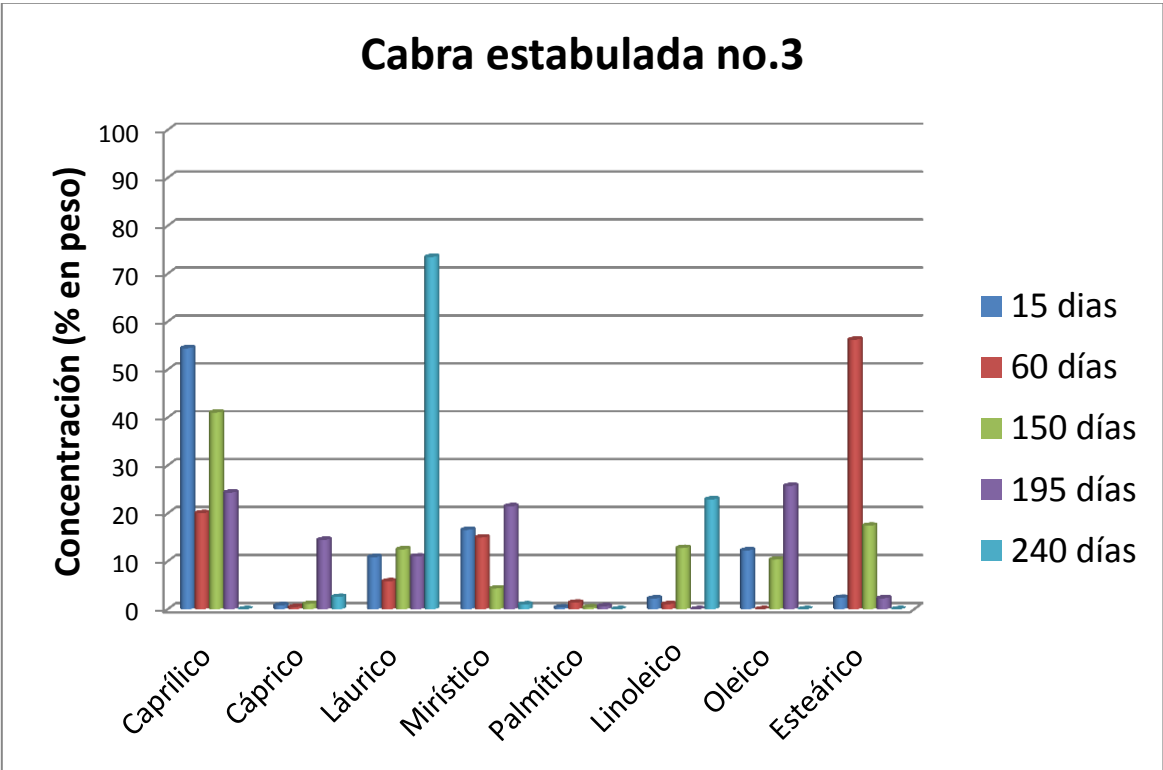


**Figura 20. Perfil de ácidos grasos de cabra estabulada no.2.**

En esta gráfica nuevamente se presentó el ácido caprílico en un alto porcentaje, y aunque el ácido cáprico se encontró en muy bajos porcentajes sigue presente, el ácido láurico así como el mirístico siguen presentes durante todo el proceso de lactación, mientras que el palmítico sigue en porcentajes sumamente bajos como en la cabra estabulada no. 1. En este caso el ácido linoleico se incrementa

considerablemente con lo que la leche proveniente de esta cabra es aun más rica en este ácido graso esencial. En cuanto al ácido esteárico este se mantiene en altas concentraciones, este comportamiento se debe a que ambas cabras comparten el modo de alimentación. Es importante mencionar que la leche de cabra debe tener una variedad en contenido de ácidos grasos lo que la hace más digerible en comparación con otro tipo de leches.

- Cabra estabulada no.3



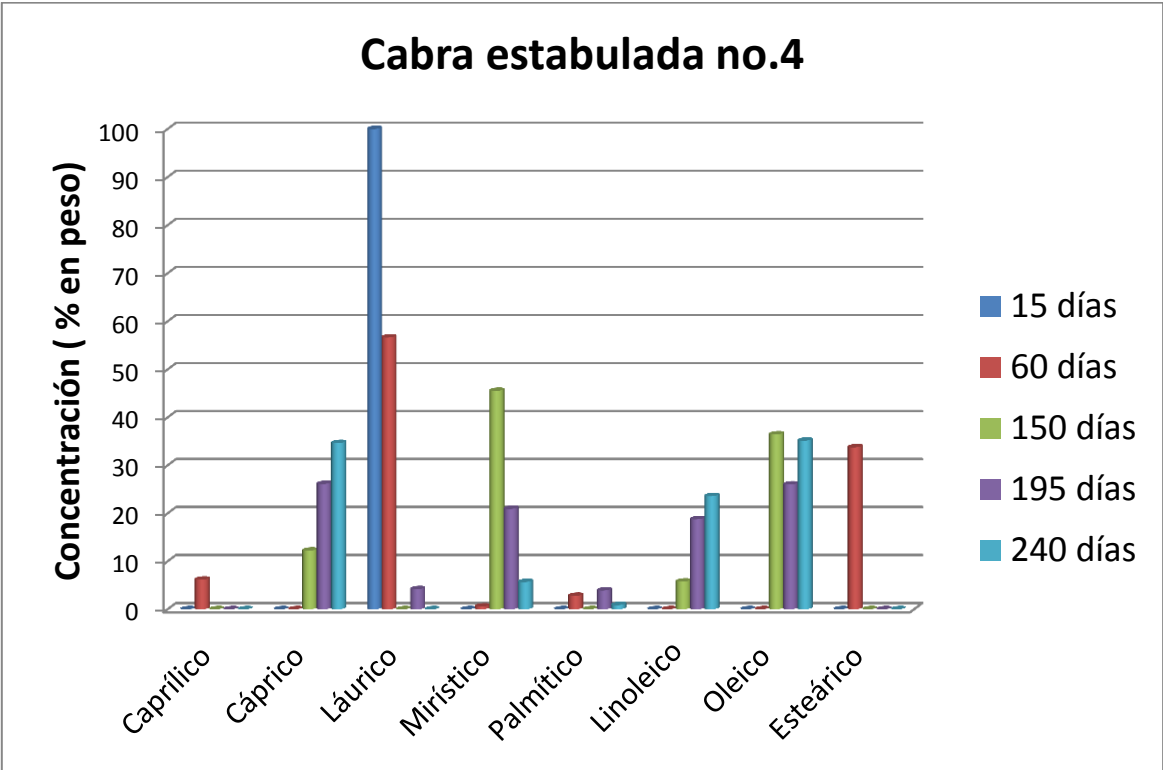
**Figura 21. Perfil de ácidos grasos de cabra estabulada no.3.**

Aunque haya variaciones en el porcentaje del ácido graso durante todo el proceso de lactación, la presencia de los dos ácidos grasos propios de a leche de cabra es inherente a la muestra, del mismo modo hay un incremento en el ácido graso esencial, según la bibliografía el ácido láurico se presenta en la leche de cabra en un 3.1%, en este caso se mantenía un poco por debajo del 10% o ligeramente



arriba del 10%, y en los 240 días de lactación se presenta un incremento importante en este ácido graso, aunque como se ha mencionado la alimentación es un factor determinante en el perfil de ácidos grasos, en este caso el porcentaje de este ácido graso es mayor debido a que se controló la alimentación dentro del establo, el porcentaje de 3.1% corresponde a cabras que fueron alimentadas al libre pastoreo.

