

37
28j



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

" DETECCION DE ADULTERACION DEL ACEITE DE ALGODON
INDUSTRIAL POR METODO CROMATOGRAFICO "



T E S I S

Que para obtener el título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
p r e s e n t a

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

RICARDO ISLAS MARTINEZ



México, D. F.

1988



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 está 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.

CONTENIDO

CAPITULO I INTRODUCCION Y OBJETIVO

CAPITULO II GENERALIDADES

- 2.1 Naturaleza de las grasas y aceites
- 2.2 Clasificación de los lípidos
- 2.3 Propiedades físicas de los ácidos grasos y sus ésteres
- 2.4 Química general y reacciones de los ácidos grasos y sus ésteres
- 2.5 Análisis de grasas y aceites
- 2.6 Procesamiento de grasas y aceites
- 2.7 Generalidades sobre el aceite de algodón
- 2.8 Generalidades sobre el aceite de soya
- 2.9 Normalización de los aceites de algodón y soya
- 2.10 Cromatografía de gases
- 2.11 Análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases

CAPITULO III PARTE EXPERIMENTAL

- 3.1 Selección del método y condiciones
- 3.2 Equipo utilizado
- 3.3 Selección de los estándares, muestras de referencia y muestras problema
- 3.4 Procedimiento

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Estándares

4.2 Muestras de referencia

4.3 Muestras problema

CAPITULO V CONCLUSIONES

ANEXO: "PREPARACION Y PREACONDICIONAMIENTO DE LA COLUMNA"

BIBLIOGRAFIA

CAPITULO I INTRODUCCION Y OBJETIVO

1.1 Introducción y objetivo.

Para obtener un producto de calidad es indispensable el garantizar, en primera instancia, la calidad de los ingredientes o materias primas, de aquí que se deben establecer métodos de análisis que verifiquen que éstos cumplen con las especificaciones establecidas, es decir, que no existan adulteraciones o desviaciones significativas que vayan en deterioro de la calidad del producto a elaborar.

Las determinaciones rutinarias que más se emplean en el análisis de aceites comestibles son: el índice de yodo, el índice de saponificación, el punto de fusión, el índice de solidificación de los ácidos grasos, la prueba fría, el índice de refracción y el % de acidez. -- La información que proporcionan estas determinaciones es limitada, -- cuando el objetivo del análisis es el evaluar la pureza o posible -- adulteración que contenga un aceite en particular.

El aceite es el ingrediente mayoritario en la composición de las mayonesas; por lo cual las características de éste, definen en gran medida las características de la mayonesa.

Se sabe que en una planta elaboradora de mayonesa ⁽⁸⁾, en donde se utiliza aceite de algodón "puro", se ha detectado últimamente mediante análisis sensoriales, sabores extraños en el producto relacionando dichos sabores con los desarrollados por la soya. Asimismo, se ha detectado una disminución en la vida útil del producto y un incremento en los valores del índice de yodo.

Lo anterior, hace suponer que el aceite de algodón no es puro y que posiblemente está adulterado con aceite de soya.

El presente estudio surge de la necesidad de resolver esta problemática, planteándose el siguiente:

Objetivo:

Determinar si existe adulteración del aceite de algodón con aceite de soya, mediante el análisis de la composición de los ácidos grasos, utilizando para tal fin un método cromatográfico.

CAPITULO 11 GENERALIDADES

2.1 Naturaleza de las grasas y aceites.

El término lípido es utilizado para describir un gran número de sustancias que son solubles en disolventes orgánicos y generalmente insolubles en agua; sin embargo, algunos compuestos clasificados como tal, son solubles en agua como es el caso de la lecitina.⁽¹³⁾

Los lípidos son un grupo de compuestos de estructura heterogénea, muy abundantes en la naturaleza, en donde las grasas y los aceites son los representantes más importantes; están formados por carbono, hidrógeno, oxígeno y en ciertos casos nitrógeno y fósforo. Existen diferentes familias de lípidos pero las propiedades distintivas de todos ellos se deriva de la naturaleza hidrocarbonada que representa la porción principal de su estructura.^(10,13) Estas sustancias desempeñan diversas funciones biológicas importantes como:

1) Componentes estructurales de las membranas, 2) Transporte y almacenamiento de combustible catabólico, 3) Cubierta protectora de muchos organismos y 4) Componente de la superficie celular relacionados con el reconocimiento de las células y con la inmunidad de los tejidos. Algunas sustancias clasificadas como lípidos poseen una intensa actividad biológica, como lo es el caso de algunas vitaminas y hormonas.⁽²⁴⁾

Aunque constituyen una clase bien definida de biomoléculas, con frecuencia se presentan combinadas con otras a través de distintos enlaces, constituyendo compuestos híbridos como son los glucolípidos, que contienen lípidos y glúcidos. Y las lipoproteínas formadas por lípidos y proteínas. En estos compuestos las propiedades físicas y químicas están fusionadas para cumplir tareas biológicas especiali-

zadas. En el caso de las lipoproteínas se presentan en dos grupos principales: A) de transporte y B) de sistema de membrana: en éstas los lípidos y las proteínas no están unidos covalentemente pero mantienen su unión por interacciones hidrofóbicas entre las porciones no polares del lípido y los componentes de la proteína.

En el área de los alimentos se tiene un especial interés por dos clases principales de lípidos: las grasas y los aceites, constituidos por ácidos grasos unidos por enlace éster a una molécula de glicerol, formando triacilglicéridos principalmente. Por conveniencia se ha establecido que la diferencia entre una grasa y un aceite es que el primero es sólido a temperatura ambiente mientras que el segundo es líquido, definición que no es totalmente correcta y tiende a desaparecer. Actualmente se utiliza el término grasa para referirse a los triacilglicéridos sin importar su estado físico a temperatura ambiente, siendo los aceites la forma líquida de estos.⁽²⁴⁾

Las grasas y los aceites son nutrimentos fundamentales en la dieta de los animales, ya que representa la forma más concentrada de calorías en los alimentos.⁽¹³⁾ Además de su valor nutritivo, contribuyen en muchos aspectos a su textura, sirven como vehículo de las vitaminas liposolubles e influyen en el sabor y aroma de varios alimentos. Las fuentes principales de grasas y aceites son las semillas oleaginosas y los tejidos adiposos de los animales.

2.2 Clasificación de los lípidos.

A) Con base en su estructura⁽⁶⁾:

1.- Lípidos simples. Esteres de ácidos grasos y alcoholes:

i) Grasas y aceites. Esteres de glicerol con ácidos monocarboxilados.

ii) Ceras. Esteres de alcoholes monohidroxilados y ácidos grasos.

II.- Lípidos compuestos. Lípidos simples conjugados con moléculas no lípidas:

i) Fosfolípidos. Esteres que contienen ácido fosfórico en lugar de un ácido graso, combinadas con una base nitrogenada.

ii) Glucolípidos. Compuestos de carbohidratos, ácidos grasos y esfingosinol, llamados también cerebrósidos.

iii) Lipoproteínas. Compuestos de lípidos y proteínas.

III.- Compuestos asociados.

i) Ácidos grasos libres (derivados de los lípidos simples).

ii) Pigmentos.

iii) Vitaminas liposolubles.

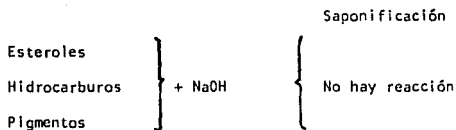
iv) Esteroles.

v) Hidrocarburos.

B) Clasificación de los lípidos en saponificables y no saponificables, de acuerdo a los productos de reacción con NaOH. (24)

Saponificación

Grasas	} + NaOH	Sales de Na de ácidos grasos + glicerol
Ceras		Sales de Na de ácidos grasos + glicerol
Fosfoglicéridos		Sales de Na de ácidos grasos + glicerol + Na_3PO_4 + amina



2.3 Propiedades físicas de los ácidos grasos y sus ésteres. (19)

Los ácidos grasos que contienen hasta 4 átomos de carbono son completamente miscibles en agua, a medida que crece el número de carbonos la solubilidad decrece rápidamente. Los ácidos que contienen 10 ó más átomos de carbono son esencialmente insolubles en agua.

(cuadro No.1).

Los metil ésteres de los ácidos grasos son generalmente menos solubles en agua (cuadro No.2) que los respectivos ácidos. Así mismo decrece su solubilidad con el incremento del número de carbonos, el mismo comportamiento se presenta en la solubilidad de los ácidos grasos o sus ésteres en metanol y acetona.

El punto más importante a observar es la diferencia en la solubilidad entre ácidos saturados e insaturados o sus ésteres en acetona y metanol. En general, a cualquier temperatura particular, un ácido con 18 átomos de carbono o su éster que contenga una doble ligadura tendrá una solubilidad 100 veces mayor que su compuesto saturado equivalente. Un ácido o su éster de 18 átomos de carbono que contenga dos dobles ligaduras tendrá una solubilidad 100 veces mayor que su equivalente con una doble ligadura. Una situación similar se presenta para los ácidos o ésteres que contienen tres dobles ligaduras. Esta característica de solubilidad forma la base para la purifica-

Cuadro No. 1 "Solubilidad en agua de algunos ácidos grasos"

ACIDO	SOLUBILIDAD (g/100 g DE AGUA A 20°C)
Fórmico	Miscible en todas proporciones
Acético	Miscible en todas proporciones
Propanoico	Miscible en todas proporciones
i-Butanoico	Miscible en todas proporciones
iso-Butírico	20.00
n-Valérico	4.00
Caproico	1.08
Octanoico	0.07
Cáprico	0.01
Láurico	Insoluble

fte: Preston Seaton and Pankratz E. Ronald. "A guide to the analysis of fatty acids and their esters by chromatography".

Cuadro No. 2 "Solubilidad de algunos ésteres de ácidos grasos en agua"

Ester de ácido graso	Solubilidad (g/100 g de agua a 20-22°C)
Metil formato	30.0
Metil acetato	25-32
Metil propanato	5.0
Metil butirato	1.7
Etil formato	10.0
Etil acetato	8.5
Etil propanato	1.7
Propil formato	2.1
Propil acetato	1.9
Propil butirato	0.2
iso-propil acetato	3.2

fte: Preston Seaton and Pankratz E. Ronald. "A guide to the analysis of fatty acids and their esters by chromatography".

ción de muchos de los ácidos y sus ésteres.

Los ácidos grasos saturados presentan un incremento en el punto de fusión a medida que aumenta la longitud de la cadena (cuadro No.3), en los compuestos insaturados su punto de fusión disminuye a medida que aumentan las insaturaciones.

Una característica importante de los ácidos grasos es que se presentan en la naturaleza en la forma *cis*; sus homólogos *trans*, que se obtienen de las reacciones de isomerización que se llevan a cabo durante los procesos de refinación de los aceites, tienen un punto de fusión más elevado, tal es el caso del ácido oleico con p.f. = 14°C y su homólogo *trans* el ácido elaidico con p.f. = 44°C.

La mayoría de los ácidos grasos son lineales, monocarboxilados, varían en la longitud de la cadena y su grado de insaturación y contienen normalmente un número par de átomos de carbono ya que su metabolismo y aprovechamiento biológico se lleva a cabo a través de moléculas de carbonos pares, como lo es la acetil coenzima A. (6)

2.4 Química general y reacciones de los ácidos grasos y sus ésteres.

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxilados, de fórmula general RCOOH. Se encuentran en forma de ácidos grasos libres, como ésteres de glicerol llamados glicéridos y también se encuentran como fosfolípidos (combinación de glicerol, ácidos grasos, ácido fosfórico y una base nitrogenada). El término ácido graso incluye a los ácidos monocarboxílicos con cadena saturada o con insaturaciones:



Fórmula de un ácido graso

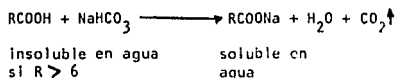
Cuadro No. 3 "Puntos de fusión de los ácidos grasos más comunes"

SATURADOS		
CADENA	NOMBRE	PUNTO DE FUSION °C
C12:0	Láurico	44.2
C14:0	Mirístico	53.9
C16:0	Palmítico	63.1
C18:0	Esteárico	69.6
C20:0	Araquídico	76.5
C24:0	Lignocérico	86.0
INSATURADOS		
C16:1	Palmítoleico	-0.5
C18:1	Oleico	13.6
C18:2	Linoléico	-5.0
C18:3	Linoléico	-11.0
C20:4	Araquidónico	-49.5

fte: Badui Dergal S. "Química de los alimentos" .

Los ácidos grasos se comportan como ácidos débiles debido al grupo carboxilo; dan reacciones con los indicadores.

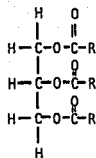
Las sales metálicas de éstos ácidos se producen por la adición de soluciones alcalinas, particularmente NaOH y KOH, las cuales son llamadas jabones que son solubles en agua. La sal de calcio y las de los metales pesados (hierro, plata, cobre, etc.) son insolubles en agua. Los ácidos carboxílicos de alto peso molecular son insolubles en agua pero se disuelven en frío en soluciones acuosas diluidas de hidróxido de sodio. La solución acuosa de bicarbonato de sodio puede usarse para determinar la presencia de ácidos por la formación de $\text{CO}_2 \uparrow$:



Los ésteres son sustancias producidas por la reacción de un alcohol y un ácido. Los ésteres insaturados pueden ser transformados a los correspondientes ésteres saturados catalíticamente.

Las reacciones de oxidación de ácidos grasos y sus ésteres son importantes porque causan rompimiento de la cadena en los puntos de insaturación. Los fragmentos resultantes de la oxidación pueden ser analizados por cromatografía de gases dando información sobre la posición de las dobles ligaduras.

Las grasas y aceites son ésteres de glicerol y ácidos grasos de cadena larga, los cuales son conocidos como glicéridos. Los triglicéridos contienen alrededor de 95 % de ácidos grasos y 5 % de glicerol. Su fórmula es la siguiente:



La hidrólisis del glicérido libera los ácidos grasos.

Las grasas pueden contener ácidos grasos libres en muy pequeña cantidad, éste contenido usualmente depende del grado de hidrólisis enzimática que ha sufrido la semilla oleaginosa durante su almacenamiento.

La química y las propiedades físicas de las grasas están determinadas en gran medida por las propiedades de los ácidos grasos que contenga en forma de triglicéridos.

Las principales reacciones de los ácidos grasos son:

1.- Formación de la sal del ácido,

2.- Conversión en sus derivados funcionales:

A) Conversión en cloruro de acilo.

B) Conversión en sus ésteres: $\text{RCOOH} + \text{R}'\text{OH} \longrightarrow \text{RCOOR}' + \text{H}_2\text{O}$

C) Conversión en sus amidas.

3.- Halogenación.

A) Alfa halogenación de alifáticos.

B) Halogenación de ácidos insaturados.

Las principales reacciones de los ésteres son:

1.- Conversión en sus ácidos y ácidos derivados:

A) Conversión en sus ácidos(hidrólisis)

-Alcalina \longrightarrow sal(jabón) + alcohol

-Acida \longrightarrow ácido + alcohol

B) Conversión en sus amidas.

C) Conversión de ésteres (transesterificación).

2.- Reacción con el reactivo de Grignard.

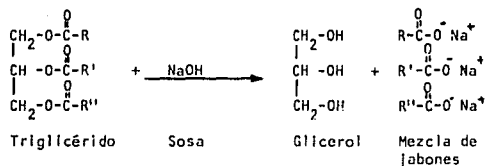
3.- Reducción a alcoholes.

A) Hidrogenación catalítica.

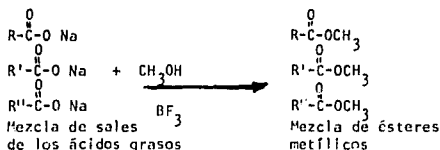
B) Hidrogenación química.

4.- Reacciones de los glicéridos.

A) Saponificación:



B) Metilación (se realiza una vez efectuada la saponificación):



5.- Reacciones de las dobles ligaduras.

A) Adición de halógenos.

B) Adición de haluros de hidrógeno.

C) Adición de ácido sulfúrico.

- D) Adición de agua.
 - E) Formación de halohidríns.
 - F) Adición de metileno.
 - G) Sustitución por halogenación.
 - H) Oxidación con ozono.
- 6.- Formación de α, β -ácido insaturado.

2.5 Análisis de grasas y aceites. (4,5.)

Las determinaciones más comunes que se practican a las grasas y aceites son las siguientes:

- a) % de humedad y materia volátil.
- b) Punto de fusión.
- c) Gravedad específica.
- d) Índice de refracción.
- e) Índice de saponificación: Se define como los mg de KOH requeridos para reaccionar con todos los grupos reactivos (ácidos grasos libres, acilglicéridos) de un gramo de muestra.
- f) Índice de yodo : Se define como la cantidad de gramos de yodo que reaccionan con 100 g de muestra (indica el grado de insaturación de la muestra).
- g) Ácidos grasos libres: Se puede reportar como % de ácidos grasos libres como ácido oleico o como índice de acidez que son los mg de KOH necesarios para neutralizar 1 g de muestra. Esta determinación proporciona información acerca de la hidrólisis de los triglicéridos de la muestra.
- h) Índice de solidificación de los ácidos grasos.

- i) Índice de hidroxilo: Es una medida del contenido de OH, normalmente se expresa como los mg de KOH equivalente al contenido de OH de un gramo de muestra.
- j) Punto de humo, ignición y combustión: Estas determinaciones son medidas de la estabilidad térmica de las grasas y aceites cuando son calentados en contacto con el aire.
- k) Índice de Reichert Meissly y Polenske: El valor de Reichert Meissly es una medida de los ácidos grasos volátiles solubles (principalmente butírico y caproico) y el valor de Polenske es una medida de los ácidos grasos volátiles insolubles (en su mayor parte caprílico, cáprico y láurico). Ellos son expresados en términos de los ml de NaOH 0.1 N requeridos para neutralizar los ácidos obtenidos de 5 g de muestra bajo las condiciones específicas del método (destilación).

Todos éstos análisis proporcionan información cuantitativa acerca de la muestra analizada, pero no sobre la estructura de la misma, por lo que para ello se recurre a métodos como son: determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases, análisis por difracción de rayos X, y otros métodos instrumentales sofisticados.

2.6 Procesamiento de grasas y aceites. (10,20,24 y26)

Los aceites y las grasas crudos o no refinados contienen cantidades variables de impurezas tales como gomas y algunas sustancias coloridas. La mayoría de éstas impurezas afectan de modo adverso las características del producto, por lo que deben ser eliminadas median-

te un proceso de purificación, para obtener la grasa o aceite adecuado para el consumo humano.

Los principales pasos del procesamiento de grasas y aceites son los siguientes (figura No.1):

Extracción

Desgomado

Refinado alcalino

Blanqueado

Hibernación

Hidrogenación

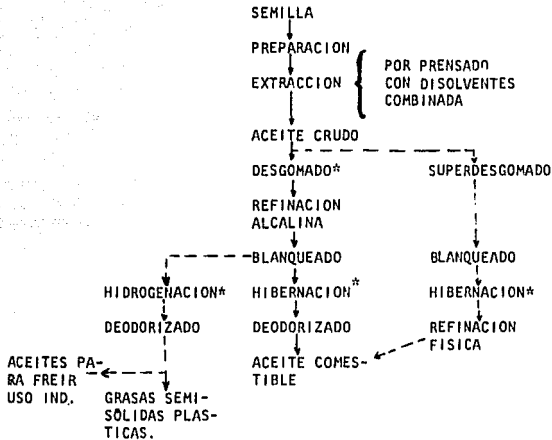
Desodorización

Extracción: El aceite crudo es obtenido por procesos de prensado o por extracciones con disolventes no polares, como hexano, o una combinación de ambos procesos. El aceite extraído se somete a una evaporación del disolvente (desolventización) y filtración.

Desgomado: El aceite crudo resultante contiene cantidades significativas de gomas, que se eliminan mediante el tratamiento del aceite con agua para convertirlas en gomas hidratadas, insolubles en el aceite y que son fácilmente eliminadas por centrifugación.

