

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
UNAN-LEON**



**FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGIAS  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA**

**Titulo:**

**Estudio preliminar por cromatografía de gases con columna capilar de las composiciones porcentuales de los ácidos grasos más comunes presentes en los aceites comestibles que se ofertan en Nicaragua.**

**Monografía presentada por:**

**Br. Jaqueline Isabel Herrera Castillo**

**Br. Leticia de la Caridad Méndez Cruz**

**Previo opción al Título en:  
Licenciatura. En Química**

**Tutor:  
Dr. José María Cabezas Lacayo**

**León Nicaragua, 2008**



## AGRADECIMIENTO

A nuestro tutor Dr. José María Cabezas L. por su colaboración, conocimientos, paciencia y comprensión para realizar esta tesis.

Al Lic. Fabio Pallavicini por su invaluable asesoría en el procesamiento de los datos analíticos.

Al Dr. Uwe Müller por facilitarnos los estándares para realizar este trabajo.

A nuestros amigos y compañeros que nos ayudaron y apoyaron con sus conocimientos y solidaridad en el desarrollo y culminación de esta tesis.



## DEDICATORIA

Con mucho cariño dedico este trabajo a Wilson Javier Martínez Gonzáles (q.e.p.d)

A mi hermana Carolina Méndez Cruz quien me ha apoyado incondicionalmente en todo el transcurso de mi carrera.

A toda mi familia y amistades que estuvieron siempre conmigo en las buenas y en las malas.

*Leticia de la Caridad Méndez Cruz*



## DEDICATORIA

Gracias a Dios nuestro señor que me ha bendecido con el don de la vida, y me ha permitido culminar esta tesis.

A mi familia, en especial a mi madre que me brinda siempre su apoyo y quien se esforzó por darme la oportunidad de prepararme y llegar a culminar mis estudios.

*Jaqueline Isabel Herrera Castillo.*



## RESUMEN

Se determinó por cromatografía de gases con columna capilar la composición porcentual relativa de los ácidos grasos saturados e insaturados presentes en los aceites vegetales nacionales y extranjeros que se comercializan en Nicaragua. Se utilizó la transesterificación básica de los aceites para preparar los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

Se tomó como referencia de la calidad, para cada uno de los aceites estudiados, el potencial aterogénico, la relación de ácidos grasos saturados e insaturados y las composiciones de los ácidos omega-3 y omega-6.



## INDICE

<b>AGRADECIMIENTO.....</b>	<b>i</b>
<b>DEDICATORIA 1.....</b>	<b>ii</b>
<b>DEDICATORIA 2.....</b>	<b>iii</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>iv</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>II. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>9</b>
<b>III. OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
<b>IV. MARCO TEORICO.....</b>	<b>11</b>
<b>IV. 1. LÍPIDOS.....</b>	<b>11</b>
IV. 1. 1. Definición, estructura y función.....	11
IV. 1. 2. Tipos de lípidos.....	11
IV. 1. 2.1. Saponificables y no saponificables.....	12
IV. 1. 2. 2. Fosfolípidos.....	12
IV. 1. 2. 3. Triglicéridos: grasas y aceites.....	13
<b>IV. 2. COLESTEROL.....</b>	<b>14</b>
IV.2.1. Introducción.....	14
IV. 2. 2. Colesterol: bueno y malo.....	14
IV. 2. 3. Colesterol: arterias.....	15
<b>IV. 3. GRASAS Y ACEITES.....</b>	<b>16</b>
IV. 3. 1. Introducción.....	16
IV. 3. 2. Tipos de aceites vegetales comestibles.....	16
IV. 3. 3. Las grasas y la Salud.....	18
IV. 3. 4. Propiedades físicas.....	19



IV. 3. 5. Propiedades químicas.....	20
IV. 3. 6. Producción industrial de aceites vegetales comestibles.....	21
IV. 3. 7. Composición de aceites comestibles más comunes.....	22
<b>IV. 4. METODOS DE TRANSESTERIFICACIÓN.....</b>	<b>23</b>
IV. 4. 1. Introducción.....	23
IV. 4. 2. Transesterificación ácida.....	24
IV. 4. 3. Transesterificación básica.....	24
IV. 4. 4. Análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases.....	26
<b>IV. 5. ÁCIDOS GRASOS.....</b>	<b>28</b>
IV. 5. 1. Propiedades físicas y químicas.....	28
IV. 5. 2. Índice de aterogenicidad.....	30
IV. 5. 3. Clasificación.....	32
IV. 5. 3. 1. Saturados.....	32
IV. 5. 3. 2. Insaturados.....	33
IV. 5. 3. 3. Esenciales.....	34
IV. 5. 4. Estructura de los ácidos grasos insaturados omegas-3 y 6.....	35
IV. 5. 4. 1. Omega-3: fuentes y beneficios.....	36
IV. 5. 4. 1. 1. Ingesta de Omega-3 y la salud.....	36
IV. 5. 4. 2. Omega- 6: fuentes y beneficios.....	38
IV. 5. 4. 3. Relaciones óptimas de ingesta de Omega-3/Omega-6.....	38
<b>V. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>40</b>
V. 1. Equipos.....	41
V. 2. Reactivos.....	41
V. 3. Aceites analizados.....	43



---

<b>VI. METODOLOGÍA.....</b>	<b>45</b>
VI. 1. Diseño metodológico.....	45
VI. 2. Preparación de estándares.....	46
VI. 3 Optimizaciones de los parámetros cromatográficos.....	47
VI. 4 Determinación de límite de detección y cuantificación.....	49
VI. 5.Preparación de curvas de calibración.....	51
VI. 6.Caracterización y cuantificación de los ácidos grasos en grasas por medio de sus ésteres metílicos.....	52
VI. 6. 1. Proceso de transesterificación básica.....	52
VI. 6. 2. Caracterización y cuantificación de los <b>FAME</b> .....	52
<b>VII. RESULTADOS.....</b>	<b>55</b>
VII. 1. Obtención de los resultados.....	55
VII. 2. Análisis de resultados.....	56
<b>VIII. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>62</b>
<b>IX. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>63</b>
<b>X. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>64</b>
<b>XI. ANEXOS.....</b>	<b>65</b>





## I. INTRODUCCIÓN

Los alimentos se clasifican en tres grandes grupos: grasas, proteínas y carbohidratos. Cada uno de estos grupos tienen funciones diferentes en los organismos vivos. Las grasas en particular constituyen fuentes energéticas de reservas y algunos de sus constituyentes, los ácidos grasos insaturados, son materia prima para la formación de una variedad de hormonas vitales para el metabolismo humano tales como las prostaglandinas. Estos ácidos grasos insaturados entre los que se destacan los omega-3 y omega-6, no pueden ser sintetizados por los mamíferos y deben por lo tanto ser adicionados a la dieta; razón por lo que se le conoce como ácidos grasos esenciales.

Las grasas de origen animal se caracterizan por tener un alto porcentaje de ácidos grasos saturados, los cuales no son esenciales en la dieta dado que pueden ser sintetizados por los humanos y por el contrario su consumo excesivo provoca una gran variedad de enfermedades como las vasculares y coronarias que eventualmente conducen a la muerte. Las grasas de orígenes vegetales mejor conocidas con el nombre de aceites tienen un bajo porcentaje de ácidos grasos saturados y por el contrario un elevado contenido de los ácidos grasos insaturados; razón por la cual son los más recomendados para consumo humano.

Los aceites de cacao, nuez de coco y palma africana son de los pocos aceites vegetales que tienen un alto contenido de ácidos grasos saturados, por lo que no se recomiendan para consumo humano. Los aceites de nuez de coco y palma africana debido a su bajo precio pueden ser utilizados para adulterar los aceites de cocina extraídos de semillas de otras plantas más cotizadas en el mercado como las de soya, maní o germen de maíz.



## II. JUSTIFICACIÓN

Los aceites y grasas comestibles tienen una alta demanda en el mercado nacional para preparar o aderezar los alimentos que la población consume a diario.

En Nicaragua se ofertan en el mercado, envasados ó a granel una gran variedad de aceites comestibles nacionales y extranjeros.

De acuerdo a las consultas realizadas con el MINSA, ningún organismo gubernamental verifica si lo que declaran las etiquetas de estos productos es verdadera y aún más no hay parámetros de calidad nacionales para ellos. No existe en nuestro país una estricta regulación de sus parámetros de calidad tales como la composición de ácidos grasos, restos de solventes orgánicos o residuos de plaguicidas.

Desafortunadamente la mayoría de la población ignora la importancia que tienen los ácidos grasos saturados e insaturados, ambos presentes en los aceites y grasas, para la salud humana. Los consumidores nacionales no saben por ignorancia o falta de regulación estatal si están consumiendo aceites adecuados ó dañinos para su salud.

Este estudio está dirigido a determinar la calidad de los diferentes aceites vegetales comestibles que se comercializan en nuestro país en base a su composición porcentual de ácidos grasos y estimar si han sido adulterados con grasas animales o vegetales no recomendadas para el consumo humano.



### III. OBJETIVOS

#### OBJETIVO GENERAL

- Determinar, sobre la base de la composición porcentual de ácidos grasos saturados e insaturados, la calidad de los aceites comestibles que se ofertan en el mercado nicaragüense

#### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Desarrollar un método de análisis cualitativo y cuantitativo de ésteres metílicos de ácidos grasos por cromatografía de gases con columnas capilares.
- Seleccionar un método adecuado de síntesis de ésteres metílicos de ácidos grasos a partir de aceites vegetales.
- Determinar los límites de detección, cuantificación del método cromatográfico utilizado en los análisis.
- Determinar las concentraciones y porcentajes relativos de ácidos grasos presentes en los aceites vegetales analizados.
- Determinar el potencial aterogénico de cada uno de los aceites estudiados.



## IV. MARCO TEORICO

### IV. 1. LÍPIDOS

#### IV. 1. 1. Definición, estructura y función

Cuando se hace un extracto de tejidos animales y vegetales con disolventes no polares tales como hexano, benceno, éter ó cloroformo, una fracción del material se disuelve. Los componentes de esta fracción se denominan lípidos.<sup>1</sup>

Los lípidos son un grupo variado de moléculas, y cumplen una diversidad de funciones en los seres vivos. Algunos tienen la función de almacenar energía, otros forman cubiertas impermeables en el cuerpo de plantas o animales, integran las membranas de las células, o funcionan como hormonas.

Desde el punto de vista químico, los lípidos son moléculas orgánicas formadas básicamente por carbono e hidrógeno y en menor proporción oxígeno. Pueden contener también fósforo, nitrógeno y azufre. Dependiendo del origen de los lípidos, algunos contienen en su composición triglicéridos (grasas y aceites), colesterol, vitaminas liposolubles y otros compuestos.<sup>2</sup>

#### IV. 1. 2. Tipos de lípidos

Existen diferentes tipos de lípidos y criterios para clasificarlos. Por ejemplo, se pueden clasificar en saponificable y no saponificable, fosfolípidos, triglicéridos, grasas, aceites, ceras y otros.<sup>2</sup>



#### IV 1. 2.1. Saponificables y no saponificables

Como se mencionó, algunos lípidos incluyen ácidos grasos en su composición. La presencia, o no, de ácidos grasos en su estructura es otro criterio que se puede emplear para clasificar a los lípidos en dos grupos:

<b>Lípidos saponificables</b> (contienen ácidos grasos)	Monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos (grasas y aceites)
	Céridos (ceras)
	Fosfolípidos (lecitina)
	Glucolípidos
<b>Lípidos no saponificables</b> (no contienen ácidos grasos)	Terpenos (mentol, vitamina E y K, alcanfor, vainillina, eucaliptol)
	Esteroides (colesterol, vitamina D, hormonas sexuales y suprarrenales)
	Prostaglandinas

#### IV. 1. 2. 2. Fosfolípidos

El fosfolípido contiene dos ácidos grasos y un grupo fosfato unidos al glicerol. Estos lípidos forman las bicapas lipídicas de las membranas celulares. Tienen una característica anfipática, es decir su molécula presenta una "cabeza" (de glicerol y base orgánica) polar (hidrosoluble) unida a una "cola" no polar (hidrofóbica) de ácidos grasos. <sup>2</sup> ver **figura 1**

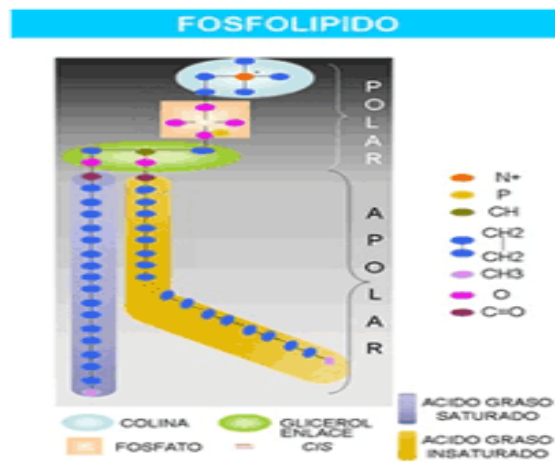


Figura 1

#### IV. 1. 2. 3. Triglicéridos: grasas y aceites

Los triglicéridos (o TAG = triacilglicérido) están formados por la esterificación de tres ácidos grasos con una molécula de glicerol. ver **figura 2**

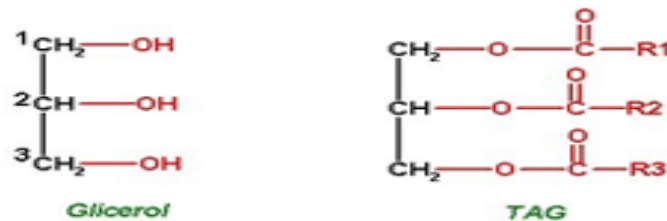


Figura 2

Existen una gran variedad de ácidos grasos y en consecuencia de triglicéridos. La principal función de los TAG es la de reserva energética.

Los TAG pueden ser sólidos o líquidos a temperatura ambiente y como se verá más adelante, la diferencia entre una grasa (sólida) y un aceite (líquido), radica en la composición de sus ácidos grasos. Los aceites pueden ser de origen animal ó vegetal.

- **Grasas animales:** lípidos extraídos de los tejidos adiposo de bovinos y ovinos tales como el sebo de res y la manteca de cerdo.



- **Aceites animales:** provenientes de peces como sardinas y salmones, del hígado del tiburón y del bacalao, o de mamíferos marinos como el delfín o la ballena.
- **Aceites vegetales:** como los de girasol, algodón, maní, soya, oliva, uva, maíz, lino, coco, etc.

## IV. 2. COLESTEROL

### IV.2.1. Introducción

El colesterol es un compuesto químico indispensable para el funcionamiento normal del organismo. El colesterol es un componente fundamental de las membranas de muchas células animales, y es el precursor de otros compuestos, como los ácidos biliares, las hormonas y la vitamina D<sub>3</sub>. Se encuentra ampliamente distribuido en los tejidos de los animales, pero en concentraciones más elevadas en el cerebro, el hígado, la piel y las glándulas adrenales. Aunque el organismo humano puede fabricarlo, el colesterol se incorpora con la dieta.



Figura 3

### IV. 2. 2. Colesterol: bueno y malo

El colesterol circula permanentemente en el cuerpo humano y se almacena en el hígado, de donde se secreta a los demás tejidos del organismo; sin embargo, como no se disuelve en



soluciones acuosas (como el suero de la sangre), para ser transportado necesita integrarse a otras sustancias solubles, como las lipoproteínas (fosfolípidos + proteínas).

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL siglas en inglés) transportan colesterol al hígado, donde se metaboliza y sale de circulación. Por eso, se conoce como “colesterol bueno” al transportado por las HDL. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) no son muy solubles en el plasma y por lo tanto no pueden transportar el colesterol eficientemente al hígado y por eso se conoce como colesterol malo ya que este permanece y puede depositarse en las células de todo el cuerpo. La acumulación de colesterol puede formar placas en el interior de las arterias y causar aterosclerosis.<sup>2</sup>

#### **IV. 2. 3. Colesterol: arterias**

Cuando existe un exceso de colesterol en la sangre, este se deposita en las paredes de las arterias y provoca su estrechamiento y endurecimiento; lo que se denomina *ateroesclerosis*. Esto aumenta el riesgo de sufrir ataques al corazón, isquemias cerebrales y otras enfermedades cardiovasculares.