- Cabra estabulada no.4

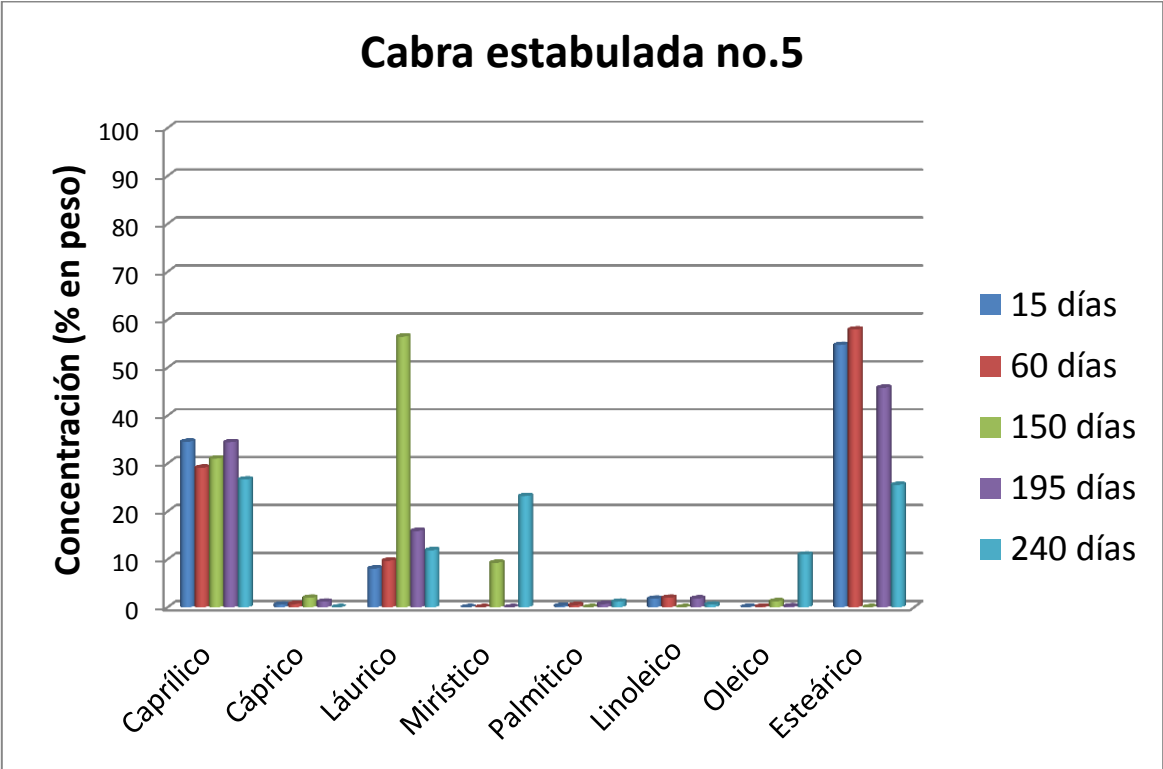


**Figura 22. Perfil de ácidos grasos de cabra estabulada no.4.**

En esta grafica el ácido graso esencial (Linoleico) fue aumentando conforme avanzaban los días de lactación lo cual favorece que este producto se recomiende para la elaboración de otros productos lácteos, considerando que este ácido graso es esencial y debe ser ingerido en los alimentos por las personas. Por otro lado el ácido cáprico presenta el mismo comportamiento, en el caso del caprílico se presento ligeramente, pero no deja de estar presente. El ácido láurico decreció conforme pasaron los días ocurriéndole lo mismo al ácido mirístico. El ácido

palmitico siguió con muy bajas concentraciones, en cuanto al ácido oleico se presento el mismo comportamiento que para la cabra estabulada no 3. Por otro lado el acido esteárico tuvo un incremento importante a los 60 días para finalmente decrecer.

- Cabra estabulada no.5

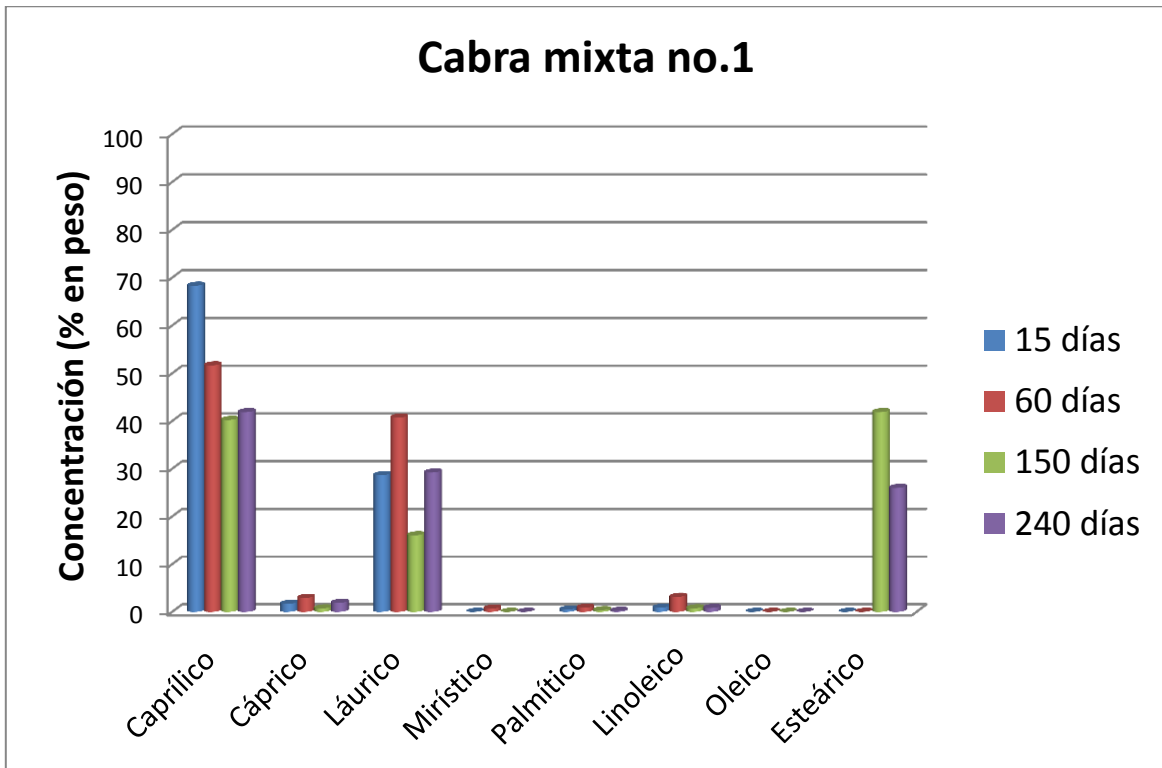


**Figura 23 .Perfil de ácidos grasos de cabra estabulada no.5.**

El porcentaje de el ácido caprílico es constante, y aunque el acido cáprico se encuentra en un porcentaje, sigue estando presente. El acido linoleico esta en una concentración muy baja, lo cual es importante dado que es un ácido que debemos ingerir en los alimentos ya que nuestro organismo no los produce, por lo que además de adquirir este ácido vía alimentación, deben consumirse productos que lo contengan en mayor proporción respecto a otros. En este caso el ácido

esteárico se presento en altas concentraciones disminuyendo un poco a los 240 días del periodo de lactación.

- Cabra mixta no. 1

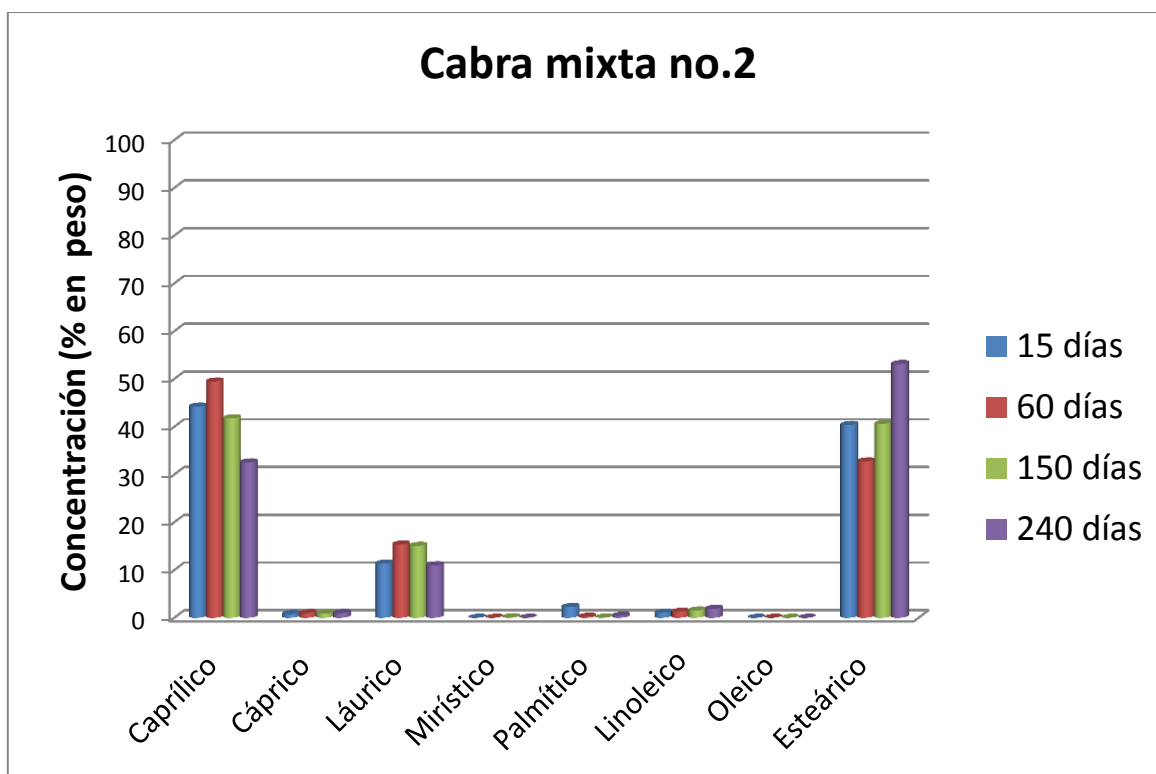


**Figura 24. Perfil de ácidos grasos de cabra mixta no.1.**

Como ya se menciona en el caso de las cabras mixtas, el ácido caprílico y cáprico son característicos, el ácido graso caprílico se encontró en mayor proporción en todos los casos, el ácido graso esencial está en una proporción sumamente baja al igual que casi todos los demás ácidos grasos, el láurico al igual que en las muestras de grasa láctea procedente de cabras en estabulación, está en un porcentaje relativamente alto. El bajo contenido de los ácidos grasos se atribuye a la alimentación que tuvieron estas cabras, ya que al ser mixtas y no solo ser alimentadas dentro del establo, se dejaron al libre pastoreo, con lo que no se

puede controlar lo que comen y por lo tanto esto se ve representado en el perfil de ácidos grasos.