Refinado alcalino: Mediante ésta operación se remueven los ácidos grasos libres y los fosfátidos residuales, así como trazas de hidratos de carbono y proteínas que pueden estar presentes en el aceite crudo. La operación consiste en la adición de hidróxido o carbonato de sodio al aceite cru-

Figura No. 1 "Proceso de refinacion de aceites"



* Operaciones adicionales que dependen de:

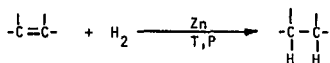
- 1) Tipo de aceite crudo
- 2) Características del producto a obtener.

fte: Gavilán García Irma Cruz. "Determinación de impurezas en aceites comestibles mexicanos. Tesis Fac. de Química, UNAM, 1984.

do para convertir los ácidos grasos libres en jabones solubles en agua. La masa obtenida se separa del aceite por filtración y las trazas de álcali se eliminan por un lavado con agua.

Blanqueado: En ésta operación se remueven las impurezas coloridas, principalmente clorofila pero también algunos carotenoides, mediante su adsorción en barro o tierras de diatomeas. La tierra es separada por filtración y el aceite pasa directamente al hidrogenador o al desodorizador(o a ambos).

Hidrogenación: En términos generales, consiste en la adición directa de hidrógeno a las insaturaciones de la cadena de los ácidos grasos:



Por lo tanto el grado de hidrogenación de un aceite está relacionado directamente con el índice de yodo: La adición de una mol de hidrógeno corresponde a la absorción de una mol de yodo.

En principio la hidrogenación es un procedimiento de transformación de aceites líquidos en grasas semisólidas de consistencia plástica, adecuada para la fabricación de grasas de cocina y margarina. Con la hidrogenación se obtienen ventajas como el aumento de la estabilidad y mejoramiento del color de las grasas.

Para que la reacción se produzca se necesita la intervención de un catalizador; el empleado habitualmente se compone básicamente de níquel, aunque se agregan pequeñas cantidades de cobre y aluminio por su acción promotora.

Durante la hidrogenación, el catalizador se mantiene en suspensión en el aceite y se separa del mismo, al final de la reacción, por filtración.

Para que se produzca la reacción es necesario que estén presentes a una temperatura y presión adecuadas, el hidrógeno, el aceite líquido y el catalizador sólido. Se puede suponer que en la práctica corriente se disuelve el hidrógeno en el aceite y éste, cargado de hidrógeno se pone en contacto con el catalizador por medios mecánicos.

En este tipo de instalación, la reacción se lleva a cabo por agitación del aceite con el catalizador en suspensión dentro de un recipiente cerrado en atmósfera de hidrógeno. La agitación de la mezcla de aceite y catalizador efectúa la doble función de promover la disolución de hidrógeno en el aceite y renovar el aceite presente en la superficie del catalizador. La solubilidad del hidrógeno y otros gases en el aceite, al contrario de lo que ocurre en el agua, aumenta al incrementar la temperatura y por supuesto al aumentar la presión. La velocidad a la que se produce la

hidrogenación depende de la temperatura, presión, naturaleza del aceite, actividad y concentración del catalizador y agitación (velocidad a la cual concurren todos los compuestos en la superficie activa del catalizador).

La composición y características del producto hidrogenado pueden variar según las posiciones de los dobles enlaces que se hidrogenan, además de que se presentan reacciones de isomerización que variarán de acuerdo a las condiciones de la hidrogenación. (22)

Hibernación (winterización): El aceite se enfría de una manera simple y se mantiene a temperatura baja por algún tiempo, mediante esta operación se eliminan estearinas principalmente, que cristalizan a temperaturas bajas, se eliminan por filtración o centrifugación. De esta forma se eliminan sustancias que pudieran generar turbidez en el aceite procesado al almacenarlo a bajas temperaturas.

Desodorización: Es un tratamiento con vapor, cuyo objetivo primordial es la eliminación de compuestos que contribuyen a desarrollar sabores y olores no deseados en el aceite. Esencialmente es un proceso de destilación en corriente de vapor, en el cual las sustancias odoríferas y de mal sabor, relativamente volátiles, se separan del aceite no volátil. La operación se lleva a cabo a temperatura elevada, para incrementar la volatilidad de los componentes a eliminar y aplicando presión reducida.

Finalmente el aceite refinado es almacenado, adicionando antioxidantes para dar una vida de anaquel más prolongada.

2.7 Generalidades sobre el aceite de algodón. (10,13)

La semilla de algodón se deriva de varias clases de plantas de algodón Gossypium, el cual es cultivado en grandes cantidades en los Estados Unidos, Egipto, India, en América del sur, en la URSS y en otros países.

Clasificación de la semilla de algodón, de acuerdo a su origen:

- a) Variedad Americana(Gossypium hirsutum)
- b) Variedad Egipcia(Gossypium barbadense)
- c) Variedad Asia Menor
- d) Variedades tropicales

La semilla de algodón después de recolectada tiene una cantidad pequeña de fibra llamada linter(14 % a 15 %). La semilla resultante es generalmente oscura, con la mayor parte sin cáscara(un máximo de 5 %).

La composición estructural promedio de la semilla de algodón varía entre los siguientes valores(dependiendo del lugar donde se cultive):

Linter(fibra).....	6-15 %
Cáscara.....	30-35 %
Harina.....	50-55 %

La composición proximal promedio de la semilla de algodón ya lista para procesarse es la siguiente:

Agua.....	7-11 %
Sustancias nitrogenadas.....	15-21 %
Extracto libre de nitrógeno.....	22-32 %

Celulosa.....	15-23 %
Grasa.....	17-23 %
Cenizas.....	3-5 %

La semilla descortezada contiene de 17 a 23 % de aceite. La densidad promedio de la semilla de algodón es de 0.28 a 0.30 Kg/l; el de la semilla sin fibra es de 0.5 Kg/l y el de la parte comestible es de 0.63 Kg/l.

De la semilla de algodón se obtienen los siguientes productos: aceite comestible, fibra, cáscara y harina (figura No. 2).

El aceite de algodón en su forma cruda tiene un fuerte y característico sabor y olor; es de color rojizo oscuro debido a los colorantes que se obtienen durante la extracción del aceite de la semilla.

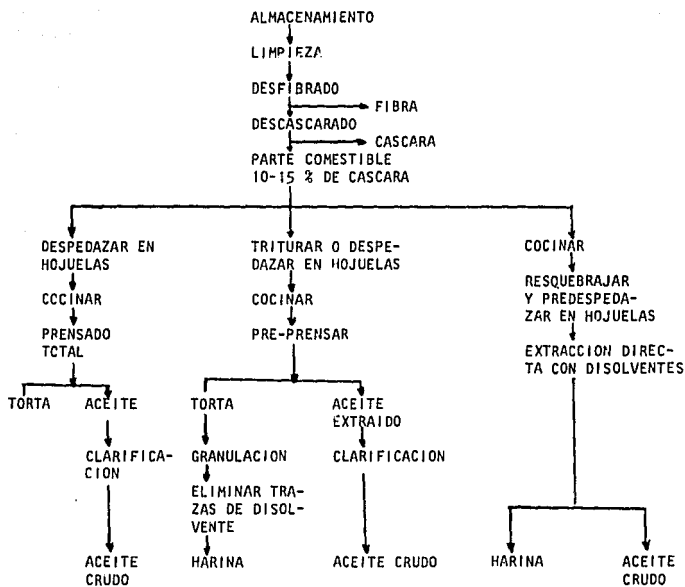
La composición principal de ácidos grasos varía dentro del siguiente intervalo⁽²⁵⁾:

Mirístico.....	0.5-1.0 %
Palmítico.....	22-26 %
Esteárico.....	2-3 %
Araquídico.....	0.2-0.3 %
Oleico.....	18-24 %
Linoleico.....	46-54 %
Linolénico.....	0.2-0.3 %

Características del aceite de algodón:

-Índice de yodo.....	101-118
-Índice de saponificación.....	190-198
-Punto de fusión °C.....	0-4

Figura No.2 "Proceso de obtención de aceite crudo de la semilla de algodón"



fte: Gavilán García Irma C. "Determinación de impurezas en aceites co-
mestibles Mexicanos" Tesis Fac. de Química UNAM. 1984

-Solidificación de ácidos grasos(°C).....30-37

- % de Insaponificables.....0.8-1.8

El aceite de algodón es un excelente aceite comestible después de que ha sido refinado y el gopiol ha sido removido mediante la neutralización con un ligero exceso de NaOH. El aceite de algodón se usa como aceite para freir y para ensaladas, en este último caso es necesario la winterización para remover el contenido relativamente alto de glicéridos saturados, los cuales causan turbidez(por solidificación) al almacenar el aceite a temperaturas bajas. Este aceite se utiliza también, en la elaboración de margarinas y grasas plásticas -- (shortening), en las cuales es necesario la operación de hidrogenación.

2.8 Generalidades sobre el aceite de soya. ⁽¹¹⁾

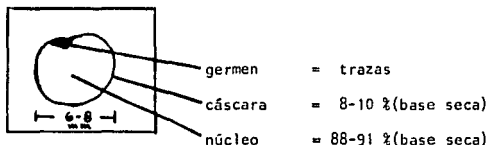
La soya es la semilla de la leguminosa Glycine max, originaria de China. Otros nombres que recibe son soya max y soya hispida, unas cuantas especies entre una gran variedad son adecuadas para la extracción del aceite.

La planta se cultiva bajo una gran variedad de condiciones climáticas, pero se prefiere áreas con calor y tiempo de verano húmedo.

Las vainas se encuentran en ramos de tres a cinco y cada vaina normalmente contiene dos o tres semillas, las cuales están sujetas a una gran variación en color y tamaño. La mayoría son esféricas, el peso promedio de una vaina es de 120 a 180 mg. El contenido de aceite de la soya varía en un intervalo de 14 a 23 %, de acuerdo a la variedad.

La mejor variedad en cuanto al contenido de aceite es Glycine max, la cual en promedio contiene un 20.9 %.

La composición estructural de la semilla es la siguiente:



La composición proximal de la semilla de soja es la siguiente:

Agua.....	8-10 %
Grasa.....	17-20 %
Sustancias nitrogenadas.....	38-40 %
Extracto libre de nitrógeno.....	26-29 %
Fibra.....	6-7 %
Cenizas.....	5-6 %

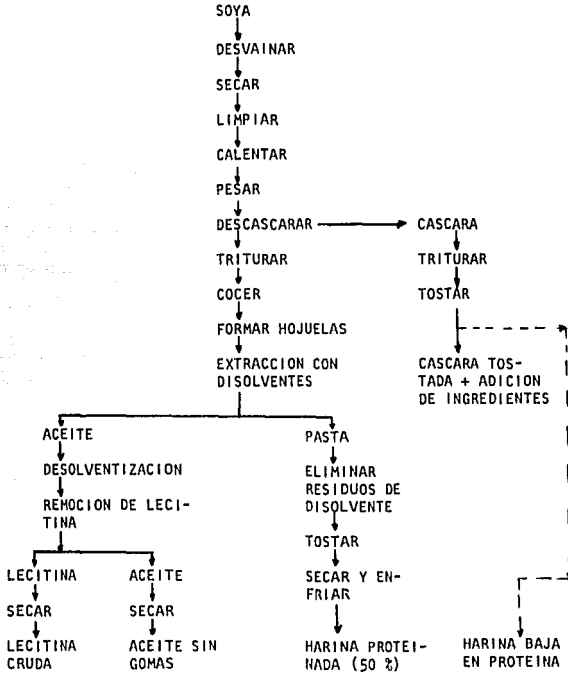
La densidad de la semilla es alrededor de 0.77 Kg/cm^3 .

Durante la extracción del aceite de la semilla, también se obtiene la lecitina (figura No.3).

Es importante mencionar que la estabilidad del sabor ha sido un factor que afecta adversamente la aceptación del aceite de soja. El ácido linolénico es el principal responsable de este sabor, lo cual ha limitado su uso como aceite para ensaladas. La manera en que se ha tratado de reducir este problema es reduciendo el contenido de ácido linolénico mediante hidrogenación selectiva y winterización del aceite.

El aceite de soja también se usa para la elaboración de margarinas y

Figura No.3 "Proceso de obtención de aceite crudo de la semilla de soya"



fte: Gurat Fernandez Beksib, "Evaluación de la vida de anaquel del aceite de soya" Tesis Fac. Química, UNAM. 1978.

shortenings.

La composición promedio de los ácidos grasos es la siguiente: (25)

Láurico.....	0.1 %
Mirístico.....	0.2 %
Palmítico.....	10.5 %
Oleico.....	22.8 %
Araquídico.....	0.2 %
Linoleico.....	51.8 %
Linolénico.....	7.8 %

Las principales características del aceite de soya son:

Punto de fusión °C.....	8-10
Índice de yodo.....	120-141
Índice de saponificación.....	189-195
% de insaponificables.....	0,2-1,6
Solidificación de ácidos grasos(°C).....	20-21

2.9 Normalización de los aceites de algodón y soya.

A) Aceite de algodón⁽¹⁵⁾:

i) Norma Oficial Mexicana DGN-F-4-1984

"ACEITE COMESTIBLE REFINADO DE ALGODÓN"

ii) En resumen dice:

- 1.- La presente norma se aplica al aceite refinado comestible puro de algodón en el momento de su expedición o venta.
- 2.- Para la aplicación de esta norma es necesario consultar las normas oficiales de métodos de prueba en vigor.
- 3.- Definición:

"Aceite de algodón crudo": Es un líquido graso de color oscuro, obtenido de la semilla de la planta Gossypium hirsutum por expresión, extracción con disolventes o ambos.

"Aceite de algodón refinado": Es el producto obtenido del aceite crudo de algodón cuando éste es sometido a los siguientes procesos: "refinación, neutralizado, lavado, blanqueado, invernado, deodorizado, filtrado y secado".

4.- El producto objeto de ésta norma se clasifica en un tipo con un solo grado de calidad.

5.- Especificaciones.

5.1.- Sensoriales:

Olor y sabor: Característico del producto y exento de olores extraños o rancios al momento de envasado.

Apariencia : Transparente y libre de cuerpos extraños a 20 °C.

5.2.- Físicoquímicos (Cuadros 4 y 5).

6.- Apéndice

6.1.- Cuando la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial considere necesario se utilizará la tabla No. 5 de ácidos grasos determinados por cromatografía de gases.

6.2.- Los antioxidantes permitidos por la Secretaría de Salud son:

Galato de propilo.....	0.01 % máximo
Galacto de octilo.....	0.01 % máximo

Cuadro No. 4 "Especificaciones para el aceite de algodón refinado"

ESPECIFICACIONES	MINIMO	MAXIMO
% DE ACIDEZ(COMO ACIDO OLEICO)*	---	0.05
PESO ESPECIFICO(20°C/AGUA A 20°C)	0.918	0.926
INDICE DE REFRACCION 25°C	1.463	1.468
INDICE DE YODO	99	115
% DE MATERIA INSAPONIFICABLE	---	1.5
% DE HUMEDAD Y MATERIA VOLATIL	---	0.05
COLOR ESCALA LOVIBOND	---	4.5R, 35A
INDICE DE PEROXIDO(meq. DE O ₂ -PEROX/Kg)	---	2.0
INDICE DE REICHERT MEISSL(%) ²	---	1.0
INDICE DE POLENSKE(%)	---	1.0
IMPUREZAS INSOLUBLES(%)	---	0.02
PRUEBA FRIA 0°C (HORAS)	5.5	---
HORAS(AOH) SIN ANTIOXIDANTE#	12.0	---
PRUEBA CALIENTE SIN OLORES DESAGRADABLES(°C) ²	220.0	---
INDICE DE SAPONIFICACION mg DE KOH POR GRAMO DE MUESTRA	189.0	198.0
PUNTO DE SOLIDIFICACION DE LOS ACIDOS GRASOS °c	31.0	37.0
REACCION DE BAUDOQUIN Y VILLAVECCHIA (PRESENCIA DE ACEITE DE AJONJOLI)	NEGATIVO	TRAZAS
REACCION DE HALPHEN(PRESENCIA DE ACEITE DE ALGODON)		POSITIVA NEGATIVA
REACCION DE KREISS* (RANCIDEZ)		
REACCION DE TWITCHELL(PRESENCIA DE NABO)	---	TRAZAS
REACCION DE RENARD Y EVERS(PRESENCIA DE ACEITE DE CACAHUATE)	NEGATIVO	TRAZAS
ACEITE MINERAL	NEGATIVO	
ANTIOXIDANTE(PRINCIPIO ACTIVO)	---	0.02

* EL RESULTADO CON * DEBE SER EN EL MOMENTO DEL ENVASADO.

fte: NOM-F-4-1984.

Cuadro No. 5 "Composición de ácidos grasos del aceite de algodón"

ACIDOS GRASOS		COMPOSICION (%)	
NOMBRE	CADENA	MINIMO	MAXIMO
MIRISTICO	C14:0	0.5	2.0
PALMITICO	C16:0	17.0	29.0
PALMITOLEICO	C16:1	0.5	1.5
ESTEARICO	C18:0	1.0	4.0
OLEICO	C18:1	13.0	44.0
LINOLEICO	C18:2	33.0	58.0
LINOLENICO	C18:3	0.0	2.0
ARAQUIDICO	C20:0	0.0	0.5
BEHENICO	C22:0	0.0	0.5
LIGNOCERICO	C24:0	0.0	0.5

fte: NOM-F-4-1984

BHA*	0.02 % máximo
BHT*	0.02 % máximo
Resina de guayacol*	0.01 % máximo
Acido tioldipropiónico y sus ésteres	0.01 % máximo
TBHQ*	

* Con fecha 18 de Enero de 1988 se publicó en el Diario Oficial de la Federación, la nueva Ley General de Salud; que prohíbe el uso de Galato de octilo y de la resina de guayacol de la lista anterior; y disminuye significativamente el uso del BHA, BHT , TBHQ, y sus mezclas.

6.3.- Adulteración del producto.

Se considera como no puro aquel aceite que no cumple con las especificaciones de las tablas 4 y 5 de esta norma.

B) Aceite de soya⁽¹⁶⁾:

1) Norma Oficial Mexicana DGN-F-252-1984

"ACEITE REFINADO COMESTIBLE PURO DE SOYA"

1) En resumen dice:

1.- La presente norma se aplica al aceite refinado comestible de soya en el momento de su expedición o venta.

2.- Para la aplicación de esta norma es necesario consultar las normas oficiales de métodos de prueba en vigor.

3.- Definición:

"Aceite de soya": Es un líquido grasoso de color ligeramente ámbar, obtenido de la semilla de la planta Soya max (Glycine max(L.)Nerr) por expresión, extracción o ambos de la semilla de soya.

"Aceite de soya refinado": Es el producto obtenido del aceite crudo de soya cuando éste es sometido a los siguientes procesos: "refinación, neutralizado, lavado, secado, blanqueado, deodorizado y filtrado".

4.- El producto objeto de esta norma se clasifica en un tipo con un solo grado de calidad.

5.- Especificaciones.

5.1 Sensoriales:

Olor y sabor: Característico del producto y exento de olores extraños o rancios al momento de envasado.

Apariencia : Transparente y libre de cuerpos extraños.

5.2 Físicoquímicos: (cuadro 6 y 7).

6.- Apéndice

6.1 Cuando la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial considere necesario se utilizará la tabla 7, de ácidos grasos determinados por cromatografía de gases.

6.2 Antioxidantes permitidos por la Secretaría de Salud:
Los mismos que se mencionan para el aceite de algodón.

6.3 Adulteración del producto:

Se considera como no puro aquel aceite que no cumpla con las especificaciones de las tablas 6 y 7.

Cuadro No. 6 "Especificaciones para el aceite de soya refinado"

ESPECIFICACIONES	MINIMO	MAXIMO
% DE ACIDEZ(COMO ACIDO OLEICO) [†]	---	0.05
PESO ESPECIFICO(20°C/AGUA A 20°C)	0.919	0.925
INDICE DE REFRACCION 25°C	1.470	1.476
INDICE DE YODO	120.0	143.0
% DE MATERIA INSAPONIFICABLE	---	1.5
% DE HUMEDAD Y MATERIA VOLATIL	---	0.05
COLOR ESCALA LOVIBOND	---	4.5R, 35A
INDICE DE PEROXIDO(ppm) [*]	---	2.0
INDICE DE REICHERT MEISSL(%)	---	1.0
INDICE DE POLENSKE(%)	---	1.0
IMPUREZAS INSOLUBLES(%)	---	0.05
PRUEBA FRIA 0°C(HORAS)	5.5	---
HORAS (ADM) SIN ANTIOXIDANTE	10.0	---
OLOR CARACTERISTICO NO APRECIABLE A: [*]	200-210°C	---
INDICE DE SAPONIFICACION mg DE KOH POR GRAMO DE MUESTRA	189.0	195.0
PUNTO DE SOLIDIFICACION DE LOS ACIDOS GRASOS °C	20.0	27.0
REACCION DE BAUDOQUIN Y VILLAVECCHIA FABRIS(PRESENCIA DE ACEITE DE AJONJOLI)	NEGATIVO	TRAZAS
REACCION DE HALPHEN(PRESENCIA DE ACEITE DE ALGODON)	NEGATIVO	TRAZAS
REACCION DE KREISS(RANCIDEZ)	NEGATIVO	TRAZAS
REACCION DE TWITCHELL(PRESENCIA DE ACEITE DE NABO)	NEGATIVO	TRAZAS
REACCION DE RENARD Y EVERS(PRESENCIA DE ACEITE DE CACAHUATE)	NEGATIVO	TRAZAS
ACEITE MINERAL	NEGATIVO	TRAZAS
ANTIOXIDANTE(PRINCIPIO ACTIVO)	---	0.02

^{*} EL RESULTADO CON ^{*} DEBE SER EN EL MOMENTO DEL ENVASADO.

