

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
(UNAN – León)



FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TEMA:

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LOS PRODUCTOS LACTEOS ELABORADOS EN NICARAGUA POR CROMATOGRAFIA DE GASES CON COLUMNA CAPILAR.

MONOGRAFÍA PRESENTADA POR:

Dr. Heysel del Carmen Tórrez Campos

TUTOR:

Dr. José María Cabezas Lacayo

PREVIO OPCIÓN AL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN QUÍMICA

León – Nicaragua, Enero de 2006

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo, la colaboración y conocimiento que de una u otra forma aportaron para su culminación las siguientes personas:

- José María cabezas por el aporte de sus conocimientos científico técnico brindado en la realización de esta tesis.
- Al Msc. Lino Arguello por brindar su oportuna ayuda para el manejo adecuado de la estación química.
- Al Dr. Felipe Urbina y sus colaboradores por procesarnos las muestras de liofilización en el laboratorio de antígenos bacterianos.
- A mis compañeros y amigos por su colaboración en el desarrollo de esta tesis.

DEDICATORIA

A Dios nuestro señor que gracias a su voluntad me ha permitido culminar esta tesis.

A mi familia, mis padres y mi hermano, que sin su apoyo, esfuerzo y sacrificio incondicional no hubiese sido posible la culminación de mi carrera.

RESUMEN

Se desarrolló una metodología que permite verificar si se ha adicionado o no y si las adiciones de grasas vegetales a los productos lácteos están de acuerdo a los declarados por el fabricante y si mejoran o no la calidad del producto.

Se extrajeron las grasas de leche, crema y quesos procesados artesanal e industrialmente y se les determinó a cada uno de ellos por cromatografía de gas con columna su composición porcentual de los ácidos grasos láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoléico y linolénico.

INDICE

AGRADECIMIENTO	I
DEDICATORIA	II
RESUMEN	III
I. INTRODUCCION	3
II. JUSTIFICACION	5
III. OBJETIVOS	6
IV. MARCO TEORICO	7
IV.1. GENERALIDADES DE LA LECHE	7
IV.2. COMPOSICION QUIMICA DE LA LECHE.....	7
IV.3. USOS DE PRODUCTOS LACTEOS.....	10
IV.3.1. USOS COMESTIBLES.....	10
IV.4. GRASAS Y ACEITES	12
IV.4.1. GENERALIDADES.....	12
IV.4.2. PROPIEDADES FISICAS DE LAS GRASAS.....	14
IV.4.3. PROPIEDADES QUIMICAS DE LAS GRASAS.....	14
IV.4.3.1. ESTERIFICACION Y TRANSESTERIFICACION	14
IV.4.3.2. QUIMICA DE METANOLISIS DE GLICERIDOS.....	15
IV.4.3.3. TRANSESTERIFICACIÓN.....	16
IV.4.3.4. METODOS DE TRANSESTERIFICACION.....	17
IV.4.3.4.1. TRANSESTERIFICACION ACIDA.....	17
IV.4.3.4.2. TRASESTERIFICACION BASICA	18
IV.4.3.5. ALCOHOLISIS ACIDA VERSUS ALCOHOLISIS BASICA DE GRASAS	18
IV.5. PROCESOS DE EXTRACCIÓN DE GRASAS EN LACTEOS	20
IV.5.1. METODOS CLASICOS DE EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACION DE GRASAS EN PRODUCTOS LACTEOS.....	21
IV.5.1.1. MÉTODO BABCOCK.....	21
IV.5.1.2. MÉTODO GERBER.....	21
IV.6. ANALISIS DE ACIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFIA GAS- LÍQUIDO	22
V. PARTE EXPERIMENTAL	24
V.1. REACTIVOS Y EQUIPOS.....	24
V.2. PRODUCTOS LACTEOS ANALIZADOS.....	27
VI. METODOLOGIA	28
VI.1. EXTRACCIÓN DE GRASAS DE LECHE Y SUS DERIVADOS.....	33
VI.1.1. EXTRACCION DE GRASAS EN LECHE.....	33
VI.1.1.1. MÉTODO DE BABCOCK MODIFICADO:.....	34
VI.1.2 EXTRACCION DE GRASA EN CREMA.....	34
VI.1.2.1. EXTRACCIÓN POR SOLVENTE, PREVIA LIOFILIZACIÓN.....	35
VI.1.3. EXTRACCION DE GRASA EN QUESO.....	36
VI.1.3.1. EXTRACCIÓN POR SOLVENTE	36
VI.2. DETERMINACIONES REALIZADAS A LAS MUESTRAS GRASAS DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS LACTEAS.....	36
VII. PREPARACION DE ESTANDARES	39
VIII. PREPARACION DE CURVA DE CALIBRACION	40
IX. CARACTERIZACION Y CUANTIFICACION DE LOS ACIDOS GRASOS EN GRASAS POR MEDIO DE SUS ESTERES METILICOS	43
X. CONCLUSIONES	50

XI. RECOMENDACIONES	53
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	54
XIII. ANEXOS	57

I. INTRODUCCION

Desde la antigüedad hasta nuestros días la leche de los mamíferos, entre ellos las vacas, han sido y continuará siendo un alimento básico para todas las etapas de la vida del ser humano e importante materia prima para variados productos industriales gracias a que es uno de los alimentos nutricionales más completos.

La leche de vaca y sus derivados pueden ser adulterados fácilmente con agua o aceites de origen vegetal. El objetivo de las adulteraciones con agua es más que obvio, no así el de las adulteraciones con aceites vegetales. El fraude lo motiva el hecho de que los aceites vegetales son considerablemente más baratos que los de origen animal.

Es posible encontrar productos lácteos grasos procesados industrialmente que declaran que contienen aceites de origen vegetal, lo que no constituye fraude al consumidor. Esto se hace para mejorar la calidad del producto ya que las grasas de orígenes animales, ricas en ácidos grasos saturados, no son tan saludables como las grasas de orígenes vegetales, ricas en ácidos grasos poliinsaturados. Salvo algunas notables excepciones como el aceite de Palma y Coco, que son más ricos en ácidos grasos saturados y que se parecen por lo tanto más por su composición a las grasas animales que a las vegetales (Ver Tabla No 12) y es la razón por la que no se recomiendan para consumo humano.

Nicaragua es un país agropecuario y la leche y sus derivados tales como queso, crema y mantequilla son abundantes y de consumo muy popular. Todos ellos se encuentran en el mercado procesados artesanal e industrialmente.

Es conocido en Nicaragua que a menudo la leche es adulterada con agua, pero no se sabe mucho de las adulteraciones con aceites vegetales de sus derivados. Las adulteraciones acuosas son fáciles de determinar con un lactodensímetro, por lo contrario, las determinaciones de las adulteraciones de las grasas de los productos lácteos con aceites vegetales no son tan fáciles y rápidas de determinar.

Usualmente las determinaciones de las adulteraciones con aceites vegetales requieren equipos más sofisticados y tiempos de análisis considerablemente muy largos comparados con las determinaciones de las adulteraciones acuosas.

Dado que los productores industriales de derivados lácteos son como máximo cuatro en el ámbito nacional es fácil determinar si estos derivados están adulterados. Por el contrario, los productores artesanales son en el orden de los miles en el ámbito nacional lo que en la práctica dificulta obtener datos representativos acerca de las adulteraciones de los productos lácteos artesanales.

Este estudio esta dirigido principalmente en dos direcciones: Primero a desarrollar métodos analíticos rápidos de laboratorio de extracción de grasas en productos lácteos y segundo desarrollar un método de identificación y cuantificación por cromatografía de gases con columnas capilares de la composición de los ácidos grasos de las grasas de las leches y sus derivados y finalmente a poder, sobre la base de la composición a la composición porcentual de los ácidos grasos encontrados, determinar cuales son los productos lácteos más recomendables para consumo humano.

II. JUSTIFICACION

Nicaragua es un país ganadero y la leche y sus derivados son abundantes y de consumo muy popular. Estos productos lácteos se encuentran en el mercado procesados artesanal e industrialmente. Es probable que dichos productos contengan aceites de origen vegetal sin ser declarados o que no contengan por el contrario el aceite vegetal declarado por los productores, ambos casos, es considerado de acuerdo a las leyes, fraude al consumidor, lo cual es fraude porque no mejora, desde el punto de vista del consumo humano la calidad de los mismos.

III. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar si los productos lácteos elaborados en Nicaragua han sido mejorados o no, desde el punto de vista de sus contenidos de ácidos grasos saturados e insaturados para el consumo humano.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Desarrollar métodos cualitativos rápidos y confiables de extracción de grasas en productos lácteos.
- Desarrollar un método rápido y confiable, por cromatografía de gases con columnas capilares, de identificación y cuantificación de los porcentajes de ácidos grasos presentes en las grasas de los productos lácteos.
- Determinar la presencia u/o ausencia de grasas de origen vegetal en las grasas de los productos lácteos por comparación de sus composiciones porcentuales de ácidos grasos determinadas por cromatografía de gas.
- Determinar basado en las composiciones porcentuales de los ácidos grasos reportados en la literatura para los aceites de origen vegetal y animal, si los productos lácteos han sido o no mejorados en su calidad para consumo humano.

IV. MARCO TEORICO

IV.1. GENERALIDADES DE LA LECHE

Se entiende como leche al producto integral del ordeño total e interrumpido en condiciones de higiene que da la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación. Esto además sin aditivos de ninguna especie. Agregado a esto, se considera leche, a la que se obtiene fuera del período de parto. La leche de los 10 días anteriores y posteriores al parto no es leche apta para consumo humano. Siempre el ordeño debe de ser total, de lo contrario al quedar leche en la ubre, la composición química cambiará.

El porcentaje de grasa varia según las estaciones del año, entre un 6% durante el invierno y 3% en verano, pero la industria láctea estandariza este tenor graso a través de la homogeneización, la que dispersa en forma pareja la grasa de la leche. Es decir, si tiene mucha grasa se le quita y deriva para la elaboración de productos lácteos.¹¹

El nombre genérico de productos lácteos se aplica a todos los derivados:

- extraídos directamente de la leche, como crema y mantequilla,
- o fabricados con ella, como los quesos, leche agria y yogurt.

IV.2. COMPOSICION QUIMICA DE LA LECHE

Todas las leches contienen hidratos de carbono, proteínas y grasas además de vitaminas, minerales y agua. De color blanco opaco, sabor dulce y pH próximo a la neutralidad, es el **alimento ideal en todos los mamíferos tras su nacimiento.**

La leche es uno de los alimentos naturales más completos que hay por la variedad de su composición. La cantidad de cada uno de sus componentes varia según el mamífero, ya que cada especie produce leche adaptada a las necesidades de sus crías. Dentro de la leche de cada especie la composición también sufre pequeñas variaciones que dependen de la raza, la alimentación, la época del año, etc.

A Continuación se describen las principales características de los componentes básicos de la leche:

1-El agua

El agua es el componente mayoritario de la leche constituye un **80-87%** del volumen total y en ella se encuentran disueltas las vitaminas hidrosolubles, la lactosa y algunas sales minerales.¹⁰

2- Los hidratos de carbono o azúcares.

La lactosa constituye prácticamente todo el azúcar de la leche. Sin embargo existen otros azúcares, particularmente en la leche humana, en muy baja proporción como glicoproteínas y oligosacáridos. La leche de vaca también contiene estos compuestos aunque en diferente proporción que la leche humana.

Estos últimos han despertado últimamente el interés de los investigadores por sus importantes efectos biológicos en el organismo de los recién nacidos.

Diversos estudios sugieren que son capaces de promover la flora bifidogénica, y que constituyen un mecanismo de defensa adicional del recién nacido al funcionar como receptores de bacterias patógenas que así pueden ser eliminadas.

En cuanto a la lactosa, es un disacárido formado por dos monosacáridos que son la glucosa y la galactosa en los que se escinde en el intestino por acción de una enzima llamada lactasa. La lactosa es la que da a la leche el sabor ligeramente dulce. Su concentración es de alrededor de 5% y permanece bastante constante independientemente de la alimentación que tengan los mamíferos.¹⁰

3-Las proteínas

Las proteínas de la leche son consideradas de alto valor biológico y tienen gran cantidad de todos los aminoácidos esenciales. Constituyen 3-4% de la leche.

Entre ellas cabe destacar la caseína que constituye el 80% de todas las proteínas de la leche.

La caseína es una proteína completa, es decir, aporta todos los aminoácidos esenciales necesarios para el mantenimiento de la vida. Esta proteína se encuentra en suspensión en la fase acuosa en unas agrupaciones de tamaño variable llamado micelas y es la que da a la leche su capacidad de solidificación en forma de queso y yogur.

Otras proteínas son la lacto albúmina, β -lactoglobulina, lactoalbúmina, lactoferrina, lactoperoxidasa, glicomacropéptido e inmunoglobulinas y se encuentran disueltas en la leche. Diversos estudios sugieren que estas proteínas tienen una serie de efectos biológicos, que van desde un efecto anticancerígeno hasta efectos en la función digestiva.¹⁰

4-Las grasas

Las grasas constituyen entre el 3 y 6% de la leche y esta variación depende mucho de la alimentación de la vaca y de la raza.

El 90% de las grasas se encuentran en forma de triglicéridos.

Los triglicéridos están formados por tres moléculas de ácidos grasos y una molécula de glicerina unida por uniones ésteres.

La mayoría (60-70%) de estos ácidos grasos son saturados (esteárico, palmítico, mirístico, láurico) pero tiene un porcentaje no despreciable (30-40%) de ácidos grasos monoinsaturados (oleico) y una pequeña proporción (4%) de ácidos grasos poliinsaturados (linoleico, alfa-linolénico). El 1% restante está formado por ácidos grasos de cadena corta como el butírico que dan a la leche y queso, su sabor característico.¹⁰

5-Las vitaminas

La leche contiene varias vitaminas. Unas están unidas a la grasa (**vitaminas liposolubles**) y son la A, la D, y la E. Otras vitaminas están disueltas en la fracción acuosa (**vitaminas hidrosolubles**) Riboflavina (B₂), Tiamina (B₁), Piridoxina (B₆), Cianocobalamina (B₁₂), la vitamina C, Niacina (B₃)

Estudio preliminar de la composición de los ácidos grasos de los productos lácteos elaborados en Nicaragua.

y vitamina H (Biotina) también contiene ácido fólico. Entre todas estas vitaminas destacan fundamentalmente la vitamina A, la D y la Riboflavina (B₂) (la leche constituye una de las fuentes más importantes de Riboflavina para el hombre) y la Cianocobalamina (B₁₂) (la leche aporta alrededor del 38% de la cantidad diaria recomendada / 100 ml).¹⁰

6-Los minerales

El **contenido de los minerales en la leche es muy rico**. Estos minerales se suelen encontrar en forma de sales. Contienen calcio, potasio, fósforo, yodo, sodio, cloro, magnesio y zinc. Pero de entre todos ellos se destaca el calcio por su alto contenido, hasta el punto que convierte a la leche y sus derivados en la principal fuente de este mineral imprescindible para la vida de los vertebrados.