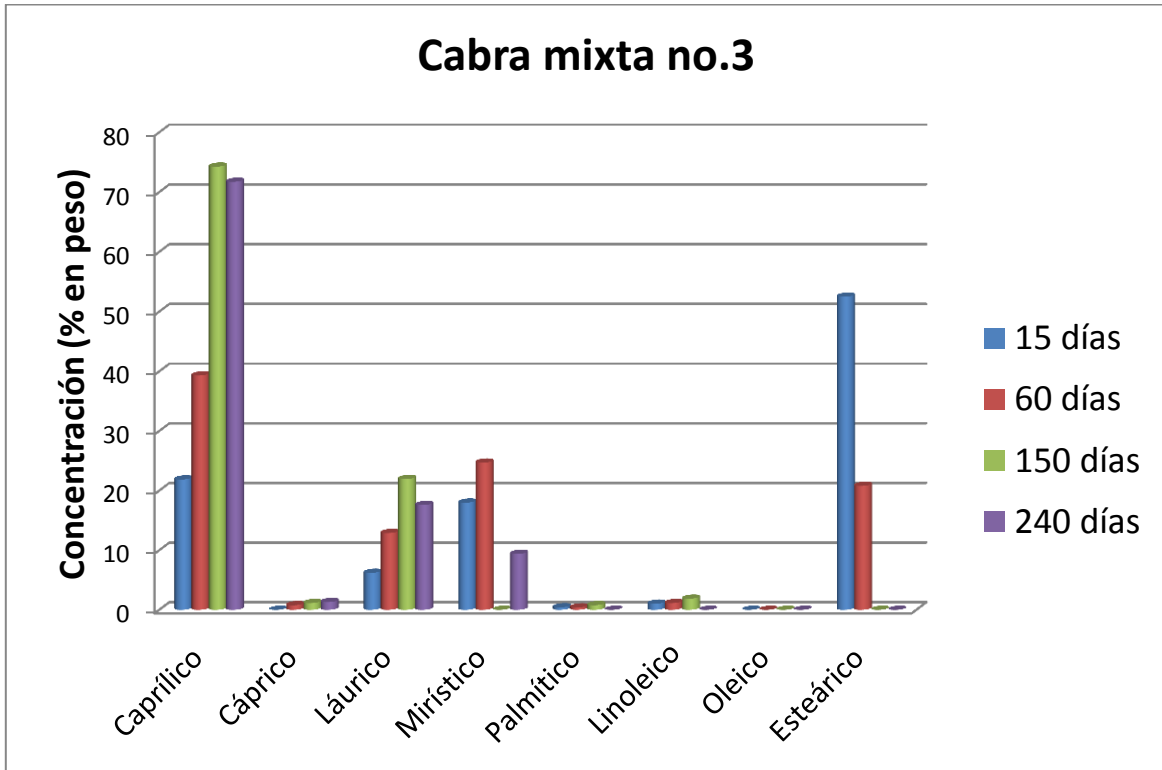
- Cabra mixta no.2



**Figura 25. Perfil de ácidos grasos de cabra mixta no.2.**

Se presenta prácticamente el mismo comportamiento de la cabra mixta no. 1, con sus variantes en concentración, a diferencia de que el ácido esteárico el cual también es propio de las grasas animales, se mantuvo constante y en alta proporción respecto a los demás ácidos grasos.

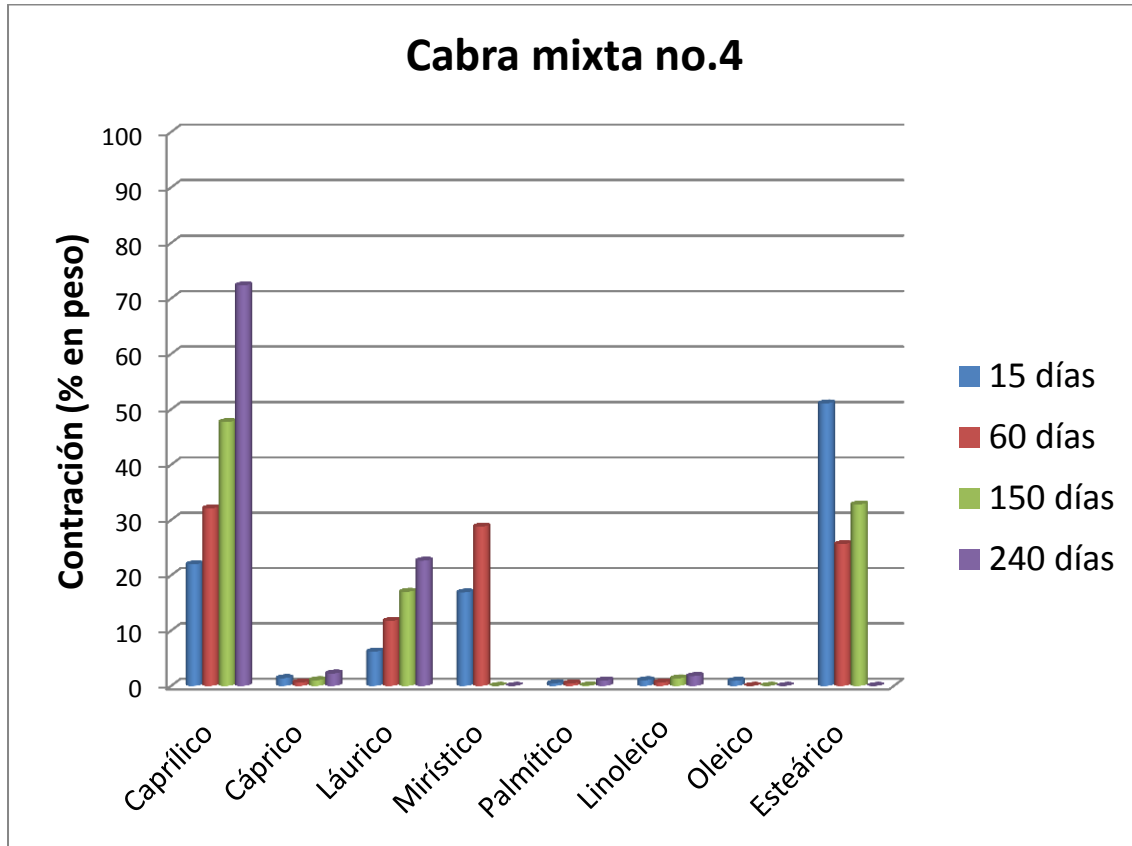
- Cabra mixta no. 3



**Figura 26. Perfil de ácidos grasos de cabra mixta no.3.**

En este grafico el ácido graso mirístico hace su aparición aunque aun en un porcentaje bajo, en lo que respecta a los demás ácidos grasos siguen predominando los mismo ácidos grasos, como en el caso de la cabra mixta no 1 y no. 2.

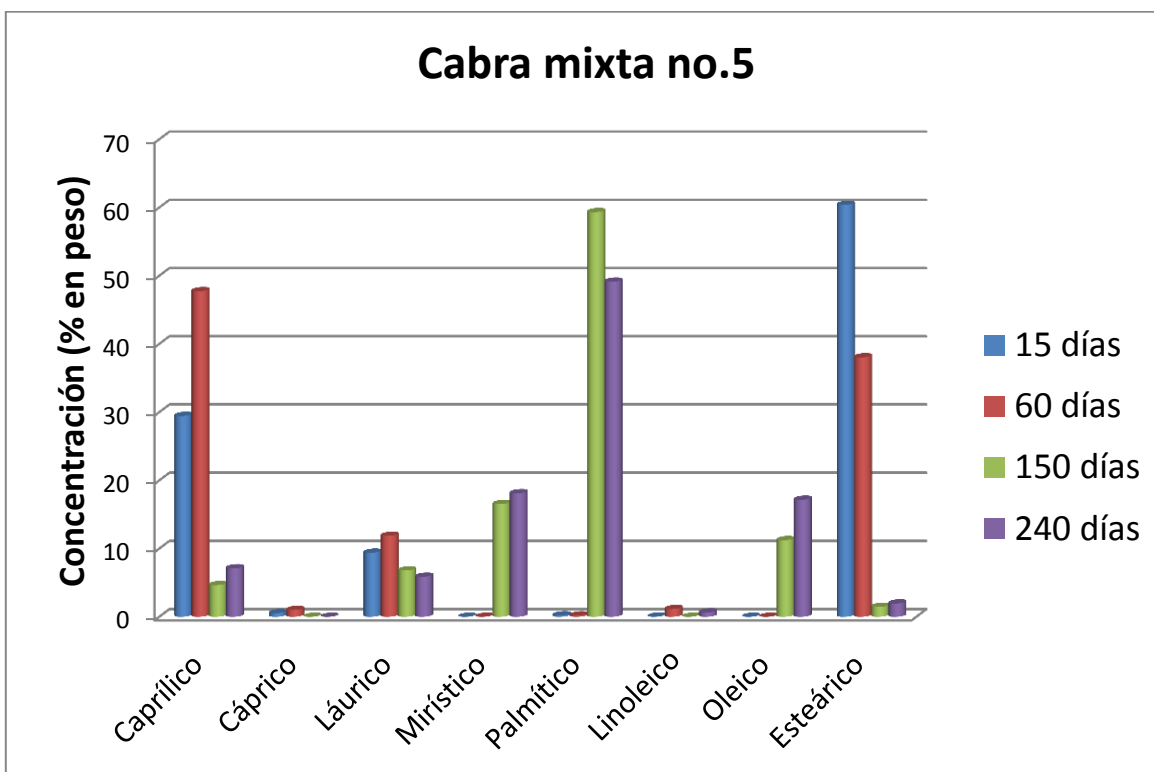
- Cabra mixta no. 4



**Figura 27. Perfil de ácidos grasos de cabra mixta no.4.**

El perfil de los ácidos grasos en este caso sigue la misma tendencia que los perfiles de las figuras 24, 25 y 26 correspondientes a las cabras mixtas

- Cabra mixta no.5



**Figura 28. Perfil de ácidos grasos de cabra mixta no.5.**

En el caso de la cabra mixta no.5 se nota que comparada con las cabras anteriores, que son mixtas también, el ácido palmítico junto con el esteárico se encuentra en alta proporción, el ácido graso linoleico sigue en muy baja concentración y no pueden faltar los ácidos caprílico y cáprico.