La ingesta excesiva de ácidos grasos saturados, componentes principales de las grasas animales, aumenta el nivel de LDL (“colesterol malo”) en la sangre y favorece la concentración de colesterol. En cambio, los ácidos grasos insaturado, abundantes en los aceites vegetales y de pescado, aumentan el nivel de HDL (“colesterol bueno”) e impiden que se acumule en las paredes de las venas y arterias.

Aunque los aceites derivados de vegetales no poseen colesterol, algunos como el de cacao o coco poseen una elevada proporción de ácidos grasos saturados en su composición y por tanto elevan los niveles de colesterol en sangre. También debe tenerse en cuenta que los ácidos grasos poliinsaturados convertidos en grasas *trans* durante el proceso de hidrogenación adquieren un perfil similar a las grasas saturadas y en consecuencia hacen descender el colesterol "bueno" y elevar el "malo".<sup>2</sup>



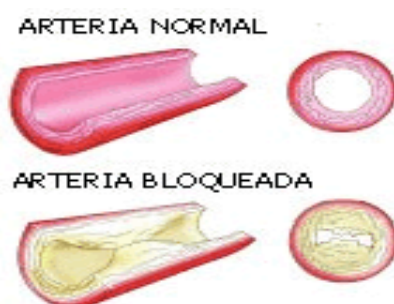


Figura 4

### IV. 3. GRASAS Y ACEITES

#### IV. 3. 1. Introducción

Como se mencionó anteriormente, las grasas animales y los aceites vegetales y de pescado son ésteres triglicéridos (TAG) formados a partir de glicerina y de ácidos grasos. En un aceite vegetal los componentes más importantes son las grasas, ceras y pigmentos.

La obtención de grasas y aceites generalmente se hace a partir de semillas de plantas y tejidos animales por expresión de substratos muy ricos en aceites o por extracción con solventes orgánicos volátiles no polares como el hexano.

#### IV. 3. 2. Tipos de aceites vegetales comestibles

Existen muchas variedades de aceites comestibles en el mercado, las cuales se diferencian por los mecanismos de obtención, los beneficios para la salud, la estabilidad a altas temperaturas de cocción o la durabilidad o estabilidad de estante. A continuación se presentan algunos ejemplos:

Tipo de aceite	Propiedades
Aceite de oliva	Se obtiene de las aceitunas o fruto del olivo ( <i>Olea europaea</i> ). Presenta un



Tipo de aceite	Propiedades
	<p>alto porcentaje de ácido oleico, vitamina E y fitosteroles. Recomendado en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Es apropiado para la fritura, ya que soporta altas temperaturas sin descomponerse. Según el modo de obtención se clasifican en <b>a) Aceites de oliva vírgenes</b>, obtenidos a partir del fruto del olivo únicamente por procedimientos mecánicos; <b>b) Aceite de oliva refinado</b>, obtenido mediante el refinamiento de aceites de oliva vírgenes; <b>c) Aceite de oliva</b> constituido por una mezcla de aceite de oliva refinado y de aceites de oliva vírgenes, y <b>d) Aceite de orujo de oliva</b>, obtenido a partir del hollejo de oliva mediante tratamiento con disolvente o por medios físicos.</p>
<b>Aceite de girasol</b>	<p>Este aceite procede de las semillas del girasol (<i>Helianthus annus</i>). Constituido fundamentalmente por ácidos grasos poliinsaturados de los que destacan el ácido linoléico y el ácido linolénico. También aporta ácidos grasos monoinsaturados en forma de ácido oleico, pero en menor cantidad que el aceite de oliva. Es rico en vitamina E.</p>
<b>Aceite de soya</b>	<p>Se obtiene del poroto de la soya (<i>Glycine max</i>). De sabor neutro, es rico en grasas poliinsaturadas.</p>
<b>Aceite de maíz</b>	<p>Es obtenido del germen del grano del maíz (<i>Zea mays</i>). De buen sabor. Posee vitamina E y un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados.</p>
<b>Aceite de canola</b>	<p>Contiene el nivel más bajo de ácidos grasos saturados y es segundo en el porcentaje de ácido oleico, después del de oliva. Además posee ácido linolénico y linoléico y es muy rico en vitamina E.</p>
<b>Aceite de sésamo</b>	<p>De sabor y aroma agradables, contiene igual proporción de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados. Contiene un antioxidante natural, sesamol, que lo hace estable y resistente a la oxidación, por lo que se conserva bien.</p>
<b>Aceite de coco y</b>	<p>Ricos en ácidos grasos saturados. Generalmente se emplean en la elaboración</p>



Tipo de aceite	Propiedades
de palma	de productos de pastelería industrial y en frituras de productos tipo <i>snacks</i> .
Aceite de cacao	Es la semilla del árbol de cacao ( <i>theobroma cacao</i> ). Se encierra en un fruto (mazorca o maraca), que contiene de 25 a 80 semillas de color violáceo o rojizo.

### IV. 3. 3. Las grasas y la salud

La ingesta de aceites y grasas, principales componentes de los lípidos, representan un porcentaje significativo en la dieta humana. Existe evidencia científica de la implicancia de la calidad y cantidad de grasas o aceites consumidos en la salud humana, ya sea en el desarrollo ó en la prevención de ciertas enfermedades, entre ellas afecciones cardiovasculares. Por este motivo, los especialistas en salud recomiendan acerca del tipo y cantidad de grasas que conviene incluir en una dieta saludable.<sup>2</sup>

Los aceites derivados de semillas o frutos de plantas constituyen una fuente de recursos renovables con innumerables aplicaciones industriales, entre ellas las alimenticias.

Los aceites vegetales tienen una composición de ácidos grasos variada dependiendo de la fuente de origen, lo que se traduce en diferencias nutricionales.

Las grasas son componentes esenciales del organismo. Entre otras funciones aportan energía, son imprescindibles para la absorción de algunas vitaminas, para la síntesis de hormonas, como material aislante, y como parte de las membranas celulares y de las vainas que envuelven los nervios. Por lo tanto, una dieta equilibrada debe incluir grasas en su composición. Pero, no de cualquier tipo y en cualquier cantidad. Los especialistas recomiendan que del total de energía que se incorpora con los alimentos, alrededor del 20 – 30 % provenga de las grasas. Preferentemente, se recomienda la mitad en grasas saturadas y el resto insaturadas (monoinsaturadas como aceite de oliva, y poliinsaturadas de aceites de semillas y frutos secos).



Desde del punto de vista nutritivo, los mejores aceites son los de prensado en frío, ya que el prensado en caliente y el refinado reducen el contenido de sus componentes más saludables, como los ácidos grasos poliinsaturados, la vitaminas E, provitamina A, antioxidantes, fitosteroles o de sustancias que confieren sabor, aroma y color.

Por su parte, los aceites ricos en ácidos grasos monoinsaturados como el oleico (también llamado Omega-9) abundante en el aceite de oliva, son térmicamente y a la luz, más estables que los poliinsaturados. Su principal ventaja para la salud radica en que resisten altas temperaturas (160-200°C) de cocción y se descomponen de manera más lenta.<sup>2</sup>

#### **IV. 3. 4. Propiedades físicas**

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.<sup>1</sup>

Las grasas y aceites son solubles en solventes no polares, tales como hexano, benceno, éter etílico ó cloroformo, 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.<sup>1</sup>

La longitud de la cadena carbonada y la cantidad de enlaces dobles (o grado de saturación) de los ácidos grasos influyen en el punto de fusión de las grasas o aceites. Esto determina que el lípido sea sólido (sebo, grasa) o líquido (aceite). Los ácidos grasos saturados se acomodan muy juntos, y forman una estructura sólida a temperatura ambiente. Sin

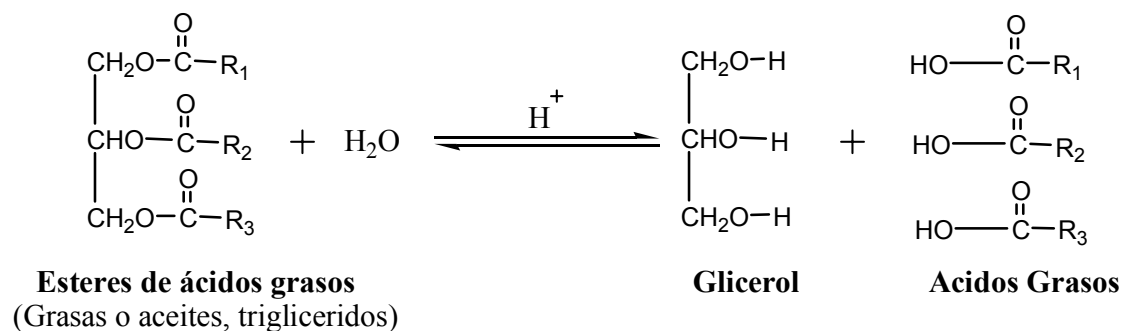


embargo, los dobles enlaces no permiten la flexibilidad de la cadena de ácidos grasos, por lo que se mantienen separados a temperatura ambiente, formando una estructura líquida.

Como se mencionó anteriormente los aceites vegetales tienden a contener más ácidos grasos insaturados, mientras que las grasas animales son ricas en ácidos grasos saturados como se puede observar en la **Tabla N° 1**.

#### IV. 3. 5. Propiedades químicas

Cuando un triglicérido reacciona con agua (hidrólisis) en medio ácido se establece un equilibrio como el que se describe en la siguiente figura. La hidrólisis de los triglicéridos (grasas) en condiciones apropiadas dan primero los diglicéridos, luego los monoglicéridos y finalmente los ácidos grasos y glicerol.<sup>1</sup>



**Figura 5**

Si durante la reacción de hidrólisis de las grasas se adiciona un gran exceso de un alcohol como el etanol o metanol el glicerol es sustituido por éstos y da origen a ésteres de ácidos grasos metílicos ó etílicos como se describe en la **Figura 6**.

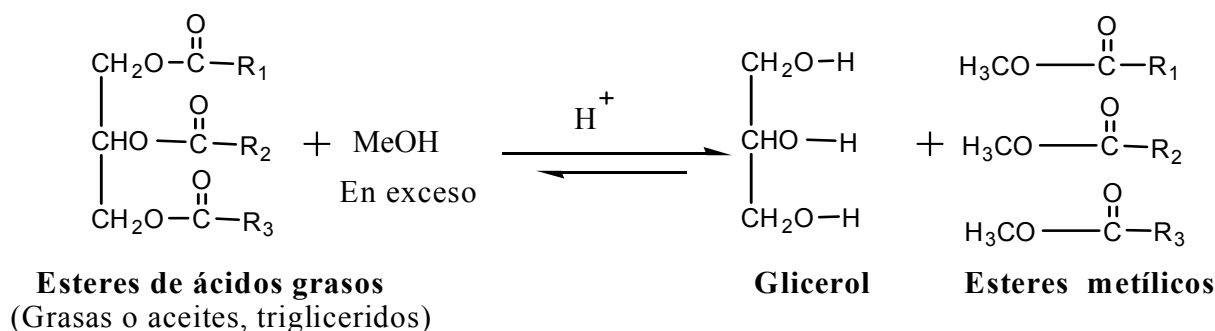


Figura 6

La reacción anterior conocida como transésterificación es de mucha utilidad para preparar directamente a partir de una grasa ésteres metílicos ó etílicos. Estos son más volátiles que las grasas y ácidos grasos libres, pueden por lo tanto ser determinados por cromatografía de gases.<sup>1</sup>

#### IV. 3. 6. Producción industrial de aceites vegetales comestibles

La mayoría de los aceites vegetales usados en la alimentación se encuentran almacenados como reserva de energía en semillas (girasol, soya, canola, maíz, lino, sésamo, etc.) o en tejidos de frutos (aceituna, coco, palma). Todos los aceites de origen vegetal, difieren en su composición y en el modo de obtención. La obtención de aceites comestibles de frutos y semillas comprende, básicamente, dos procedimientos:

**1- Mecánicos:** trituración y prensado, en frío ó en caliente, con el fin de romper las células vegetales, extraer el aceite y luego aislarlo de los otros componentes de las semillas o los frutos.

**2- Químicos:** extracción mediante solventes del aceite residual que queda después del prensado. Los solventes se eliminan del producto final por evaporación. Mediante el refinado se eliminan las impurezas que se forman durante la extracción y así se suaviza el sabor del aceite. Durante la refinación se pierden sustancias que protegen al aceite de la



oxidación. Debido a esto se le agregan sustancias antioxidante permitidas para conservarlos.<sup>2</sup>

#### IV. 3. 7. Composición de aceites comestibles más comunes

**TABLA N°1. COMPOSICION DE ÁCIDOS GRASOS DE ALGUNOS ACEITES COMESTIBLES COMUNES**

Aceites o grasas	Inst./Sat relación	Saturados					Mono insatura dos	Poli insaturados	
		Ácido cáprico C10:0	Ácido láurico C12:0	Ácido mirístico C14:0	Ácido palmítico C16:0	Ácido esteárico C18:0	Ácido oleico C18:1	Omega-6 C18:2	Omega-3 C18:3
Aceite de almendra	9.7	-	-	-	7	2	69*	17*	-
Sebo de vacuno	0.9	-	-	3	24	19	43	3	1
Mantequilla (vaca)	0.5	3	3	11	27	12	29	2	1
Mantequilla (cabro)	0.5	7	3	9	25	12	27	3	1
Mantequilla(humano)	1.0	2	5	8	25	8	35	9	1
Aceite de canola	15.7	-	-	-	4	2	62	22	10
Mantequilla de cacao	0.6				25	38	32	3	-
Aceite de bacalao	2.9	-	-	8	17	-	22	5	-
Aceite de coco	0.1	6	47	18	9	3	6	2	-
Aceite de Maíz	6.7	-	-	-	11	2	28	58	1
Aceite de semilla de algodón	2.8	-	-	1	22	3	19	54	1
Aceite de linaza	9.0	-	-	-	3	7	21	16	53
Aceite de semilla de uva	7.3	-	-	-	8	4	15	73	-
Manteca de cerdo	1.2	-	-	2	26	14	44	10	-
Aceite de oliva	4.6	-	-	-	13	3	71	10	1
Aceite de palma	1.0	-	-	1	45	4	40	10	-



Aceites o grasas	Inst./Sat relación	Saturados					Mono insatura dos	Poli insaturados	
		Ácido cáprico C10:0	Ácido láurico C12:0	Ácido mirístico C14:0	Ácido palmítico C16:0	Ácido esteárico C18:0	Ácido oleico C18:1	Omega-6 C18:2	Omega-3 C18:3
Oleina de palma	1.3	-	-	1	37	4	46	11	-
Aceite de fruto de palma	0.2	4	48	16	8	3	15	2	-
Aceite de maní	4.0	-	-	-	11	2	48	32	-
Aceite de cartamo	10.1	-	-	-	7	2	13	78	-
Aceite de sésamo	6.6	-	-	-	9	4	41	45	-
Aceite de soya	5.7	-	-	-	11	4	24	54	7
Aceite de girasol	7.3	-	-	-	7	5	19	68	1
Aceite de nuez	5.3	-	-	-	11	5	28	51	5
Aceite de Jicaro	2.5	-	-	-	16.1	12	49	19	1.2
Aceite de ajonjolí	5.9	-	-	-	8.5	6.6	45	39	0.3
Aceite de chia	8.5	-	-	-	7.4	3.0	6.6	19	63

\* El azul destaca el componente mayoritario y el rojo el componente secundario.

#### IV. 4. METODOS DE TRANSESTERIFICACIÓN

##### IV. 4. 1. Introducción

La preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos directamente a partir de las grasas o aceites se puede realizar en medios básicos y ácidos y cada uno de ellos demanda diferente calidad de los aceites.<sup>1</sup>

La sustitución del resto alcohólico de un éster por otro alcohol en el seno de la reacción se conoce como reacción de transesterificación.