El calcio sirve principalmente, entre otras funciones, para la formación y el mantenimiento de huesos y dientes.

En la leche de vaca hay 300 mg de calcio aproximadamente por cada vaso (unos 120 mg/100 ml de leche). Pero además la leche tiene ciertos compuestos, como el ácido cítrico, que hacen que su calcio se absorba mejor que el de otros alimentos. Al contrario de lo que mucha gente piensa, el calcio no se pierde al desnatar la leche. En el proceso de desnatado, tan solo se eliminan las grasas y las vitaminas que van disueltas en ellas (liposolubles), como la A, D, y E. Por eso es recomendable consumir productos desnatados que se hallan enriquecido con estas vitaminas.¹⁰

IV.3. USOS DE PRODUCTOS LACTEOS

IV.3.1. USOS COMESTIBLES

La leche, además de ser por si misma uno de los alimentos más completos, es también materia prima para grandes variedades de productos alimenticios. En Nicaragua la leche y sus derivados son unos de los alimentos más nutritivos presentes en el mercado. Estos productos pueden contener todos o solamente algunos de los principales nutrientes presentes en la leche, pero cada uno de ellos pueden suponer una contribución importante a nuestra dieta.

Hasta hace relativamente poco, en las grandes urbes, el consumo de la leche en estado natural podía defenderse como algo tradicional y saludable, especialmente en el contexto de las costumbres rurales, la situación hoy en día ha cambiado radicalmente. En la actualidad, casi nadie puede consumir leche en estado natural, y todos los productos lácteos que existen en el mercado en las grandes urbes, han sido sometidos a diversos procesos de conservación, transformación y controles de calidad para obtener un producto adecuado a la fisiología de los seres humanos. En Nicaragua es posible encontrar en el mercado tanto productos lácteos procesados industrialmente como artesanalmente en grandes cantidades aún en las ciudades más grandes.

En Nicaragua la leche y sus derivados se encuentran en gran variedad de presentaciones tales como las que se muestran a continuación:

Leches: Leches enteras, leches condensadas, leches en polvo, leches pasteurizadas y homogeneizadas, leches esterilizadas, leches modificadas con grasa vegetal, leches fortificadas con: vitaminas, hierro, ácido fólico, etc.,

Cremas: Cremas ácida, crema modificada con grasa láctea y vegetal, crema pasteurizada y homogeneizada.

Quesos: Quesos frescos, quesos secos, quesos cremosos, quesos amarillos, quesos madurados, quesos mozarellas.

Otros:

Mantequilla, yogur, helados, cajetas de leche. etc.

IV.4. GRASAS Y ACEITES

IV.4.1. GENERALIDADES

Cuando se hace un extracto de tejidos animales o vegetales con disolventes no polares tales como hexano, benceno, éter o cloroformo, una fracción del material se disuelve. Los componentes de esta fracción se denominan lípidos. Estos abarcan una amplia variedad de tipos estructurales entre ellos: ácidos carboxílicos superiores (ácidos grasos libres), triacilgliceroles (grasas neutras), fosfolípidos, glicolípidos, ceras, esteroides (colesterol), terpenos y prostaglandinas.⁷

Las grasas y aceites animales son ésteres glicéridos obtenidos a partir de glicerina y de ácidos grasos conocidos como triglicéridos de ácidos grasos. Cuando el glicerol reacciona con ácidos grasos en medio ácido para formar las grasas se establece un equilibrio como el que se describe en la Fig.1

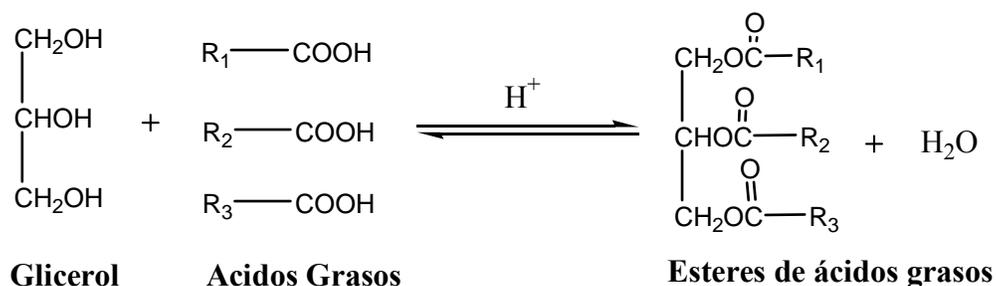


Figura 1

El término grasa se emplea técnicamente en la actualidad para describir los aceites y grasas, dado que ambas palabras en principio describen únicamente diferencias en estado físico para una misma sustancia. Un simple cambio de temperatura en grados y dirección adecuada provoca el paso de un aceite (líquido), a una grasa (sólida) o viceversa, y ambos términos se emplean a veces indistintamente.³

La temperatura de fusión de las grasas es tanto más elevada cuanto mayor es la cantidad de ésteres glicéridos de ácidos grasos saturados de mayor peso molecular (tripalmitina, triestearina), y baja

cuanto menor es la cantidad de ácidos grasos líquidos no saturados (ácidos oleico y linoléico). Si predominan estos últimos los cuerpos grasos son líquidos a temperatura ambiente (20°C) y se les conocen comúnmente como aceites.³

Los ácidos grasos son compuestos monocarboxílicos de fórmula general RCOOH , donde **R** es un grupo hidrocarbonado acíclico y de tipo lineal que puede ser alifático o aromático, saturado o no saturado.

Los ácidos grasos se clasifican en dos grandes grupos: **Saturados e insaturados**. Tanto los ácidos grasos saturados como los insaturados, se encuentran en las grasas de origen animal y vegetal. **Los saturados son más abundantes en las grasas animales y los insaturados en los aceites vegetales**. Es decir la diferencia la hacen la composición porcentual.(Ver tabla No 12)

Los saturados son aquellos que están formados por enlaces simples, ejemplo mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), en cambio los insaturados tienen uno o varios enlaces dobles, ejemplo oleico (C18:1), linoléico (C18:2), el consumo de ácidos grasos saturados es un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares y cancerígenas, sin embargo los ácidos grasos insaturados son considerados como nutrientes indispensables, ya que poseen un papel especial en ciertas estructuras; principalmente en el sistema nervioso. Es por eso que la falta de estos puede ocasionar trastornos diversos.

La obtención de grasas y aceites de plantas vegetales y tejidos animales pueden realizarse por expresión (para substratos muy ricos en aceites), extracción con solventes orgánicos volátiles no polares, fusión mediante caldeo directo o por cocción con agua o vapor.³

Las grasas pueden contener otras materias no polares disueltas o mezcladas en pequeñas cantidades, almacenadas a través de los procesos fisiológicos de los organismos animales y vegetales.⁹

IV.4.2. PROPIEDADES FISICAS DE LAS GRASAS

Las propiedades físicas tales como: estado físico, solubilidad, densidad, índice de refracción, viscosidad, color y olor de las grasas y aceites tienen gran importancia para sus aplicaciones industriales a mediana y gran escala.

Las grasas y aceites son solubles en solventes no polares, menos densas que el agua y se presentan en dos estados: líquidos y semi-sólidas. Todas tienen altos puntos de ebullición y bajos puntos de fusión. En estado puro son inodoras e incoloras cuando están líquidas y blanquecinas cuando están sólidas. Su viscosidad es alta comparada con la mayoría de los compuestos orgánicos obtenidos de fuentes naturales.

La densidad de los ácidos grasos y glicéridos aumenta al disminuir el peso molecular y al aumentar su grado de insaturación.

IV.4.3. PROPIEDADES QUIMICAS DE LAS GRASAS

IV.4.3.1. ESTERIFICACION Y TRANSESTERIFICACION

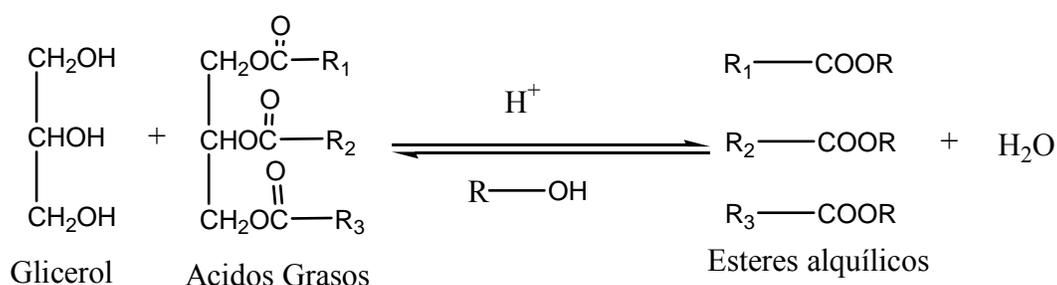
La hidrólisis de los triglicéridos (grasas) en condiciones apropiadas dan primero los di glicéridos, luego los monoglicéridos y finalmente ácidos grasos y glicerol como se muestra en la Fig. 1

La reacción que se describe en la Fig. 1 es reversible y puede ser dirigida hacia la derecha o a la izquierda de acuerdo con el principio de Le Chatelier. De manera tal que, si no se separan los cuerpos reaccionantes y los productos de la reacción del medio en que esta se realiza, se llega a un equilibrio, que depende de la concentración de los primeros. Si se desea desplazar la reacción hacia la formación de ésteres glicéridos (esterificación) se puede lograr por remoción continua del agua o agregándole un exceso de glicerol.

En la práctica, la escisión de las grasas, en la que se asegura un alto grado de hidrólisis, se logra por la adición de un gran exceso de agua y/o por las sucesivas extracciones de la fase acuosa, rica en

glicerina, que se reemplaza con agua fresca. La reacción hidrolítica es catalizada por los ácidos, por los compuestos básicos que forman jabones con los ácidos grasos y por otras sustancias tales como las enzimas lipolíticas que permiten efectuar una rápida hidrólisis, en las condiciones normales de temperatura y presión.²

Si durante la reacción de hidrólisis de las grasas se adiciona un gran exceso de otro alcohol (*e. g.* etanol o metanol) el glicerol es sustituido por éste y da origen a ésteres de ácidos grasos con mono alcoholes (metílico o etílico) como se describe en la Fig. 2



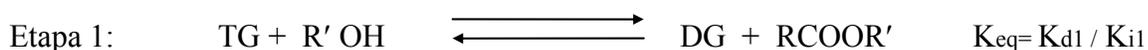
R puede ser Et o Me

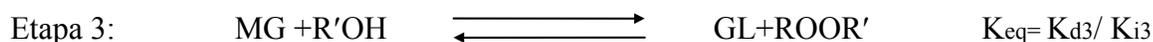
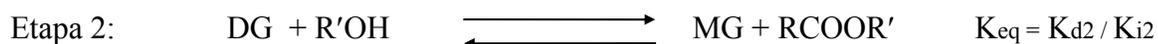
Figura 2

La sustitución del glicerol por otro alcohol en el seno de la reacción se conoce como reacción de transesterificación. Esta reacción es de mucha utilidad para preparar directamente a partir de una grasa ésteres metílicos o etílicos. Estos ésteres que son mucho más volátiles que la grasa y ácidos grasos libres, son muy útiles en la determinación de la composición de los ácidos grasos de los aceites por cromatografía de gas.

IV.4.3.2. QUIMICA DE METANOLISIS DE GLICERIDOS

La estequiometría de la reacción de la metanolisis con triglicéridos requiere tres moles de metanol por un mol de triglicéridos para producir tres moles de ésteres metílicos y un mol de glicerol. La reacción se da en tres etapas, con dos productos intermedios. En cada etapa, el proceso es reversible con sus respectivas constantes cinéticas, como se muestra a continuación:





Donde:

TG	: Triglicéridos	K_{eq}	: constante de equilibrio de la reacción.
DG	: Di glicéridos.	K_d	: constante cinética de la reacción directa.
MG	: Monoglicéridos	K_i	: constante cinética de la reacción inversa.
GL	: Glicerol.	R'-OH:	Alcohol

La transesterificación metanólica también se puede realizar irreversiblemente con un gran exceso de alcohol en medio básico. Una característica notable de esta variante alcalina es la velocidad con que se efectúa. Esta permite que los ésteres de los glicéridos sean convertidos en ésteres metílicos y glicerato antes de formarse una cantidad considerable de jabón tal como se muestra en la Fig. 3

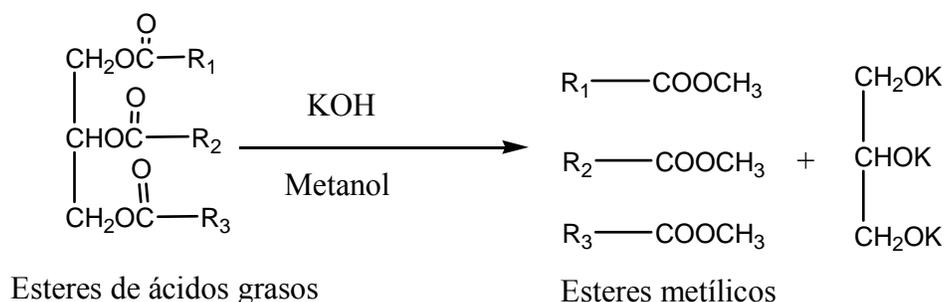


Figura 3

En el caso de aceites con un alto contenido de ácidos grasos libres se pierde una parte del catalizador consumido por estos por la formación de jabones.¹

IV.4.3.3. TRANSESTERIFICACIÓN

Como se mencionó anteriormente la sustitución del resto alcohólico de un éster por otro alcohol en el seno de la reacción se conoce como reacción de transesterificación. Ejemplo de la anterior

reacción es el de sustitución en una grasa del glicerol por metanol o etanol como se describe en la Fig. 2

La preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos directamente a partir de las grasas o aceites se puede realizar en medio básico y ácido y cada uno de ellos demanda diferente calidad de los aceites.