Por otra parte se realizó un análisis de varianza para un modelo factorial con observaciones repetidas con la finalidad de comparar el sistema estabulado con el sistema mixto, para de ese modo obtener datos estadísticos que den sustento a los resultados (Long, 1983). El programa empleado para llevar a cabo el análisis fue JMP versión 5.1, en tal análisis el sistema se introdujo como factor y como observaciones repetidas los diferentes momentos de medición (tiempo). Se tomo

0.05 como el valor para indicar la probabilidad de cometer error al rechazar la hipótesis nula (o sea, al detectar diferencias) y se asocia con los valores de  $\alpha$  establecidos. En pocas palabras, el valor que se considero de  $\alpha$  fue de 5 %

Cabe mencionar que en el Anexo se presentan los datos obtenidos de las concentraciones de cada uno de los ácidos grasos para cada una de las cabras (estabuladas y mixtas), con distinto sistema de alimentación, estos fueron sometidos al análisis de varianza, es decir las cabras mixtas con las estabuladas a los 15 días, a los 60 días, a los 150 días y 240 días respectivamente, se muestran a continuación, en el caso de las cabras estabuladas se presentan también los datos obtenidos a los 195 días, pero dado que para las cabras mixtas no se tienen los datos referentes a ese día ya que dentro de las muestras donadas por parte de Ciudad Universitaria no se contaba con ellas, estos datos no se consideraron para el análisis estadístico, es decir, solo los datos del día 15, 60, 150 y 240 se tomaron en cuenta para que la distribución de los datos fuera homogénea.

En cada una de las tablas aparece en la columna de “cabra” numeración de 1 a 5 dos veces, las primeras 5 cabras son las estabuladas y las otras 5 son las cabras mixtas. Por otro lado en La columna 2 llamada “sistema”, el “sistema 1” se refiere obviamente al sistema estabulado y el “sistema 2” al mixto. Las columnas siguientes son acorde a los días de lactación y las concentraciones obtenidas de cada uno de los ácidos grasos.



En base en los datos anteriores se obtuvo lo siguiente en el programa:

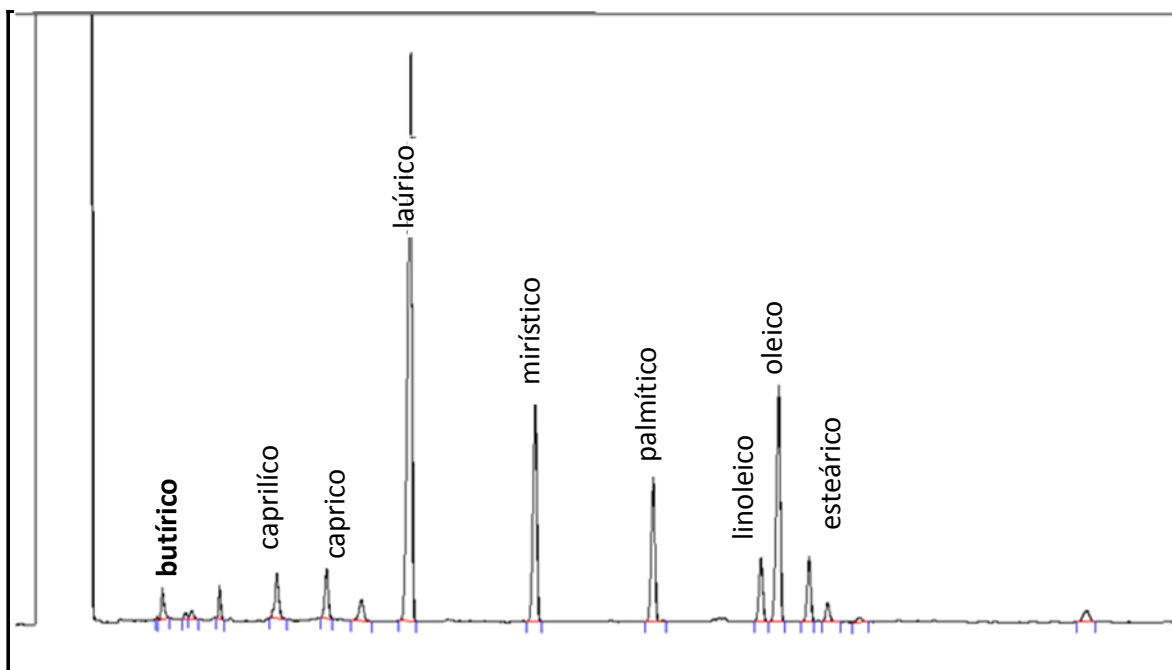
<b>Ácido grado</b>	<b>Probabilidad&gt;F</b>	<b>Significancia</b>
Caprílico	0.0426	<b>Si</b>
Cáprico	0.3213	No
Láurico	0.1413	No
Mirístico	0.4558	No
Palmítico	0.3481	No
Linoleico	0.0067	<b>Si</b>
Oleico	0.3144	No
Esteárico	0.0434	<b>Si</b>

**Tabla 21. Significancia de los ácidos grasos según el sistema de alimentación.**

Como puede observarse en la tabla 21 se encontró una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) para el ácido caprílico, linoleico y esteárico. Podría pensarse que por ser minoría no resulta importante o significativo el tipo de alimentación al cual fueron sometidas las cabras, sin embargo, estos ácidos son característicos de las cabras, en el caso del ácido caprílico es uno de los tres ácidos propios de las mismas y brinda en cierta parte características a la leche de cabra, por otra parte el ácido linoleico es un ácido graso esencial y el análisis estadístico arroja que el tipo de alimentación tiene un efecto significativo en su concentración según el tipo de alimentación y al tiempo. Por último aunque el ácido esteárico es propio del organismo de las cabras se encontró que también la alimentación ejerce un efecto sobre el mismo.

Por otro lado, a parte de los ácidos grasos cualificados y cuantificados respecto a la curva estándar, se logró la identificación de dos ácidos grasos más, el ácido butírico y el ácido caproico. En el caso del ácido butírico ya se contaba con el

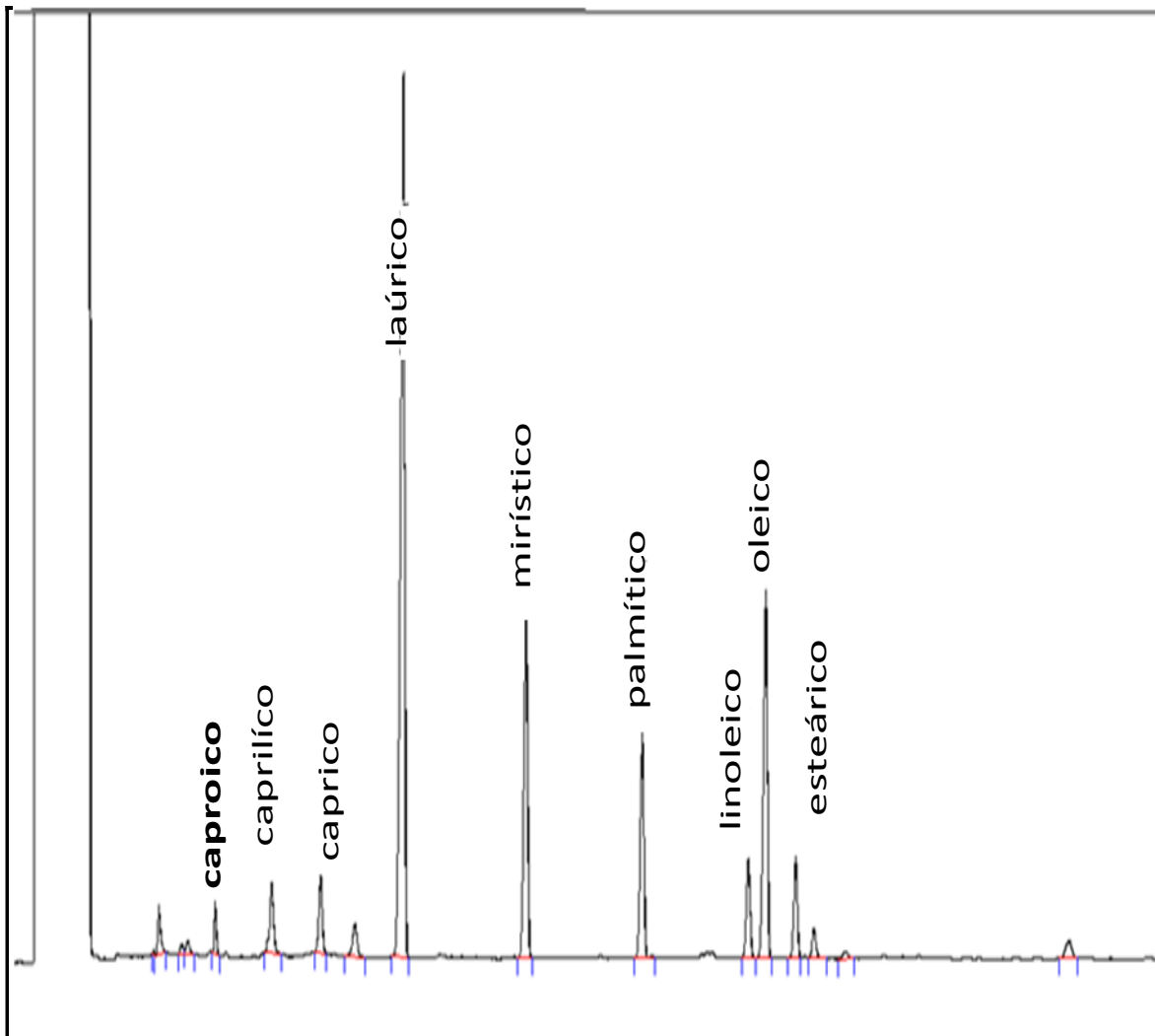
tiempo de retención que se obtuvo en la curva de calibración y es importante mencionar que en los cromatogramas obtenidos este compuesto apareció en cada uno de ellos. Primero se muestra según la curva estándar cual es el lugar del ácido butírico según su tiempo de retención, y de acuerdo al número de carbonos que contiene en su estructura eluye primero.



