

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

“Determinación del perfil de ácidos grasos en embutidos y mayonesas de mayor consumo en el Distrito Metropolitano de Quito por cromatografía de gases”

Disertación de grado previa a la obtención del Título de Licenciado en Ciencias  
Químicas con Mención en Química Analítica

MARCELO FERNANDO BRAVO CARRANCO

Quito, 2014

## **DEDICATORIA**

Dedico el presente trabajo a todo y todos quienes me inspiraron esta pasión y curiosidad científica en mí.

## **AGRADECIMIENTOS**

A todas esas personas que, de una u otra manera, han ayudado para que yo llegue a este día. A mis Padres, hermanas y familiares, por su apoyo incondicional en todo momento a lo largo de mi educación. A mis maestros, por todo el conocimiento brindado con paciencia y sabiduría, al Magister Pablo Pozo y al Dr. Pablo López por toda su ayuda y confianza al momento de realizar este proyecto de investigación. A Jaime Gía, quien más que maestro es un amigo, colega y una inspiración para el químico que he llegado a ser hoy.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, en especial a la Escuela de Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, por brindarme todas las facilidades para la realización de este trabajo en el laboratorio de Cromatografía.

A mis compañeros y amigos, por las palabras de aliento, por estar ahí cuando lo he necesitado y por aguantar a este radical libre que aunque reactivo, espera en algún momento revolucionar la química.

# ÍNDICE

Preliminares.....	i-x
Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Antecedentes.....	8
Justificación.....	13
Planteamiento del problema.....	14
Objetivo general.....	14
Objetivos específicos.....	14
1. Capítulo 1.....	15
1.1.Lípidos.....	15
1.1.1. Funciones.....	15
1.1.1.1.Función de fuente y reserva energética.....	15
1.1.1.2.Función estructural.....	16
1.1.1.3.Función reguladora.....	16
1.1.2. Clasificación de lo lípidos.....	17
1.1.2.1.Lípidos simples.....	17
1.1.2.1.1. Acilgliceroles.....	17
1.1.2.1.2. Ceras.....	17
1.1.2.2.Lípidos complejos.....	18
1.1.2.2.1. Fosfolípidos.....	18

1.1.2.2.2. Esfingolípidos.....	18
1.1.2.2.2.1.Esfingomielinas.....	19
1.1.2.2.2.2.Cerebrósidos.....	19
1.1.2.2.2.3.Gangliósidos.....	19
1.2.Ácidos grasos.....	19
1.2.1. Estructura.....	20
1.2.2. Nomenclatura.....	20
1.2.3. Propiedades.....	20
1.2.3.1.Propiedades físicas.....	21
1.2.3.2.Propiedades químicas.....	21
1.2.4. Grado de saturación.....	22
1.2.4.1.Ácidos grasos saturados.....	22
1.2.4.2.Ácidos grasos insaturados.....	22
1.2.4.2.1. Ácidos grasos monoinsaturados.....	23
1.2.4.2.2. Ácidos grasos poliinsaturados.....	23
1.2.4.3.Ácidos grasos esenciales.....	24
1.2.4.4.Ácidos grasos trans.....	25
1.2.4.5.Principales ácidos grasos.....	26
1.3.Estandarización del método.....	28
1.3.1. Linealidad y rango.....	28
1.3.2. Precisión.....	29
1.3.3. Exactitud.....	29
1.3.4. Límite de detección y límite de cuantificación.....	30
1.3.5. Sensibilidad.....	31
1.3.6. Índice de Horwitz.....	31

1.4.Cromatografía de gases.....	32
1.4.1. Ventajas.....	33
1.4.2. Limitaciones.....	33
1.4.3. Instrumentos de cromatografía de gases.....	34
1.4.3.1.Gas portador.....	34
1.4.3.2.Sistema de inyección de muestra.....	35
1.4.3.3.Columna y horno.....	35
1.4.3.4.Sistemas de detección.....	36
1.4.3.4.1. Detección de ionización de llama.....	36
1.5.Homogenización de la muestra.....	37
1.6.Métodos de extracción.....	37
1.6.1. Extracción Folch.....	37
1.7.Derivatización de ácidos grasos.....	39
2. Capítulo 2.....	42
2.1.Metodología.....	42
2.1.1. Unidad de análisis.....	42
2.1.2. Universo o muestra.....	42
2.1.3. Instrumento.....	44
2.1.4. Metodología utilizada para la determinación de ácidos grasos.....	44
2.1.4.1.Materiales y equipos para la extracción.....	44
2.1.4.2.Equipo de cromatografía de gases.....	45
2.1.4.3.Reactivos y soluciones.....	45
2.1.4.4.Procedimiento.....	46
2.1.4.4.1. Homogenización.....	46
2.1.4.4.2. Extracción y derivatización.....	46

2.1.4.5. Condiciones del análisis cromatográfico.....	47
2.1.4.5.1. Inyector automático.....	47
2.1.4.5.2. Cámara de inyección.....	48
2.1.4.5.3. Condiciones de columna.....	48
2.1.4.5.4. Condiciones de horno de columna.....	48
2.1.4.5.5. Condiciones de detector.....	49
3. Capítulo 3.....	50
3.1. Presentación y análisis de resultados.....	50
3.1.1. Calibración.....	50
3.1.2. Cromatografía de los metil ésteres de ácidos grasos en las muestras.....	54
3.1.3. Resultados y análisis de contenido de ácidos grasos en muestras.....	55
3.2. Resumen de resultados.....	75
3.3. Discusión de resultados.....	76
4. Capítulo 4.....	82
4.1. Conclusiones y recomendaciones.....	82
4.1.1. Conclusiones.....	82
4.1.2. Recomendaciones.....	84
5. Bibliografía.....	85
6. Anexos.....	90

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Principales ácidos grasos.....	27
Tabla 3.1. Resultados de los parámetros de estandarización del método cromatográfico....	55
Tabla 3.2. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados mortadelas de mayor consumo. Quito, 2013.....	57
Tabla 3.3. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados salchichas de mayor consumo. Quito, 2013.....	60
Tabla 3.4. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados chorizos de mayor consumo. Quito, 2013.....	63
Tabla 3.5. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados jamones de mayor consumo. Quito, 2013.....	66
Tabla 3.6. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados morcilla, tocineta y paté de mayor consumo. Quito, 2013.....	69
Tabla 3.7. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de mayonesas de mayor consumo. Quito, 2013.....	72
Tabla 3.8. Índice de Horwitz para dos muestras de embutidos.....	74

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Figura 1.1. Representación esquemática de un cromatógrafo de gases.....	34
Figura 1.2. Reacción de saponificación de un triglicérido.....	39
Figura 1.3. Reacción de metilación de un ácido graso.....	40
Figura 3.1. Cromatograma de estándar de metil ésteres de ácidos grasos (C4-C24).....	50
Figura 3.2. Curva de calibración para el ácido esteárico.....	52
Figura 3.3. Curva de calibración para el ácido oleico.....	53
Figura 3.4. Cromatograma de separación de metil ésteres de ácidos grasos de la muestra de mortadela variedad extra.....	54
Gráfico 3.1. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados mortadelas. Quito, 2013.....	59
Gráfico 3.2. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados salchichas. Quito, 2013.....	62
Gráfico 3.3. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados chorizos. Quito, 2013.....	65
Gráfico 3.4. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados mortadelas. Quito, 2013.....	68
Gráfico 3.5. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados morcilla de sangre, tocineta ahumada y paté de carne de cerdo y res. Quito 2013.....	71