La transesterificación básica en un medio heterogéneo tal como hexano y una solución alcohólica básica no puede realizarse en presencia de un porcentaje alto de ácidos grasos libres. La razón de ello estriba en que los ácidos grasos libres forman jabones en medio básico e impiden la separación de la capa acuosa de la capa orgánica no polar. Lo anterior implica que los ésteres metílicos no polares que deberían permanecer en la capa orgánica por afinidades de polaridades no pueden ser separados de la mezcla de la reacción. Por otro lado, un porcentaje alto de ácidos grasos libres en un aceite, no afecta la separación de capas cuando la transesterificación se realiza en un medio ácido acuoso y hexano. Este hecho se debe a que en medio ácido no hay formación de jabones que hagan miscibles las dos fases y además a que los ácidos libres también se esterifican sin problemas, en un medio ácido.

IV.4.3.4. METODOS DE TRANSESTERIFICACION

Como ilustración de los métodos ácidos y básicos de transesterificación se muestra a continuación una de cada una de ellos:

IV.4.3.4.1. TRANSESTERIFICACION ACIDA

La transesterificación ácida se realiza de la siguiente manera: En un balón de 50 ml se introducen 4 ml de aceite, 8 ml de metanol y 1.5 ml de ácido sulfúrico 10 M. Se calienta la mezcla por 30 min. A 60°C a reflujo se enfría a temperatura ambiente y seguidamente se adicionan 4 ml de agua destilada, 2 ml de CHCl_3 y 1 g de NaCl, se agita y se dejan separar las fases en un embudo separador. Se aísla la fase cloroformica y se agrega sulfato de sodio anhidro (50% del volumen), posteriormente se filtra y lava el sulfato de sodio anhidro con 2 ml de CHCl_3 . La fase cloroformica

seca se transfiere a un balón tarado, se evapora a sequedad y se determina el peso del derivado por diferencia de pesos. Los ésteres metílicos se disuelven en hexano a diferentes concentraciones y están listos para ser inyectados al cromatógrafo de gas.⁸

IV.4.3.4.2. TRASESTERIFICACION BASICA

Se pesan 4 gotas de aceite en un vial y se adicionan 0.5 ml de KOH/MeOH 2 M y 0.8 ml de hexano. Se agita el frasco por 10 min. en un vibrador y se deja en reposo por 6 min. A temperatura ambiente para permitir la separación de capas. Se toman 0.3 ml de fase superior y se transfieren a otro frasco que contenga 1 g de sulfato de sodio anhidro. Se adicionan al frasco 4 ml de n- hexano sin remover el sulfato de sodio anhidro, se agita y se deja en reposo. La solución sobrenadante se inyecta sin posterior tratamiento al cromatógrafo de gas.⁵

Para el análisis, por cromatografía de gases, de la composición de ácidos grasos presentes en los productos lácteos fue necesario preparar sus ésteres metílicos correspondientes

El método de tranesterificación elegido para este tipo de análisis fue la transesterificación básica.

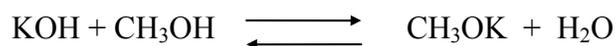
IV.4.3.5. ALCOHOLISIS ACIDA VERSUS ALCOHOLISIS BASICA DE GRASAS

Los catalizadores utilizados para la alcoholisis generalmente se clasifican en catalizadores ácidos y básicos. Entre los catalizadores básicos más usados están: hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, carbonatos, metóxido de sodio, y óxidos de diversos metales. Los catalizadores ácidos más usados son: ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido toluen-sulfónico, ácido trifloruro de boro.

El proceso de transesterificación utiliza catalizadores ácidos cuando en la composición del aceite hay una elevada cantidad de ácidos grasos libres. (Mayor del 3%).

En cuanto a los catalizadores básicos, estos se utilizan en el caso de grasas animales con un bajo contenido de ácidos grasos libres (menor del 3%). La preferencia de trabajar con catalizadores alcalinos se debe a que la reacción se lleva a cabo en un tiempo considerablemente corto y bajo condiciones de reacción más fáciles de manejar. Si la grasa posee un alto contenido de ácidos grasos libres, entonces, durante la reacción se perderá una parte del catalizador por la formación de

jabones. El uso de catalizadores básicos presenta la ventaja que se pueda trabajar a temperaturas y presiones ambientales, a diferencia de los catalizadores ácidos que requieren de temperatura y/o presiones altas; otra ventaja que presentan estos catalizadores es que reaccionan con el alcohol para formar alcóxidos:



El metóxido de potasio (CH_3OK) es una especie química que tiene la cualidad de ser más reactiva que el alcohol, haciendo que la reacción de trans-esterificación sea más fácil, además en un gran exceso de alcohol la concentración de alcóxido permanece esencialmente constante, permitiendo que el equilibrio se desplace a la derecha.

Reid realizó la comparación entre un catalizador ácido y un catalizador alcalino concluyendo que con catalizadores alcalinos a diferentes concentraciones y temperaturas de 60°C con una relación molar alcohol-aceite de 6 (100% exceso) se obtenía en un tiempo de 6 minutos un porcentaje de ésteres mayor del 90%, y a concentraciones relativamente altas de metanol, la conversión es constante con el tiempo y que a bajas concentraciones, aumenta linealmente con éste. En cambio cuando utilizó catalizadores ácidos logró obtener porcentaje de éster del 50% en 30 minutos y del 90% en 5 horas a una temperatura de 114°C utilizando alcohol butílico; usando alcohol metílico logró tener porcentaje de éster de 5% en 5 horas y del 90% en 50 horas a 60°C , ambos experimentos con una relación molar de 30

Según Freedman para realizar la transesterificación de cualquier aceite o grasa utilizando catalizadores básicos como metóxido de sodio o hidróxido de sodio se requiere que el aceite tenga un valor ácido menor a uno lo cual equivale a un porcentaje de ácidos grasos libres menor a 0.5%. Esto es debido a que estos forman jabones con el catalizador al punto de formar un gel o emulsión que impide la separación de la glicerina.

En cuanto al tipo de catalizador básico se prefiere el hidróxido de potasio por que tiene más alta masa molecular que el hidróxido de sodio, lo que aumenta el peso específico de la fase glicerol, proporcionando una mejor separación entre la fase éster y el glicerol.⁶

IV.5. PROCESOS DE EXTRACCIÓN DE GRASAS EN LACTEOS

La separación de los aceites y grasas a partir de productos oleaginosos, animales y vegetales, constituyen una rama propia y especializada de la tecnología de las grasas. La diversidad de las características de los distintos productos grasos y las matrices que los contienen da lugar también a distintos procesos de operación.

En principio todos los procedimientos de extracción de lípidos vegetales y animales tienen como fin la obtención de aceites o grasas sin alteraciones y desprovistos de impurezas, con un máximo rendimiento y a bajo costo.²

Entre los factores que influyen en el proceso de extracción de grasas de lácteos están: el tipo de disolvente usado, la concentración del aceite, la velocidad de flujo del disolvente, y la temperatura de extracción a la cual se lleva a cabo dicho proceso. La temperatura, en particular; es un factor de importancia en estos procesos extractivos.

Hay que tomar en cuenta que para obtener un buen rendimiento de grasa el lácteo debe tener la menor humedad posible. Otros factores de importancia son el tamaño o dimensión de la partícula, la estructura del material a extraer y la calidad o estado sanitario de los mismos.

Los lácteos, durante estos procesos de extracción se comportan como líquido (leche, crema) o sólidos (quesos) dependiendo del lácteo del que se extrae la grasa de su interior. En la primera fase, el sólido o líquido se impregna en el disolvente, en el que la grasa se disuelve rápidamente. Desde ese momento se tiene un sólido o un líquido impregnado en el disolvente, efectuándose entonces una transferencia de material (grasa), como consecuencia el gradiente varía con el tiempo a medida que la grasa pasa del sólido o líquido a la solución extractora. Como resultado de estas transferencias la extracción es un proceso continuo.⁹

IV.5.1. METODOS CLASICOS DE EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACION DE GRASAS EN PRODUCTOS LACTEOS

La diversidad de las características de los distintos productos grasos y las matrices que lo contienen dan lugar a diversos procesos de operación. Los más conocidos son el Método Babcock y el Método Gerber los cuales se describen a continuación:

IV.5.1.1. MÉTODO BABCOCK

El método de Babcock se desarrolló para determinar el contenido de manteca de leche y de la nata, pero el procedimiento original ya a sido modificado de forma que actualmente puede aplicarse a la mayor parte de los restantes productos lácteos, incluyendo helados, queso, mantequilla y suero.

El método Babcock y las modificaciones del mismo emplean un matraz o frasco especial, con un cuello estrecho graduado. Se encuentran en varios tamaños para adaptarse a productos de contenido variables de grasa, y los cuellos están calibrados de tal forma que puede leerse directamente el porcentaje de grasa, con tal que se empleen las cantidades de muestra especificada.

El procedimiento de Babcock comprende el calentamiento de la muestra, generalmente en el mismo matraz, con un reactivo para digerir la materia no grasa y dejar ésta en libertad. La separación de la grasa se completa por centrifugación, después de que aquella se le hace sobrenadar en una disolución de mayor densidad que la grasa. Se mide después la grasa volumétricamente en la parte graduada del frasco de Babcock.

IV.5.1.2. Método Gerber

El método Gerber es el más conocido en Europa es comparable al método Babcock, excepto en algunas variantes respecto a técnica y aparato. El procedimiento de Gerber se basa en: Poner en un butirómetro 10 c.c. de ácido sulfúrico ($d=1.820$ a 1.825). Colocar el tubo en un soporte para mantenerlo vertical y añadir 1c.c de alcohol amílico. Empleando una pipeta especial, medir 11 c.c. de leche en el frasco de ensayo deslizándola lentamente por la pared del tubo de manera que forme

una capa clara sobre el ácido y el alcohol. Poner el tapón y mezclar a fondo el contenido del tubo, agitando varias veces hasta que se disuelva el requesón.

Colocar el tubo en la centrifuga Gerber con la espiga o cuello dirigido hacia el centro, y centrifugar 2 o 4 min. a 1000 r.p.m. Retirar el tubo de la centrifuga y colocarlo en un baño de agua caliente a 60°C (140°F), u otra temperatura que marque el butirómetro, durante unos pocos minutos hasta que la columna de grasa halla alcanzado la temperatura del baño de agua. Retirar el tubo del baño de agua y levantar el tapón hasta llevar la columna de grasa a la zona graduada para facilitar la lectura de la misma. Determinar el porcentaje de grasa restando la lectura del menisco inferior (plano) del de la parte superior (curvado).

Cabe mencionar que los métodos anteriormente mencionados están dirigidos principalmente a análisis cuantitativos y el nuestro es meramente analítico, no obstante dichos métodos fueron tomados y modificados con el fin de crear un método rápido de extracción para las grasas lácteas bajo estudio. (Véase en Págs. N° 33, 34, 35 y 36)

IV.6. ANALISIS DE ACIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFIA GAS- LÍQUIDO

El análisis de la composición de los ácidos grasos que existen en las moléculas lipídicas suelen hacerse por cromatografía gas- líquido, con columna capilar o empacada a partir de sus ésteres metílicos o etílicos. En la actualidad la técnica de cromatografía de gases con columna capilar es la más usada para estas determinaciones. En este proceso los ácidos grasos son convertidos en una forma más volátil tal como sus ésteres metílicos y trasportados por un gas inerte generalmente He, N₂ u otro gas como el H₂. (Fase móvil) a través de la columna. Para la partición de la mezcla vaporizada de ésteres metílicos entre la fase gaseosa móvil y una fase líquida estacionaria se utiliza una capa de un poliéster de punto de fusión elevado o un polímero de silicona depositado sobre partículas de tierras de diatomeas o sobre la superficie interior de un largo tubo capilar (columna) calentado. Las columnas se destacan para estos análisis son las columnas con fases líquidas polares tales como Carbowax o DB-FFAP.

Los ésteres metílicos de los diversos ácidos grasos se distribuyen entre la fase gaseosa móvil y la fase líquida estacionaria, de acuerdo con sus coeficientes de reparto líquido-gas característicos. Los ésteres metílicos separados que se hallan en la fase gaseosa que eluyen en la columna pueden

medirse por una gran variedad de detectores de gran sensibilidad. Entre ellos está el detector de ionización de llama (FID). En este detector la corriente del gas transportador que contiene los ésteres de ácidos grasos, se mezclan con una corriente de hidrógeno y de aire, y se queman en un campo eléctrico de elevado voltaje. La corriente producida por el flujo de fragmentos ionizados de los ácidos grasos en la llama, queda registrado automáticamente en una gráfica que muestra una serie de picos separados. Cada pico corresponde a un ácido graso separado y el área o altura bajo el pico es proporcional a su cantidad.

La identificación cualitativa de un componente se basa en la comparación con respecto a un estándar conocido de los tiempos de retenciones o tiempo necesario para que su pico aparezca al final de la columna, ya que cada uno de los componentes tiene un tiempo de retención propio. El análisis cuantitativo es más complicado y se basa en cálculos del área o altura de los picos. La medida de superficie del pico se puede hacer por cálculo geométrico o integración manual, mecánica, electromecánica o electrónica. Los datos cuantitativos se obtienen a partir de la superficie de los picos que será mayor cuanto mayor sea la concentración del componente.⁴

V. PARTE EXPERIMENTAL

V.1. REACTIVOS Y EQUIPOS

REACTIVOS Y SOLVENTES

CASA COMERCIAL

- n-Hexano (Grado técnico)	ESSO
- Metanol anhidro	MERCK
- H ₂ SO ₄	FISHER
- Na ₂ SO ₄ (anhidro)	FISHER
- KOH	MERCK

EQUIPOS

Sistema de evaporación

Componentes:

- Water Bath BUCHI 416. Temperatura variable.
- Trampa de gases BUCHI NS24 / 40.
- Rota vapor BUCHI tipo RE 111.
- Bomba alto vacío EDWARDS modelo E2M5.
- Refrigerante de condensación trap SAVANT.

Balanza analítica.

Tipo no modular

Marca: Sartorius.

Modelo (Analítica) AC 2110.

Liofilizador

Marca: HETO.

Tipo: CD 2.5.

Fase: 1. Voltaje 115 Volt. Presión Máx.: 18 unidades, Min: 15.

Balanza electrónica (ADN)

Modelo: FX 4000

Serie: 8200486.

Agitador magnético

Marca: J.P SELECTA, S.A

N°Serie/ Serial #: 0419441.

Vortex Genie Mixer

Modelo: 9667

Serial N°: 6533

Hydrogen Generator

Marca: Whatman

Modelo: 75-34-220-V452.

