



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**COMPARACION DE DIFERENTES TECNICAS
DE EXTRACCION EN EL ANALISIS
DEL MANGO**

T E S I S

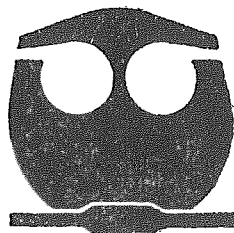
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS QUIMICAS

(QUIMICA ANALITICA)

P R E S E N T A:

Q. ELBA ROJAS ESCUDERO



**FACULTAD DE
QUIMICA**

MEXICO, D. F.

1997



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO

PRESIDENTE	Dra. MARTHA ALBORES VELASCO.
PRIMER VOCAL	Dr. HERMILO LEAL LARA.
SECRETARIO	Dra. ARACELI PEÑA ALVAREZ.
PRIMER SUPLENTE	M. en C. FRANCISCO ROJO CALLEJAS.
SEGUNDO SUPLENTE	M. en C. REINA DEL CARMEN LABASTIDA RUBIO.

El presente trabajo se desarrolló en los laboratorios de Química Orgánica y Cromatografía de Gases de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

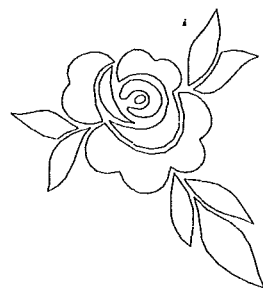
ASESOR

M. en C. SANTIAGO CAPELLA VIZCAINO.

SUSTENTANTE

Q. ELBA ROJAS ESCUDERO.

AGRADECIMIENTOS



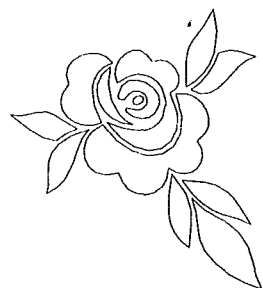
A la persona que más admiro y quiero, por todo . . . gracias Mom.

A la luz de mi vida . . . Misael.

Con cariño a Celia, Mary, José, Jorge Moisés y Ricardo.

A mis sobrinos . . . por la gran oportunidad que nos han dado . . .

Dónde quiera que se encuentren . . . Papá y Dionicio . . .



Al M. en C. Santiago Capella Vizcaino por sus enseñanzas y la oportunidad de realizar este trabajo.

A los maestros: Carmen Labastida, Francisco Rojo, Fernando León y José Manuel Méndez por su colaboración en este trabajo.

Al Comité Femuma . . . por nuestra bonita amistad.

A mis amigos . . .

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. GENERALIDADES	
2.1. Mango	4
2.2. Extracción	7
2.2.1. Extracción por arrastre con vapor	7
2.2.2. Extracción líquido-líquido	8
2.2.3. Extracción con vapor de agua y disolventes	9
2.2.4. Extracción del vapor confinado	9
2.2.5. Extracción con fluidos supercríticos	10
2.3. Cromatografía de gases	12
2.4. Cromatografía de gases capilar-Espectrometría de masas	12

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	14
3.1. Equipo y material	14
3.1.1. Análisis del vapor confinado	14
3.1.2. Extracción con fluidos supercríticos	15
3.1.3. Cromatografía de gases capilar	15
3.1.4. Cromatografía de gases capilar-Espectrometría de masas	15
3.2. Reactivos	15
3.3. Estándares	16
3.4. Metodología	16
3.4.1. Extracción con vapor de agua y disolventes	16
3.4.2. Extracción del vapor confinado	17
3.4.3. Extracción con fluidos supercríticos	20
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	23
5. CONCLUSIONES	38
APÉNDICE I	40
APÉNDICE II	78
BIBLIOGRAFÍA	93

RESUMEN

El mango contiene un gran número de componentes de naturaleza química variada que le proporcionan su aroma y sabor característicos. En la literatura es poca la información disponible sobre su composición, a pesar de la importancia comercial de esta fruta en el mundo (MacLeod y Pieris, 1984).

Como en la mayoría de las frutas, el mango contiene un porcentaje alto de agua lo que dificulta la aplicación de algunas de las técnicas analíticas.

En este trabajo se realizó el análisis de mango manila (*Mangifera indica* L.) extrayendo de esta fruta algunos de sus componentes por tres diferentes técnicas:

1. Arrastre con vapor de agua y disolventes.
2. Análisis del vapor confinado (Head-Space).
3. Fluídos supercríticos.

Los extractos obtenidos se analizaron por Cromatografía de gases y con el sistema acoplado Cromatografía de gases - Espectrometría de masas. Con la primera técnica de extracción se obtuvo un extracto en el que predominan los hidrocarburos lineales, la identificación se realizó por co-inyección de estándares.

Con la segunda técnica se extrajeron compuestos de presión de vapor alta (volátiles). Utilizando el sistema acoplado Head/Space-Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas se identificaron algunos terpenos, a los cuales se les asigna el aroma del mango.

Con la última técnica se utilizaron diferentes condiciones de presión, 100, 200 y 300 atmósferas. A 100 atm. se extraen en mayor número compuestos volátiles y algunos semi-volátiles, a 200 atm. la proporción de semi-volátiles es mayor, este efecto se acentúa a 300 atm. Algunos compuestos se extraen con más de una de las técnicas y condiciones estudiadas.

La preparación de la muestra requirió de un tratamiento especial para evitar la pérdida de material volátil. Sin embargo, se lograron extraer e identificar cuarenta y cinco compuestos en el mango manila.

1. INTRODUCCIÓN

Los aceites volátiles también conocidos como aceites etéreos, aceites esenciales o esencias, porque se creyó que por su olor y sabor en ellos se concentraba la quinta-esencia de las plantas. A pesar de su aspecto oleoso difieren en composición y en propiedades de los ácidos grasos y de los aceites minerales.

Una definición precisa de los aceites volátiles no es posible. Sin embargo, para fines prácticos pueden ser definidos como cuerpos odoríferos de naturaleza oleosa, obtenidos casi exclusivamente de fuentes vegetales, generalmente líquidos a las temperaturas ordinarias y volátiles sin descomposición.

La función del aceite esencial en la planta no se conoce bien. Quizá los olores de las flores atraen o repelen a ciertos insectos y así ayudan a la selección natural. Los aceites de las raíces, del leño y de las hojas tal vez les protegen de plantas parásitas y contra las depredaciones de los animales. Las exudaciones oleorresinosas formadas cuando se hiere el tronco de un árbol parecen actuar como obturación protectora contra enfermedades y parásitos y para evitar la pérdida de savia. Se han propuesto otras explicaciones de la función de los aceites esenciales, pero hasta ahora ninguna es completamente satisfactoria. Entre el gran número de especies vegetales conocidas son pocas las que producen aceites volátiles y solamente de 150 a 200 especies se explotan para la producción industrial de estos aceites. Muchos de ellos habitan en zonas geográficas remotas, en condiciones excepcionalmente primitivas; pero el hombre civilizado ha demandado desde hace tiempo sus preciosos productos. En siglos pasados algunos se usaron como productos medicinales, otros para inciensos y perfumes, y cierto número de ellos como saborizantes (Kirk-Othmer, 1962).

Los aceites esenciales han sido conocidos por el género humano hace cientos de años, desde las dinastías de los faraones egipcios y por los antiguos griegos. Desde entonces, la preparación de los principios del aroma de plantas ha sido una ocupación importante y en la actualidad se desarrolla a nivel industrial, siendo generalmente obtenidos por destilación, y aún cuando ocurren cambios químicos internos durante el aislamiento estos no tienen importancia debido a que juegan una parte esencial en producir el acostumbrado olor y sabor del aceite. Otra gran aplicación de los aceites

esenciales son las fragancias, que son extractos de plantas combinados con disolventes, polímeros o productos sintéticos (Motto, 1987).

La evaluación objetiva del aroma de un alimento por análisis instrumental es uno de los principales retos para el químico dedicado al análisis de aromas, por lo que solo se han obtenido resultados reales para algunos alimentos debido a la dificultad del problema. Los aspectos importantes son: (1) aislar una mezcla representativa del aroma, y (2) determinar la importancia de los diferentes compuestos en el aroma. Para estimar la importancia de estos compuestos en el aroma es necesario realizar un gran número de comparaciones entre el análisis sensorial y el análisis químico.

En las plantas los aceites esenciales se encuentran en estructuras especiales, tales como fibras glandulares sobre la epidermis, tubos aceitosos en el pericarpio, o bien aislados en células aceitosas en el tejido de la planta. Es evidente que la extracción de los aceites de la planta dependerá de la estructura en la cual se encuentren y de la técnica de extracción seleccionada. La extracción con vapor de agua, con disolventes y del vapor confinado son las técnicas más frecuentemente usadas para este tipo de compuestos.

En el análisis del mango la mayoría de los trabajos reportados son aquellos en los que el interés es conocer los componentes del fruto, observar las diferencias entre las variedades y en algunas ocasiones realizar estudios sobre su madurez.

El presente trabajo tiene como objetivo utilizar diferentes técnicas de extracción en el análisis del mango manila, identificar el mayor número de sus compuestos y comparar las ventajas y desventajas que presenta cada técnica.

2. GENERALIDADES

2.1. *Mango*

El mango (*Mangifera indica* L.) de la familia de las anacardáceas, es una de las frutas tropicales más importante y más conocida debido a su agradable aroma y sabor.

Se cultiva desde hace siglos en la India y ha emigrado a otros países. Fué traído por los portugueses cultivándose por primera vez en Brasil, actualmente se cultiva en toda la América tropical y subtropical, desde el sur de Florida hasta Brasil (Dirección general de política agrícola, 1991).

Las actuales variedades comerciales de mango provienen de tres grandes grupos o tipos:

1. Los “poliembriónicos” de pulpa fibrosa, desarrollados en las Indias Occidentales y Sudamérica; que se encuentran diseminados en todo el mundo.
2. Los también “poliembriónicos” que se originaron en la antigua Indochina y las Filipinas, con pulpa dulce y sin fibras.
3. Los originados en la India, con pulpa sin fibra y buenas características para su almacenamiento, son comercialmente las más importantes en el mundo.

La producción de mango se inicia en México a principios del siglo XIX, procedente de las Antillas Británicas, y las plantaciones de esta especie se difundieron rápidamente por todas las regiones de clima cálido y semicálido del país (Banco Nacional de Comercio Exterior, 1988). En la actualidad existen numerosas variedades de este fruto (MacLeod y Snyder, 1985), haciendo de esta manera difícil e interesante su estudio, ya que cada fruto tiene un aroma característico de la región de que procede (MacLeod y col., 1988).

En México el mango es una de las plantas tropicales de mayor importancia y ocupa entre los productores mundiales el quinto lugar.

El mango que se cultiva en México pertenece a tres clases: manila, que representa un 50% de la producción; mangos de tipo criollo de importancia local, que ocupan un 25% y el 25% restante constituido por variedades de Florida como “Haden”, “Irwin”, “Tomy Atkins”, “Sensation”, “Kent”, “Keitt” y “Zill”.

La producción principal proviene del estado de Veracruz con el 40% del total de la producción nacional para el año de 1978, cosechándose en esa entidad las variedades de manila y criollo; le siguen en orden de importancia el estado de Chiapas con 14.8%, produciéndose las mismas variedades; el tercer lugar es el ocupado por el estado de Oaxaca, con una participación del 10.3%. Es importante mencionar que el estado de Sinaloa participa con un 8.7% de la producción total y un alto porcentaje de esta cosecha es destinada hacia la exportación.

Como se puede observar estos cuatro estados contribuyen con el 73.8% de la producción nacional y el 26.2% restante se distribuye entre los estados de: Jalisco, Guerrero, Colima, Michoacán, San Luis Potosí, Campeche, Tamaulipas y Morelos.



Figura 1. Principales zonas productoras de mango.

Existen plantaciones de mango en 24 de las 32 entidades federativas del país, se encuentran principalmente en las regiones costeras y en otras zonas bajas del interior del país cuyo clima es suficientemente cálido y esta exento de heladas. Las plantaciones importantes se encuentran al sur del trópico de Cáncer, pues al norte de éste solo se encuentran las grandes plantaciones del norte de Sinaloa y algunas pequeñas de Sonora y Chihuahua. Se desarrolla principalmente en suelos de textura areno-arcillosos bien drenados, con temperaturas entre 21 y 27°C, empiezan a producir fruta de los 5 a los 7 años y tienen un promedio de vida útil de hasta 70 años.

La fruta es de tamaño mediano (en promedio pesa entre 200 y 800 g), de cáscara verde que cambia a amarillo o ligeramente roja cuando madura. La cáscara no se consume, lo comestible es la pulpa que envuelve a la semilla central (hueso). Su contenido en azúcares llega al 20%, presentando concentraciones notables en vitamina A, C, D y de complejo B. La fruta, que es dulce en la mayoría de las ocasiones se come

fresca, como postre en ensaladas y gelatinas; pero también se utiliza sin madurar en conservas y jugos (MacLeod y De Troconis, 1982).

Los principales meses para la exportación de este producto son los comprendidos entre julio y agosto, época en que se presenta el mayor volumen de producción de las variedades mejoradas con calidad de exportación en las principales entidades productoras. En algunas regiones existe producción temprana a partir del mes de abril, así como tardía que se prolonga hasta el mes de septiembre.

Las principales entidades productoras a nivel nacional que participan en las exportaciones mexicanas son: Sinaloa, Guerrero, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, San Luis Potosí y Tamaulipas.

El panorama de producción nacional con respecto al mundial es alentador pero no suficiente, se estima que México ocupó el tercer lugar en la producción mundial de dicho producto durante 1981 y el quinto en 1988. Las exportaciones mexicanas se limitan principalmente hacia Estados Unidos y Japón.

Las técnicas y métodos utilizados en el almacenamiento son deficientes, situación que propicia el desarrollo de plagas y enfermedades, elevando de esta forma el porcentaje de pérdidas de una manera notable.

El transporte que comunmente se utiliza para el traslado de este producto es en camiones de 8 a 15 ton. de capacidad, cubiertos con lonas lo cual se considera deficiente, debido a que las cajas sufren daños físicos provocados por la presión que han de soportar, además de que apresura la maduración ocasionando grandes pérdidas a los productores por concepto de mermas.

Solo existe una empresa dedicada a la industrialización de mango en México, a través de una empresa maquiladora que se encuentra ubicada en San Andrés Tuxtla, Veracruz. A ésta se le destina el 14% de la producción.

Para el proceso de industrialización se tiene un desperdicio del 10 al 15% en peso, por concepto de hueso y cáscara, lo que significa que de una tonelada se desperdician de 100 a 150 Kg. y se aprovechan aproximadamente de 850 a 900 Kg. utilizados para procesar mango en almíbar, además de insumos tales como azúcar, conservadores, productos enlatados, etc.

Para los productores de mango las plagas es uno de los problemas que mas han influído para minimizar la producción y calidad agrícola. En el caso del mango existen, entre otros, la mosca del Papaloapan, la mosca mexicana en el estado de Veracruz y la escoba de bruja, que ataca la flor del mango en el estado de Oaxaca y que aún no ha sido erradicada. Sin embargo, aunque existen plaguicidas efectivos estos son muy costosos para el agricultor.

Un análisis de la producción y exportación mexicana de mango así como del crecimiento de nuestra población permite concluir que el consumo "per cápita" de esta fruta en nuestro país tiende al alza, igual que nuestras exportaciones. Sin embargo, aún cuando esta información es alentadora no contempla el problema de abatimiento en la productividad de la tierra, el cual se ve absorbido por el acelerado crecimiento de las superficies de cultivo, que podría juzgarse en cierta medida de caótico. Por el gran atractivo que representa para el agricultor producir ésta bien pagada fruta, éste no se preocupa en lograr el óptimo rendimiento de su parcela.

Esta fruta produce una cantidad relativamente pequeña de volátiles aromáticos, 60 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de fruta fresca, mucho menos que lo obtenido para otras frutas (MacLeod y De Troconis, 1982).

Los componentes que integran a este fruto son de naturaleza química variada, abarcan un amplio intervalo de grupos funcionales y polaridades, por ejemplo: hidrocarburos, terpenos, alcoholes, aldehídos, ésteres, cetonas, ácidos, lactonas, etc. (Idstein y Schreier, 1985).

Generalmente la calidad del mango se evalúa con base en el contenido del componente principal del aroma, que dependiendo de la variedad puede ser el 3-careno, el cis-ocimeno o el β -mirceno (MacLeod y De Troconis, 1982; MacLeod y Snyder, 1985). El conocer cuales son los componentes del mango, así como la proporción en que se encuentran, es en algunos casos con el fin de comercializar diferentes productos con aroma y sabor de esta fruta (MacLeod y Pieris, 1984).

2.2. Extracción

La cantidad total del aroma en una matriz puede encontrarse en niveles de ppb (milésima de parte por millón) y tener cientos de componentes, algunos de los cuales son termolábiles, de estructura química y grupos funcionales muy variados, diferente volatilidad y peso molecular, sobre un intervalo de punto de ebullición de 20 a 300°C y la mayoría lipofílicos, por lo que es evidente la necesidad de utilizar diferentes métodos para extraer los componentes del aroma en forma eficiente.

La extracción es uno de los métodos de separación más ampliamente utilizados, de gran ayuda al químico analista. Elegir la técnica de extracción adecuada, como primer paso en la mayoría de los análisis, es crítico y puede influir significativamente en los resultados obtenidos. Se debe considerar la matriz, los compuestos de interés y finalmente llevar a cabo la extracción (Gordon, 1990).

No todos los métodos de extracción pueden ser utilizados por igual. Existe una gran variedad, generalmente clasificados en métodos físicos y químicos (Fifield y Kealey, 1990).

2.2.1. Extracción por arrastre con vapor (EAV)

La destilación o extracción con vapor de agua es un método para aislar y purificar sustancias. Se utiliza en mezclas de líquidos que son completamente inmiscibles o en líquidos que son miscibles en poca proporción.

Esta técnica se utiliza para las sustancias que sufren descomposición cuando se destilan a presión atmosférica o cerca de su punto de ebullición. Para evitar esto, las sustancias a purificar se mezclan con otra sustancia con la cual sean inmiscibles de tal forma que co-destilen a una temperatura de ebullición menor a la de descomposición. Si

esta segunda sustancia es agua la extracción con vapor a presión atmosférica del compuesto de mayor punto de ebullición se llevará a cabo a una temperatura menor a los 100°C.

Este es uno de los métodos mas utilizados en la extracción de aceites esenciales. Durante el proceso el agua a ebullición penetra el tejido de la planta y disuelve una parte del aceite esencial presente en la estructura que contiene el aceite. Esta solución acuosa difunde a través de la membrana celular (hidrodifusión) y el aceite que se encuentra en la superficie se vaporiza, este proceso es continuo hasta que todo el aceite es extraído de la célula. Los compuestos oxigenados son más solubles en agua a ebullición que los hidrocarburos análogos que permanecen asociados a la planta, es decir los compuestos son extraídos de acuerdo a su solubilidad más que a sus puntos de ebullición. Un segundo factor es la cantidad de grasa presente en el material por lo que no siempre se puede obtener una destilación completa, ya que por ejemplo los lípidos no volátiles retienen trazas de los aceites volátiles especialmente de hidrocarburos quienes muestran gran afinidad por las grasas más que los compuestos oxigenados.

Cuando los aceites esenciales son extraídos por esta técnica, son llamados productos tecnológicos, debido a que su composición no representa exactamente la fracción volátil de la planta de la cual fué extraído (Sandra y Bicchi, 1987).

2.2.2. Extracción líquido- líquido (ELL)

En la ELL la muestra se distribuye entre dos disolventes inmiscibles, con el objeto de separar los diferentes componentes que la integran. Este método se considera sencillo, rápido de operar, simple, conveniente y de bajo costo.

En la aplicación práctica de la extracción con disolventes el principal interés es determinar la fracción total del soluto en una u otra fase, independientemente de otras interacciones, al cociente de estas fracciones se le denomina razón de distribución.

El éxito de una extracción no sólo depende del valor de la razón de distribución, sino también del volumen del disolvente y del número de extracciones a realizar.

La extracción es aplicable desde el nivel de trazas hasta altas concentraciones. Los compuestos pueden ser selectivamente extraídos de una solución acuosa a un disolvente orgánico o reextraídos de la fase orgánica a una acuosa. La separación deseada se lleva a cabo por ajuste de parámetros químicos como pH, agentes enmascarantes, disolventes, agentes de extracción, entre otros. Cuando ésta se efectúa bajo condiciones de equilibrio, es posible aplicar los principios de equilibrio químico para de esta forma predecir el curso de la extracción. También aquí es aplicable la regla general que establece "lo similar disuelve a lo similar".

En esta técnica se debe tener la precaución de evitar la pérdida por evaporación de la mayoría de los componentes volátiles. En este proceso la extracción se lleva a cabo a una temperatura baja (50°C), lo que proporciona ventajas sobre la extracción por arrastre con vapor. Además, dependiendo del disolvente utilizado se puede influir sobre la selectividad del sistema.

Una desventaja en este método es que la presencia de compuestos lipofílicos relativamente no volátiles y la presencia de ácidos grasos, ceras, flavonoides y cumarinas en el extracto pudieran oscurecer la determinación de los aceites esenciales.

2.2.3. Extracción con vapor de agua y disolventes (EVAD)

Históricamente la forma más utilizada de separar los compuestos volátiles fue dispersar el alimento en agua, calentar al punto de ebullición y coleccionar el condensado resultante. Una segunda separación era necesaria para eliminar el agua de los compuestos volátiles. En esta clásica destilación con vapor a presión atmosférica el condensado es extraído con un disolvente y concentrado a un volumen mínimo. Obviamente un calentamiento prolongado a temperatura elevada no es lo ideal para todos los alimentos.

Una modificación a esta técnica de destilación es llevada a cabo a presión reducida, con lo que se disminuye el punto de ebullición del destilado y también se reduce el tiempo de extracción. Likens y Nickerson publicaron en 1964 una modificación a este proceso (Schultz y col., 1977). La técnica por ellos propuesta permite efectuar estas operaciones de manera simultánea.

La destilación con vapor y la extracción con disolventes es el método convencionalmente aplicado en el análisis de aceites esenciales, con resultados de severas pérdidas de material volátil, debido a que la solución que contiene el aceite debe ser concentrado por evaporación, sin embargo los compuestos no volátiles se extraen bien.

Basándose en los equipos ya propuestos, en la actualidad éstos han sido modificados para tener menor pérdida de compuestos volátiles y mejores resultados en las extracciones (Williams, 1969; Blanch y col., 1993).

2.2.4. Análisis del vapor confinado (Head-Space, HS)

La técnica de HS es utilizada en el análisis de componentes volátiles de una muestra sólida o líquida que contenga compuestos de diferente presión de vapor (Denney, 1982; Schnable y col., 1990; Coleman, 1992; Smith y Burford, 1994). La parte gaseosa que se encuentra en equilibrio termodinámico con la muestra en un sistema cerrado, es analizada principalmente por alguna técnica de separación, debido a que los componentes de presión de vapor baja no existen apreciablemente como gases por encima de la muestra (Poole y Schuette, 1984).

El método es utilizado para la determinación de trazas de sustancias en muestras complejas y no homogéneas, como por ejemplo, compuestos volátiles aromáticos en productos naturales, alimentos y bebidas. Este análisis requiere menos trabajo experimental que la extracción con disolventes e incluye menor riesgo de contaminación; sin embargo, el análisis cuantitativo es un problema crítico debido a la diferente solubilidad que presentan los analitos en la matriz (Poole y Schuette, 1984; Guiochon y Guillermin, 1988).

Existen dos formas básicas de analizar compuestos volátiles de alimentos utilizando HS:

- a) HS estático. La muestra sólida o líquida, se coloca en un vial de vidrio de tamaño apropiado y sellado. El vial se calienta a temperatura constante hasta que se establezca el equilibrio de partición entre las dos fases. Un volumen fijo de la fase gaseosa es tomado, por procedimiento manual, con una jeringa hipodérmica larga que debe ser calentada para evitar condensación de los analitos; o con un sistema electroneumático en un equipo HS automatizado para estar seguros de tener una reproducibilidad satisfactoria. Los componentes volátiles de la muestra son analizados por Cromatografía de gases (CG), que es la técnica más utilizada en el análisis cuantitativo de un gran número de muestras.
- b) HS dinámico. El principio del método es el mismo que en la forma anterior, excepto que en éste la muestra es colocada en un matraz y se le hace pasar una corriente de gas inerte por un tiempo determinado. Una fracción de esta fase se introduce al sistema de análisis.

Con este método se pueden extraer compuestos en niveles de concentración más bajos (trazas) que en la extracción con disolventes o por el análisis de HS estático.

Existen algunos aspectos prácticos acerca del análisis por HS que deben ser tomados en cuenta, por ejemplo: establecer las condiciones de equilibrio de partición, evitar la contaminación cruzada y la pérdida de material volátil antes de llevar a cabo la extracción (Sandra y Bicchi, 1987).

El vapor obtenido por HS generalmente es una mezcla de volátiles heterogéneos en un amplio intervalo de concentraciones. El análisis de estas mezclas complejas requiere de un sistema completo, que puede ser el acoplamiento de HS para extraer los compuestos, CG como técnica de separación y Espectrometría de masas (EM) como sistema de identificación (HS-CG-EM). Con este sistema se aumenta la reproducibilidad en los resultados debido a que se disminuyen los errores manuales (Charalambous e Inglett, 1982).

2.2.5. Extracción con fluidos supercríticos (EFS)

Los estudios recientes han demostrado que el uso de fluidos supercríticos (FS) en extracciones de una gran variedad de analitos y especialmente en el análisis de compuestos orgánicos en matrices sólidas, ofrece ventajas sobre los métodos de extracción tradicionales (Bright y McNally, 1992). Por ejemplo, mayor velocidad de análisis, temperaturas de análisis moderadamente bajas, recuperaciones cuantitativas de una gran variedad de compuestos en diversos productos y el gran potencial de reemplazo de grandes volúmenes de disolventes orgánicos tóxicos por otros de bajo costo y no tóxicos.

La técnica de EFS requiere de un disolvente para llevar a cabo la extracción, este disolvente es un FS, sustancia que se utiliza a presión y temperatura por arriba de su punto crítico; bajo estas condiciones la sustancia no es líquido ni gas pero posee propiedades de ambos (Lee y Markides, 1990).

En general el FS es transportado por una bomba a una celda donde se lleva a cabo la extracción bajo condiciones de presión y temperatura controladas. El extracto que fluye a través de un restrictor, puede tener dos caminos: ser transferido a un sistema de separación e identificación por un método general o selectivo, o bien coleccionar el extracto para análisis posteriores. Por modificación de la presión y/o de la temperatura en la celda, se puede cambiar la composición del extracto y permitir un fraccionamiento adicional de la muestra.

Cuando existe dificultad al utilizar un FS y extraer compuestos de diferente polaridad se adiciona una sustancia en cantidades mínimas al cilindro del FS o bien en la celda de extracción sobre un soporte de manera que modifique la solubilidad de estos componentes, a estas sustancias se les llama co-disolventes o modificadores (Schnable y col., 1990). Las características del fluido tienden a determinar la interacción con la muestra, ésta se encuentra en función del flujo (Davies y col., 1988), tiempo de extracción y si la extracción es estática o dinámica.

Extracción dinámica. El soluto es continuamente humectado con FS.

Extracción estática. El soluto (matriz-analito) y una cantidad fija del FS son equilibrados en la celda presurizada sin que exista pérdida del FS hasta que la extracción finaliza.

Extracción estática-dinámica. El sistema matriz-analito, es presurizado con FS por un período de tiempo y seguido por un flujo continuo del FS.

Por los dos métodos de extracción el FS puede ser despresurizado con microválvulas o restrictores.

Con la técnica de EFS el analista espera una extracción rápida y cuantitativa, el análisis del extracto se puede realizar por: EFS en línea y EFS fuera de línea.

EFS en línea o sistema acoplado: por las propiedades que presenta un FS, es posible tener una interfase de EFS con Cromatografía de Fluidos Supercríticos (CFS), Cromatografía de Gases (CG), Cromatografía de Líquidos (CL) y Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM). En estos sistemas el extracto es depositado en el sistema de inyección donde es transferido por el eluyente al sistema acoplado por lo que existe poca manipulación de la muestra. Sin embargo, se requiere primero conocer los parámetros de EFS y las condiciones para atrapar los analitos. La separación cromatográfica debe ser optimizada antes de llevar a cabo el análisis.

EFS fuera de línea: es más simple que el sistema acoplado, por lo que el analista necesita solo considerar los pasos de extracción y colección de los analitos. La muestra extraída se puede analizar por cualquier técnica. La EFS fuera de línea debe ser la primera opción al desarrollar cualquier método de preparación de muestra con FS.

Existen varios métodos utilizados para coleccionar los analitos extraídos: superficie sólida, adsorbente sólido y fase líquida. El éxito del método de colección depende del volumen y flujo del FS, de las dimensiones del restrictor, de la temperatura en el restrictor y en el recipiente de colecta, y de las propiedades físicas de los analitos. Una vez que los analitos de interés se extraen, pueden ser coleccionados para su análisis y cuantificación.

2.3. Cromatografía de gases (CG)

El aroma es la sensación producida por un material percibido principalmente por los sentidos del gusto y el olfato, por lo que ha sido indispensable la aplicación de diversas técnicas con el objetivo de conocer los compuestos responsables del aroma (Wong, 1989).

Los principales compuestos de los aromas obtenidos de varias muestras de alimentos son compuestos orgánicos de punto de ebullición bajo llamados compuestos volátiles, sustancias adecuadas para ser analizadas por CG.

Impresionantes avances se han logrado en este campo con el uso de la CG, un instrumento analítico basado en el principio de la separación de los componentes por equilibrios de partición o adsorción (Charalambous e Inglett, 1982). Algunas veces se asume que la CG ofrece un perfil del aceite esencial como en el propio material.

El uso de las columnas empacadas para el análisis de mezclas complejas ha sido reemplazado por las columnas capilares (CC) debido a que éstas ofrecen mayor eficiencia y resolución en la separación.

El criterio de selección de la columna capilar debe basarse en la capacidad de muestra, eficiencia, selectividad, factor de capacidad y velocidad en el análisis. Durante el análisis es importante que la temperatura inicial de la columna sea menor a la temperatura ambiente. La inyección de la muestra a temperatura baja seguido de un programa de temperatura, y de preferencia en columnas de espesor de película gruesa, es lo adecuado para lograr una buena separación de la fracción de compuestos altamente volátiles.

Un sistema de gran utilidad es el análisis simultáneo por Cromatografía de gases capilar (CGC) en dos fases estacionarias de diferente polaridad, estas dos columnas se conectan al inyector y a dos detectores de ionización de flama (Motto, 1987; Betts, 1988), el uso de este tipo de configuraciones ofrece gran información en un tiempo de análisis mas corto que el requerido (Charalambous e Inglett, 1982).

Hoy en día los componentes de un aroma relativamente simple son una guía para el talento imaginativo y artístico de un individuo y su nariz, pero la mayoría de los aromas de alimentos son complejos por lo que el hombre ha aprendido lo importante que es la CGC como herramienta de análisis.

2.4. Cromatografía de gases capilar-Espectrometría de masas (CGC-EM)

En años recientes la aplicación de la EM se ha incrementado potencialmente, en especial en la identificación y cuantificación de compuestos que se encuentran en pequeñas cantidades.

La principal ventaja de la EM es su incremento en sensibilidad sobre otras técnicas analíticas y su especificidad en la identificación de compuestos desconocidos o para confirmar la presencia de ciertos compuestos. Su especificidad resulta de la fragmentación característica, la cual puede dar información acerca del peso molecular y de la estructura molecular de un soluto.

Desde 1960 el uso de la EM ha estado estrechamente asociada con el desarrollo de la CGC, pero es a partir de los 70's que su unión ha tomado forma. El gran poder de separación de un CGC y la detección universal de compuestos orgánicos por EM, hace de CGC-EM la combinación ideal. El sistema CGC-EM debido a su sensibilidad y velocidad es de gran utilidad en la química de los aromas, para el análisis cualitativo y cuantitativo, debido a que no solo es importante conocer sus componentes sino también su cantidad relativa.

Conocer la cantidad de un compuesto por EM es posible usando la técnica de monitoreo de ion (SIM). Al monitorear un ion o específicamente algunos iones en lugar de todo el espectro, se incrementa la sensibilidad y especificidad por lo que SIM es considerado como el método cuantitativo de EM aplicado en la gran mayoría de los análisis. En la actualidad también se cuenta con el sistema acoplado CGC-EM-EM.

Se ha logrado un gran progreso en el campo del análisis de aromas a través del desarrollo de bancos de datos de espectros de masas. Estos bancos no solo incluyen los compuestos identificados en los aromas sino también de un gran número de compuestos estructuralmente relacionados con el campo de los productos volátiles naturales.

Con estas técnicas de análisis para la elucidación estructural de los compuestos del aroma en alimentos, revelan que cierto número de compuestos son comunes en diferentes alimentos pero el efecto interactivo entre ellos es característico de cada uno (Charalambous e Inglett, 1983).

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se analizó mango mànila cosechado en el mes de junio en Jalapa, Veracruz. La fruta se adquirió en un mercado del D.F.

El análisis de esta fruta en sus partes de mesocarpio y pericarpio se realizó por tres técnicas:

1. EVAD
2. HS
3. EFS

La primer técnica se reporta en la literatura como la más utilizada para el análisis de mango (Craveiro y col., 1980; MacLeod y De Troconis, 1982; Engel y Tressl, 1983; MacLeod y Pieris, 1984; Idstein y Schreier, 1985; MacLeod y Snyder, 1985; MacLeod y col., 1988). En este trabajo se decidió utilizar dos técnicas más de extracción, que son aplicadas actualmente con el objeto de comparar los resultados entre ellas.

Para el desarrollo del análisis primero fué necesario buscar las condiciones de tratamiento de la muestra para cada técnica, seguido del equipo adecuado para realizar las extracciones.

En segundo término se realizó la identificación de los componentes del extracto utilizando para EVAD estándares, y para las otras dos técnicas, HS y EFS, la EM.

Por último se evaluaron los resultados obtenidos con cada técnica de extracción y se compararon con los reportados en la literatura (Tabla 14).

3.1. Equipo y material

3.1.1. HS

HS Hewlett Packard modelo 19395 A.

3.1.2. EFS

Extractor Suprex modelo SFC-200 A con bomba de alta presión.

Tubos capilares de sílice fundida de 30 cm. de longitud x 50 μm D. I. y 30 cm. de longitud x 250 μm D. I. de Polymicro Technologies.

Tubos de acero inoxidable de 1/8 y 1/16 in. de Waters.

Lana de vidrio silanizada.

Termómetro termistor Cole-Parmer modelo 8402-20.

Cinta flexible de calentamiento de fibra de vidrio.

Columna vacía de Cromatografía de líquidos de 15 cm. x 3.9 mm D. I.

Frascos vial de 5 ml.

3.1.3. CGC

Cromatógrafo de gases Varian modelo 3300, Hewlett Packard modelo 5880 A, equipados con inyector de divisor de flujo y detector de Ionización de flama. Integrador Hewlett Packard modelo 3396 A. Columnas capilares de sílice fundida DB-1(metil silicón), DB-5 (5% fenil metil silicón), DB-WAX (Carbowax 20 M) J & W de 30 m x 0.25 mm D. I. x 0.25 μm de espesor de película. Jeringa Hamilton # 701 de 10 μl .

3.1.4. CGC-EM

Cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5890 acoplado a un Espectrómetro de masas Hewlett Packard modelo 5971. Fuente de ionización de impacto electrónico. Intervalo de m/z de 33 a 500 uma. Estación de datos con software HP G1030 MS ChemStation Version B.00.00. Columna capilar de sílice fundida DB-1 (metil silicón) J & W de 30 m x 0.25 mm D. I. x 0.25 μm de espesor de película. Jeringa Hamilton # 701 de 10 μl .

3.2. Reactivos

CH_2Cl_2 , Hexano, Na_2SO_4 grado reactivo (J. T. Baker, México).

Chromosorb P 80/100 (John Manville Products Corp., USA).

Hidrógeno y Nitrógeno grado cromatográfico (Infra).

Aire extra seco (Infra).

Helio grado UAP (Linde).

CO_2 extra seco grado supercritical (Air products).

3.3. Estándares

Mezcla de hidrocarburos lineales, C_nH_{2n+2} , $n= 6 - 30$ (PolyScience Corporation, USA).
Naftaleno, γ -nonilactona, geranil acetona, acetato de cedrilo.