Cuadro No. 7 "Composición de ácidos grasos del aceite de soya"

ACIDOS GRASOS		COMPOSICION (%)	
NOMBRE	CADENA	MINIMO	MAXIMO
MIRISTICO	C14:0	0.0	0.5
PALMITICO	C16:0	7.0	12.0
PALMITOLEICO	C16:1	0.0	0.5
ESTEARICO	C18:0	2.0	5.5
OLEICO	C18:1	20.0	40.0
LINOLEICO	C18:2	40.0	57.0
LINOLENICO	C18:3	5.0	11.0
ARAQUIDICO	C20:0	0.0	1.0
GADOLEICO	C20:1	0.0	1.0
BEHENICO	C22:0	0.0	0.5

fte: NOM-F-252-1984.

2.10 Cromatografía de gases. (1,2,3,23)

La cromatografía de gases es una técnica analítica utilizada en la separación, identificación y cuantificación de los componentes de una mezcla. Se basa en la diferencia de velocidades de migración de los componentes de una mezcla, al ser arrastrados por un gas inerte a través de una columna rellena de un material adecuado. El gas de arrastre es llamado fase móvil y el relleno de la columna contiene la fase fija o estacionaria que es un líquido de adecuadas características, que se encuentra fino y homogéneamente distribuido en un soporte inerte, formando una cama de gran área de superficie.

El método de cromatografía de gases fue iniciado por los científicos Ingleses A.T. James y A.J.P. Martin en 1941 y a partir de 1950 comenzó a utilizarse en varios laboratorios. (3)

Los cromatógrafos de gases se utilizan en gran escala en el análisis de mezclas orgánicas complejas, como las que se encuentran comúnmente en derivados del petróleo, aceites esenciales, perfumes, sabores, sustancias de origen biológico, insecticidas, plaguicidas, ácidos grasos, etc. El tiempo de análisis varía de minutos a horas, siendo para la gran mayoría de los análisis entre 5 y 15 minutos. El tamaño de la muestra también varía entre unos cuantos microlitros hasta varios mililitros; pudiendo en este último caso recogerse los componentes de la muestra o mezcla. Se pueden detectar sustancias presentes hasta en 10^{-12} gramos.

Como se puede observar, la cromatografía de gases sobresale de -- otras técnicas analíticas por su gran versatilidad tanto en lo que

se refiere a tipos de trabajos como también en la naturaleza y cantidad de muestra. Se puede decir en general, que la cromatografía de gases se puede aplicar para analizar mezclas de compuestos que vaporicen o se volatilicen a temperaturas entre 0 y 450°C y para cualquier sustancia que pueda calentarse dando una presión de vapor de unos 30 mm de Hg sin alterarse o descomponerse.

La cromatografía de gases es, en muchos casos, el único método que permite separar en una sola operación más de 100 compuestos de una mezcla. Empleada en combinación con espectrofotometría Infraroja o espectrometría de masas permite aislar e identificar de una mezcla compleja sus componentes, con pocas modificaciones se puede emplear para purificar y obtener sustancias del más alto grado de pureza.

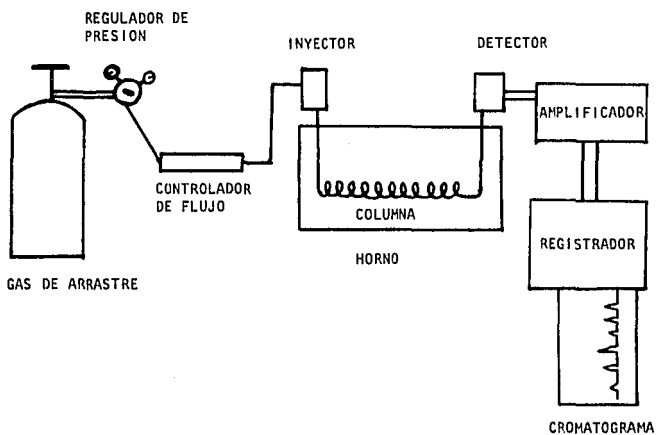
Los componentes básicos de un cromatógrafo de gases son (figura No. 4):

A) Gas de arrastre; B) Regulador de presión; C) Controlador de flujo; D) Inyector; E) Columna; F) Detector; G) Registrador.

El gas de arrastre hace que la muestra circule por el sistema cromatográfico, controlándose su presión y su flujo, el inyector permite introducir la muestra a la columna en forma adecuada, la columna efectúa la separación misma de los componentes de la mezcla, el detector indica la presencia de un componente y el registrador da el resultado gráfico de la operación.

En el cromatógrafo de gases existen tres zonas calentadas y separadas: A) El inyector, B) El horno de la columna y C) El detector; los cuales son calentados para ajustar la volatilidad de los

Figura No. 4 "Esquema de los componentes básicos de un cromatógrafo"



fte: Anónimo, Manual práctico de cromatografía de gases, Bufete químico.

componentes que pasan a través de ellos.

Explicando en forma resumida el proceso que tiene lugar en la columna (figura No.5), se tiene lo siguiente:

La muestra introducida a la corriente del gas de arrastre pasa a la columna, en ella se produce la partición de las moléculas de la muestra entre dos fases: líquida y vapor. Si se supone que se tienen dos componentes, X y O en la muestra; las moléculas de O en fase de vapor tendrán mayor tendencia que las moléculas de X (también en fase de vapor) a disolverse en la fase estacionaria. Por este efecto se tendrán distintas velocidades de migración por la columna para el componente O y el X. El componente con mayor tendencia a disolverse, O, será más retenido por la columna y saldrá de ella después del componente X.

Si se escogen las condiciones adecuadamente, se puede lograr una completa separación. A la salida de la columna, el detector dará una señal indicando la presencia de una sustancia distinta al gas de arrastre, esta señal se transmitirá al registrador que proporcionará la información en forma gráfica.

Términos más empleados en cromatografía de gases (figura No.6):

Figura No. 6 "Ejemplificación de un cromatograma"

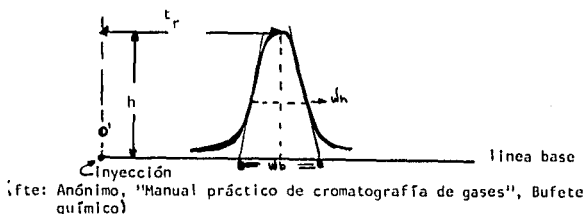
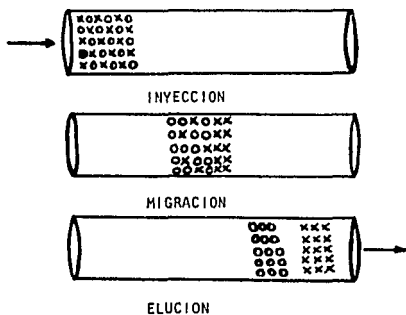


Figura No. 5

"Separación de componentes de una mezcla en una columna cromatográfica"



fte: Anónimo, "Manual práctico de cromatografía de gases", Bu-
fete químico.

- Línea base: La línea dibujada por el registrador en ausencia de muestra.
- Punto de inyección: Momento en que se introduce la muestra al cromatógrafo.
- Tiempo de retención(t_r): Tiempo que transcurre desde la inyección de la muestra hasta el punto máximo del pico correspondiente a determinado compuesto de la mezcla.
- Ancho de la base: La distancia entre las intersecciones de las tangentes a las partes de inflexión con la línea base(W_b).
- Altura del pico(h): Distancia perpendicular desde la línea base y la máxima inflexión del pico.
- Ancho a la mitad de la altura(W_h).

En lo que se refiere al instrumento en sí, se deben también distinguir los siguientes términos:

- Soporte sólido: Se trata normalmente de un sólido poroso e inerte, que va dentro de la columna y en el cual se distribuye la fase líquida.
- Fase líquida: Llamada también fase estacionaria, es un líquido poco volátil a la temperatura de operación de la columna y uniformemente distribuido sobre el soporte sólido. Los componentes de la mezcla a analizar presentan diferentes afinidades por la fase líquida.
- Columna: Tubo cilíndrico generalmente de acero inoxidable o vidrio, de diámetro apreciable, 1/4 de pulg y 1/8 de pulg, de longitud entre 6 y 20 pies, el cual se rellena con el soporte y la fase estacionaria.

Teoría de platos: (23) Una sustancia que entre a la columna junto con el gas de arrastre, se disolverá en la fase líquida hasta que se establezca un equilibrio de acuerdo con los valores de concentración en la fase estacionaria y en la fase móvil. Durante el paso de la sustancia a lo largo de la columna, este equilibrio se rompe por efecto de transporte y debe establecerse consecutivamente a lo largo de la columna. Desde el punto de vista teórico es conveniente considerar este proceso en varios pasos discontinuos de equilibrio, es como si se dividiera la columna en un número de secciones iguales entre sí; en cada una de éstas secciones el equilibrio vapor-líquido debe restablecerse. Se ha denominado a cada una de éstas secciones "plato teórico", en forma similar al término empleado en destilación.

El poder de separación de la columna dependerá, entre otros factores, del intercambio entre la muestra y la fase líquida; en otras palabras, mientras más etapas de equilibrio existan mayor será la eficiencia de la separación, es decir, una columna eficiente será aquella que posea un gran número de platos teóricos.

El valor del número de platos teóricos puede obtenerse de la siguiente expresión:

$$n = 16(t_R/W_b)^2 \quad (\text{ver figura No. 6})$$

Para juzgar la bondad de una separación se emplea el término denominado resolución (R), el cual expresa la separación entre dos picos adyacentes, la expresión es la siguiente:

$$R = 2d/(W_{b_1} + W_{b_2})$$

En el que d representa la distancia entre los puntos máximos de

los picos adyacentes y W_{b_1} , W_{b_2} son los anchos de los picos en la base para el compuesto 1 y 2 respectivamente.

Para un valor de $R \approx 1.0$ la separación entre dos picos de aproximadamente igual área es de un 98 %. Para $R \approx 1.5$ la separación entre estos mismos picos es casi total (99.7 %).

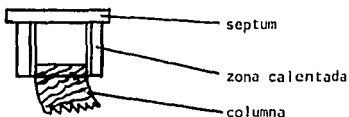
GAS DE ARRASTRE. (3)

El gas de arrastre debe conducir la muestra y sus componentes a través del sistema cromatográfico, para lo cual se necesitan varios requisitos, entre los cuales están:

- a) Ser un gas inerte
- b) Pureza: Cualquier impureza presente en el gas de arrastre equivale a un compuesto adicional, distinto a los deseados y que viene a producir una señal en el detector (pico fantasma), y que además podrían reaccionar con los componentes a analizar provocando su alteración.
- c) Sensibilidad: Dado que el gas de arrastre fluye constantemente por el sistema, producirá una señal de fondo la cual influirá sobre la sensibilidad de acuerdo al detector que se utilice.

INYECTOR. (3)

Es el puerto mediante el cual se introduce la muestra al sistema cromatográfico. Para muestras líquidas, éstas se miden en jeringas graduadas especiales y se inyectan al sistema (inyector):



La aguja de la jeringa penetra por el septum y deposita la muestra en la parte inicial de la columna, que normalmente se deja libre, de tal forma que al penetrar la aguja e inyectar, la muestra se vaporiza prácticamente en el inicio de la columna, así mismo, para ayudar a lograr lo anterior, la temperatura operativa del inyector se fija por encima del valor de la temperatura de la columna (normalmente 50 °C más alta).

COLUMNAS.

Son tubos cilíndricos, que enrollados y empacados reciben el nombre de columnas. La mayor parte de las columnas son generalmente de acero inoxidable y vidrio, se emplean con diámetros externos de 1/4 y 1/8 de pulg. y de una longitud entre 6 y 20 pies.

El flujo del gas de arrastre variará en función del diámetro de la columna. Los valores típicos para helio a la salida de la columna son para 1/8 de 20 a 30 ml/min y para 1/4 de 60 a 80 ml/min.

Las columnas empacadas llevan, como se dijo anteriormente, una fase estacionaria (líquida) distribuida sobre un soporte sólido.

SOPORTE. (3)

El soporte sólido tiene como finalidad, el aumentar la superficie de contacto efectiva entre el vapor de la muestra y la fase estacionaria. Un soporte sólido debe tener las siguientes características:

- a) Superficie específica grande, de 1 a 20 m²/gramo.
- b) Estructura porosa, con diámetro uniforme igual o inferior a 10 μ por poro.
- c) Inerte.

- d) Las partículas deben ser de tamaño y forma uniforme.
- e) Debe tener resistencia mecánica.

Las sustancias empleadas como soporte sólido en cromatografía son de tres tipos: A) Tierras de diatomáceas, B) Esferas de vidrio y C) Teflón. Las tierras de diatomáceas son las más utilizadas.

Si las muestras por analizar son polares se recomienda lavar con ácido y tratar con dimetilclorosilano(DMCS) para desactivar el soporte.

El diámetro de las partículas se da en unidades de malla, correspondiendo números mayores a diámetros menores. Para columnas de 1/8 de pulg, se recomienda malla 80/100, en tanto que para columnas de 1/4 de pulg, se recomienda malla 60/80.

FASE ESTACIONARIA. (1,2)

La selección de la fase estacionaria a utilizar, es tal vez la más difícil de efectuar. Se han empleado un sin número de sustancias como fase estacionaria y la literatura al respecto es muy abundante.

La regla de oro en cuanto a la selección adecuada del material es: "La fase líquida debe tener características fisicoquímicas semejantes a la muestra a analizar". Así por ejemplo, para analizar hidrocarburos saturados se escogerá un hidrocarburo saturado como fase estacionaria, un éster podrá analizarse con un poliéster. Es conveniente relacionar esta semejanza con base en polaridades; analizando una muestra polar en una fase polar, una muestra semipolar en una fase semipolar. La fase líquida además de ser semejante a la muestra, debe ser pura y sobre todo tener una presión de va-

por muy baja a la temperatura de análisis. La temperatura máxima recomendada para una fase líquida indica la temperatura a la cual la presión de vapor es apreciable y se produce un desprendimiento de la fase líquida, aunque el valor sirve solamente de referencia, se debe recordar que al trabajar la columna por encima de ésta temperatura se acortará notablemente la vida de la columna.

DETECTORES. (3)

Los detectores más empleados en cromatografía de gases son: 1) de conductividad térmica, 2) de ionización de flama de hidrógeno, 3) de captura de electrones, 4) fotométrico de flama, 5) termiónico específico y 6) detector hall de conductividad electrolítica.

Detector de ionización de flama(FID).

Funcionamiento: Se hace pasar el gas de arrastre, que sale de la columna por un compartimento en el cual se mezcla con hidrógeno, pasan por un quemador, el cual tiene una pequeña flama alimentada por el hidrógeno y un suministro adicional de aire, que generalmente atraviesa un disco de metal poroso situado en la base del quemador. La flama sirve como electrodo existiendo un segundo electrodo por encima o al lado de la flama, se establece de ésta manera, una diferencia de potencial. Cuando sólo el gas de arrastre pasa por la flama, existe una pequeña corriente entre los dos electrodos, pero al pasar las moléculas de la muestra sufren una ionización en la flama y aumenta notablemente la corriente, que después de amplificarla pasa al registrador.

El detector de ionización de flama es sensible a todos los compuestos orgánicos, pero insensible al agua y gases inorgánicos. Tie-

ne una gran sensibilidad y debido a su volumen reducido puede emplearse con flujos bajos, necesarios para el caso de las columnas capilares. El detector dá respuesta proporcional a la masa de la sustancia por unidad de tiempo y es independiente del gas de arrastre o su concentración.

2.11 Análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases.

Existe una extensa literatura al respecto^(18,19), realizándose investigaciones sobre: 1) Métodos de preparación de metil ésteres de ácidos grasos; 2) Diferentes soportes utilizados (cuadro No. 8); 3) Diferentes fases líquidas empleadas (cuadro No. 9); 4) Diferentes diámetros, longitudes y materiales de las columnas; 5) Aplicaciones de integradores computacionales para el análisis de datos⁽⁷⁾ y muchos otros estudios.

Cuadro No. 8 "Soportes utilizados en el análisis de ácidos grasos"

TIPO DE SOPORTE	FRECUENCIA DE USO (%)
CHROMOSORB W	33
GAS CHROM P	19
CELITE 545	13
CHROMOSORB Q	8
CHROMOSORB P	7.5
ABRAKROM ABS	7.5
CHROMOSORB G	5
DIATOPORT S	3.5
C-22 FIREBRICK	3.5

fte: Preston Seaton and Pankratz E. Ronald. "A guide to the analysis of fatty acids and their esters by chromatography" .

Cuadro No. 9 "Fases líquidas utilizadas en el análisis de ácidos grasos"

FASE LIQUIDA	FRECUENCIA DE USO (%)
DIETILEN GLICOL SUCCINATO	30
SILICONA SE-30	17
APIEZON L	12
ETILEN GLICOL SUCCINATO	10
POLIETILEN GLICOL 20M	6.5
POLIETILEN GLICOL ADIPATO	6.5
1,4-BUTANODIOL SUCCINATO	6.5
SILICONA SE-52	3
POLIETILEN GLICOL SUCCINATO	2.5
SILICONA QF-1	2.5
POLIETILEN GLICOL 1500	1.5
SILICONA OV-1	1.5

fte: Preston Seaton and Pankratz E. Ronald. "A guide to the analysis of fatty acids and their esters by chromatography"

Cuadro No. 10 "Temperaturas de operación de diferentes fases líquidas"

FASE LIQUIDA	TEMPERATURA DE OPERACION(°C)
DEGS(POLIESTER)	190/225
SE-30	300/375
EGS(POLIESTER)	200/225
PEG 20M	225/250
EGA(POLIESTER)	200/225
1,4-BUTANODIOL SUCCINATO	225/230
SE-52	300
APIEZON M	250/300

fte: Preston Seaton and Pankratz E. Ronald. "A guide to the analysis of fatty acids and their esters by chromatography" .

CAPITULO III PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Selección del método y condiciones.

De acuerdo a la literatura consultada^(18,19), se optó por utilizar un método cromatográfico gas-líquido(GL) por las siguientes ventajas que ofrece:

- A) Es un método ampliamente utilizado en análisis de ácidos grasos de grasas y aceites con excelentes resultados.
- B) Adecuada reproducibilidad.
- C) Adecuada sensibilidad.
- D) Es un método sencillo.
- E) Proporciona un gráfico(cromatograma) que es, a manera de ejemplo, como una radiografía de la muestra analizada.

Condiciones:

Basados de igual manera en la literatura consultada^(17,19), se seleccionaron aquellas condiciones que han sido empleadas en mayor porcentaje en el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos.

- A). Columna : de acero inoxidable de 10 pies de longitud por 1/8 de pulg. de diámetro externo(2.1 mm. de diámetro interno).
- B) Fase estacionaria : Succinato de dietilén glicol (DEGS) al 20 %.
- C) Soporte : Chromosorb W-AW-DHCS, malla 80/100.
- D) Fase móvil : nitrógeno para cromatografía.
- E) Detector : de ionización de flama(FID).
- F) Presión del nitrógeno : 69 lb/pulg²
- G) Flujo del nitrógeno : 33 ml/min.

- H) Presión del aire : 30 lb/pulg²
- I) Presión del hidrógeno : 20 lb/pulg²
- J) Temperatura del inyector : 250°C
- K) Temperatura de la columna : 190°C
- L) Temperatura del detector : 250°C

3.2 Equipo utilizado.

Cromatógrafo de gases modelo Sigma de Perkin-Elmer con estación de datos modelo 3600, con disco de programa "CHROMATOGRAPHICS" y disco de trabajo y con impresora modelo 660.