**Figura 29. Identificación ácido butírico en curva estándar.**

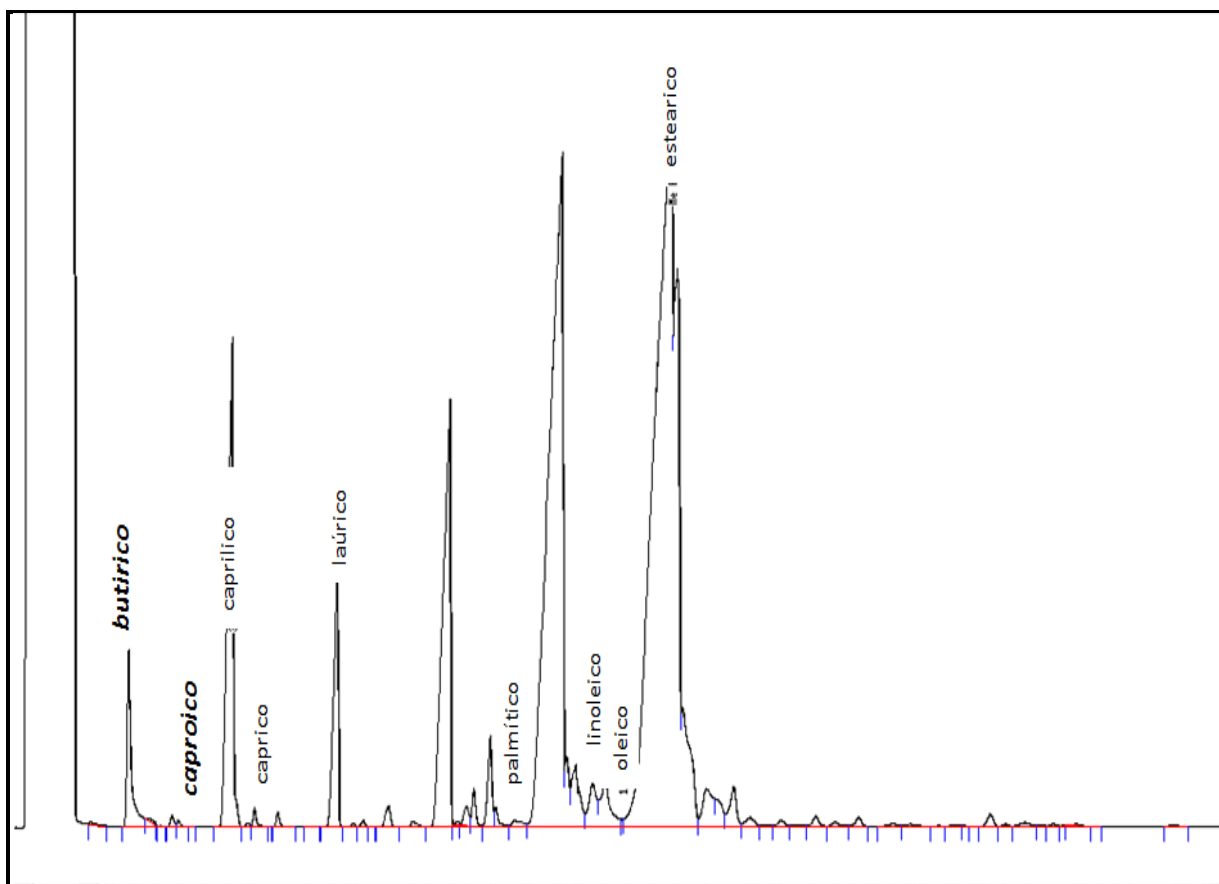
La identificación del ácido butírico es importante debido a que aunque no es un ácido graso característico de la leche de cabra como con el caso de la leche de vaca, este ácido se encuentra también presente en este tipo de leche, solo que en una concentración ligeramente más baja ([www.alfa-editores.com](http://www.alfa-editores.com)). Caso contrario del ácido caproico que esta en mayor proporción en la leche de origen caprino, el valor de este ácido graso en comparación con la leche de vaca es del doble o un poco más.

Se determinó también el tiempo de retención del ácido caproico que es característico de este tipo de leche, además del ácido cáprico y caprílico. El tiempo de retención obtenido fue de 3.32 min, según este dato se muestra a continuación cual habría sido el lugar de este ácido graso de haber estado incluido en la curva estándar.



**Figura 30. Identificación ácido caproico en curva estándar**

A continuación se presenta un cromatograma que se tomo como ejemplo para mostrar la presencia tanto del ácido butírico y del ácido caproico.



**Figura 31. Identificación ácido butírico y caproico en cromatograma de cabra mixta no.1 a los 15 días de lactación.**

Estos dos ácidos grasos solo se identificaron, ya que para conocer la concentración en la que se encontraban en cada una de las muestras habría sido necesaria la inyección de estándares de cada uno de ellos, sin embargo, al momento de realizar los análisis no se contaba en la mezcla de ácidos grasos comerciales, con estos dos ácidos grasos.

## ANÁLISIS GENERAL

En el caso de los ésteres de ácidos con C<sub>16</sub> (palmítico) y C<sub>18</sub> (linoleico y oleico) se ven afectados más fácilmente ya que su presencia o disminución se ve algo alterada en función de la época del año. Dicho fenómeno se presentó tanto en las cabras estabuladas como en las mixtas, esto se refiere a que existió un decremento importante en la concentración de estos ácidos grasos.

En el caso de las cabras estabuladas hubo mayor presencia del éster del ácido láurico durante el periodo de lactación, en todos los casos hubo un incremento del éster del ácido esteárico, manteniéndose los demás en menor cantidad. En las cabras mixtas ocurrió algo muy similar con la diferencia de que las concentraciones del resto de los ésteres fueron más bajas.

El éster del ácido esteárico estuvo presente en altas cantidades esto se debe a que es uno de los compuestos que se forman dentro del organismo de la cabra. Las cabras estabuladas muestran mayor presencia de todos los ésteres, es decir, no hay un solo éster predominante, más sin embargo, las cabras mixtas predominaron el éster del ácido caprílico (C<sub>8</sub>), y del ácido esteárico (C<sub>18</sub>). Esto se debe a que en el caso de las cabras estabuladas su alimentación es controlada al 100 %, por lo que se garantiza que las cabras están consumiendo alimentos ricos en nutrientes que son de vital importancia para una mayor producción de ácidos grasos, por otra parte las cabras mixtas, comen fuera del establo, y como no se tiene un control de lo que ingieren cuando están pastando, pueden llegar a consumir maleza y otro tipo de hierbas que no les brindan un aporte nutricional.

En términos generales la composición en ácidos grasos de la leche de cabra es atípica, es decir, no se ajusta a un modelo, esto es debido a los factores que pueden influir en la presencia durante la lactación.

Cabe mencionar que si se compara al éster metílico de cada uno los ácidos grasos incluidos en la curva estándar respecto a los días de lactación que llevaba cada una de las cabras, no hay gran degradación por llamarlo de algún modo, salvo en algunos casos, como lo es en la cabra mixta no.10 con la concentración del éster metílico del ácido esteárico.

El control de la alimentación en las cabras estabuladas, influyo en un mayor contenido de grasa, por ende se obtuvo una mayor presencia de los ácidos grasos a diferencia de las cabras mixtas que presentaron un menor contenido de los mismos, esto ocurrió debido a lo que se mencionaba con anterioridad, alimentar al ganado fuera del establo implica un “riesgo”, por que no se garantiza que dentro de su dieta el animal consuma un alimento que tenga la misma riqueza alimenticia que un concentrado, que suele ser el alimento de los animales estabulados.

Algo importante a considerar para hablar de un mayor o menor contenido de grasa en leche de cabras, fue la forma de muestreo, de la leche extraída de las al laboratorio para su análisis, tomando en cuenta que se trataba de leche no homogeneizada, un factor que pudo afectar sensiblemente el contenido de grasa fue lo bien o mal homogeneizada que estaban las muestras de leche de cabras, antes de que se tomaran las submuestras correspondientes.