Cromatógrafo de gas

Marca: HEWLETT PACKRD (**hp**)

5890 Serie II. Los datos fueron registrados y analizados con un software HP Chemstation, versión:

Centrifuga

Marca: J. P SELECTA, S.A

N°Serie / Serial #: 0419426.

OTROS:

Microgeringas. 1µl, 50 µl. SGE.

Cristalería variada.* El hexano antes de ser utilizado se purifico por bidestilación fraccionada

V.2. PRODUCTOS LACTEOS ANALIZADOS

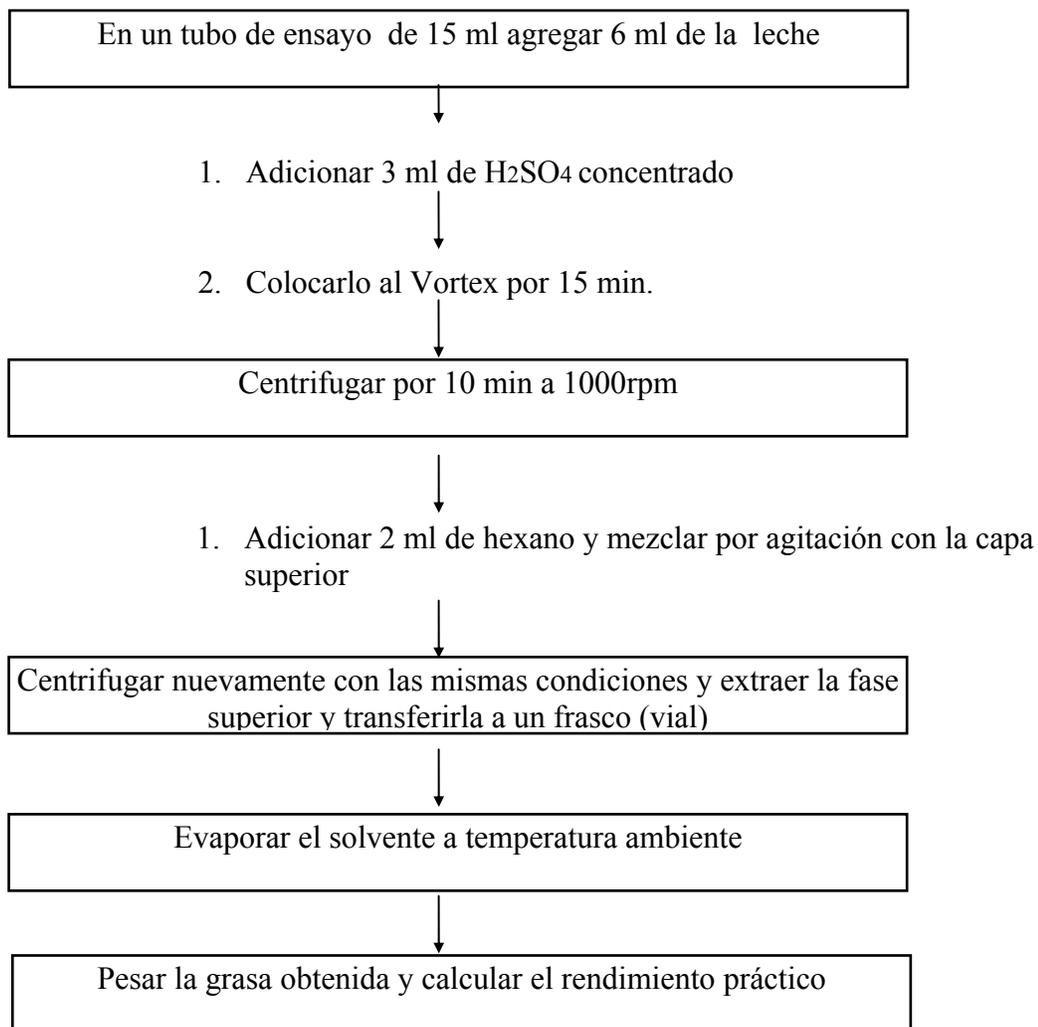
Las grasas lácteas analizadas (leche y sus derivados), sólo incluyen algunos de los productos hechos en Nicaragua. Vale la pena mencionar que las marcas registradas La Perfecta, La Selecta y La Exquisita son todas elaboradas por la empresa PARMALAT. Véase **tabla N° 1**

Tabla 1. Características de los productos lácteos analizados

LÁCTEOS	MARCA	CASA COMERCIAL	OBSERVACIONES
Leche	Artesanal		Comprada a revendedores el 17/05/05
	La Perfecta	PARMALAT	2% grasa. Comprada el 17/05/05
	La Selecta	PARMALAT	Leche modificada al 2% de grasa vegetal. Comprada el 17/05/05
	La Exquisita	PARMALAT	3.5% grasa. Comprada el 17/05/05
Crema	Artesanal		Comprada a revendedores el 16/03/05
	La Perfecta	PARMALAT	18% grasa. Contiene grasa vegetal. Comprada el 16/03/05
	La Selecta	PARMALAT	10% grasa. Contiene grasa vegetal. Comprada el 16/03/05
	La Exquisita	PARMALAT	Modificada con grasa láctea y vegetal 20% grasa. Comprada el 16/03/05
Queso	Queso Artesanal		Es queso para freír y fue comprado a revendedores el 03/05/05
	Queso de Crema	PARMALAT	21.42% de grasa total. Comprado el 03/05/05
	Queso Amarillo	PARMALAT	26.31% de grasa total. Comprado el 03/05/05
	Queso Mozzarella	LACTEOSSA	21.42% de grasa total. Comprado el 03/05/05

VI. METODOLOGIA

Bajo la búsqueda de un método rápido de extracción de las grasas de productos lácteos y transesterificación de los mismos se hizo referencia de distintos métodos (véase en Pág. #14) para adaptarlos a nuestras condiciones y necesidades. Se asumió, previo a la búsqueda del método, que la composición de las grasas en los lácteos es homogénea y que por lo tanto una parte de la muestra extraída tiene la misma composición que la grasa total contenida en la muestra láctea. Ya que el estudio no va dirigido a fines cuantitativos del contenido total de grasas en lácteos sino al contenido porcentual de los ácidos grasos de las grasas de productos lácteos analizados no se intentó desarrollar métodos exhaustivos de extracción. Un resumen del esquema de trabajo de los métodos desarrollados y utilizados se muestra a continuación en las Págs. # 29, 30, 31 y 32.

EXTRACCIÓN DE GRASAS EN LECHE**(Método de Babcock modificado)**

Nota: Este procedimiento se realiza por triplicado

EXTRACCIÓN DE GRASA EN CREMA**(Extracción por solvente)**

Pesar 15 g de la crema liofilizada y transferir a un erlenmeyer de 250 ml

1. Adicionar 60 ml de hexano

2. Agitar con agitador magnético por 20 min.

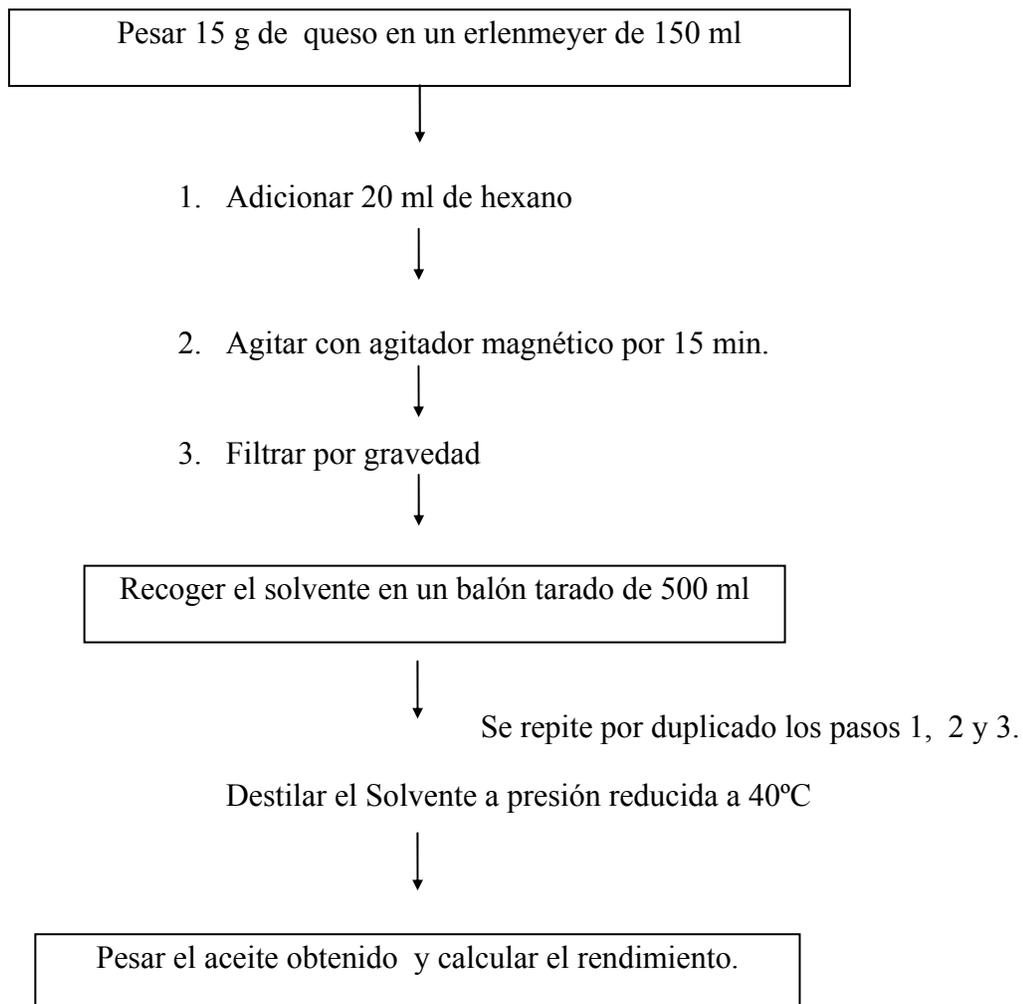
3. Filtrar por gravedad

Recoger el solvente en un balón tarado de 500 ml

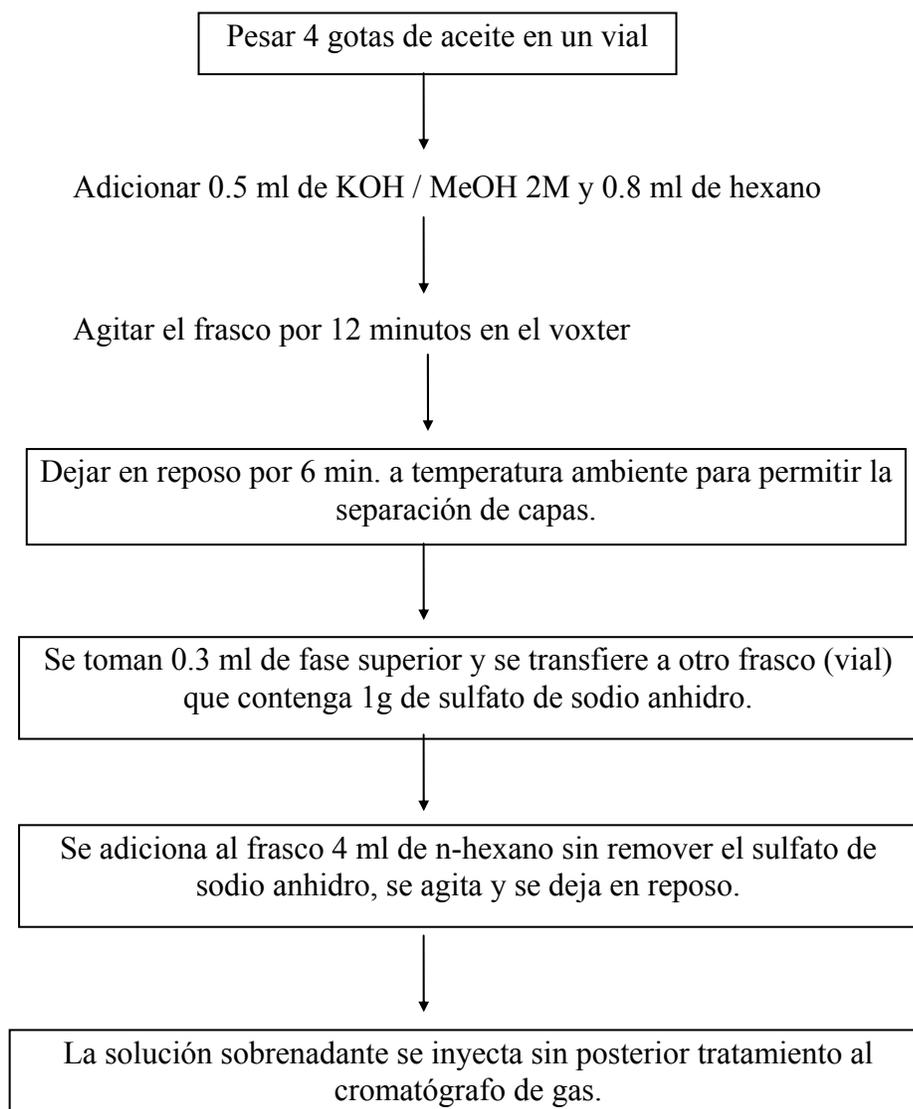
Se repite por duplicado los pasos 1, 2 y 3.

Destilar el solvente a presión reducida a 40°C

Pesar el aceite obtenido y calcular el rendimiento.

EXTRACCIÓN DE GRASA EN QUESO**(Extracción por solvente)**

Preparación de Esteres Metílicos de ácidos grasos a partir de grasa de productos lácteos (leche, queso y crema) por transesterificación básica



VI.1. EXTRACCIÓN DE GRASAS DE LECHE Y SUS DERIVADOS

Previo a la extracción de las grasas: Para el análisis de las leches y sus derivados se tomo en cuenta, como se señala en el marco teórico, los factores que influyen en el proceso de extracción. Por lo tanto en el caso de las muestras de queso, se uso un rallador para tener el mismo tamaño de partículas pequeñas para la extracción de las grasas de los cuatro tipos de quesos. También se pretendía eliminar la humedad por medio del liofilizador a todas las muestras lácteas, pero por problemas técnicos sólo se logro liofilizar las cremas y las leches. No obstante la liofilización de las leches no ayudo a mejorar la extracción por la técnica de extracción por solventes inmiscibles como se describe mas adelante en el ensayo No 2. Afortunadamente las muestras de quesos debido a su bajo contenido de agua, pudieron ser extraídas fácilmente con solvente.