3.4. METODOLOGIA

3.4.1. Extracción con vapor de agua y disolventes

Se utilizó el equipo propuesto por Lickens y Nickerson (Schultz, 1977) que se muestra en la Figura 2. El pericarpio o mesocarpio del fruto se colocó en el matraz A con agua y en el matraz B se depositó el disolvente orgánico (CH_2Cl_2 o hexano).

El equipo se colocó sobre los dos matraces, la posición de la rama de depósito C estará en función de la densidad de cada disolvente. Si el disolvente orgánico es más denso éste se coloca del lado de la rama C, en caso contrario se coloca el matraz con la solución acuosa.

Al iniciar el experimento se colocó en la parte de depósito C una mezcla de los disolventes a utilizar y en seguida se procedió a calentar los dos matraces. Esta extracción es continua por lo que el disolvente orgánico se enriqueció cada vez más con los solutos extraídos. El tiempo de extracción fué de 60 min., se tomaron alícuotas de 5 ml. del disolvente orgánico a los 15 y 30 min. Las alícuotas y el remanente de la fase orgánica se concentraron con $N_2(g)$ a un volumen de 1 ml. Los extractos se analizaron por CG.

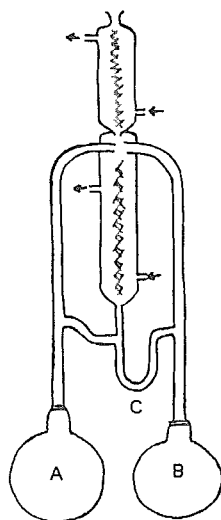


Figura 2. Equipo de análisis para EVAD.

Las condiciones de análisis de extracción y cromatográficas de mango se indican respectivamente en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Condiciones experimentales para la EVAD.

Muestra	(g)	Disolvente	(ml)
Pericarpio	40	Agua	250
Mesocarpio	80	CH ₂ Cl ₂	50
		Hexano	50

Tabla 2. Condiciones cromatográficas.

Columna	DB-5
Fase móvil	Hidrógeno, 1 ml/min.
Tipo de inyector	Divisor de flujo.
Temperatura del inyector	240°C
Tipo de detector	Ionización de flama
Temperatura del detector	260°C
Temperatura isotérmica 1	60°C
Tiempo isotérmico 1	2 min.
Rampa de calentamiento	2°C/ min
Temperatura isotérmica 2	230°C
Tiempo isotérmico 2	0 min.

3.4.2. Análisis del vapor confinado

3.4.2.1. Con un equipo construido en el laboratorio

La muestra (pericarpio o mesocarpio) se mezcló con Na₂SO₄ (A) y se colocó en un tubo cerrado que se calentó en un baño de agua (B). Se hizo fluir N₂ (φ) a través de esta mezcla para extraer los componentes del fruto (C). A la salida se conectó un tubo capilar con el inyector del CG (D) para el análisis del extracto. Un metro de la columna cromatográfica de análisis fué enrollada y enfriada con N₂ (ℓ) (Shimoda y Shibamoto, 1990), el recipiente con N₂ (ℓ) se quitó al iniciar el programa de calentamiento de la columna (E).

El extracto con “enfoque” criogénico se analizó por CG. El equipo para esta extracción se muestra en la Figura 3.

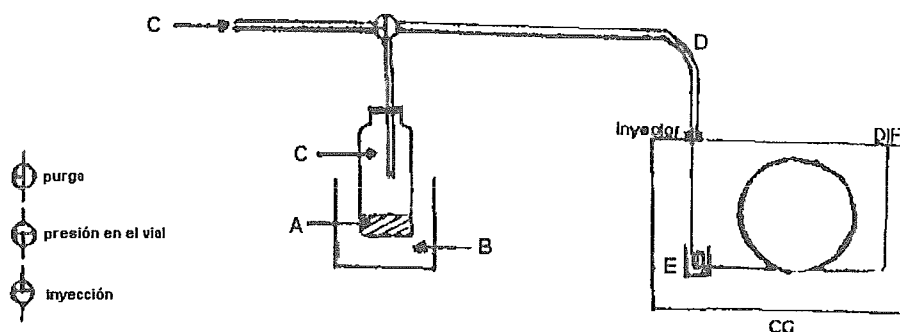


Figura 3. Sistema de extracción por HS en línea a CGC.

Las condiciones de análisis por HS se indican en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones de análisis.

Baño de agua	55°C / 5 min.
Tiempo del flujo de N ₂ (φ)	2 min.
Tubo capilar	0.25 mm D. I. ^a
Introducción del capilar al CG	6.8 cm. por 30 seg.
Enfriamiento con N ₂ (ℓ)	10 min.

^a diámetro interno

El análisis de los extractos obtenidos se realizó por CG, las condiciones experimentales se indican en la Tabla 4.

Tabla 4. Condiciones cromatográficas.

Columna	DB-WAX.
Fase móvil	Hidrógeno, 1 ml/min.
Tipo de inyector	Divisor de flujo.
Temperatura del inyector	200°C
Tipo de detector	Ionización de flama.
Temperatura del detector	200°C
Temperatura isotérmica 1	30°C
Tiempo isotérmico 1	0 min.
Rampa de calentamiento 1	50°C/ min.
Temperatura isotérmica 2	60°C
Tiempo isotérmico 2	2 min.
Rampa de calentamiento 2	10°C/ min.
Temperatura isotérmica 3	200°C
Tiempo isotérmico 3	5 min.

3.4.2.2. Con un equipo comercial

El pericarpio y mesocarpio del fruto se mezcló con Na_2SO_4 en presencia de N_2 (*l*). Esta mezcla se colocó en un vial que se selló perfectamente y se calentó en un baño de aceite a diferentes tiempos (A) el control de las variables del sistema era automatizado (B). El equipo utilizado se muestra en la Figura 4. El vapor de la muestra se pasó a través de una línea de transferencia al CG, donde fué retenido en un metro de la columna enrollada y enfriada con N_2 (*l*), el sistema de enfoque criogénico es el mismo que se utilizó con el equipo anterior.

Este mismo procedimiento se siguió al realizar el análisis con el sistema acoplado HS-CG-EM.

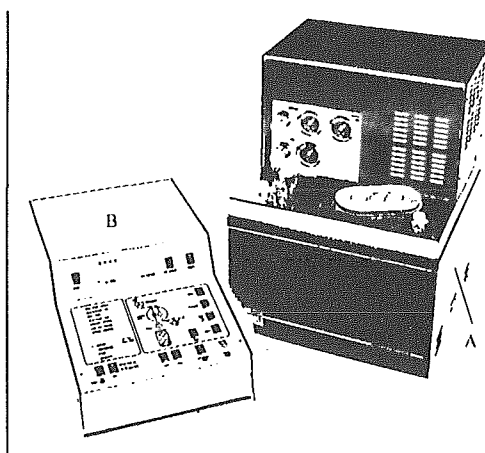


Figura 4. Equipo comercial para análisis por HS.

En la Tabla 5 se indican las condiciones de análisis utilizadas en los dos procedimientos.

Tabla 5. Condiciones de análisis por HS (equipo comercial).

Pericarpio	2 g.
Mesocarpio	2 g.
Na_2SO_4	2 g.
Tiempo de inyección	35 seg.
Tiempo de calentamiento	5, 10, 20, 30, 60 y 120 min.
Temperatura de la línea de transferencia	95°C
Temperatura de calentamiento de la muestra	70°C

El extracto se analizó por CG y con el sistema acoplado CG-EM, las condiciones experimentales se indican en la Tabla 6. Para el primer sistema solo son las condiciones cromatográficas y para el segundo además las condiciones de espectrometría de masas.

Tabla 6. Condiciones experimentales para el análisis del extracto obtenido por HS.

Columna	DB-WAX.
Fase móvil	Hidrógeno, 1 ml/min.
Tipo de inyector	Divisor de flujo.
Temperatura del inyector	200°C
Tipo de detector	Ionización de flama. ^a
Temperatura del detector	200°C
Temperatura isotérmica 1	40°C
Tiempo isotérmico 1	0 min.
Rampa de calentamiento 1	10°C/ min.
Temperatura isotérmica 2	150°C
Tiempo isotérmico 2	0 min.
Tipo de detector	Espectrómetro de masas. ^b
Temperatura del detector	280°C
Fase móvil	Helio, 1 ml/min.
Fuente de ionización	Impacto electrónico.
Intervalo de m/z ^c	33 a 500 uma. ^d
Tiempo de venteo	2 min.

^a Sistema HS/CG. ^b Sistema HS-CG-EM. ^c masa/carga. ^d unidades de masa atómica.

3.4.3. Extracción con Fluidos Supercríticos

La muestra (pericarpio y mesocarpio) se molió y mezcló con Na₂SO₄ en presencia de N₂ (l). La celda de extracción para el análisis se llenó con Chromosorb P como soporte del disolvente (modificador) y de la muestra preparada. Cada segmento se separó con lana de vidrio silanizada (A).

El CO₂ en condiciones de presión y temperatura críticas (B), se hizo fluir por la celda de extracción, que fué colocada dentro de un horno (C), y la salida del fluido fué a través del restrictor de sílice fundida (D). El extracto se recuperó sobre CH₂Cl₂ (E), el disolvente se evaporó a un volumen de 1 ml. con N₂ (g). El equipo utilizado se muestra en la Figura 5.

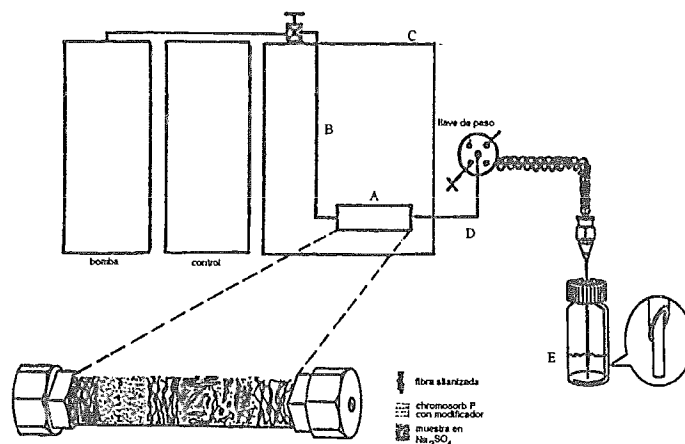


Figura 5. Equipo de EFS.

Las condiciones de análisis para la EFS de mango, son las indicadas en la Tabla 7.

Tabla 7. Parámetros utilizados para EFS con CO_2 .

Pericarpio liofilizado	0.38 g.
fresco	0.50 g.
Mesocarpio fresco	0.75 g.
Na_2SO_4	0.75 g.
Celda de extracción	15 cm. x 3.9 mm. D. I.
Chromosorb P	0.25 g.
Modificador	CH_2Cl_2 , 100 μl . ^a
Restrictor	30 cm. x 250 μm . D. I.
Disolvente de colecta	CH_2Cl_2 , 3 ml.
Temperatura del horno	70°C
Temperatura del restrictor	50, 70, 75 y 100°C
Presión de extracción	100, 200 y 300 atm
Extracción	estática-5 ml., dinámica-25 ml.

^a añadido en la celda de extracción.

El extracto obtenido por esta técnica se analizó con el sistema acoplado CG-EM, las condiciones experimentales utilizadas se indican en la Tabla 8.

Tabla 8. Condiciones utilizadas con el sistema CG-EM.

Columna	DB-1.
Fase móvil	Helio, 1 ml/min.
Tipo de inyector	Divisor de flujo.
Temperatura del inyector	200°C
Tipo de detector	Espectrómetro de masas.
Temperatura del detector	280°C
Fuente de ionización	Impacto electrónico.
Temperatura isotérmica 1	40°C
Tiempo isotérmico 1	2 min.
Rampa de calentamiento 1	10°C/ min.
Temperatura isotérmica 2	280°C
Tiempo isotérmico 2	5 min.
Intervalo de m/z ^a	33 a 500 uma. ^b
Tiempo de venteo	2 min.

^a masa/carga. ^b unidades de masa atómica.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Extracción con vapor de agua y disolventes (EVAD)

Se obtuvieron extractos de mesocarpio y pericarpio del mango de diferentes tiempos de maduración con los dos disolventes estudiados (CH_2Cl_2 y hexano). Los extractos con hexano mostraron un mayor número de componentes extraídos por lo que se eligió este disolvente para el resto del estudio hasta la maduración total del fruto.

Debido al porcentaje en que se encuentran los analitos en el mango, es recomendable realizar el estudio con el mesocarpio del fruto. En la Figura 6 se muestra el cromatograma del extracto de mesocarpio y se observa que se obtienen compuestos que eluyen con un tiempo de retención mayor a 13 min., no se presentan componentes con tiempo de retención menor. Es decir, los compuestos volátiles no son extraídos por esta técnica o no se observan con las condiciones cromatográficas utilizadas. También se debe indicar que entre réplicas de muestreo no hay una reproducibilidad aceptable tanto en los compuestos extraídos como en la proporción entre ellos.

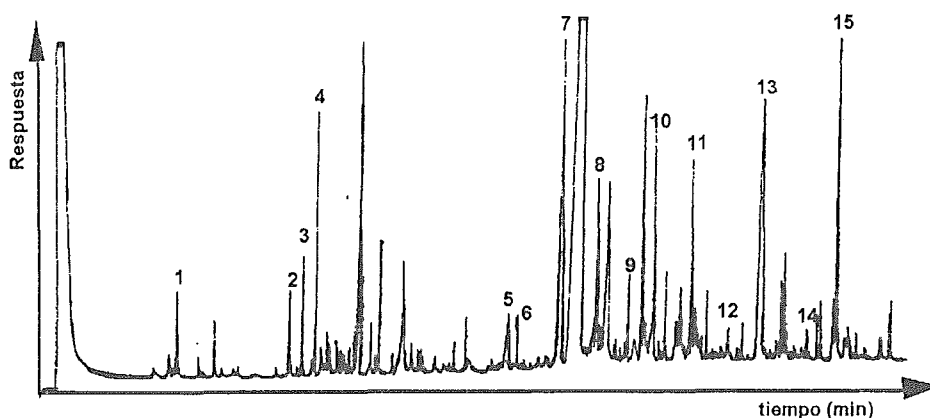


Figura 6. Cromatograma del extracto obtenido por EVAD.

Esta técnica es la más utilizada en el análisis de aceites esenciales, sin embargo, algunos autores indican que no es adecuada para compuestos volátiles, ya que estos se pierden al concentrar el residuo por evaporación del disolvente (Sandra y Bicchi, 1987). Es posible que esto sea la causa de estos resultados .

En la Tabla 9 se muestran los compuestos identificados por comparación con estándares co-inyectados con la muestra. En estos extractos se identificaron 15 compuestos, de los cuales el 81.25 % son hidrocarburos lineales.

Tabla 9. Compuestos identificados con estándares del extracto obtenido por EVAD y analizados por CG.

Número de pico	Compuesto	tr (min)
1	naftaleno	13.98
2	γ - nonilactona	25.50
3	tetradecano	26.82
4	geranil acetona	28.16
5	acetato de cedrilo	48.97
6	octadecano	49.69
7	nonadecano	53.26
8	eicosano	56.90
9	heneicosano	60.21
10	docosano	62.87
11	tricosano	66.76
12	tetracosano	70.16
13	pentacosano	74.22
14	hexacosano	78.93
15	heptacosano	82.07

Cada experimento se llevó de 2-3 h. de extracción, más el tiempo adicional en el tratamiento del extracto, lo que es indeseable para realizar análisis rutinarios.

Análisis del vapor confinado (HS)

En esta técnica las muestras con un gran contenido de humedad, como el mango, presentan dificultades especiales, ya que debido a la alta presión de vapor del agua esta se introduce en cantidad importante a la columna cromatográfica, afectando negativamente la calidad de los cromatogramas e incluso obstruyendo el flujo por condensación en los tubos capilares. Para disminuir la presión de vapor del agua se probó la adición de

diferentes sales y adsorbentes, el que presentó mejores resultados fué el Na_2SO_4 en proporción 1:1 con la muestra.

Las pruebas iniciales se realizaron colocando la muestra en un vial cerrado con válvula, para tomar la muestra del vapor en equilibrio con una jeringa para gases y calentando el vial en un baño de agua. Con este sistema de inyección manual fuera de línea no hay reproducibilidad en la cantidad inyectada. Así, se modificó el sistema por uno donde la introducción de la muestra al CG se realizara en línea (Figura 3). Con este sistema es necesario “enfocar” los solutos transferidos al inicio de la columna para evitar la distorsión de los picos y la elución anticipada de los compuestos más volátiles que resulta de un tiempo largo de inyección (30 seg.). Para evitar este problema se probaron diferentes sistemas:

a) Fuera de línea atrapando los analitos arrastrados por el gas en un cartucho de extracción en fase sólida, para eluirlos después con un disolvente e inyectar esta solución al CG, en este sistema la presencia del disolvente interfiere con varios de los analitos extraídos.

b) Enfoque criogénico en línea (Figura 7): i) utilizando una precolumna de película muy delgada (“retention-gap”) y ii) directamente al inicio de la columna. El uso de una precolumna implica un conector entre ésta y la columna analítica. Se realizaron pruebas con uniones metálicas y de vidrio (Grob y Muller, 1982), en ambos casos se presentaron problemas con la hermeticidad de la conexión debido a los cambios de temperatura y/o a la fragilidad del conector. Al efectuar el enfoque criogénico directamente en la columna se obtuvieron resultados satisfactorios.

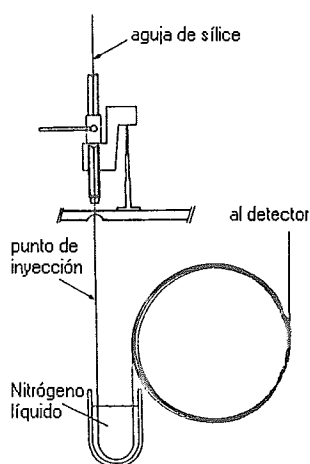


Figura 7. Enfoque criogénico.

La temperatura de la trampa fría es crítica para obtener buenos resultados, se probaron como medios de enfriamiento las mezclas: hielo-acetona-sal, hielo seco-acetona y N_2 (l). Con este último se obtuvieron los mejores resultados en enfoque y

reproducibilidad. En la Figura 8 se muestra un cromatograma donde puede observarse la presencia de compuestos muy volátiles, picos finos y simétricos.

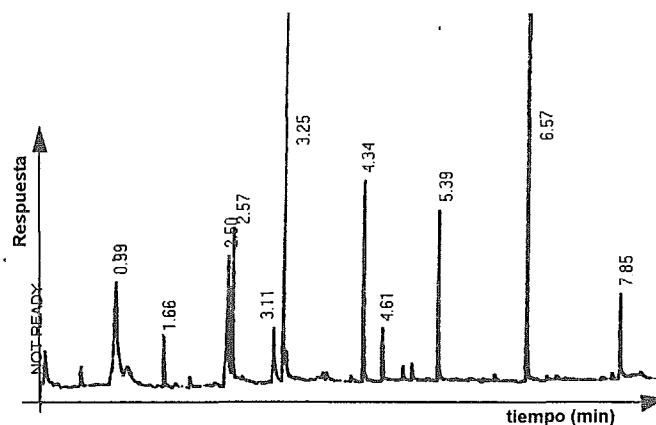


Figura 8. Cromatograma del extracto de mango obtenido por HS utilizando como sistema criogénico N_2 (l).

Esta técnica resultó adecuada en el análisis de la fracción volátil de la muestra. Con este arreglo experimental las principales fuentes de error son: la posible condensación tanto del agua como de algunos de los analitos en la línea de transferencia si esta no se mantiene a una temperatura suficientemente alta y el control manual de las variables de operación. Estas dificultades se eliminaron utilizando un equipo comercial.

Con las condiciones de preparación de la muestra seleccionadas anteriormente, se estudió el efecto del tiempo de calentamiento del vial de la muestra y del tiempo de inyección. El área de los picos cromatográficos cambia conforme se modifica el tiempo de calentamiento: 5, 10, 20, 30, 60 y 120 min. a temperatura constante ($70^\circ C$). Con este análisis no es posible inferir en general el tiempo óptimo de mayor extracción, debido a que cada analito presenta diferente respuesta durante el proceso. Un cromatograma obtenido bajo estas condiciones se muestra en la Figura 9.

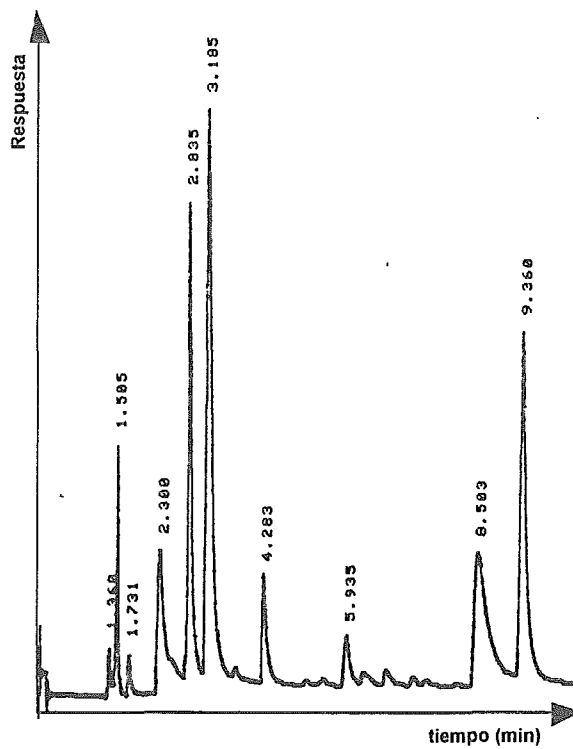


Figura 9. Cromatograma del extracto obtenido por HS utilizando un equipo comercial.

Para identificar los analitos se acopló el HS al sistema de CG-EM, un cromatograma obtenido con este arreglo se muestra en la Figura 10.

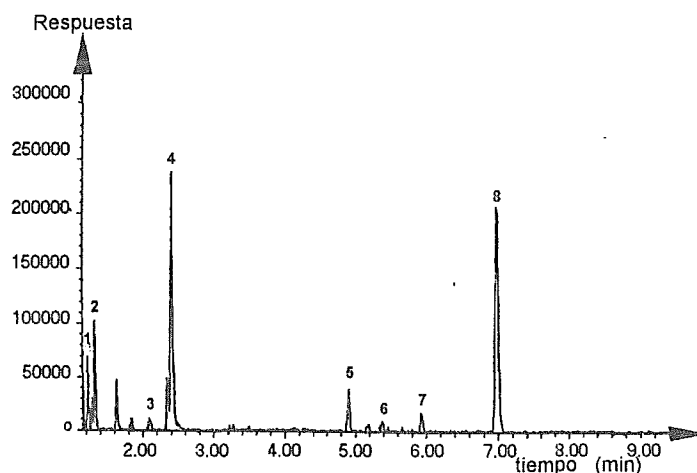


Figura 10. Cromatograma del extracto obtenido y analizado con el sistema acoplado HS-CG-EM.

Utilizando el banco de datos del equipo de EM, se identificaron los compuestos extraídos por esta técnica (Tabla 10).

Tabla 10. Compuestos identificados en el extracto de mango, utilizando el sistema acoplado HS-CG-EM.

Número de pico	Compuesto	tr (min)
1	2,2-dimetil-hexano	1.20
2	acetona	1.62
3	acetato de etilo	2.10
4	etanol	2.45
5	3-careno	4.90
6	alquilciclohexeno	5.35
7	piridina	5.95
8	ocimeno	7.00

El análisis solo fue cualitativo porque no se contaba con todos los estándares. Al comparar los cromatogramas de las Figuras 8, 9 y 10 se observa el mismo número de picos (los de mayor respuesta) con un tiempo de retención no mayor a 10 min. El HS construido en el laboratorio produjo resultados equivalentes a los del equipo comercial en cuanto a la calidad de los cromatogramas.

Los resultados obtenidos en estos cromatogramas nos indican que los compuestos volátiles que se encuentran en mayor proporción son: acetona, etanol y ocimeno.

Entre los experimentos realizados se observó que la respuesta obtenida para cada soluto era diferente, esto es debido a que la matriz no es homogénea; la literatura reporta resultados similares en el análisis de este tipo de muestras (Sandra y Bicchi, 1987).

Extracción con fluidos supercríticos (EFS)

La EFS es una de las técnicas actualmente utilizadas en el análisis de diversas matrices (Bright y McNally, 1991). Para el mango manila la literatura no reporta el análisis por esta técnica.

Con las condiciones de preparación de la muestra utilizadas en HS, se realizó la EFS en el modo dinámico fuera de línea. La diversidad de grupos funcionales que se encuentran en los compuestos del mango, hace difícil que sean totalmente extraídos con solo utilizar CO_2 como FS: La solubilidad de estos compuestos puede mejorarse por la adición de un disolvente.

Se probaron como modificadores MeOH y CH_2Cl_2 en cantidades dosificadas de $10 \mu\text{l}$ añadidos en la celda de extracción sobre un soporte inerte. Las condiciones seleccionadas fueron colocar $100 \mu\text{l}$ de CH_2Cl_2 sobre Chromosorb P.

La temperatura del horno donde se colocó la celda debe ser la adecuada para que la extracción sea completa y no exista degradación de la muestra, en alimentos ésta no puede ser elevada (Smith y Burford, 1992). Se realizaron varias pruebas eligiéndose 70°C como la temperatura que presentó menos problemas de extracción en el análisis del mango.

Otra de las partes del equipo que requiere control de temperatura es el restrictor, debido a la posible condensación de los compuestos extraídos. Se probaron diferentes temperaturas 50 , 70 , 75 y 100°C . Además es también importante seleccionar las dimensiones de este tubo capilar para evitar que se tape y tener control sobre el flujo de salida del FS, debido a que puede haber pérdida de los compuestos volátiles por un flujo excesivo. Las dimensiones probadas fueron $30 \text{ cm.} \times 50 \mu\text{m.}$ y $30 \text{ cm.} \times 250 \mu\text{m.}$

Las condiciones elegidas fueron utilizar un restrictor de $30 \text{ cm.} \times 250 \mu\text{m.}$ y calentarlo a 100°C .

El extracto se recuperó en CH_2Cl_2 enfriando el recipiente con hielo. En la Figura 11 se muestra el cromatograma del extracto obtenido y analizado por CGC-EM.

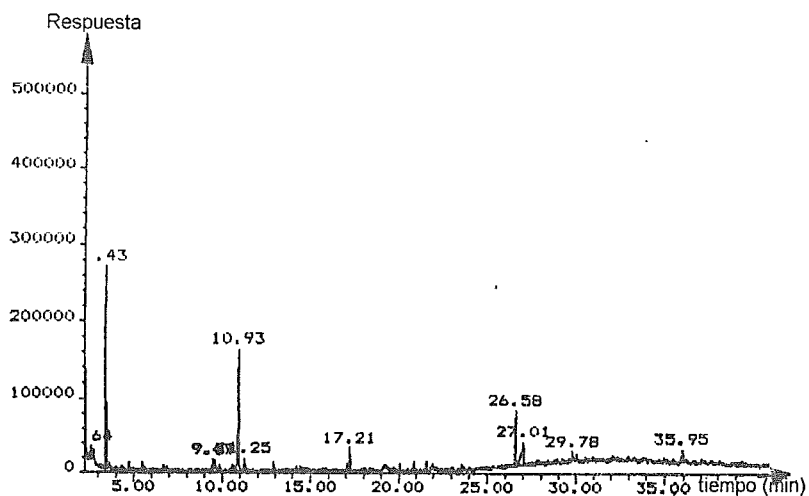


Figura 11. Cromatograma del extracto obtenido por EFS en el modo dinámico fuera de línea y analizado por CGC-EM.

Como puede observarse (Figura 11) los compuestos extraídos se encuentran en baja proporción, por lo que se analizó el mango por EFS en el modo estático, para tener un mayor tiempo de contacto entre el fluido supercrítico y la muestra, el equipo que se utilizó es el mismo que en la extracción dinámica con la adición de una llave de paso entre la celda de extracción y el restrictor (Figura 5).

Las condiciones seleccionadas en la EFS dinámica se utilizaron para el modo estático fuera de línea y además se modificó la presión de extracción a temperatura constante.

Las condiciones probadas fueron a 100, 200 y 300 atm. a 70°C. Los extractos obtenidos con las diferentes presiones se analizaron por CGC-EM (Figura 12).

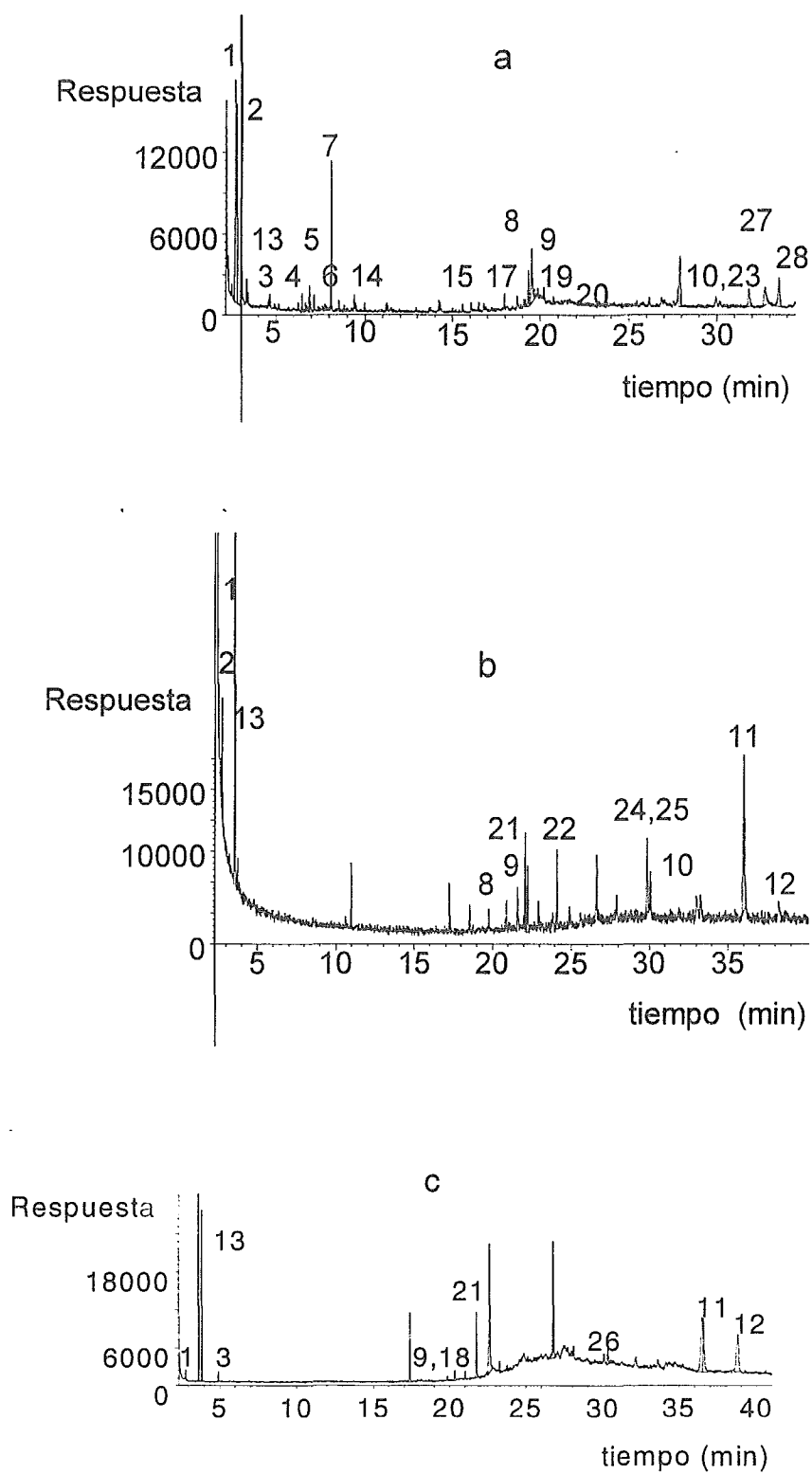


Figura 12. Cromatogramas de los extractos obtenidos por EFS a diferentes presiones: (a) 100 atm., (b) 200 atm., (c) 300 atm.

La selección de una presión a temperatura constante, permite realizar el análisis de los componentes del mango de forma selectiva. A 100 atm. se extraen en mayor proporción compuestos volátiles y algunos semi-volátiles, a 200 atm. son los compuestos semi-volátiles que se extraen en mayor porcentaje pero a 300 atm. este porcentaje es aún mayor disminuyendo notablemente para los compuestos volátiles. Entre 200 y 300 atm. el perfil cromatográfico es similar excepto para el pico de tiempo de retención con 10.95 min. que solo aparece a 200 atm. En la selección de la presión y la temperatura para hacer la extracción, es necesario considerar la volatilidad de los compuestos que integran a la matriz de análisis.

La identificación de cada compuesto se realizó en base a la fragmentación química que se justifica con el espectro de masas sugerido por la base de datos del equipo utilizado (Biblioteca NBS49.K). Estos resultados se muestran en el Apéndice I.

La base de datos del sistema de identificación presenta un espectro de masas para cada compuestos extraído, estos espectros se muestran en el Apéndice II.

En la Tabla 11 se indican los compuestos extraídos a 100, 200 y 300 atm.(Figura 12), algunos compuestos no se extraen en las tres presiones quizás por no haber controlado la madurez del mango. Así como el porcentaje de similitud con el espectro de masas sugerido. Como puede observarse, para la mayoría de los compuestos este porcentaje es mayor al 80 % sin embargo, para algunos este valor es menor. Para estos últimos, se identificaron por su fragmentación química pero sin tomar en cuenta la presencia de fragmentos de peso molecular grande pero de baja abundancia y también porque ya se han reportado en otras variedades de mango (Craveiro y col., 1980; MacLeod y De Troconis, 1982; Engel y Tressl, 1983; MacLeod y Pieris, 1984; Idstein y Schreier, 1985; MacLeod y Snyder, 1985; MacLeod y col., 1988). En el caso de la piridina, también identificada por el análisis de HS-CG-EM, es difícil explicar su presencia en el fruto por lo que probablemente se deba a contaminación cruzada en el laboratorio, principal fuente de error en el análisis de compuestos volátiles.

Tabla 11. Compuestos analizados e identificados por CGC-EM, de los extractos obtenidos por EFS a 100, 200 y 300 atm.

Número de pico	Compuesto	tr (min)	P. de extracción (atm).	% Similitud *
1	ciclohexeno	2.69	100, 200, 300	94
2	piridina	3.01	100, 200	90
3	tolueno	4.92	100, 300	70
4	3-careno	6.88	100, 200	94
5	ocimeno	6.95	100, 200	87
6	d-limoneno	7.16	100	58
7	1-metil-(4-metiletiliden) ciclohexeno	8.12	100	97
8	ácido butil-2-metilpropil-1,2-bencendicarboxílico	19.23	100, 200, 300	90
9	ácido hexadecanoico	20.12	100, 200, 300	93
10	heptacosano	30.31	100, 200	98
11	β -tocoferol ó γ -tocoferol	36.47	200, 300	93
12	α -tocoferol	38.78	200, 300	87

* Apéndice II.

Entre los experimentos realizados a diferentes presiones, algunos compuestos fueron extraídos en varios análisis sin que fuera constante su presencia, y otros en circunstancias similares pero solo en dos de las presiones utilizadas, quizás también debido a que la madurez del fruto no fué controlada, éstos son los indicados en la Tabla 12. También se presenta el porcentaje de similitud con los espectros de masas, y aún cuando para la mayoría este porcentaje es alto, existen compuestos que es difícil explicar su presencia debido a que tampoco se han reportado para otras variedades del fruto, como es el caso de α -tocoferol, β -tocoferol ó γ -tocoferol, ciclotetracosano, ciclododecano y metanoato de docosanilo. Para corroborar su existencia sería necesario realizar más experimentos y contar con estándares o revisar si en la literatura se encuentran reportados los EM de estos compuestos.

Tabla 12. Compuestos analizados e identificados por CGC-EM, de los extractos obtenidos por EFS a 100, 200 ó 300 atm.