Del mismo modo una alimentación pobre en nutrimentos genera por lo tanto leche que carece de uno o varios ácidos grasos esenciales y viceversa, una alimentación de heno concentrados que contienen proteínas, carbohidratos y demás nutrientes necesarios, darán lugar a mayor presencia de ácidos grasos, como es el caso de las cabras estabuladas ([www.caib.es](http://www.caib.es)).

## CONCLUSIONES

La técnica cromatográfica fue implementada para la evaluación del efecto de la alimentación en el perfil de ácidos grasos en leche de cabras estabuladas y mixtas durante el periodo de lactancia, de manera cualitativa y cuantitativamente; dichas determinaciones fueron posibles, debido a que se detectaron las condiciones críticas del proceso, tales como: la presión, la concentración de la muestra y la temperatura, siendo ésta última de vital importancia, ya que es concluyente para definir la presencia de los diferentes ácidos grasos en las muestras y poder establecer un proceso más exacto y preciso para la determinación de los perfiles de ácidos grasos.

El desarrollo de un procedimiento para poder operar el Cromatógrafo de Gases fue de gran utilidad durante todo el estudio, ya que al tener un conocimiento más amplio de una técnica analítica como lo es la Cromatografía de Gases, es posible la determinación de compuestos esenciales en los alimentos.

Para la obtención de perfiles de ácidos grasos con picos definidos y de buena resolución se requiere encontrar y definir las condiciones adecuadas para que al llevar a cabo las corridas experimentales los resultados sean claros y concisos.

Es necesaria y de vital importancia la validación de las técnicas a emplear, ya que de ese modo se asegura que las mediciones llevadas a cabo son confiables.

Para la implementación de una técnica se requiere tener un conocimiento concreto del equipo, las características que debe poseer la materia prima, así como el manejo y la técnica de inyección de la muestra.

En específico, la inyección de la muestra debe realizarse de la manera adecuada y con la técnica recomendada (aire-muestra-aire) ya que es un parámetro crítico que definirá las propiedades del cromatograma.

La alimentación de los animales es un factor determinante en la concentración de los ácidos grasos presentes en la grasa láctea proveniente de leche de cabra durante el periodo de lactación de las mismas. Los ácidos grasos en particular son los más sujetos a alteración (cambio o modificación) por factores ambientales como la dieta, lo cual genera cambios en composición y concentración de tales compuestos.

Considerando lo anterior, es decir, que la alimentación es un factor determinante en la obtención de leche de cabra con un alto contenido de ácidos grasos, en este trabajo experimental se encontró que la alimentación en un sistema estabulado es lo más idóneo para un perfil de ácidos grasos más homogéneo y completo en cuanto a distribución de ácidos grasos.



## BIBLIOGRAFÍA

- BADUI, D. (2006). *Química de los Alimentos*. 4ª ed. México: Pearson Education. pp. 716.
- BALTES, (2006). *Química de los Alimentos*. 5ª ed. Zaragoza: Acribia. pp. 476.
- BAUGH, P. (1993). *Gas Chromatography: A practical approach*. 1º ed. Oxford: Irl. pp. 426.
- FENNEMA, O. (1985). *Introducción a la Ciencia de los Alimentos*. Barcelona: Reverte. pp. 1095.
- HERNÁNDEZ, L. (2002). *Introducción al análisis instrumental*. 1º ed. Barcelona: Ariel. pp. 455.
- <http://www.alfaeditores.com/carnilac/Octubre%20Noviembre%2005/TECNOLOGIA%20Leche%20de%20cabra.htm>
- <http://www.caib.es/govern/archivo.do?id=37768>
- <http://www.promexico.gob.mx/work/sites/Promexico/.../2/DINAMARCA.pdf>
- <http://www.sigmaaldrich.com>
- J & W (1998/99). *Catalog, Technical Reference & Cookbook: What's gas Chromatography?*. pp.42.
- JMP version 5.1
- LONG, (1983.) *Covariance structure models*. Beverly Hills: Sage. pp.95.
- LUQUET, F. (1991). *Leche y productos lácteos*. 1º ed. Zaragoza: Acribia. pp. 343-367.
- MENDOZA, M. (2010). *Curso: Principios básicos de cromatografía de gases*. México, D.F.: Centro tecnológico Gramma, pp 47.
- NARVÁEZ, P (2005). *Determinación por cromatográfica de gases de alquil ésteres (metílico y etílico) de ácidos grasos, en presencia de mono-, di y triglicéridos*. Bogotá: Ingeniería e Investigación. pp. 6.
- NMX-F-490-NORMEX-1999 *Norma Mexicana: Alimentos-aceites y grasas*. Determinación de la composición de ácidos grasos a partir de C<sub>6</sub> por cromatografía de gases.

- NMX-F-728-COFOCALEC-2007, *Sistema producto leche- Alimentos-Lácteos-Leche cruda de cabra*- Especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba.
- NOA, M. (2005). *Cromatografía de gases y de líquidos de alta resolución: aplicación en el análisis de alimentos*. 1° ed. México, D.F.: UAM, Unidad Xochimilco. pp.326.
- NOM-155-SCFI-2003, *Norma Oficial Mexicana: Leche*. Fórmula láctea y producto lácteo combinado.
- PEARSON, D. (1976). *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Zaragoza: Acribia, pp.331.
- ROUESSAC, F. (2003). *Análisis Químico: Métodos y técnicas instrumentales modernas*. 1ª ed. [Madrid: McGraw-Hill Interamericana](#). pp. 419.
- SOUCI-FACHMANN-KRAUT. (1998). *Tablas de composición de alimentos*. 1ª ed. E.U.A: Acribia. pp. 454.
- SUCIN, T. (2003). *La cabra*. Madrid: Mundi-Prensa. pp. 121
- TEXPA, E. (2009). *Evaluación del efecto de la adición de cultivos iniciadores en los cambios que sufren los lípidos en embutidos cárnicos madurados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas*. México: Castillo. pp. 119.
- Varian. (1998). *3800 GC Control Software: Installation and Operation*. 1ª ed. Ed.Varian Associates. pp. 84.
- Varian. (1998). *3800 GC Operator's Manual*. 1ª ed. Ed.Varian Associates pp. 150.
- Varian. (1998). *Star Advance Applications Software*. 1ª ed. Ed.Varian Associates. pp. 72.
- Varian. (1998). *Star Chromatography Workstation: Installation*. 1ª ed. Ed.Varian Associates. pp.33.
- Varian. (1998). *Star Chromatography Workstation: Operation*. 1ª ed. Ed.Varian Associates. pp.149.

- Varian. (1998). *Star Chromatography Workstation: Regulatory Compliance*. 1<sup>a</sup> ed. Ed.Varian Associates. pp.49
- Varian. (1998). *Star Chromatography Workstation: Tutorials*. 1<sup>a</sup> ed. Ed.Varian Associates. pp.132.
- Varian. (1998). *Star Custom Report Writer: Operation*. 1<sup>a</sup> ed. Ed.Varian Associates. pp.69.
- Varian. (1998). *Star Workstation 4.5 Upgrade Notes*. 1<sup>a</sup> ed. Ed.Varian Associates. pp. 8.
- WALTON, H. (1978). *Análisis químico e instrumental moderno*. 1<sup>a</sup> ed. Barcelona: Reverte. pp. 391.

## ANEXO

### • Caprílico

Cabra	Sistema	día 15	día 60	día 150	día 195	día 240
1	1	29.45	33.69	26.53	33.7874	0
2	1	27.15	23.43	65.7164	37.99	16.17
3	1	54.47	20.05	41.0369	24.35	0
4	1	0	6.18	0	0	0
5	1	34.54	29.11	31.02	34.44	26.65
1	2	68.31	51.66	40.23		41.87
2	2	44.22	49.46	41.77		32.53
3	2	21.87	39.31	74.25		71.72
4	2	21.98	32.1	47.71		72.35
5	2	29.45	47.74	4.65		7.11

**Tabla 22. Concentración del ácido caprílico en dos sistemas de alimentación a diversos tiempos.**

### • Cáprico

Cabra	Sistema	día 15	día 60	día 150	día 195	día 240
1	1	0.53	1.2	0.52	4.1891	4.52
2	1	0.93	0.99	1.5121	0.97	0.58
3	1	0.82	0.46	1.1273	14.49	2.58
4	1	0	0	12.23	26.14	34.65
5	1	0.55	0.69	1.98	1.16	0
1	2	1.69	2.92	0.74		1.89
2	2	0.78	0.98	0.87		0.99
3	2	0	0.78	1.14		1.31
4	2	1.4	0.61	1.03		2.25
5	2	0.53	1.01	0		0

**Tabla 23. Concentración del ácido cáprico en dos sistemas de alimentación a diversos tiempos.**

- Láurico

Cabra	Sistema	día 15	día 60	día 150	día 195	día 240
1	1	9.4	8.32	6.73	11.4391	95.48
2	1	8.1	6.99	21.5414	12.77	5.33
3	1	10.87	5.82	12.5101	11.01	73.51
4	1	100	56.66	0	4.19	0
5	1	8.08	9.71	56.47	15.92	11.9
1	2	28.64	40.71	16.06		29.21
2	2	11.34	15.35	15.06		11
3	2	6.21	12.89	21.94		17.59
4	2	6.21	11.76	17.02		22.65
5	2	9.4	11.87	6.8		5.87