Gráfico 3.6. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en mayonesas. Quito, 2013.....74

Gráfico 3.7. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en los embutidos y mayonesas analizados. Quito, 2013.....75

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°1.- Certificado de composición del estándar de metil ésteres de ácidos grasos...90	90
Anexo N°2.-Esquema de la encuesta.....93	93
Anexo N°3.-Método cromatográfico utilizado para la determinación de perfil de ácidos grasos.....94	94
Anexo N°4.-Curvas de calibración para ésteres metílicos de ácidos grasos.....99	99
Anexo N°5.-Cromatogramas de las muestras analizadas.....117	117
Anexo N°6.- Fotografías del tratamiento de las muestras para su análisis. ....126	126

## RESUMEN

Las grasas y aceites constituyen una clase de compuestos orgánicos de importancia biológica, llamados lípidos. Los lípidos representan una fuente extraordinaria de energía al cuerpo, además son constituyentes esenciales de prácticamente todas las células animales y vegetales. Sin embargo, la ingesta excesiva de lípidos puede desencadenar problemas de salud como hipercolesterolemia, accidentes cardio y cerebrovasculares, entre otros. Por esta razón, se realiza el presente estudio sobre la calidad de la grasa contenida en alimentos locales. En el presente trabajo se estudió el perfil de ácidos grasos de los embutidos y mayonesas más consumidos en el Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador. Se realizó una encuesta a 800 familias para averiguar los productos más consumidos; de los cuales, luego de ser homogenizados, se extrajo la grasa mediante el método de Folch utilizando cloroformo:metanol 2:1. Posteriormente, la grasa fue saponificada y se separó los ácidos grasos que mediante transesterificación, se analizaron por CG-FID (AOAC 996.06). Los resultados muestran que existe un contenido significativo de ácidos grasos saturados en los embutidos y mayonesas, situándose en alrededor del 15%. Además, las muestras analizadas tienen un contenido promedio de ácidos grasos insaturados de 22%, siendo más notables en jamón serrano y el paté de carne de cerdo y res que también poseen la mayor cantidad de ácidos grasos saturados, ambos con un contenido de alrededor de 44%. En general, ninguna de las muestras mantiene una relación  $\omega 6/\omega 3$  en concentraciones saludables, debido a que las cantidades de ácidos grasos de la familia  $\omega 3$  son bajas.

Palabras clave: perfil de ácidos grasos, cromatografía de gases, embutidos, mayonesas

## ABSTRACT

Fats and oils are a kind of organic compounds of biological importance, called lipids. Lipids represent a big source of energy to the body, they are also essential components of virtually all animal and plant cells. However, excessive lipid intake can trigger health problems such as high cholesterol, stroke accidents, among others. For this reason, this study is focused on the fat quality in local food; mainly the lipid profile of the most consumed sausages and mayonnaise products in the Metropolitan District of Quito, Ecuador. A survey was conducted to 800 families to find out the most consumed products, of which, after being homogenized, the fat is extracted by the Folch method using chloroform:methanol 2:1. Subsequently, the fat was saponified and the detached fatty acids through transesterification, were analyzed by GC-FID (AOAC 996.06). The results show that there is a significant content of saturated fatty acids in the sausage and mayonnaise, about 15%. In addition, the analyzed samples have an average content of unsaturated fatty acids of 22%, being more prominent in serrano ham and pork and beef meat pate, these also have the highest amount of saturated fatty acids, both containing around 44%. In general, none of the samples have a healthy  $\omega 6/\omega 3$  ratio, because the amounts of n -3 fatty acids of are low.

Key Words: fatty acids profile, gas chromatography, sausages, mayonnaise

## INTRODUCCIÓN

El perfil epidemiológico del Ecuador señala que las primeras causas de mortalidad general son las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). La transición alimentaria-nutricional, expuesta por cambios en los estilos de alimentación están precedidos de una amplia oferta de alimentos industrializados, listos para su consumo, ricos en sodio, grasas saturadas, colesterol, y la casi extinción de comidas elaborados en casa con productos tradicionales. Existe amplia información científica que vincula la ingesta de grasas saturadas con el aumento del colesterol plasmático cuyo exceso está relacionado innegablemente con la obstrucción de arterias (aterosclerosis) y la hipercolesterolemia que es un factor que contribuye significativamente al desarrollo de las denominadas cardiopatías isquémicas, y señala que el consumo de ácidos grasos trans (AGT) de origen industrial, provocan alteraciones del metabolismo de lípidos, inflamación vascular y desarrollo de enfermedades cardio y cerebro vasculares. La identificación del perfil de ácidos grasos en mayonesas y embutidos de mayor consumo de la población quiteña, permite disponer de orientaciones que mejoren la oferta de alimentos saludables y se constituya en un marco de referencia para que la empresa privada adopte líneas de promoción y venta de mejores productos, además permitirá al sector gubernamental de salud, el implementar el marco regulador y normativo que favorezca la disponibilidad de alimentos con grasas más saludables y contenido adecuado de colesterol.

Las grasas son nutrientes importantes dentro de una alimentación saludable y balanceada, se caracterizan por proporcionar buen sabor a las comidas y el más alto nivel de energía (9 Kcal/g de grasa), además de contribuir a la absorción de vitaminas liposolubles (A, E, D y K). En el organismo, las grasas cumplen varias funciones vitales: pueden almacenarse y proporcionar energía para satisfacer necesidades aún en condiciones

extremas como en estados de inanición, componentes estructurales de las membranas celulares, proveen protección a los órganos internos y contribuyen a mantener la temperatura corporal [1].

Existe una relación entre grasas alimenticias saturadas y enfermedades cardiovasculares. Esta relación se apoya en una amplia gama de pruebas acumuladas a partir de experimentos con animales, así como estudios de observación, clínicos y estudios metabólicos llevados a cabo en diversas poblaciones humanas. Además, está demostrado que las grasas saturadas son el componente dietético que más influye en los niveles de colesterol total en sangre y de colesterol-LDL. Las grasas insaturadas por su lado, tienen acción en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles, especialmente la enfermedad cardiovascular, a través de la reducción de los niveles de LDL y aparentemente elevando las concentraciones de lipoproteínas HDL. En este grupo se incluyen ácidos grasos que son nutrientes esenciales relacionados con el crecimiento y el desarrollo e implicados, no sólo en la maduración y el crecimiento cerebral y retiniano del niño, sino que intervienen en los procesos de inflamación, coagulación, presión arterial, órganos reproductivos y metabolismo graso [2]. Dada la suma importancia de la relación de ácidos grasos en los alimentos, en el presente trabajo de disertación se propone como objetivo el análisis de perfil de ácidos grasos en muestras de alimentos de mayor consumo en el Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador.