3.3 Selección de los estándares, muestras de referencia y muestras problema.

A) Estándares.

i) Nombre comercial(código) NIH; proveedor Supelco; composición (cuadro No. 11): Seleccionado porque contiene la serie de ácidos grasos saturados de C10 a C20, en forma de ésteres metílicos, y en las muestras por analizar se espera encontrarlos, así como también para trazar la curva de log. del tiempo de retención vs. el No. de carbonos, que es muy útil para la identificación de picos desconocidos.

ii) Nombre comercial(código) 20A; proveedor Supelco; composición (cuadro No. 11): Seleccionado porque contiene una composición parecida a la esperada en las muestras por analizar.

B) Muestras de referencia.

Se consiguieron muestras de aceite de algodón puro y muestras de aceite de soya puro, procesados con el fin de:

-Evaluar la composición de aceites puros para establecer el pun-

to de comparación para las muestras problema.

- Determinar las diferencias en la composición que existe entre el aceite de algodón y el aceite de soya.
- Valorar la objetividad del método al comparar los valores obtenidos con los valores reportados en la literatura.

Las fuentes de las muestras de referencia son:

- i) Aceite de algodón puro procesado "LANFI" : Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial.
- ii) Aceite de algodón puro procesado "A y C" : Anderson and Clayton S.A.
- iii) Aceite de algodón puro procesado "HINSA" : Hidrogenadora Nacional S.A.
- iv) Aceite de soya puro procesado "LANFI" : Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial.
- v) Aceite de soya puro procesado "A Y C" : Anderson and Clayton S.A.

Se prepararon nueve mezclas de aceite de algodón puro procesado - "LANFI" y aceite de soya puro procesado "LANFI" (cuadro No.12); con el propósito de valorar los cambios en la composición de ácidos grasos que se presenta al incrementar el % de aceite de soya en las mezclas y que se espera obtener en las muestras problema, conociendo este comportamiento se está en condiciones de poder valorar el contenido de aceite de soya en las muestras problema.

Las mezclas se realizaron pesando en el mismo matraz de reacción los dos aceites para evitar trasvases, esto propició que los porcentajes no fueran cifras cerradas.

C) Muestras problema.

Se analizaron 18 muestras que corresponden a cada entrega de 25 toneladas de aceite de algodón que se recibieron en un mes.

El plan de muestreo fué el siguiente:

ENVASE	CANTIDAD	MUESTREADOR	ZONA DE MUESTREO	CANTIDAD
camión tanque (pipa) de acero inoxidable	25 ton.	con dispositivo para tomar muestras a diferente nivel.	superficie centro fondo	500 ml 500 ml 500 ml

Se integraron los tres volúmenes para dar una muestra única de 1500 ml, de donde se tomaron los 750 mg para el análisis. Los análisis se hicieron por duplicado.

3.4 Procedimiento.

A) Saponificación de la muestra. ⁽¹⁷⁾

En un matraz Erlenmeyer de boca esmerilada de 125 ml, se pesan utilizando un gotero, 750 mg de la muestra, se añaden 10 ml de solución metanólica de hidróxido de sodio 0.5 N y algunas perlas de ebullición. Se adapta un refrigerante y se refluja hasta que los glóbulos de grasa desaparezcan (de 6 a 7 minutos).

B) Metilación de los ácidos grasos. ^(14,21)

Inmediatamente después de haber transcurrido el tiempo para saponificar, se adicionan 12 ml de solución metanólica de trifloruro de boro al 20 % por el extremo superior del refrigerante. Se continúa el reflujo con calentamiento hasta la aparición de glóbulos de ésteres, aproximadamente 5 min., teniendo cuidado de no exceder de 10 min. para evitar reacciones secundarias.

C) Extracción y preparación de la muestra para la inyección. ⁽¹⁷⁾

Inmediatamente después de haber transcurrido el tiempo para la metilación, se adicionan por el extremo superior del refrigerante 5 ml. de n-heptano y se continúa refluendo con calentamiento un minuto más. Se retira el matraz, conectado con el refrigerante, de la parrilla y se lleva a un baño de hielo, una vez enfriado el matraz, se añaden por el extremo superior del refrigerante 10 ml de solución saturada de cloruro de sodio, se retira el refrigerante, se agita suavemente el matraz y se agrega más solución de cloruro de sodio hasta llevar la fase heptánica al cuello del matraz. Se pipetea la fase heptánica y se lleva a un tubo de ensayo que contenga 0.5 g de sulfato de sodio anhídrido y se agita. De esta forma la muestra está lista para inyectar al cromatógrafo. Una vez que se tiene la muestra lista, se inyecta lo más pronto posible, si no es así se puede guardar varios días bajo una atmósfera de nitrógeno en el refrigerador a una temperatura entre 0° y 4°C.

D) Preparación del equipo. (9)

Se enciende el regulador de voltaje y el cromatógrafo; a condiciones ambientales se fija la presión de entrada del nitrógeno, utilizando para ello la válvula reguladora correspondiente y viendo en la carátula del manómetro que el valor sea de 69 lb/pug². En forma similar se fija el flujo de nitrógeno en 33 ml/min.

Para fijar las temperaturas de trabajo de la columna, del inyector y del detector; se establece el siguiente diálogo en el tablero del equipo:

	FUNCION	FASE	TECLEAR	INTRODUCIR
oprimir	OVEN TEMP	1	190°C	ENTER
oprimir	INJ TEMP		250°C	ENTER
oprimir	DET TEMP		250°C	ENTER

Las condiciones son alcanzadas cuando las lamparas OVEN, INYECTOR y DETECTOR se apaguen y el botón READY/RUN se encienda.

Cuando la temperatura del detector ha sido alcanzada, se fijan la presión de hidrógeno en 20 lb/pulg² y la presión del aire en 30 lb/pulg², para ello se mueven las válvulas reguladoras de hidrógeno y aire correspondiente, se verifica que el valor registrado en los manómetros sea el estipulado.

Para encender la flama del detector, se abre el flujo de hidrógeno al detector, mediante el uso de la palanca de paso de hidrógeno, permaneciendo unos 10 segundos en esta posición, se mueve la palanca para impedir el paso; simultáneamente al restablecimiento del flujo se oprime el botón de ignición; en el momento de la ignición se percibe un ruido "pop". Para asegurarse que existe la flama, se acerca un vaso de precipitados con agua a la boca del detector, la formación de condensados en la pared del vaso indica la presencia de la flama.

El siguiente paso es encender la interfase, la estación de datos y la Impresora. Se coloca en el teclado la plantilla de CHROMATOGRAPHICS 2, se introduce en el DRIVE 0 el disco CHROMATOGRAPHICS 2 y en el DRIVE 1 el disco de ácidos grasos(disco de trabajo), se cierran las compuertas de los DRIVES, se tecldea CHROM y se oprime

RETURN, en el momento en que aparezca READY FOR NEXT COMMAND en la pantalla, se oprime la tecla METHOD y se tecléa la identificación del método como BCS 3 y se oprime RETURN. Simultáneamente se oprimen las teclas SHIFT y ACCEPT, en la pantalla aparecerá la leyenda MODIFIC METHOD BCS 3 ? (Y/N) oprimir la tecla (N), en la pantalla aparecerá la leyenda INITIALISE INTERFASE ? (Y/N) oprimir la tecla (Y) en la pantalla aparecerá la leyenda OVER WRITE PLOT FILE ? (Y/N) oprimir la tecla (Y) en la pantalla aparecerán las coordenadas Mvlt vs tiempo y la leyenda PRESS START ON INTERFASE 1 AT INYECTION, lo cual indicará que el equipo está listo para el análisis.

E) Inyección de la muestra.^(9,17)

Se toman 0.2 mcl de la muestra ya preparada para la inyección, con la jeringa Hamilton de 1.0 mcl y se inyectan al cromatógrafo oprimiendo inmediatamente el botón START de la interfase y la tecla AUTO ZERO del cromatógrafo. Para evitar que haya burbujas de aire en la jeringa que generen errores del volumen inyectado, se toma varias veces la muestra y se desecha hasta estar seguros que no hay aire, entonces se toman e inyectan 0.2 mcl.

F) Generación del reporte.⁽⁹⁾

Una vez concluido el tiempo de análisis, la estación de datos emite un reporte con los tiempos de retención, el % de cada componente y el cromatograma.

G) Apagado del equipo.⁽⁹⁾

Al terminar los análisis y para apagar el cromatógrafo, se establecen valores de temperatura para el inyector, columna y detector

de 30°C, se cortan los flujos de nitrógeno, hidrógeno y aire sólo
cuando las temperaturas alcancen valores entre 55° y 60°C. Al lle-
gar a las temperaturas fijadas se apaga el equipo.

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Estándares.

A) El cromatograma No. 1 muestra los picos y tiempos de retención obtenidos para el estándar NIH, que corresponde a los ésteres metílicos de ácidos grasos saturados de C10 a C20. De este cromatograma se observa una adecuada resolución y eficiencia de la columna ya que se obtienen picos bien separados, angostos y alargados y una línea base adecuada (ver sección 4.2 A).

El conocer los ésteres metílicos de ácidos grasos que componen el estándar y los tiempos de retención de cada componente, proporciona la base para el análisis cualitativo de las muestras por analizar; asimismo, el conocer la composición (cantidad) del estándar y sabiendo que la concentración de cada componente es directamente proporcional al área del pico correspondiente, proporciona la base para el análisis cuantitativo de las muestras por analizar. En la tabla No. 1 se reportan los valores de tiempos de retención obtenidos para cada componente del estándar NIH, mencionando el No. de carbonos correspondiente.

Obteniendo el log del tiempo de retención y con el No. de carbonos se construye la gráfica No.1, la cual da una línea recta que es utilizada para identificar picos no conocidos por extrapolación o interpolación. La línea recta que se obtiene manifiesta que los componentes separados pertenecen a una serie homóloga (ésteres metílicos de ácidos grasos saturados de C10 a C20). ^(1,23)

B) El cromatograma No. 2 muestra los picos y tiempos de retención obtenidos para el estándar 20A, que corresponde a los ésteres metílicos de ácidos grasos que se espera obtener en las muestras problema.

CROMATOGRAMA No. 1 ESTANDAR DE ACIDOS GRASOS METILADOS: CODIGO NIH

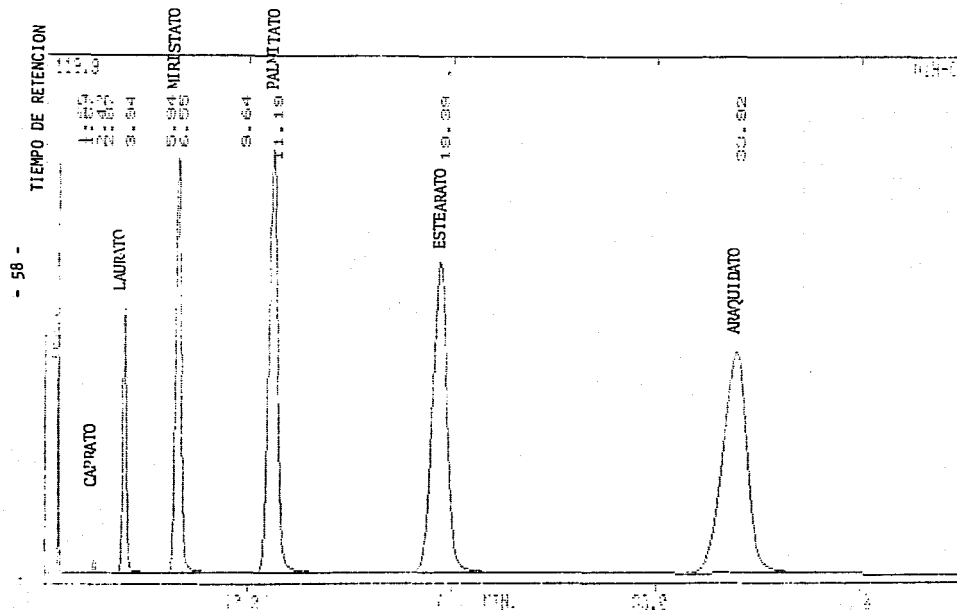
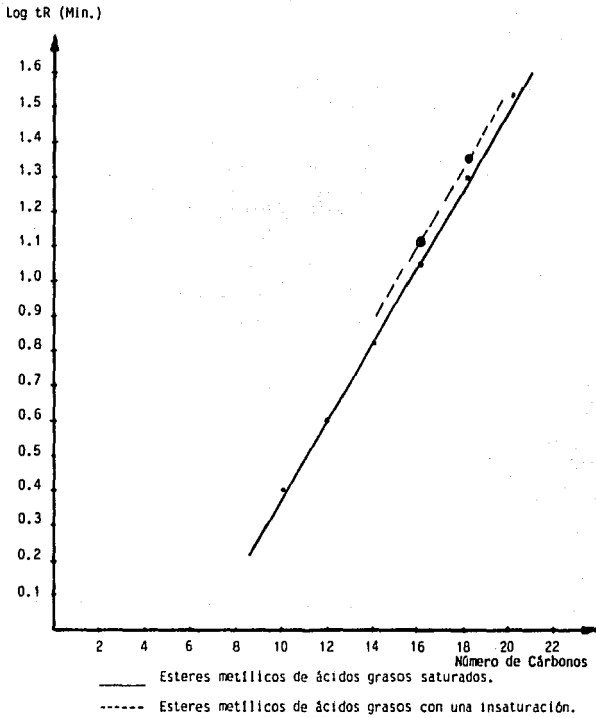


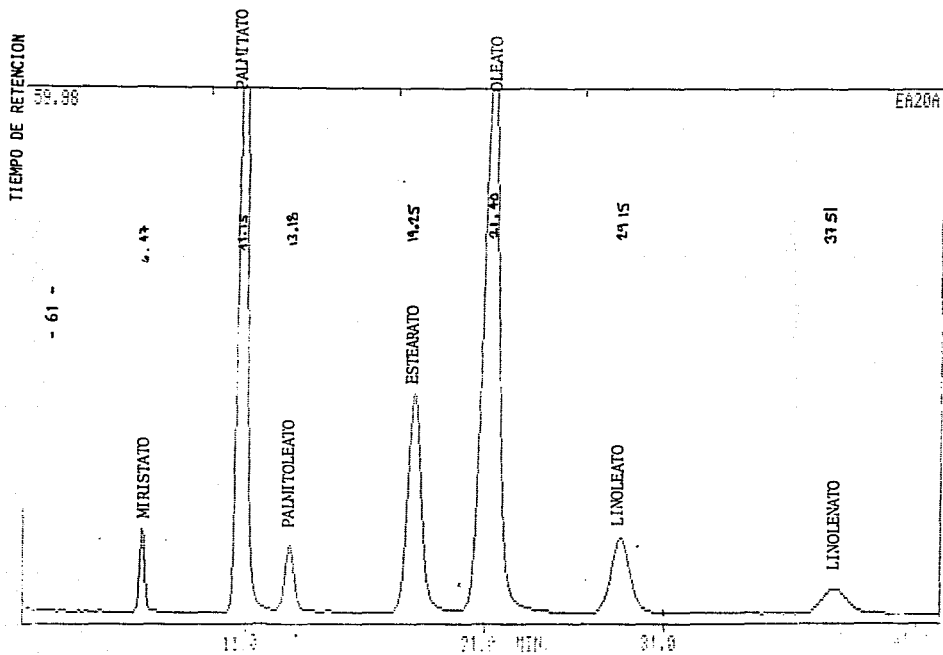
Tabla No. 1, Tiempos de retención (min.) obtenidos
para los estándares.

Ester metílico	Cadena	Estandar código NIH		Estandar código 20 A	
			(log TR)		(log TR)
Caprato	C10:0	2.47	0.3926	-	-
Laurato	C12:0	3.94	0.5954	-	-
Miristato	C14:0	6.55	0.8162	6.47	0.8105
Palmitato	C16:0	11.19	1.0488	11.15	1.0472
Palmitoleato	C16:1	-	-	13.18	1.1199
Estearato	C18:0	19.39	1.2875	19.25	1.2844
Oleato	C18:1	-	-	21.40	1.3304
Linoleato	C18:2	-	-	29.15	1.4646
Linolenato	C18:3	-	-	37.15	1.5699
Araquidato	C20:0	33.92	1.5304	-	-

Gráfica No. 1, Relación entre el log del tiempo de retención y el No. de carbónos.



CROMATOGRAMA No. 2 ESTANDAR DE ACIDOS GRASOS METILADOS: CODIGO 20A



Al igual que el estándar NIH, en la tabla No. 1 se reportan los valores de los tiempos de retención obtenidos para cada componente del estándar 20A mencionando el No. de carbonos correspondiente.

Obteniendo el log. del tiempo de retención para los dos ésteres metílicos de ácidos grasos con una insaturación y graficando vs el No. de carbonos, se obtiene una línea recta (gráfica No.1), que igualmente sirve para identificar picos no conocidos que no caen en la recta para los ésteres metílicos de ácidos grasos saturados. Se observa que los metil ésteres insaturados presentan un mayor tiempo de retención, ya que son moléculas más polares, que los metil ésteres saturados, por lo que tienen mayor afinidad por la fase líquida (DEGS) de la columna cromatográfica que es una fase semi polar.

4.2 Muestras de referencia.

A) El cromatograma No. 3 muestra los picos y tiempos de retención obtenidos para las muestras de referencia de aceite de algodón "LANFI" que es utilizado para el cálculo de la eficiencia y resolución de la columna (1,23):

Eficiencia = No. de platos teóricos = n

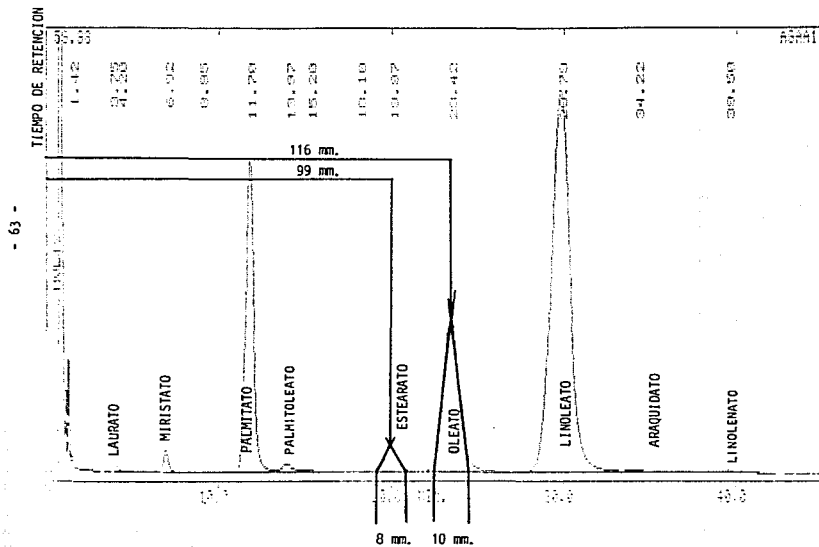
$$n = 16 (dR/a)^2$$

Donde: dR es la distancia de retención en mm, a partir de la inyección hasta el máximo pico del estearato de metilo.

a es la amplitud en mm, de la base del estearato de metilo

del cromatograma No. 3 tenemos:

CROMATOGRAMA No. 3 MUESTRA DE REFERENCIA ACEITE DE ALGODON
 "LANFI" PARA EL CALCULO DE LA EFICIENCIA Y RESOLUCION DE LA COLUMNA.



$$dR = 99 \text{ mm y } a = 8 \text{ mm entonces } n = 16 (99/8)^2 = \underline{2450 \text{ platos teóricos}}$$

$$\text{La resolución de la columna} = R = 2 (dR_{\text{oleato}} - dR_{\text{estearato}}) / (a+b)$$

donde:

dR_{oleato} es la distancia de retención en mm, a partir de la inyección hasta el máximo pico del oleato de metilo.