**Tabla 24. Concentración del ácido láurico en dos sistemas de alimentación a diversos tiempos.**

- Mirístico

Cabra	Sistema	día 15	día 60	día 150	día 195	día 240
1	1	0	0.15	18.29	23.0603	0
2	1	24.4	0.92	3.8611	2.03	12.9
3	1	16.56	14.98	4.342	21.48	1
4	1	0	0.57	45.53	20.94	5.69
5	1	0	0	9.29	0	23.2
1	2	0	0.7	0		0
2	2	0	0	0.12		0
3	2	17.98	24.7	0		9.38
4	2	16.9	28.81	0		0
5	2	0	0	16.53		18.12

**Tabla 25. Concentración del ácido mirístico en dos sistemas de alimentación a diversos tiempos.**

- **Palmítico**

Cabra	Sistema	día 15	día 60	día 150	día 195	día 240
1	1	0.22	0.76	0.45	0.06679	0
2	1	0.47	0.32	0.7535	0.84	0.3
3	1	0.37	1.38	0.388	0.63	0
4	1	0	2.8	0	3.93	0.89
5	1	0.28	0.45	0	0.68	1.15
1	2	0.49	0.88	0.35		0.22
2	2	2.26	0.22	0.06		0.45
3	2	0.42	0.4	0.79		0
4	2	0.48	0.45	0.07		0.98
5	2	0.22	0.21	59.33		49.13

**Tabla 26. Concentración del ácido palmítico en dos sistemas de alimentación a diversos tiempos.**

- **Linoleico**

Cabra	Sistema	día 15	día 60	día 150	día 195	día 240
1	1	0.02	29.58	0	3.6167	0
2	1	1.64	0	6.6154	3.4	35.53
3	1	2.24	1.06	12.7873	0	22.92
4	1	0	0	5.78	18.78	23.6
5	1	1.78	1.98	0	1.82	0.56
1	2	0.88	3.13	0.75		0.83
2	2	1.03	1.25	1.54		1.9
3	2	1.03	1.14	1.87		0
4	2	1.03	0.63	1.36		1.78
5	2	0.02	1.14	0		0.65

**Tabla 27. Concentración del ácido linoleico en dos sistemas de alimentación a diversos tiempos.**

- Oleico

Cabra	Sistema	día 15	día 60	día 150	día 195	día 240
1	1	0	0	0	22.4239	0
2	1	0	0	0	0	0
3	1	12.29	0	10.3707	25.74	0
4	1	0	0	36.46	26.02	35.16
5	1	0.06	0.11	1.24	0.18	10.99
1	2	0	0	0		0
2	2	0	0	0		0
3	2	0	0	0		0
4	2	0.92	0	0		0
5	2	0	0	11.24		17.16

**Tabla 28. Concentración del ácido caprílico en dos sistemas de alimentación a diversos tiempos.**

- Esteárico

Cabra	Sistema	día 15	día 60	día 150	día 195	día 240
1	1	60.39	26.31	47.48	0.8156	0
2	1	37.31	67.35	0	41.99	29.2
3	1	2.38	56.25	17.4376	2.3	0
4	1	0	33.78	0	0	0
5	1	54.72	57.95	0	45.8	25.54
1	2	0	0	41.87		25.98
2	2	40.37	32.75	40.57		53.12
3	2	52.49	20.79	0		0
4	2	51.08	25.64	32.82		0
5	2	60.39	38.04	1.45		1.96

**Tabla 29. Concentración del ácido caprílico en dos sistemas de alimentación a diversos tiempos.**

DR. JOSÉ LUIS DÁVALOS FLORES  
CEIEPAA  
FMVZ-UNAM

Muestra: 0221 (INVESTIGACIÓN)  
ALFALFA ACHICALADA

Fecha de recepción: 17.01.11 OCTUBRE DICIEMBRE 2010

**Análisis Químico Inmediato\*:**

RESULTADOS			
	R 1	PROMEDIO	FACTOR
Materia seca	88.24%	90.00%	100.00%
Humedad	13.76%	10.00%	0.00%
Proteína Cruda (Nitrógeno*6.25)	15.62%	16.61%	18.46%
Extracto Etéreo	1.04%	1.08%	1.20%
Cenizas	9.63%	10.11%	11.23%
Fibra Cruda	14.20%	14.62%	16.46%
Extracto Libre de Nitrógeno	45.41%	47.38%	52.55%
T.N.D.	55.19%	57.60%	64.00%
E.D. kcal/kg (Aproximadamente)	2433.62	2539.69	2621.69
E.M. kcal/kg (Aproximadamente)	1936.28	2082.17	2313.52

\*Método AOAC Químico Proximal (1990)

Atentamente,  
"POR MI BAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria 26 de Enero de 2011.



Q.A. Agueda García Pérez  
Responsable del Laboratorio



MPA, MVZ, Sergio C. Angeles Campos  
Jefe del Depto. de Nutrición Animal y  
Bioquímica

Esta constancia expresa únicamente la muestra analizada. Se prohíbe la reproducción total o parcial de la misma sin previa autorización escrita del responsable del laboratorio. La presente constancia no podrá ser utilizada para fines legales.





UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BIOQUÍMICA**

LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICOS PARA ALIMENTOS

Av. Universidad No. 3000 México D.F. Tel. 5622-5907 y 5622-5879 Fax: 5622-5906

**Constancia:021I/11**

**Hoja 01/01**

**DR. JOSÉ LUIS DÁVALOS FLORES  
CEIEPAA  
FMVZ-UNAM**

**Muestra.: 021I (INVESTIGACIÓN)  
FORRAJE CORTE**

**Fecha de recepción: 17.01.11 OCTUBRE DICIEMBRE 2010**

**Análisis Químico Inmediato\*:**

RESULTADOS			
	B.H.	BASE 90	BASE 100
Materia seca	94.74%	90.00%	100.00%
Humedad	5.26%	10.00%	0.00%
Proteína Cruda (Nitrógeno*6.25)	19.23%	18.26%	20.29%
Extracto Etéreo	1.70%	1.62%	1.80%
Cenizas	10.97%	10.42%	11.58%
Fibra Cruda	14.02%	13.32%	14.79%
Extracto Libre de Nitrógeno	48.82%	46.38%	51.53%
T.N.D.	61.49%	58.42%	64.91%
E.D. kcal/kg (Aproximadamente)	2711.15	2575.56	2861.73
E.M. kcal/kg (Aproximadamente)	2222.91	2111.74	2346.37

**\*Método AOAC Químico Proximal (1990)**

**Atentamente.**  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria 26 de Enero de 2011.

**Q.A. Águeda García Pérez  
Responsable del Laboratorio**

**MPA. MVZ. Sergio C. Angeles Campos  
Jefe del Depto. de Nutrición Animal y  
Bioquímica**

Esta constancia ampara únicamente la muestra analizada. Se prohíbe la reproducción total o parcial de la misma sin previa autorización escrita del responsable del laboratorio. La presente constancia no podrá ser utilizadas para fines legales.

FRP-MV-003. Rev. 1



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BIOQUÍMICA**

LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICOS PARA ALIMENTOS

Av. Universidad No. 3000 México D.F. Tel. 5622-5907 y 5622-5879 Fax: 5622-5906

**Constancia:0171/11**

**Hoja 01/01**

**DR. JOSÉ LUIS DÁVALOS FLORES  
CEIEPAA  
FMVZ-UNAM**

**Muestra.: 0171 (INVESTIGACIÓN)  
ALIMENTO CAPRINOS**

PERIODO CTUBRE DICIEMBRE 2010

**Fecha de recepción: 17.01.11**

**Análisis Químico Inmediato\*:**

RESULTADOS			
	B.H.	BASE 90	BASE 100
Materia seca	96.90%	90.00%	100.00%
Humedad	3.10%	10.00%	0.00%
Proteína Cruda (Nitrógeno*6.25)	20.05%	18.62%	20.69%
Extracto Etéreo	2.99%	2.78%	3.09%
Cenizas	10.78%	10.01%	11.13%
Fibra Cruda	13.52%	12.56%	13.96%
Extracto Libre de Nitrógeno	49.56%	46.03%	51.14%
T.N.D.	72.46%	67.30%	74.78%
E.D. kcal/kg (Aproximadamente)	3194.67	2967.16	3296.84
E.M. kcal/kg (Aproximadamente)	2619.35	2432.81	2703.13

**\*Método AOAC Químico Proximal (1990)**

**Atentamente.**  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria 25 de Enero de 2011.

**Q.A. Águeda García Pérez  
Responsable del Laboratorio**

**MPA. MVZ. Sergio C. Angeles Campos  
Jefe del Depto. de Nutrición Animal y  
Bioquímica**

Esta constancia ampara únicamente la muestra analizada. Se prohíbe la reproducción total o parcial de la misma sin previa autorización escrita del responsable del laboratorio. La presente constancia no podrá ser utilizadas para fines legales.

FRP-MV-003. Rev. 1

## Material Safety Data Sheet

Version 5.0  
 Revision Date 03/14/2011  
 Print Date 09/10/2011

## 1. PRODUCT AND COMPANY IDENTIFICATION

Product name : Oil reference standard aocs no. 5

Product Number : O7506-1AMP  
 Brand : Supelco

Supplier : Sigma-Aldrich Quimica, S.A. de  
 C.V.  
 Parque Industrial Toluca 2000  
 Calle 6 Norte No. 107  
 50200 TOLUCA  
 MEXICO

Telephone : +52 (0)1-800-007-5300  
 Fax : +52 (0)1-800-712-9920  
 Emergency Phone # (For  
 both supplier and  
 manufacturer) :

Preparation Information : Sigma-Aldrich Corporation  
 Product Safety - Americas Region  
 1-800-521-8956

## 2. HAZARDS IDENTIFICATION

## Emergency Overview

## OSHA Hazards

Corrosive

## GHS Classification

Skin irritation (Category 2)

Serious eye damage (Category 1)

## GHS Label elements, including precautionary statements

Pictogram



Signal word

Danger

Hazard statement(s)

H315 Causes skin irritation.