#### **IV. 4. 2. Transesterificación ácida**

Los catalizadores ácidos más usados son: ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido toluen-sulfónico y trifloruro de boro (ácido de Lewis).<sup>3</sup>

Por otro lado, un porcentaje mayor del 3 % 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 los ácidos libres también se esterifican sin problemas, en un medio ácido.<sup>3</sup>

#### **IV. 4. 3. Transesterificación básica**

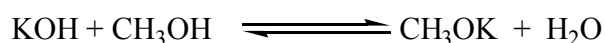
Entre los catalizadores básicos más usados están: hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, carbonatos, metóxido de sodio, y óxidos de diversos metales.<sup>3</sup>

La transesterificación básica en un medio heterogéneo tal como hexano y una solución alcohólica básica no puede realizarse en presencia de un porcentaje mayor de 3 % de ácidos grasos libres. Pero Según Freedman<sup>3</sup> 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%. La razón de ello estriba en que los ácidos grasos libres forman jabones en medio básico al punto de formar un gel o emulsión que 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.<sup>3</sup>

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 ( $\text{CH}_3\text{OK}$ ) es una especie química que tiene la cualidad de ser más reactiva que el alcohol, haciendo que la reacción de transesterificación 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 <sup>3</sup> 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 (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 logro 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.

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.<sup>3</sup>



#### IV. 4. 4. Análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases

El análisis de la composición de 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, ya que los ácidos grasos libres no son volátiles y por lo tanto no pueden ser analizados fácilmente por cromatografía de gases. 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 transportados por un gas inerte generalmente He, N<sub>2</sub> u otro gas como el H<sub>2</sub> (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 poliéster de punto de fusión elevado o un polímero de silicona depositado sobre partículas de tierra de diatomeas o sobre la superficie interior de un largo tubo capilar (columna) calentado. Las columnas que se destacan para estos análisis son las columnas con fases líquidas polares tales como Carbowax o DB\_ FFAP y las de CNPr PhMe Siloxano (HP-225, DB-225 o sus equivalentes).

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 característico. Los ésteres metílicos separados 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 la altura es proporcional a su cantidad.<sup>4</sup>

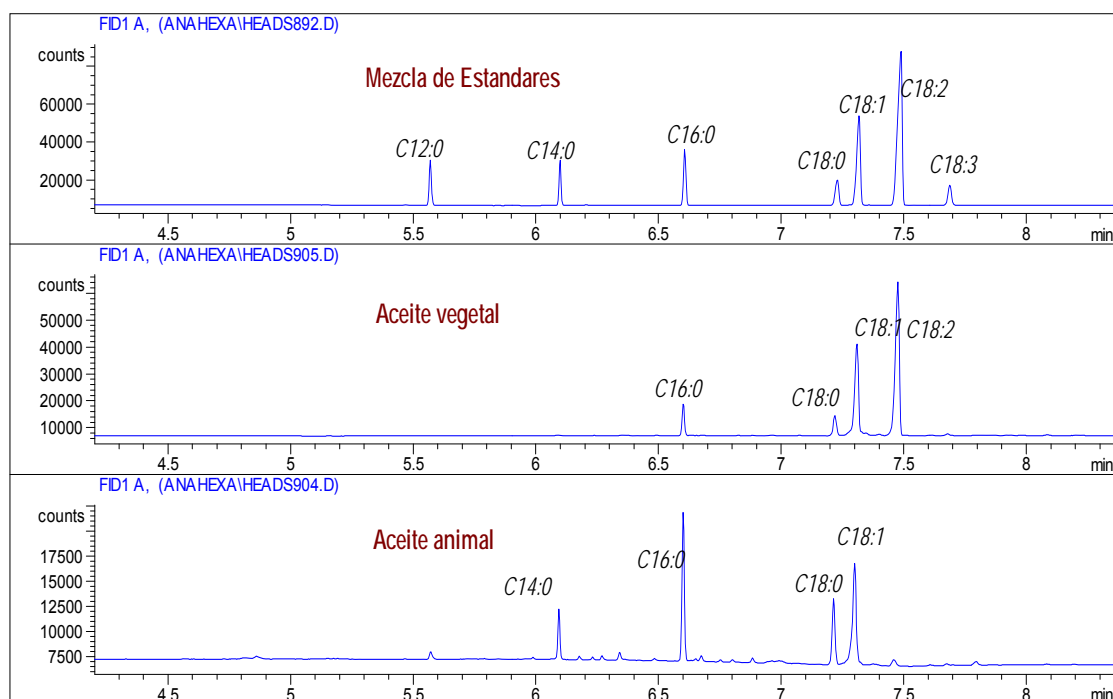
La identificación cualitativa de un componente se basa en la comparación con respecto a un estándar conocido de los tiempos de retención o tiempo necesario para que su pico aparezca



al final de la columna, ya que cada uno de los componentes tiene un tiempo de retención propio. El análisis cuantitativo es ligeramente más complejo y se basa en el cálculo de las áreas o alturas de los picos. Las medidas de las superficies de los picos se pueden hacer por cálculos geométricos ó integraciones manuales o mecánicas, electromecánicas ó electrónicas. Los datos cuantitativos se obtienen a partir de las superficies de los picos que serán mayores cuanto mayores sean las concentraciones de los componentes.<sup>4</sup>

Usualmente se prepara una mezcla de estándares con los ésteres metílicos de los ácidos grasos que se quieren determinar y sus tiempos de retención se comparan con los de las mezclas de ésteres metílicos obtenidos por la transesterificación de los aceites estudiados.

Sobre la base del 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 ó no de ácidos grasos saturados o insaturados. A continuación se muestran los cromatogramas de una mezcla de estándares, el aceite vegetal (Girol Clásico) y el aceite animal (mantequilla artesanal).





Una vez caracterizados los ésteres metílicos la cuantificación se realiza mediante una curva de calibración y los datos obtenidos se utilizan para calcular los porcentajes relativos de cada uno de los ácidos grasos presentes. Usualmente en la literatura se utilizan sólo los porcentajes relativos para describir la composición de los ácidos grasos de los aceites o grasas. Estos porcentajes relativos son muy útiles para comparar aceites y presumir sus fuentes de orígenes.

Usualmente los aceites obtenidos de las mismas materias primas tienen los mismos porcentajes relativos.

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 porcentual de la composición de los ácidos grasos de una grasa o aceite y se refleja en el perfil cromatográfico de todas las muestras analizadas.<sup>1</sup>

## IV. 5. ÁCIDOS GRASOS

### IV. 5. 1. Propiedades físicas y químicas

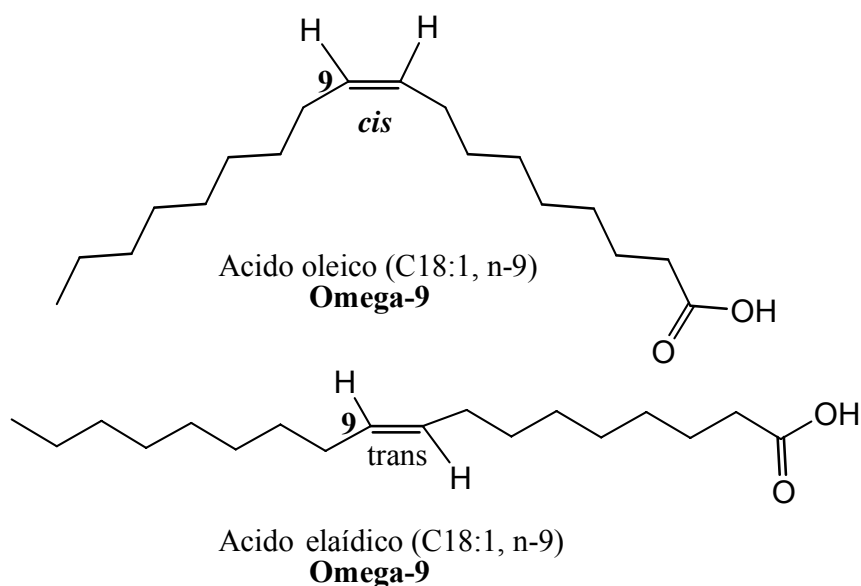
Los ácidos grasos son moléculas formadas por largas cadenas hidrocarbonadas, de estructura lineal, usualmente con un número par de átomos de carbono, y en un extremo un grupo carboxilo. Su fórmula química es  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ , ( $n$  indica la cantidad de grupos metilénicos que forman la cadena hidrocarbonada).<sup>2</sup>

Los ácidos grasos saturados e insaturados difieren significativamente en sus configuraciones estructurales. En los ácidos grasos saturados las cadenas hidrocarbonadas pueden existir en un número infinito de conformaciones, porque cada uno de los enlaces sencillos de los esqueletos carbonados poseen una completa libertad de rotación. Los ácidos grasos insaturados, por otra parte, presentan uno ó más quiebres rígidos en sus cadenas hidrocarbonadas, originados por la incapacidad de rotación del enlace (o enlaces ) doble. La



configuración *cis* de los dobles enlaces produce un ángulo de 30° en la cadena alifática, mientras que la configuración *trans* es la que más aproximadamente se parece a la forma extendida de las cadenas saturadas.<sup>4</sup>

Las formas *cis* de los ácidos grasos no saturados, que es la forma más abundante en la naturaleza puede convertirse en las formas *trans* por calentamiento con algunos catalizadores; de este modo el ácido oleico puede convertirse fácilmente en su isómero *trans*, el ácido elaídico, (que posee un punto de fusión más elevado). Aunque el ácido elaídico no es un ácido graso existente en la naturaleza, se forma en cantidades apreciables durante la hidrogenación y la desodorización de los aceites vegetales a alto vacío y temperaturas. Estos procesos constituyen una etapa en la manufactura de las grasas semisólidas y de las margarinas. Se ha encontrado ácido elaídico en los humanos como consecuencia de la ingesta de dichos productos hidrogenados.<sup>4</sup>



La hidrogenación se aplica especialmente a grasas líquidas (aceites) que se han de transformar a grasas plásticas (semisólidas), durante este proceso se mezcla la grasa con hidrógeno en presencia de un catalizador a elevada temperatura. El producto que se obtiene depende además de la grasa original, de la concentración de hidrógeno (presión de hidrogenación), naturaleza del catalizador, temperatura y agitación. Durante este proceso y



dependiendo de las condiciones, además de saturarse la grasa (los dobles enlaces de las cadenas de los ácidos grasos en el triglicérido se saturan y se transforman en enlaces simples) puede ocurrir la isomerización de esos dobles enlaces, es decir, cambia de posición o configuración el doble enlace.<sup>5</sup>

Los ácidos grasos insaturados, como se mencionó anteriormente, experimentan reacciones de adición a sus enlaces dobles. La valoración cuantitativa con halógenos, por ejemplo con yodo ó con bromo, puede proporcionar información sobre el número de enlaces dobles de una muestra determinada de ácidos grasos o de lípidos

La isomería geométrica de los ácidos grasos es importante en términos nutricionales. La gran mayoría de los ácidos grasos que se encuentran naturalmente poseen isomería *cis*, sin embargo en nuestra dieta habitual consumimos una pequeña, pero no despreciable porción (1g a 7g/día) de ácidos grasos con isomería *trans*. El consumo de ácidos grasos *trans* ha sido fuertemente cuestionado por los Comités de Expertos en Nutrición, por que la evidencia científica indica que estos isómeros son dañinos para la salud, por sus efectos a nivel de los lípidos sanguíneos, por su acción inhibitoria sobre la actividad de enzimas hepáticas, por la modificación que producen en la fluidez de las membranas celulares, que se traducen, entre otros efectos, en un mayor potencial aterogénico.<sup>6</sup>

#### IV. 5. 2. Índice de aterogenicidad (I A)

El índice de aterogenicidad de los ácidos grasos indica el potencial de estos para obstruir las arterias y toma en cuenta principalmente los ácidos grasos saturados láurico, mirístico y palmítico en relación con los ácidos grasos de acción protectora que son los monoinsaturados y poliinsaturados. Entre más bajo sea el índice de aterogenicidad menor es el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares.<sup>6</sup>

El índice de aterogenicidad (I.A), según Ulbricht y Southgate,<sup>6</sup> se calcula con la siguiente fórmula.



---

$$\text{I.A.} = \frac{\text{ácido láurico} + 4(\text{ácido mirístico}) + \text{ácido palmítico}}{\text{ácido linoleico (omega 3)} + \text{ácido linolenico (omega 6)} + \text{ácido oleico} + \text{otros monoinsaturados}}$$

Los ácidos grasos láurico, mirístico y palmítico aumentan el colesterol malo (LDL) y disminuyen el colesterol bueno (HDL) por lo que provocan ateromas (arteriosclerosis con alteraciones grasientas en arterias). Los ácidos grasos de 10 carbonos o menos, no son aterogénicos debido a su solubilidad en agua.

Los ácidos grasos saturados de 18 carbonos (ácido esteárico) tampoco es aterogénico por que tienen la capacidad de transformarse en ácidos grasos mono o poliinsaturados. Los ácidos grasos láurico, mirístico y palmítico no se metabolizan a ninguna otra sustancia por lo que son aterogénicos.<sup>6</sup>





### IV. 5. 3. Clasificación

Los ácidos grasos difieren entre sí por la longitud de la cadena hidrocarbonada, ausencia o presencia de insaturaciones o dobles carbono-carbono (C=C) y por el número y posiciones de estas insaturaciones <sup>2</sup>

Esto permite clasificarlos en saturados e insaturados. Los insaturados a su vez se dividen en mono y poliinsaturados. Los poliinsaturados, dependiendo de la posición de los dobles enlaces en la cadena se pueden también clasificar como omega-3 ó omega-6.

También se pueden clasificar, desde el punto de vista dietético, como esenciales o no esenciales por el rol que juegan en el metabolismo de los seres vivos.

#### IV. 5. 3. 1. Saturados

Los ácidos grasos saturados poseen un enlace simple entre cada par de átomos de carbonos (C-C-C-C), y todos los átomos de carbono (menos el terminal) están unidos a dos átomos de hidrógeno, es decir, que están “saturados” de hidrógeno. Son ejemplos el esteárico, butírico, palmítico, entre otros.<sup>1</sup> Están presentes en porcentajes mayoritarios en las grasas animales, y en los aceites vegetales de cacao, palma y coco, que no son esenciales en la dieta. Estos tipos de grasas provienen en su mayoría del reino animal y son sólidas a temperatura ambiente. Su consumo en seres humanos está relacionado con un aumento del colesterol sanguíneo y con la aparición de enfermedades cardiovasculares <sup>2</sup>.



Figura 7

#### IV. 5. 3. 2. Insaturados

Los ácidos grasos insaturados poseen doble enlaces en uno o más pares de carbonos (C=C) y no todos los átomos de carbono están unidos a dos átomos de hidrógeno. La insaturación produce una rígida torcedura en la cadena hidrocarbonada y les permite fijar más hidrógeno.<sup>1</sup> Dentro de esta clasificación entran los ácidos monoinsaturados como el ácido oleico y los poliinsaturados como los ácidos linoléico y linolénico que son esenciales en la dieta. Estos provienen en general del reino vegetal con las excepciones de los aceites de pescado que son muy ricos en ácidos grasos poliinsaturados de 20 y 22 átomos de carbono y que son también líquidos a temperatura ambiente.<sup>2</sup>



Figura 8



### IV. 5. 3. 3. Esenciales

Los ácidos grasos pueden ser además divididos en dos grupos: Los ácidos grasos no esenciales, como las grasas saturadas y monoinsaturadas que el cuerpo puede sintetizar y que no necesita incorporarlas a través de la dieta, y los ácidos grasos esenciales (AGE) como el ácido linoléico y alfa-linolénico, que no pueden ser producidos por el organismo y por lo tanto deben ser incorporados a través de la dieta. Estos ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, forman parte de las estructuras celulares básicas e intervienen en los procesos metabólicos en los mamíferos. El ácido graso esencial más abundante en los mamíferos es el ácido linoléico (omega-6), que integra del 10 al 20% de los ácidos grasos totales de sus triacilglicéridos y fosfoglicéridos. El ácido linoléico es un precursor necesario en los mamíferos para la biosíntesis del ácido araquidónico, que no se encuentra en las plantas, <sup>4</sup> los únicos mamíferos que no son capaces de sintetizar el ácido araquidónico son los depredadores, como los felinos, por lo que tienen que adquirirlo directamente de sus presas.