Los ácidos grasos esenciales de la familia  $\omega$ 3, entre ellos el docosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA), contribuyen en el desarrollo del sistema nervioso y la integridad visual fetal; por lo tanto la ingesta de grasas y aceites es importante para el buen funcionamiento del organismo.

El contenido de ácidos grasos en los alimentos varía según el tipo de producto, materia prima y la clase de procesamiento utilizado para elaborar dicho producto, por lo tanto se puede encontrar ácidos grasos saturados, insaturados, esenciales y trans. Por esta razón en varios países se han realizado estudios sobre el perfil de ácidos grasos de alimentos de mayor consumo en la población. Sin embargo en el Ecuador no existía información sobre el contenido de ácidos grasos en unos de los principales alimentos de consumo nacional como son los embutidos y las mayonesas.

Al tomar en cuenta lo mencionado, esta investigación se realiza en base a la importancia de conocer el contenido de ácidos grasos en alimentos ecuatorianos, ya que el consumo de alimentos que en su composición poseen mayor cantidad de grasas poco saludables conllevan al riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles como la obesidad, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, ciertos tipos de cáncer, entre otras. Además la investigación servirá para que la población pueda seleccionar mejor los alimentos evitando así, riesgos para la salud y aportando conocimiento acerca de la composición de ácidos grasos en dichos alimentos para proponer estrategias de consumo de alimentos con grasas más saludables.

Por otro lado, el estilo de vida ajetreado de las ciudades, sumado a la falta de conocimiento sobre los efectos perjudiciales a la salud que ocasionan grasas no saludables, generan un consumo en cantidades excesivas. Gracias a estos antecedentes, el objetivo de esta investigación consiste en determinar el perfil de ácidos grasos y ácidos grasos trans en embutidos y mayonesas de mayor consumo en el Distrito Metropolitano de Quito, para lo cual se desarrolló un estudio en el que se consultó a 800 madres de familia de niños en edad escolar entre 5 y 15 años de escuelas y colegios de la capital.

Para garantizar la representatividad de la muestra y evitar un sesgo, la encuesta se realizó en escuelas fiscales, municipales, fiscomisionales y privadas de la capital, abarcando todos los niveles económicos de la población en la muestra. El porcentaje de encuestados en cada instituto escolar de diferente categoría económica está planteado de acuerdo con la última Encuesta de Estratificación del Nivel Socioeconómico del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) realizada en el 2011. [3]

De acuerdo a la información proporcionada se estudiaron 15 variedades de embutidos: mortadela, salchicha, chorizo, jamón, morcilla, tocino y paté; y 2 variedades de mayonesas que se expenden en supermercados de la capital. Se escogieron los 3 productos de mayor consumo de cada variedad de alimentos y se determinó el perfil de ácidos grasos mediante cromatografía de gases usando el método AOAC 996.06.

Los datos del estudio señalan que en general el contenido de grasas en los productos denominados embutidos es moderado. También se puede observar que en las muestras de chorizos, salchicha longaniza, jamón serrano, paté de carne de cerdo y res, tocineta ahumada y morcilla de sangre, presentan un alto contenido de ácidos grasos saturados. Además se observa que en las muestras de mortadela corriente, salchicha longaniza, jamón sandwichero y paté de carne de cerdo y res, existe un alto porcentaje de grasas trans.

En conclusión, la mayor parte de los productos catalogados como embutidos tienen AGSaturados debido a su origen animal, sin embargo, existen también AGInsaturados debido a que éstos son propios de los productos, o por otro lado, son añadidos durante su formulación para otorgar propiedades específicas a los artículos como textura o

palatabilidad. En las mayonesas se observa que predominan los AGInsaturados, esto puede deberse a que se utilizan aceites vegetales en su preparación.

## ANTECEDENTES

El perfil de ácidos grasos de los alimentos y el contenido de ácidos grasos trans es un tema que va tomando más importancia debido a las implicaciones que tiene sobre la salud el consumo equilibrado de grasas en la alimentación. En primer lugar, es importante recalcar la procedencia de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, además de los ácidos grasos trans. En una de las publicaciones se señala que los ácidos grasos trans se producen ya sea por hidrogenación industrial o por biohidrogenación en el rumen de las vacas y las ovejas. Los ácidos grasos trans industriales reducen el colesterol HDL, elevan el colesterol LDL, por lo tanto aumentan el riesgo de enfermedad coronaria. Este artículo señala además que la información publicada sugiere que todos los ácidos grasos con un doble enlace en la configuración trans aumentan la relación de colesterol LDL a HDL en el plasma sanguíneo. [4]

Las grasas saturadas son un tipo de grasas que no poseen en la cadena carbonada ninguna insaturación, por lo que todos los enlaces entre los átomos de carbono son simples. Se encuentran principalmente en la grasa animal aunque también las hay en algunos productos vegetales. De estos ácidos grasos saturados, el más importante es el ácido palmítico debido a que este es el más abundante en las carnes, grasas lácteas y aceites vegetales (como el de coco y palma). Pero siendo el más abundante, es también uno de los menos saludables ya que es el que más aumenta los niveles de colesterol en la sangre.

Cuando las grasas saturadas son consumidas en exceso, estas se depositan en distintas partes del organismo, produciendo en primera instancia hipercolesterolemia y luego producen enfermedades como aterosclerosis, isquemia, hipertensión arterial, accidente cerebro vascular, infarto de miocardio, entre otras. Este efecto de subida de

colesterol varía según la longitud del ácido graso, la cantidad de colesterol que acompaña la dieta, además de los niveles previos de colesterolemia. Siendo los de cadena más larga como el ácido esteárico (18:0) el de menor efecto colesterolémico, mientras que el láurico (12:0), el mirístico (14:0) y el palmítico (16:0) tienen un mayor efecto.

Los ácidos grasos insaturados, son aquellos que en su cadena carbonada poseen uno o más dobles enlaces, lo que les da la propiedad de ser líquidos a temperatura ambiente y son conocidos como aceites. Dichos ácidos grasos pueden ser monoinsaturados y poliinsaturados, siendo estos últimos de las series  $\omega$  3 y  $\omega$  6. Estas grasas son beneficiosas para el cuerpo humano por reducir los niveles de colesterol asociado a la lipoproteína LDL, elevando también los niveles de lipoproteína HDL. Algunos de estos ácidos grasos insaturados son nutrientes esenciales, ya que el organismo no puede sintetizarlos por sí mismo, por lo tanto deben ser conseguidos mediante el consumo de alimentos ricos en este tipo de grasas. [5]

En un sentido, las grasas saturadas en la dieta son innecesarias. Todos los organismos, incluidos los humanos, son totalmente capaces de sintetizar los ácidos grasos saturados. En la ausencia de suficiente grasa de la dieta, el cuerpo es aparentemente capaz de sintetizar todos los ácidos grasos saturados que necesita.

La síntesis de ácidos grasos saturados es inhibida por la alimentación de una dieta alta en grasas, y la fragilidad de la membrana que resulta de la alimentación de una dieta baja en ácidos grasos saturados, es superada por la alimentación rica en grasa.