Número de pico	Compuesto	tr (min)	P. de extracción (atm).	% Similitud *
13	2,2,3,3-tetrametil butano	3.83	100, 200	50
14	alcohol-4-isopropil-bencílico	9.39	100	90
15	hexadecano	15.53	100, 200	72
16	5-propil decano	17.89	100	53
17	octadecano	17.95	100	83
18	ácido tetradecanoico	20.35	300	93
19	decanedioato de didecilo	20.55	100	94
20	8-octadecenoato de metilo	20.89	100	95
21	hexadeceno	21.73	200, 300	98
22	16-metil-heptadecanoato de metilo	24.11	200	80
23	ciclotetracosano	29.99	100	99
24	ciclododecano	30.05	200	76
25	eicosano	30.06	200	80
26	2,6,10,14-tetrametil hexadecano	30.30	300	93
27	metanoato de heneicosanilo	32.73	100	87
28	nonacosano	33.50	100	94

* Apéndice II.

Para algunos analitos, indicados en las Tablas 11 y 12, no existía una correlación entre el espectro de masas y la fórmula química sugeridos por la base de datos del sistema, por lo que fué necesario utilizar el espectro de masas y en base a los valores de las fragmentaciones presentadas justificar con una fórmula química diferente, estos resultados son indicados en la Tabla 13.

Tabla 13. Fórmula química propuesta para algunos compuestos extraídos por EFS.

Compuesto identificado	Fórmula propuesta	Apéndice I (pág.)
ciclohexeno	2-metil-1,4-pentadieno	40
2,2,3,3-tetrametil butano	4,4-dimetil-2-penteno	55
5-propil decano	4-butil-..... C > 13	58
metanoato de heneicosanilo	metanoato de docosanilo	75

Con cada técnica se logró la extracción de algunos compuestos, por lo que es importante utilizarlas en conjunto en el análisis de matrices complejas y difíciles de manejar, principalmente en el control de la madurez y conservación de los alimentos.

Con las técnicas de análisis utilizadas se identificaron cuarenta y cinco compuestos en el mango manila. Los resultados obtenidos durante este trabajo se muestran en conjunto en la Tabla 14, indicando también los compuestos reportados en la literatura para otras variedades de mango.

Tabla 14. Compuestos extraídos e identificados en el mango manila con las diferentes técnicas utilizadas.

Compuesto	EVAD	HS-CG-EM	EFS	Referencias*
naftaleno	E			d,e
γ -nonilactona	E			e
tetradecano	E			c,d,e
geranil acetona	E			
acetato de cedrilo	E			
hexadecano			E	c,d,e
octadecano	E		E	b,c,d,e
nonadecano	E			d,e
eicosano	E		E	c,d,e
heneicosano	E			e
docosano	E			
tricosano	E			
tetracosano	E			
pentacosano	E			
hexacosano	E			
heptacosano	E		E	
nonacosano			E	
hexadeceno			E	
2,2-dimetil hexano		E		
acetona		E		d
acetato de etilo		E		d,e,g
etanol		E		f,g
alquilciclohexeno		E		
2-metil-1,4 pentadieno			E	
piridina		E	E	
tolueno			E	b,c,d,e,f
3-careno		E	E	a,b,d,e,f,g
ocimeno		E	E	b,c,d,e,g

d-limoneno			E	a,b,c,d,e,f,g
1-metil-(4-metil etilideno) ciclohexeno			E	
ácido butil-2-metil propil-1,2-bencen dicarboxílico			E	
ácido hexadecanoico			E	
β-tocoferol			E	
γ-tocoferol			E	
α-tocoferol			E	
4,4-dimetil-2-penteno			E	
alcohol-4-isopropil- bencílico			E	
4-butyl-..... C > 13			E	
ácido tetradecanoico			E	
decanedioato de didecilo			E	
8-octadecenoato de metilo			E	
16-metil-heptadecanoato de metilo			E	
ciclotetracosano			E	
ciclododecano			E	
2,6,10,14-tetrametil hexadecano			E	
metanoato de docosano			E	

E-extraído e identificado. * Reportado en la literatura.

^a Craveiro y col., 1980. ^b MacLeod y De Troconis, 1982. ^c Engel y Tressl, 1983. ^d MacLeod y Pieris, 1984. ^e Idstein y Schreier, 1985. ^f MacLeod y Snyder, 1985. ^g MacLeod y col., 1988.

De los compuestos indicados en la Tabla 14, solo seis coinciden al ser extraídos en al menos dos de las tres técnicas utilizadas, estos compuestos se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15. Compuestos extraídos en dos de las tres técnicas utilizadas.

Compuesto	EVAD	HS-CG-EM	EFS/CG-EM
3-careno		E	E
piridina		E	E
ocimeno		E	E
octadecano	E		E
eicosano	E		E
heptacosano	E		E

E-extraído e identificado.

Las condiciones experimentales utilizadas para el análisis de mango, no son indicadas en la literatura consultada, por lo que es importante resumir cuales serían los requerimientos mínimos para análisis posteriores.

1. EVAD. Modificar las dimensiones del equipo de extracción.
2. HS. Preparar la muestra en medio criogénico y con adsorbente de humedad, extraer y analizar los compuestos volátiles con el sistema acoplado HS-CG-EM, utilizar el análisis en el modo dinámico y atrapar los compuestos en un adsorbente.
3. EFS estático fuera de línea. Preparar la muestra en medio criogénico y con adsorbente de humedad, utilizar un disolvente como modificador sobre un soporte inerte en la celda de extracción, realizar de manera selectiva la extracción por modificación de la presión y la temperatura, calentar el restrictor.
4. CGC. La temperatura inicial sea menor a la temperatura ambiente, rampa de calentamiento de 2-5°C/min., utilizar enfoque criogénico.
5. Identificación. Utilizar el sistema acoplado CGC-EM (por monitoreo de iones) y/o contar con los estándares necesarios.

5. CONCLUSIONES

1. Se cumplió con el objetivo del trabajo al aplicar diferentes técnicas de extracción en mango manila, éste es un primer análisis sobre esta variedad.
2. Para establecer las condiciones de análisis en mango con cualquiera de las tres técnicas estudiadas, es recomendable utilizar el mesocarpio.
3. Se establecieron las condiciones de análisis por HS y EFS para mango manila, debido a que la literatura solo reporta el análisis para otras variedades de mango por EVAD.
4. Las dimensiones del equipo para EVAD deben ser modificadas, para que el residuo final se obtenga en un volumen mínimo y evitar su posterior concentración.
5. El equipo de HS construido en el laboratorio funcionó con resultados comparables al equipo comercial, en cuanto al número de compuestos extraídos y a la calidad de los cromatogramas.
6. El mango es una matriz de agradable aroma sin embargo, los resultados obtenidos nos indican que la cantidad de compuestos volátiles es mínima. Por el análisis de HS-CGC-EM se identificaron siete compuestos volátiles en mango manila.
7. La EFS fué la técnica que produjo un mayor número de resultados, de continuar con un trabajo igual o relacionado con éste, sería la técnica propuesta para llevarlo a cabo.

8. Cada técnica fué selectiva en la extracción de los compuestos en mango manila, obteniendo diferentes resultados:

EVAD. Se identificaron con estándares quince compuestos semi-volátiles, el mayor porcentaje fué para hidrocarburos lineales; HS-CGC-EM fueron siete los compuestos volátiles identificados, los que le proporcionan el aroma al fruto; EFS/CGC-EM fueron veintiocho compuestos volátiles y semi-volátiles de diversos grupos funcionales, terpenos, hidrocarburos, ácidos carboxílicos, alcoholes, ésteres metílicos.

En total se identificaron cuarenta y cinco compuestos en el mango manila, de los que quince son también identificados en otras variedades de mango (Tabla 14). Del total, seis compuestos fueron extraídos por las tres técnicas utilizadas (Tabla 15).

9. Al trabajar con muestras como el mango, es importante controlar su maduración y conservación, debido a que provoca diferencias en los resultados de los análisis que se pudieran considerar debidas a las técnicas de extracción.

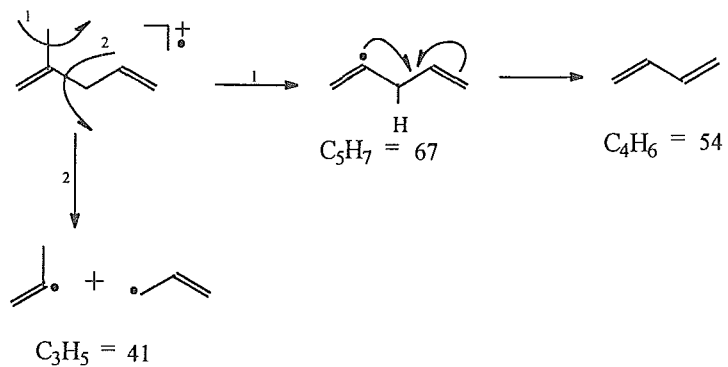
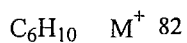
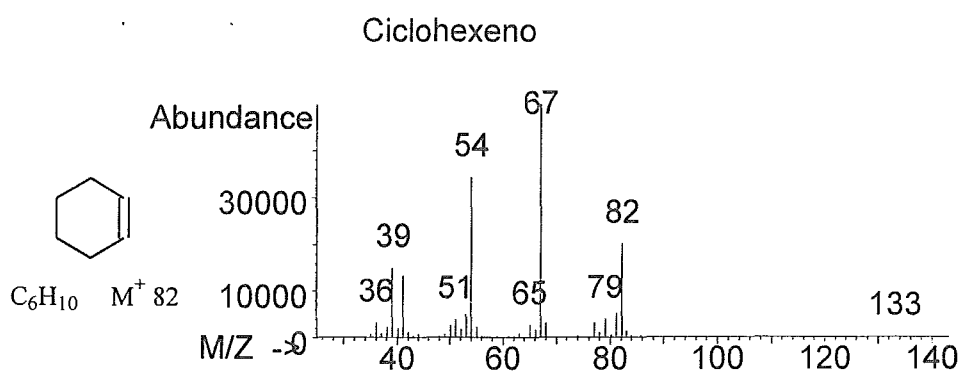
10. El mayor número de compuestos identificados (Tabla 14) fué por EM usando una base de datos y justificando esta propuesta con el espectro de masas y la fragmentación química para cada compuesto (Apéndice I).

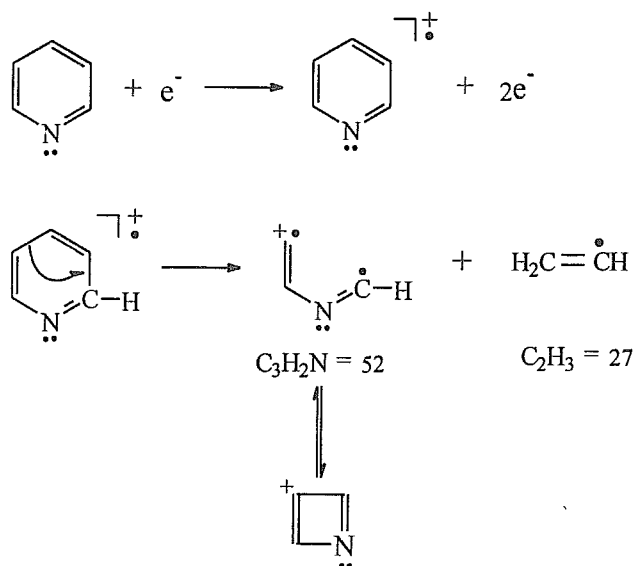
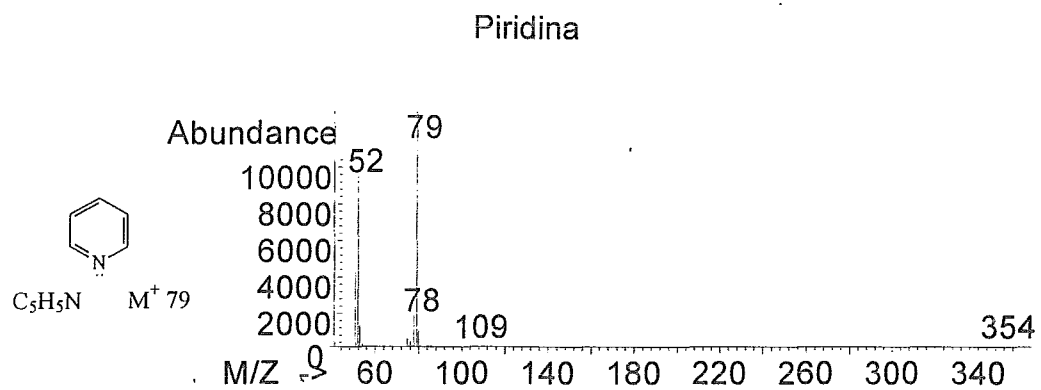
11. Por EM se identificaron los terpenos: 3-careno, ocimeno, d-limoneno, a los cuales se les puede asignar el aroma del mango manila.

12. Se realizó el análisis cualitativo de los compuestos de mango manila, debido a que no se contaba con todos los estándares.

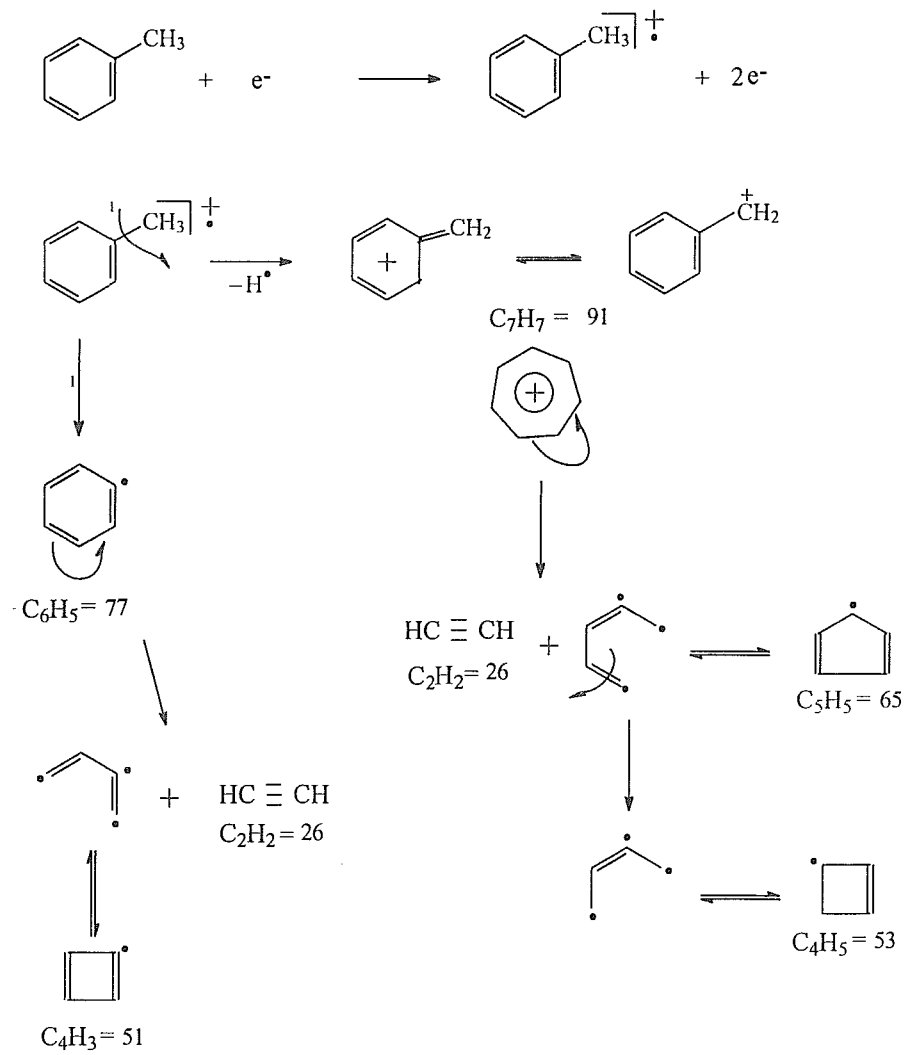
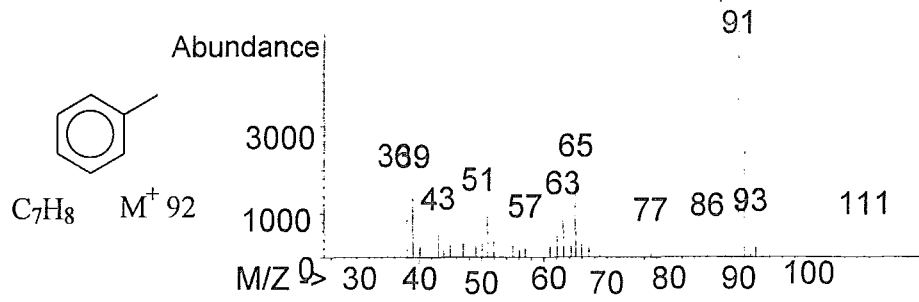
13. En el análisis de mezclas complejas es necesario utilizar diferentes técnicas de extracción, en la que cada una ofrezca información complementaria.

APÉNDICE I

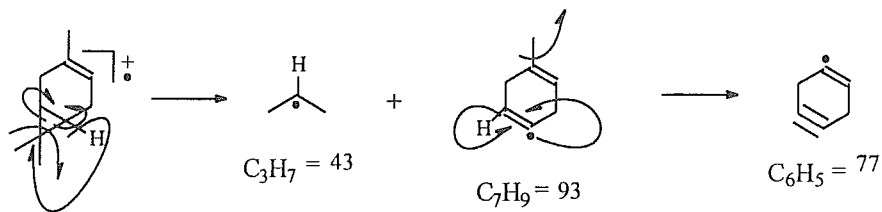
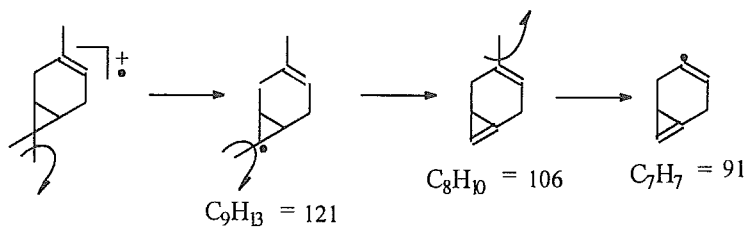
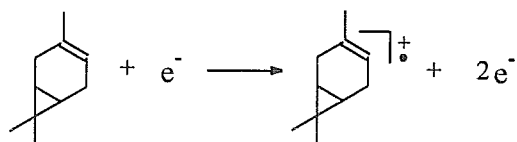
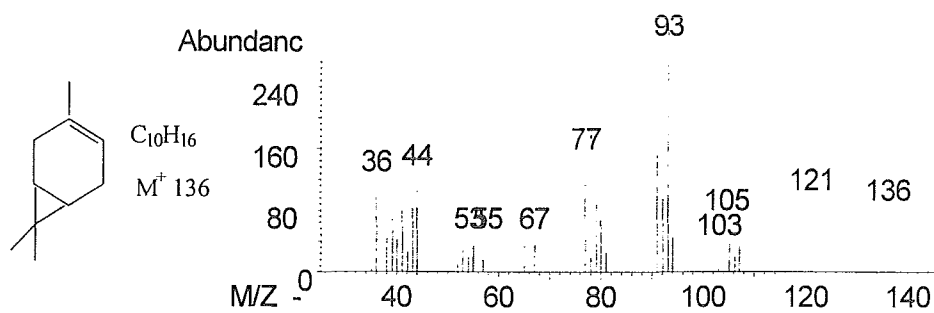


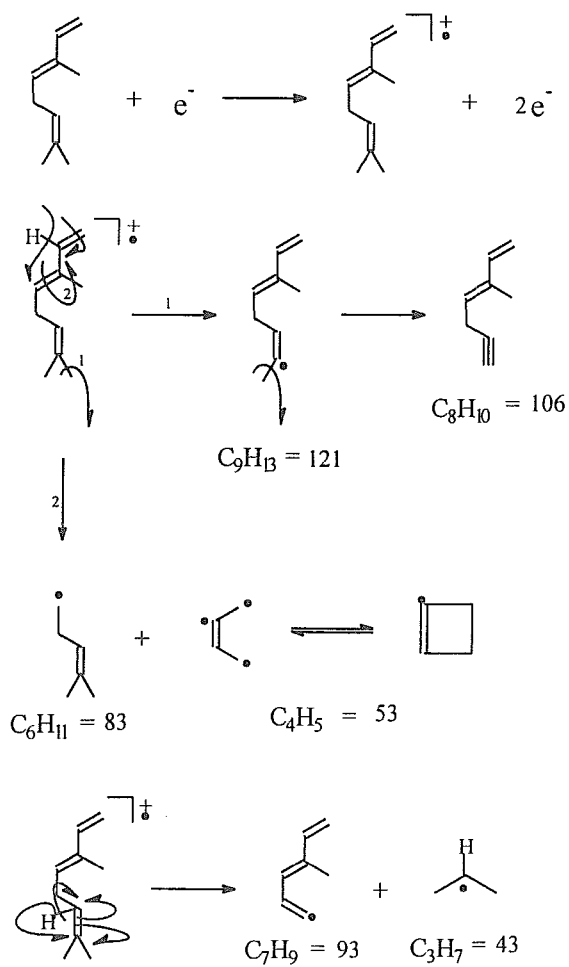
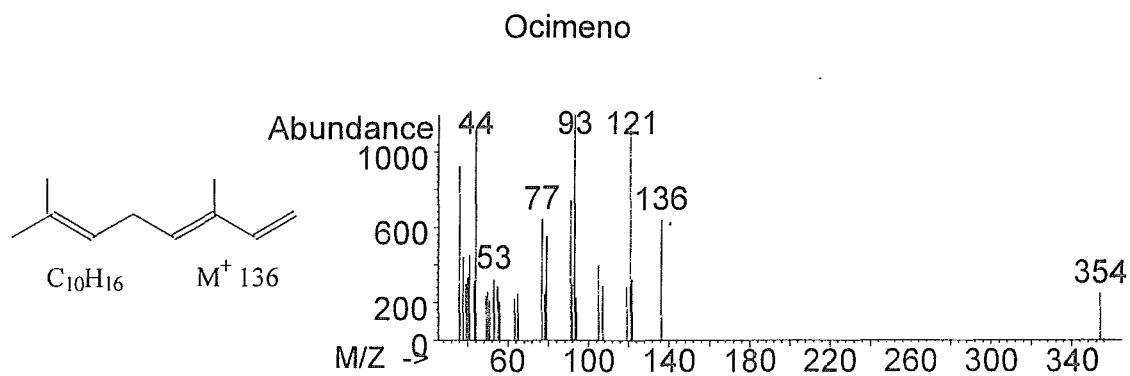


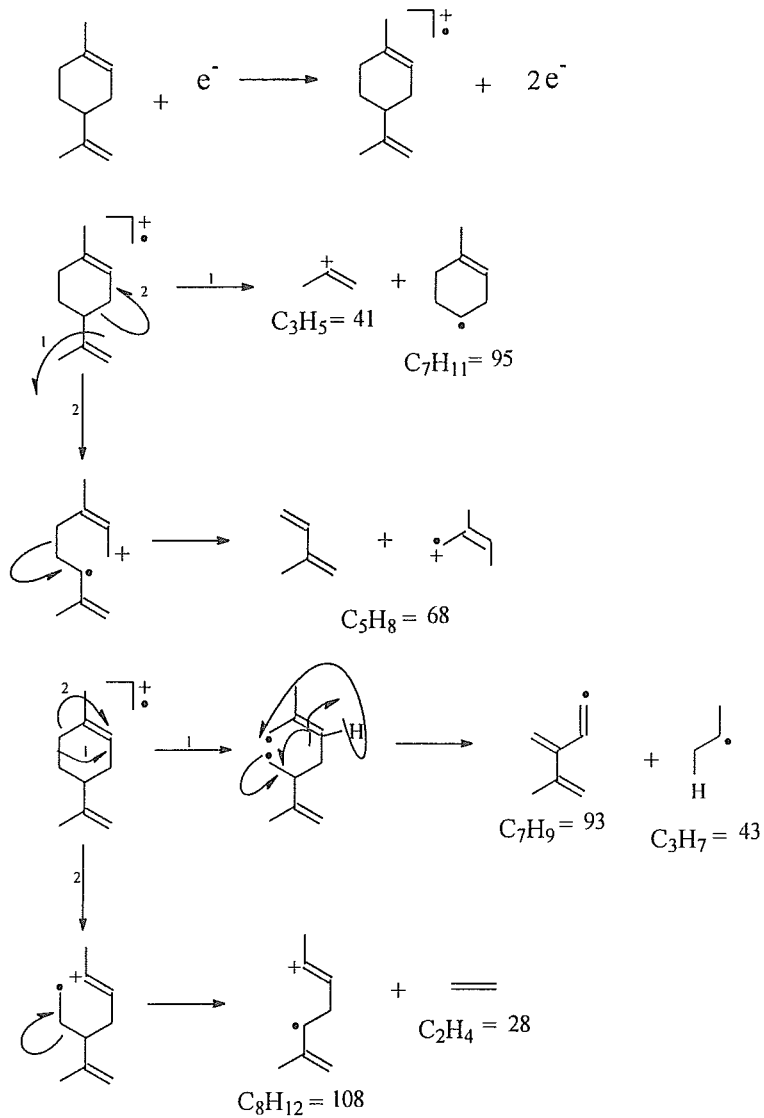
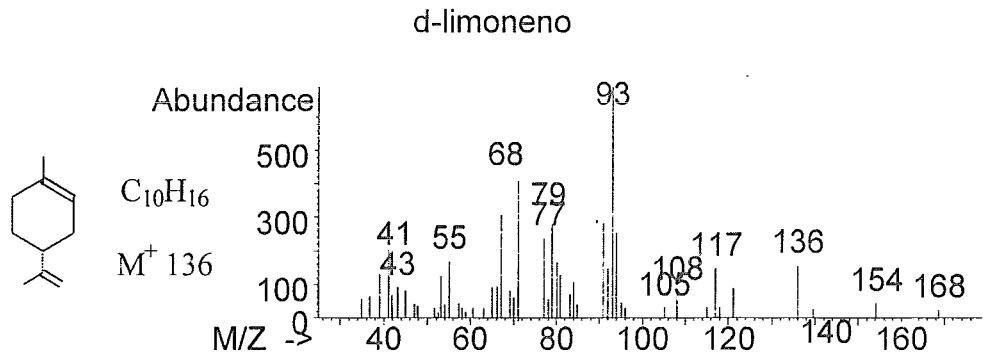
Tolueno



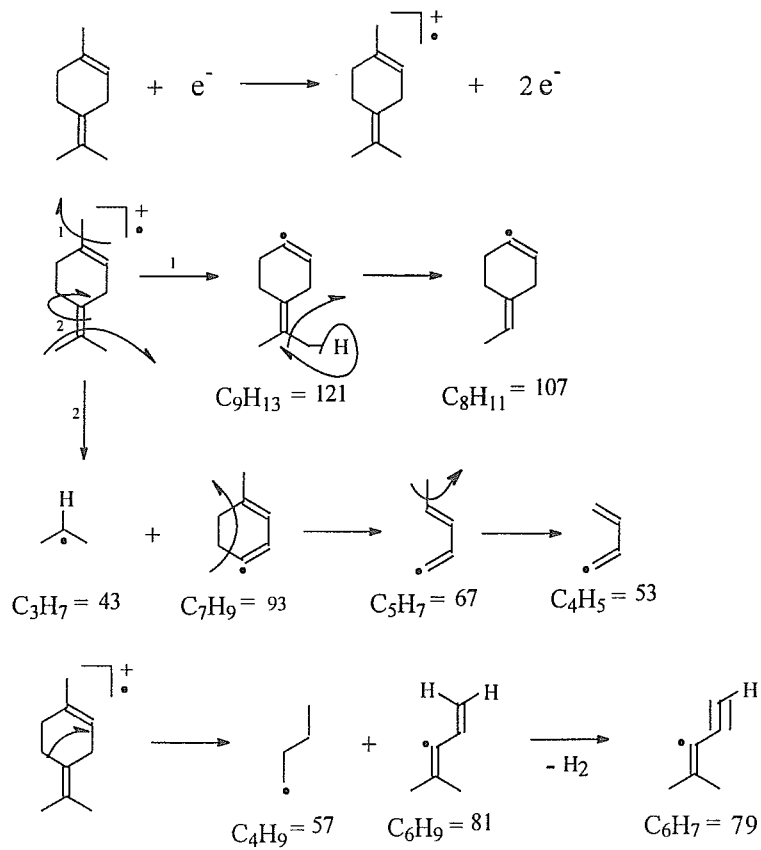
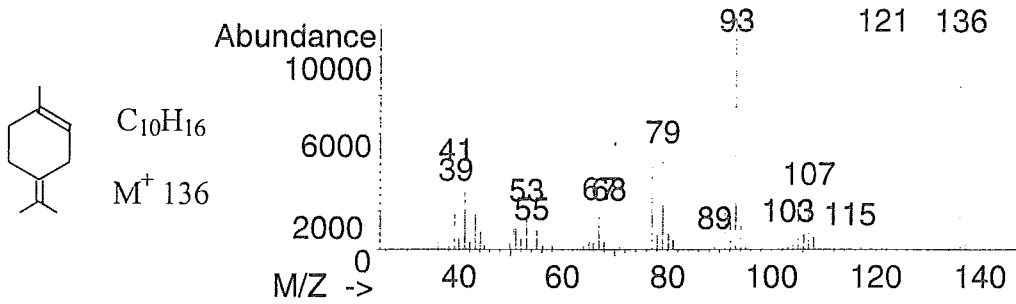
3-careno



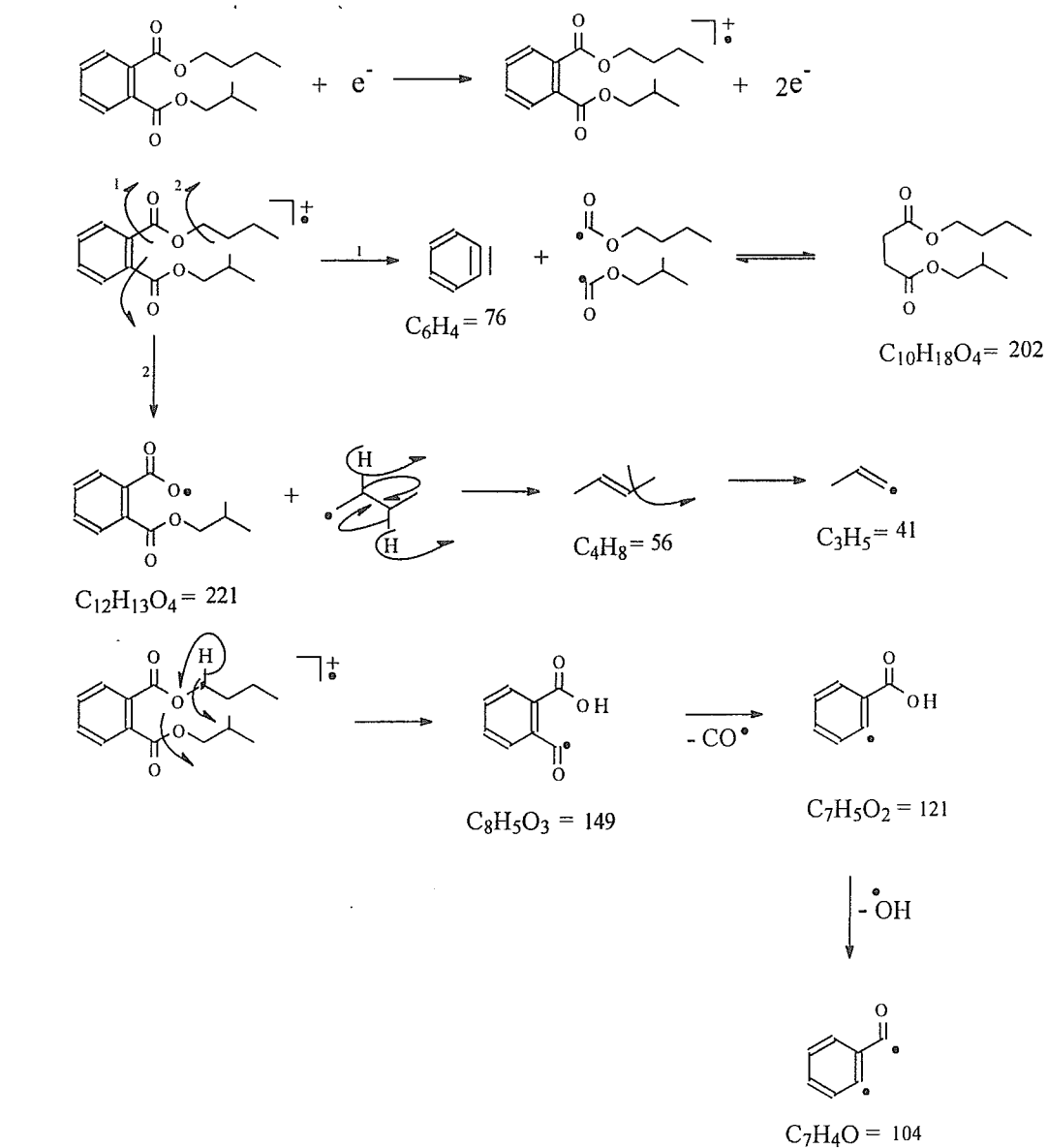
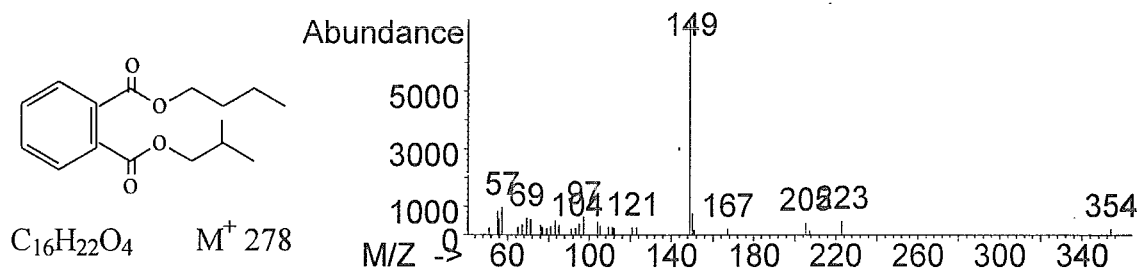




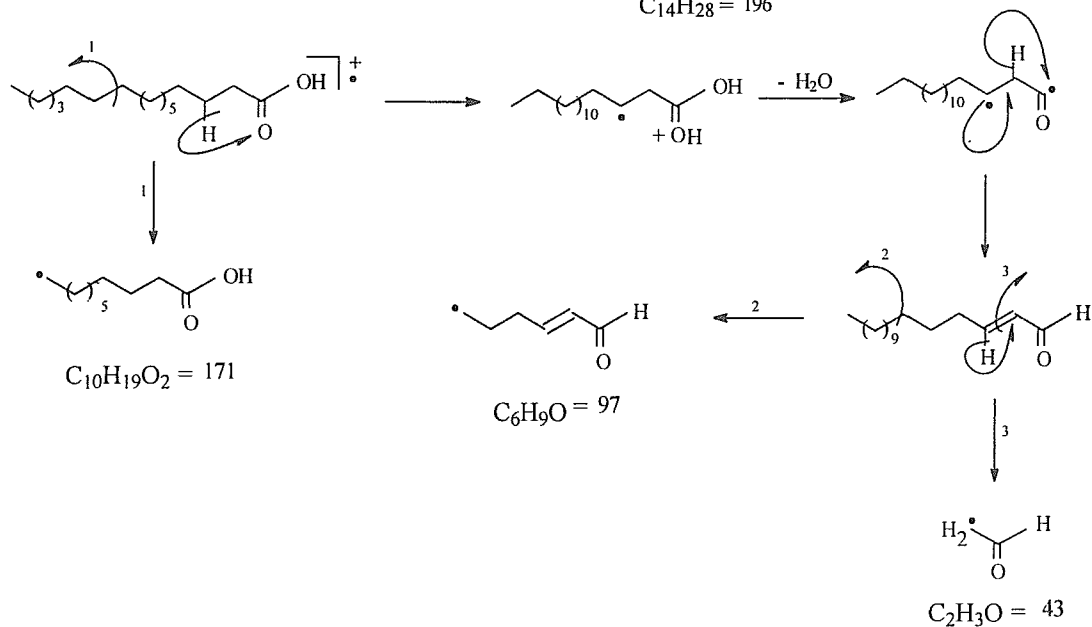
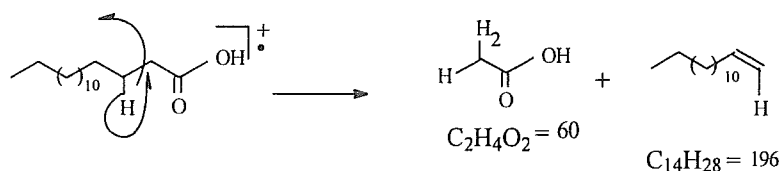
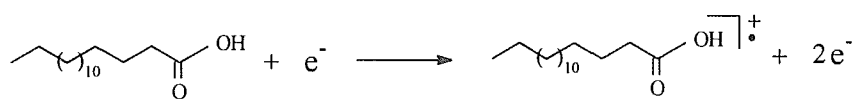
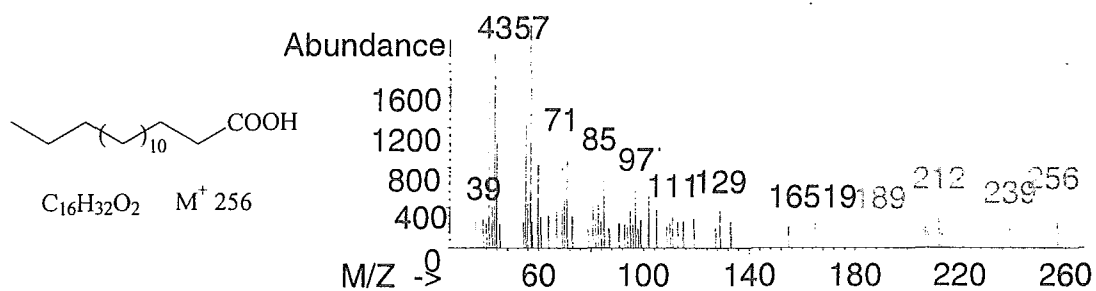
1-metil-4(metietiliden) ciclohexeno