La relevancia que tienen los ácidos grasos poliinsaturados radica en que son importantes para mantener las membranas de todas las células, para producir las prostaglandinas que regulan muchos procesos corporales, por ejemplo la inflamación y la coagulación de la sangre. Además por otra parte los ácidos grasos esenciales (AGE) son necesarios en la dieta para que las vitaminas liposolubles de los alimentos (A, D, E y K) puedan ser absorbidas y para regular el metabolismo del colesterol. Estudios realizados han demostrado que el consumo permanente de estos ácidos grasos en cantidades adecuadas disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares, produce un efecto inhibitorio sobre el desarrollo de ciertos tipos de cánceres, estimula las funciones inmunológicas, mejoran la fertilidad y son requeridos para un desarrollo normal del cerebro y de la visión en el feto humano.



#### IV. 5. 4. Estructura de los ácidos grasos insaturados omegas-3 y 6

De acuerdo a la posición del primer doble enlace de la cadena carbonada contando a partir del extremo metílico, denominado **omega**, los ácidos grasos esenciales poliinsaturados se pueden clasificar también como omegas-3 y omegas-6. Esta clasificación tiene como objeto agrupar a los ácidos grasos esenciales por las funciones que tienen en común en virtud de sus similitudes estructurales ó biosintéticas. En la figura mostrada a continuación se muestran los ácidos omega-3 y omegas-6 más comunes.

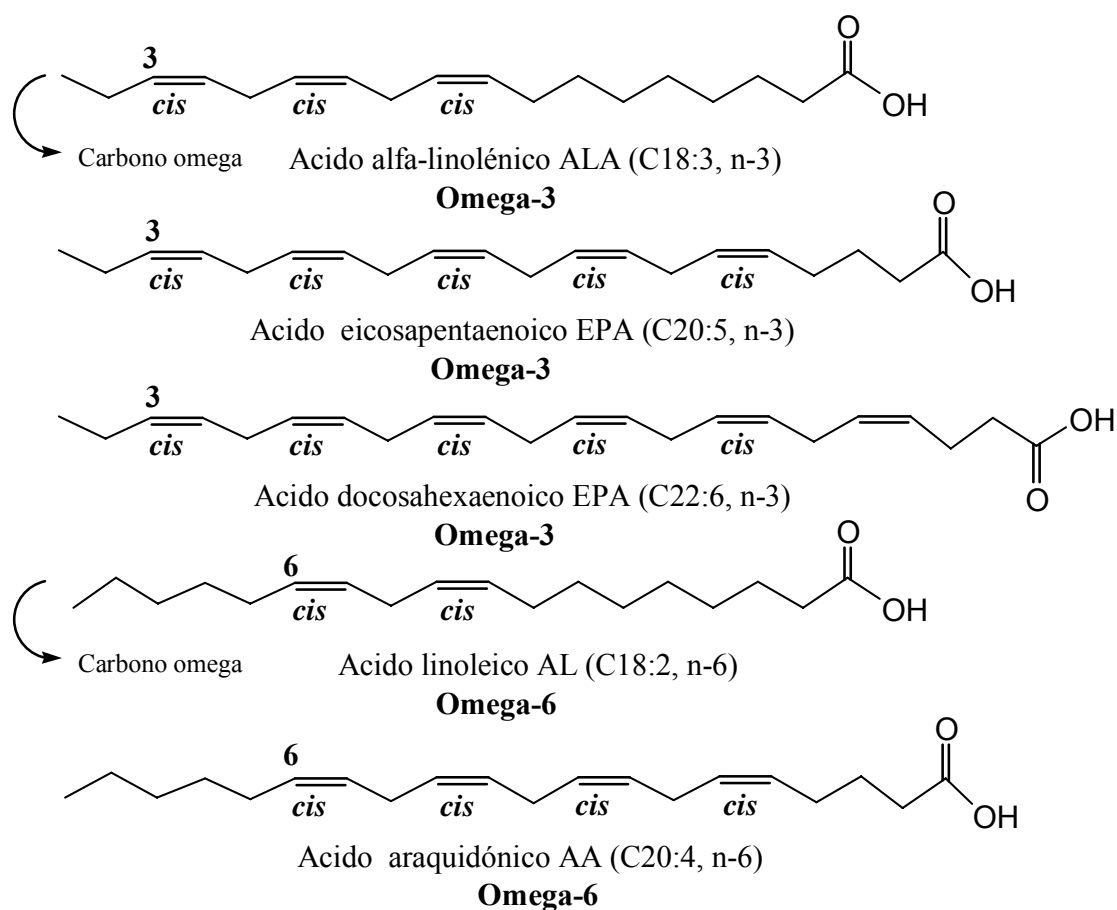


Figura 9



#### IV. 5. 4. 1. Omega-3: fuentes y beneficios

Los omega-6 se encuentran principalmente en los aceites vegetales, representados por el ácido linoléico (AL, C18:2,n-6) y su metabolito el ácido araquidónico(AA, C20:4,n-6); los ácidos grasos omega-3 son constituyentes de los aceites de pescado, en particular del pescado azul, encontrándose en mayor concentración los derivados del ácido linoléico (C18:3n-3), los ácidos eicosapentaenoico (EPA, C20:5, n-3) y docosahexaenoico (DHA, C22:6,n-3) que no se encuentran presentes en los alimentos proteicos vegetales ni animales. Los peces marinos requieren los ácidos grasos omega-3 y omega-6 para un óptimo crecimiento y su deficiencia puede traer consigo malformaciones y alteraciones en la calidad de las ovas y larvas, además de no presentar un atractivo nutricional para la alimentación humana. Los pescados, moluscos, crustáceos y algas marinas son muy ricos en EPA y DHA.

Los vegetales contienen el ácido omega-3 llamado alfa- linoléico (ALA) este tipo debe convertirse en EPA o DHA por el organismo para poder aprovecharse. Los aceites vegetales que contienen mayores proporciones de ALA son: el aceite de linaza, el aceite de chia, el aceite de canola y el aceite de nuez.

Otros aceites que contiene omega-3 son el germen de trigo y avellana; otras fuentes vegetales importantes según su cantidad son: la verdolaga (toda la planta), la lechuga (hoja), la soya (semilla), espinaca (planta), fresas (fruto), pepino (fruto), piña (frutos), almendras (frutos) y la Cía. (semilla).

También están en forma de complementos ya sea en cápsulas de aceite de pescado o polvos como linaza.

Los ácidos grasos omega-3, particularmente C18:3 (ALA), C20:5 (EPA) y C22:6 (DHA), aportan muchos beneficios a la salud humana ellos juegan un papel importante para la



prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer del colon y enfermedades inmunológicas. Son también de vital importancia en el desarrollo del cerebro y la retina.

El organismo necesita los ácidos grasos omegas- 3 entre las principales funciones están:

La formación de las membranas celulares, formación de las hormonas, el correcto funcionamiento del sistema inmunológico, la correcta formación de la retina y el funcionamiento de las neuronas y las transmisiones químicas.

A demás de sus funciones presenta beneficios para el organismo como:

Propiedades beneficiosas para el aparato circulatorio: disminuyen la presión arterial, fluidifican la sangre, protegen contra ataques cardiacos, apoplejías, derrames cerebrales y angina de pecho.

Propiedades anticancerígenos: protegen ante cierto cáncer como del colon, próstata y mama, además pueden reducir los tumores.

Propiedades antiinflamatorias: como la artritis reumatoides.

También tienen beneficios en la enfermedad de crohn colitis ulcerosa, dolores en la menstruación, enfermedades mentales como la esquizofrenia, en la piel como el acne, en el embarazo influyen en el desarrollo cerebral del feto.<sup>8</sup>

#### **IV. 5. 4. 1.1 Ingesta de Omega-3 y la salud**

Las estimaciones realizadas sobre la ingesta de ácidos grasos omega- 3 se basa principalmente en el consumo de alimentos y los análisis químicos de la dieta. El consumo aproximado de alfa linolénico en los países europeos oscila entre 0.6 a 0.5 gramos /día. Sin embargo hay pocos datos disponibles de la ingesta de DHA y EPA en Europa como consecuencia de la escasez de datos fiables de consumo de alimentos. Un cálculo



aproximado del consumo de ácidos grasos en Europa propuesto por Sanders es de 0.1 a 0.5 g /día. Estas cifras son elevadas en comparación con la ingesta de DHA y EPA estimada en Estados Unidos (0.1-0.2 g/ día).<sup>7</sup>

En relación a las recomendaciones nutricionales de ingesta de ácidos grasos omega-3, la Sociedad Internacional para el estudio de Ácidos Grasos y Lípidos (ISSFAL) sugiere la cantidad de 0.65g/día de alpha linolénico (omega-3).<sup>7</sup>

#### **IV. 5. 4. 2. Omega-6: fuentes y beneficios**

Otros de los ácidos grasos esenciales son los llamados omega-6, que son derivados del ácido linoléico. Tienen importancia porque también son necesarios para nuestro organismo (que, además, no los puede sintetizar) y aparecen junto a los omega-3. Parecen tener, sin embargo, una cierta relación con la aparición de procesos inflamatorios y arteriosclerosis pues los favorece cuando la dieta es demasiado rica en ellos. Se suelen encontrar en aceites refinados de algunas semillas como la de girasol o de maíz. Pero lo realmente importante es que la dieta tenga cantidades equilibradas de ambos tipos de ácidos grasos esenciales, que en nuestro organismo compiten por las mismas enzimas. Un mal balance entre ellos puede favorecer los procesos inflamatorios

Principalmente se encuentran en semillas de frutos y aceites como: pistacho, almendra, nueces, girasol, ajonjolí, grosella negra, aceite de borraja, aceite de coco y aceite de maíz.

#### **IV. 5. 4. 3. Relaciones óptimas de ingesta de Omega -3/Omega- 6**

Para un correcto funcionamiento del organismo se tiene que establecer la relación adecuada entre los ácidos grasos esenciales omega-3 y omega-6, actualmente existe una proporción bien elevada en la ingesta de omega-6 que puede oscilar entre un 10:1 ó 20:1, cuando la proporción adecuada se situaría según la FAO y la OMS en 4:1 es decir cuatro parte de omega-6 por una parte de omega-3. La enorme superioridad de omega-6 puede causar



enfermedades como la diabetes, depresiones y del corazón. La solución, consiste en aumentar los alimentos que contengan más omega-3, como los aceites de pescado ó tomar suplementos de este componente y aumentar la ingesta de omega-3.<sup>8</sup>





---

## V. PARTE EXPERIMENTAL

### V. 1. EQUIPOS

#### **Balanza analítica MG1**

Nombre: Sartorius GMBH Goltingen

Type AC2105

Fab Nr 40120235

#### **Agitador de vibración VORTEX Genie Mixer**

Modelo: 9667

S 8223

Scientific products

115 volts, 60 cycles, ACO.5 amp

serial N° 6533

PAT N° 31061,280

#### **Cromatógrafo de gas**

Marca: Hewlett PACKARD (HP)

5890 Serie II L

Detector FID

#### **Columna capilar**

HP-225, 25 m x 0.20 mm x 0.2 um

Fase estacionaria: 50% (CNPrPhMeSilonane) útil para separar ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME)

#### **Generador de hidrógeno**

Marca: Whatman

Modelo: 75-34-220-V452



### Generador de Nitrógeno

Marca: Whatman

Modelo: 76-94-220

### OTROS

Micro jeringa de 1ul, 10ul, 500ul, 500ul SGE

## V. 2 REACTIVOS Y SOLVENTES

n-Hexano (grado técnico) Fisher

Metanol Merck

KOH (hidróxido de sodio) Merck

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Sulfato de sodio anhidro) Baker Analyzed Reagent

Estándares (FAME)		Pureza	Casa comercial
Ester metílico del ácido láurico	C12:0	98.5%	Dr.Ehrenstorfer GmbH
Ester metílico del ácido mirístico	C14:0	99.5%	Dr.Ehrenstorfer GmbH
Ester metílico del ácido palmítico	C16:0	99.5%	Dr.Ehrenstorfer GmbH
Ester metílico del ácido esteárico	C18:0	99.5%	Dr.Ehrenstorfer GmbH
Ester metílico del ácido oleico	C18:1	99.0%	Dr.Ehrenstorfer GmbH



Ester metílico del ácido linoléico C18:2 99.5% Dr.Ehrenstorfer GmbH

Solución ya estandarizada del

Ester metílico del ácido linolénico C18:3 10 ppm Dr.Ehrenstorfer GmbH

Solución Madre reestandarizada del:

Ester metílico del ácido linolénico C18:3 19,518 mg/ml Dr.Ehrenstorfer GmbH

### **Cristalería**

Equipo de vidrio para destilación de hexano

Viales de 2 ml y 4 ml con tapas con sellos de teflón

Embudos

Beaker

Termómetro

1 micro pipeta

1 pipeta pasteur

1 espátula

,



### V. 3. Aceites analizados

La mayoría de los aceites analizados, nacionales y extranjeros, se muestrearon tres veces en fechas diferentes. En la **Tabla N° 2** se muestran los aceites con sus respectivos nombres de marcas registradas, país de fabricación, materia prima declarada para su elaboración y fecha de muestreo.

**Tabla N° 2. Aceites comestibles nacionales y extranjeros.**

Nombre del aceite	Lote #1	Lote #2	Lote #3	Ingrediente declarados en la etiqueta	País de fabricación
Fecha de muestreo	19/04/06	22/11/06	25/01/07		
Doral envasado	Muestreado	No muestreado	Muestreado	Aceite puro vegetal	Nicaragua
Clover envasado	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Aceite vegetal	Nicaragua
Mazorca envasado	Muestreado	No muestreado	Muestreado	Soya, canola, girasol,	Nicaragua
Corona envasado	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Aceite vegetal	Nicaragua
Rico envasado	Muestreado	No muestreado	Muestreado	Algodón, soya, oleina de palma	Nicaragua
Doral agranel	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Aceite puro vegetal	Nicaragua
Ámbar agranel	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Soya	Nicaragua
Santa fe envasado	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Soya	Nicaragua
Regia	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Girasol, soya,	Guatemala



Nombre del aceite	Lote #1	Lote #2	Lote #3	Ingrediente declarados en la etiqueta	País de fabricación
Fecha de muestreo	19/04/06	22/11/06	25/01/07		
envasado				oleina de palma	
Ideal envasado	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Girasol	Guatemala
Orisol premium envasado	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Girasol	El salvador
Orisol Clásico envasado	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Soya, girasol palma	El salvador
Líder agranel	Muestreado	No muestreado	Muestreado	Vegetal	El salvador
Santa clara envasado	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Algodón, soya, palma	El salvador
Aceite de maíz envasado	Muestreado	Muestreado	No muestreado	Maíz refinado	Costa rica
Girol Clásico envasado	Muestreado	Muestreado	Muestreado	Girasol, soya	Argentina
Oliva Ibarra envasado	Muestreado	No muestreado	No muestreado	Oliva	España
Oliva Goya 100% envasado	Muestreado	No muestreado	No muestreado	Oliva	España
Oliva Extra .Virgen envasado	Muestreado	No muestreado	No muestreado	Oliva	España



## VI. METODOLOGIA

### VI. 1 Diseño Metodológico

Se muestrearon tres veces, en un lapso de 10 meses que va de abril del 2006 a enero del 2007, los diferentes tipos de aceites nacionales y extranjeros más consumidos por la población que se ofertan en Nicaragua. La mayoría de los aceites del muestreo fueron realizados en un supermercado de Ocotral y el resto en los supermercados de la ciudad de León. Se analizaron 19 marcas de aceites de las cuales corresponden al primer lote que equivale al 100%,

En el cuadro anterior se puede observar que marcas de aceites solo se muestrearon por triplicado que fueron 12 marcas de aceites equivalente al 63% del muestreo y el restante por duplicado que fueron 15 marcas de aceites equivalente al (79 %).