Las recomendaciones que la población disminuya su consumo de grasas saturadas se basa, no comprender el mecanismo, sino en años de evidencia observacional de que las grasas saturadas en la dieta general, aumentan las concentraciones de colesterol en la

sangre en los animales y los seres humanos. Esta alteración de los factores de riesgo no necesariamente conduce a un aumento en las enfermedades del corazón y ciertamente no es una verdad universal en todas las poblaciones estudiadas. Algunos estudios de las poblaciones humanas que evalúan los efectos de las dietas ricas en grasas saturadas no muestran la elevación prevista en la enfermedad cardíaca, de hecho, algunos estudios ven el efecto contrario. Además, la grasa saturada ha mostrado ser necesaria para algunos procesos vitales. Por ejemplo, los ácidos grasos saturados parecen ser esenciales para el recién nacido, el joven y durante el crecimiento rápido, ya que se requieren para la síntesis de membranas y lipoproteína. [6]

En México D.F. se desarrolló un estudio en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición de la Escuela de Ciencias Químicas de la Universidad La Salle, que tuvo como propósito evaluar el perfil de ácidos grasos de pescados marinos con especial énfasis en sus ácidos grasos  $\omega 3$  como componentes nutricionales. En dicha investigación se concluye, que de las especies analizadas, los pescados óseos, grasos y pelágicos presentaron un contenido mayor de EPA y DHA, independientemente de su distribución general y geográfica. Por otro lado y dada la cantidad de EPA y DHA cuantificada, el 44% de las especies analizadas se pueden considerar como alimentos funcionales, ya que éstas se encontraron en los intervalos de las recomendaciones mundiales dadas por diferentes países. [7]

La ingesta de grasas durante los primeros años de vida es fundamental, no solo para cubrir las necesidades energéticas sino también como fuente de ácidos grasos esenciales y como vehículo de las vitaminas liposolubles, cuya absorción favorecen. En otro estudio, se destaca la importancia de las grasas en la alimentación del lactante, no solo cuantitativa, para asegurar la ingesta energética adecuada, sino también cualitativa, ya que el perfil de

ácidos grasos en la dieta se refleja en los tejidos del niño en crecimiento, particularmente en el sistema nervioso. Además en el mismo estudio también recalca la importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en el desarrollo neurológico, refiriéndose principalmente al EPA y al DHA; por otra parte, un aporte balanceado de ácidos grasos  $\omega$  6 y  $\omega$  3 es importante para lograr una síntesis equilibrada de eicosanoides así como para que cumplan con sus funciones específicas. [8]

En Sevilla, España se llevó a cabo otro estudio por el Área de Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia del Instituto de la Grasa cuyo propósito fue determinar el contenido de ácidos grasos trans en algunos alimentos, entre ellos carnes y productos cárnicos. Se determinó que en dichos productos cárnicos la cantidad de grasa total y ácidos grasos trans es muy variable debido al tipo de carne utilizada y del animal del cual proviene. La variabilidad observada se debe a los distintos productos analizados (salchichas, jamón, chorizo, etc.), y a que el contenido lipídico en la carne de cerdo y vaca es variable, siendo menor el contenido en trans cuanto más proporción de la primera de éstas tenga el embutido. Así, los productos que proceden de carne de ganado vacuno, tienen una elevada cantidad de ácidos grasos trans (4,40%), mientras que los productos donde prima la carne de ganado porcino tienen poca cantidad de dichos isómeros (0,21%-0,67%). En cuanto a los diferentes ácidos grasos trans, el detectado en general como mayoritario es el C18:1t, el segundo en cantidad es el C18:2t, y el tercero el C16:1t. En las carnes los ácidos grasos trans se encuentran en cantidades variables que oscilan desde 0,20% en carne de cerdo, hasta 21,30% en carne de vaca (tejido adiposo). Principalmente se forman isómeros monoenoicos del C18, siendo el más abundante el C18:1-11t (vaccénico), aunque también se forman cantidades de isómeros trans de C16:1 y C18:2. La cantidad de ácidos grasos trans en la carne de los animales no rumiantes es generalmente baja y depende de la presencia de dichos ácidos grasos en los alimentos que ingiere el

animal. En general, la mayor cantidad de estos ácidos grasos trans se encuentra en el tejido adiposo del animal. [9]

En el Ecuador, en octubre del 2008, se realizó en la ciudad de Quito el “Primer taller internacional para la reducción del consumo de grasas trans: retos y oportunidades”. En dicho taller participaron científicos internacionales; entre ellos representantes de la Escuela de Salud Pública de Harvard, del Ministerio de salud de Canadá, del Instituto costarricense de investigación y enseñanza en nutrición y salud (INCIENSA) y de la Universidad Nacional de la Plata de Argentina; además representantes de la industria alimentaria, funcionarios del gobierno ecuatoriano y universidades nacionales. Aquí se elaboró un acuerdo ministerial para la reducción de ácidos grasos saturados, trans y la promoción del consumo de grasas insaturadas de configuración cis. Este acuerdo ministerial constituye un gran avance y la pauta para dar inicio a estrategias que logren reducir el consumo y la producción de grasas trans y ácidos grasos saturados.

## JUSTIFICACIÓN

El objeto de la presente investigación consiste en conocer el perfil de ácidos grasos y contenido de ácidos grasos trans en embutidos y mayonesas de mayor consumo. Es bien conocido que una ingesta excesiva de grasas en la alimentación ocasiona diversos problemas de salud, por lo tanto es fundamental conocer la cantidad de lípidos y el tipo de ácidos grasos que poseen ciertos alimentos que consume la población como punto inicial para empezar a regular e incentivar un balance de ácidos grasos saludables. La identificación de los productos que contienen altas concentraciones de ácidos grasos saturados permite que los consumidores orienten de mejor manera la adquisición de los alimentos y se convierta en instrumento para exigir a la empresa una oferta más apropiada de sus productos.

En cuanto a la relevancia profesional, esta investigación permite investigar un tema cada vez más importante a nivel mundial debido al incremento del consumo de alimentos que contienen ácidos grasos saturados y trans. Por lo tanto dicha investigación permitirá la difusión del tema a diversos niveles: individual, familiar, comunitario, y hacia entidades públicas y privadas sobre la existencia de este tipo de grasas en los alimentos ecuatorianos; lo que permitiría un acceso a alimentos más saludables.

Consecuente a lo mencionado, y teniendo en cuenta que el alto consumo de grasas incrementa las posibilidades de desarrollar enfermedades cardio-cerebrovasculares y otras patologías asociadas, se considera de suma importancia la realización de la presente investigación. Adicionalmente, no se ha llevado el estudio de perfil de ácidos grasos en dichas matrices en el país, razón que vuelve imprescindible la realización del presente trabajo.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuál es el perfil de ácidos grasos de los embutidos y mayonesas de mayor consumo en el Distrito Metropolitano de Quito, primordialmente el contenido de ácidos grasos saturados y ácidos grasos trans, cuya ingesta produciría efectos nocivos en la salud de la población?