$dR_{\text{estearato}}$ es la distancia de retención en mm, a partir de la inyección hasta el máximo pico del estearato de metilo.

a es la amplitud en mm, de la base del estearato de metilo.

b es la amplitud en mm, de la base del oleato de metilo.

del cromatograma No. 3 :

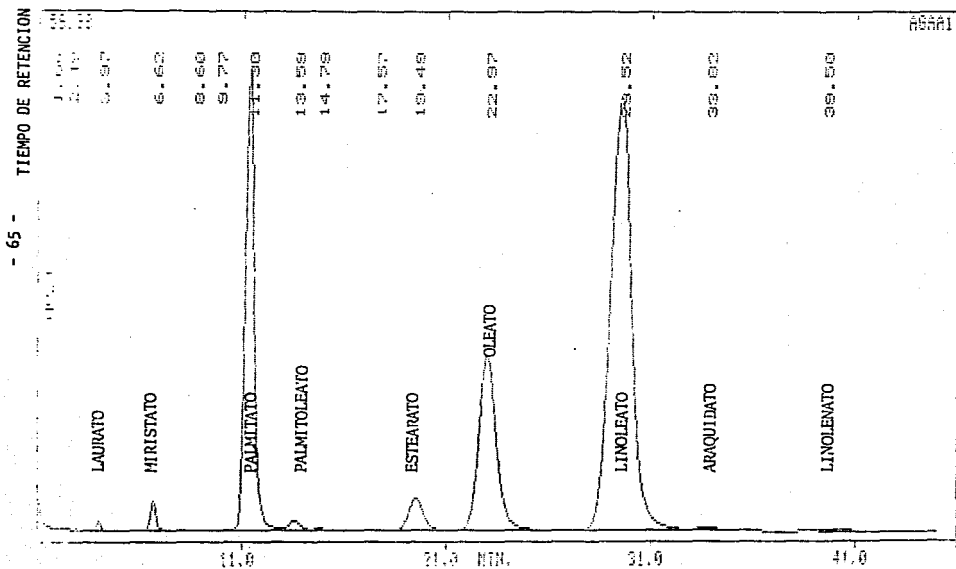
$$\begin{array}{ll} dR_{\text{oleato}} = 116 \text{ mm} & dR_{\text{estearato}} = 99 \text{ mm} \\ b = 10 \text{ mm} & a = 8 \text{ mm} \end{array}$$

$$\text{sustituyendo: } R = 2 (116-99)/(8 + 10) = \underline{1.88}$$

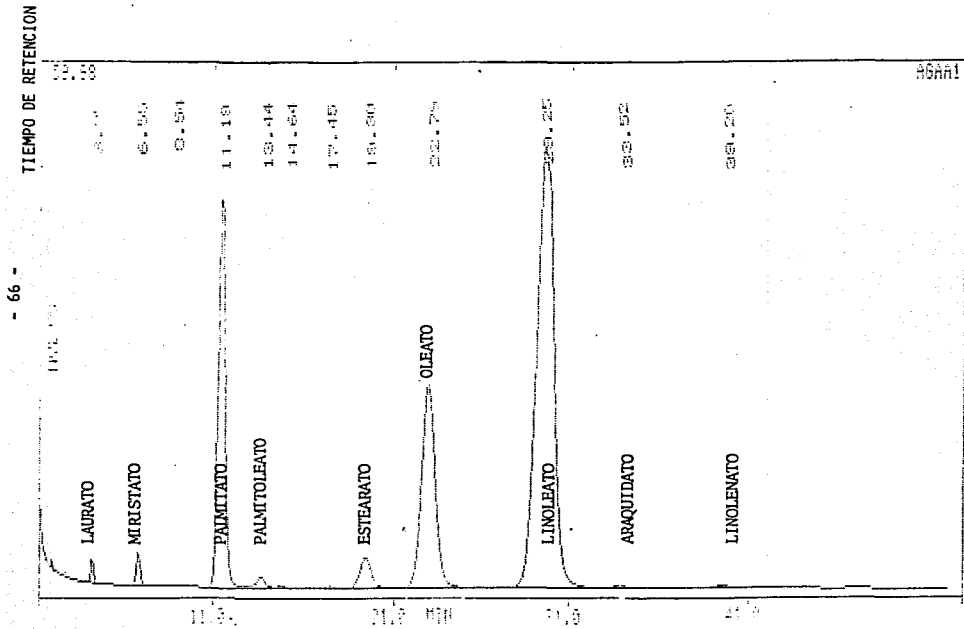
La eficiencia de la columna, medida como el No. de platos teóricos dió un valor de 2450 y la resolución dió un valor de 1.88; comparando estos valores con los recomendados en la literatura⁽¹⁷⁾ de 2000 platos reóricos como mínimo y una resolución mínima de 1.25. para considerar el método como válido y adecuado para el análisis, se puede ver que se cumple con estas recomendaciones.

B) Los cromatogramas 4, 5 y 6 son los que se obtuvieron para las muestras de referencia de aceite de algodón "LANFI", "A y C" e "HINSA". Los cromatogramas No. 7 y 8 son los que se obtuvieron para las muestras de referencia de aceite de soya "LANFI" y "A y C". La composi-

CROMATOGRAMA No. 4 MUESTRA DE REFERENCIA "ACEITE DE ALGODON LANFI"

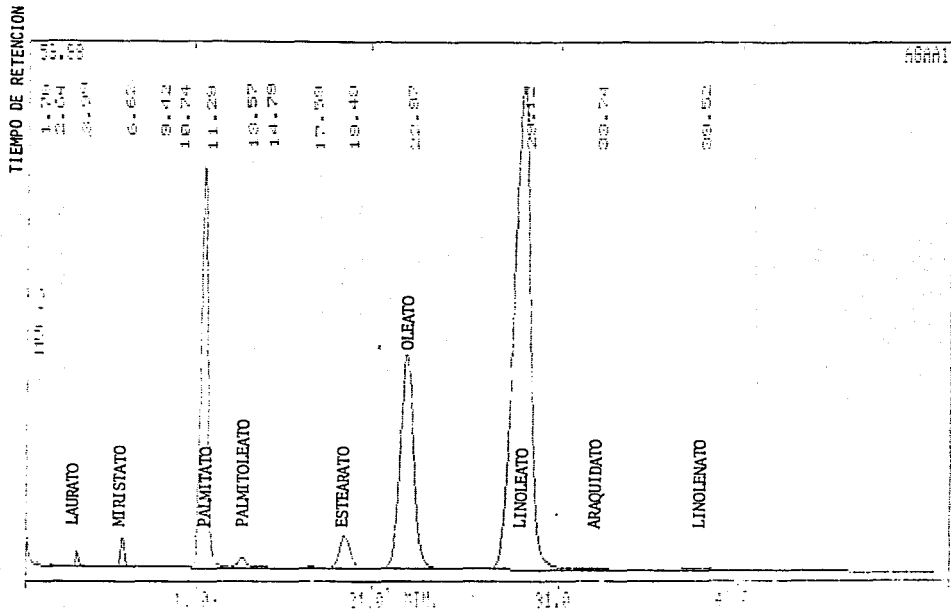


CROMATOGRAMA No. 5 MUESTRA DE REFERENCIA "ACEITE DE ALGODON "A Y C"



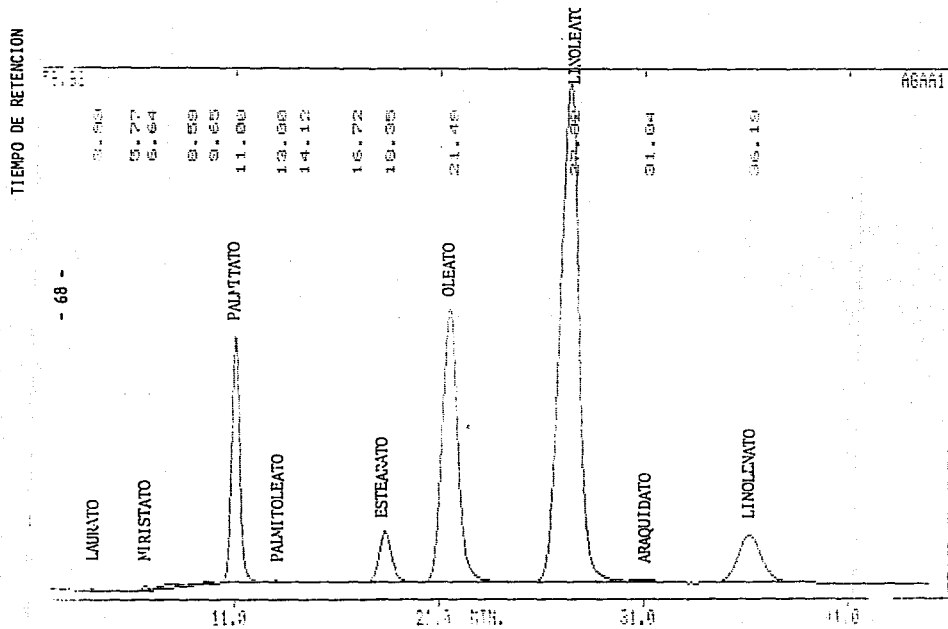
CROMATOGRAMA No. 6 MUESTRA DE REFERENCIA "ACEITE DE ALGODON HINSA"

- 67 -



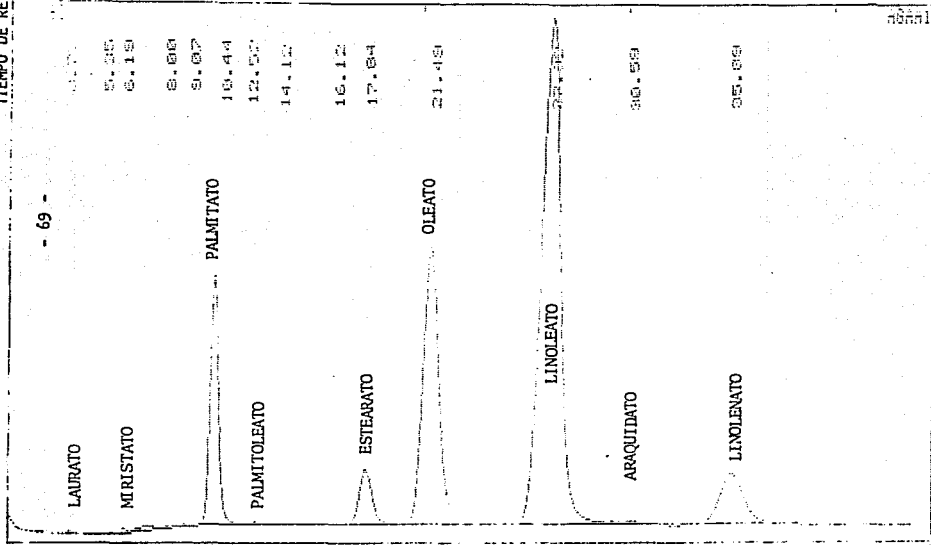
50001

CROMATOGRAMA No. 7 MUESTRA DE REFERENCIA "ACEITE DE SOYA LANFI"



CROMATOGRAMA No. 8 MUESTRA DE REFERENCIA "ACEITE DE SOYA A Y C"

TIEMPO DE RETENCION



- 69 -

18881

Tabla No. 2: Composición en % en peso de los ésteres metílicos de ácidos grasos de las muestras de referencia, así como comparación con valores reportados en la literatura. (6)

ACEITE	ACEITE DE ALGODON "LANFI"	ACEITE DE ALGODON "A y C"	ACEITE DE ALGODON "HINSA"	ACEITE DE ALGODON REPORTADO	ACEITE DE SOYA "LANFI"	ACEITE DE SOYA "HINSA"	ACEITE DE SOYA REPORTADO
C10:0	tzas *	tzas *	tzas *	---	---	---	---
C12:0	0.20	0.32	0.26	---	tzas *	tzas *	---
C14:0	0.89	0.93	0.90	0.90	0.10	0.11	---
C16:0	24.00	23.10	23.21	23.50	11.03	11.10	11.00
C16:1	0.61	0.59	0.60	---	0.13	0.10	---
C18:0	2.54	2.45	2.48	2.50	3.90	4.00	4.00
C18:1	17.42	17.85	17.80	18.00	23.30	23.10	25.00
C18:2	53.58	54.01	54.12	54.00	52.08	51.89	50.00
C18:3	0.29	0.31	0.26	0.30	8.90	9.13	8.00
C20:0	0.35	0.30	0.28	0.30	0.38	0.35	0.40

* Tzas: Valores menores a 10^{-2}

ción obtenida para cada una de estas muestras de referencia se reporta en la tabla No. 2, en la cual se observa lo siguiente:

-Para las tres muestras de aceite de algodón los valores obtenidos son muy parecidos. Igual sucede con las dos muestras de referencia de aceite de soya.

-Los valores obtenidos para palmitato y linolenato son los más constantes y son los que más diferencia tienen entre el aceite de algodón y el aceite de soya, por lo cual estos dos componentes pueden ser utilizados para detectar la pureza o composición de mezclas de estos dos aceites.

-En la misma tabla No. 2 se presentan los valores reportados en la literatura ⁽⁶⁾ para el aceite de algodón y el de soya. Comparando con los valores obtenidos para las muestras de referencia se observa que estos valores prácticamente son iguales, tanto para el aceite de algodón como para el aceite de soya, lo cual indica que el método aplicado es objetivo. Asimismo se observa que para el caso de aceite de algodón se obtienen trazas de C10:0 y 0.26 % de C12:0 que no están reportados en la referencia y para el caso del aceite de soya se obtienen trazas de C12:0 y 0.1 % de C14:0 que no están reportados en la referencia. Esto se debe a que la referencia es una recopilación de información de hace algunos años y por lo cual no es actualizada. Realizando una búsqueda de información más reciente sobre la composición de ácidos grasos en grasas y aceites evaluada por cromatografía de gases, se encontró que efectivamente se ha reportado la presencia de los componentes en cuestión. ⁽¹⁸⁾

c) Los cromatogramas 9,10,11,12,13,14,15,16 y 17 son los que se obtuvie-

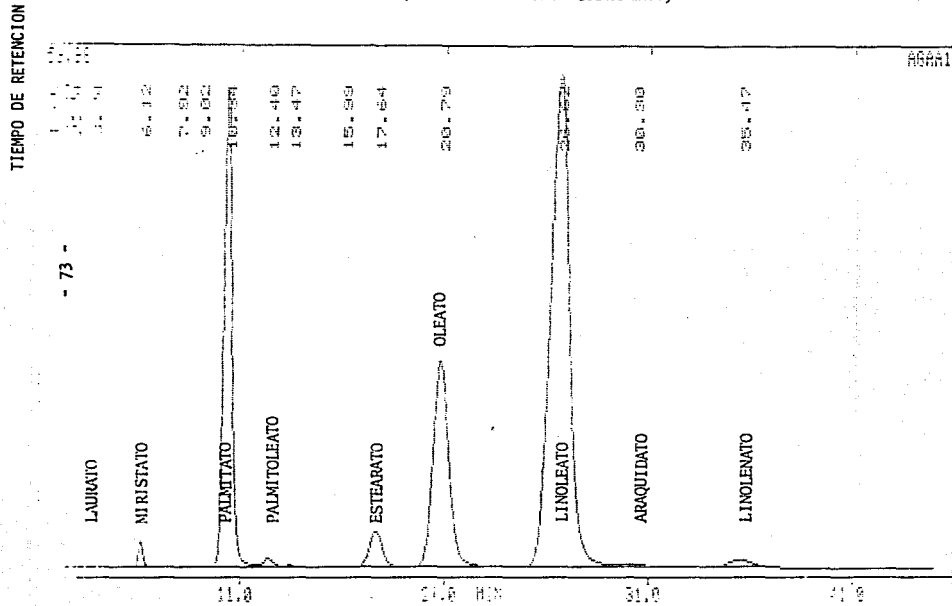
ron para las diferentes mezclas de aceite de algodón "LANFI" y aceite de soya "LANFI", que se prepararon como referencia. La composición para cada una de estas mezclas se reporta en la tabla No. 3, en la cual se observa lo siguiente:

-Cuando se incrementa el % de aceite de soya en la mezcla, los valores de laurato, miristato, palmitato, palmitoleato y linoleato disminuyen, siendo la disminución más notoria para el palmitato; y los valores de estearato, oleato y linolenato se incrementan, siendo el más notorio para el linolenato. El araquidato permanece constante ya que el contenido en ambos aceites es similar.

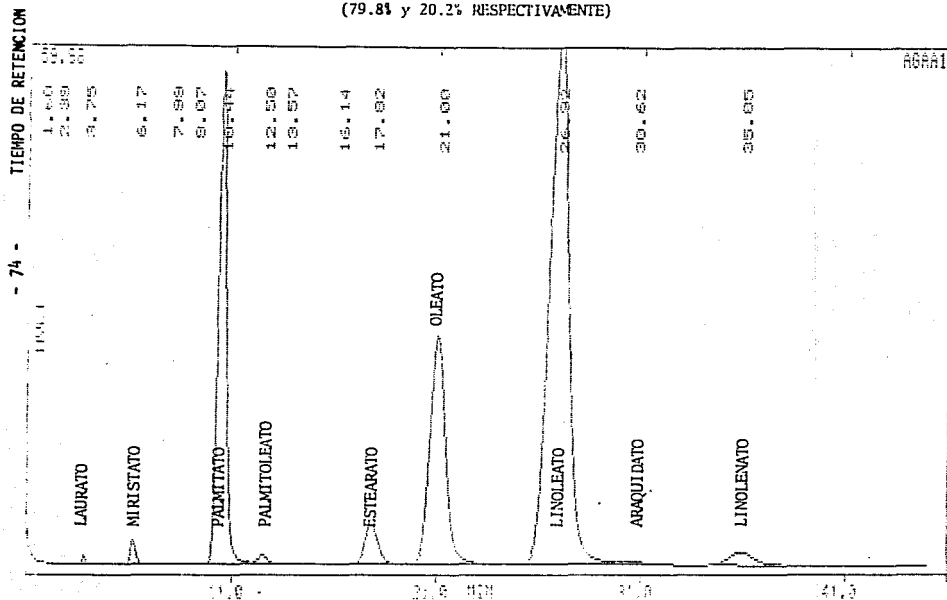
Utilizando los valores de palmitato y linolenato, se construye la tabla No.4 y utilizando la composición de la mezcla se construye la gráfica No 2, en la cual se obtienen dos líneas rectas inversas que indican una relación directamente proporcional entre el contenido de linolenato y el % de aceite de soya presente en la mezcla, esto es notorio en los cromatogramas en los cuales se visualiza el incremento del pico del linolenato a medida que el % de aceite de soya se incrementa.

Para el caso del palmitato la relación es inversamente proporcional al % de aceite de soya presente en la mezcla. este comportamiento es aprovechado para evaluar el % de aceite de soya presente en las muestras problema, mediante el cruzamiento de los dos valores (palmitato y linolenato) que se obtengan para las muestras problema. Si el cruzamiento no coincide para ambos valores la evaluación se hace utilizando el valor del linolenato, ya que este componente es característico del aceite de soya.