En los siguientes tres días después de cada muestreo se transformaron por transesterificación básica en metanol los ácidos grasos contenidos en cada uno de los aceites en su correspondiente ésteres metílicos (FAME). Los ésteres metílicos se almacenaron en refrigeración a  $-25^{\circ}\text{C}$ , previa diluciones en hexano, hasta su posterior inyección, identificación y cuantificación por cromatografía de gases con columna capilar.

Previo a las inyecciones de los ésteres metílicos preparados en el laboratorio, se prepararon muestras de mezclas de los 7 estándares de los ésteres metílicos analizados para encontrar los mejores parámetros cromatográficos de separación y preparación de curva de calibración. En base a los resultados de los análisis cromatográficos se calcularon los porcentajes relativos de los ácidos grasos presentes en cada aceite y estos porcentajes se utilizaron para calcular los índices de aterogenicidad y porcentajes relativos de ácidos grasos saturados e insaturados.



## VI. 2 Preparación de estándares

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 prepararon soluciones madres a partir de los estándares puros recién adquiridos, y a partir de las soluciones madres se prepararon soluciones de trabajo más diluidas, (Ver **tabla N° 3**) para determinar los tiempos de retención de cada uno de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

**Tabla N°3. Concentraciones (ppm ) de estándares de las soluciones madres y soluciones de trabajo.**

Estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos.	% de pureza	Peso exacto (gramos)	Volumen final de la solución madre(ml)	Concentración µg/ml (ppm) de los estándares en la solución madre	Concentraciones µg/ml (ppm) de solución de trabajo para optimizar
Láurico (C12:0)	98.5	1.0567	25	41,632	4163.2
Mirístico (C14:0)	99.5	0.9950	25	39,601	3960.1
Palmítico (C16:0)	99.5	0.26664	10	26,5068	5301.36
Esteárico (C18:0)	99.5	0.9293	25	36.98614	3698.614
Oleico (C18:1)	99.0	0.084744	5	16,94	3389.76
Linoléico(C18:2)	99.5	0.08955	5	17,91	3582



Linolénico (C18:3)	*	*	*	19,518	3903.6
-----------------------	---	---	---	--------	--------

\*Se utilizó una solución madre ya preparada y recientemente reestandarizada con un estándar comercial de 10 ppm.

Los factores de dilución oscilan de 5,6 y 10 veces para la preparación de la solución de trabajo a partir de la solución madre de cada estándar.

### VI. 3 Optimización de los parámetros cromatográficos

Se utilizó un cromatógrafo de gases HP modelo 5890 Serie II equipado con un detector FID, diseñado para trabajar con columnas capilares y acoplado a una Estación Química HP ChemStation (Versión A.06.03.509). Por problemas con el flujo total del GC 5890 no se pudo utilizar la técnica de inyección con división y por lo tanto se trabajó con la técnica de inyección sin división (spletles). Se utilizó como gas de arrastre y combustible, hidrógeno de alta pureza generado por un equipo de generación de hidrógeno ultra puro marca Whatman modelo75-34, utilizamos como gas auxiliar nitrógeno de alta pureza producido por un generador de nitrógeno marca Whatman modelo76-94-228.

El cromatógrafo se equipó con una columna capilar HP-225 de 25 m, 0.20 mm diámetro interno y 0.2  $\mu\text{m}$  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 spletless (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 y final del horno, tiempo de purga, rampa de calentamiento, volúmenes de inyección y flujo de la columna.





Optimizamos la búsqueda de los parámetros con una solución concentrada equivalente al nivel 3 utilizado para hacer posteriormente la curva de calibración y posterior a la optimización de la mezcla se inyectó una dilución 1/10 del nivel 3 para verificar la resolución y eficiencia a concentraciones menores. En el cuadro siguiente se muestran las concentraciones de las mezclas utilizadas.

Estándares	Láurico C12:0	Mirístico C14:0	Palmítico C16:0	Esteárico C18:0	Oleico C18:1	Linoléico C18:2	Linolénico C18:3
<b>Concentraciones utilizadas en la búsqueda de los parámetros óptimos. Nivel 3</b>	83.26 ppm	79.20 ppm	106.02 ppm	73.97 ppm	237.28 ppm	537.28 ppm	63.20 ppm
<b>Concentraciones utilizadas para verificar la eficiencia y resolución</b>	8.32 ppm	7.92 ppm	10.60 ppm	7.40 ppm	13.55 ppm	14.32 ppm	6.32 ppm

Se determinó el orden de elusión de cada uno de los estándares individuales de los ésteres metílicos o sea sus tiempos de retención ( $T_r$ ) por inyecciones individuales de soluciones diluidas de cada uno de ellos bajo las mismas condiciones cromatográficas, el orden de elusión de cada estándar se muestran en la **tabla N°4**



**Tabla N° 4. Tiempos de retención de los estándares de los ésteres metílicos de ácidos grasos**

Ésteres metílicos	Láurico (C12:0)	Mirístico (C14:0)	Palmítico (C16:0)	Estearico (C18:0)	Oleico (C18:1)	Linoléico (C18:2)	Linolénico (C18:3)
Tr (min.)	4.883	5.423	5.961	6.621	6.719	6.902	7.125

**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

**Flujo del make up:** 30 ml/min

**Flujo del hidrógeno:** 30 ml/min

**Flujo del aire:** 400 ml/min

**Tiempo de purga:** 0.01min

**Volumen de inyección:** 1µl

**Horno:** Rampa T1:100°C, t1:2 min, R: 45°C/min, T2:230°, t2:7 min

#### **VI. 4 Determinación de límite de detección y cuantificación**

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 (LD), cuantificación (LC) y la linealidad.



Los LD y LC se pueden determinar: por 2 métodos a) por diluciones continuas de estándares de soluciones diluidas, tomando como criterio los niveles de ruido del equipo que consiste en 3 veces la altura del pico del ruido equivale al LD, y 10 veces la misma altura del ruido del pico equivale al LC.

b) utilizando el programa del equipo cuyo método consiste en inyectar una solución individual o una mezcla de concentraciones conocidas comparándola con un intervalo de tiempo definido de la altura correspondiente al ruido del equipo, próximo de la salida de cada FAME o mezcla inyectada al equipo.

En este trabajo se utilizó el segundo método para cuantificar el LD y LC. Para ello se utilizó una solución diluida de la mezcla de estándares equivalente a la utilizada en el nivel 1 de la curva de calibración. Se utilizó una mezcla en lugar de los estándares individuales para hacer más rápidas las determinaciones y tener una matriz similar a la mezcla de los ésteres transesterificados. Un ejemplo de los cálculos se muestra en los **anexos**.

**Tabla N° 5. Limite de detección y cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos**

Estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos	Limite de detección(LD) (ppb)	Limite de cuantificación(LC) (ppb)
Láurico (C12:0)	709.0	2364.6
Mirístico (C14:0)	257.0	857.6
Palmitico (C16:0)	595.2	1984.1
Esteárico (C18:0)	554.9	1849.8
Oleico (C18:1)	56.1	187.0
Linoléico (C18:2)	277.2	924.1
Linolénico (C18:3)	1422.5	4741.8



## VI. 5 Preparación de curvas de calibración

Posterior a la determinación de los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) se procedió a preparar la curva de calibración necesaria para cuantificar posteriormente las mezclas de los ésteres metílicos preparadas a partir de los aceites comestibles analizados.

Se consideró que una curva de calibración con tres niveles era suficiente, se contempló también que si las concentraciones eran superiores a las de los límites de la curva de calibración, se debería diluir estas muestras las veces que fuera necesario hasta que todos los compuestos analizados estuvieran dentro de los límites de la curva de calibración.

En la tabla **No 6** se muestra las concentraciones de los niveles y el valor de  $R^2$  y en los anexos las curvas de calibración de cada uno de los estándares. Se tomó como criterio de una buena correlación que el valor de  $R^2$  tuviera al menos dos nueve en los primeros dos decimales (0.99.).

**Tabla N° 6**

Mezcla de estándares	Nivel 3 (ppm)	Nivel 2 (ppm)	Nivel 1 (ppm)	$R^2$
Láurico (C12:0)	83.26	41.63	8.32	0.9996
Mirístico (C14:0)	79.20	39.60	7.92	0.9981
Palmítico (C16:0)	106.02	53.00	10.6	0.9977
Esteárico (C18:0)	73.97	36.98	7.4	0.9947
Oleico (C18:1)	237.28	135.59	13.55	1
Linoléico (C18:2)	537.28	286.56	14.32	0.997
Linolénico (C18:3)	63.2	31.6	6.32	0.9933



## **VI. 6 Caracterización y cuantificación de los ácidos grasos en grasas, por medio de sus ésteres metílicos**

### **VI. 6. 1 Proceso de transesterificación básica**

Previo al análisis de la composición y cuantificación de los ácidos grasos presentes en cada uno de los aceites comestibles estudiados se procedió a la conversión de los ácidos grasos en sus ésteres metílicos usando el método de transesterificación básica como se describe a continuación.

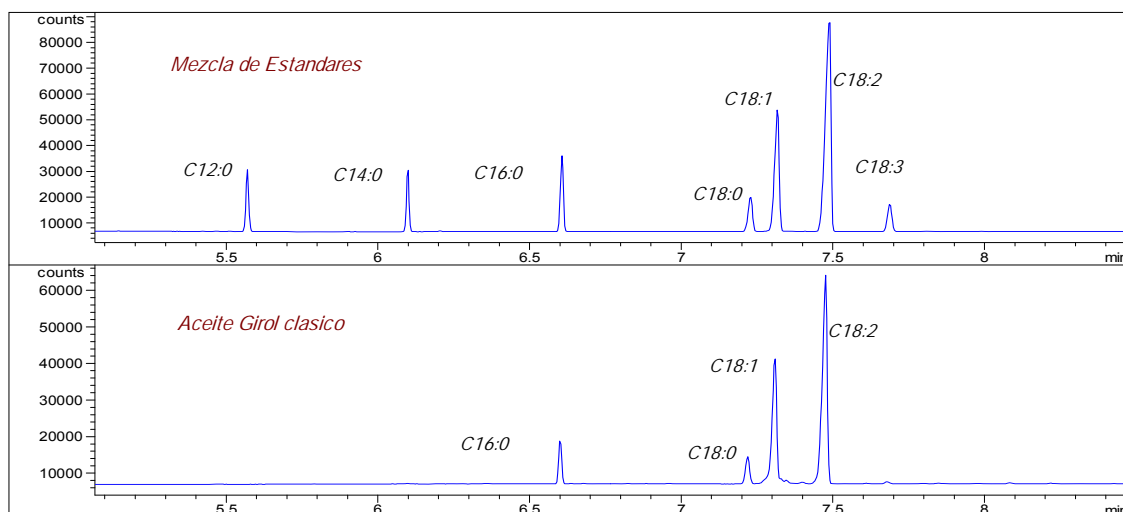
Se pesan 4 gotas de aceite en un vial y se le adicionan 0.5 ml de KOH/MeOH 2M y 0.8 ml de hexano. Se cierra bien el frasco y se agita enérgicamente en un Vortex por 12 min. en un vibrador y se deja después en reposo por al menos 6 min. a temperatura ambiente. Se toman 0.3 ml de la fase superior y se transfieren a otro frasco de vidrio de 6 ml de capacidad provisto de tapa con rosca y sello de teflón que contenga 1 gr de sulfato de sodio anhidro. Se adicionan al frasco 4 ml de n-hexano, se agita y se deja en reposo al menos 10 min. La solución sobrenadante, sin remover el sulfato de sodio, se inyecta sin posterior tratamiento al cromatógrafo de gas.

Si en el procedimiento descrito anteriormente no ocurre la separación de capas después de la agitación de los 12 minutos y el reposo de 6 minutos se puede deber a que se preparó mal la mezcla de reacción. Otra causa puede ser el que los aceites tengan más del 3% de ácidos grasos libres y en tal caso se debe de cambiar el método de transesterificación básica por el ácido. **VI.6. 2 Caracterización y cuantificación de los FAME**

Una vez encontrados los parámetros óptimos de separación se procedió a inyectar las muestras transesterificadas de los ésteres metílicos preparados previamente a partir de las grasas de cada muestra individual. En todos los casos los volúmenes de inyección fueron, igual que los volúmenes inyectados para determinar la curva de calibración, de 1µl y se hicieron por triplicado.



La presencia ó ausencia de los ésteres metílicos se realizó por comparación de los tiempos de retención de los estándares correspondientes. Un ejemplo de esto para el caso del aceite de Girol Clásico se ilustra a continuación.



En el ejemplo que se muestra arriba, es evidente que en el aceite Girol Clásico están presentes solo los ácidos C16:0, C18:0, C18:1 y C18:2 y ausentes los ácidos C12:0, C14:0 y C18:3.

Se utilizó el área de los picos y se forzó a pasar por el origen la curva de calibración para determinar las concentraciones individuales de cada uno de los ésteres metílicos presentes. Sólo se utilizaron los ésteres metílicos identificados en cada aceite para calcular los porcentajes relativos de cada uno de los ácidos grasos presentes en cada muestra analizada. 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 porcentual de la composición de los ácidos grasos de una grasa ó aceite y se refleja en el perfil cromatográfico de todas las muestras analizadas.

Un ejemplo de la determinación de la concentración utilizando la curva de calibración se muestra a continuación para el éster metílico del ácido esteárico del aceite Santa fe.

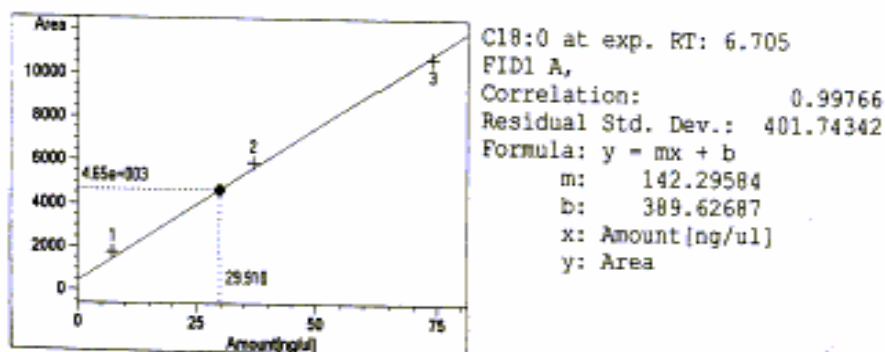


Figura 10

En este ejemplo se pueden apreciar los tres niveles de la curva de calibración y el intercepto del área (eje y) del pico del C18:0, de concentración desconocida, con la curva de calibración para determinar la concentración desconocida al interceptar el eje de la x (29.910 ppm).



---

## VII. RESULTADOS

### VII. 1 Obtención de los resultados

Se inyectaron al cromatógrafo los tres niveles de concentraciones seleccionados que aparecen en la pag.50 (ver **Tabla N° 6**) para hacer la curva de calibración y posterior a su realización y verificación de la correlación ( $R^2$ ), se procedió a inyectar por triplicado cada una de las muestras transesterificadas de los aceites estudiados. Cuando algunos de los componentes de las muestras inyectadas tenían concentraciones superiores al 3<sup>er</sup> nivel de la curva de calibración se procedió a diluir las muestras las veces que fuera necesario para que sus concentraciones estuvieran dentro de los límites de la linealidad de la curva.

En las tablas N° 7 y N° 8 se muestran todos los datos experimentales obtenidos utilizando las curvas de calibraciones elaboradas por el chemstation. En ellas se reflejan las composiciones porcentuales de los ácidos grasos saturados e insaturados presentes en cada una de las muestras. Estos resultados se utilizaron también para calcular los índices de aterogeneidad y la relación de omega-3 y omega-6 en cada uno de los aceites.