### **OBJETIVO GENERAL:**

Determinar el perfil de ácidos grasos presente en tres embutidos y mayonesas más consumidos en el Distrito Metropolitano de Quito por Cromatografía de Gases con detector FID.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar el tipo, la marca y el lugar de compra de embutidos y mayonesas más consumidos dentro del perímetro del Distrito Metropolitano de Quito mediante la aplicación de encuestas a una muestra representativa de la población de la capital.
- Estandarizar el método de Cromatografía de Gases (gas-líquido), con columna capilar y detector FID para el análisis de metilésteres de ácidos grasos, tomando en cuenta los parámetros de linealidad del método.
- Cuantificar los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, incluidos los ácidos grasos cis y trans, en los embutidos y mayonesas más consumidos, mediante cromatografía de gases con detector FID y columna capilar.

# CAPÍTULO I

## MARCO DE REFERENCIA

### 1.1. Lípidos

El término lípido se refiere a cualquier sustancia apolar que se encuentra en la naturaleza y que es casi o totalmente insoluble en agua, pero es soluble en los solventes lipídicos apolares, tales como cloroformo, disulfuro de carbono, éter y etanol caliente. Siendo esta una definición general, abarca el carácter fisicoquímico de los lípidos, su naturaleza apolar, característica que es base de la función biológica de los lípidos. [10]

#### 1.1.1. Funciones

##### 1.1.1.1. Función de fuente y reserva energética

Los ácidos grasos se almacenan como triglicéridos en el tejido adiposo, por lo que representan una buena reserva de energía en momentos de escasez, debido a que cuantitativamente representan la reserva energética más significativa de los animales.

Las grasas neutras se almacenan en células especializadas llamadas adipocitos, donde, según necesidad, estas células vuelven a liberar ácidos grasos que posteriormente se oxidan en las mitocondrias y generan agua y dióxido de carbono, consumiendo oxígeno. Durante este proceso se forman coenzimas reducidas que se usan para producción de ATP en la cadena respiratoria. [11]

### **1.1.1.2.Función estructural**

Los lípidos compuestos, fosfolípidos, glucolípidos, al igual que el colesterol, por sus propiedades anfipáticas, son componentes primordiales de la membrana celular. También algunos fosfolípidos desempeñan funciones importantes para ciertos tejidos. Las grasas son débilmente anfipáticas y por lo tanto no resultan apropiadas como componentes de las membranas. [12]

Como integrantes principales de la membrana celular los lípidos sirven para el aislamiento mecánico y eléctrico de la célula ante el medio externo. La impermeabilidad de las membranas lipídicas a los iones permite la formación del potencial eléctrico de la membrana. [13]

### **1.1.1.3.Función reguladora**

Ciertos lípidos desempeñan funciones especiales en el organismo. Por ejemplo, los esteroides, los eicosanoides y algunos metabolitos de los fosfolípidos funcionan como señales en el cuerpo que actúan como hormonas, mediadores y segundos mensajeros.

Otros lípidos se emplean como anclas para fijar proteínas a las membranas. Algunos otros son cofactores en las reacciones enzimáticas, por ejemplo la vitamina K o la ubiquinona. Como lípido fotosensible el carotenoide retinal desempeña un papel central en el proceso de la visión. [14]

## **1.1.2. Clasificación de los lípidos que contienen ácidos grasos**

Según Bohinski (1998), los lípidos con ácidos grasos pueden clasificarse en dos grandes grupos: los lípidos simples que incluyen acilgliceroles y ceras; y los lípidos compuestos de los cuales forman parte los fosfoacilglicéridos, esfingomielinas, cerebrósidos y gangliósidos.

### **1.1.2.1. Lípidos Simples**

#### **1.1.2.1.1. Acilgliceroles**

Llamados comúnmente glicéridos, son ésteres de un ácido graso y del trihidroxialcohol, glicerol. Según el número de los grupos hidroxilos esterificados, tenemos a los monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles. La especie triacilo es la más abundante en la naturaleza. [15]

En todo caso, un acilglicérido no tiene grupos funcionales iónicos y por lo tanto se dice que son lípidos neutros.

#### **1.1.2.1.2. Ceras**

Las ceras son ésteres sólidos de los ácidos grasos de cadena larga con alcoholes grasos monohidroxílicos o con esteroides y son insolubles en agua. Cuando se calientan son blandas y moldeables, pero en frío son duras.

Las ceras forman cubiertas protectoras de la piel, pelo y plumas de los animales superiores, y de las hojas y frutos de las plantas, así como el exoesqueleto de muchos insectos. [16]

### **1.1.2.2.Lípidos complejos**

#### **1.1.2.2.1. Fosfolípidos**

Los fosfolípidos o también llamados gliceril-fosfátidos, son componentes principales característicos de las membranas celulares; solamente son cantidades muy pequeñas de fosfoglicéridos las presentes en otras localizaciones de la célula.

En los fosfoglicéridos uno de los grupos hidroxilo primario de la glicerina se halla esterificado por el ácido fosfórico; los demás grupos hidroxilo lo son por ácidos grasos. El compuesto originario de la serie es, por tanto, el éster fosfórico de la glicerina.

Debido a que los fosfoglicéridos poseen una cabeza polar, además de sus colas hidrocarbonadas no polares, reciben el nombre de lípidos anfipáticos o polares. [17]

#### **1.1.2.2.2. Esfingolípidos**

Los esfingolípidos son lípidos complejos cuyo esqueleto está constituido por la esfingosina o una base relacionada, son componentes importantes de las membranas de las células vegetales y animales. Se hallan presentes en cantidades especialmente grandes en los tejidos nervioso y cerebral.

Todos los esfingolípidos contienen tres componentes básicos característicos: una molécula de esfingosina (o alguno de sus derivados) y un grupo de cabeza polar, el cual en algunos esfingolípidos es muy grande y complejo. [18]

A continuación se detallan los diferentes tipos de esfingolípidos.

#### **1.1.2.2.2.1.Esfingomielinas**

Son los esfingolípidos más abundantes en los tejidos de los animales superiores. Contienen fosforil-etanolamina o fosforil-colina como grupo de cabeza polar esterificados al grupo hidroxilo 1 de la ceramida. [19]

#### **1.1.2.2.2.2.Cerebrósidos**

Contienen como grupo de cabeza polar un monosacárido unido mediante enlace  $\beta$ -glucosídico al grupo hidroxilo de la ceramida. Los cerebrósidos del cerebro y del sistema nervioso, contienen D-galactosa y por ello reciben el nombre de galactocerebrósidos. [20]

#### **1.1.2.2.2.3.Gangliósidos**

Son el grupo de esfingolípidos más complejos, en sus grupos de cabeza polisacáridos contienen uno o más restos de ácido siálico, lo cual confiere a la cabeza polar de estos una carga negativa neta a pH 7,0.

El ácido siálico que se encuentra habitualmente en los gangliósidos humanos es el ácido N-acetilneuramínico. Los gangliósidos son más abundantes en la materia gris del cerebro donde constituye el 6% de los lípidos totales, pero también se encuentran en tejidos nerviosos. [21]

### **1.2. Ácidos grasos**

Aunque los ácidos grasos se encuentran en cantidades muy grandes como componentes fundamentales de los lípidos saponificables, en las células y los tejidos, en estado libre aparecen solo en trazas. [22]

### 1.2.1. Estructura

Químicamente, los ácidos grasos son ácidos carboxílicos de cadena alifática larga. La mayoría son ácidos monocarboxílicos con un número par de átomos de carbono generalmente en el rango de C12 – C22, aunque predominan los de 16 a 18 átomos de carbono.