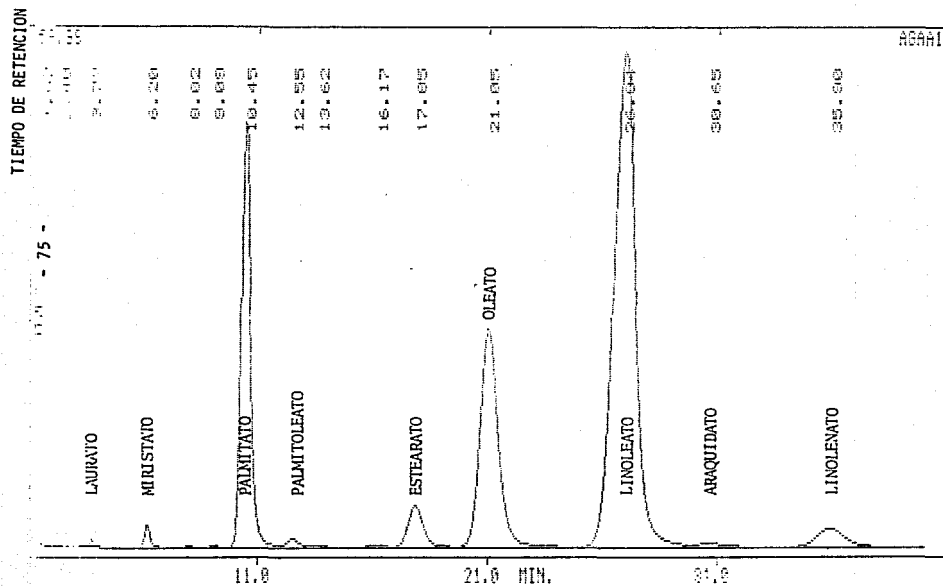
CROMATOGRAMA No. 9 MEZCLA DE ACEITE DE ALGODON Y ACEITE DE SOYA
(87.3% Y 12.7% RESPECTIVAMENTE)



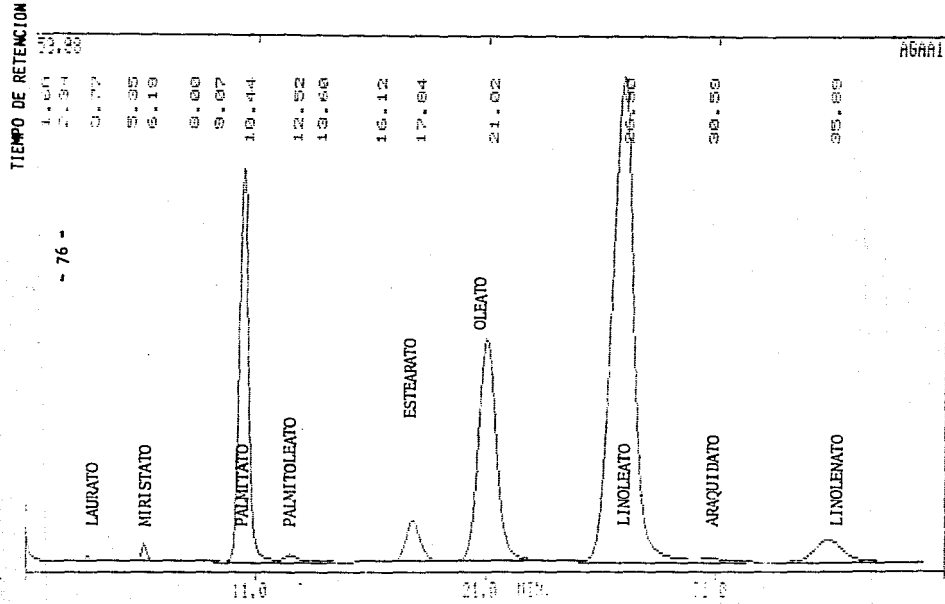
CROMATOGRAMA No. 10 MEZCLA DE ACEITE DE ALGODON Y ACEITE DE SOYA
(79.81 y 20.2% RESPECTIVAMENTE)



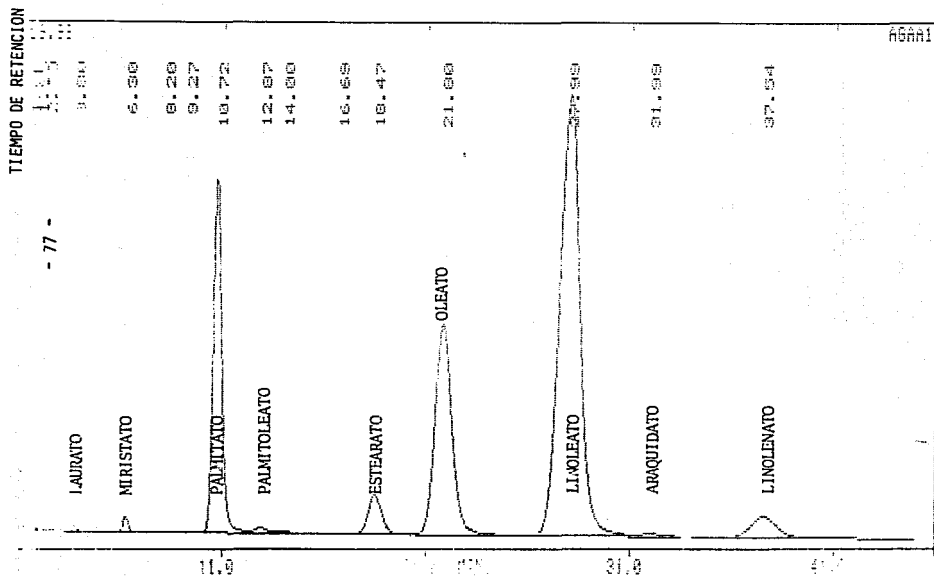
CROMATOGRAMA No. 11 MEZCLA DE ACEITE DE ALGODON Y ACEITE DE SOYA
(67.3% y 32.7% RESPECTIVAMENTE)



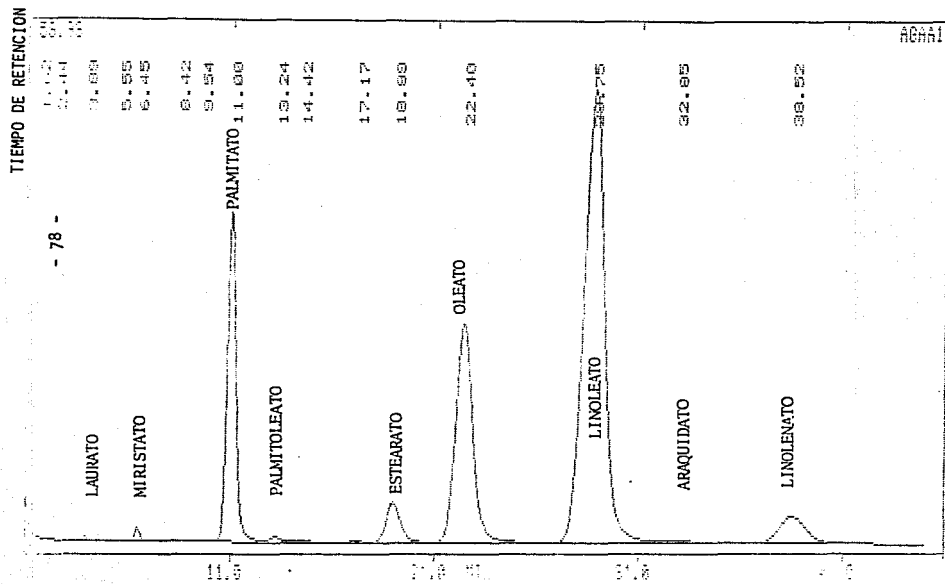
CROMATOGRAMA No. 12 MEZCLA DE ACEITE DE ALGODON Y ACEITE DE SOYA
(57.8% y 42.2% RESPECTIVAMENTE)



CROMATOGRAMA No. 13 MEZCLA DE ACEITE DE ALGODON Y ACEITE DE SOYA
(49.5% Y 50.5% RESPECTIVAMENTE)

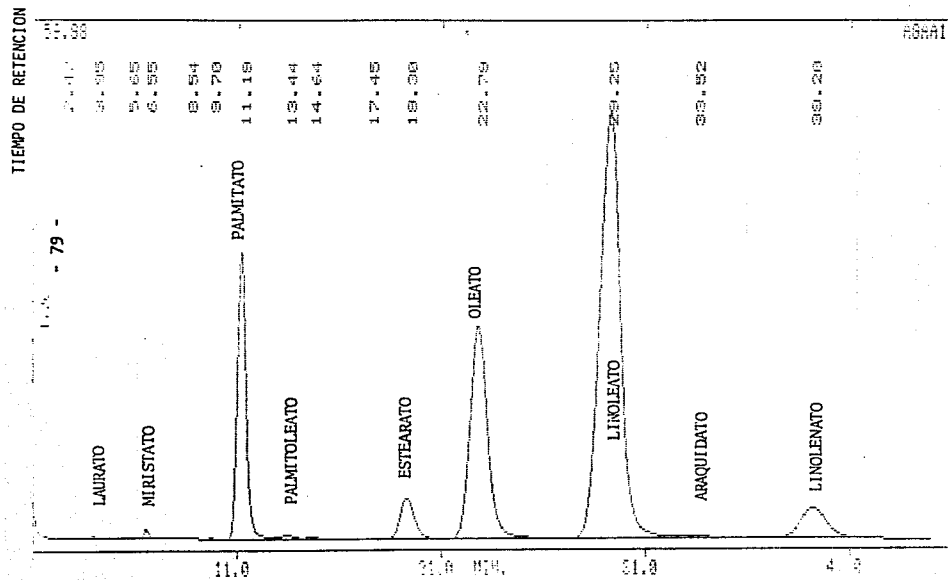


CROMATOGRAMA No. 14 MEZCLA DE ACEITE DE ALGODON Y ACEITE DE SOYA
(40% y 60% RESPECTIVAMENTE)



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CROMATOGRAMA No. 15 MEZCLA DE ACEITE DE ALMOND Y ACEITE DE SOYA
(29.7% Y 70.3% RESPECTIVAMENTE)



CROMATOGRAMA No. 16 MEZCLA DE ACEITE DE ALGODON Y ACEITE DE SOYA
(21.7% Y 78.5% RESPECTIVAMENTE)

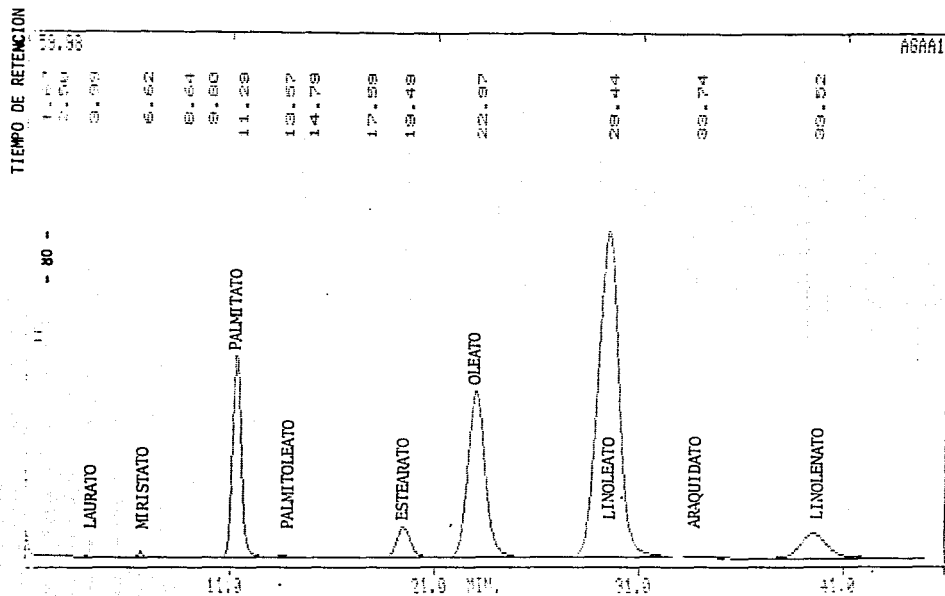


Tabla No. 3: Composición en % peso de los ésteres metílicos de ácidos grasos de las diferentes mezclas de aceite de algodón y soya.

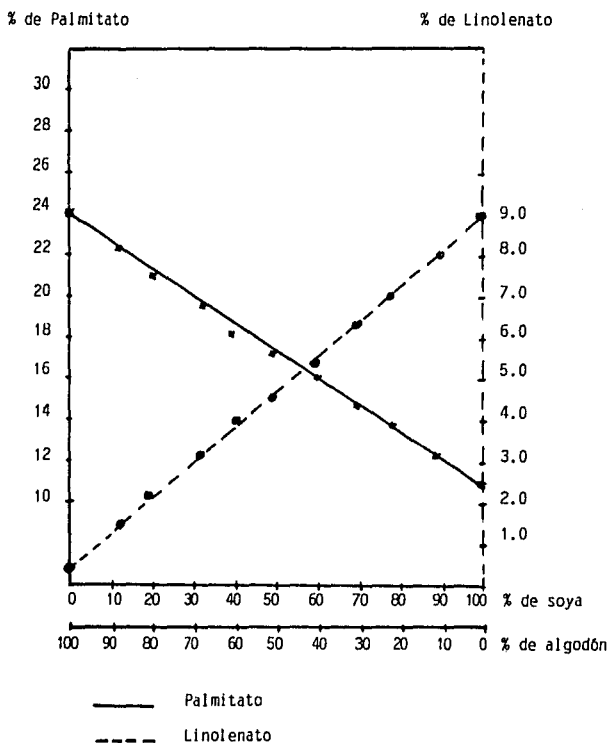
MEZCLA COMP.	AL 87.3% S. 12.7%	AL 79.8% S. 20.2%	AL 67.3% S. 32.7%	AL 57.8% S. 42.2%	AL 49.5% S. 50.5%	AL 40 % S. 60 %	AL 29.7% S. 70.3%	AL 21.7% S. 78.3%	AL 10.7% S. 89.3%
C10:0	tzas *	tzas *	tzas *	tzas *	tzas *	tzas *	tzas *	tzas *	---
C12:0	0.16	0.14	0.12	0.10	0.10	0.09	0.07	0.05	0.03
C14:0	0.72	0.64	0.56	0.51	0.48	0.41	0.31	0.26	0.20
C16:0	22.10	21.10	19.40	18.09	17.25	16.11	14.80	13.92	12.40
C16:1	0.54	0.53	0.51	0.48	0.43	0.35	0.29	0.23	0.19
C18:0	2.57	2.61	3.02	3.07	3.20	3.22	3.35	3.43	3.70
C18:1	18.50	19.00	19.53	20.06	20.58	21.00	21.50	22.01	22.57
C18:2	53.52	53.40	53.31	53.20	52.75	53.08	53.00	52.65	52.38
C18:3	1.40	2.20	3.10	4.01	4.50	5.30	6.31	7.00	8.06
C20:0	0.31	0.30	0.28	0.33	0.30	0.32	0.31	0.35	0.36

* tzas: Valores menores a 10

Tabla No. 4: Composición en % en peso de palmitato y linolenato para las diferentes mezclas de aceite de algodón y soya.

Ester metílico Mezcla	C16:0 (PALMITATO)	C18:3 (LINOLENATO)
Al: 100 %	24.00	0.29
Al: 87.3% S : 12.7%	22.10	1.40
Al: 79.8% S : 20.2%	21.10	2.20
Al: 67.3% S : 32.7%	19.40	3.10
Al: 57.8% S : 42.2%	18.09	4.01
Al: 49.5% S : 50.5%	17.25	4.50
Al: 40 % S : 60 %	16.11	5.30
Al: 29.7% S : 70.3%	14.80	6.31
Al: 21.7% S : 78.3%	13.92	7.00
Al: 10.7% S : 89.3%	12.40	8.06
S : 100 %	11.03	8.90

Gráfica No. 2. Comportamiento de la composición de Palmitato y Linolenato Vs. la composición de la mezcla de aceite de algodón y soya preparada.



4.3 Muestras problema.

Los cromatogramas 18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33 34 y 35 corresponden a las 18 muestras problema analizadas.

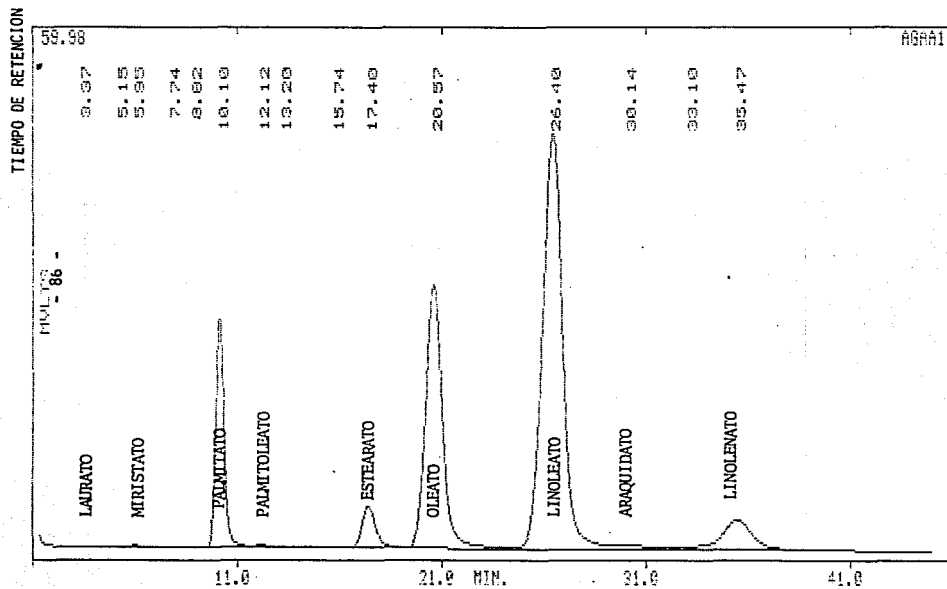
La composición obtenida para cada muestra problema se reporta en la tabla No 5 y en forma particular la composición de palmitato y linolenato se reportan en la tabla No. 6.

Realizando la evaluación del % de aceite de soya presente en las muestras problema mediante los valores de palmitato y linolenato, se obtienen los valores reportados en la misma tabla No. 6.

De los resultados obtenidos para las muestras problema se observa lo siguiente:

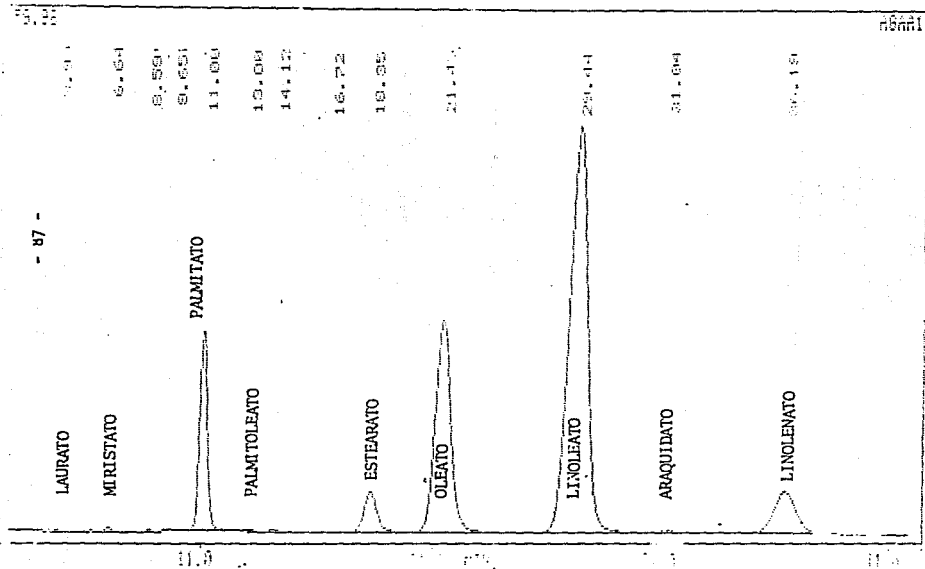
- A) 9 muestras analizadas en una primera fase: se detectó aceite de soya en todas las muestras, en valores que van desde un 28 % hasta un 100 %; y que en promedio se obtuvo un 56 % de aceite de soya / muestra problema.
- b) Segunda fase: Otras 9 muestras problema analizadas después de haber hablado con el productor: Se detectó aceite de soya en la primera muestra(65 %) y en todas las siguientes disminuyó significativamente hasta valores de 1 % e incluso 0 %. Esto indica que existía algún problema en la fabricación y que al hacersele notar el productor pudo corregirlo.