Los procesos de extracción para cada tipo de lácteo se trataron de manera individual y estos se describen a continuación:

VI.1.1. EXTRACCION DE GRASAS EN LECHE

Antes de encontrar el método adecuado que se utilizó para la extracción de grasas en leche, se realizaron varias pruebas clásicas de extracción por solventes inmiscibles de la muestra a tratar.

A continuación se describen brevemente algunas de ellas:

Ensayo N°1

Se colocaron 3 ml de leche en un embudo separador, se le agregó hexano hasta cubrir la leche. Luego se agitó continuamente por 10 minutos y se dejo en reposo para permitir la separación de capas. No hubo separación de capas después de más de 24 horas de reposo.

Ensayo N°2

Se asumió que la ausencia de la separación de capas en el ensayo N°1 se debió a la presencia de agua en la muestra y se intentó superar este hecho eliminando el agua de la muestra por liofilización. Para ello se procedió a como se describe a continuación:

Se agregaron 200 ml de leche a un frasco de liofilización previamente pesado y seco, luego se colocó al liofilizador por un día. Después de la liofilización la apariencia física de las muestras de leche fue la de un polvo finamente dividido, muy parecido a la leche en polvo ofertada en los mercados. Se tomaron 15 gramos de esta leche liofilizada para repetir el ensayo No 1. Nuevamente la muestra se emulsificó y no hubo separación de capas.

Resultando fallidas las pruebas anteriores de extracción se procedió a la búsqueda en la literatura de otros métodos de extracción de grasas en leche que se pudiera ajustar a las condiciones de nuestro laboratorio. Bajo esta búsqueda se eligió el método de Babcock (véase pag14) El que fue modificado para fines analíticos y no cuantitativos.

VI.1.1.1. MÉTODO DE BABCOCK MODIFICADO:

En un tubo de ensayo de 15 ml agregar 6 ml de leche y adicionarle 3 ml de H₂SO₄ concentrado. Luego agitarlo en un vortex por 15 min y posteriormente centrifugar por 10 min a 1000 rpm. Agregar 2 ml de hexano al tubo de ensayo y centrifugar nuevamente con las mismas condiciones y finalmente extraer la fase superior con una pipeta pasteur y transferirla a un frasco (vial) y dejar evaporar el solvente a temperatura ambiente. Pesar la grasa obtenida y calcular el rendimiento práctico.

Este proceso se realiza por triplicado porque el método de extracción no permite aislar todo el producto descrito.

VI.1.2 EXTRACCIÓN DE GRASA EN CREMA

Antes de describir dicho procedimiento, cabe mencionar que no se encontró ningún método de extracción en la literatura dirigido a las muestras de cremas que se adecuara a nuestras condiciones de laboratorio y objetivos.

Se trataron varias técnicas en la búsqueda del método más adecuado; a continuación se describe un intento fallido y el método final desarrollado.

Extracción por solventes inmiscible

Se colocó un poco de crema en un embudo separador y se le adicionó hexano hasta cubrir la crema. Se agitó continuamente por 10 minutos y se dejó en reposo para permitir la separación de capas. No hubo separación de capas después de más de 24 horas de reposo. Se comportó similar a los ensayos No 1 y No 2 descritos anteriormente. Por ende se procedió a realizar otro tipo de extracción de grasas en crema y este se describe a continuación:

VI.1.2.1. EXTRACCIÓN POR SOLVENTE, PREVIA LIOFILIZACIÓN

Como se mencionó anteriormente en los métodos de extracción de grasas la presencia de agua es un factor que dificulta grandemente los procesos extractivos de grasas. En vista de lo anterior se procedió a desarrollar un método en el cual el agua fuera eliminada previa a la extracción de la grasa. Se considero que el método más adecuado de eliminar el agua sería la liofilización de la muestra. A continuación se describen los procedimientos empleados.

PRE-tratamiento de la muestra

Se pusieron 200 ml de crema en un frasco de liofilización previamente pesado y seco, luego se colocó al liofilizador por un día, y una vez liofilizada la crema se procedió a pesarla y almacenarla para el siguiente paso.

Pos-tratamiento

Pesar 15 g de la muestra de crema liofilizada, transferirla a un erlenmeyer de 250 ml, adicionarle 60 ml de hexano y agitar con un agitador magnético por 20 min., luego filtrar por gravedad y recoger el solvente en un balón tarado de 500 ml. Se repiten dos veces más las extracciones con 60 ml de hexano y los filtrados se recogen en el mismo balón. Finalmente se elimina el solvente en un rota vapor a 40°C y una vez eliminado el solvente se pesa la grasa obtenida y se calcula el rendimiento.

Este método dio buenos resultados y es relativamente fácil de reproducir.

VI.1.3. EXTRACCION DE GRASA EN QUESO

VI.1.3.1. EXTRACCIÓN POR SOLVENTE

Se pesan 15 g de muestra de queso rayado en un erlenmeyer de 150 ml y se le adicionan 20 ml de hexano. Se agitan luego con un agitador magnético por 15 min. y el solvente sobrenadante se filtra por gravedad y se recoge en un balón tarado de 500 ml. Se repiten dos veces más las extracciones con 20 ml de hexano y los filtrados se recogen en el mismo balón. Finalmente se elimina el solvente en un rota vapor a 40°C y una vez eliminado el solvente se pesa la grasa obtenida y se calcula el rendimiento.

VI.2. DETERMINACIONES REALIZADAS A LAS MUESTRAS GRASAS DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS LACTEAS

Una vez extraídas las grasas lácteas de todas las muestras (Ver tabla #1) estas se presentaban sólidas a temperatura ambiente, con un ligero color amarillo y no mostraban la presencia de otra fase; líquida o sólida.

A pesar de que las extracciones no fueron exhaustivas, se calcularon los rendimientos prácticos, cuando fue posible, sobre la base de la cantidad de muestra láctea tomada para la extracción. El reporte tiene como único fin dejar un record de la eficiencia de las extracciones (ver tabla # 2).

Rendimiento neto en grasa (%) = (g de aceite obtenido /g tomados de la muestra) x 100

Tabla 2. Porcentajes de rendimientos prácticos de extracciones de grasas de las leches y sus derivados

Lácteos	% Rendimiento practico*
Leche Artesanal	No se determino
Leche La Perfecta	No se determino
Leche La Selecta	No se determino
Leche La Exquisita	No se determino
Crema Artesanal	15.02
Crema La Perfecta	37.3
Crema La Selecta	17.29
Crema La Exquisita	28.44
Queso Artesanal	14.8
Queso de Crema	19.60
Queso Amarillo	10.48
Queso Mozzarella El Bosque	13.45

**El cálculo de porcentaje de rendimiento de las cremas fue en base seca*

Nota: los porcentajes de rendimiento de las cuatro muestras de leche no fueron reportados porque el método de extracción no fue exhaustivo y por lo tanto, no permitió aislar todo el producto.

Luego se procedió a preparar los ésteres metílicos de los ácidos grasos a partir de las grasas de cada muestra láctea por el método de transesterificación básica (Ver Pág. #18). Estos ésteres metílicos se diluyeron en hexano y se inyectaron al cromatógrafo sin posterior tratamiento.

En la tabla a continuación se muestran las concentraciones totales de los ésteres metílicos de las muestras transesterificadas inyectadas al cromatógrafo (Ver tabla #3)

Tabla 3. Concentración en (ppm) de cada una de las muestras de aceites de lácteos después de ser transesterificadas

Lácteos	Concentración (ppm) de grasas de la muestra inyectada.
Leche Artesanal	4660*
Leche La Perfecta	2860*
Leche La Selecta	1330*
Leche La Exquisita	3130*
Crema Artesanal	5510
Crema La Perfecta	5730
Crema La Selecta	6450
Crema La Exquisita	5770
Queso Artesanal	5140
Queso de Crema	6610
Queso Amarillo	6370
Queso Mozzarella El Bosque	6030

* Se tomaron menos de las 4 gotas.

Nota: La diferencia en masa antes y después de la transesterificación es despreciable, por lo que en la práctica el peso antes y después de la transesterificación es el mismo (Ver Fig. 3)

VII. PREPARACION DE ESTANDARES

Se seleccionaron siete estándares de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, utilizando como criterio de selección su abundancia natural y presencia tanto en los aceites de origen vegetal como en las grasas de origen animal.

Se preparó una solución de los estándares, a partir de las soluciones madres, (Ver tabla 4) para determinar los tiempos de retención de cada uno de los ésteres metílicos de los ácidos grasos. También se procedió a preparar tres mezclas de estándares a diferentes concentraciones, para hacer las curvas de calibración.

Tabla 4. Concentraciones (ppm) de estándares de las soluciones madres y de las mezclas de estándares utilizadas para determinar los tiempos de retención y parámetros cromatográficos óptimos.

Estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos.	Concentración (ppm) de los estándares en la solución madre	Concentraciones (ppm) de la mezcla de estándares para optimizar
Láurico (C12:0)	16735	110.45
Mirístico (C14:0)	51182.8	51.18
Palmítico (C16:0)	56113.2	173.95
Esteárico (C18:0)	19979.6	149.85
Oleico (C18:1)	12078	483.12
Linoléico (C18:2)	22964.6	459.29
Linolénico (C18:3)	19518	97.59

VIII. PREPARACION DE CURVA DE CALIBRACION

Previo a la determinación de las concentraciones de los ésteres metílicos de los ácidos grasos por cromatografía de gases se procedió a determinar los límites de detección, cuantificación y la linealidad de la respuesta de los estándares dentro de los límites de trabajo. Para ello se preparó una mezcla de estándares en lugar de los estándares individuales, para hacer más rápidas todas las determinaciones.

Los límites teóricos de identificación y cuantificación se determinaron sobre la base del ruido del equipo utilizando el programa HP ChemStation. Se consideró que los límites de detección y cuantificación eran 3 y 10 veces el ruido respectivamente. Los resultados se muestran en la tabla No 5. Una muestra de cálculo se refleja en los Anexos..

Tabla 5. Límites de detecciones y cuantificaciones de los ésteres metílicos de los ácidos grasos

Estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos.	Límite de detección (ppm)	Límite de cuantificación (ppm)
Láurico (C12:0)	4.40	14.6
Mirístico (C14:0)	1.11	3.7
Palmítico (C16:0)	0.96	3.2
Esteárico (C18:0)	3.93	13.1
Oleico (C18:1)	3.93	13.1
Linoléico (C18:2)	1.12	3.7
Linolénico (C18:3)	1.45	4.8

Adicionalmente se estimaron estos límites de detección y cuantificación mediante las inyecciones continuas de diluciones de las mezclas de estándares hasta encontrar una concentración detectable y no detectable de los estándares individuales y verificar con estos valores si existe o no una correlación aceptable entre los valores calculados con el programa HP ChemStation, sobre la base

del ruido del equipo, de los límites de detección y cuantificación como se muestra en la tabla No 6.

Tabla 6. Concentración (ppm) de los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) de los ácidos grasos calculados con el programa HP ChemStation vs .Límites de detección y cuantificación estimados por diluciones.

Estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos	Concentraciones (ppm) de los estándares en la mezcla diluida		Concentraciones (ppm) de los estándares reportados por el equipo	
	Detectable	No Detectable	L.D	L.C
Láurico (C12:0)	2.94	1.47	4.40	14.6
Mirístico (C14:0)	1.63	0.81	1.11	3.7
Palmítico (C16:0)	1.62	0.81	0.96	3.2
Esteárico (C18:0)	3.65	1.8	3.93	13.1
Oleico (C18:1)	4.22	2.11	3.93	13.1
Linoléico (C18:2)	5.02	2.51	1.12	3.7
Linolénico (C18:3)	6.4	3.2	1.45	4.8

La linealidad de las respuestas del cromatógrafo para diferentes concentraciones de estándares se determino mediante la elaboración de curvas de calibración. (Ver anexos)

Para elaborar la curva de calibración se tomo como criterio preparar una curva con tres niveles donde el **nivel 3** corresponde a las concentraciones superiores utilizadas para preparar la mezcla de estándares con que fue determinado el límite de detección y cuantificación, **el nivel 2** es dicha mezcla de estándares diluidas a la mitad de la concentración original de **nivel 3** y **el nivel 1** es una dilución a concentraciones aproximadas a los límites de cuantificaciones calculados anteriormente. (Ver tabla 7)

En la siguiente tabla se muestra las concentraciones de los niveles de inyección y el valor de R

Tabla 7

Mezcla de estándares	Nivel 3 (ppm)	Nivel 2 (ppm)	Nivel 1 (ppm)	R
Láurico (C12:0)	188.70	94.35	*5.05	1
Mirístico (C14:0)	209.3	104.65	5.60	0.9951
Palmítico (C16:0)	208.57	104.28	5.58	0.9997
Esteárico (C18:0)	462.88	231.44	12.39	0.9991
Oleico (C18:1)	270.19	135.09	7.23	0.9999
Linoléico (C18:2)	321.52	160.76	*8.61	0.9942
Linolénico (C18:3)	409.73	204.86	10.9	0.9927

** Esta por debajo del LC pero, por encima LD*

IX. CARACTERIZACION Y CUANTIFICACION DE LOS ACIDOS GRASOS EN GRASAS POR MEDIO DE SUS ESTERES METILICOS

Previo al análisis de la composición y cuantificación de los ácidos grasos se procedió a la conversión de los ácidos grasos presentes en las grasas de leche y sus derivados a los ésteres metílicos usando el método de transesterificación básica. (Ver Pág. #18).

Se utilizó un cromatógrafo de gases HP modelo 5890 equipado con un detector FID, diseñado para trabajar con columnas capilares y acoplado a una Estación Química HP ChemStation (Versión A.06. 03[509]). Debido a problemas técnicos del cromatógrafo no fue posible utilizar la técnica de inyección con división (splet), por lo que se tuvo que trabajar con la técnica de inyección sin división (spletlees). Se utilizó como gas de arrastre y combustible, hidrógeno de alta pureza generado por un equipo recién instalado de generación de hidrógeno ultra puro marca Whatman modelo 75-34.

El cromatógrafo se equipó con una columna capilar DB-225* de 30 m, 0.247 mm diámetro interno y 0.22 μm de grosor de película de fase estacionaria.

En la búsqueda de los parámetros óptimos para la identificación y resolución de las mezclas de estándares utilizados en los análisis de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se procedió a encontrar los parámetros cromatográficos óptimos para la separación de dichos compuestos. Como se mencionó anteriormente, se seleccionó la técnica spletlees (sin división) para inyectar la muestra al cromatógrafo y sólo tuvimos que optimizar los siguientes parámetros para mejorar la resolución, eficiencia y tiempo de análisis: temperatura inicial del horno, tiempo de purga, rampa de calentamiento, volúmenes de inyección y flujo de la columna.