La cadena hidrocarbonada, puede ser saturada como el ácido palmítico, o puede tener uno o más dobles enlaces, como ocurre en el ácido oléico. [23]

### 1.2.2. Nomenclatura

Los ácidos grasos difieren entre sí, en primer lugar, por la longitud de su cadena, y también por el número y la posición de sus dobles enlaces.

A menudo se simbolizan con una notación taquigráfica que indica la longitud de la cadena carbonada y el número, posición y configuración de los dobles enlaces. Así el ácido palmítico (saturado, de 16 carbonos) se representa por 16:0 y el ácido oléico (de 18 carbonos y un doble enlace *cis* entre los carbonos 9 y 10) se representa simbólicamente por 18:1 $\omega$ 9 ( $\omega$  indicando el número de carbonos desde la última insaturación hasta el final de la cadena) o 18:1 $\Delta$ 9 ( $\Delta$  indicando la posición del doble enlace en la cadena); se entenderá que los dobles enlaces son *cis* a menos que se indique lo contrario. [24]

### 1.2.3. Propiedades

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 finito de conformaciones, porque cada uno de los enlaces

sencillos del esqueleto carbonado posee una completa libertad de rotación. Por otra parte, los ácidos grasos insaturados presentan uno o más quiebres rígidos en sus cadenas hidrocarbonadas, originados por la incapacidad de rotación de enlace doble. La configuración *cis* de los dobles enlaces produce un ángulo de 30° en la cadena alifática mientras que la configuración *trans*, menos probable, se parece a la forma extendida de las cadenas saturadas. [25]

### **1.2.3.1. Propiedades físicas**

El punto de fusión de los ácidos grasos, depende de la longitud de la cadena carbonada y de la presencia y naturaleza de los dobles enlaces en dicha cadena. Tomando en cuenta lo mencionado anteriormente acerca del doblez en la cadena hidrocarbonada de un ácido graso *cis*; es lógico esperar que, a una misma longitud de cadena, el ácido graso *cis* tenga un menor punto de fusión que su contraparte *trans* o su análogo saturado debido a que dicho doblez en la cadena inhibe el ordenamiento de las moléculas al momento de disminuir la temperatura; es por ésta razón que los ácidos grasos mono y poliinsaturados se presentan, generalmente, en estado líquido.

Hablando de densidad, todos los ácidos grasos son menos densos que el agua.

### **1.2.3.2. Propiedades químicas**

Las formas *cis* de los ácidos grasos no saturados pueden convertirse en las formas *trans* por calefacción con algunos catalizadores. De este modo, el ácido oléico puede convertirse fácilmente en su isómero *trans*, el ácido elaídico, que posee un punto de fusión mucho más elevado.

Los ácidos grasos insaturados experimentan reacciones de adición a sus dobles enlaces. La valoración cuantitativa con halógenos, por ejemplo con yodo o con bromo, puede proporcionar información sobre el número de enlaces dobles de una muestra determinada de ácidos grasos o lípidos. [26]

#### **1.2.4. Grado de saturación**

Como se ha mencionado anteriormente, los ácidos grasos pueden existir de manera natural de forma que carezcan de enlaces dobles (saturados), que presenten un enlace doble (monoinsaturados), o varios dobles enlaces (poliinsaturados). A continuación se detallan brevemente.

##### **1.2.4.1. Ácidos grasos saturados**

Los ácidos grasos saturados están presentes en su mayoría en la grasa sólida, debido a que su punto de fusión es mayor que la temperatura ambiente; predominan entre ellos, el ácido palmítico (16:0) y el ácido esteárico (18:0). Dichos ácidos grasos son comúnmente encontrados en la grasa animal.

##### **1.2.4.2. Ácidos grasos insaturados**

Los ácidos grasos insaturados predominan sobre los saturados, especialmente en plantas superiores y en los animales que viven a temperaturas bajas. Entre dichos ácidos grasos predominan los de 18 átomos de carbono.

Poseen puntos de fusión más bajos que los ácidos grasos saturados de una misma longitud de cadena.

Los dobles enlaces de casi todas las clases de ácidos grasos insaturados que se encuentran en la naturaleza aparecen en configuración geométrica *cis*, y hay muy pocos que posean la configuración *trans*. [27]

Existen varias clases de ácidos grasos insaturados. Se clasifican por el número de dobles enlaces en monoinsaturados y poliinsaturados, y por la naturaleza del doble enlace en ellos como *cis* y *trans*. A continuación se detallan los ácidos grasos mencionados.

#### **1.2.4.2.1. Ácidos grasos monoinsaturados**

La mayor parte de los ácidos grasos insaturados en organismos superiores la conforman los monoinsaturados, en donde predomina la locación del doble enlace entre los átomos de carbono 9 y 10. [28]

#### **1.2.4.2.2. Ácidos grasos poliinsaturados**

En la mayoría de los ácidos grasos poliinsaturados, uno de los dobles enlaces se halla entre los átomos de carbono 9 y 10; los dobles enlaces adicionales están situados, generalmente, entre el doble enlace 9, 10 y el extremo metilo-terminal de la cadena.

En la mayor parte de tipos de ácidos grasos poliinsaturados, los dobles enlaces se hallan separados por un grupo metileno, por ejemplo  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ ; solamente en unos pocos tipos de ácidos grasos vegetales se encuentran dobles enlaces conjugados; es decir,  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ . [29]

### 1.2.4.3. Ácidos grasos esenciales

El ser humano no puede sintetizar algunos lípidos de modo que debe incluirlos en la alimentación como nutrientes indispensables sea en la forma de ácidos grasos esenciales o como vitaminas liposolubles. [30]

El ácido graso esencial más abundante en los mamíferos es el ácido linoleico que integra del 10 al 20% de los ácidos grasos totales de sus triacilglicéridos y fosfoglicéridos. Los ácidos linoleico y  $\gamma$ -linolénico no pueden ser sintetizados por los mamíferos. Sino que tienen que obtenerlos de fuentes vegetales, donde son muy abundantes. El ácido linoleico es un precursor necesario en los mamíferos para la biosíntesis del ácido araquidónico, que no se encuentra en las plantas.

Aunque las funciones específicas de los ácidos grasos esenciales no han sido descubiertas en su totalidad, se sabe que son precursores necesarios en la biosíntesis de un grupo de derivados de los ácidos grasos llamados prostaglandinas, compuestos de función análoga a las de las hormonas que, en cantidades mínimas o trazas ejercen profundos efectos sobre cierto número de actividades fisiológicas importantes. [31]

Los ácidos grasos de cadena muy larga como el EPA (eicosapentaenoico) y el DHA (docosahexaenoico)  $\omega 3$  y el araquidónico  $\omega 6$  son precursores de compuestos biológicamente activos denominados eicosanoides: las prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos, importantes reguladores de funciones vitales como la presión y la coagulación sanguínea, las respuestas inmune e inflamatoria y las secreciones gástricas. [32]

#### **1.2.4.4. Ácidos grasos trans**

Los ácidos grasos trans son ácidos grasos insaturados que contienen por lo menos un doble enlace. Los dos átomos de hidrógeno de dicho enlace se localizan a los lados opuestos de éste y no al mismo lado como en la configuración cis del ácido monoinsaturado oleico y de los ácidos grasos poliinsaturados.