H318 Causes serious eye damage.

Precautionary statement(s)

P280 Wear protective gloves/ eye protection/ face protection.

P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

## HMIS Classification

Health hazard: 3

Flammability: 0

Physical hazards: 0

## NFPA Rating

Health hazard: 3

Fire: 0

Reactivity Hazard: 0

### Potential Health Effects

<b>Inhalation</b>	May be harmful if inhaled. Material is extremely destructive to the tissue of the mucous membranes and upper respiratory tract.
<b>Skin</b>	May be harmful if absorbed through skin. Causes skin burns.
<b>Eyes</b>	Causes eye burns.
<b>Ingestion</b>	May be harmful if swallowed.

---

### 3. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS

CAS-No.	EC-No.	Index-No.	Concentration
<b>Methyl decanoate</b>			
110-42-9	203-766-6	-	5 %
<b>Methyl myristate</b>			
124-10-7	204-680-1	-	15 %
<b>Methyl stearate</b>			
112-61-8	203-990-4	-	3 %
<b>Methyl octanoate</b>			
111-11-5	203-835-0	-	7 %
<b>Methyl laurate</b>			
111-82-0	203-911-3	-	48 %
<b>Methyl linoleate</b>			
112-63-0	203-993-0	-	3 %
<b>Methyl oleate</b>			
112-62-9	203-992-5	-	12 %
<b>Methyl palmitate</b>			
112-39-0	203-966-3	-	7 %

---

### 4. FIRST AID MEASURES

#### General advice

Consult a physician. Show this safety data sheet to the doctor in attendance. Move out of dangerous area.

#### If inhaled

If breathed in, move person into fresh air. If not breathing, give artificial respiration. Consult a physician.

#### In case of skin contact

Wash off with soap and plenty of water. Consult a physician.

#### In case of eye contact

Rinse thoroughly with plenty of water for at least 15 minutes and consult a physician. Continue rinsing eyes during transport to hospital.

#### If swallowed

Never give anything by mouth to an unconscious person. Rinse mouth with water. Consult a physician.

---

### 5. FIRE-FIGHTING MEASURES

#### Conditions of flammability

Not flammable or combustible.

#### Suitable extinguishing media

Use water spray, alcohol-resistant foam, dry chemical or carbon dioxide.

#### Special protective equipment for fire-fighters

Wear self contained breathing apparatus for fire fighting if necessary.

**Hazardous combustion products**

Hazardous decomposition products formed under fire conditions. - Carbon oxides

---

**5. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES****Personal precautions**

Use personal protective equipment. Avoid breathing vapors, mist or gas. Ensure adequate ventilation. Evacuate personnel to safe areas.

**Environmental precautions**

Do not let product enter drains.

**Methods and materials for containment and cleaning up**

Soak up with inert absorbent material and dispose of as hazardous waste. Keep in suitable, closed containers for disposal.

---

**7. HANDLING AND STORAGE****Precautions for safe handling**

Avoid contact with skin and eyes. Avoid inhalation of vapour or mist.

**Conditions for safe storage**

Keep container tightly closed in a dry and well-ventilated place. Containers which are opened must be carefully resealed and kept upright to prevent leakage.

Recommended storage temperature: -20 °C

---

**3. EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION**

Contains no substances with occupational exposure limit values.

**Personal protective equipment****Respiratory protection**

Where risk assessment shows air-purifying respirators are appropriate use a full-face respirator with multi-purpose combination (US) or type ABEK (EN 14387) respirator cartridges as a backup to engineering controls. If the respirator is the sole means of protection, use a full-face supplied air respirator. Use respirators and components tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or CEN (EU).

**Hand protection**

Handle with gloves. Gloves must be inspected prior to use. Use proper glove removal technique (without touching glove's outer surface) to avoid skin contact with this product. Dispose of contaminated gloves after use in accordance with applicable laws and good laboratory practices. Wash and dry hands.

**Eye protection**

Tightly fitting safety goggles. Faceshield (8-inch minimum). Use equipment for eye protection tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or EN 166(EU).

**Skin and body protection**

Complete suit protecting against chemicals. The type of protective equipment must be selected according to the concentration and amount of the dangerous substance at the specific workplace.

**Hygiene measures**

Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice. Wash hands before breaks and at the end of workday.

---

**3. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES****Appearance**

Form	liquid
Colour	no data available

**Safety data**

pH	no data available
Melting	no data available

point/freezing point	
Boiling point	no data available
Flash point	no data available
Ignition temperature	no data available
Autoignition temperature	no data available
Lower explosion limit	no data available
Upper explosion limit	no data available
Vapour pressure	no data available
Density	no data available
Water solubility	no data available
Partition coefficient: n-octanol/water	no data available
Relative vapour density	no data available
Odour	no data available
Odour Threshold	no data available
Evaporation rate	no data available

---

## 10. STABILITY AND REACTIVITY

### Chemical stability

Stable under recommended storage conditions.

### Possibility of hazardous reactions

no data available

### Conditions to avoid

no data available

### Materials to avoid

Strong oxidizing agents

### Hazardous decomposition products

Hazardous decomposition products formed under fire conditions. - Carbon oxides

---

## 11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

### Acute toxicity

#### Oral LD50

no data available

#### Inhalation LC50

no data available

#### Dermal LD50

no data available

#### Other information on acute toxicity

no data available

### Skin corrosion/irritation

no data available

### Serious eye damage/eye irritation

Eyes: no data available

### Respiratory or skin sensitization

no data available

**Germ cell mutagenicity**

no data available

**Carcinogenicity**

IARC: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as probable, possible or confirmed human carcinogen by IARC.

ACGIH: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a carcinogen or potential carcinogen by ACGIH.

NTP: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a known or anticipated carcinogen by NTP.

OSHA: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a carcinogen or potential carcinogen by OSHA.

**Reproductive toxicity**

no data available

**Teratogenicity**

no data available

**Specific target organ toxicity - single exposure (Globally Harmonized System)**

no data available

**Specific target organ toxicity - repeated exposure (Globally Harmonized System)**

no data available

**Aspiration hazard**

no data available

**Potential health effects**

<b>Inhalation</b>	May be harmful if inhaled. Material is extremely destructive to the tissue of the mucous membranes and upper respiratory tract.
<b>Ingestion</b>	May be harmful if swallowed.
<b>Skin</b>	May be harmful if absorbed through skin. Causes skin burns.
<b>Eyes</b>	Causes eye burns.

**Signs and Symptoms of Exposure**

To the best of our knowledge, the chemical, physical, and toxicological properties have not been thoroughly investigated.

**Synergistic effects**

no data available

**Additional Information**

RTECS: Not available

---

**2. ECOLOGICAL INFORMATION****Toxicity**

no data available

**Persistence and degradability**

no data available

**Bioaccumulative potential**

no data available

**Mobility in soil**

no data available

**PBT and vPvB assessment**

no data available

**Other adverse effects**

no data available

---

**13. DISPOSAL CONSIDERATIONS**

**Product**

Offer surplus and non-recyclable solutions to a licensed disposal company. Contact a licensed professional waste disposal service to dispose of this material. Dissolve or mix the material with a combustible solvent and burn in a chemical incinerator equipped with an afterburner and scrubber.

**Contaminated packaging**

Dispose of as unused product.

---

**14. TRANSPORT INFORMATION**

**DOT (US)**

Not dangerous goods

**IMDG**

Not dangerous goods

**IATA**

Not dangerous goods

---

**15. REGULATORY INFORMATION**

**OSHA Hazards**

Corrosive

**SARA 302 Components**

SARA 302: No chemicals in this material are subject to the reporting requirements of SARA Title III, Section 302.

**SARA 313 Components**

SARA 313: This material does not contain any chemical components with known CAS numbers that exceed the threshold (De Minimis) reporting levels established by SARA Title III, Section 313.

**SARA 311/312 Hazards**

Acute Health Hazard

**Massachusetts Right To Know Components**

No components are subject to the Massachusetts Right to Know Act.

**Pennsylvania Right To Know Components**

	CAS-No.	Revision Date
Methyl octanoate	111-11-5	
Methyl laurate	111-82-0	
Methyl linoleate	112-63-0	
Methyl myristate	124-10-7	
Methyl decanoate	110-42-9	
Methyl oleate	112-62-9	
Methyl stearate	112-61-8	
Methyl palmitate	112-39-0	

**New Jersey Right To Know Components**

	CAS-No.	Revision Date
Methyl octanoate	111-11-5	
Methyl laurate	111-82-0	
Methyl myristate	124-10-7	
Methyl oleate	112-62-9	
Methyl palmitate	112-39-0	

**California Prop. 65 Components**

This product does not contain any chemicals known to State of California to cause cancer, birth defects, or any other reproductive harm.

---

**16. OTHER INFORMATION**



**Further information**

Copyright 2011 Sigma-Aldrich Co. License granted to make unlimited paper copies for internal use only.  
The above information is believed to be correct but does not purport to be all inclusive and shall be used only as a guide. The information in this document is based on the present state of our knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. Sigma-Aldrich Co., shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

---