CROMATOGRAMA No. 18 MUESTRA PROBLEMA No. 1

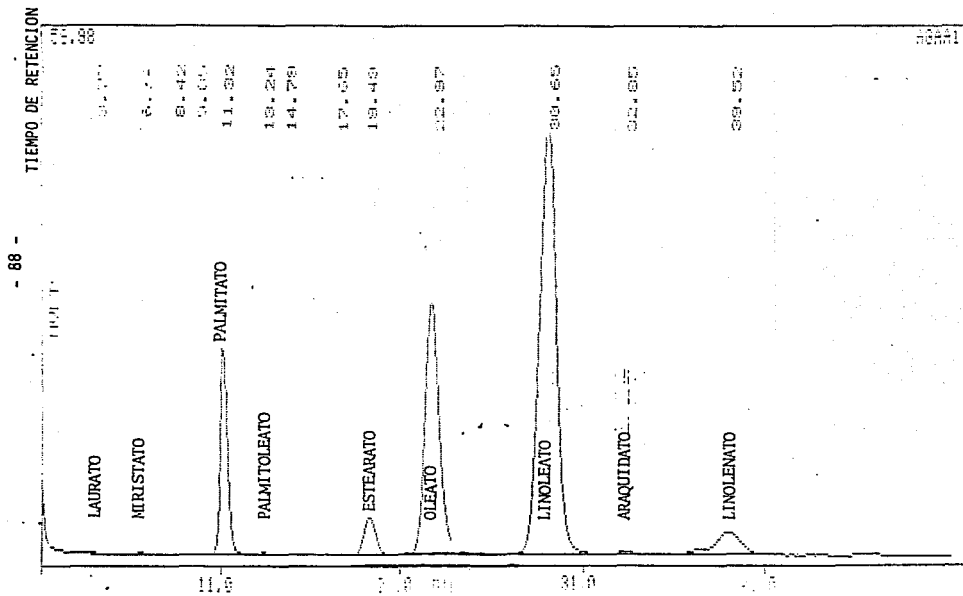


CROMATOGRAMA No. 19 MUESTRA PROBLEMA No. 2

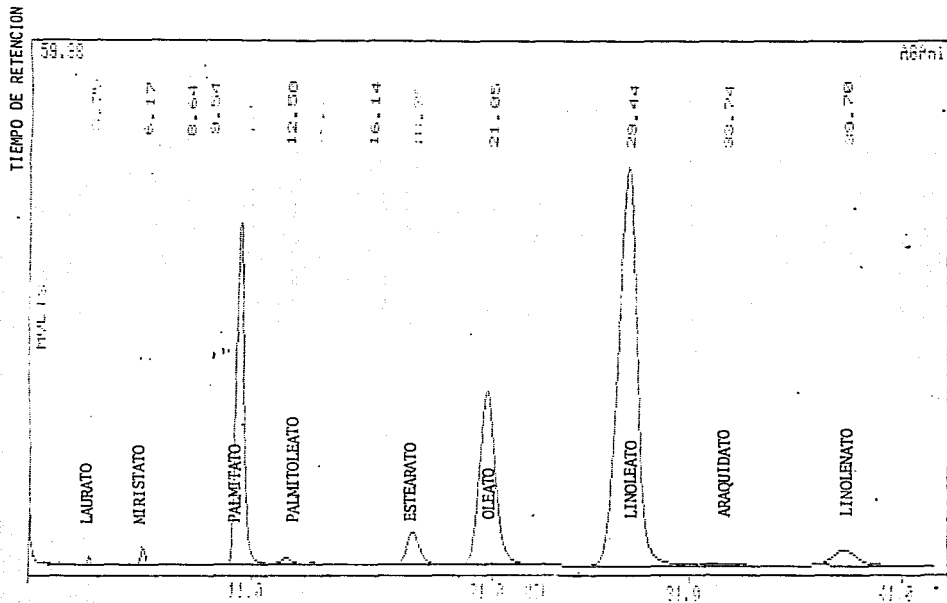
TIEMPO DE RETENCION



CROMATOGRAMA No. 20 MUESTRA PROBLEMA No. 3

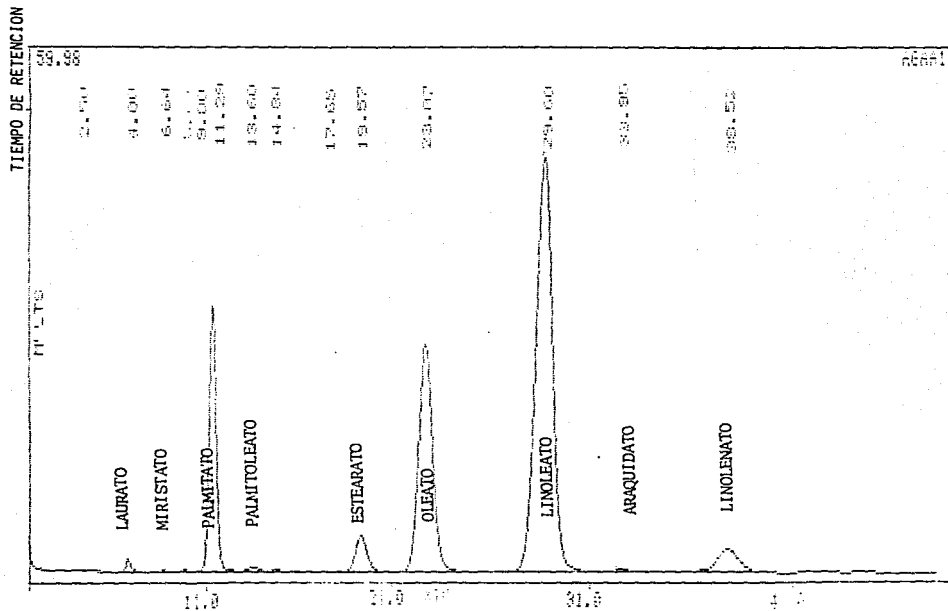


CROMATOGRAMA No. 21 MUESTRA PROBLEMA No. 4

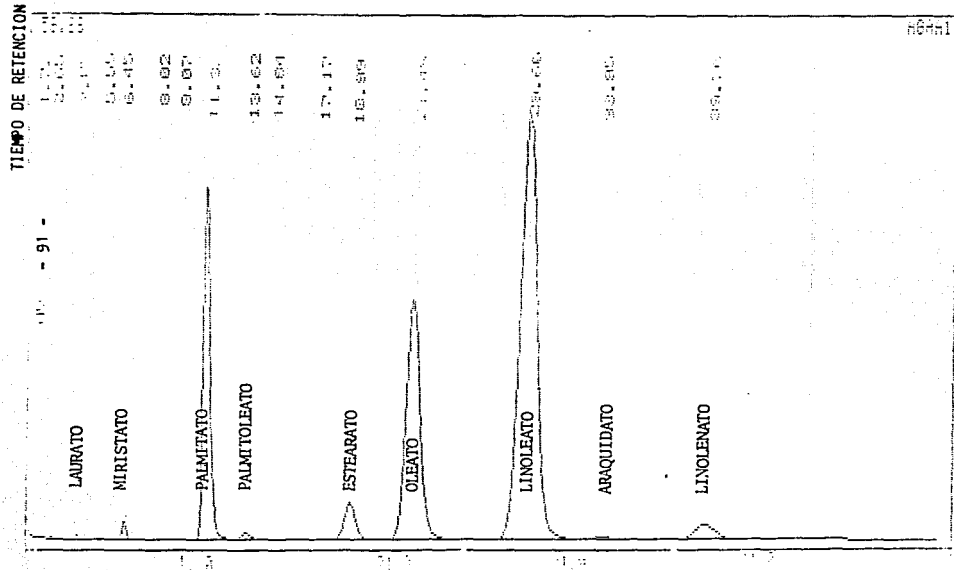


CROMATOGRAMA No. 22 MUESTRA PROBLEMA No. 5

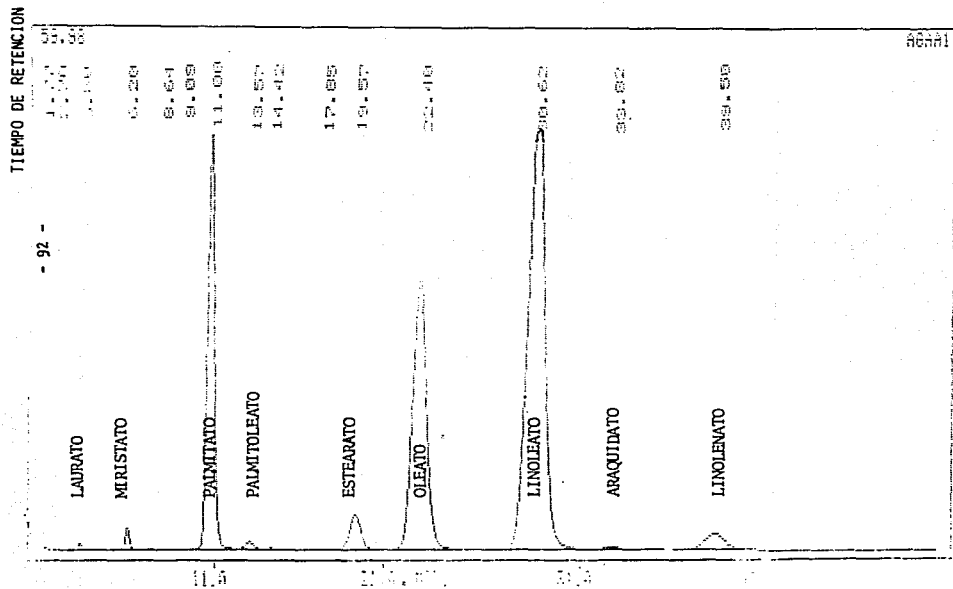
- 90 -



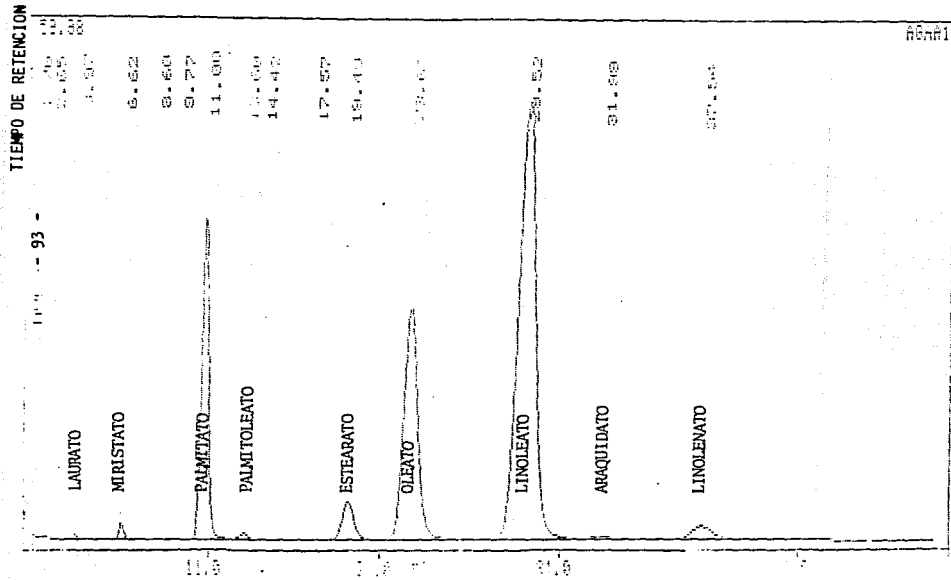
CROMATOGRAMA No. 23 MUESTRA PROBLEMA No. 6



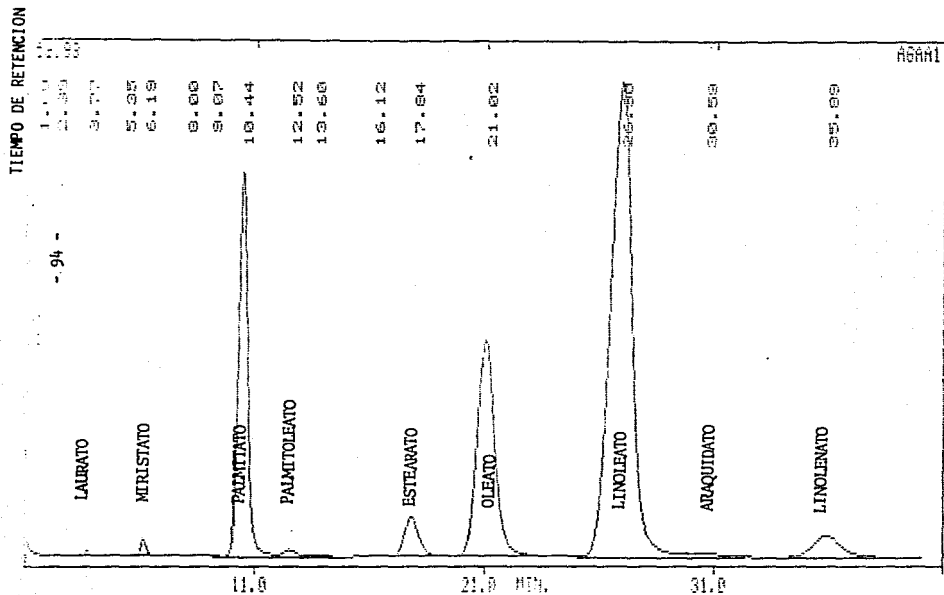
CROMATOGRAMA No. 24 MUESTRA PROBLEMA No. 7



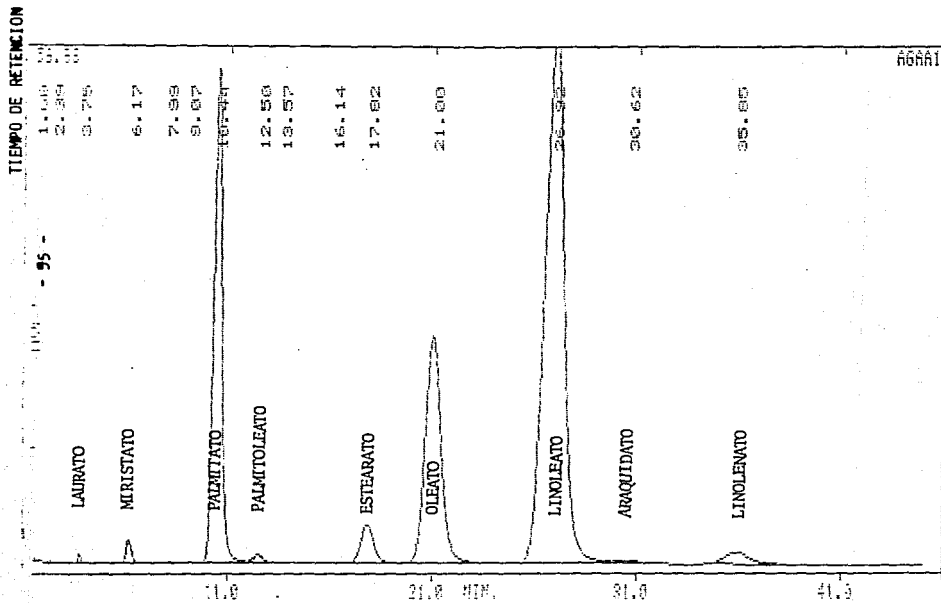
CROMATOGRAMA No. 25 MUESTRA PROBLEMA No. 8



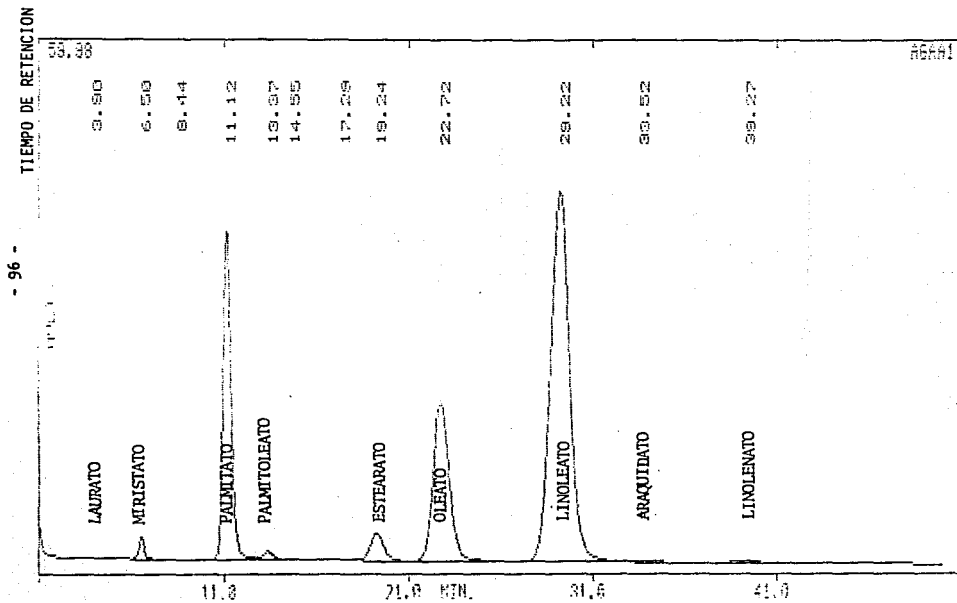
CROMATOGRAMA No. 26 MUESTRA PROBLEMA No. 9



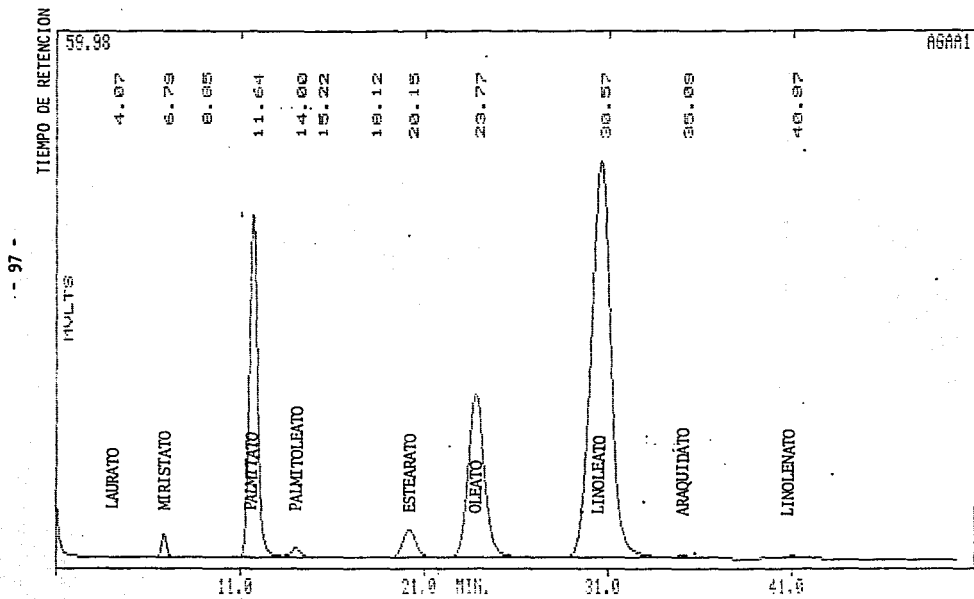
CROMATOGRAMA No. 27 MUESTRA PROBLEMA No. 10



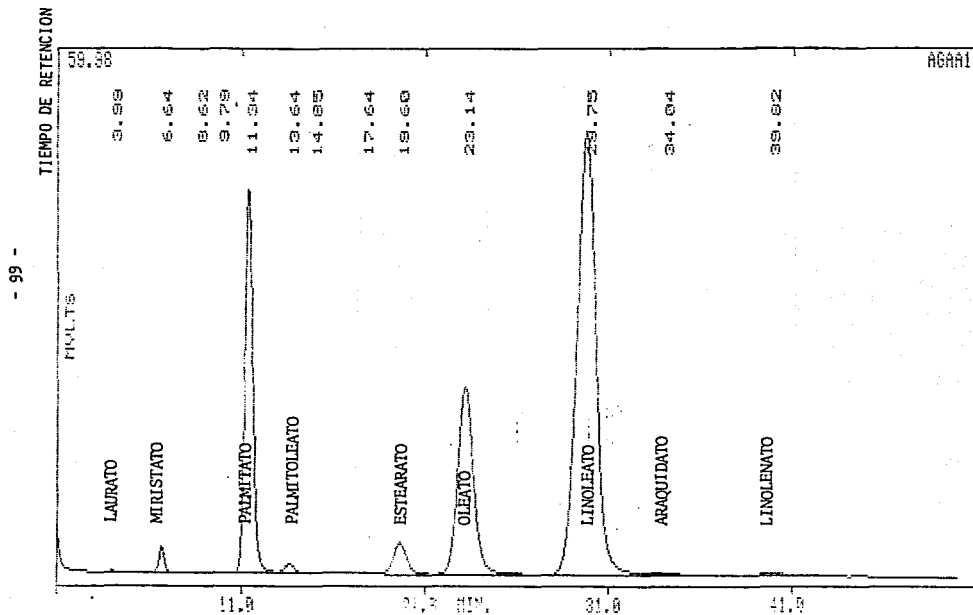
CROMATOGRAMA No. 28 MUESTRA PROBLEMA No. 11