Los ácidos grasos trans se hallan en forma natural en algunos alimentos, como en la grasa de la carne y en las grasas que se obtienen especialmente de los aceites vegetales sometidos al proceso de hidrogenación, como las margarinas y mantecas.

La hidrogenación de los aceites conlleva a que los dobles enlaces tanto cis como trans, en cualquier lugar entre los carbonos 4 y 16, cambien su isomería geométrica de cis a trans o viceversa.

Uno de los principales ácidos grasos trans producido por hidrogenación es el eláidico (18:1 $\Delta$ 9t), un isómero del ácido oleico; se pueden producir también pequeñas cantidades de otros ácidos grasos como el 9 trans, 12 cis 18:2.

En general, muchas preparaciones de alimentos y comidas rápidas contienen ácidos grasos trans, porque utilizan en la preparación aceites parcialmente hidrogenados.

En las últimas décadas ha surgido la preocupación por el consumo de los ácidos grasos trans y el riesgo de la enfermedad cardiovascular. En diversas investigaciones, se afirma que estos ácidos grasos son un riesgo para la salud arterial y coronaria. Aunque son insaturados, pierden en el organismo los beneficios de la insaturación, pues estos ácidos tienen una configuración estructural rígida y al adherirse a las membranas de las células le

dan menor flexibilidad y alteran la capacidad de los receptores de la membrana plasmática para clarificar el colesterol plasmático.

Por todo lo mencionado, la industria de alimentos de muchos países está produciendo margarinas libres o con menor contenido de ácidos grasos trans. La FDA ya reconoce el riesgo para la salud de los ácidos grasos trans y ha recomendado incluir información al respecto en la etiqueta o rótulo del producto. [33]

#### **1.2.4.5.Principales ácidos grasos**

En la siguiente tabla, se detallan los principales ácidos grasos y su lugar de procedencia:

**Tabla 1.1. Principales ácidos grasos**

<b>Número de átomos carbono</b>	<b>Nombre común del ácido graso</b>	<b>Denominación</b>	<b>Alimentos de procedencia</b>
4	Butírico	C4:0	Mantequilla
6	Caprónico	C6:0	Grasas y aceites animales
8	Caprílico	C8:0	Aceite de palma y coco, leche de mamíferos
10	Cáprico	C10:0	Aceite de coco y palmiste
12	Láurico	C12:0	Aceite de palmiste y coco, leche materna, de vaca y cabra
14	Mirístico	C14:0	Nuez moscada, aceite de palma, esperma de ballena
16	Palmítico	C16:0	Carnes, grasas lácteas, aceite de palma y coco
	Palmitoleico	C16:1 $\Delta$ 9c	Aceite de nuez de macadamia y espino marino
18	Esteárico	C18:0	Grasa animal
	Oléico	C18:1 $\Delta$ 9c	Aceite de oliva, aguacate y de semilla de uva
	Elaídico	C18:1 $\Delta$ 9t	Aceite de oliva
	Linoleico	C18:2 $\Delta$ 9c,12c	Aceite de linaza y oliva
	Linolénico	C18:3 $\Delta$ 9c,12c,15c	Aceites vegetales
20	Araquídico	C20:0	Maní
	Araquidónico	C20:4 $\Delta$ 5c,8c,11c,14c	Formado por síntesis del ácido Linoleico
	Eicosapentaenoico (EPA)	C20:5 $\Delta$ 5c,8c,11c,14c,17c	Aceites de pescados: de hígado de bacalao, arenques, verdel, salmón, sardinas y sábalos; leche materna, spirulina y microalgas
22	Behénico	C22:0	Aceite de behen, colza y maní
	Erúcico	C22:1 $\Delta$ 13c	Aceite de colza, crambe y mostaza
	Docosahexaenoico (DHA)	C22:6 $\Delta$ 4c,7c,10c,13c,16c,19c	Peces, microalgas

Tomado de PubChem Compounds: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>

### **1.3. Estandarización del método**

#### **1.3.1. Linealidad y rango**

La linealidad de un método analítico es su capacidad para proporcionar resultados que sean, directamente o mediante transformación matemática, proporcionales a la concentración de analito presente en la muestra dentro de un rango determinado.

La linealidad de un método analítico se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis de disoluciones patrón con diferentes concentraciones conocidas del analito incluidas en el rango.

El rango de un método analítico puede definirse como intervalo de concentraciones, incluyendo la más baja y la más alta, en el cual se pueden realizar determinaciones del analito con adecuada precisión exactitud y linealidad. Está definido como el intervalo de concentración entre el límite de cuantificación hasta la concentración en la cual se pierde la linealidad de la curva. [34]

Un  $R^2=1$  indica una relación lineal perfecta entre las variables X y Y, y todos los puntos observados están sobre la recta de regresión. La verificación del comportamiento de un analito mediante una curva de calibración requiere un mínimo de cinco puntos para un intervalo de confianza del 95% y de ocho puntos para uno del 99%. Como criterio de aceptación de la linealidad a partir de la curva de calibración (conjunto de concentraciones que describen el intervalo en el cual se deberá cuantificar el compuesto por analizar) se considera  $R^2>0.98$ . [35]

### 1.3.2. Precisión

El término precisión representa la probabilidad de que los resultados sucesivos caigan dentro de un intervalo estrecho de valores centrado alrededor del valor medio.

Este valor medio puede diferir apreciablemente del valor verdadero, esto es, puede existir un error constante, positivo o negativo, en el método de estudio.

La precisión del procedimiento analítico puede estimarse calculando la desviación estándar, cuadrática media o típica  $s$ . [36] A continuación se muestra la fórmula para calcular la desviación estándar. Donde  $X_i$  es el valor de una muestra,  $\bar{X}$  es el valor promedio y  $n$  el número de determinaciones.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}{n}} \quad (1.1.)$$

### 1.3.3. Exactitud

El objetivo de toda determinación cuantitativa es obtener resultados experimentales que se aproximen grandemente a la composición más probable de la muestra. Aun siendo imposible dar la composición de una muestra compleja con una certidumbre del cien por ciento, se puede obtener una aproximación por medio de análisis repetidos de la misma muestra.

Con frecuencia se utilizan patrones para comprobar la fiabilidad de las técnicas empleadas en el análisis, y la diferencia entre el resultado obtenido y el contenido

verdadero del patrón se toma como medida de exactitud de la técnica que se estudia. Dado que la exactitud aparente varía de una determinación a otra, dado que existe un intervalo de valores dentro del que se distribuyen los resultados, se suele expresar la exactitud como la probabilidad de que el resultado quede comprendido entre ciertos límites. [37]

La exactitud se expresa en forma de porcentaje del contenido real total del componente estudiado. Esto es:

$$\text{Exactitud } \% = \pm 100 \times \frac{(\text{Resultado verdadero} - \text{Media experimental})}{\text{Resultado verdadero}} \quad (1.2)$$

#### **1.3.4. Límite de detección y límite de cuantificación**

El límite de detección (LOD) se puede definir como la concentración más baja de analito presente en una muestra que puede ser detectable, pero no necesariamente cuantificable, en las condiciones experimentales de trabajo.