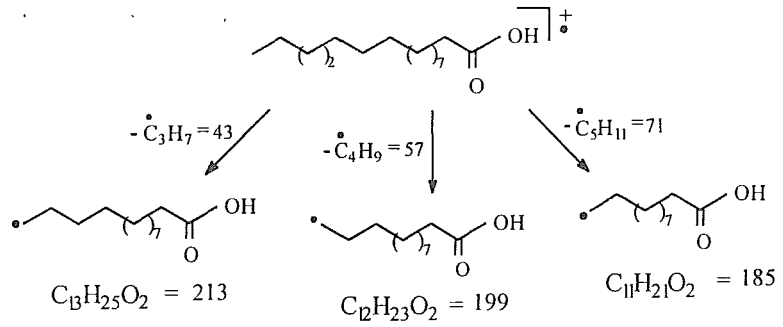
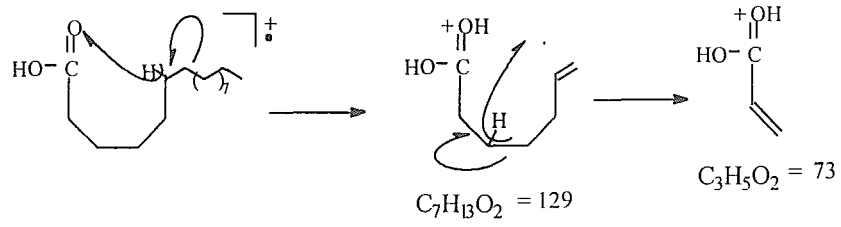


Acido butil-2-metilpropil-1,2-bencendicarboxílico

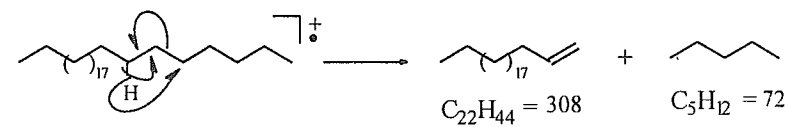
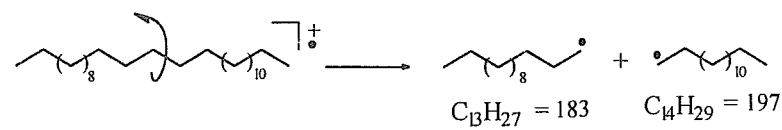
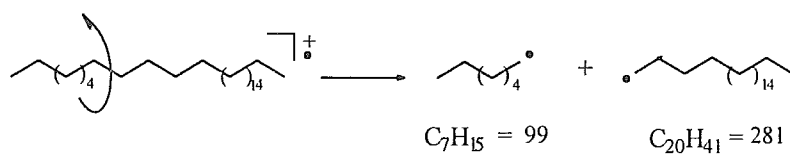
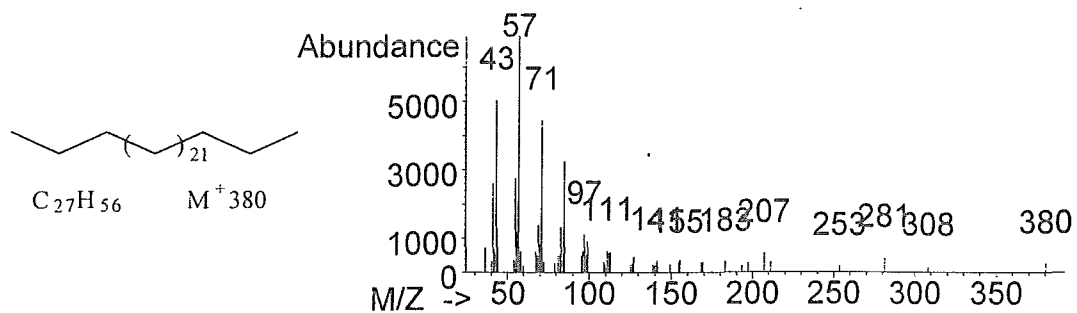


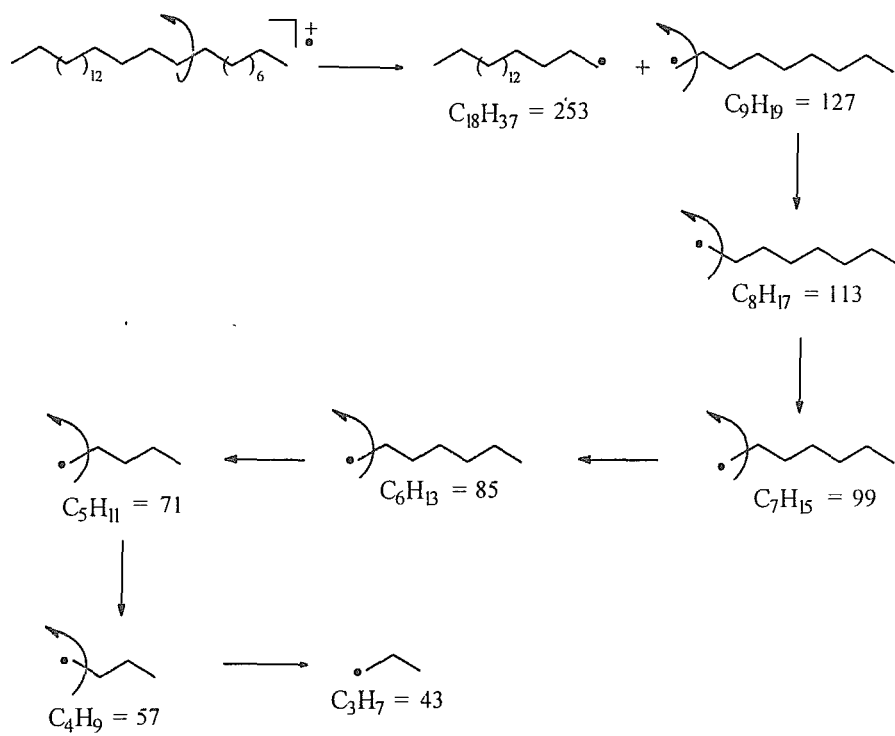
Acido hexadecanoico



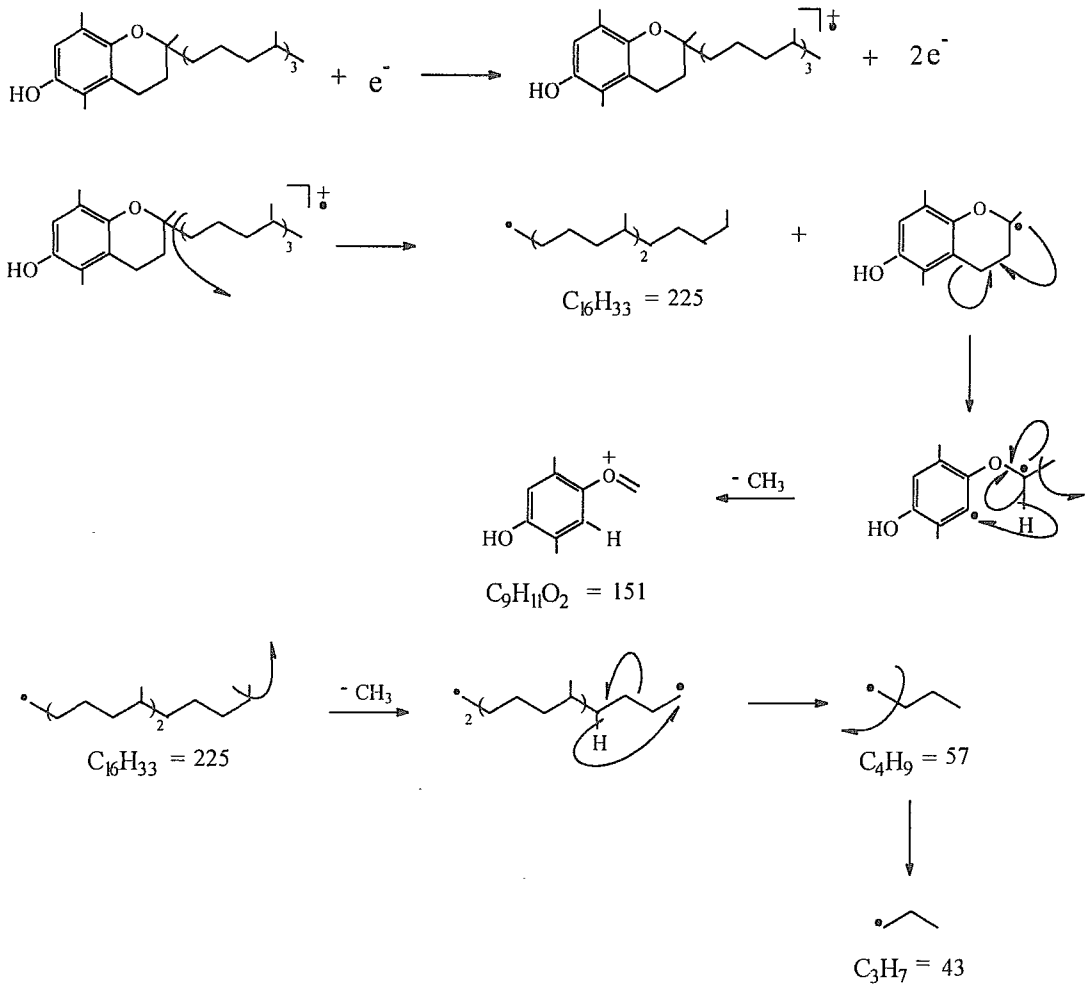
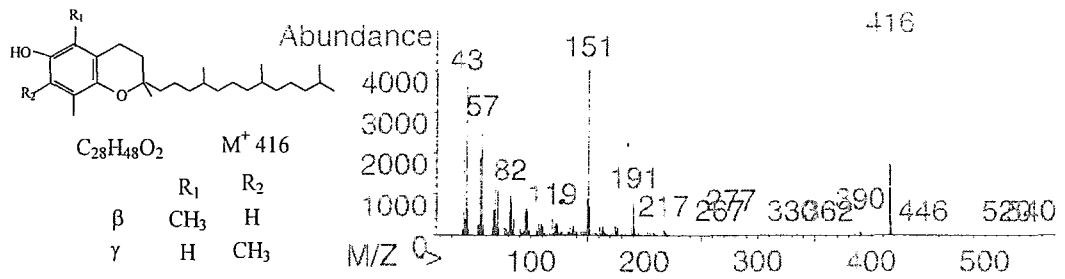


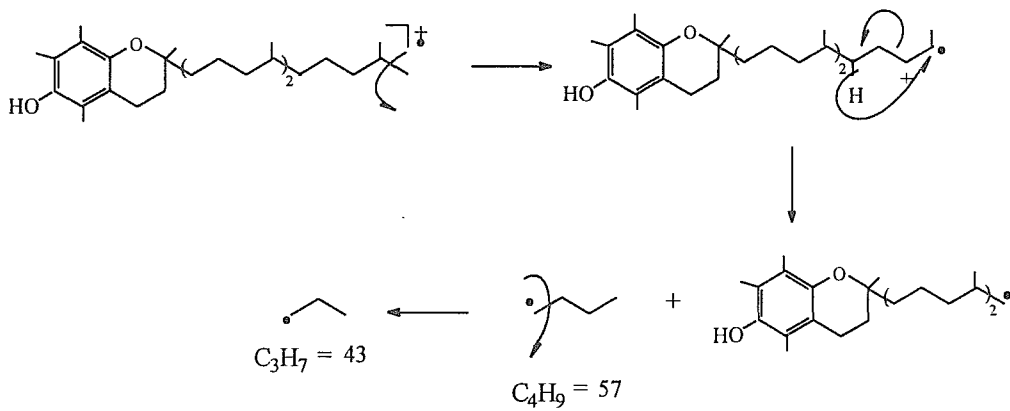
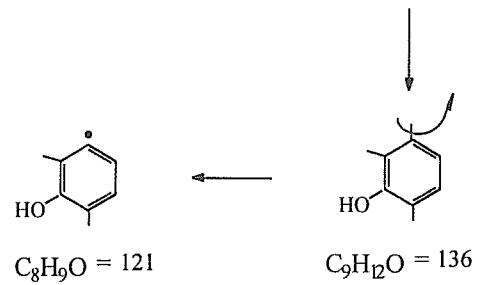
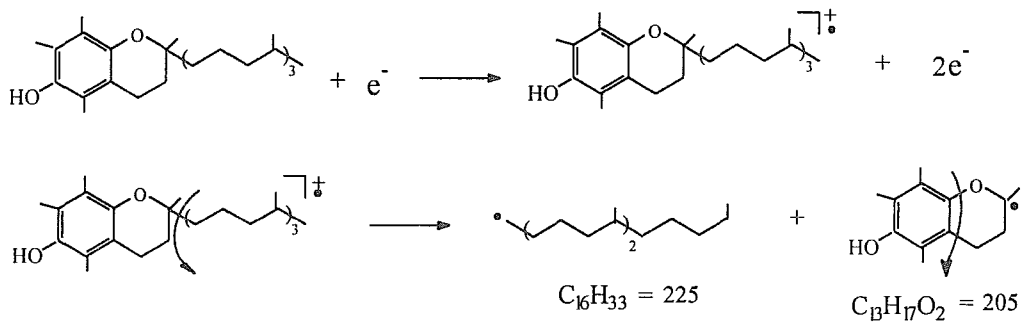
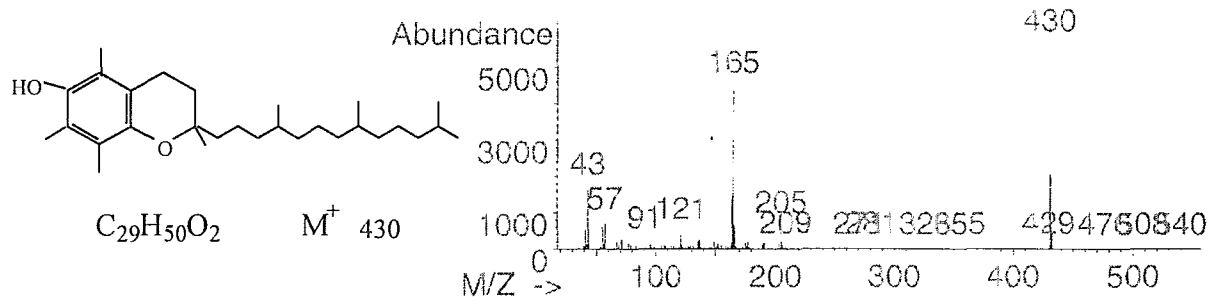
Heptacosano

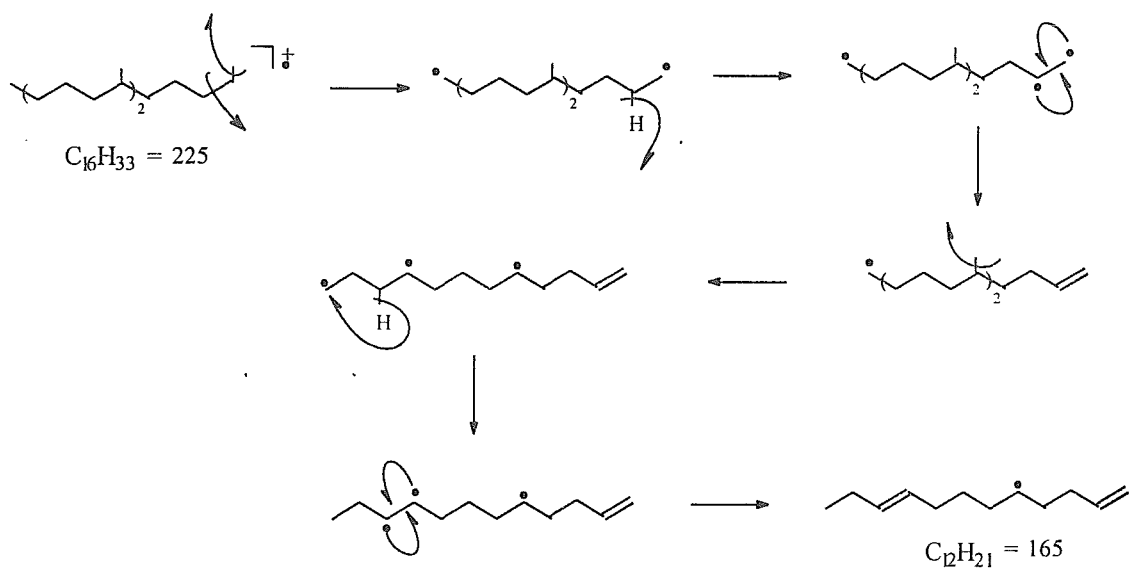




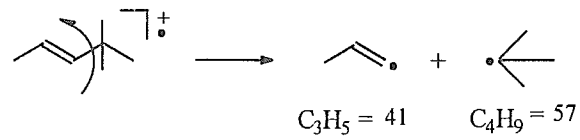
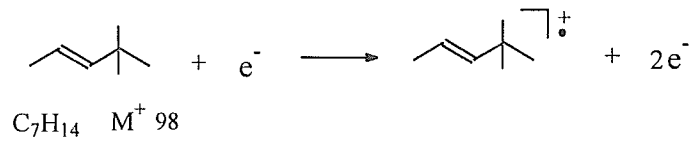
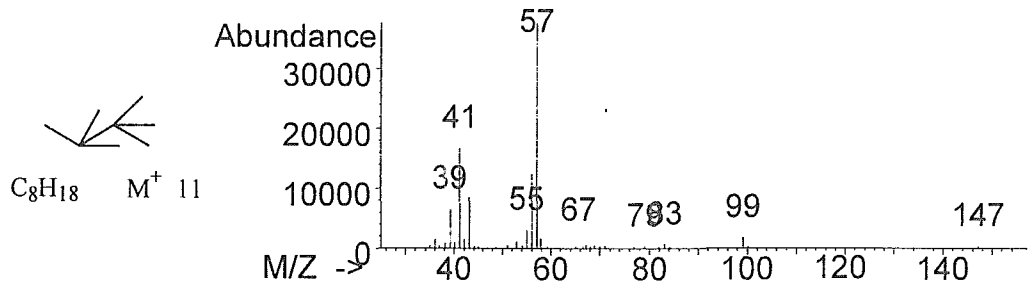
Tocopherol



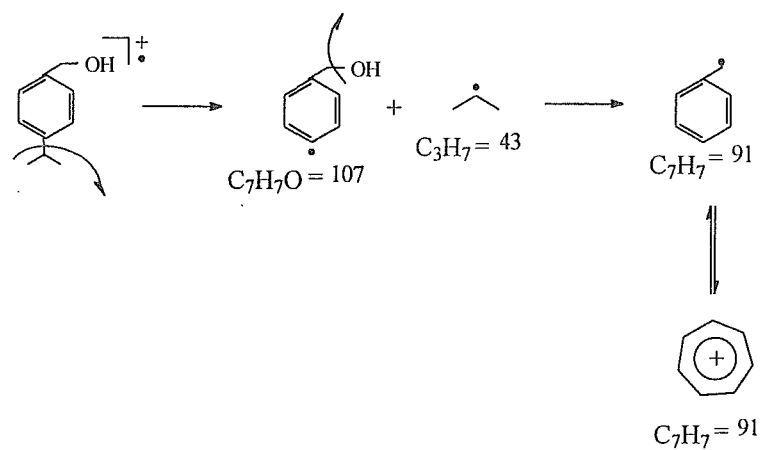
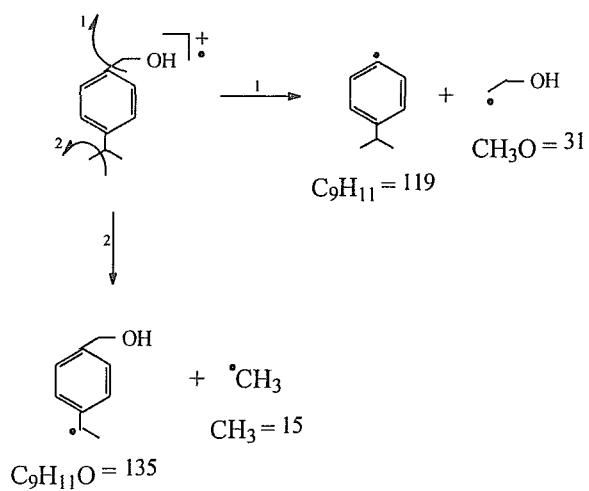
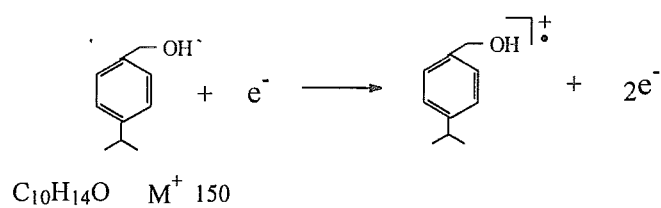
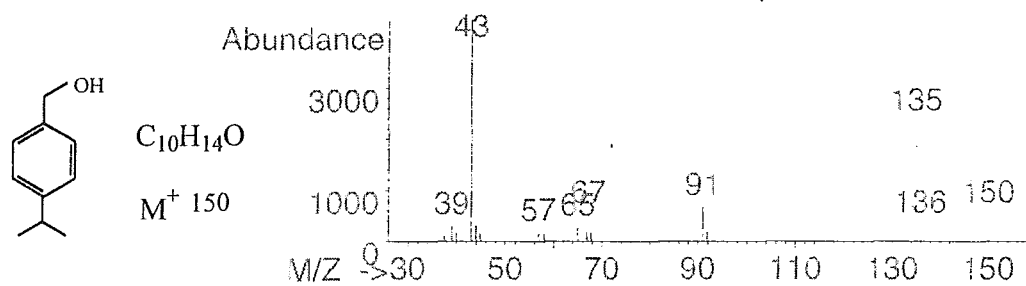
α -tocopherol

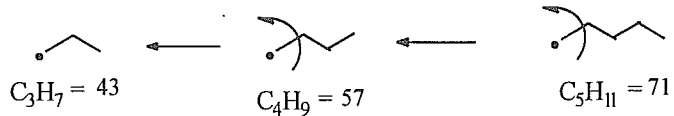
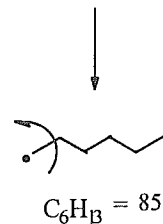
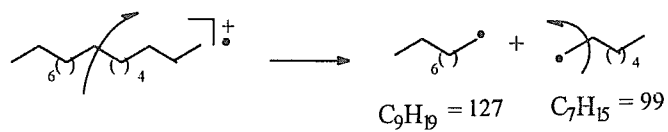
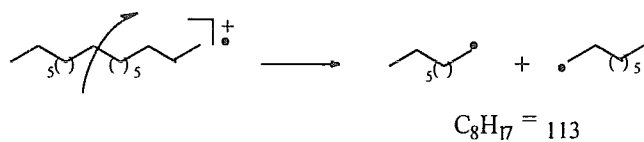
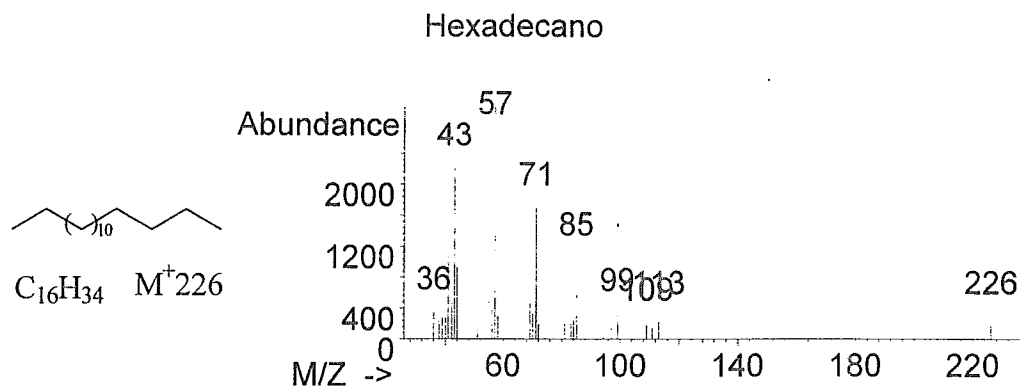


2,2,3,3-tetrametil butano

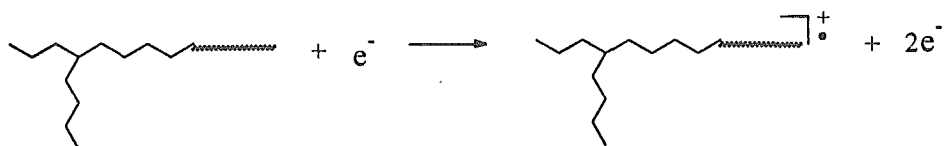
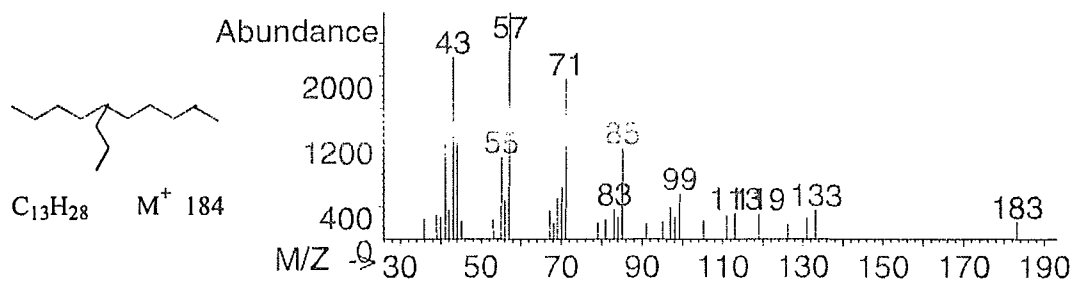


Alcohol 4-isopropil-bencílico

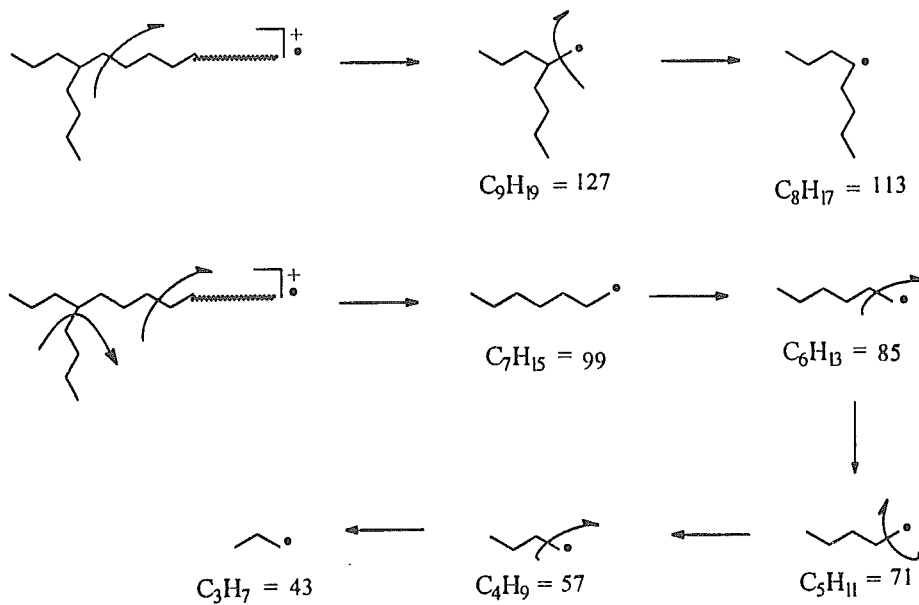




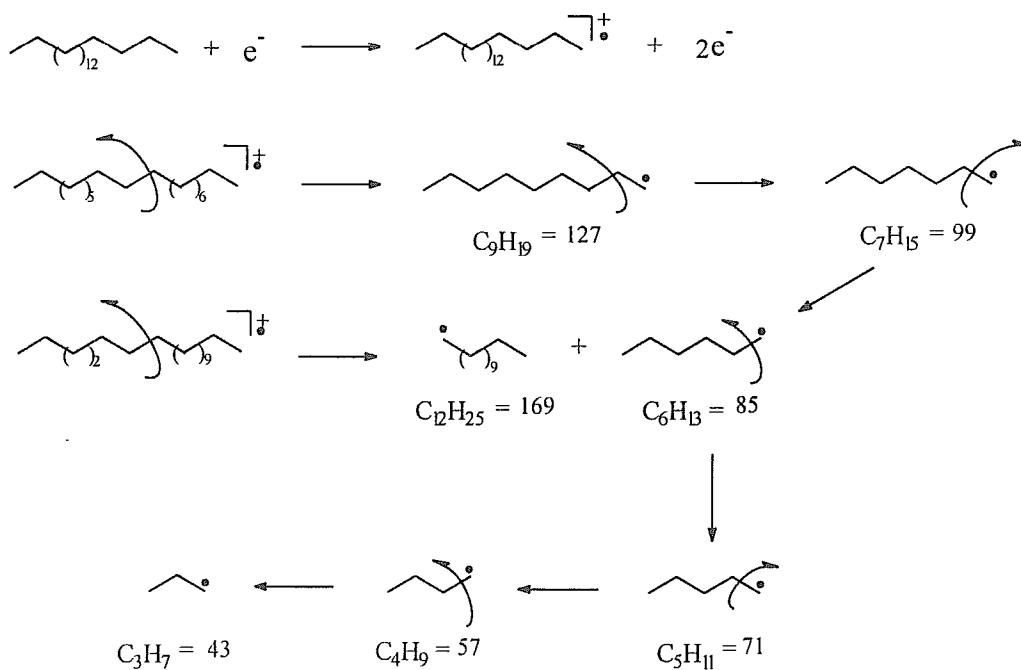
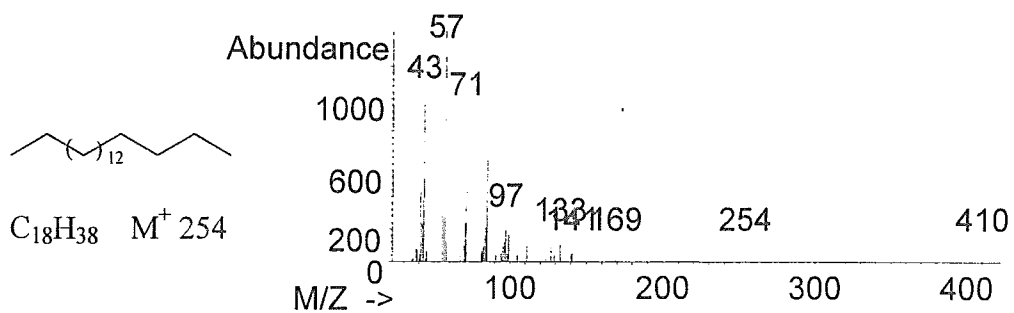
5-propil decano



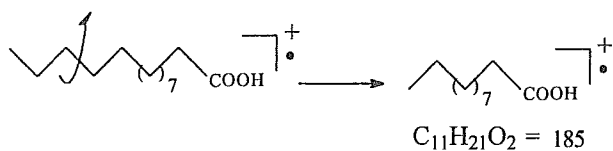
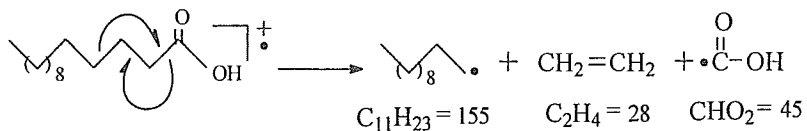
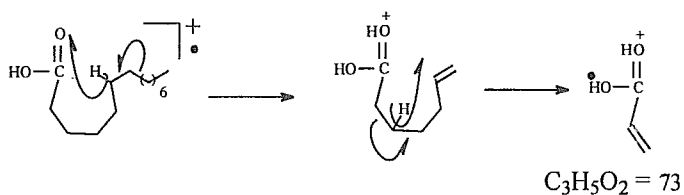
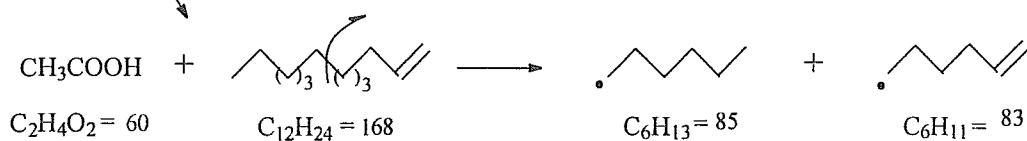
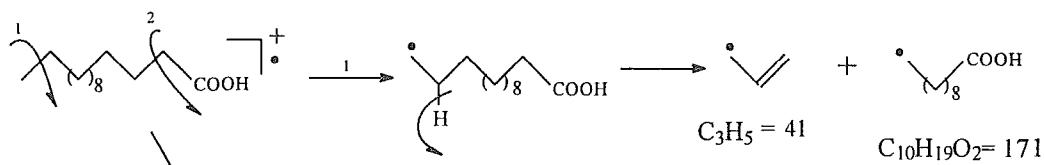
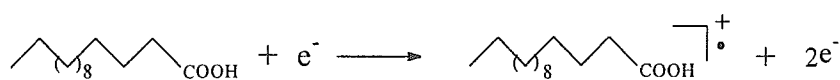
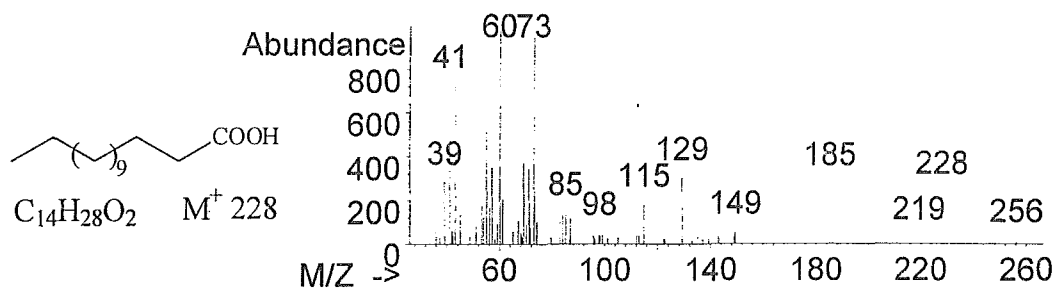
$C_nH_{2n+1} \therefore n > 13$