Para la optimización se utilizó una mezcla de estándares con la composición descrita en la **Tabla No 4**.

Los parámetros óptimos encontrados fueron los siguientes:

Temperatura del inyector: 250°C

Temperatura del detector: 300°C

Flujo de la columna: 0.6 ml/min.

Tiempo de purga: 0.01min

Horno: Rampa T1:40°C, t1:4 min, R: 35°C/min, T2:220°, t2:10 min

Volumen de inyección: 1µl

*La columna DB-225 es poli 50% cianopropil fenil/50% dimetil silano útiles para separar ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME).

El orden de elusión de cada uno de los estándares individuales de los ésteres metílicos o sea sus Tr se determinaron por inyecciones individuales de cada uno de ellos bajo los parámetros anteriores. Los tiempos de retención (Tr) de cada uno de los ésteres metílicos con las condiciones anteriores se muestran en la tabla siguiente (No 8) y los cromatogramas respectivos en los anexos.

Tabla 8. *Tiempos de retención de los estándares de los ésteres metílicos de ácidos grasos*

Esteres metílicos	Láurico (C12:0)	Mirístico (C14:0)	Palmítico (C16:0)	Estearico (C18:0)	Oleico (C18:1)	Linoléico (C18:2)	Linolénico (C18:3)
Tr (min.)	9.186	9.779	10.414	11.302	11.390	11.601	11.907

Una vez encontrados los parámetros adecuados se procedió a inyectar las muestras de los ésteres metílicos preparados a partir de las grasas de cada muestra individual. En todos los casos los volúmenes de inyección fueron de 1µl y se hicieron por duplicado. Los cálculos de las concentraciones se hicieron sobre la base del average de las áreas de los picos. Los datos obtenidos se muestran en tabla # 9,10 y 11. Una muestra de cálculo se refleja en los Anexos

Tabla 9. Concentración (ppm) de los ácidos grasos presentes en las muestras de leches inyectados al cromatógrafo de gas después de transesterificar

FAME de Productos Lácteos	Leche Artesanal (ppm)	Leche La Perfecta (ppm)	Leche La Selecta (ppm)	Leche La Exquisita (ppm)
Ac Láurico (C12:0)	35,4	*12,37	No se detectó	19,92
Ac Mirístico (C14:0)	226,62	85,51	No se detectó	126,36
Ac. Palmítico (C16:0)	835,49	281,28	245,78	330,23
Ac. Esteárico (C18:0)	404,74	168,89	58,97	209,24
Ac. Oleico (C18:1)	1040,22	278,2	138,29	330,34
Ac. Linoléico (C18:2)	63,27	17,47	31,54	15,2
Ac. Linolénico (C18:3)	9,6	16,3	No se detectó	No se detectó
$\Sigma=$	2615,34	860,02	474,58	1031,29

**Esta por debajo del límite de cuantificación, pero es 8 veces mayor que el ruido.*

Tabla 10. Concentración (ppm) de los ácidos grasos presentes en las muestras de cremas inyectados al cromatógrafo de gas después de transesterificar

FAME de Productos Lácteos.	Crema Artesanal (ppm)	Crema La Perfecta (ppm)	Crema La Selecta (ppm)	Crema La Exquisita (ppm)
Ac Láurico (C12:0)	46,46	30,51	41,32	754,7
Ac Mirístico (C14:0)	277,43	170,22	244,98	487,28
Ac. Palmítico (C16:0)	767,01	1569,5	1680,7	640
Ac. Esteárico (C18:0)	342,88	*9,91	12,84	346,39
Ac. Oleico (C18:1)	692,24	292,63	428,95	425,12
Ac. Linoléico (C18:2)	72,84	1888,90	2338,01	516,93
Ac. Linolénico (C18:2)	17,73	273,55	629,59	40,2
$\Sigma=$	2216,59	4235,3	5376,39	3210,62

** Esta por debajo del LC, pero es 6 veces mayor que el ruido.*

Tabla 11. Concentración (ppm) de los ácidos grasos presentes en las muestras de quesos inyectados al cromatógrafo de gas después de transesterificar

FAME de productos lácteos.	Queso Artesanal (ppm)	Queso de Crema Parmalat (ppm)	Queso Amarillo Parmalat (ppm)	Queso Mozzarella El Bosque (ppm)
Ac Láurico (C12:0)	20,58	40,96	21,49	23,85
Ac Mirístico (C14:0)	134,19	136,08	203,69	165,66
Ac. Palmítico (C16:0)	358,91	944,71	573,2	519,5
Ac. Esteárico (C18:0)	268,93	1794,4	367,41	353,81
Ac. Oleico (C18:1)	359,71	834,47	524,56	492,5
Ac. Linoléico (C18:2)	22,21	172,77	63,11	23,29
Ac. Linolénico (C18:2)	6,8	No se detectó	15,66	No se detectó
$\Sigma=$	1171,3	3923,4	1769,12	1578,61

Las composiciones porcentuales de los ácidos grasos de la leche y sus derivados y de una muestra vegetal reportadas en la literatura se reflejan en la siguiente tabla (No 12)¹⁰

Tabla 12. Perfil porcentual de ácidos grasos en leche de vaca, aceite de soya y palma reportados en la literatura¹⁰

Ácidos grasos	% de ácidos grasos en leche de vaca	% de ácidos grasos en aceite de soya	% de ácidos grasos en aceite de palma
Ácidos grasos saturados.	60-70%	No mayor de 16%	83%
Ácidos grasos mono insaturados	30-40%	17-24%	15%
Ácidos grasos poli insaturados	4%	55-62%	2%

Sobre la base de las concentraciones individuales obtenidas de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de cada uno de las muestras analizadas se calculó la composición porcentual de cada uno de los ácidos grasos presentes en las muestras. Este cálculo se realizó asumiendo que la sumatoria de

todos los ácidos detectados representan el 100%. Este tipo de cálculos donde sólo se toman en cuenta los ácidos grasos identificados para el cálculo de la composición porcentual es lo que se conoce como perfil de la composición de los ácidos grasos de una grasa o aceite y se refleja en el perfil cromatográfico de todas las muestras analizadas. Sobre la base de este perfil de los ácidos grasos presentes es posible saber si una muestra de aceite analizada es de origen animal o vegetal por que es evidente en el cromatógrama si hay predominio o no de ácidos grasos saturados o insaturados. Una muestra de cálculo se refleja en los Anexos

En las tablas No 13, 14 y 15 se muestran los valores encontrados para cada uno de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de todas las grasas extraídas de cada una de las muestras de leche y sus derivados y adjunto los porcentajes de ácidos grasos reportados por la literatura referente a la leche.

Tabla 13. Composiciones porcentuales de ácidos grasos en leches bajo estudio vs. Composición porcentual de ácidos grasos reportados en la literatura

FAME		% En Leche				
		Artesanal	Perfecta	Selecta	Exquisita	Literatura
Ac. Grasos saturados	C12:0	1,35	1,43	No se detectó	1,93	
	C14:0	8,66	9,94	No se detectó	12,25	
	C16:0	31,94	32,70	51,78	32,02	
	C18:0	15,47	19,63	12,42	20,28	
	$\Sigma=$	57,44	63,72	64,21	66,49	60-70%
Ac. Grasos Mono insaturados	C18:1	39,77	32,34	29,13	32,03	30-40%
Ac. Grasos poli insaturados	C18:2	2,41	2,03	6,64	1,47	
	C18:3	0,36	1,89	No se detectó	No se detectó	
	$\Sigma=$	2,78	3,92	6,64	1,47	4%

Tabla 14. Composiciones porcentuales de ácidos grasos en cremas bajo estudio vs. Composición porcentual de ácidos grasos reportados en la literatura

% En Crema						
FAME		Artesanal	Perfecta	Selecta	Exquisita	Literatura
Ac. Grasos saturados	C12:0	2.09	0,72	0,76	23,50	
	C14:0	12.51	4,01	4,55	15,17	
	C16:0	34.60	37,05	31,26	19,93	
	C18:0	15.45	0,23	0,23	10,78	
	$\Sigma=$	64.66	42,03	36,82	69,40	60-70%
Ac. Grasos mono insaturados	C18:1	31.22	6,90	7,97	13,24	30-40%
Ac. Grasos poli insaturados	C18:2	3.28	44,59	43,48	16,10	
	C18:3	0.79	6,45	11,71	1,25	
	$\Sigma=$	4.07	51,05	55,19	17,35	4%

Tabla 15. Composición porcentual de ácidos grasos en quesos bajo estudio vs. Composición porcentual de ácidos grasos reportados en la literatura

% En Queso						
FAME		Artesanal	Crema	Amarillo	Mozarella	Literatura
Ac. Grasos saturados	C12:0	1,75	1,04	1,21	1,51	
	C14:0	11,45	3,46	11,51	10,49	
	C16:0	30,64	24,07	32,40	32,90	
	C18:0	22,95	45,73	20,76	22,41	
	$\Sigma=$	66,81	74,32	65,89	67,32	60-70%
Ac. Grasos monoinsaturados	C18:1	30,70	21,26	29,65	31,19	30-40%
Ac. Grasos poliinsaturados	C18:2	1,89	4,40	3,56	1,47	
	C18:3	0,58	No se detectó	0,88	No se detectó	
	$\Sigma=$	2,47	4,40	4,45	1,47	4%

Tabla 16. Porcentajes de grasas saturadas encontrados en las muestras analizadas vs. Porcentajes reportados en el producto vs. Porcentajes reportados en literatura

Lácteos	Marca	% de grasas encontradas en los análisis.		% de grasas reportadas en los productos		% de grasas reportadas en la literatura	
		Sat.	Insat.	Sat.	Insat.	Sat.	Insat.
Leche	Artesanal	57.44	42.56	No se declara	No se declara	60-70	30-44
	La Perfecta	63.72	36.28	60	40	60-70	30-44
	La Selecta	64.21	35.79	60	40	60-70	30-44
	La Exquisita	66.49	33.51	62.5	37.5	60-70	30-44
Crema	Artesanal	64.66	35.34	No se declara	No se declara	60-70	30-44
	La Perfecta	42.03	57.97	80	20	60-70	30-44
	La Selecta	36.82	63.18	33.3	66.7	60-70	30-44
	La Exquisita	69.40	30.60	58.33	41.67	60-70	30-44
Queso	Queso Artesanal	66.81	33.19	No se declara	No se declara	60-70	30-44
	Queso de Crema	74.32	25.68	58.33	41.67	60-70	30-44
	Queso Amarillo	65.89	34.11	70	30	60-70	30-44
	Queso Mozzarella	67.32	33.68	58.33	41.67	60-70	30-44

X. CONCLUSIONES

Los productos lácteos analizados contienen en la mayoría de los casos, los porcentajes de ácidos grasos saturados e insaturados declarados por los productores. Estos porcentajes pueden ser determinados con la metodología desarrollada, para el caso de los quesos y leches en menos de una jornada de ocho horas. Para el caso de las cremas se necesita más tiempo, dos jornadas, porque la liofilización de la muestra previa a la extracción de la grasa toma alrededor de toda una noche. Se pueden preparar y analizar, al menos cuatro muestras por jornada. Se puede confiablemente presumir cualitativamente con sólo examinar los perfiles cromatográficos si se han adicionado o no aceites de orígenes vegetales a los productos lácteos.

Los quesos en particular tienen una composición porcentual de ácidos grasos que reflejan, de acuerdo a nuestros resultados, los reportados en la literatura y los declarados por el fabricante, que no han sido modificados con aceites vegetales. Un comportamiento similar se encontró en las leches. Para el caso particular de la leche La Selecta, que declara la adición de aceite vegetal, no se refleja en nuestros resultados dado que su composición porcentual no es apreciablemente diferente a la de la leche no procesada, se puede presumir, por el contenido del ácido palmítico, que si se le adicionó aceite vegetal fue aceite de palma, dado que la adición de este aceite no aumenta el contenido de ácidos grasos poli insaturados su adicción no mejora su calidad para consumo humano y es por lo tanto un engaño reportar su adición para hacer creer que se a mejorado su calidad.

El Queso de Crema Parmalat tiene un porcentaje de grasa mayor que el declarado y el mayoritario entre ellos es el ácido esteárico que no es muy abundante en los vegetales por lo que se podría presumir que se le adicionó una grasa de origen animal. Esto no es recomendable por que se asocia, en particular, la ingesta de ácido esteárico con niveles altos de colesterol en los humanos.

Para el caso de las cremas la situación es más compleja desde el punto de vista de sus composiciones de los ácidos grasos a la luz de los resultados obtenidos experimentalmente y los valores de la literatura.

Vale la pena destacar, nuevamente, que parece ser una práctica común permitida a niveles industriales el adicionar aceites vegetales a las cremas para aumentar su contenido de ácidos grasos insaturados y disminuir los ácidos grasos saturados.

Estas adiciones no se dan, al menos declaradamente, en las cremas de fabricación artesanal. Lo anterior permite utilizar las cremas artesanales, como referencia de los contenidos esperados de ácidos grasos en productos no adulterados. Se encontró en este trabajo que la crema artesanal tiene una composición similar a la reportada en la literatura para las grasas lácteas y que La Selecta y La Perfecta, que declaran la adición de grasas vegetales, se reflejan claramente en sus contenidos mayor de ácidos grasos insaturados, lo cual es un mejoramiento en la calidad para el consumo humano. Sin embargo desde el punto de vista de la ingesta total de grasas, si consideramos que la adición de aceite vegetal a la crema esta lejos de reflejar la composición de los aceites vegetales muy ricos en ácidos grasos insaturados, La Perfecta no es la mejor elección para el consumo por contener un porcentaje mayor (18%) de grasa que La Selecta (10%). Se presume que en ambas cremas se adicionó aceite de palma y soya.

La crema La Exquisita, que declara que esta modificada con grasa láctea y vegetal, tiene un alto contenido de ácidos grasos saturados y solo un pequeño aumento en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados con respecto a la crema artesanal. Tiene, adicionalmente un alto contenido de ácido láurico, por lo que se puede presumir que el aceite vegetal adicionado es aceite de coco, rico en ácido láurico. Lo anterior conduce a afirmar que la adición de grasa vegetal y láctea no mejora la calidad de la misma y si sumamos a esto el hecho de que contiene un 20% de grasa total es la crema de peor calidad para consumo humano, es decir más perjudicial que la crema artesanal.