Las tablas también muestran no sólo los resultados experimentales obtenidos sino también algunos valores porcentuales de ácidos grasos reportados por los fabricantes en las etiquetas.





**Tabla N°7 Comparación del porcentaje de ácidos grasos encontrados en el análisis por GC, con los reportados en las etiquetas de los aceites Nacionales.**

Muestras analizadas	Saturados				Total Sat.	Insaturados			Total de poliinsaturado	Total Inst.	Total Sat e Inst.	Índice de aterogenicidad	Relación omega-6/omega-3
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0		mono	Di Omega-6	Tri Omega-3					
<b>Aceites nacionales</b>													
Doral envasado	0.01	0.12	14.03	6.11	20.27	25.90	49.29	4.51	53.8	79.7	99.97	0.18	10.9
ETIQUETA	NR												
Clover	-	0.04	12.99	7.42	20.45	24.16	50.09	5.29	55.38	79.54	99.9	0.17	9.47
ETIQUETA					14.29	25			60.71				
Mazorca	-	-	12.19	7.55	19.74	38.48	38.15	3.22	41.37	79.85	99.59	0.15	11.85
ETIQUETA					14.29	21.43			64.29				
Corona	-	-	11.3	7.68	18.98	24.89	50.93	5.2	56.13	81.02	100	0.14	9.79
ETIQUETA	NR												
Rico	0.0051	0.11	13.52	6.64	20.21	25.03	48.89	5.88	54.77	79.8	100	0.17	8.31
ETIQUETA	NR												
Doral agranel	-	-	14.93	10.68	25.61	25.93	44.06	4.38	48.44	74.37	99.98	0.20	10.06
ETIQUETA	NR												
Ámbar agranel	-	-	13.53	10.15	23.68	26.03	46.02	4.26	50.28	76.31	99.99	0.18	10.8
ETIQUETA					14.29	28.57			49.29				
Santa fe	-	-	11.86	9.14	21	24.88	49.09	5.03	54.12	79	100	0.15	9.76
ETIQUETA	NR												

Datos analizados a través de los resultados del equipo de cromatografía de gas.

Datos reportados en las etiquetas de los aceites.



**Tabla N°8 Comparación del porcentaje de ácidos grasos encontrados en el análisis por GC, con los reportados en las etiquetas de los aceites Extranjeros.**

Muestras analizadas	Saturados				Total Sat.	Insaturados			Total de poliinsaturado	Total insat	Total Sat e insat	Índice de aterogenicidad	Relacion omega-6/omega-3
	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0		Mono	Di Omega-6	Tri Omega-3					
Aceites extranjeros						C18:1	C18:2	C18:3					
Regia	0.04	0.28	20.8	8.25	29.37	28.44	38.44	3.84	42.28	70.72	100	0.31	10.01
ETIQUETA					14.29	28.57		7.86	49.28				
Crisol Premium	-	0.26	9.51	5.61	15.38	24.59	57.58	2.441	60.02	84.61	99.99	0.12	23.60
ETIQUETA					10.71					89.29			
Orisol clásico	0.22	1.45	28.54	12.08	42.29	31.64	20.913	5.15	26.06	57.7	99.99	0.59	4.06
ETIQUETA					42				58				
Líder	0.255	1.165	45.55	7.14	54.11	36.44	9.07	0.265	9.34	45.78	99.89	1.1	34.22
ETIQUETA	NR												
Aceite de maíz	-	-	21.59	4.58	17.17	28.47	53	1.34	54.34	82.81	99.98	0.15	39.55
ETIQUETA					14.29	25			64.71				
Giol clásico	-	-	6.87	7.19	14.06	27.69	58.11	0.15	58.26	85.95	100	0.08	387.4
ETIQUETA					7.14	28.57			64.29				
Oliva ybarra	-	0.18	12.30	6.27	18.75	75.64	5.09	0.51	5.6	81.24	99.9	0.16	9.98
ETIQUETA					14.29	71.43			14.29	85.72			
Oliva Goya 100%	-	0.04	13.61	5.09	18.74	71.39	9.05	0.81	9.86	81.25	99.99	0.16	11.17
ETIQUETA	NR												
Oliva extra virgen	-	0.14	11.62	5.08	16.84	74.34	8.69	0.11	8.8	83.14	99.98	0.14	79
ETIQUETA					14.29	71.43			10.71	82.14			
Santa clara	0.08	0.36	20.73	7.881	29.08	30.6	36.22	4.10	40.32	70.92	100	0.31	8.83
ETIQUETA					25								
Ideal	-	-	12.14	10.72	22.86	22.79	49.14	5.01	54.15	76.94	99.8	0.16	9.80



ETIQUETA					12.14	20.71			67.14					
----------	--	--	--	--	-------	-------	--	--	-------	--	--	--	--	--

Datos analizados a través de los resultados del equipo de cromatografía de gas

Datos reportados en las etiquetas de los aceites.

## VII. 2 Análisis de resultado

### Relación de ácidos grasos saturados / insaturados

Todos los aceites nacionales y la mayoría de los extranjeros excepto el Líder y el Orisol Clásico tienen una relación de ácidos grasos saturados e insaturados propio de los aceites vegetales. Los valores encontrados van del 14-29% de saturados a 70-85% de insaturados, en todas estos es claro el predominio de los ácidos grasos insaturados.

Los aceites Orisol Clásico y Líder tienen un alto % de ácidos grasos saturados y bajo % de insaturados. Esta relación es propia de los aceites de palma, coco y cacao.

En ambos aceites el ácido graso saturado más abundante es el ácido palmítico (C16:0). La fuente más abundante de este ácido es el aceite de palma ó las grasas de origen animal.

### Índice de aterogenicidad

Todos los aceites nacionales y la mayoría de los extranjeros, tiene un índice aterogénico (I.A) entre (0.12-0.20) que es aceptable. El aceite Girol Clásico tiene el Índice aterogénico más bajo de todos en los aceites con un valor de 0.08 seguido del Orisol Premiun con un valor de 0.12 ambos aceites declaran tener aceite de soya y girasol.

Los aceites Regia, Orisol Clásico, Líder y Santa Clara tienen un alto Índice aterogénico y en particular el Líder y Orisol Clásico tienen un valor muy alto. Todos estos aceites excepto el Líder declaran tener en su composición aceite de palma y oleina de palma. Aunque el aceite Líder no declara el origen del aceite se puede presumir que por su alta composición de C16:0 que es derivado de la oleina de palma o aceite de palma.

**Contenido de ácido oleico (C18:1)**

Todos los aceites nacionales y extranjeros, excepto los de oliva tienen un contenido de ácido oleico (C18:1) entre 22-38%. Comparados con los de oliva que tienen alrededor del 73% , no son una buena fuente de ácido oleico.

**Contenido de ácido linoléico: Omega-6 (C18:2)**

Todos los aceites nacionales excepto el Mazorca y cinco de los extranjeros tienen un contenido de omega-6 que va entre 46 y 58 lo que los convierte en una fuente aceptable de este ácido esencial. Los de Oliva y Líder tienen los valores más bajos de Omega-6. Los restantes aceites : Regia, Orisol Clásico, Santa Clara y Mazorca tienen un contenido de (C18:2) entre 20-38 % lo que los convierte en una fuente intermedia de Omega-6.

**Contenido de ácido Linolénico: Omega-3 (C18:3)**

Todos los aceites nacionales y extranjeros excepto los de Oliva, Líder y Girol Clásico tienen un contenido bajo de Omega-3 (1-5%) que es propio de la mayoría de los aceites vegetales. Son por lo tanto una mala fuente de Omega-3. El resto de los aceites ( Oliva, Líder y Girol Clásico) tienen un contenido de omega-3 menor del 1% lo que los convierte en una pésima fuente de Omega-3.

**Relación Omega-6/Omega-3**

Las relaciones de Omega-6/3 en todos los aceites nacionales están entre 9/1 lo que es alrededor del doble de lo óptimo que es una relación 4/1. Esta relación no es tan mala si consideramos que el resto de los aceites extranjeros tienen una relación casi 3 veces más de lo recomendado en la literatura.

**Valores declarados de la composición de ácidos grasos versus los encontrados experimentalmente.**



### **Aceites nacionales**

Más del 50% de los aceites nacionales no declaran su composición o relación porcentual de ácidos grasos saturados e insaturados ni la fuente vegetal utilizada para su fabricación.

Los aceites nacionales que reportan la composición de ácidos grasos y fuente vegetal ( Mazorca y Ámbar Agranel ) son coherentes con los declarados. El aceite clover aunque no declara su fuente se puede presumir por su composición declarada y los porcentajes encontrados experimentalmente que su fuente es soya.

El Mazorca en particular es evidente por su composición porcentual de C18:1 y C18:2 que es una mezcla equitativa del aceite de soya y canola o girasol y canola. En este aceite sus composiciones de C18:1 y C18:2 son casi iguales (38%). Dado que el aceite de palma al igual que el de canola es rico en C18:1 existe la posibilidad de que en la mezcla se utilizó aceite de palma ó oleína de palma en lugar de aceite de canola.

En general todos los aceites nacionales están fabricados solo de soya con la excepción del Mazorca que tiene en su composición aceite de canola. Dado que este aceite tiene un porcentaje alto de C18:1 comparado con el resto de los nacionales lo hace más estable a calentamiento prolongado.

### **Aceites extranjeros**

El 90% de los aceites importados reportan su fuente ó fuentes de fabricación con la única excepción del aceite Líder. En todos ellos los porcentajes relativos dominantes corresponden con las fuentes reportadas por los fabricantes. En aquellos que reportan tener en su mezcla de aceite de palma o oleína de palma se evidencia fácilmente por su alto contenido de C16:0.



El aceite Líder aunque no declara su fuente de fabricación por su alto contenido de C16:0 se puede presumir que es preparado a partir de aceite de palma.

El 80% de los aceites importados reportan sus composiciones porcentuales de ácidos grasos saturados e insaturados, la mayoría de ellos tienen una buena correlación entre los declarados y los encontrados en el laboratorio. En particular es evidente que los que declaran un alto % de saturados son aceites de palma.

El aceite Regia tiene más saturados de los reportados y el Ideal tiene más saturados y menos poliinsaturados de los reportados.



## VIII. CONCLUSIONES

Basados en la composición porcentual de ácidos grasos de todos los aceites analizados se puede concluir que la mayoría de ellos son adecuados para el consumo humano. Esta conclusión se deriva del hecho de que la mayoría contiene un bajo contenido de ácidos grasos saturados y un bajo Índice de aterogenecidad (0.12-0.20).

Sin embargo todos ellos son mala fuente de ácido linolénico (omega-3) por su bajo porcentaje (1-5%).

Los aceites Regia, Santa Clara, Líder y Orisol Clásico y los dos anteriores en particular son los aceites en el mercado Nacional menos aptos para el consumo humano por su alto Índice de aterogenecidad y alto porcentaje de ácidos grasos saturados.

Desde el punto de vista de los contenidos de ácidos grasos saturados e insaturados y su respectivo Índice aterogénico se puede concluir que todos los aceites fabricados ó envasados en Nicaragua son de igual o mejor calidad que la mayoría de los aceites importados.

Dada la importancia de los ácidos grasos omega-3 y 6 en la dieta humana y la carencia en particular de omega-3 en los aceites nacionales es necesario adicionarlos a la dieta a partir de otras fuentes. Los más disponibles en Nicaragua son los mariscos y las semillas de linaza y chia que se utilizan mucho para hacer refrescos.

Dado que los omegas-3, al igual que todos los ácidos grasos insaturados son inestables al calor y la luz aún, los aceites comestibles para cocinar ricos en omega-3 no son buena fuente de estos ácidos grasos si se calientan por tiempos prolongados. Lo más adecuado es consumir las semillas crudas como en el caso de los frescos de chia y semillas molida de linaza. En general es recomendable comer semillas crudas para tener un ingesta adicional



de ácidos grasos poliinsaturados. Los frescos de semilla son la forma mas disponible en nicaragua como por ejemplo los frescos de jicaro, cálala, pitaya y granadilla

## IX. RECOMENDACIONES

Dado que este es un trabajo preliminar dirigido a explorar la composición de los ácidos grasos de los aceites comestibles que se ofertan en Nicaragua no se validó primero el método utilizado en los análisis de los ácidos grasos, ni se hicieron las réplicas adecuadas de todas las transesterificaciones de los aceites por lo numeroso de las muestras, el costo, el tiempo que demandaría el hacerla y las limitaciones de cristalería disponible. Tampoco se exploró la posibilidad de hacer una curva de calibración con más de tres puntos , dos o más curvas para analizar los componentes minoritarios y mayoritarios de cada una de las muestras para evitar hacer diluciones de las muestras para cuantificarlas dentro de los limites de las curvas utilizadas. No se utilizó un estándar interno para realizar las curvas de calibración y minimizar con ello los errores de los volúmenes de inyección por no tenerlo disponible y el alto costo del mismo.

Recomendamos que un trabajo posterior a éste, valide primero el método, utilice un estándar interno y haga un diseño más riguroso del muestreo. El tiempo que demandaría un estudio como el recomendamos sería muy largo para una tesis de licenciatura y su costo muy alto por los precios de los estándares externos e internos, los consumibles de cromatografía de gases y la cristalería que se necesitaría adquirir. Lo recomendable es hacer un proyecto de investigación y buscar el financiamiento necesario para realizarlo.





## X. BIBLIOGRAFÍA

1-Estudio preliminar de la composición de los ácidos grasos de los productos lácteos elaborados en Nicaragua por cromatografía de gases en columna capilar .Br Heysel del Carmen Tórrez Campos.León, Nicaragua, Enero del 2006.QUI378.2 T693e 2006.

2- <http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/doc/EI%20Cuaderno%2066.doc>

3-Samora Solís Eduardo José & Sobalvarro Sánchez Alberto Enrique .(1993).tesis optimización del proceso de trans-esterificación del aceite de tempate para la obtención de un sustituto del diesel a escala de laboratorio.

4-Lehninger, Albert L Bioquímica: las bases moleculares de la estructura y función celular/Albert L, Lehninger, traducido del inglés por Fernando Calvet prat.2 a ed Barcelona: Ediciones Omega.1981

5-Academia de ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, boletines Nos .175, 176 Tomo LIV, primer y segundo trimestre 1994.

6-[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0001-60022005000100006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0001-60022005000100006&script=sci_arttext)

7-[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=so212-16112005000100010&lng=pt&nrm=](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=so212-16112005000100010&lng=pt&nrm=)

8-<http://www.botanical-online.com/medicinalesomega.htm>.