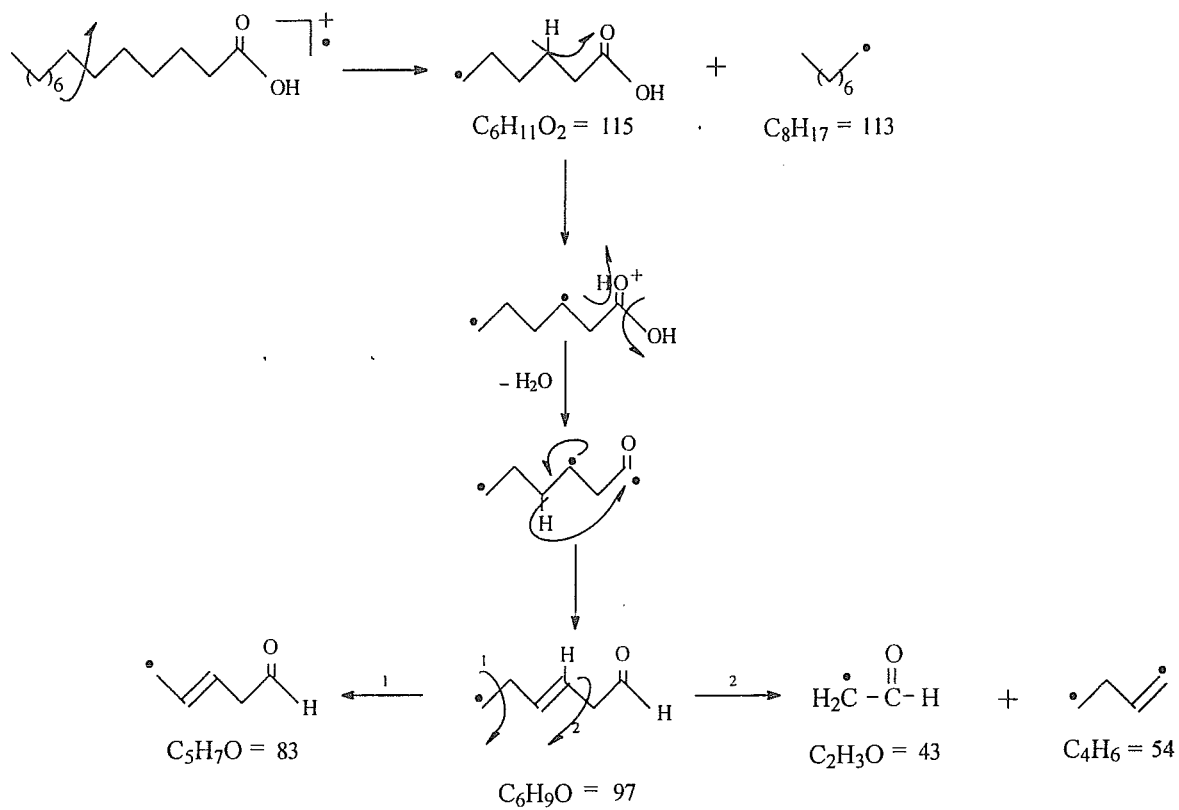


Octadecano

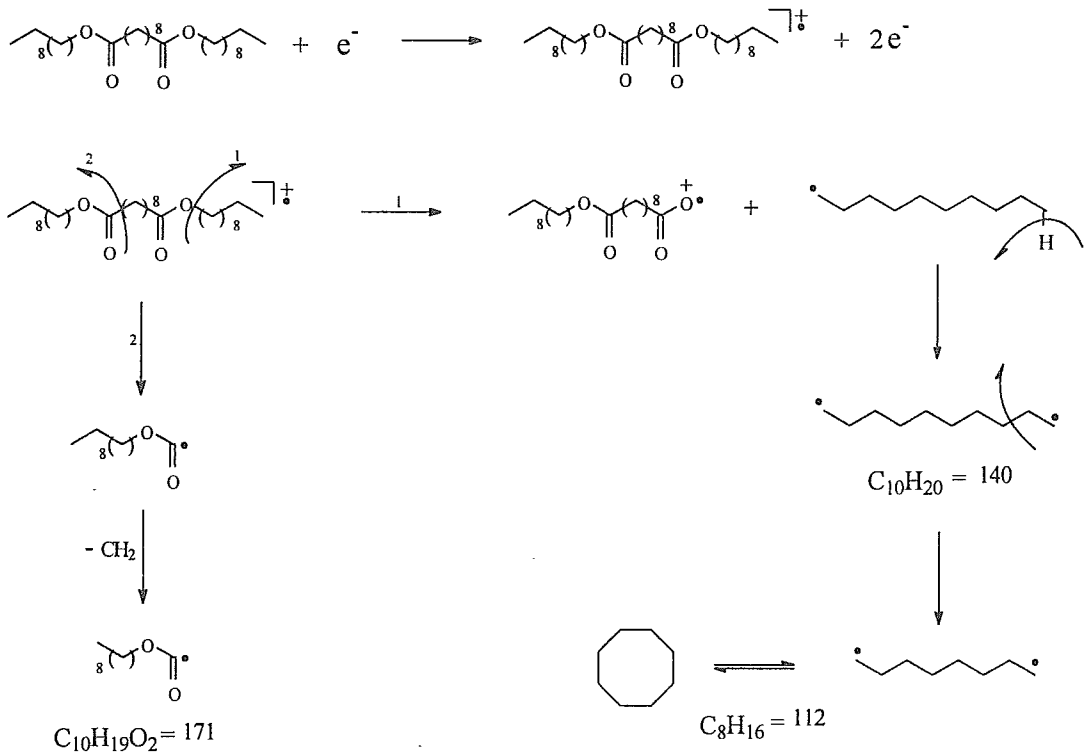
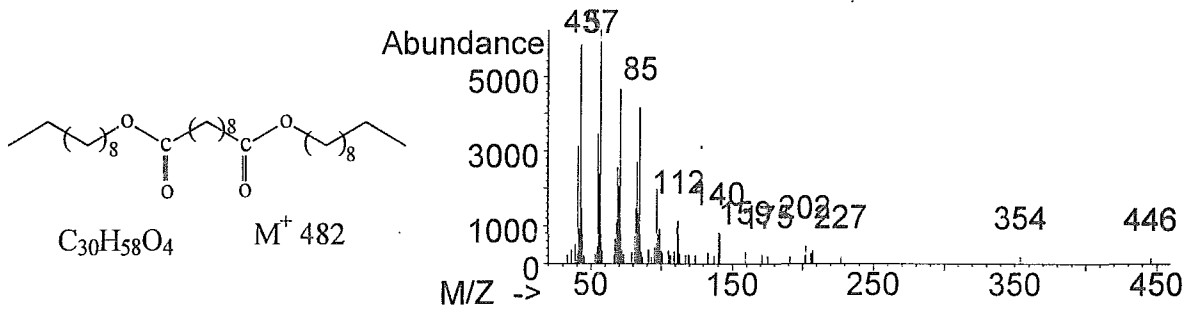


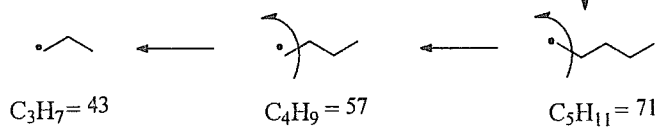
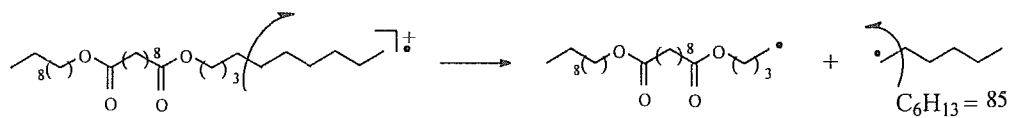
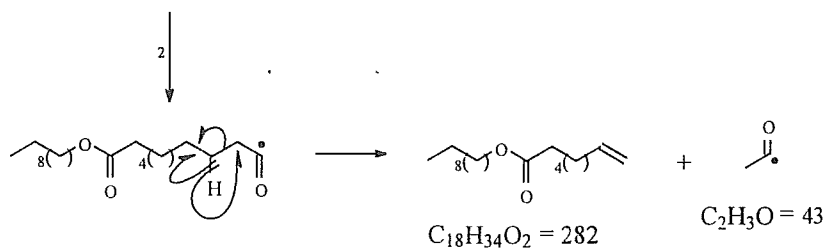
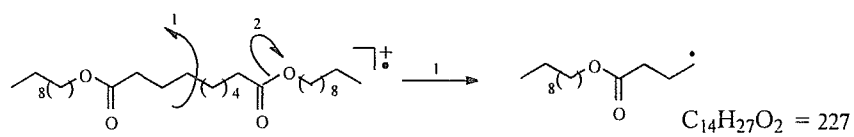
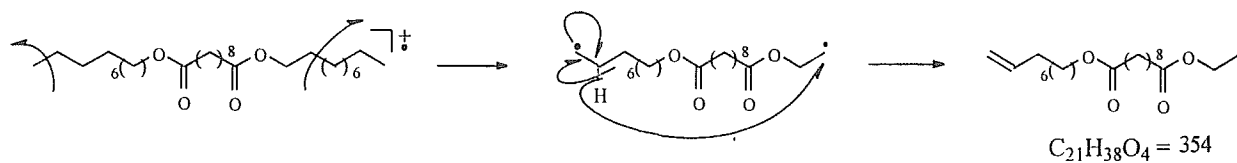
Acido tetradecanoico



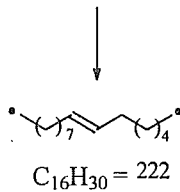
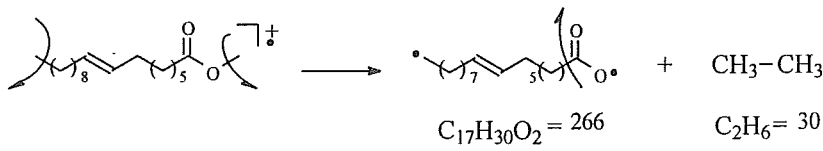
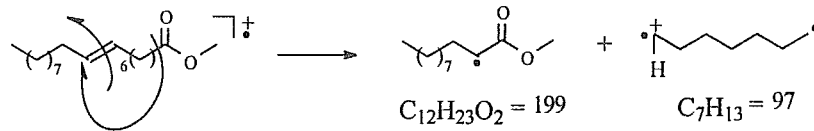
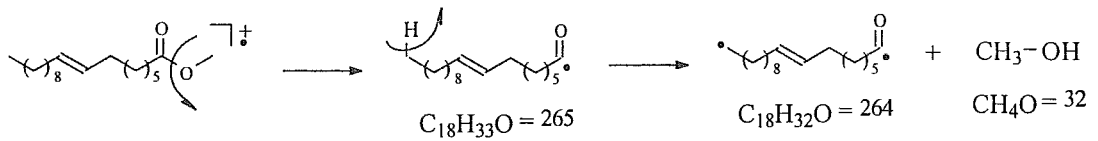
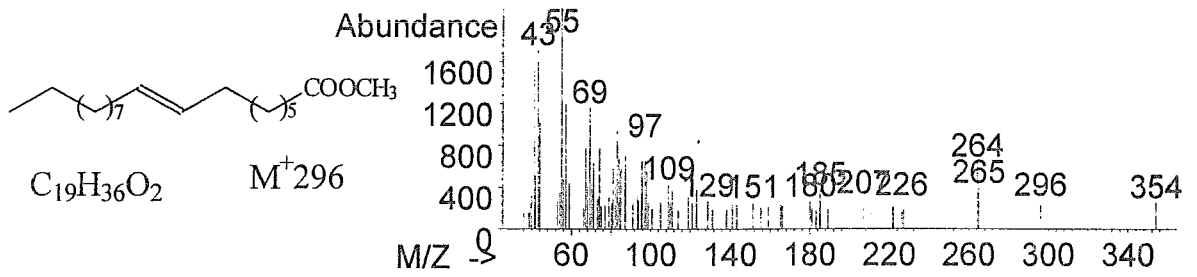


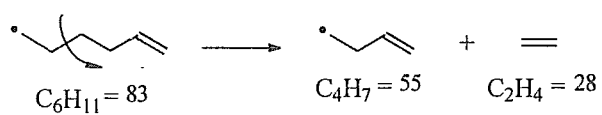
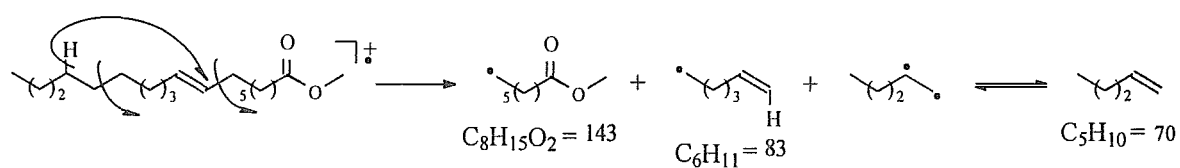
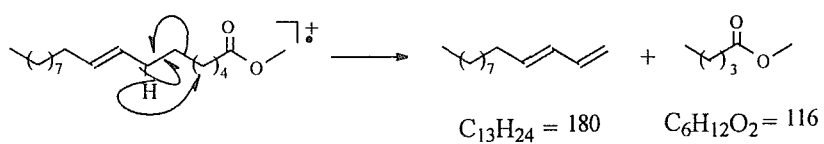
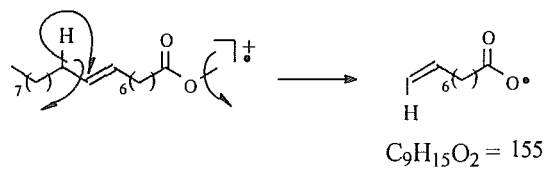
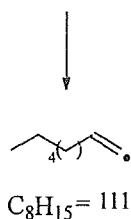
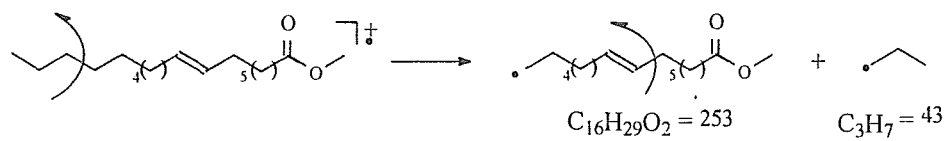
Decanedioato de didecilo



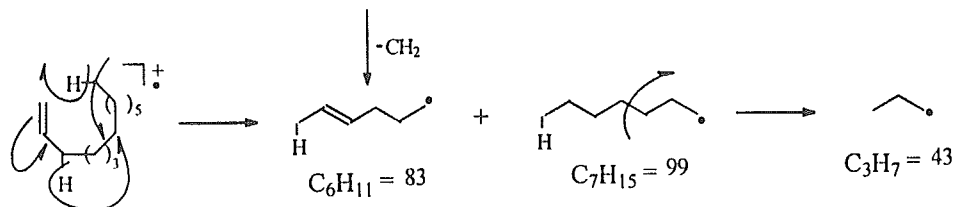
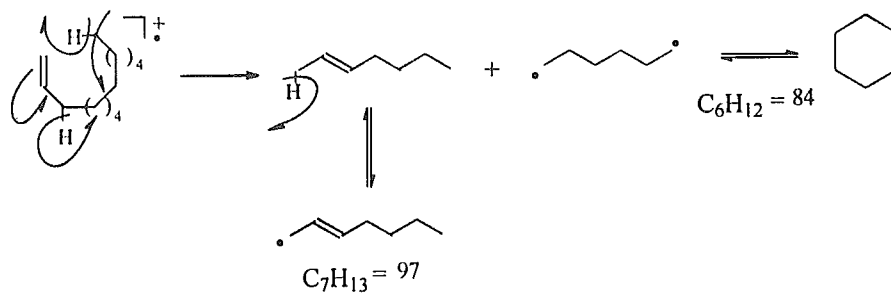
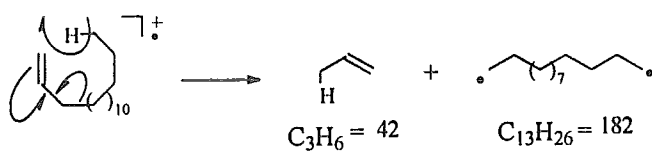
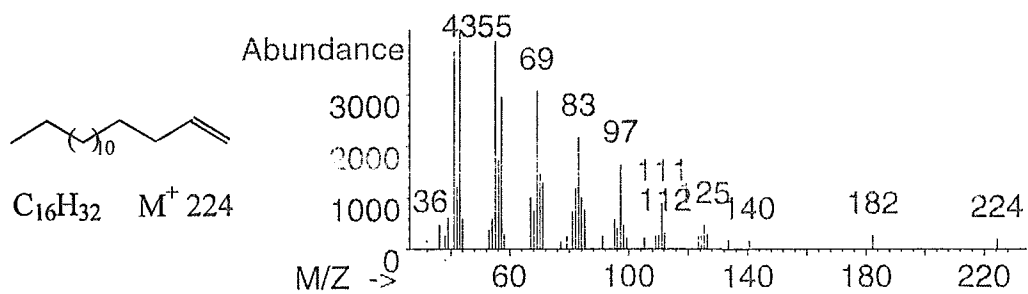


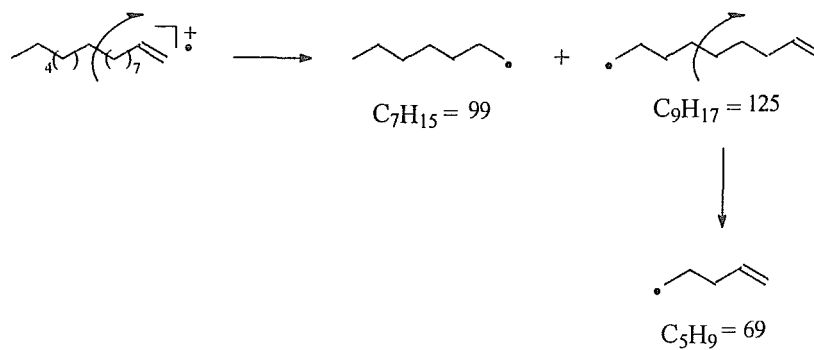
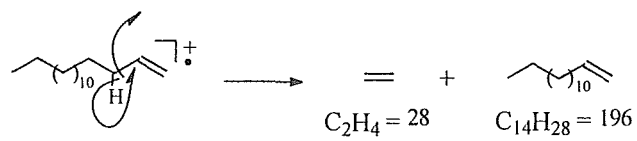
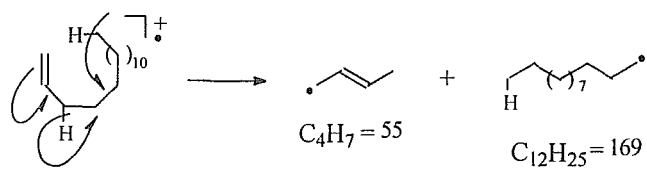
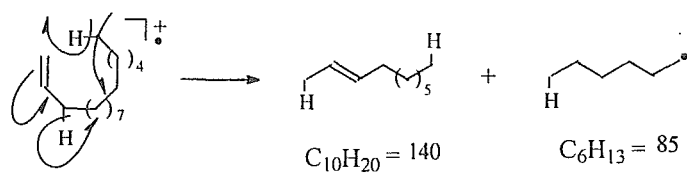
8-octadecenoato de metilo



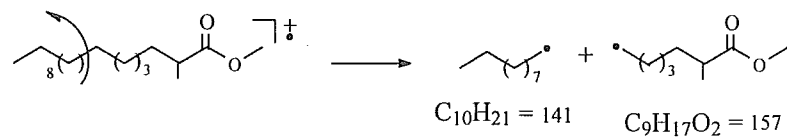
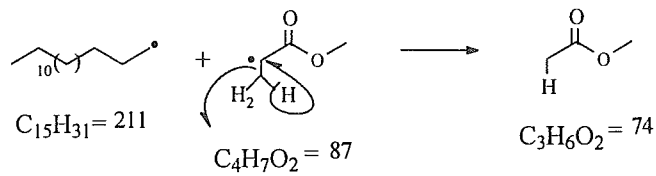
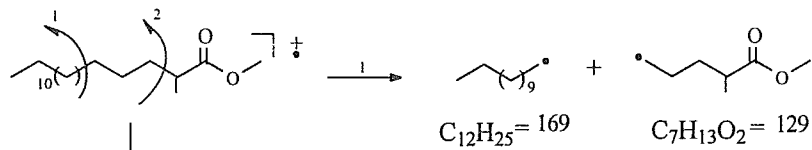
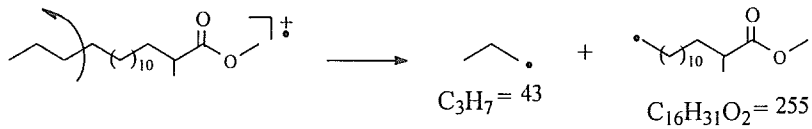
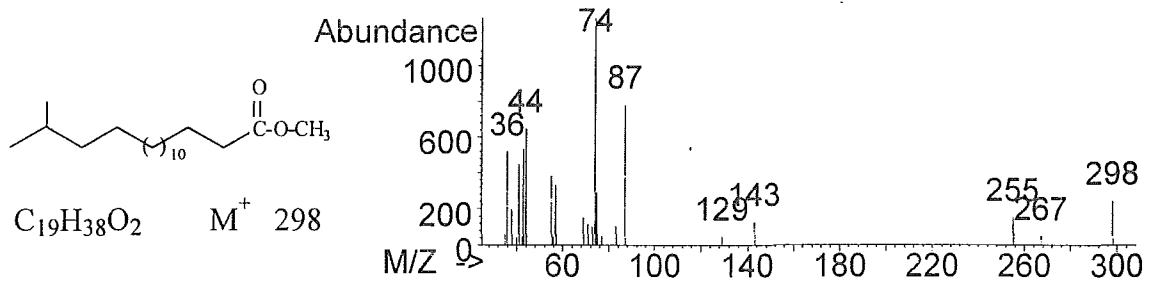


Hexadeceno

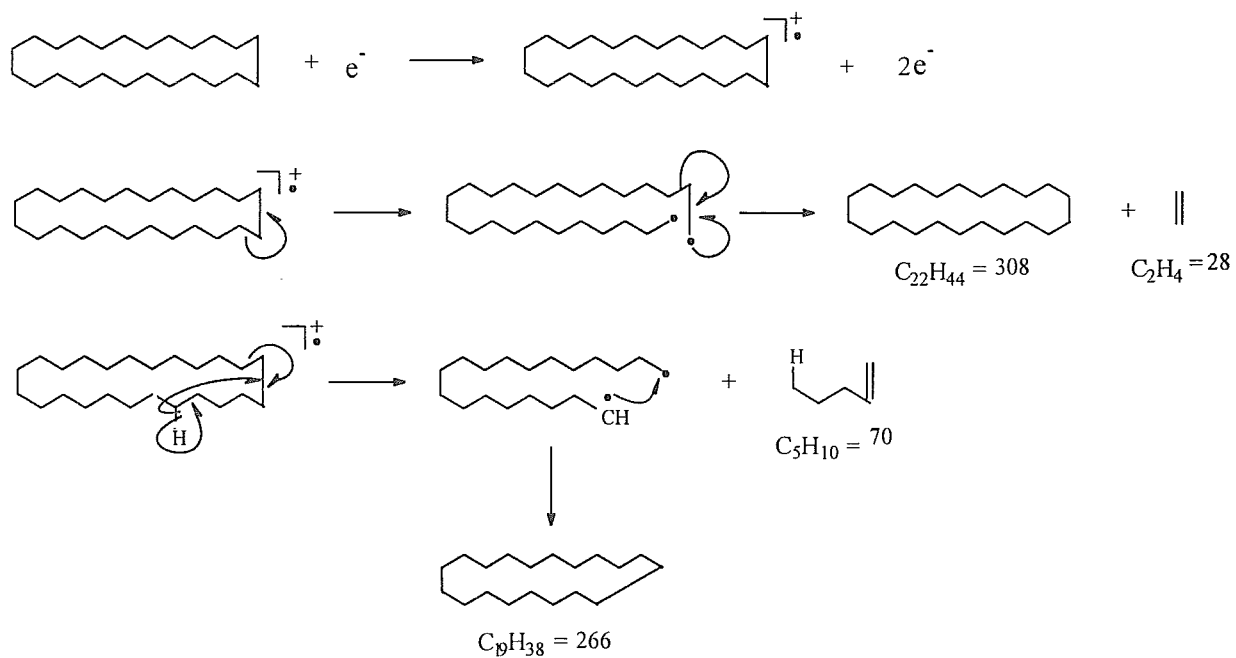
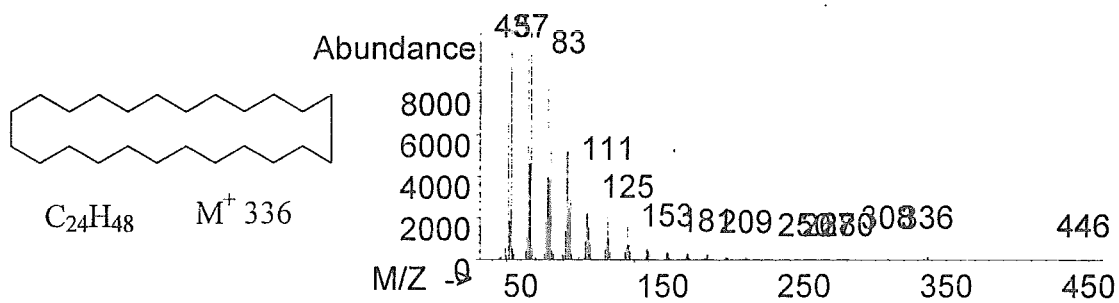


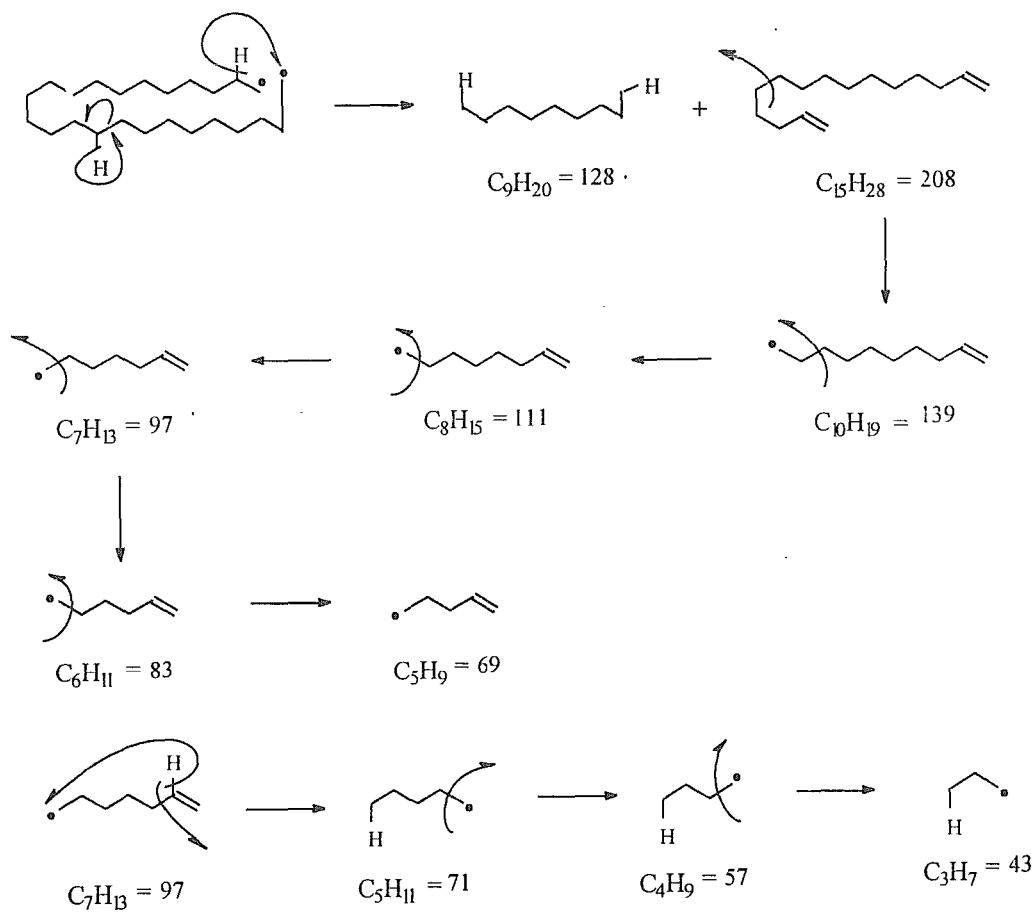


16-metil-heptadecanoato de metilo

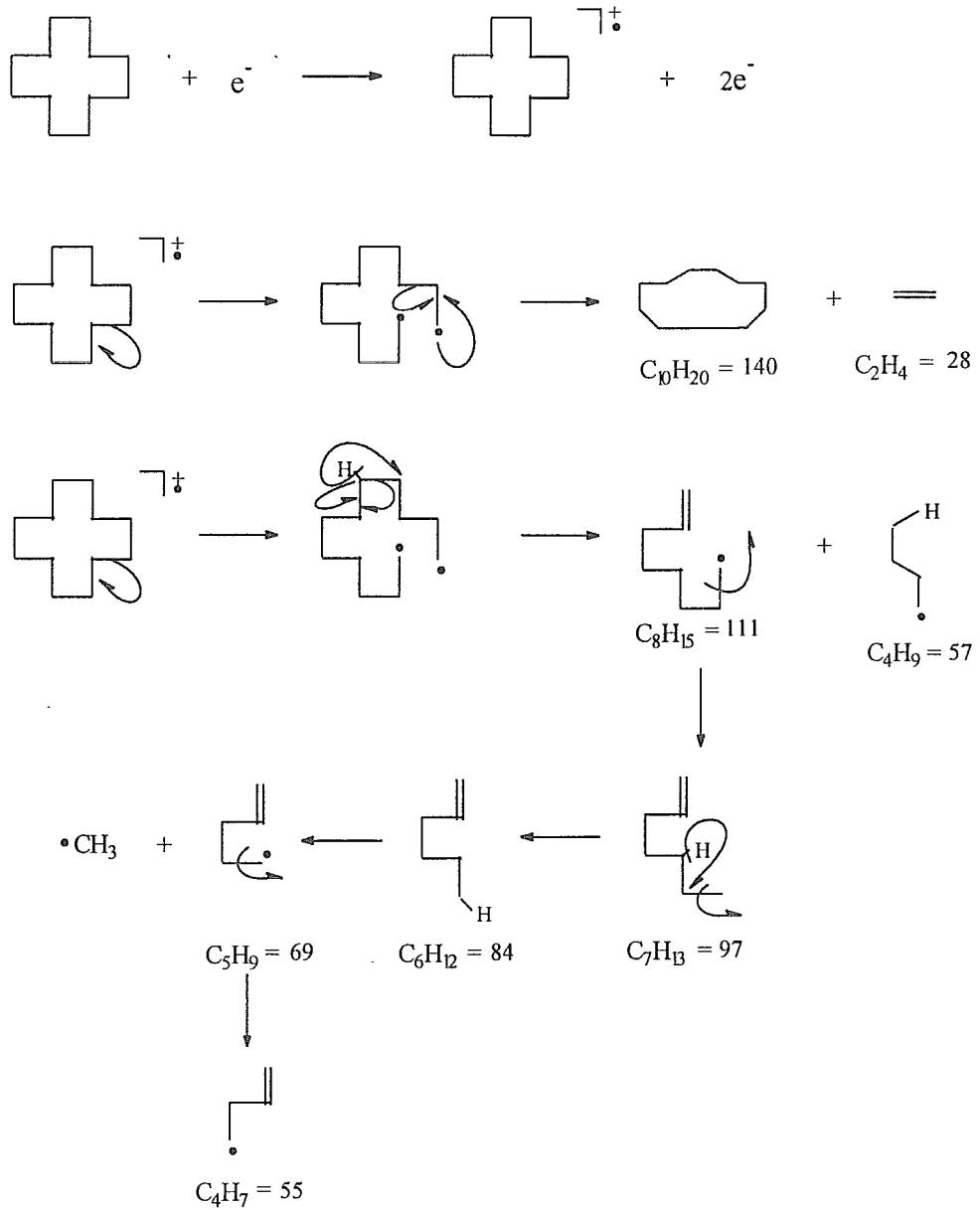
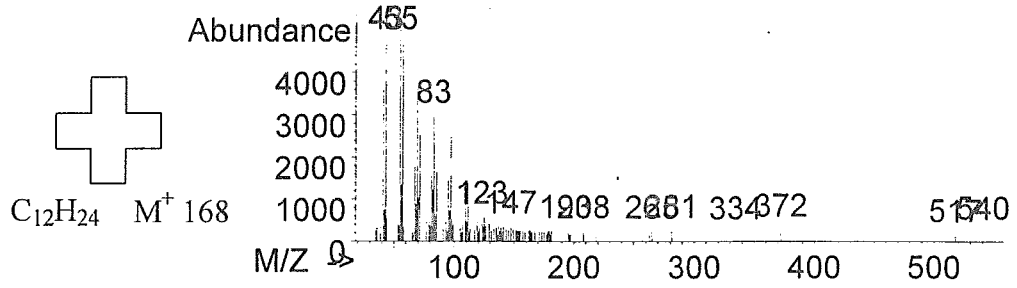


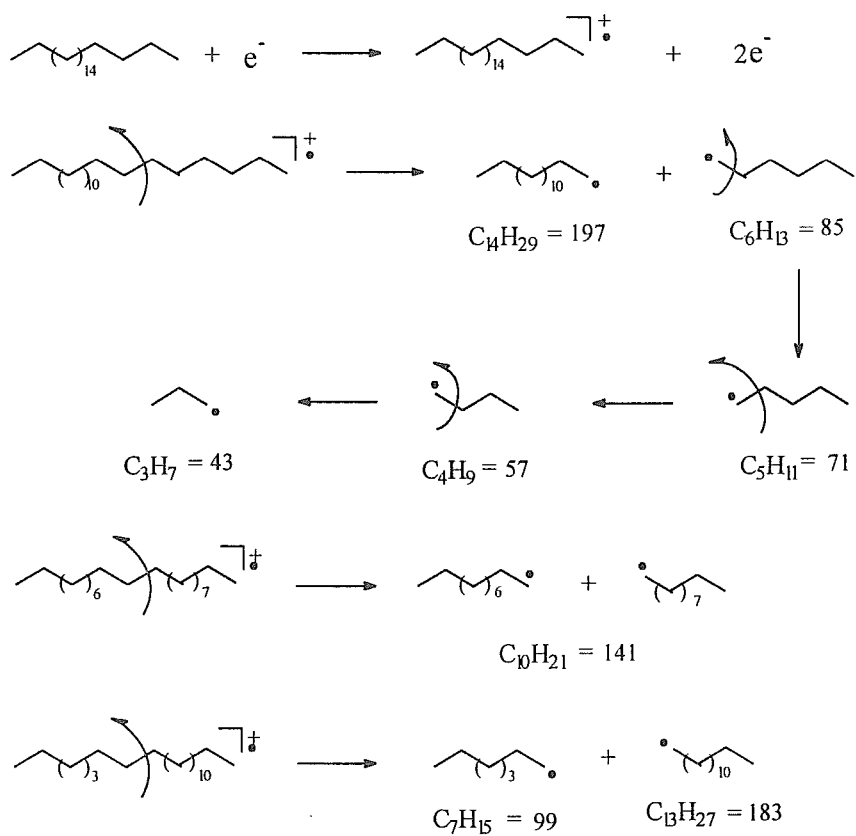
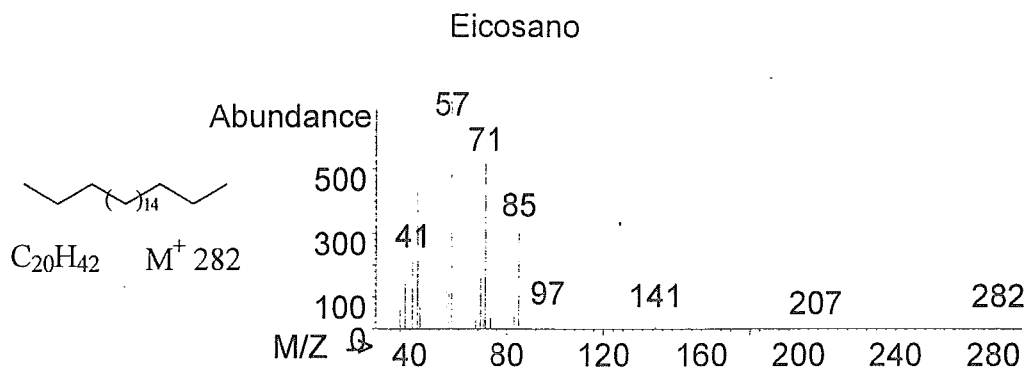
Ciclotetracosano