No se encontró en la literatura acerca de métodos de extracción de grasas de crema, de acuerdo a nuestros recursos, por lo que nuestro método que elimina agua por liofilización previa a la extracción de grasa es una técnica nueva aplicada a este campo.

Finalmente podemos concluir que por la buena correlación entre los valores de literatura, los encontrados en los análisis y declarados por los productores de lácteos los métodos empleados y desarrollados de extracción e identificación y cuantificación son confiables y por lo tanto sirven para determinar la composición porcentual de ácidos grasos saturados e insaturados en grasas de productos lácteos.

XI. RECOMENDACIONES

Es recomendable en el futuro para quienes continúan este trabajo de extracción mejorar el método de extracción de grasas en leche o desarrollar un nuevo método.

Se recomienda hacer un estudio mas detallado de todos los productos lácteos en el mercado y sus sustitutos, tales como la margarina.

Es recomendable en un futuro para quienes continúen este trabajo hacer un estudio más sistemático de la correlación entre valores de los límites de detección y cuantificación calculados por el programa y los determinados experimentalmente por diluciones continuas.

También recomendamos utilizar en el futuro el método de estándares internos para hacer las curvas de calibración y las determinaciones cuantitativas.

Finalmente consideramos que los fabricantes de productos lácteos deberían no sólo declarar los porcentajes de grasas saturadas y los porcentajes totales de grasa si no que también para quien es recomendable cada producto lácteo, esto es particularmente importante para las cremas porque independientemente de su mejoramiento con grasas vegetales, no son buenos para la salud en particular para la gente con enfermedades cardiovasculares o bajo riesgos de padecerlas por la edad.

XII. Bibliografía

- 1- Samora Solís Eduardo José & Sobalvarro Sánchez Alberto Enrique. (1993).TESIS OPTIMIZACION DEL PROCESO DE TRANS-ESTERIFICACION DEL ACEITE DE TEMPATE PARA LA OBTENCION DE UN SUSTITUTO DEL DIESEL A ESCALA DE LABORATORIO.
- 2- Alton y Bailey (1979).ACEITES Y GRASAS INDUSTRIALES. Reverte 2da Edición.
- 3- Fritz Ullmann. ENCICLOPEDIA DE QUIMICA INDUSTRIAL. Editorial Gustavo Grli, SA tomo 5.
- 4- Chapman D. (1973). LIPIDOS. 1ra Edición Española.
- 5- Arens, M; Kroll, E; Ostenmann, G. (1990). FATSRI TECHNOL.
- 6- Ayres Gilbert. (1981).ANALISIS QUIMICO CUANTITATIVO.
- 7- Gram. Solomons T.W. FUNDAMENTOS DE QUIMICA ORGANICA.1988. 1ra Edición Limusa S.A. de C.V.
- 8- Drucker D.B. FERMENTACION PRODUCTOS ANALYSIS.

9- Buron Arias, Rosario García Teresa. (1979). ESTUDIO SOBRE LAS LEYES QUE RIGEN EL PROCESO DE EXTRACCION. (MGA). Instituto Nacional de Investigación Agraria.

10- www.pulevaSalud.com / Nutrición / Alimentos/ Leche y derivados/ La composición de la leche mucho más que calcio.

11- www.Zonadiet.com/Bebidas /la leche.

12-V.C Mehlenbacher. (1979) Análisis de grasas y aceites. ENCICLOPEDIA DE QUÍMICA INDUSTRIAL. Bilbao, España.

ANEXOS

XIII. ANEXOS

Figura 4. CROMATOGRAMAS DE FAME DE LECHE Y ESTANDARES

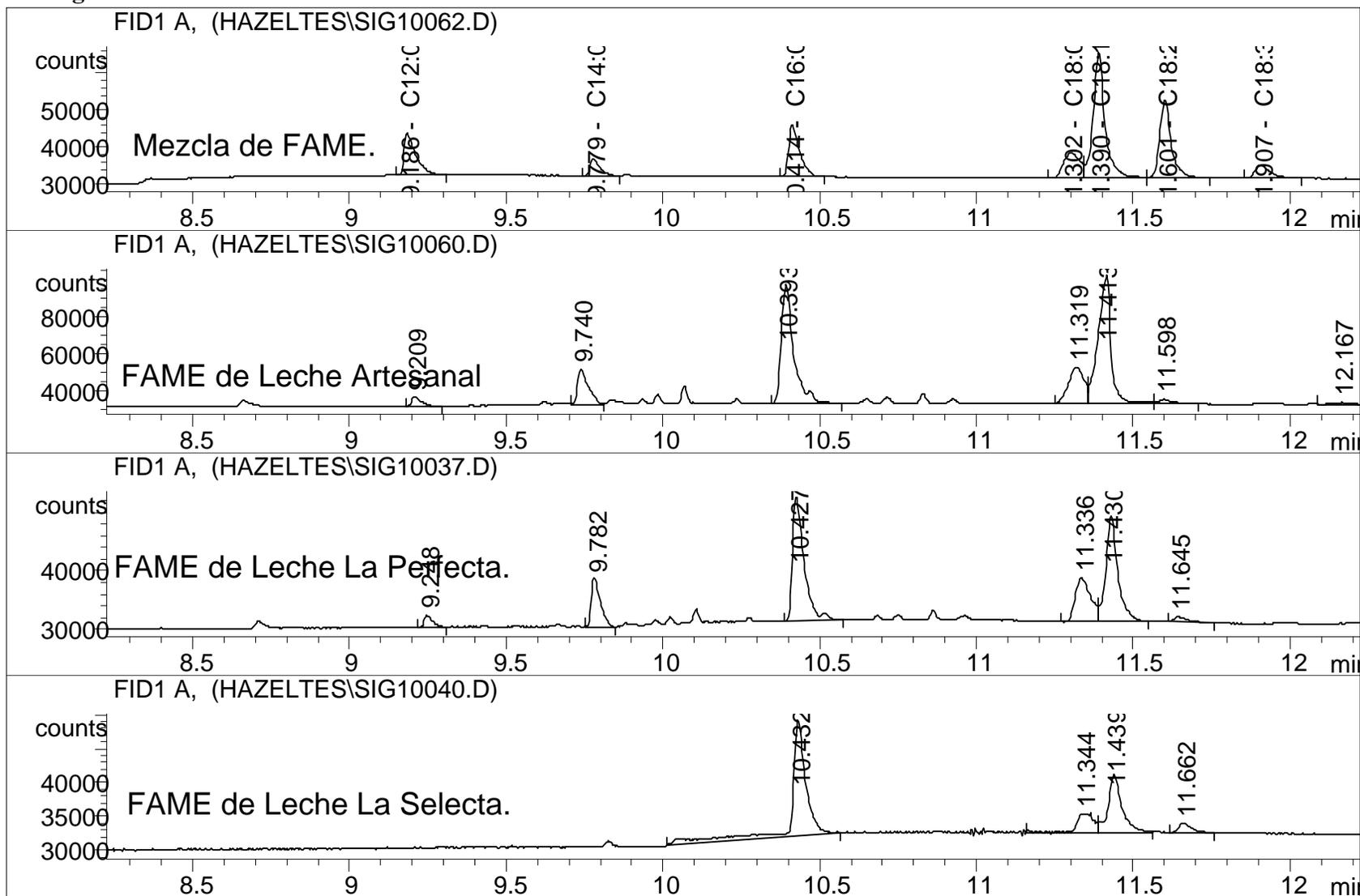


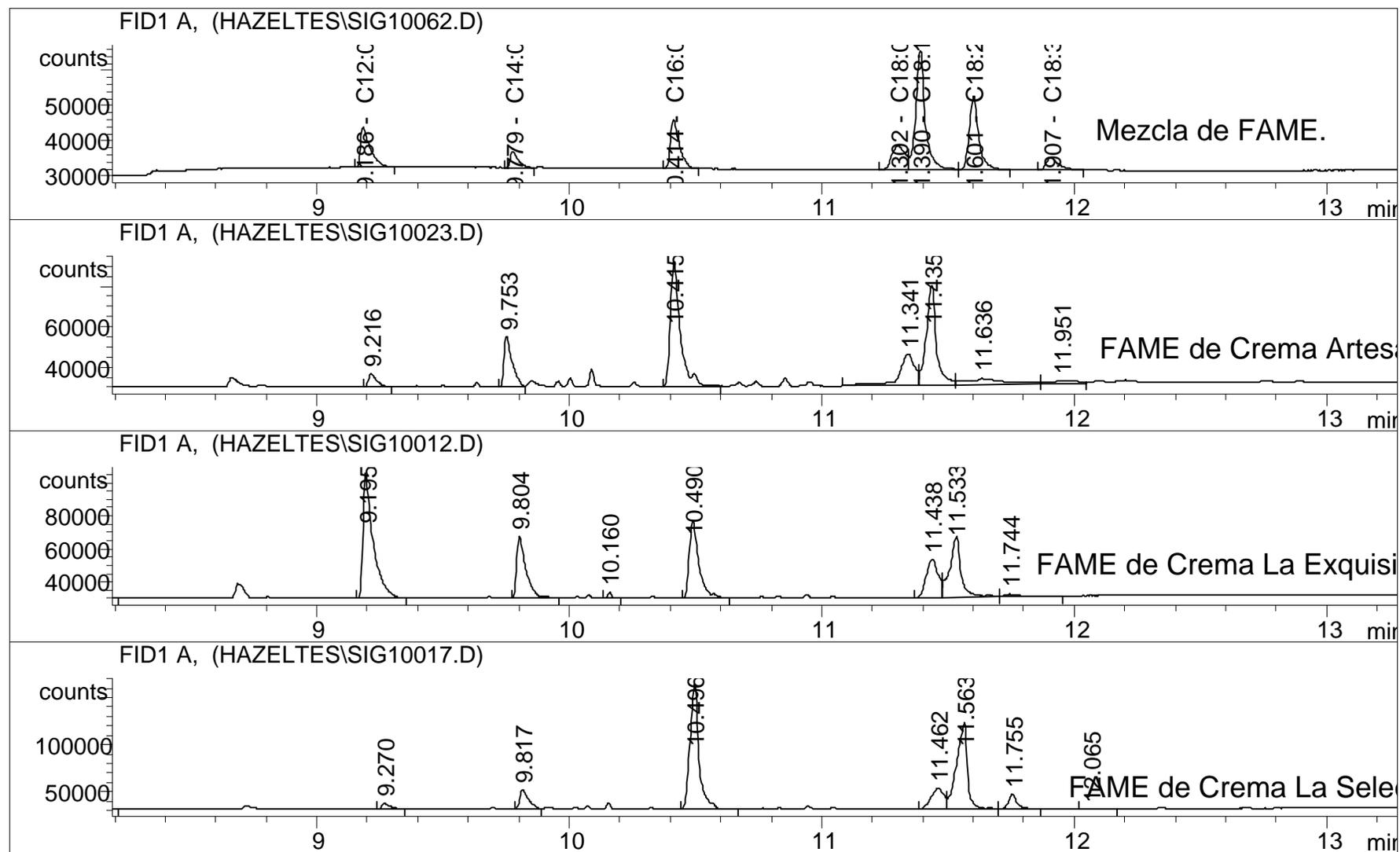
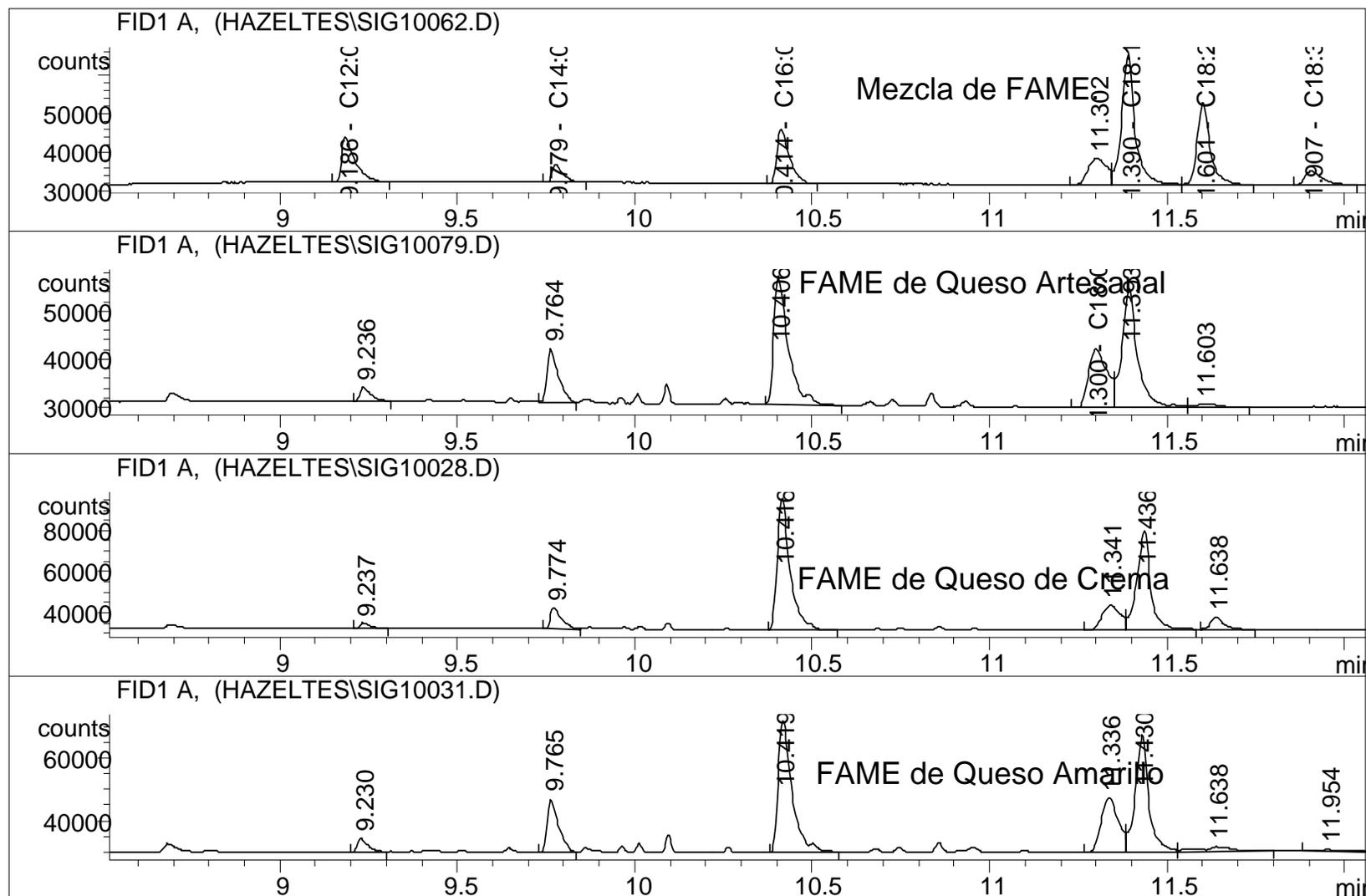
Figura 5. CROMATOGRAMAS DE FAME DE CREMAS Y ESTANDARES