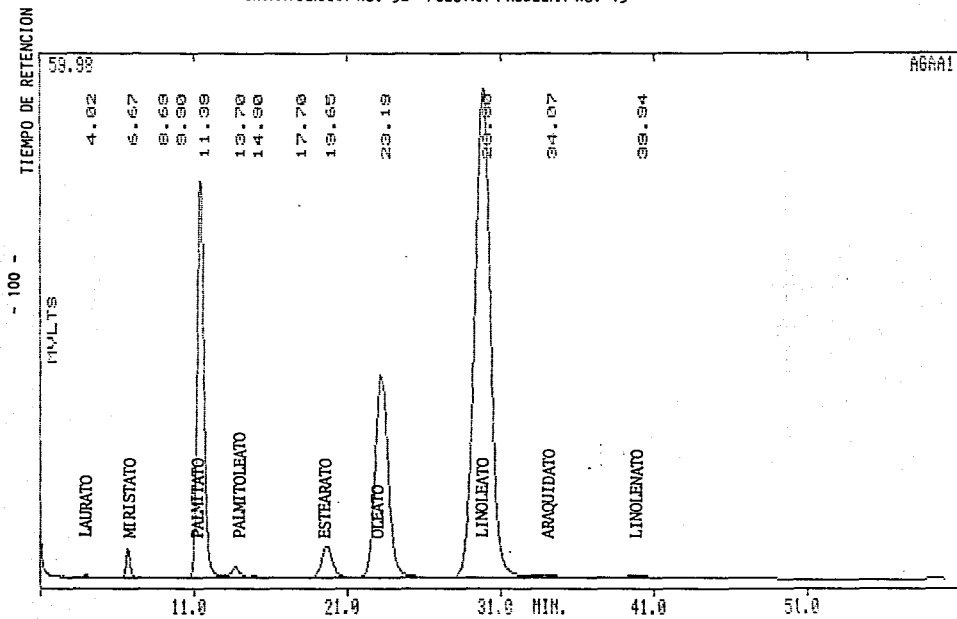
CROMATOGRAMA No. 29 MUESTRA PROBLEMA No. 12



CROMATOGRAMA No. 31 MUESTRA PROBLEMA No. 14

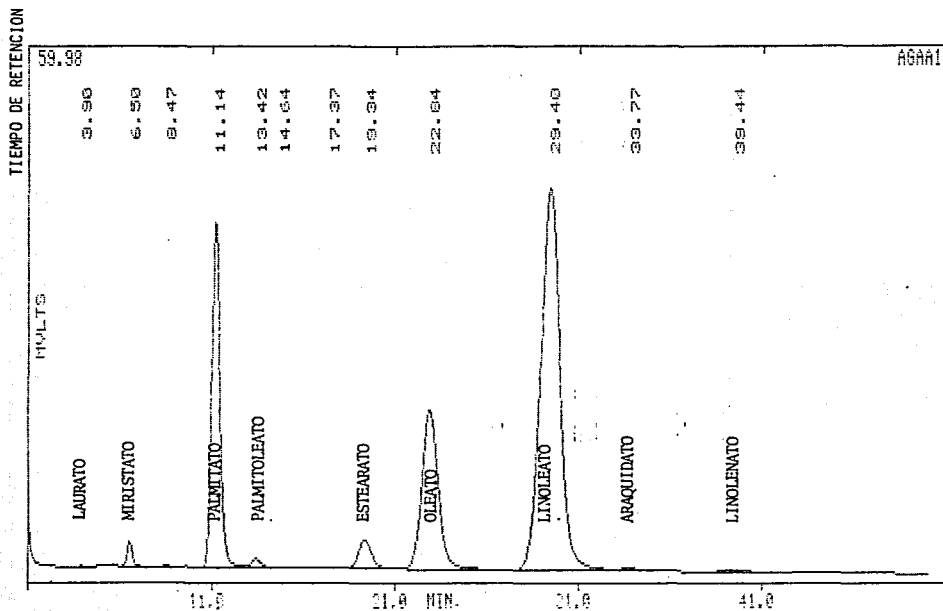


CROMATOGRAMA No. 32 MUESTRA PROBLEMA No. 15



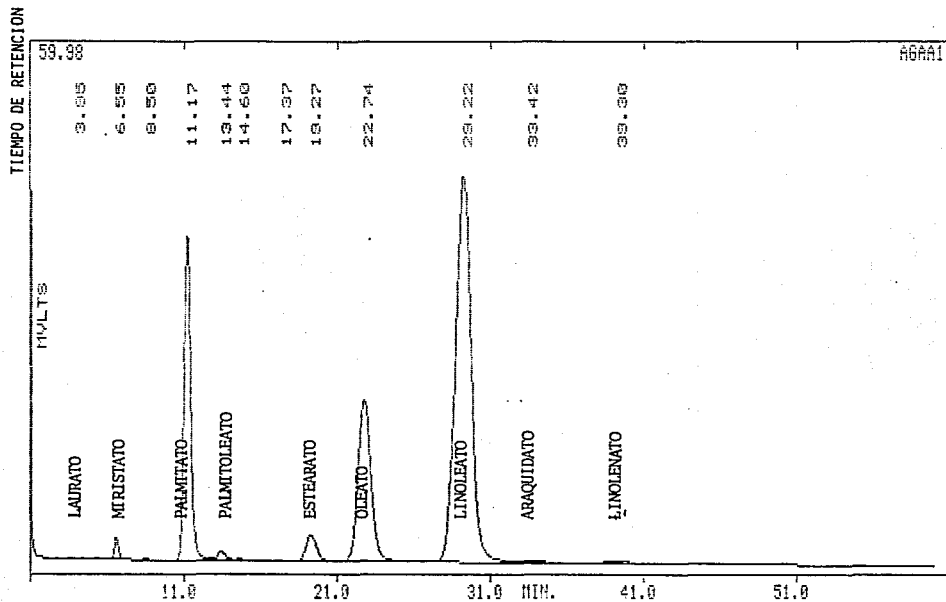
CROMATOGRAMA No. 33 MUESTRA PROBLEMA No. 16

- 101 -



CROMATOGRAMA No. 34 MUESTRA PPOBLEMA No. 17

102 -



CROMATOGRAMA No. 35 MUESTRA PROBLEMA No. 18

TIEMPO DE RETENCION

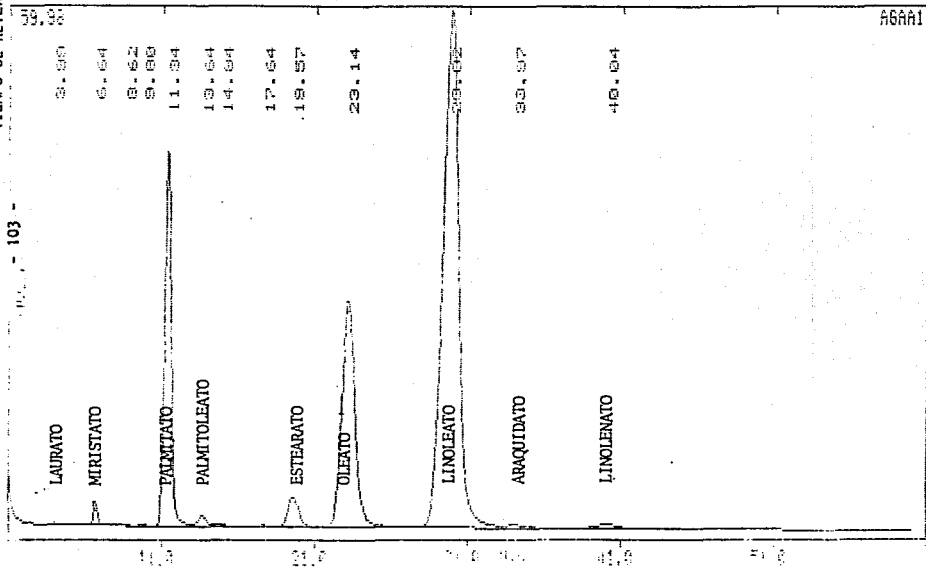


Tabla No. 5: Composición en % de peso de los ésteres metílicos de ácidos grasos de las muestras problema.

Muestra Comp.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C10:0	---	---	---	---	Tzas.*	tzas.*	tzas.*	tzas.*	tzas.*	tzas.*
C12:0	0.01	0.03	0.01	0.19	0.30	0.11	0.12	0.09	0.10	0.16
C14:0	0.15	0.10	0.11	0.61	0.01	0.57	0.62	0.51	0.53	0.57
C16:0	12.60	11.06	11.76	17.41	14.21	17.02	18.07	19.19	17.99	17.92
C16:1	0.17	0.09	0.14	0.58	0.31	0.45	0.49	0.52	0.51	0.57
C18:0	3.50	3.86	3.21	3.03	3.04	2.91	2.72	3.14	3.07	3.12
C18:1	22.37	22.81	23.89	19.07	23.36	23.46	24.29	19.30	20.11	18.86
C18:2	53.56	51.62	53.56	52.07	52.17	51.23	49.51	53.35	53.01	52.31
C18:3	6.98	9.02	5.97	5.91	5.40	2.94	3.12	2.67	4.02	5.05
C20:0	0.47	0.27	0.36	0.26	0.35	0.33	0.31	0.33	0.36	0.31

* Tzas: Valores menores a 10^{-2}

Tabla No. 5 Continuación.....

Muestra Comp.	11	12	13	14	15	16	17	18
C10:0	---	---	---	---	---	---	---	---
C12:0	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02
C14:0	0.83	0.84	0.84	0.83	0.80	0.90	0.84	0.67
C16:0	22.31	20.69	20.40	20.19	19.48	20.37	19.82	19.20
C16:1	0.67	0.68	0.60	0.72	0.65	0.64	0.67	0.60
C18:0	2.55	2.81	2.76	2.73	2.57	2.83	2.55	2.26
C18:1	19.19	18.94	19.15	19.66	19.73	19.11	19.39	20.73
C18:2	53.21	54.10	54.19	54.25	55.10	55.16	55.86	55.09
C18:3	0.33	0.44	0.46	0.41	0.34	0.38	0.33	0.51
C20:0	0.32	0.28	0.35	0.31	0.33	0.30	0.34	0.31

Tabla No. 6: Composición en % en peso de palmitato y linolenato para las muestras problema y % de soya detectado en ellas.

Ester Metílico Muestra	C16:0 (PALMITATO)	C18:3 (LINOLENATO)	% SOYA DETECTADO
1	12.60	6.98	77
2	11.06	9.02	100
3	11.76	5.97	66
4	17.41	5.91	66
5	14.21	5.40	58
6	17.02	2.94	32
7	18.07	3.12	33
8	19.19	2.67	28
9	17.99	4.02	43
10	17.92	5.85	65
11	22.31	0.33	0
12	20.69	0.44	1
13	20.40	0.46	1
14	20.19	0.41	1
15	19.48	0.34	0
16	20.37	0.38	0
17	19.82	0.33	0
18	19.20	0.51	1

CAPITULO V CONCLUSIONES

- 5.1 El método cromatográfico que se aplicó para el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos de aceites, es objetivo, de adecuada sensibilidad y apropiado para los fines del presente estudio.
- 5.2 Se demostró que es factible detectar mezclas de aceite de algodón y aceite de soya, mediante la determinación de la composición de los ésteres metílicos de ácidos grasos y en particular con el contenido de palmitato y linolenato.
- 5.3 En las muestras problema de aceite de algodón que se analizaron, se detectó que efectivamente no era aceite puro de algodón y que eran mezclas con aceite de soya en porcentajes que fluctuaron desde 28 % hasta el 100 %, situación que al quedar de manifiesto e informar al productor se pudo corregir.
- 5.4 Recomendación. Implementar este método de análisis a los métodos de control de calidad de la planta y aplicarlo como análisis de verificación o de monitoreo, para la aceptación o rechazo de los lotes de aceite de algodón.
- 5.5 Es extensiva la aplicación de este método a todas aquellas industrias que utilicen aceites y quieran verificar la pureza o composición de los mismos.

ANEXO

"PREPARACION Y PREACONDICIONAMIENTO DE LA COLUMNA"

1.-Preparación.

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

Para preparar el empaque es necesario conocer la capacidad del tubo que se va a utilizar y la manera más práctica de conocerla es llenando una unidad de éste, un metro por ejemplo, con soporte y una vez que está bien lleno, se vacía cuidadosamente y se pesa. Para tubos de acero inoxidable de 1/8 de pulgada de diámetro este valor se reporta ⁽³⁾ alrededor de 2.0 g/m. Mediante este dato se efectúan los cálculos para preparar la cantidad de empaque:

Capacidad del tubo = 2.0 g/m

Longitud a utilizar = 3.0 m

merma o pérdida al
empacar = 10 %

Entonces la cantidad de empaque necesario será:

$$2.0 \times 3.0 \times 1.1 = 6.6 \text{ g de empaque}$$

Si la fase estacionaria(DEGS) se requiere al 20 % entonces:

$$\text{Fase líquida} = 6.6 \times 0.2 = 1.32 \text{ g.}$$

$$\text{Soporte} = 6.6 \times 0.8 = 5.28 \text{ g.}$$

Para conocer el disolvente y la cantidad de éste, que se necesita, se recurre a tablas existentes en la literatura ⁽³⁾. Para la fase de succinato de dietilén glicol(DEGS) se recomienda utilizar cloroformo(aproximadamente 10 ml.para este caso); cantidades a pesar:

5.28 g de soporte(chromosorb W-AW-DMCS 80/100)

1.32 g de fase líquida(DEGS)

10 ml de cloroformo.

Procedimiento: Pesar el soporte en un matraz de bola de 150 ml, pesar en un vaso de precipitados de 25 ml la fase líquida(DEGS) y medir en una probeta los 10 ml de cloroformo.

La fase líquida se disuelve en la cantidad mínima posible de disolvente y se agrega al matraz de bola, que contiene el soporte, procurando que el líquido no resbale por las paredes del matraz para evitar pérdidas de la fase. Con el disolvente restante se lava el vaso de precipitados, agregando el disolvente de cada lavado al matraz de bola. Se coloca el matraz de bola a un rotavapor, para eliminar el disolvente y dejar que la fase líquida recubra homogéneamente las partículas del soporte, éste paso requiere de especial atención ya que si el disolvente se elimina rápidamente el soporte no quedará uniformemente recubierto, la evaporación debe ser lenta. Así mismo, se debe tener cuidado de que el giro del matraz sea a la velocidad adecuada, ya que si éste gira muy rápido se corre el riesgo de romper las partículas y si es muy lento, el recubrimiento del soporte no será homogéneo. Debe evaporarse la totalidad del disolvente.

Preparación del tubo: Cortar el tubo con la longitud deseada, abocardar los extremos, eliminar la grasa y las rebabas de metal del interior, pasando primero 50 a 75 ml de una solución de ácido clorhídrico al 10 %, en seguida se pasa 100 a 150 ml de agua destilada, con el objeto de eliminar los residuos de ácido, a continuación se pasan 75 -100 ml de acetona para eliminar la grasa y humedad que contenga el tubo y finalmente se seca con una corrien-

te de aire.

Llenado de la columna: Tapar un extremo del tubo con un pedazo de lana silanizada y conectar a la línea de vacío y adaptar un embudo al otro extremo. Adicionar pequeñas cantidades de empaque y simultáneamente vibrar la columna a todo lo largo para lograr que el empaque baje y de esta forma se vaya llenando el tubo. Esta operación se repite hasta que se observe que ya no entre más empaque en el tubo, en ese momento se deja de agregar el empaque y se vibra la columna cinco minutos más, si el nivel del empaque ha bajado, se agrega un poco más de empaque y de nuevo se vibra cinco minutos más, esto se repite hasta tener la seguridad de que la columna esta completamente llena.

Una vez realizada la operación anterior, se desconecta el vacío, se quita el embudo y el extremo se tapa con lana de vidrio silanizada. Se colocan las tuercas y ferrules necesarios, se enrolla dándole la forma que se requiera, según el equipo a utilizar y por último se coloca una etiqueta indicando las características de la columna así como el flujo que tendrá.

2.-Preacondicionamiento.

Cuando una columna es nueva se somete a un preacondicionamiento (cocinar la columna), estableciendo para ello el siguiente procedimiento:

Se coloca la columna en el horno del cromatógrafo, se conecta al inyector, dejando libre la conexión del detector, se marca con una flecha (en la columna) la dirección del flujo del nitrógeno, se colo-

ca las condiciones del flujo y presión del nitrógeno a los valores que indica el método y se establece un programa de temperatura:

(flujo del nitrógeno = 33 ml/min)

temperatura del horno inicial	= 40°C
temperatura del horno final	= 190°C
temperatura del inyector	= 150°C
temperatura del detector	= 150°C
vel. de incremento de la temp.	= 2°C/min.

Para ello establecer el diálogo en el tablero del equipo en la forma descrita anteriormente (página 54).

Cuando la lampara READY/RUN BOTON se encienda, oprimir el botón para que se inicie el programa, una vez que la temperatura final alcanza el valor de 150°C, dejar a estas condiciones el equipo durante 8 hrs. como mínimo, al terminar el tiempo, la columna estará en condiciones de ser utilizada.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Anónimo, 1975 'Fundamentos de cromatografía de gases' Publicación de Varian S.A.
- 2.- Anónimo, 1970 'Guide to fatty acid methyl ester separation by gas chromatography' Chromatography/Lipids (Supelco Co)4, No. 3: 1-4
- 3.- Anónimo, 1980 'manual práctico de cromatografía de gases' Manual de apoyo. Publicación de Bufete Químico.
- 4.- AOAC 1980 'Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist'. Cap. 28-060-068 paginas 514-515
- 5.- AOCS 1973 'Official Methods of Analysis of the American Oil Chemistry Society' Ce 1-62 pags. 1-4 y Ce 2-66 pags. 1-2
- 6.- Badui Dergal, S. 1981 'Química de los alimentos' Ed. Alhambra Mexicana. pags. 161-203.
- 7.- Boyne, A.W. and Duncan, W.R.H. 1970 "Computer treatment of gas liquid chromatographic data, with special reference to fatty acid methyl esters" J. Lipids Res. 11, No. 4 :293-300.
- 8.- Castillo Santisteban, B. "Coordinador del departamento de desarrollo analítico de la planta elaboradora de mayonesa" Comunicación personal.
- 9.- Etre L.S., 1973 'practical gas chromatography for the users of Perkin-Elmer gas chromatographs' Publicación de Perkin-Elmer.
- 10.- Gavilán García Irma Cruz, 1984 "Determinación de impurezas en aceites comestibles Mexicanos" Tesis Fac. de Química, UNAM. pags 14-35
- 11.- Gurat Fernández Beksib, 1978 "Evaluación de la vida de anaquel del aceite de soya" Tesis Fac. de Química UNAM. pags. 11-15
- 12.- Haken J.K. 1975, "Stationary phases and the applicability of classifications and preferred phase schemes to fatty esters" J. of

Chrom. Sc. Vol 13 Sept: 430-439

- 13.- Mehlenbacher V.C. 1979. "Análisis de grasas y aceites" , Enciclopedia de la química industrial tomo 6 Ed. Urmo S.A. de ediciones España, pgs. 490-510
- 14.- Morrison X.R. and Smith L.M. 1964 , "Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron fluoride-methanol" , J. Lipid Res. 5-600:531-537
- 15.- NOM-F-4-1984. "Aceite comestible refinado de algodón" , Norma Oficial Mexicana(D.G.N.)
- 16.- NOM-F-252-1984. "Aceite refinado comestible puro de soya" , Norma Oficial Mexicana(D.G.N.)
- 17.- NOM-K-302-1972. "Método de prueba para determinar la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases" , Norma Oficial Mexicana(D.G.N.)
- 18.- Preston Seaton, Ackman G. Robert and Melcalfe L. 1977. "Análisis of fatty acids and their esters by chromatographic methods" (Reprints of selectes articles) , Ed. Preston publications, Inc.
- 19.- Preston Seaton and Pankratz E. Ronald, 1985 , "A guide to the analysis of fatty acids and their esters by chromatography" Ed. Polyscience Corporation.
- 20.- Santlarraga Lilia Ofella , 1974 , "método de análisis de aceites vegetales comestibles" , Tesis Fac. Química UNAM, pags. 35-41
- 21.- Sheppard Alan J. and Iverson John L. 1970. "Esterification of fatty acids for the gas-liquid chromatographic analysis" , J. of chrom. Sc. Vol 13 Sept:448-452

- 22.- Strocchi A. 1981. 'fatty acid composition and triglyceride structure of corn oil, hydrogenated corn oil and corn oil margarine', J. of F. Sc. 1: 36-39
- 23.- Tranchant Jean, 1972 , 'Manual práctico de cromatografía de gases' , Ed. Toray-Masson, S.A. Barcelona
- 24.- Vargas de la Rosa Ignacio , 1983, 'Tecnología de grasas y aceites' , tesis Fac. de Química, UNAM, pags. 76-96
- 25.- Welhrauch J.L. and Brignoli Carol A. 1977 , 'fatty acid composition of margarines, processed fats and oil' , Food technology-Feb: 80-85.
- 26.- Zafra Ramírez silvia P. 1979 , 'Estudio de los aceites Mexicanos comestibles por resonancia magnética nuclear', Tesis Fac. de Química, UNAM, pags 7-12.