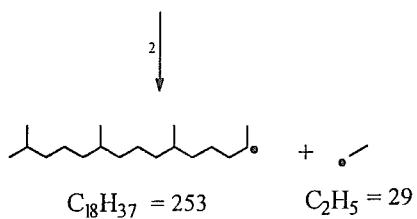
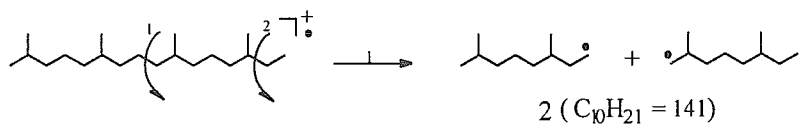
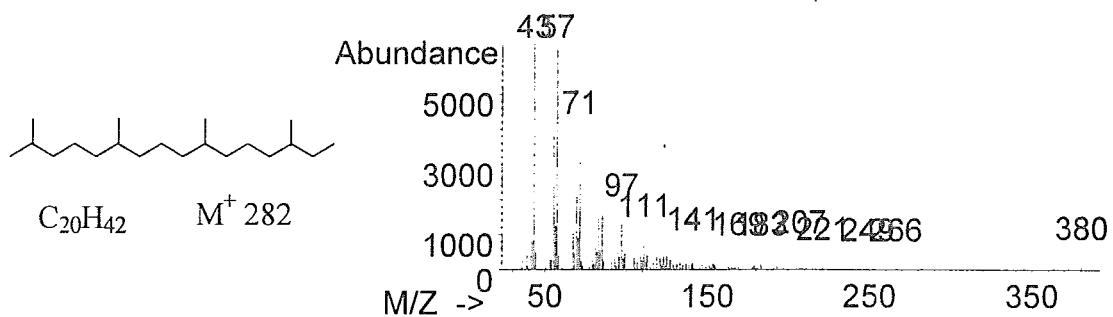


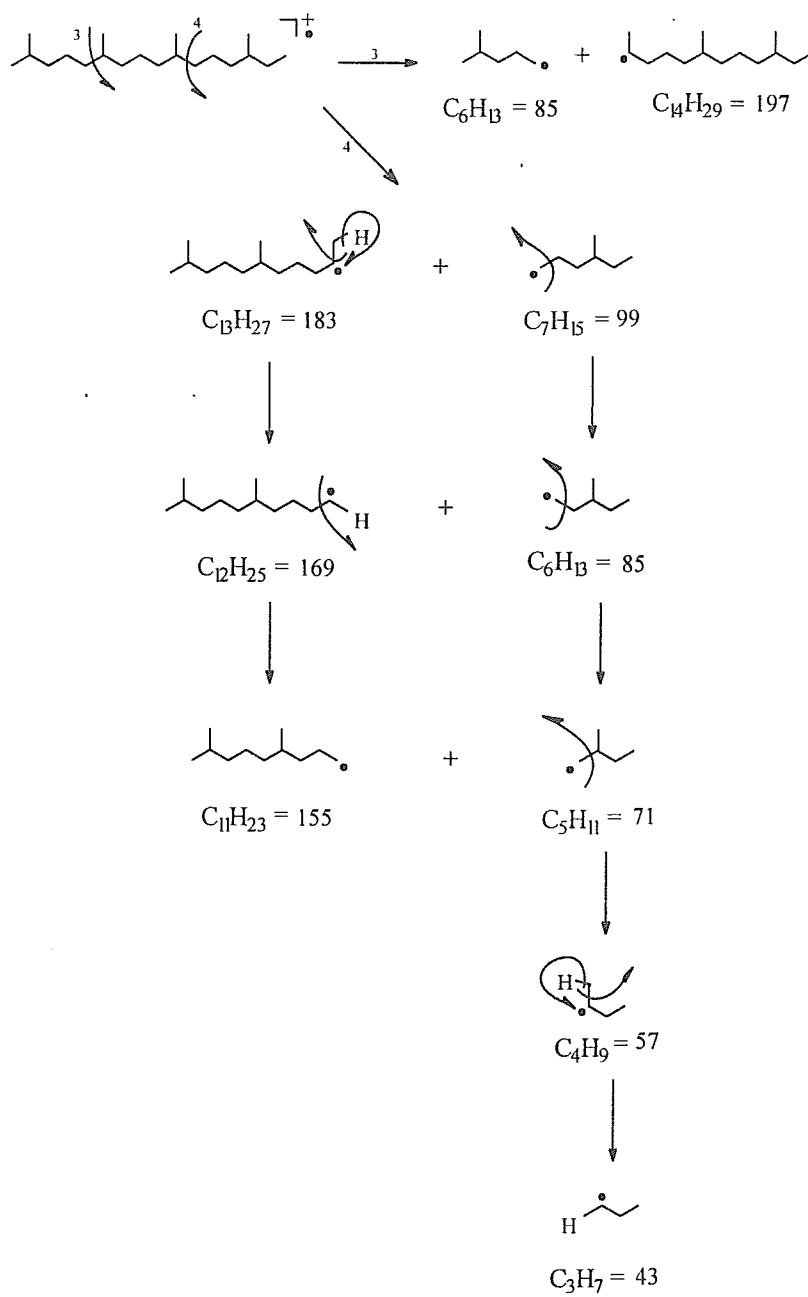
Ciclododecano



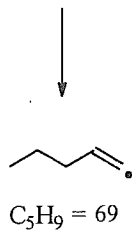
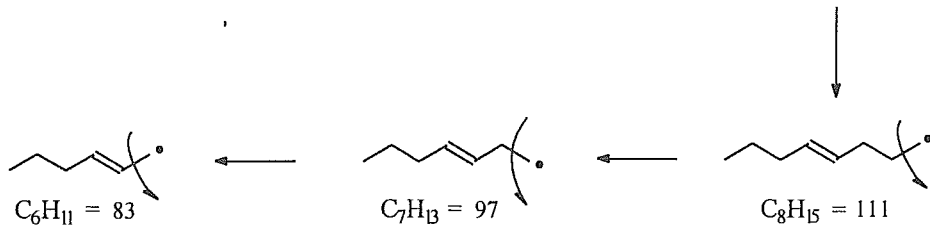
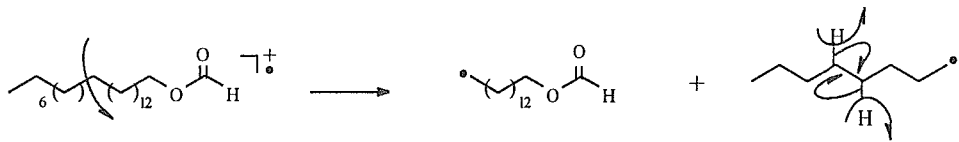
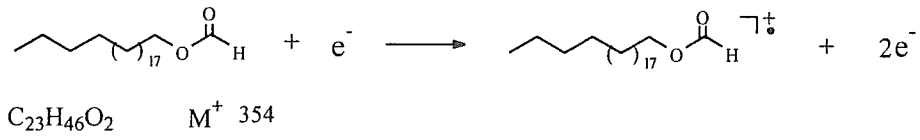
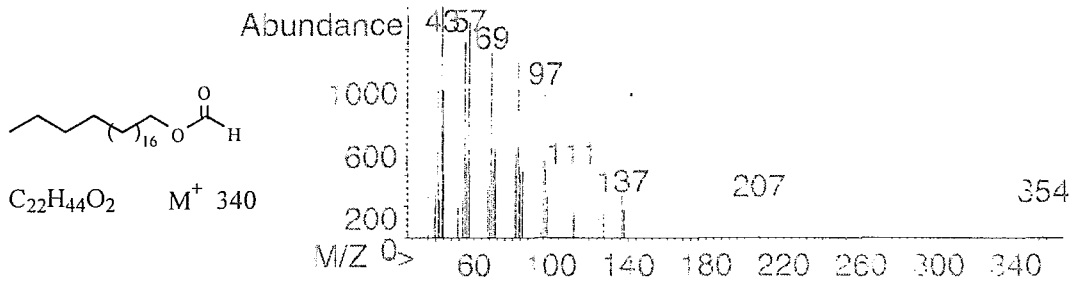


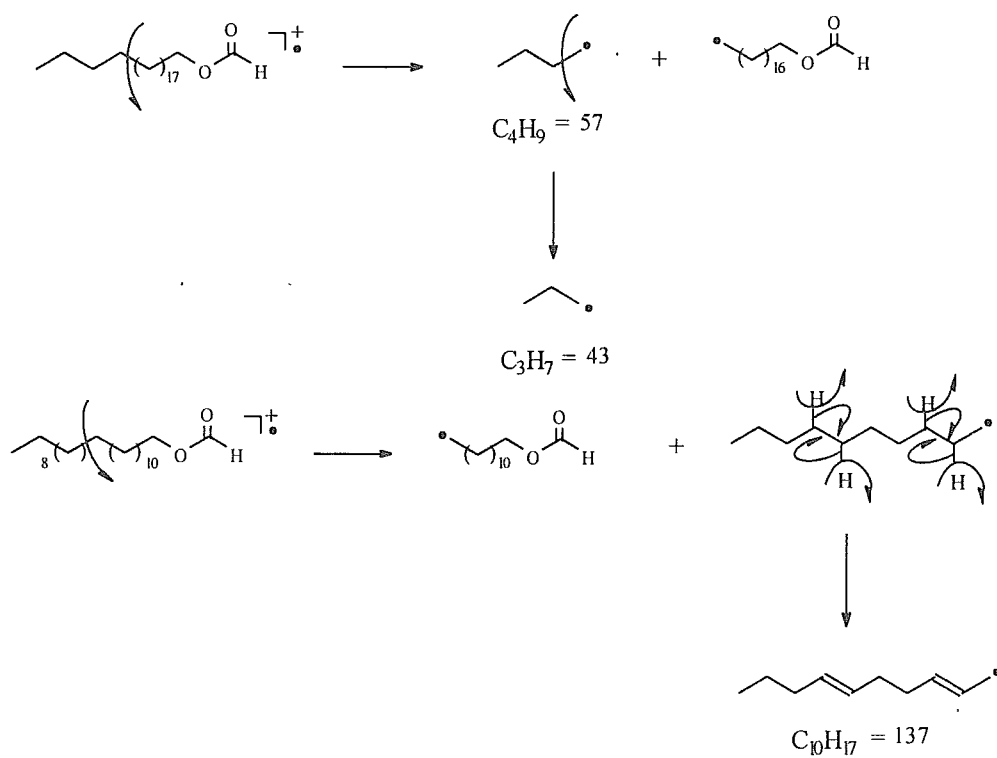
2,6,10,14-tetrametil hexadecano



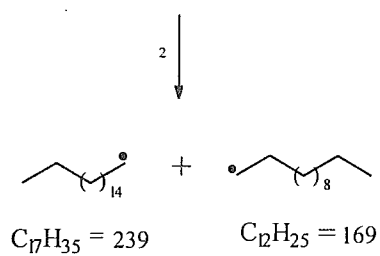
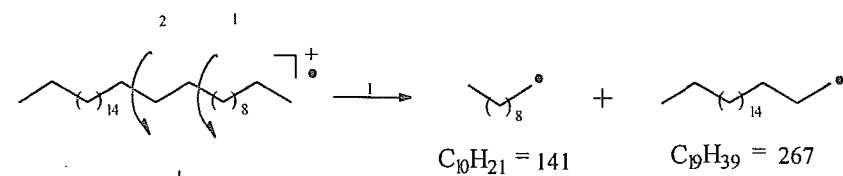
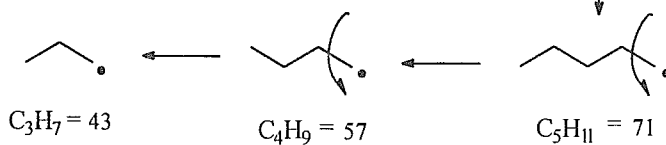
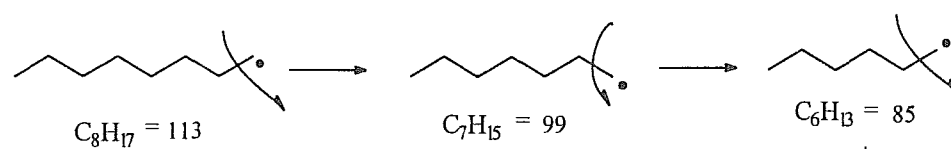
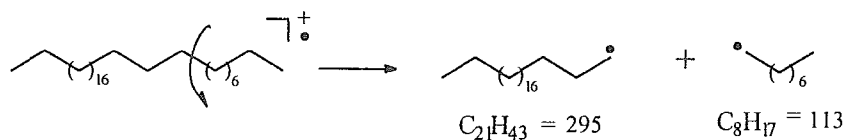
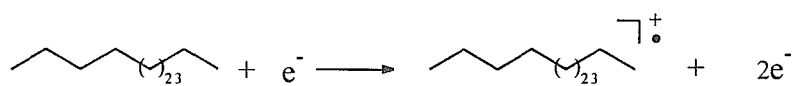
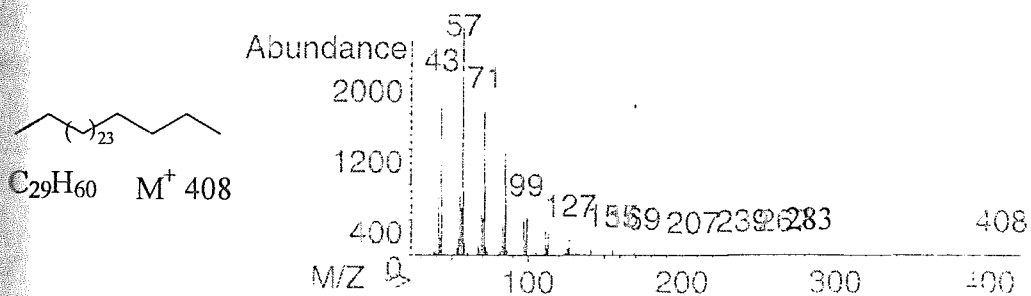


Metanoato de heneicosanilo



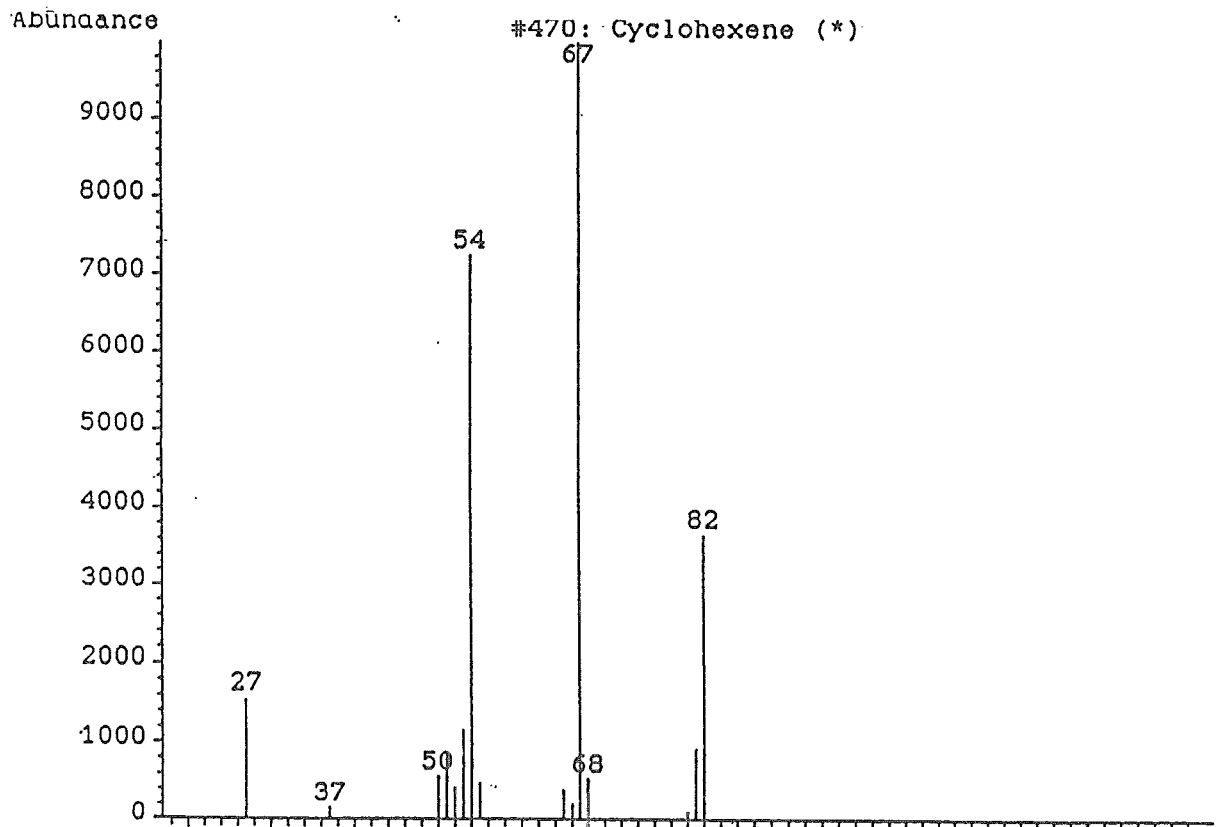


Nonacosano

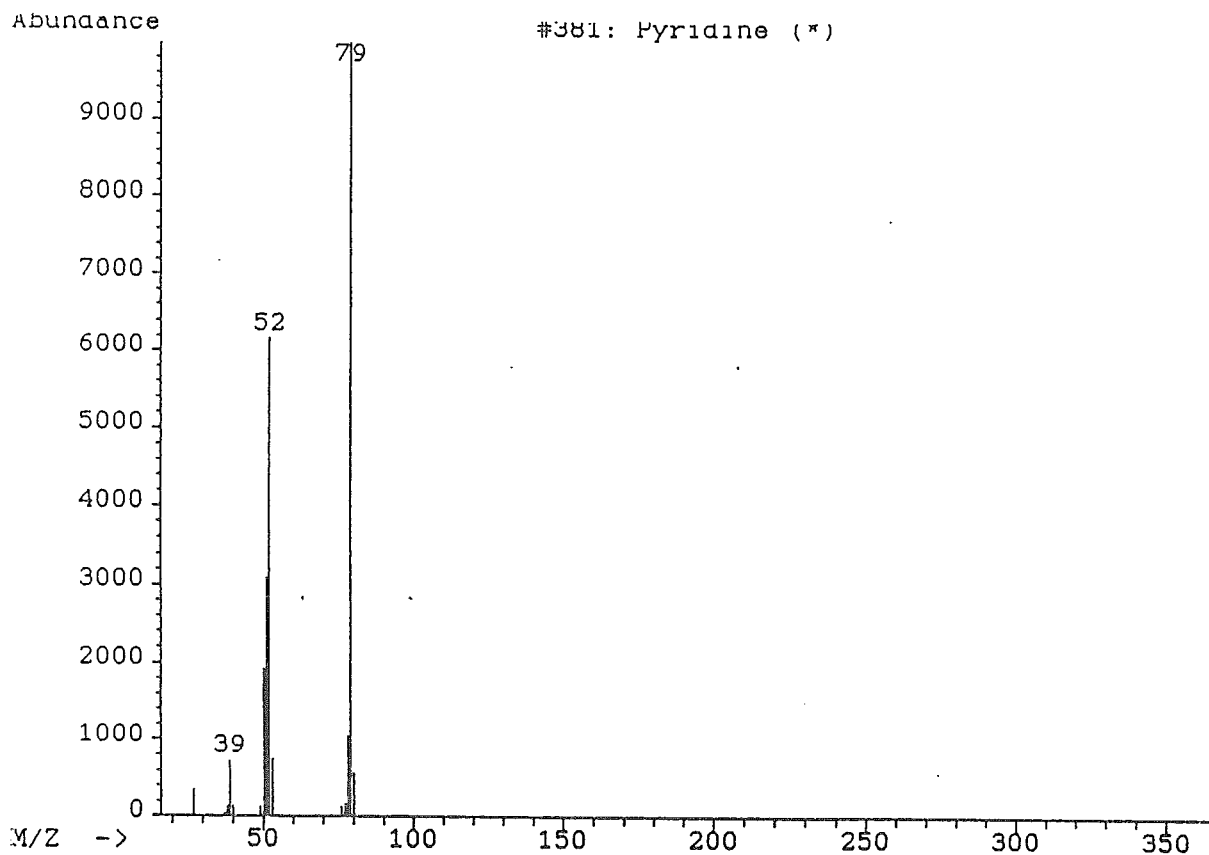


APÉNDICE II

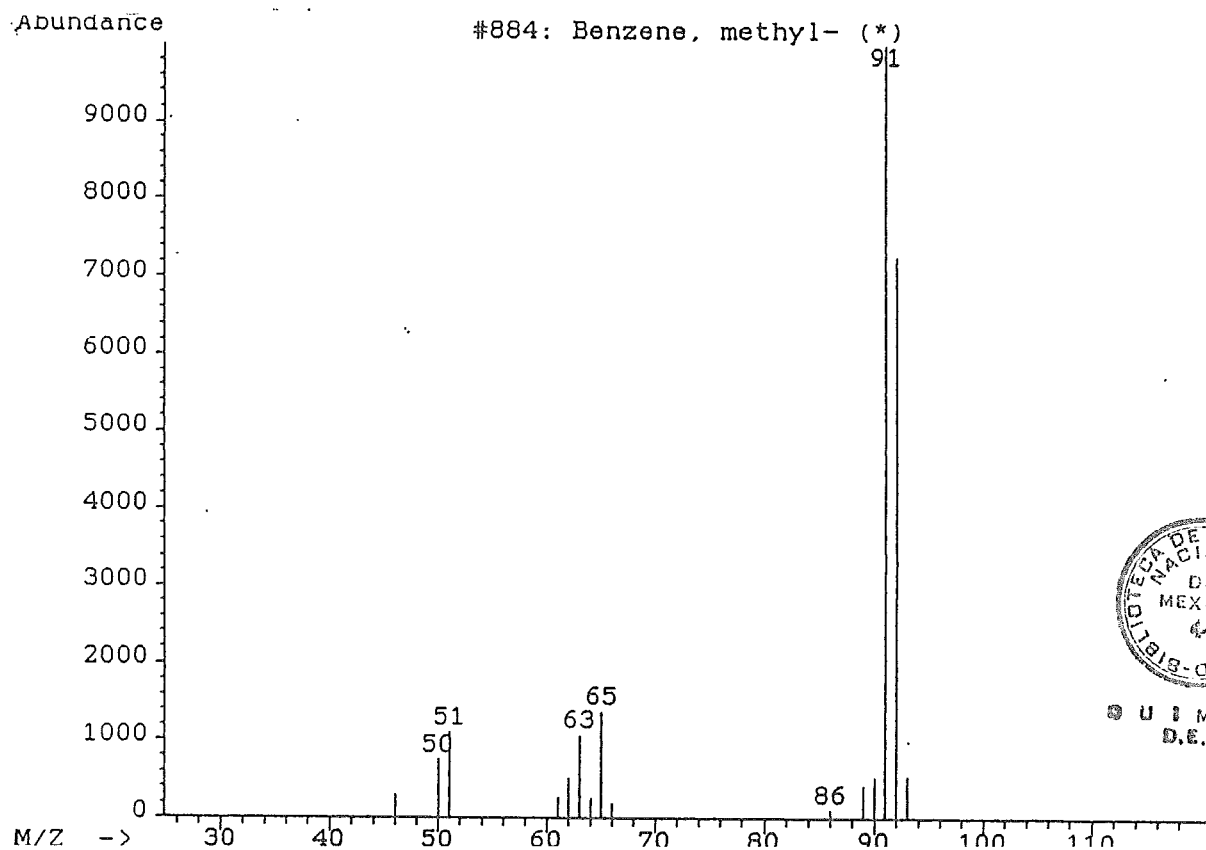
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 94
ID : Cyclohexene



Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 90
ID : Pyridine

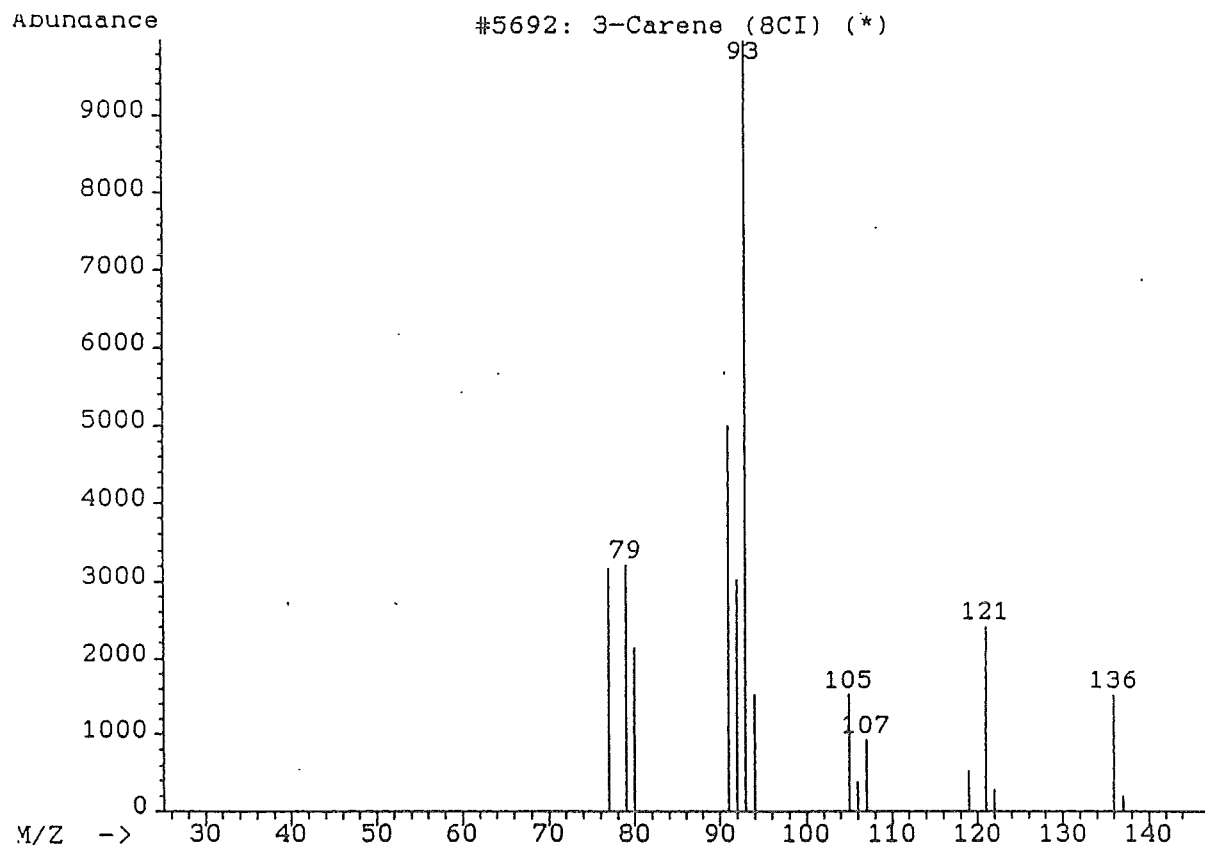


Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 70
ID : Benzene, methyl-



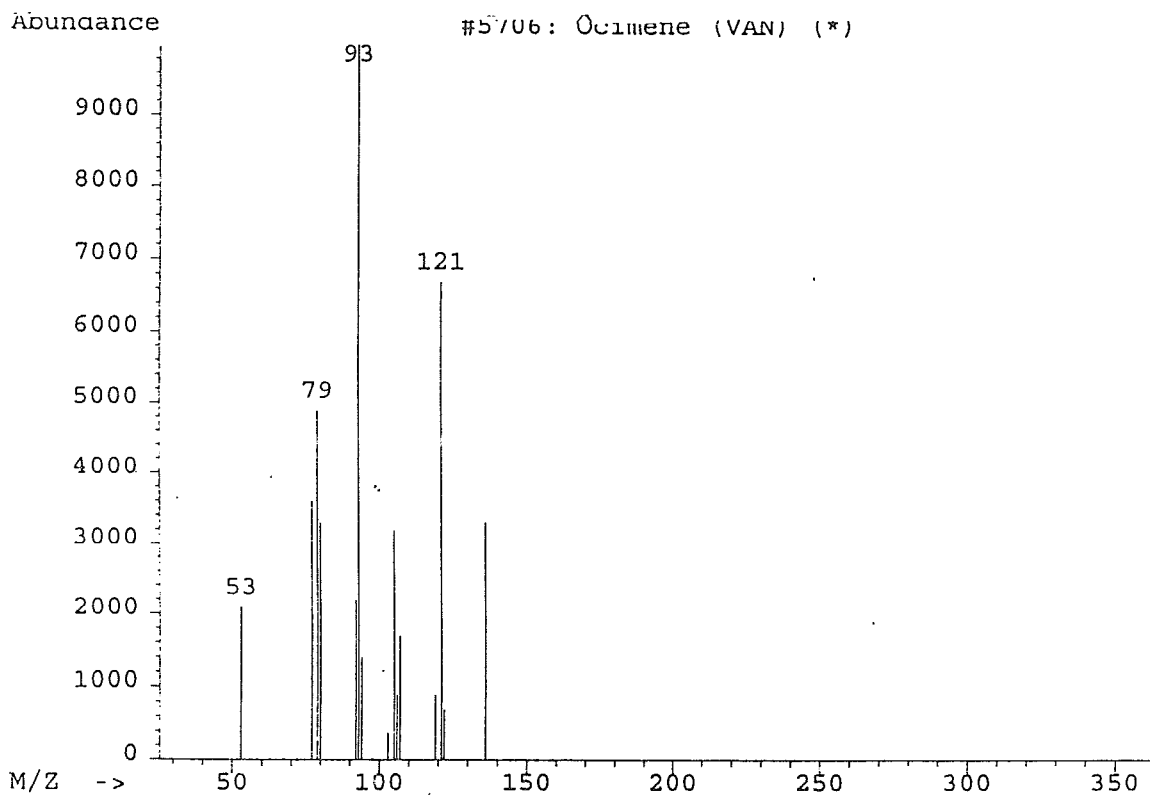
QUIMICA
D.E.P.G.

Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 94
ID : 3-Carene (8CI)

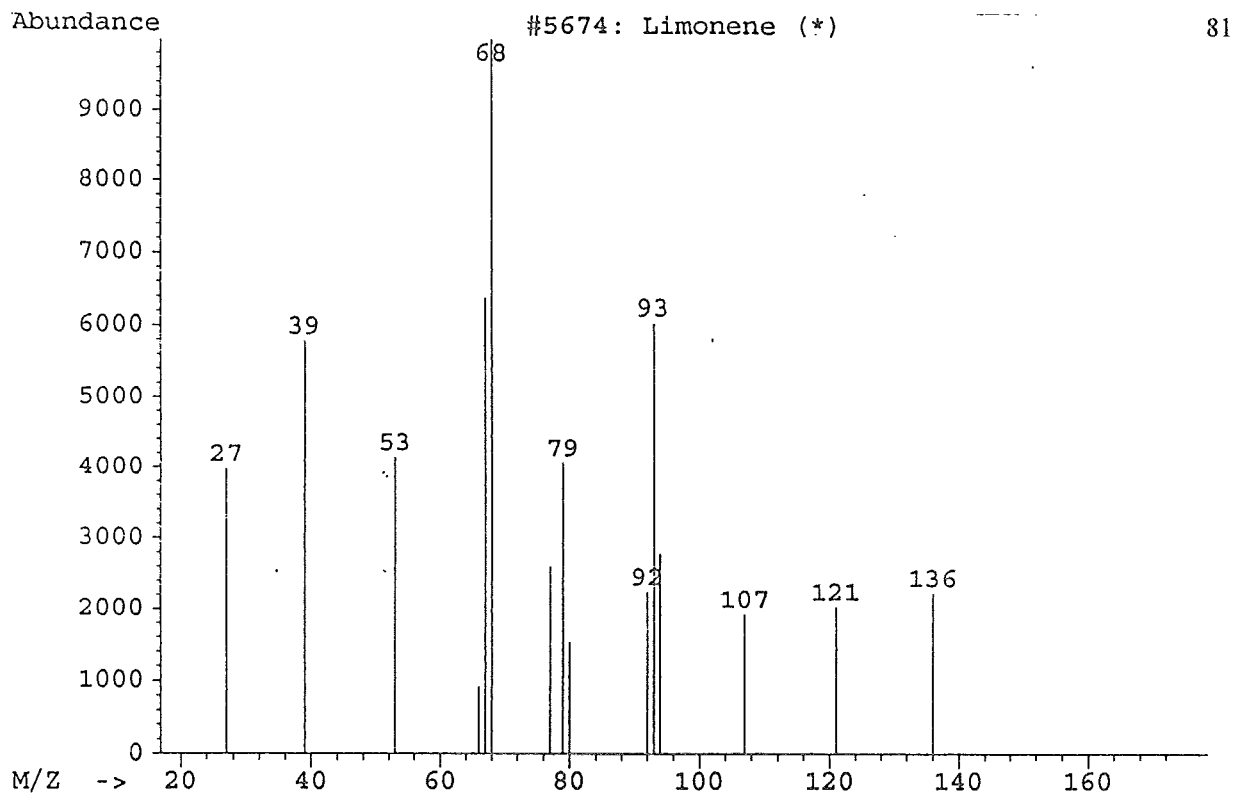


80

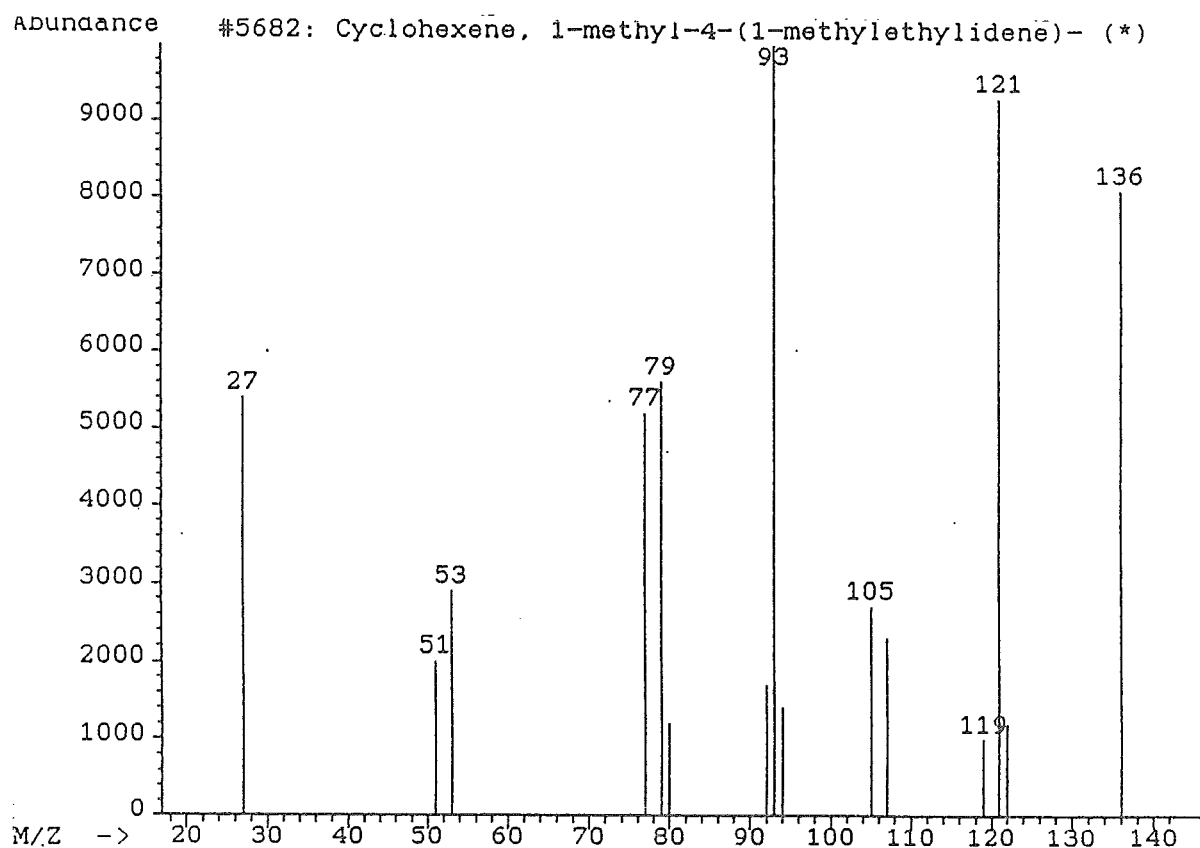
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 87
ID : Ocimene (VAN)



Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 58
ID : Limonene

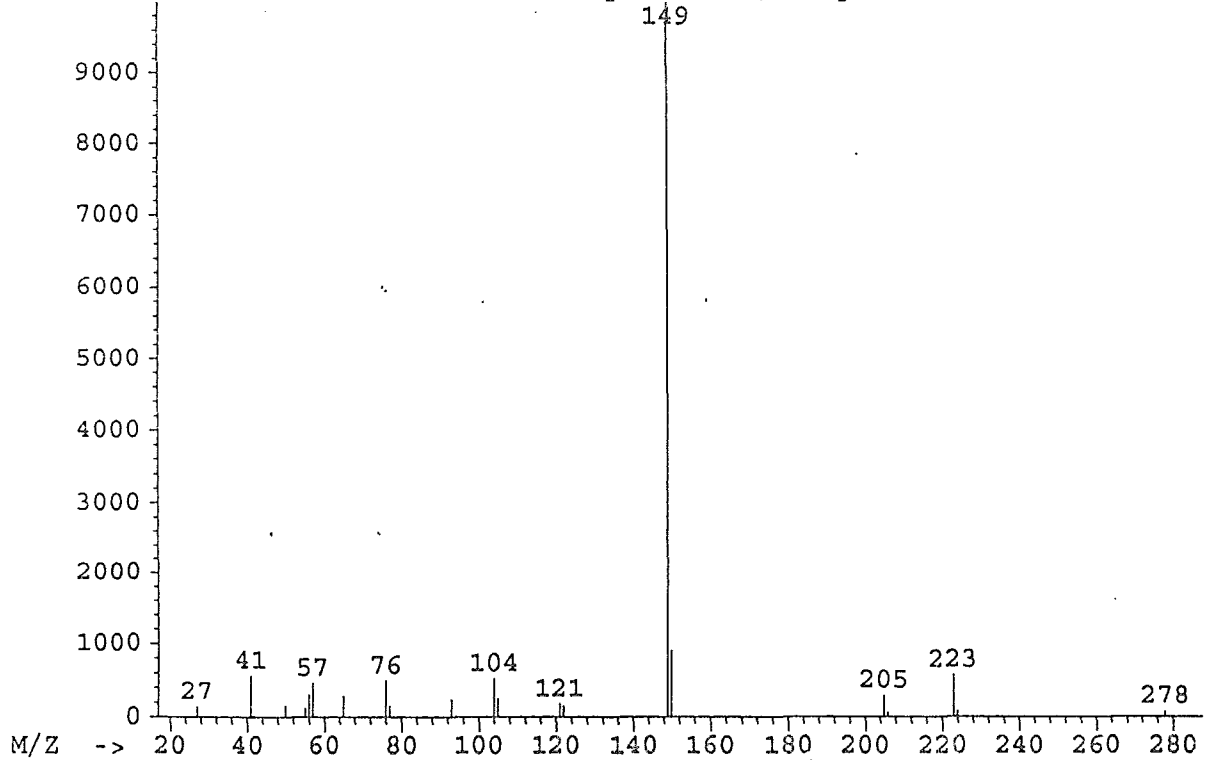


Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 97
ID : Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-



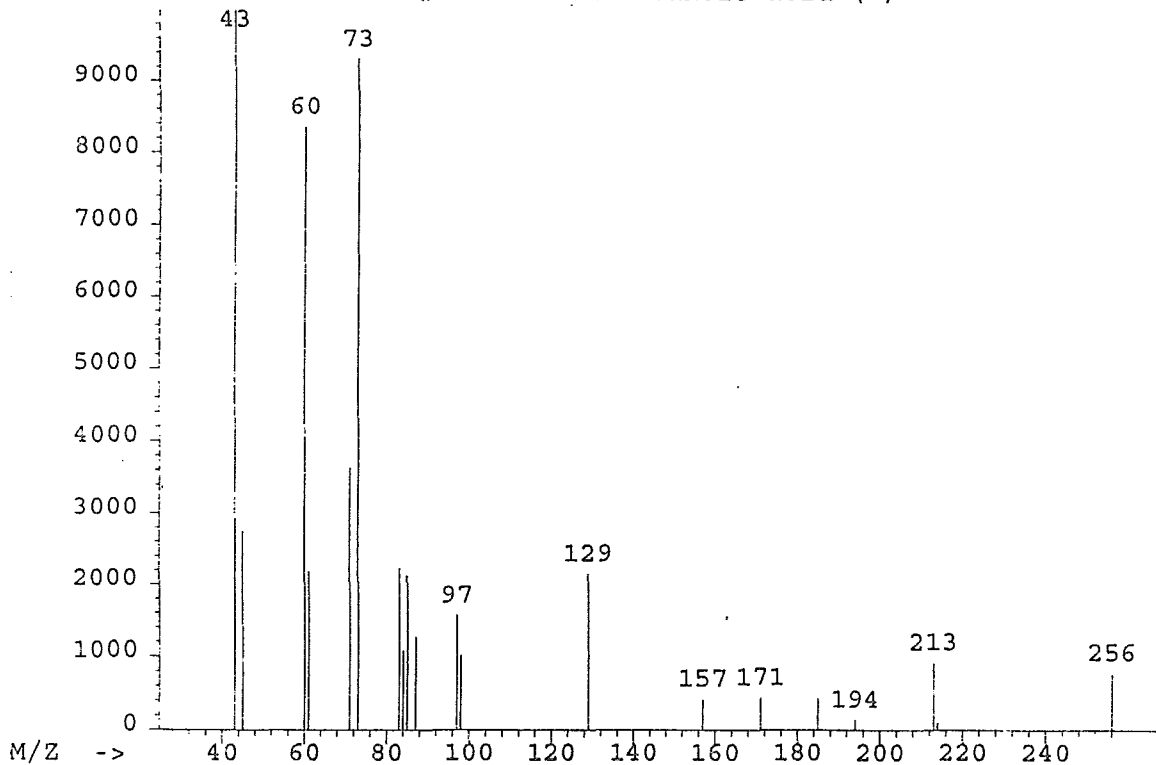
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 90
ID : 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl est

Abundance#31079: 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2- 82

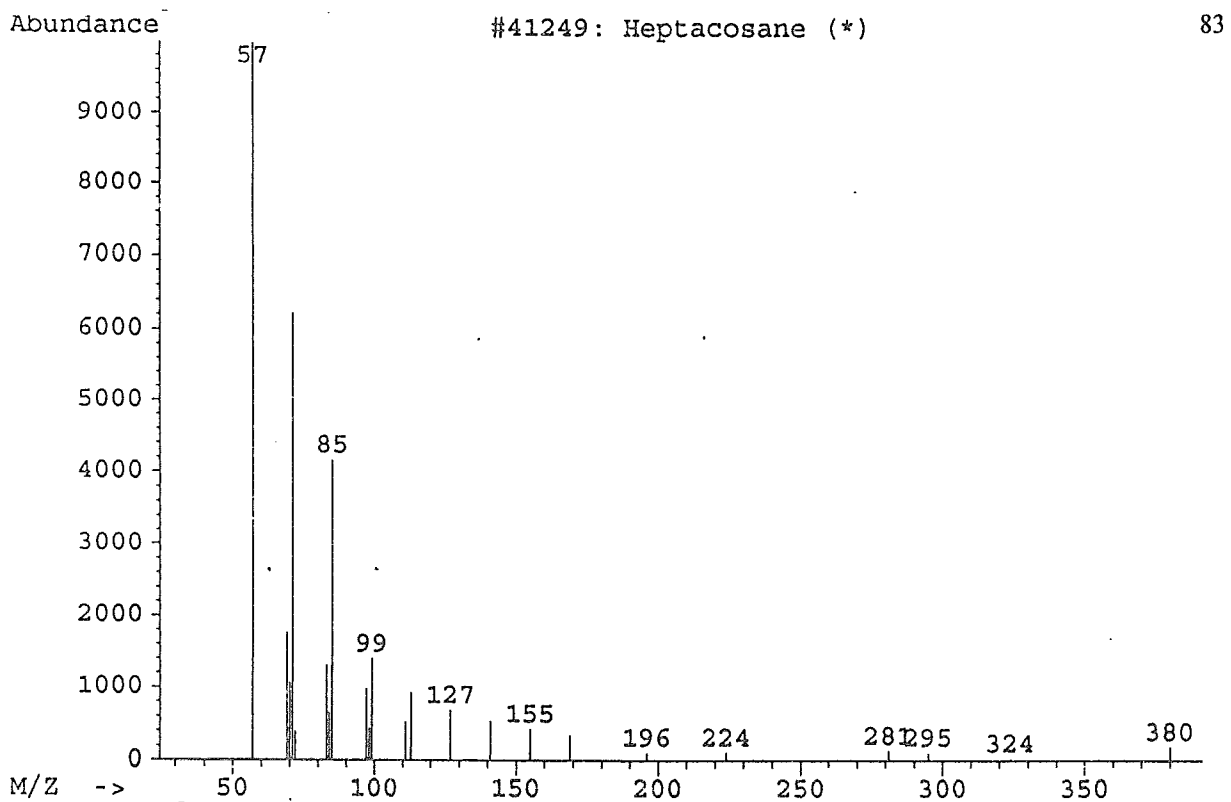


Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 93
ID : Hexadecanoic acid

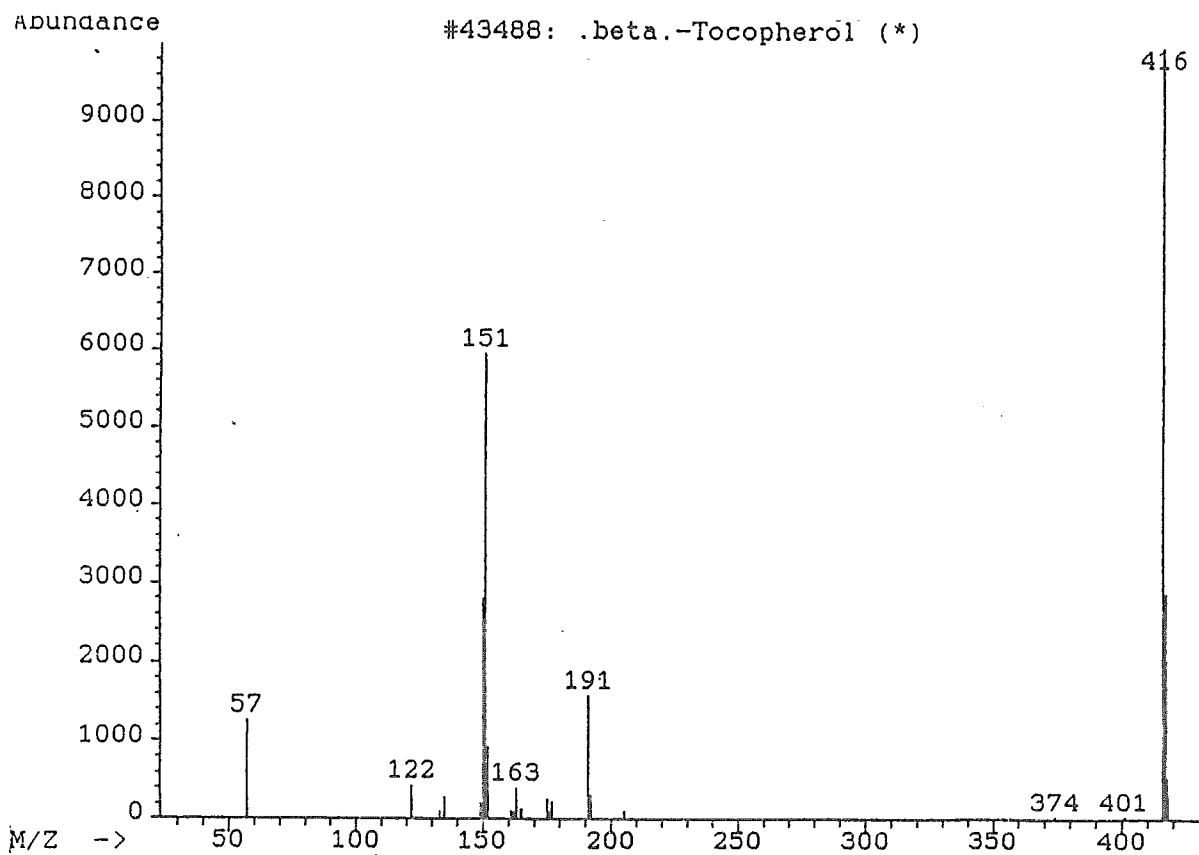
Abundance #28089: Hexadecanoic acid (*)



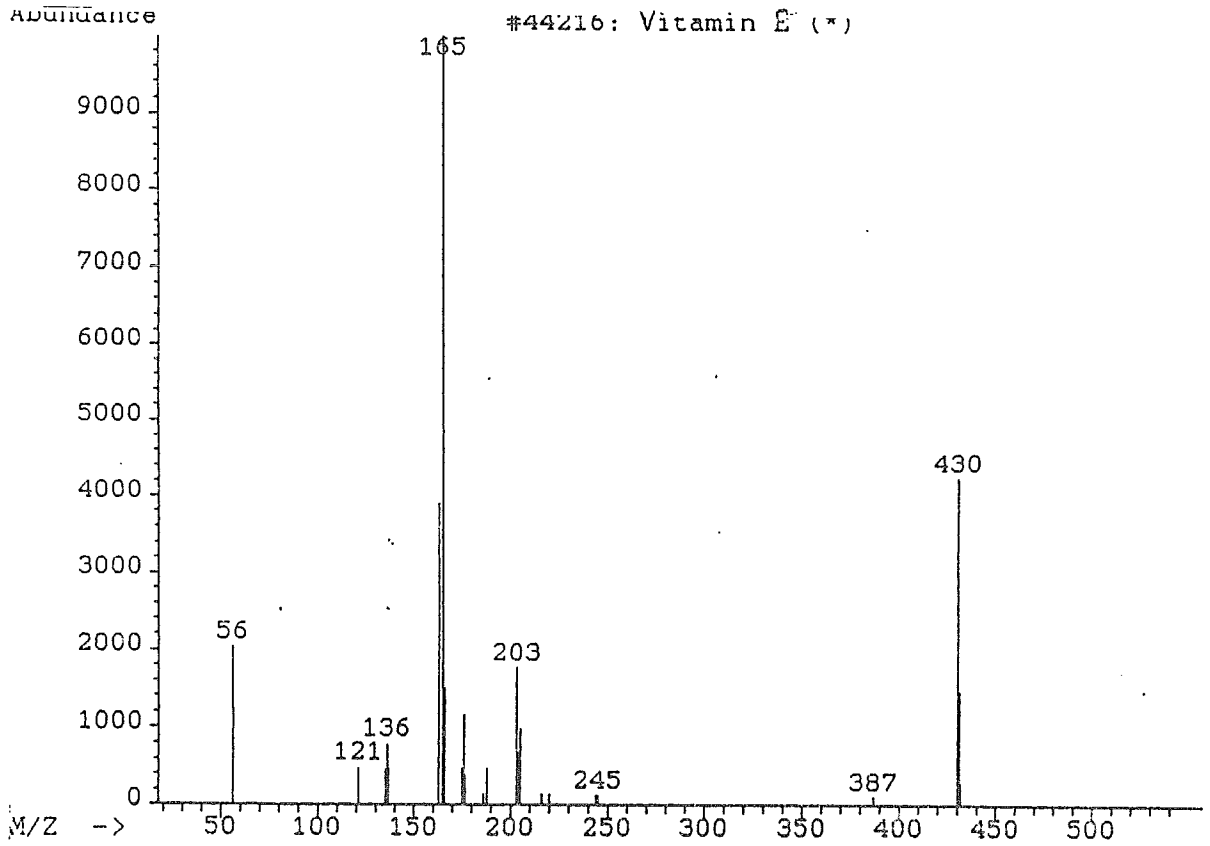
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 98
ID : Heptacosane



Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 93
ID : .beta.-Tocopherol

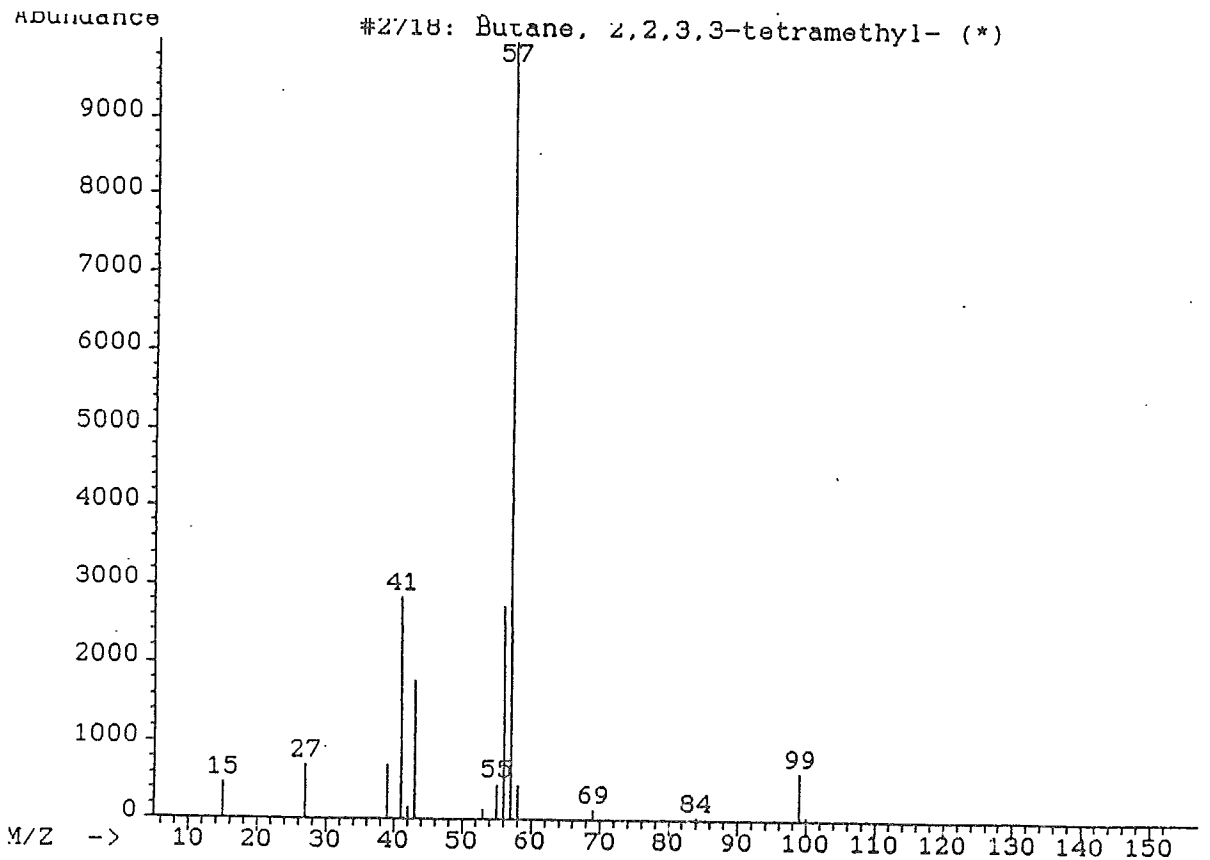


Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 87
ID : Vitamin E

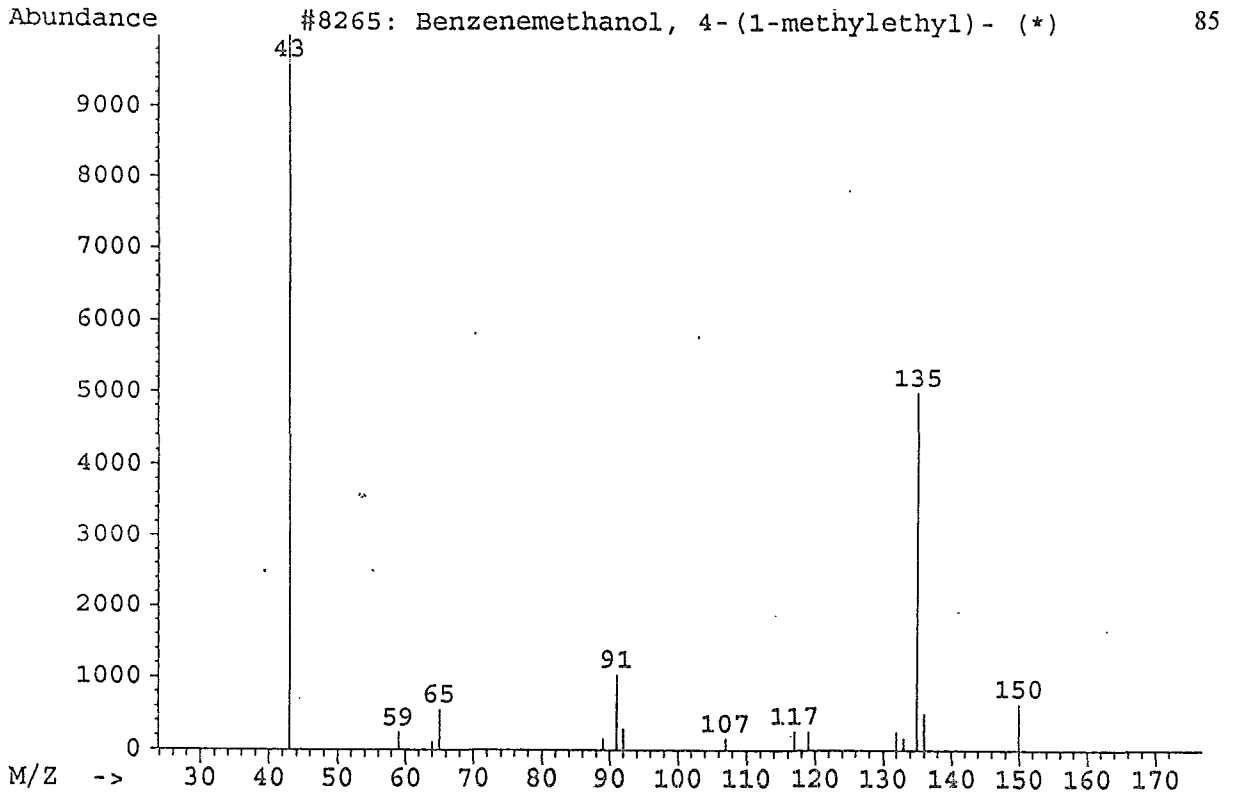


84

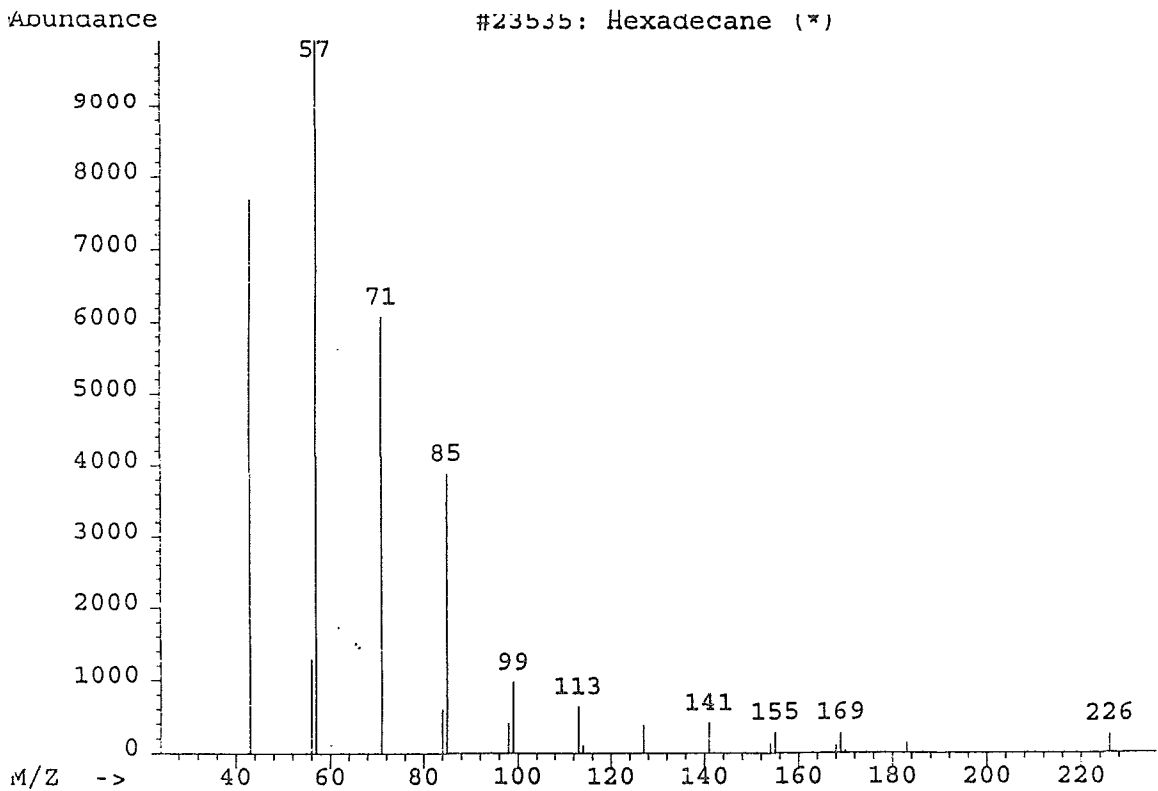
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 50
ID : Butane, 2,2,3,3-tetramethyl-



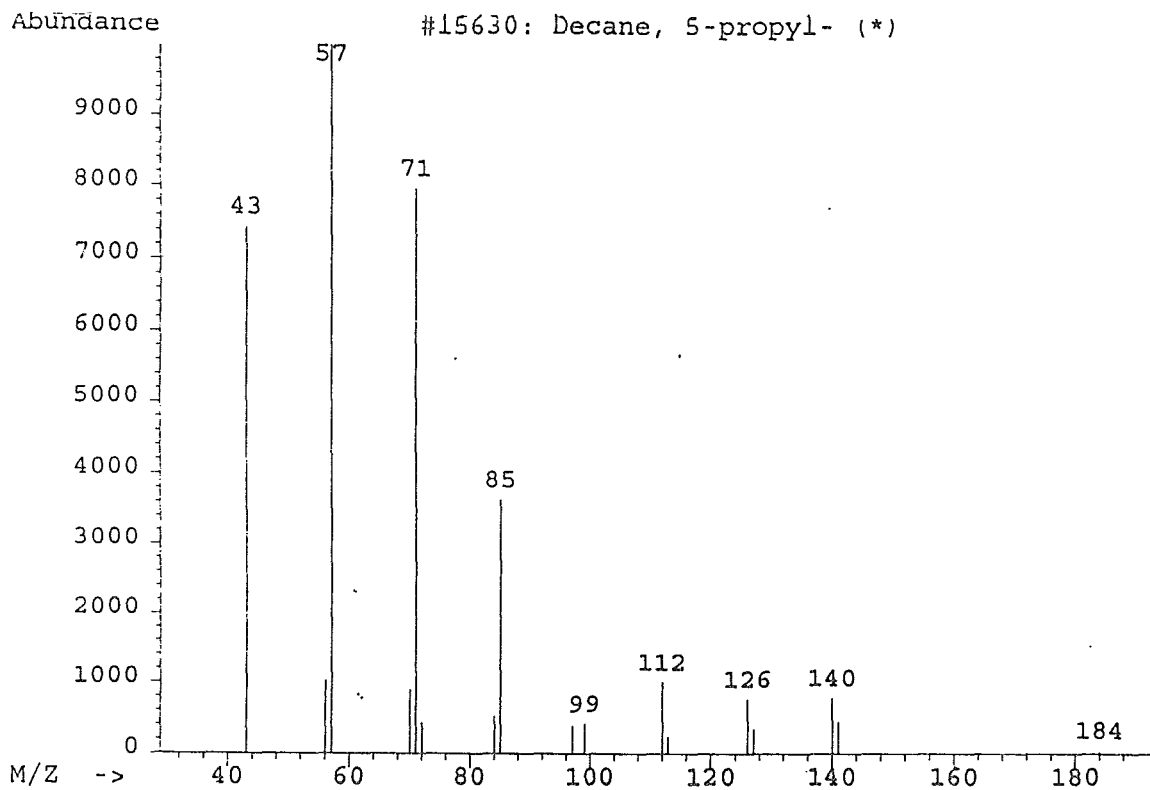
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 90
ID : Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)-



Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 72
ID : Hexadecane

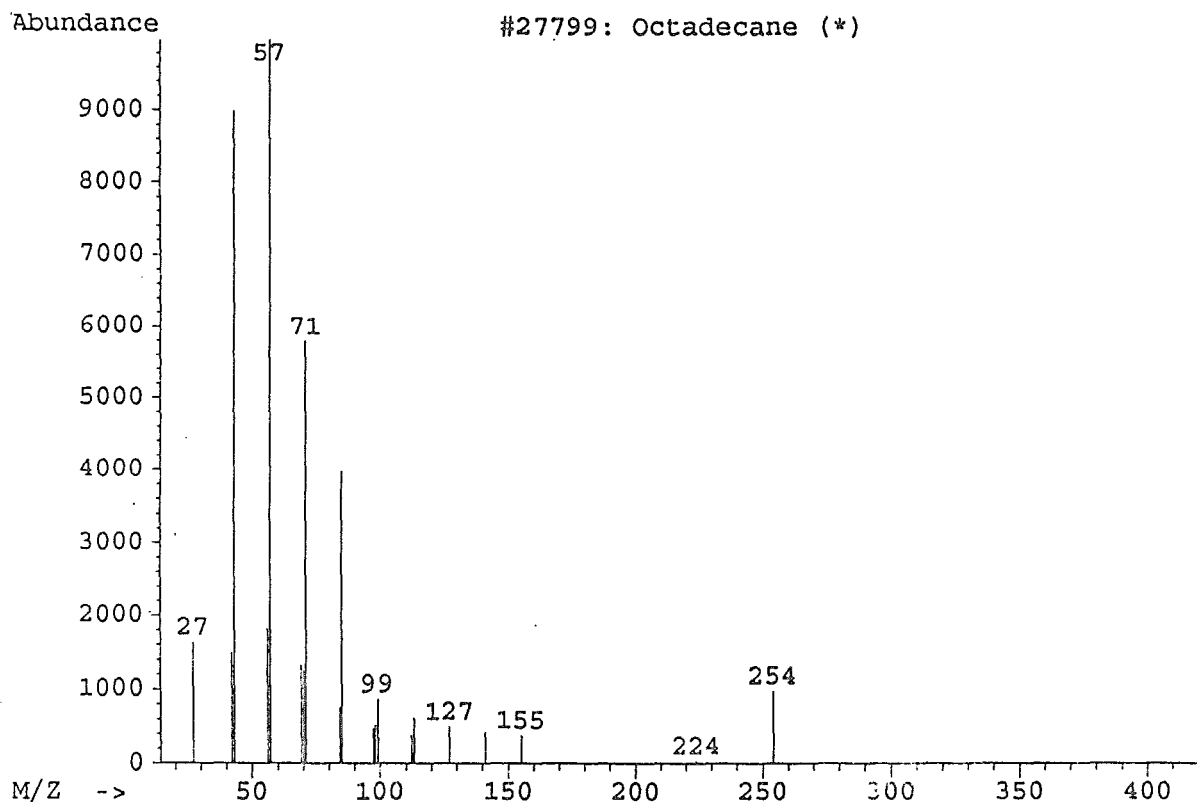


Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 53
ID : Decane, 5-propyl-

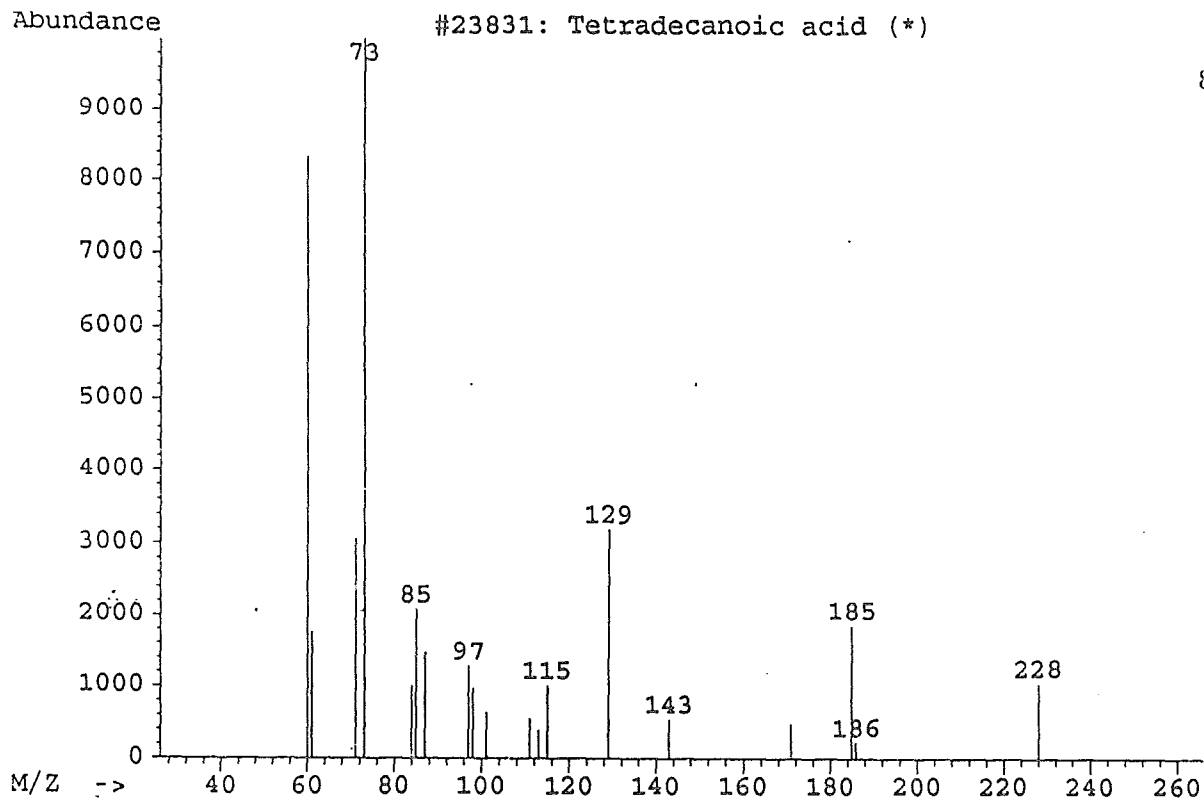


86

Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 83
ID : Octadecane

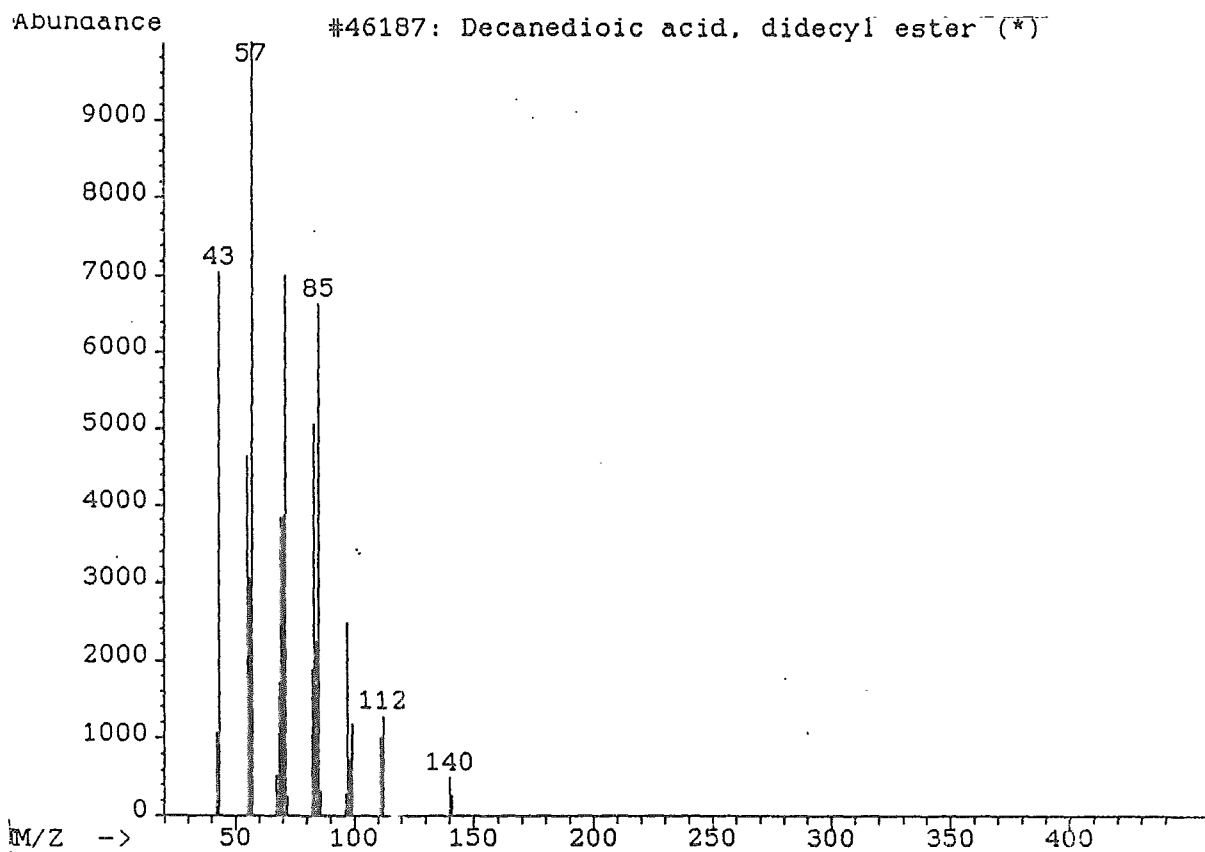


Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 93
ID : Tetradecanoic acid

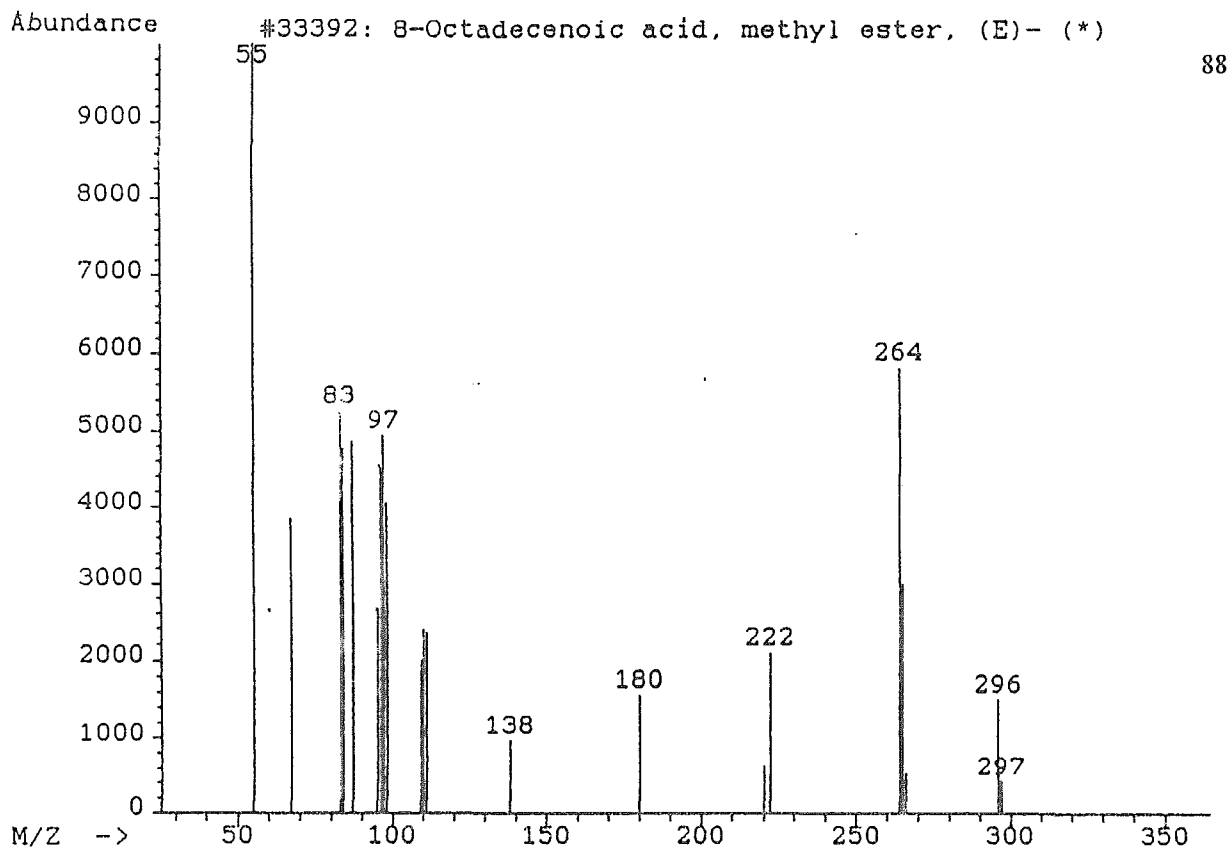


87

Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 94
ID : Decanedioic acid, didecyl ester