Figura 6. CROMATOGRAMAS DE FAME DE QUESOS Y ESTANDARES



LIMITES DE DETECCION Y CUANTIFICACION DEL METIL ESTER DEL ACIDO PALMITICO

Para el ácido palmítico la concentración de 104.24 ppm da una altura de pico de 39125.3 y la altura del ruido justo antes de la salida del pico es de 123.2016 (Noise P to P)

$$104.24 \text{ ppm} \rightarrow 39125.3 \text{ (altura del pico)}$$

$$X \rightarrow 198.3227 \text{ (Ruido P a P)}$$

$$X=0.32 \text{ ppm}$$

La concentración de la muestra que daría una altura equivalente al ruido es de 0.32 ppm. Tres veces esta concentración es **LD** y 10 veces esta concentración es **LC**.

$$0.32 \text{ ppm} \times 3 = 0.96 \text{ ppm}$$

$$0.32 \text{ ppm} \times 10 = 3.2 \text{ ppm}$$

LD: 0.96 ppm

LC: 3.2 ppm

CONCENTRACION (PPM) DE GRASA EN CREMA LA PERFECTA EN MUESTRA INYECTADA AL CROMATOGRAFO DE GAS

$$\text{Peso de 4 gotas de aceite} = 0.00658 \text{ g}$$

$$0.00658 \text{ g} \times 1000 \text{ mg/1g} = 6.58 \text{ mg}$$

6.58 mg– 0.8 ml de hexano

x – 0.3 ml tomados de hexano

$$x = \frac{6.58 \text{ ml} \times 0.3 \text{ ml}}{0.8 \text{ ml}} = 2.4675 \text{ mg} \quad \text{cantidad de aceite en 0.3 ml previo a la transesterificación}$$

4ml de hexano vertido en 0.3ml

4ml + 0.3ml = 4.3 ml volumen final después de diluir los 0.3 ml después de la transesterificación.

2.4675 – 4.3ml

X – 0.001ml

$$x = \frac{2.4675 \text{ mg} \times 0.001}{4.3 \text{ ml}} = 5.73 \times 10^{-4} \text{ mg/ml} \cong 0.000573 \text{ mg/ml} = 5730 \text{ ppm} \quad \text{concentración de aceite}$$

de la muestra inyectada

CALCULO DE CONCENTRACIÓN DEL ÁCIDO LÁURICO EN LECHE ARTESANAL

$$C. \text{ Ac Láurico} = \frac{A.muestra.x.Cstd}{A.std}$$

$$C. \text{ Ac Láurico} = \frac{9606.6356 \times 10.45 \text{ ppm}}{2.99663e4} = 35.40 \text{ ppm. Concentración de Ac. Láurico en la}$$

muestra

CALCULO DE PORCENTAJE DE ÉSTER METILICO DEL ÁCIDO LÁURICO EN LECHE ARTESANAL

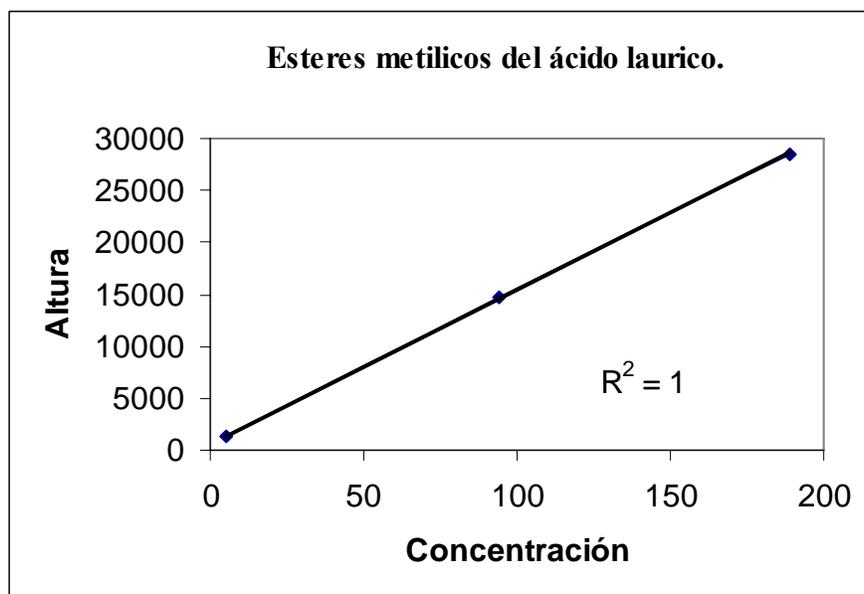
$$\% = \frac{C_{ac.Laurico \text{ de } leche \text{ artesanal}}}{\sum C_{ac.grasos \text{ de } leche \text{ artesanal}}} \times 100$$

$$\% \text{ Ac. Láurico} = \frac{35.40}{2615.34} \times 100 = 1.35$$

CURVAS DE CALIBRACIÓN PARA CADA UNO DE LOS ESTÁNDARES DE ÁCIDOS GRASOS

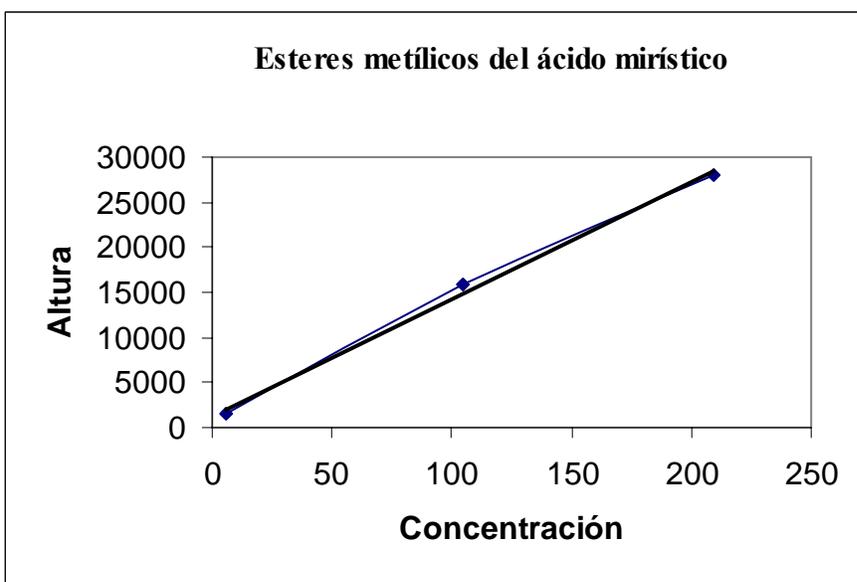
Esteres metílicos del ácido láurico

Concentración	Altura
5,05	1266,6
94,35	14655,1
188,7	28523,3



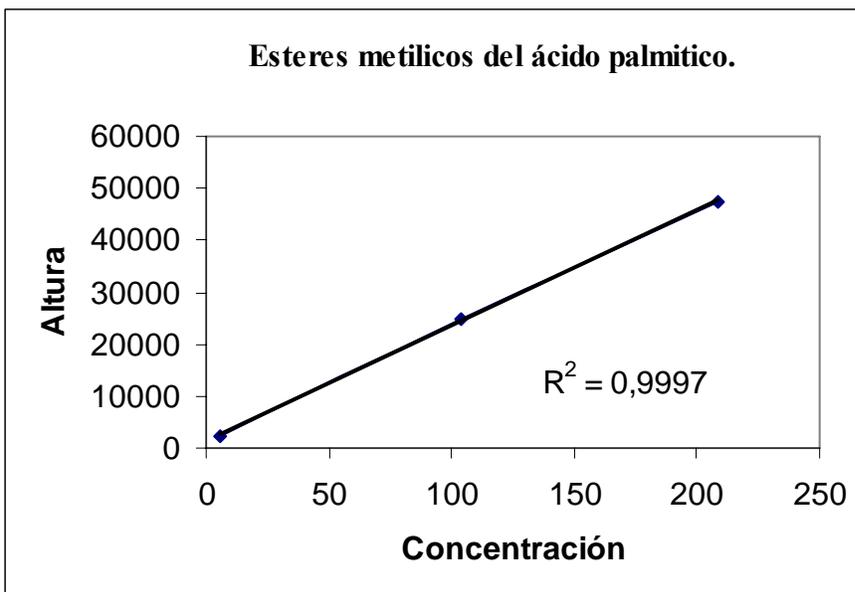
Esteres metílicos del ácido mirístico

Concentración	Altura
5,6	1474,8
104,65	15991,9
209,3	28028,7



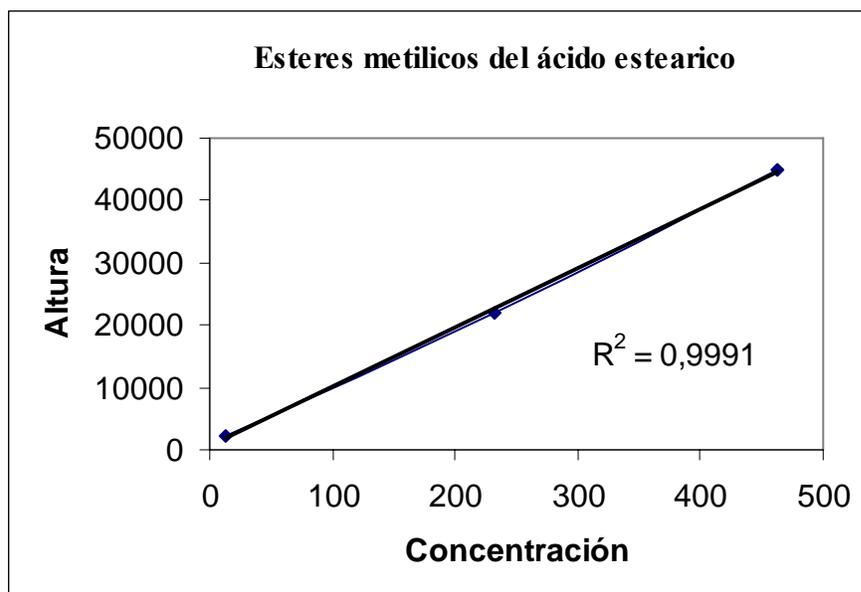
Esteres metílicos del ácido palmítico

Concentración	Altura
5,58	2334,1
104,28	24940,3
208,57	47427



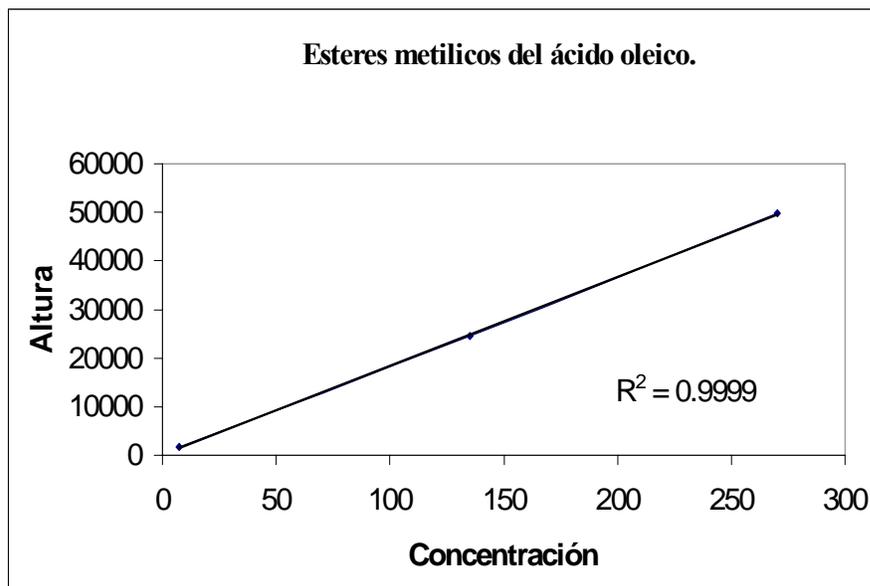
Esteres metílicos del ácido esteárico

Concentración	Altura
12,39	2155
231,44	21873,6
462,88	45042,4

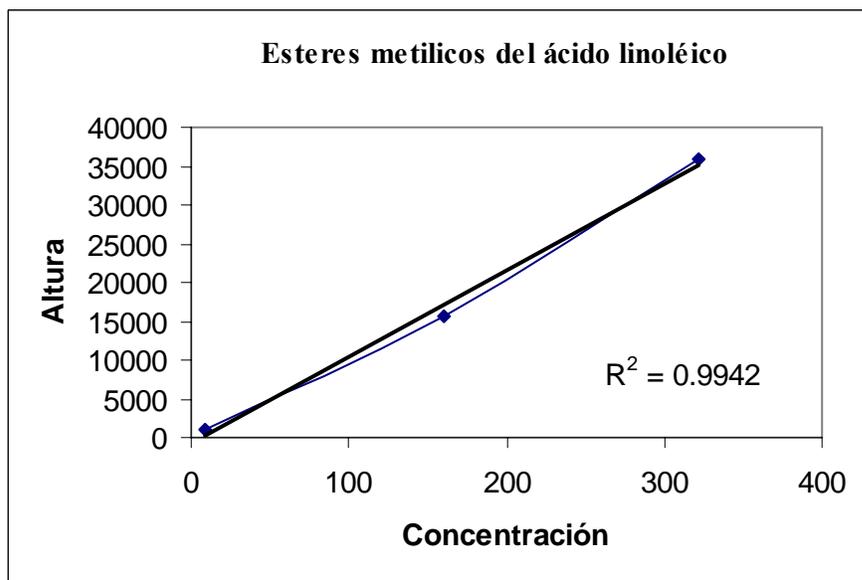


Esteres metílicos del ácido oleico

Concentración	Altura
7,23	1689,1
135,09	24610,4
270,19	49751,7

**Esteres metílicos del ácido linoléico**

Concentración	Altura
8,61	1121,8
160,76	15753,6
321,52	35962,1



Esteres metílicos del ácido linolénico

Concentración	Altura
10,9	1249,7
204,86	14199,8
409,73	32677,7