## XI. ANEXOS

**Procesamiento de los datos reportados por el equipo de cromatografía de gases con columna capilar tabla N°10**

Aceite Ideal					
FAME	TR	lotes	área	Concentración ng/ul (ppm)	%normalización
C12:0	4.883	1	-	-	-
		2	-	-	-
		3	-	-	-
C14:0	5.423	1	-	-	-
		2	-	-	-
		3	-	-	-
C16:0	5.961	1	4538.19	635.29	10.89
		2	4585.63	282.80	11.17
		3	6578.88	385.31	14.36
C18:0	6.621	1	3139.57	393.86	6.75
		2	4433.19	284.16	11.81
		3	9525.06	365.06	13.60
C18:1	6.719	1	9905.36	1323.91	22.70
		2	8149.79	496.14	20.62
		3	1.18789e4	671.97	25.04
C18:2	6.902	1	1.98e4	3170.63	54.37
		2	1.57e4	1213.45	50.44
		3	1.574	1143.15	42.60
C18:3	7.125	1	1656.38	307.56	5.27



		2	1592.24	129.16	5.37
		3	1457.81	117.80	4.40

<b>SUMA TOTAL</b>	<b>Lote #1</b>	<b>Lote #2</b>	<b>Lote #3</b>
Concentración	5831.2622	2405.7322	2683.3244
% normalización	100	99.42032118	100

**Tabla N°11 Porcentaje total de ácidos grasos presentes en los aceites**

<b>Aceite</b>	<b>Lote #1</b>	<b>Lote #2</b>	<b>Lote #3</b>	<b>- X</b>
Doral envasado	48.83	-	111.55	80.20
Clover	58.28	41.67	59.08	53.01
Corona	62.15	46.10	57.19	55.15
Mazorca	40.69	-	30.45	35.57
Rico	80.56	-	52.56	66.56
Doral agranel	108.57	32.27	29.62	56.82
Ámbar agranel	85.70	27.58	36.43	49.90
Regia	50.74	54.10	31.35	45.40
Orisol premium	17.86	35.58	58.35	37.26
Orisol clasico	9.47	10.71	51.16	23.78
Líder	53.77	-	50.28	52.02
Girol clasico	38.30	61.93	53.68	51.30
Aceite de maíz	46.81	18.19	-	32.5
Oliva ybarra	39.76	-	-	39.76
Oliva Goya 100%	38.87	-	-	38.87



Oliva Extra Virgen	51.19	-	-	51.19
Santa clara	68.54	25.06	33.71	42.43
Ideal	81.54	37.78	42.43	53.92
Santa fe	123.51	36.38	53.63	71.17

**LIMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACION DEL METIL ÉSTER DEL ÁCIDO LÁURICO  
(C12:0)**

Para el ácido láurico la concentración 8.32 ppm da una altura de pico de 1032 y la altura del ruido justo antes de la salida del pico es de 29.3306 (Noise P to P). Diez veces la altura del ruido (**LC**) es 293.306

$$8.32\text{ppm} \text{-----} 1032$$

$$X \text{-----} 10 \times 29.3306$$

$$29.3306 \times 10 = 293.306 \quad X = \frac{8.32 \times 293.306}{1032} = 2.3646 \text{ ppm } \mathbf{LC}$$

$$2.3646 \text{ ppm } \text{-----} \text{ ppb}$$

$$1000 \text{ ppm } \text{-----} 1 \text{ ppb}$$

$$X(\text{ppb}) = \frac{2.3646 \text{ ppm} \times 1 \text{ ppb}}{1000 \text{ ppm}} = 2364.6 \text{ ppb}$$

Tres veces la altura del ruido es  $3 \times 29.3306$  (**LD**)

$$29.3306 \times 3 = 87.9918 \quad X = \frac{8.32 \times 87.9918}{1032} = 0.709 \text{ ppm } \mathbf{LD}$$

$$0.709 \text{ ppm } \text{-----} \text{ ppb}$$



1000 ppm ----- 1 ppb

$$X(\text{ppb}) = \frac{0.709 \text{ ppm} \times 1 \text{ ppb}}{1000 \text{ ppm}} = 709 \text{ ppb}$$

**CONCENTRACION (PPM) DE GRASA EN ACEITES DE LAS MUESTRAS INYECTADAS AL CROMATOGRAFO DE GAS. ejemplo: aceite Ideal lote # 1**

Peso de 4 gotas de aceite = 0.0820g

0.0820g x 1000mg/1g = 82.0mg

82.0mg-----0.8mlde hexano

$$\frac{82.0\text{mg}}{0.8\text{ml}} = 102.5\text{mg/ml}$$

102.5mg-----1ml

x-----0.3

$$X = \frac{102.5\text{mg} \times 0.3\text{ml}}{1\text{ml}} = 30.75\text{mg}$$

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

$$\frac{30.75\text{mg}}{4.3\text{ml}} = 7.151162791 \text{ ppm} \times 1000 = 7151.162791\text{ppb. Concentración de aceite de la muestra inyectada.}$$



**CALCULOS PARA DETERMINAR EL PORCENTAJE DE NORMALIZACION ej aceite ideal lote #1 C16:0**

C. éster metílico (EM) encontrado en la muestra

$\Sigma$  (total) concentración total de los ésteres metílicos en la muestra

$$\% \text{ de Normalización C16:0} = \frac{C. EM \times 100}{\Sigma (\text{total})}$$

**Ejemplo aceite Ideal lote #1**

$$\% \text{ de Normalización C16:0} = \frac{635.2899 \times 100}{5831.2622} = 10.89455213 \%$$



Tipos de aceites y cantidad de muestra inyectadas al cromatógrafo de gases **tabla No 12** por cada uno de los lotes.

<b>Aceites</b>	<b>lotes</b>	<b>Peso de 4 gotas de aceite en gr.</b>	<b>Concentración de la muestra inyectada (ppm)</b>	<b>Concentración total de ácidos grasos (ppm)</b>	<b>Concentracion absoluta</b>
Doral envasado	1	0.0792	7447.67	3637.33	48.84
	2	-	-	-	
	3	0.0654	5703.49	6362.37	111.55
Clover	1	0.1045	9113.37	5311.68	58.28
	2	0.0720	6279.07	2616.84	41.67
	3	0.0838	7380.14	4317.84	58.51
Corona	1	0.0936	8162.79	5073.73	62.16
	2	0.0719	6270.35	2890.89	46.10
	3	0.0856	7465.12	4269.35	57.19
Mazorca	1	0.0823	7177.32	2920.49	40.69
	2	-	-	-	
	3	0.0572	4988.37	1519.22	30.45
Rico	1	0.0911	7944.76	6400.37	80.56
	2	-	-	-	



<b>Aceites</b>	<b>lotes</b>	<b>Peso de 4 gotas de aceite en gr.</b>	<b>Concentración de la muestra inyectada (ppm)</b>	<b>Concentración total de ácidos grasos (ppm)</b>	<b>Concentracion absoluta</b>
	3	0.0880	7674.42	4330.51	56.42
Doral agranel	1	0.0694	6052.32	6571.55	108.57
	2	0.0746	6505.81	2099.46	32.27
	3	0.0753	6566.86	1689.74	25.73
Ambar agranel	1	0.0740	6453.49	5530.71	85.70
	2	0.052	4534.88	1251.17	27.58
	3	0.0841	7334.30	2672.13	36.43
Regia	1	0.0792	6889.5	3495.87	50.74
	2	0.0699	6095.9	3298.03	54.10
	3	0.0603	5258.72	1648.65	31.35
Orisol premium	1	0.0909	7927.32	1416.37	17.86
	2	0.0575	5013.95	1784.46	35.58
	3	0.0752	6558.14	3827.04	58.35
Orisol clásico	1	0.0866	7552.32	715.88	9.47
	2	0.0572	4988.37	534.59	10.71
	3	0.0541	4718.02	2413.79	51.16
Lider	1	0.0875	7630.81	4103.57	53.77
	2	-	-	-	-
	3	0.0656	5720.93	2876.68	50.28
Girol clásico	1	0.0956	8337.21	3193.57	38.30
	2	0.0676	5895.35	3651.26	61.93
	3	0.0778	6784.88	3644.94	53.72
Aceite de maíz	1	0.0759	6619.19	3098.87	46.81
	2	0.0696	6069.77	1104.16	18.19
	3	-	-	-	-





<b>Aceite</b>	<b>lotes</b>	<b>Peso de 4 gotas de aceite en gr.</b>	<b>Concentración de la muestra inyectada ppm</b>	<b>Concentración total de ácidos grasos ppm</b>	<b>Concentración absoluta</b>
Oliva ybarra	1	0.0801	6985.45	2796.97	40.03
	2	-	-	-	
	3	-	-	-	
Oliva Goya 100%	1	0.087	7587	2949.65	38.87
	2	-	-	-	
	3	-	-	-	
Oliva Ext. Virgen	1	0.0811	7072.67	3620.92	51.19
	2	-	-	-	
	3	-	-	-	
Santa clara	1	0.0862	7517.44	5153.14	68.54
	2	0.0707	6165.35	1545.37	25.06
	3	0.0908	7910.80	2667.34	33.71
Ideal	1	0.0820	7151.16	5831.26	81.54
	2	0.0730	6366.28	2405.73	37.78
	3	0.0725	6322.67	2683.32	42.43
Santa fe	1	0.0740	6453.49	7970.73	123.51
	2	0.0778	6784.8	2468.61	36.38



---

	3	0.0583	5084.30	2726.96	53.63
--	---	--------	---------	---------	-------

### Calculo para determinar el índice de aterogenicidad

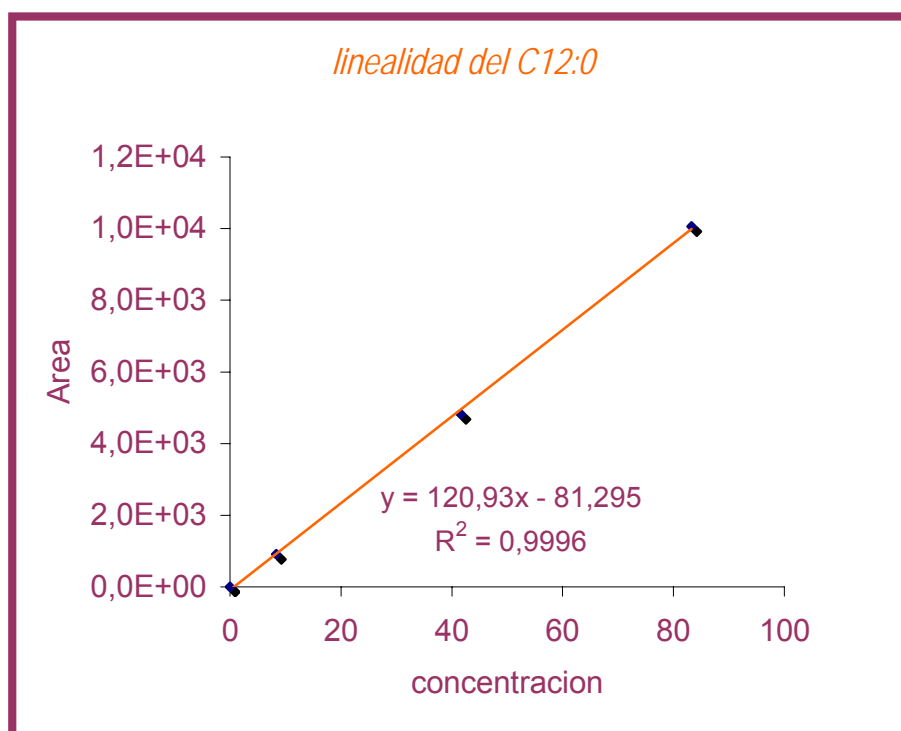
Ej: Doral envasado

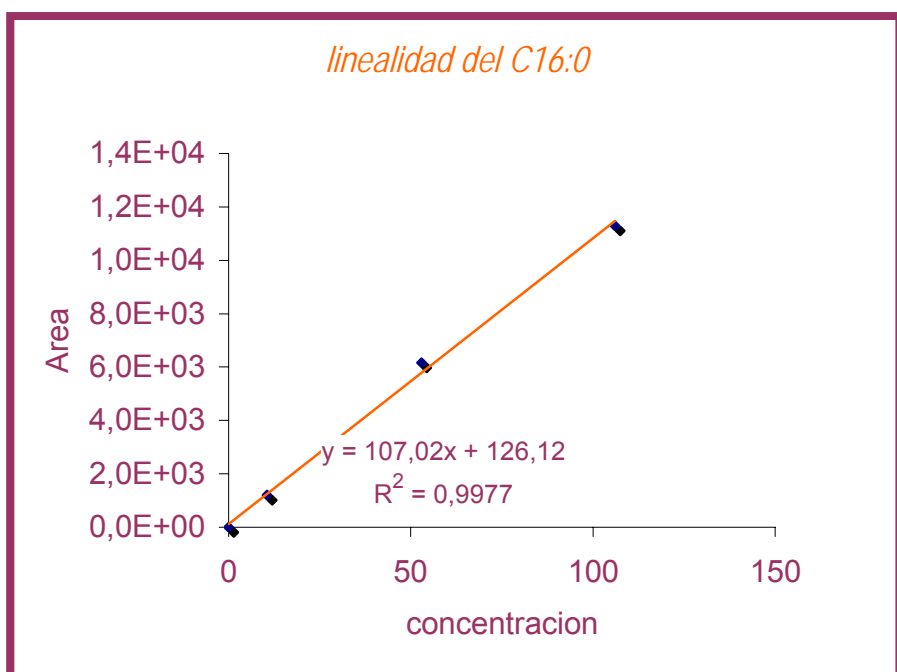
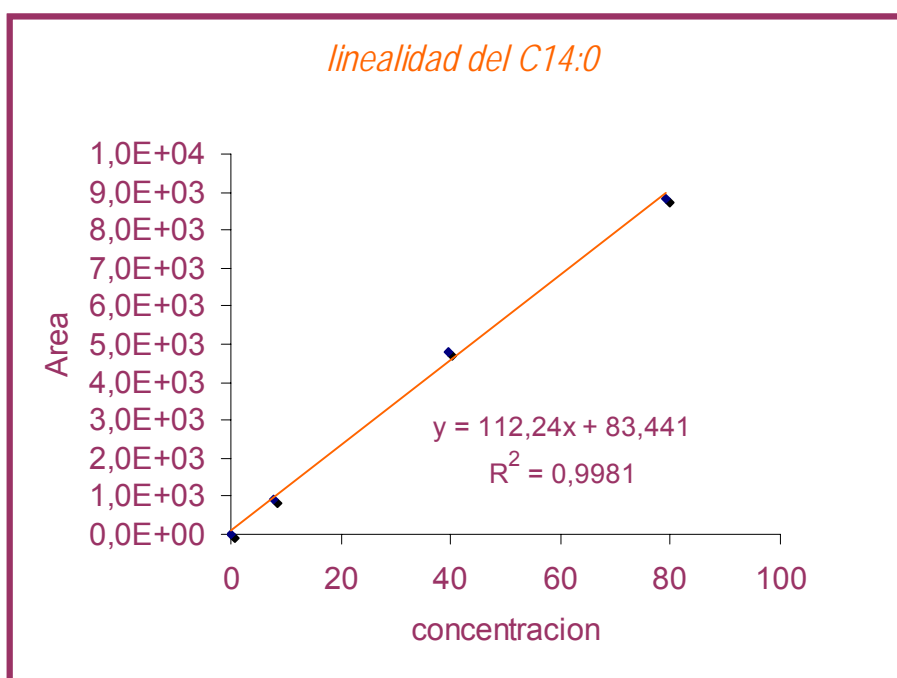
$$\text{I.A.} = \frac{\text{ácido láurico} + 4(\text{ácido mirístico}) + \text{ácido palmítico}}{\text{ácido linoleico (omega 3)} + \text{ácido linolénico (omega 6)} + \text{ácido oleico} + \text{otros monoinsaturados}}$$