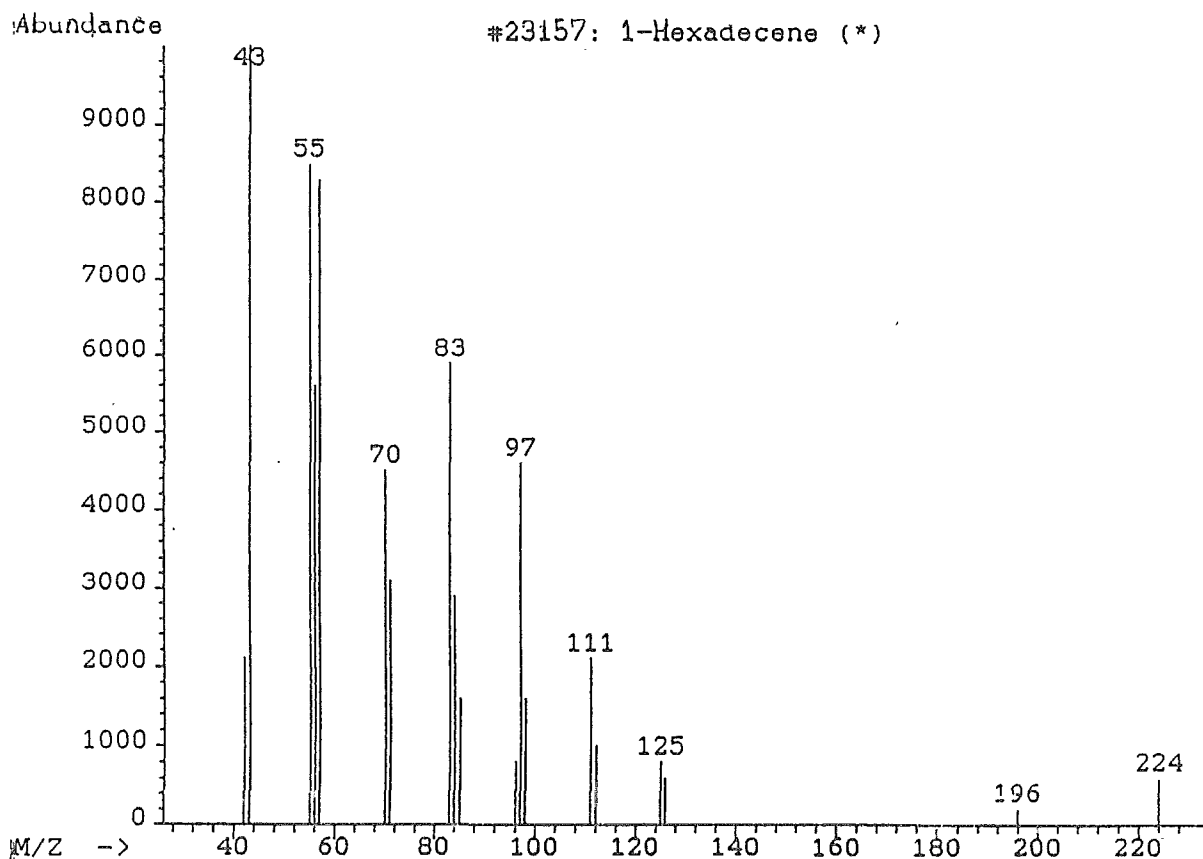


Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 95
ID : 8-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-

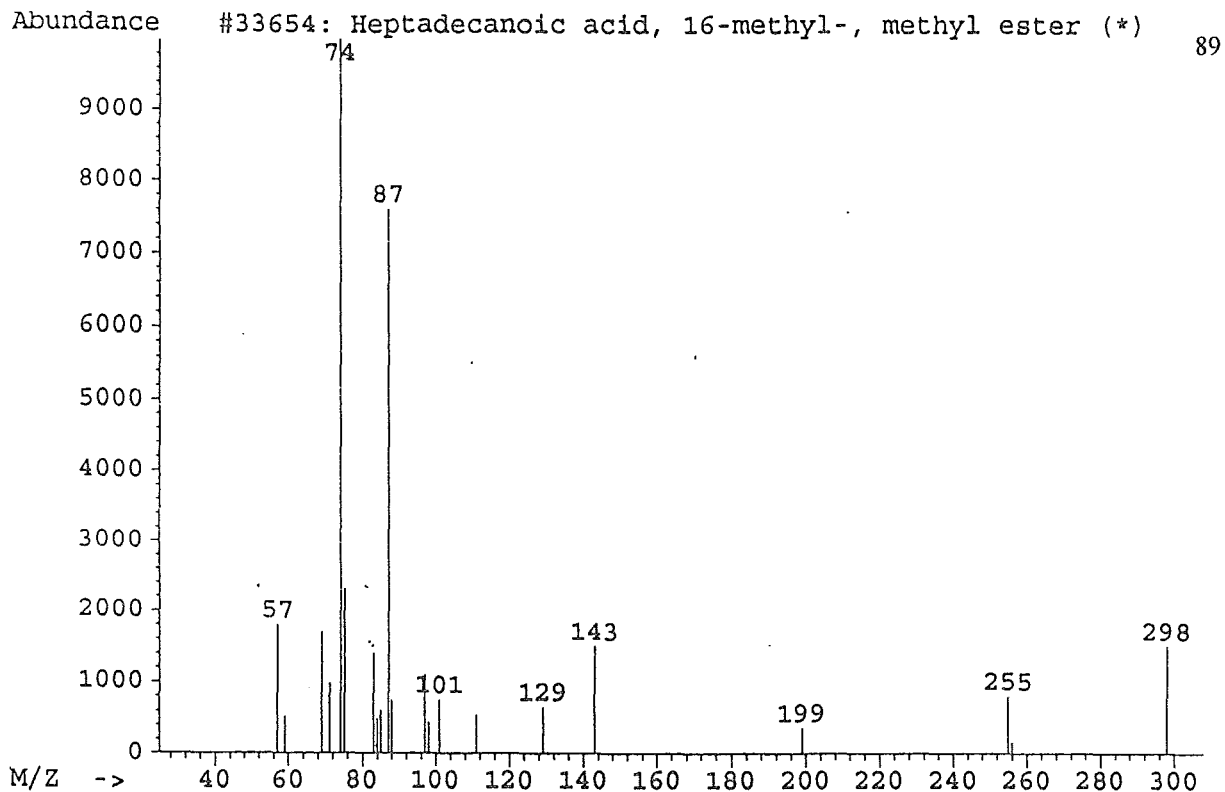


88

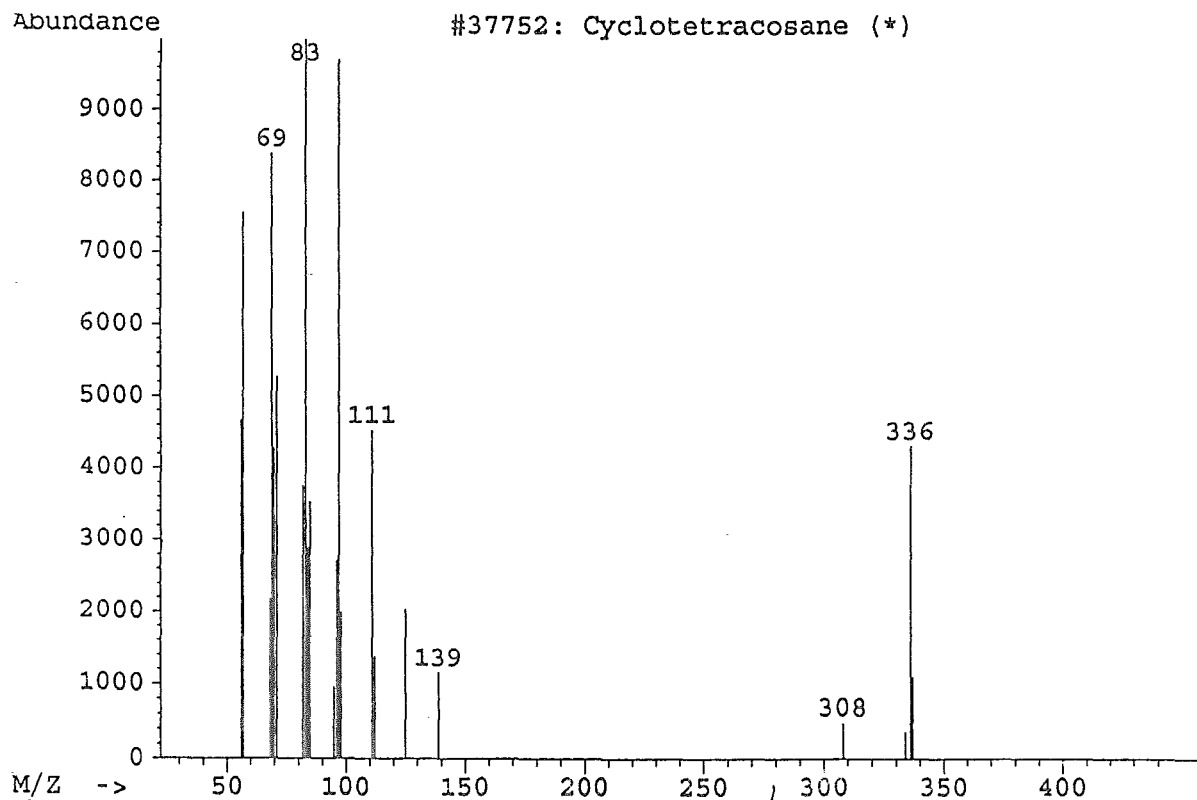
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 98
ID : 1-Hexadecene



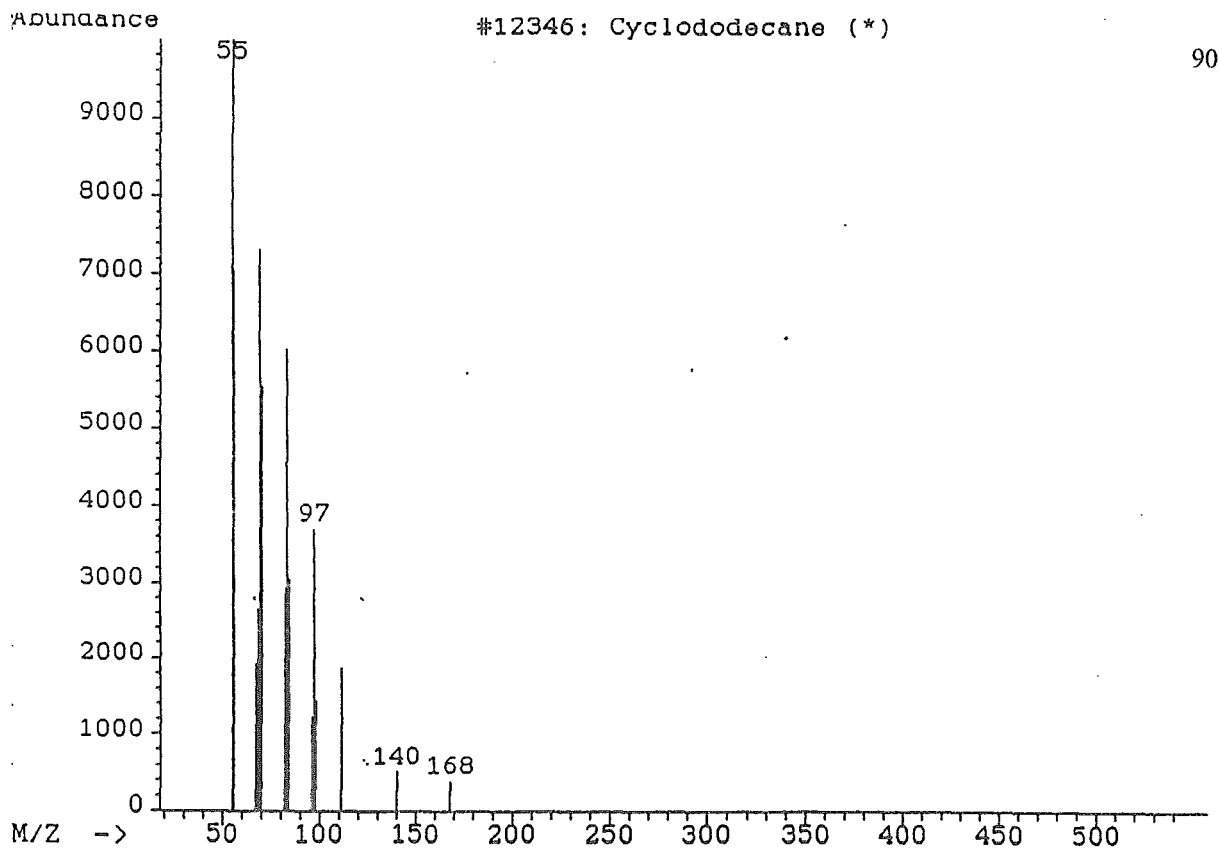
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 80
ID : Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester



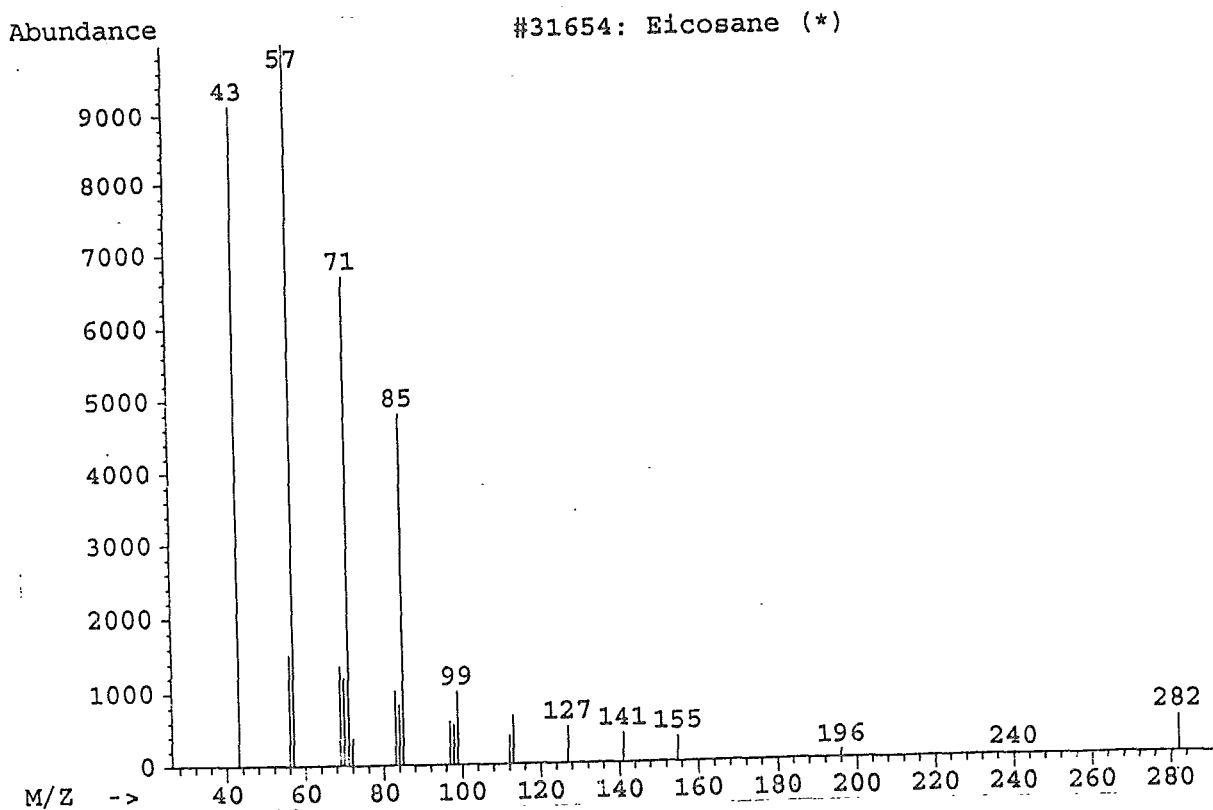
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 99
ID : Cyclotetracosane



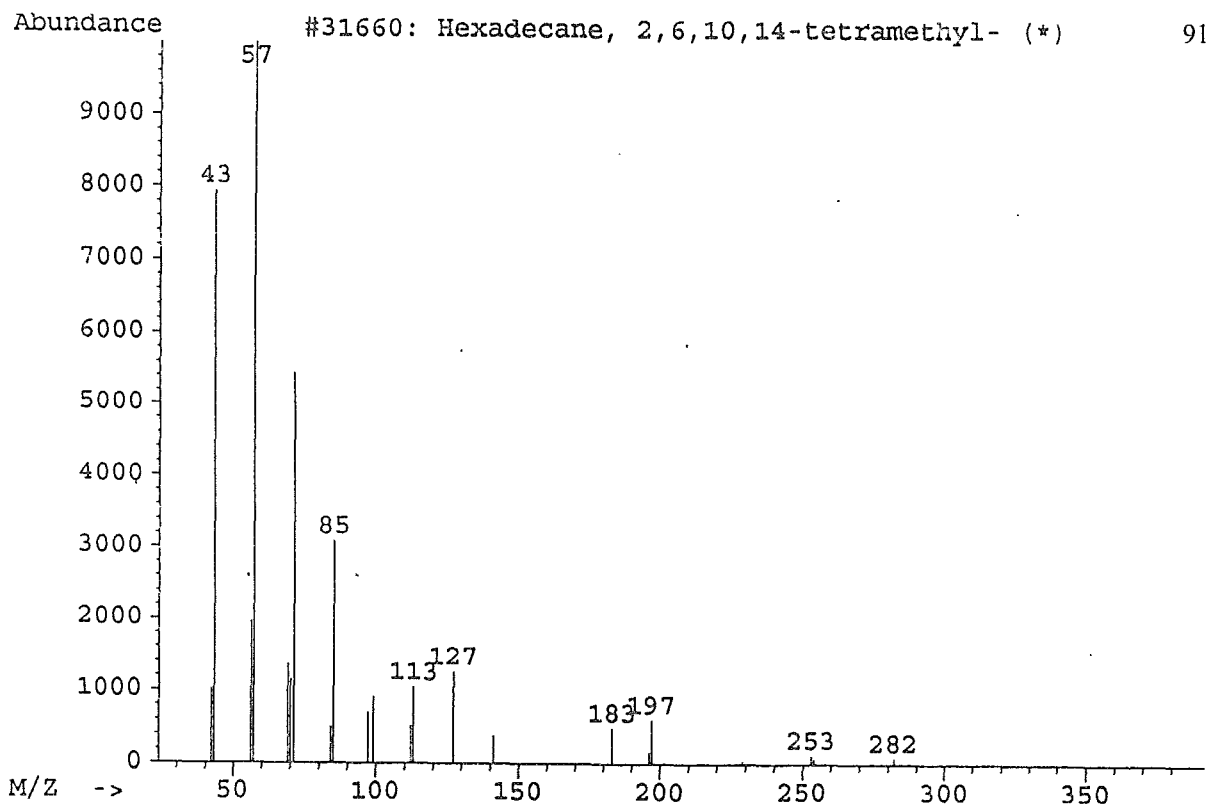
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 76
ID : Cyclododecane



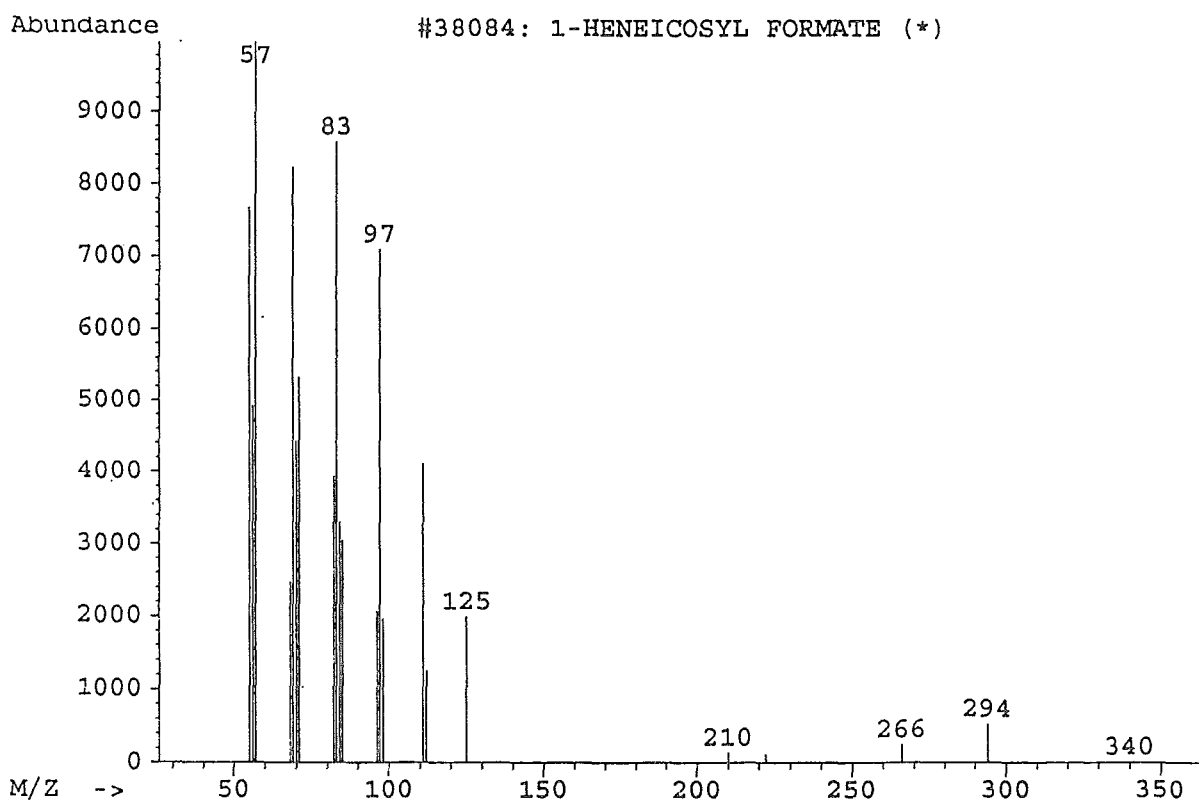
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 80
ID : Eicosane



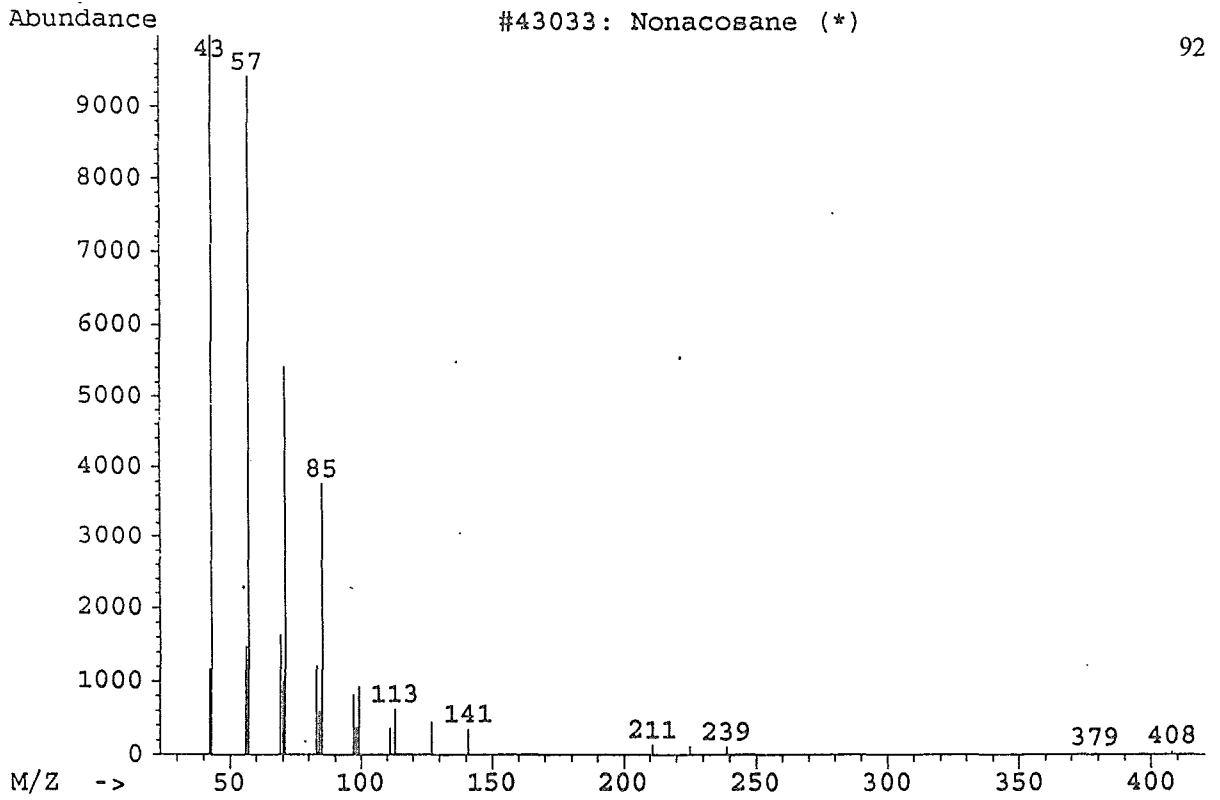
Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 93
ID : Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-



Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 87
ID : 1-HENEICOSYL FORMATE



Library Searched : C:\DATABASE\NBS49K.L
Quality : 94
ID : Nonacosane



BIBLIOGRAFÍA

Banco Nacional de Comercio Exterior, S.N.C. *Anteproyecto para la producción y comercialización de mango fresco*. México, 1988.

Betts, T. J. *J. Chromatogr.* 1988, **449**, 312-316.

Blanch, G. P., Tabera, J., Herraiz, M. and Reglero, G. *J. Chromatogr.* 1993, **628**, 261-268.

Blanch, G. P., Herraiz, M., Reglero, G. and Tabera, J. *J. Chromatogr. A* 1993, **655**, 141-149.

Braun, R.D. *Introduction to instrumental analysis*. Ed. Mc.Graw-Hill. New York, 1987.

Brewster, R.Q., Vanderwerf, C.A. y McEwen, W.E. *Curso práctico de química orgánica*. Ed. Alhambra. Segunda edición. México, 1970.

Bright, F.V. and McNally, M. E. P. (Editors). *Supercritical fluid technology. Theoretical and applied approaches in analytical chemistry*. ACS. Symposium series 488. Georgia, 1991.

Charalambous, G. and Inglett, G. (Editors). *Chemistry of foods and beverages. Recent developments*. Ed. Academic Press. New York, 1982.

Charalambous, G. and Inglett, G. (Editors). *Instrumental analysis of foods*. Ed. Academic Press. New York, 1983.

Coleman, W. M. III. *J. Chromatogr. Sci.* 1992, **30**, 159-163.

Corkill, J. A. and Raymond, K. W. *J. Chem. Educ.* 1994, **71** (8A) 202-203.

- Craveiro, A. A., Andrade, C. H. S., Matos, F. J. A., Alencar, J. W. and Machado, M. I. L. *Rev. Latinoamer. Quím.* 1980, **11**, 129.
- Davies, I. L., Raynor, M. W., Kithinji, J. P., Bartle, K. D., Williams, P. T. and Andrews, G. E. *Anal. Chem.* 1988, **60** (11) 683A-702A.
- Davis, R. and Frearson, M. *Analytical chemistry by open learning*. Ed. John Wiley & Sons. Great Britain, 1987.
- Dean, J.A. *Chemical separation methods*. Chapter 3. Liquid-liquid extraction. Ed. D. Van Nostrand Company. New York, 1969.
- Denney, R.C. *A dictionary of chromatography*. Second edition. Ed. Macmillan. Great Britain, 1982.
- Dirección de programación y evaluación. Dirección general de política agrícola. SARH. *Datos básicos de mango*. México, 1991.
- Dirinck, P., Schreyen, L. and Schamp, N. *J. Agric. Food Chem.* 1977, **25**, 759-763.
- Engel, K. H. and Tressl, R. *J. Agric. Food Chem.* 1983, **31** (4) 796-801.
- Fifield, F.W. and Kealey, D. *Principle and practice of analytical chemistry*. Third edition. Ed. Blackie. Glasgow, 1990.
- Godefroot, M., Sandra, P. and Verzele, M. *J. Chromatogr.* 1981, **203**, 325-335.
- Gordon, M.H. *Principles and applications of gas chromatography in food analysis*. Ed. Ellis Horwood. England, 1990.
- Grob, K. Jr. and Muller, R. *J. Chromatogr.* 1982, **244**, 185-196.
- Guiochon, G. and Guillermin, C.L. *Quantitative gas chromatography for laboratory analyses and on-line process control*. *J. Chromatogr. Library*. Volume 42. Ed. Elsevier. Amsterdam, 1988.
- Hawthorne, S. B., Riekkola, M. L., Serenius, K., Holm, Y., Hiltunen, R. and Hartonen, K. *J. Chromatogr.* 1993, **634**, 297-308.
- Idstein, H. and Schreier, P. *Phytochemistry* 1985, **24** (10) 2313-2316.
- Ioffe, B.V. and Vitenberg, A.G. *Head-space analysis and related methods in gas chromatography*. Ed. John Wiley & Sons. New York, 1984.

- Jennings, W. *J. Chromatogr. Sci.* 1979, **17**, 636-639.
- Karger, B.L., Snyder, L.R. and Horvath, C. *An introduction to separation science*. Ed. John Wiley & Sons. New York, 1973.
- Kirk-Othmer. *Enciclopedia de Tecnología Química*. a) Tomo I pág. 61-82, b) Tomo VII pág. 765-768. Ed. Hispano-Americana. México, 1962.
- Lee, M. L. and Markides, K. E. (Editors). *Analytical supercritical fluid chromatography and extraction*. Chromatography conferences, Provo U. T., 1990.
- MacLeod, A. J. and De Troconis, N. G. *Phytochemistry* 1982, **21** (10) 2523-2526.
- MacLeod, A. J. and Pieris, N. M. *Phytochemistry* 1984, **23** (2) 361-366.
- MacLeod, A. J. and Snyder, C. H. *J. Agric. Food Chem.* 1985, **33**, 380-384.
- MacLeod, A. J., MacLeod, G. and Snyder, C.H. *Phytochemistry* 1988, **27** (7) 2189-2193.
- Mellor, F., Just, U. and Strumpf, Th. *J. Chromatogr. A* 1994, **679**, 147-152.
- Morrison, G.H. and Freiser, H. *Solvent extraction in analytical chemistry*. Chapter 1. Introduction. Ed. John Wiley & Sons. New York, 1966.
- Motto, M. G. *J. Chromatogr. Sci.* 1987, **25**, 56-59.
- Mulcahey, L. J., Hedrick, J. L. and Taylor, L. T. *Anal. Chem.* 1991, **63**, 2225-2232.
- Peters, D. G., Hayes, J. M. and Hieftje, G. M. *Chemical separations and measurements. Theory and practice of analytical chemistry*. Chapter 15. Phase equilibria and extractions. Ed. Saunders Golden Series. Philadelphia, 1974.
- Poole, C.F. and Schuette. S.A. *Contemporary practice of chromatography*. Ed. Elsevier. Amsterdam, 1984.
- Sandra, P. and Bicchi, C. (Editors). *Capillary gas chromatography in essential oil analysis*. Ed. Huethig. Heidelberg, 1987.
- Schnable, J. G., Dissert, B. and Suffet, I. H. *J. Chromatogr.* 1990, **513**, 47-54.
- Schultz, T. H., Flath, R. A., Mon, T. R., Eggling, S. B. and Teranishi, R. *J. Agric. Food Chem.* 1977, **25** (3) 446-449.

Shimoda, M. and Shibamoto, T. *J. Agric. Food Chem.* 1990, **38**, 802-804.

Smith, R. M. and Burford, M.D. *J. Chromatogr.* 1992, **600**, 175-181.

Smith, R. M. and Burford, M.D. *J. Chromatogr. Sci.* 1994, **32**, 265-269.

Vannoort, R. W. Chervet, J.-P., Lingeman, H., de Jong, G. J. and Brinkman, U.A.Th. *J. Chromatogr.* 1990, **505**, 45-77.

Willard, H.H., Merritt, L.L. Jr., Dean, J.A. and Settle, F. A. Jr. *Instrumental methods of analysis*. Ed. D. Van Nostrand Company. New York, 1981.

Williams, A. A. *Chem. Ind.* 1969, 1510-1511.

Wong, D. W. S. *Mechanism and theory in food chemistry*. Ed. Van Nostrand Reinhold. New York, 1989.