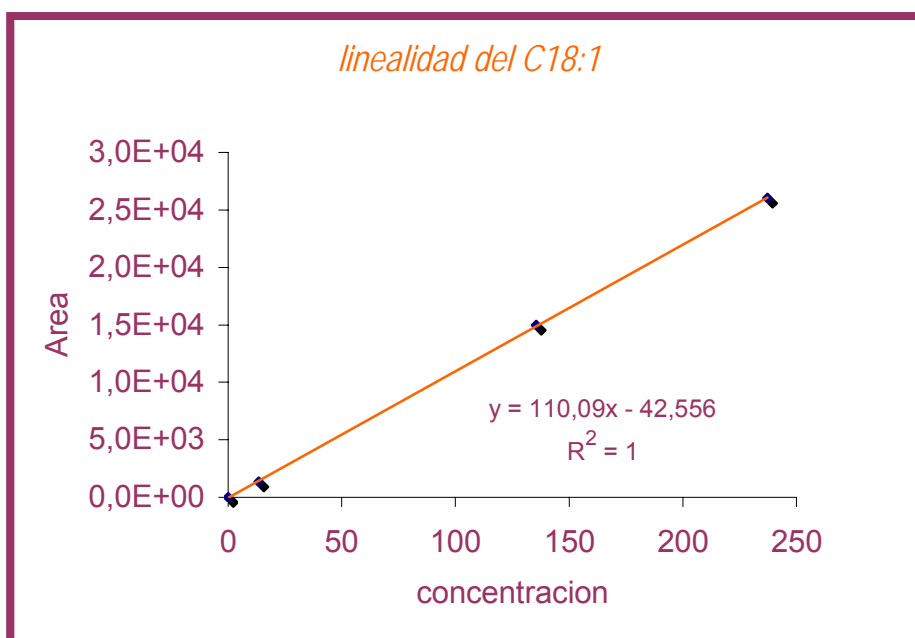
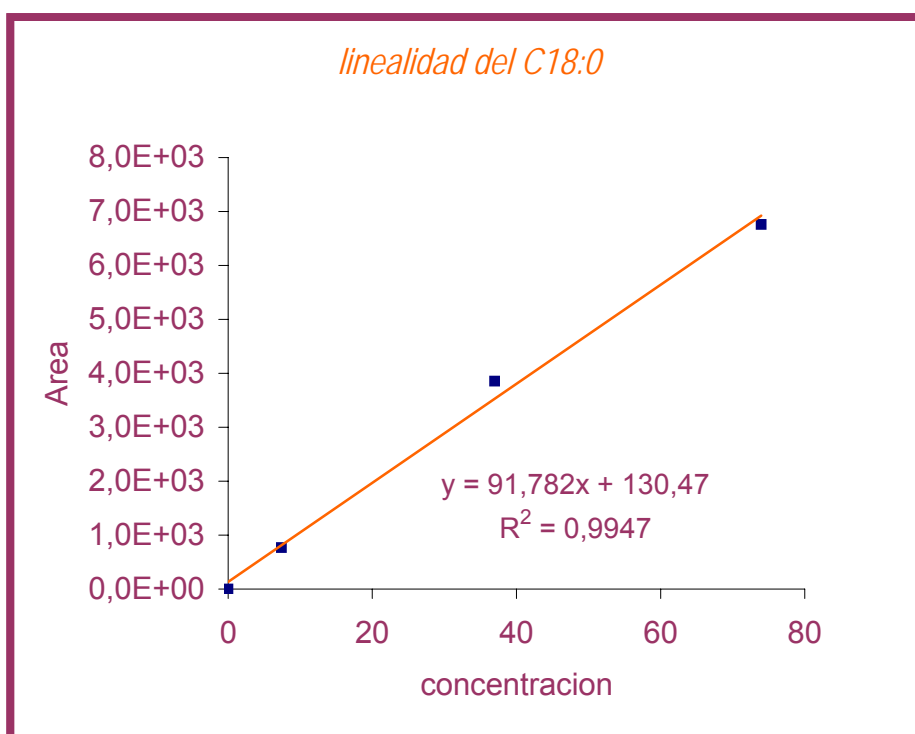
$$\text{IA} = \frac{0.01 + 4(0.12) + 14.03}{4.51 + 49.29 + 25.90} = 0.18$$

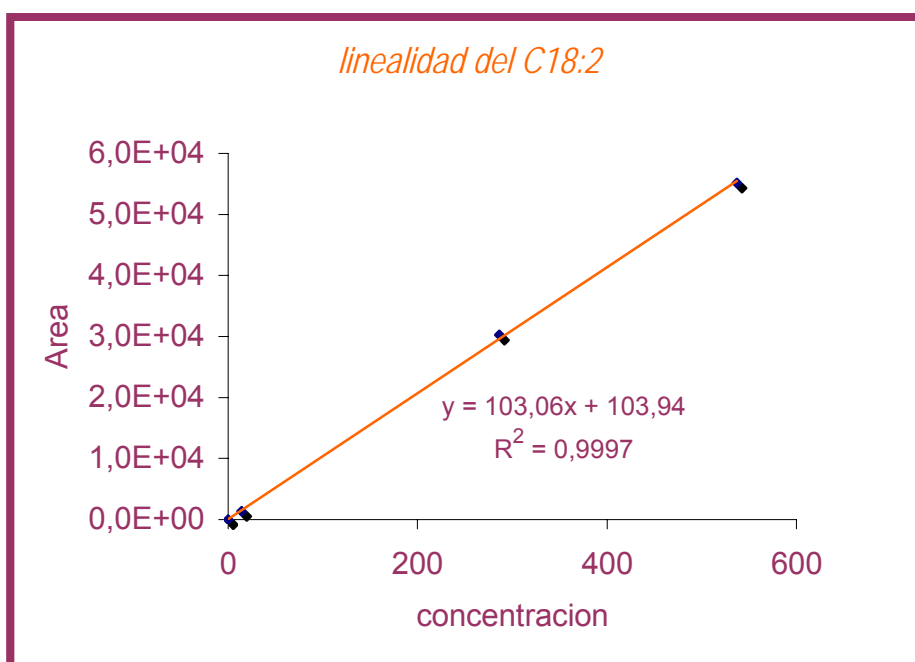


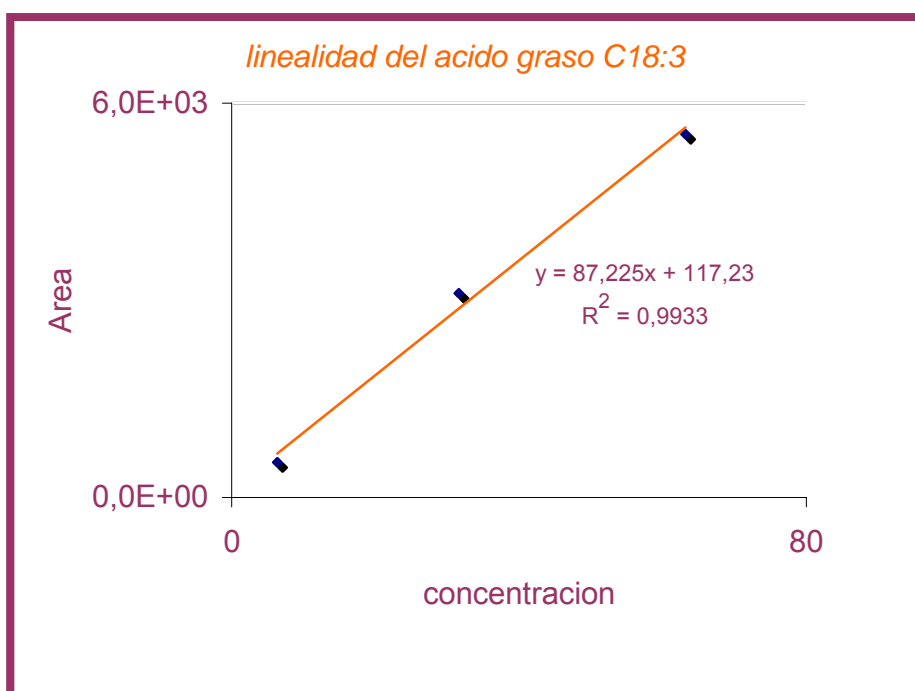
### Curvas de calibración utilizadas en nuestro análisis





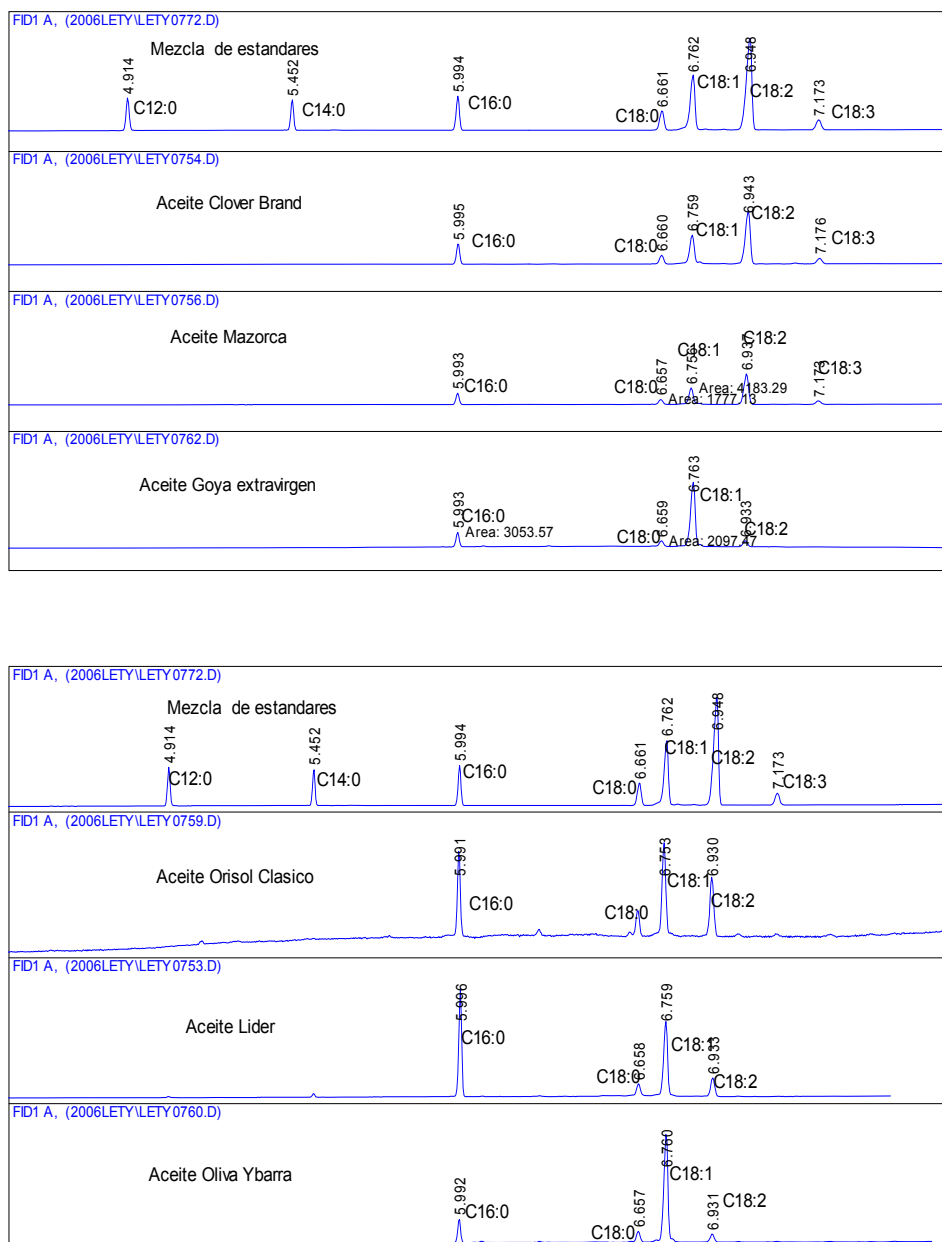




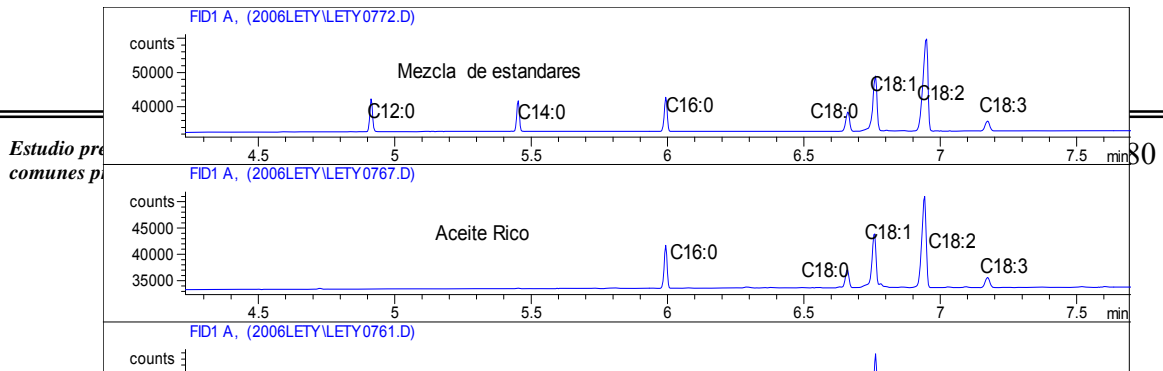
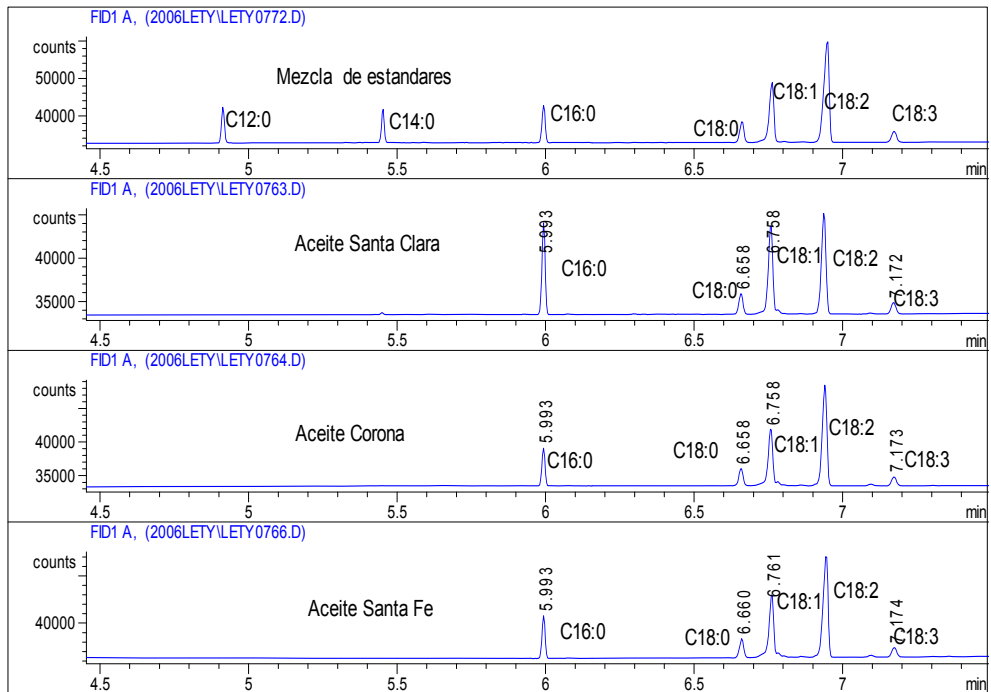
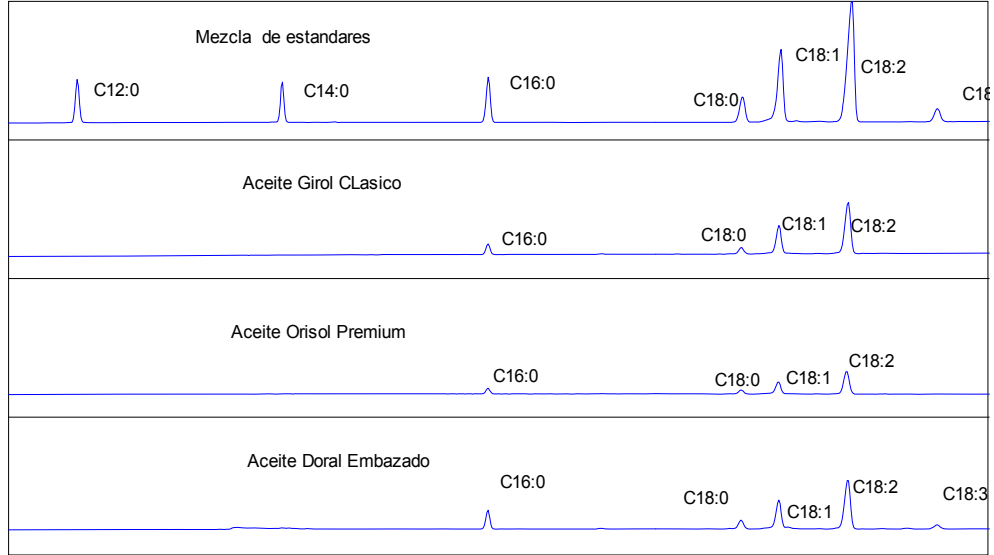




## Perfil cromatográfico de los aceites vegetales comestibles.







Estudio pre  
comunes pi