El límite de cuantificación (LOQ) se puede definir como la concentración más baja de analito presente en una muestra que puede ser determinada con una precisión y exactitud aceptable en las condiciones experimentales de trabajo.

Ambos se expresan normalmente en términos de concentración de analito en la muestra y, en un método instrumental se pueden determinar de varias formas. En algunos casos se determinan como la relación señal/ruido obtenida entre resultados de muestras con concentraciones conocidas de analito y resultados obtenidos en muestras blanco y se establece que el LOD es la concentración que proporciona una relación señal/ruido de 2 o 3 y el LOQ es la concentración que proporciona una relación señal/ruido de 10. En otros casos,

se estima a través de la desviación estándar obtenida de la medida del ruido en una serie de muestras blanco, de manera que la señal del blanco más su desviación estándar multiplicada por un factor de 3 proporciona una estimación de la señal mínima detectable y multiplicada por un factor de 10 proporciona una estimación de la señal mínima cuantificable. [38] Estos factores de multiplicación de la señal del blanco han sido fijados a un nivel de confianza del 99%. [39]

### **1.3.5. Sensibilidad**

La sensibilidad de un instrumento se define como la constante de cambio en la respuesta del instrumento al cambiar el correspondiente estímulo: concentración, temperatura, masa, etc.

Mientras que la sensibilidad de un método analítico es como la pendiente de la curva de calibración, ya que ésta define la constante de cambio de la propiedad medida por unidad de concentración. [40]

### **1.3.6. Índice de Horwitz**

El índice de Horwitz una expresión para predecir el valor esperado para la desviación estándar relativa para la precisión intermedia (o interlaboratorio) a partir de la concentración de analito,  $c$  (en tanto por 1).

$$RSD_H = 2^{(1-0.5 \log c)} \quad (1.3)$$

El valor de RSD obtenido se compara con el predicho por Horwitz ( $RSD_H$ ) mediante el parámetro Horrat.

$$Horrat = \frac{RSD_R}{RSD_H} \quad (1.4)$$

Si el valor del parámetro Horrat es igual o menor a 2 se puede decir que el método tiene valores aceptables de precisión intermedia. [41]

#### **1.4. Cromatografía de gases**

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos, que permite separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas, lo que en muchas ocasiones resulta imposible por otros medios. En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se desplaza con una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar por una fase estacionaria que se fija a una columna o superficie sólida. La separación de los componentes de la mezcla en la fase estacionaria depende de la retención de éstos al momento de ser desplazados por la fase móvil. Como consecuencia, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativamente y/o cuantitativamente.

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte. A diferencia de la mayoría de métodos cromatográficos, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito, su única función es la de transportar el analito a través de la columna. [42]

### **1.4.1. Ventajas**

La cromatografía de gases resulta una herramienta de separación muy eficaz; en este sentido, resulta inmejorable cuando se aplica a muestras orgánicas complejas, a organometálicos y a sistemas bioquímicos que sean especies volátiles o especies que pueden derivatizarse para dar sustancias volátiles.

Además, proporciona un medio para llevar a cabo un análisis; en este caso se emplean los tiempos de retención o los volúmenes de retención para la identificación cualitativa, mientras que la altura de los picos o sus áreas dan información cuantitativa.

[43]

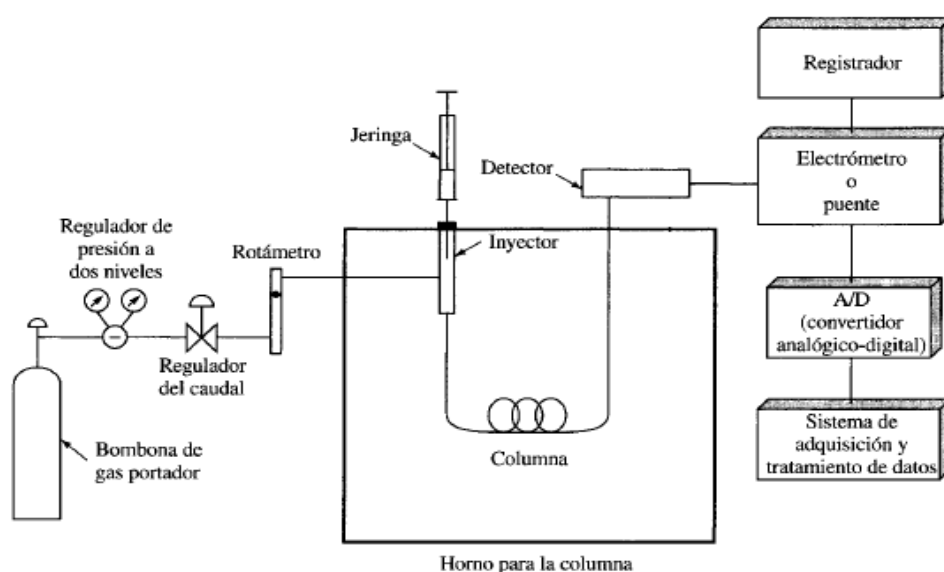
Adicionalmente, se debe recalcar la versatilidad y especificidad de los métodos cromatográficos y sus columnas. En específico, el método de análisis de metil ésteres de ácidos grasos, cuenta con una columna para esta aplicación específica que es capaz de separar, en los ácidos grasos saturados, los de menor peso molecular más volátiles de los de cadena más larga que salen de la columna después; y en los ácidos grasos insaturados, los isómeros trans que poseen menos polaridad que sus análogos cis, que salen después.

### **1.4.2. Limitaciones**

Con fines cualitativos, la cromatografía de gases es una técnica mucho más limitada que la mayoría de los métodos espectroscópicos. En consecuencia, una tendencia importante en este campo ha consistido en la combinación de las notables cualidades del fraccionamiento de esta técnica cromatográfica con las mejores propiedades para la identificación que proporcionan algunos instrumentos como los espectrómetros de masas, de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear. [44]

### 1.4.3. Instrumentos de cromatografía de gases

Actualmente, más de 30 fabricantes de instrumentos ofrecen unos 130 modelos distintos de equipos para cromatografía de gases. En las últimas décadas, los instrumentos de cromatografía de gases que han aparecido en el mercado presentan muchos cambios y mejoras. [45] A continuación se muestra una representación esquemática de un cromatógrafo de gases.



**Figura 1.1. Representación esquemática de un cromatógrafo de gases**

Tomado de Skoog D., 2001

#### 1.4.3.1. Gas portador

Entre los gases portadores, que deben ser químicamente inertes, se encuentran el helio, el nitrógeno y el hidrógeno. Sin embargo, la elección de los gases está con frecuencia determinada por el tipo de detector que se utiliza.

Con el suministro de gas se encuentran asociados los reguladores de presión, manómetros y medidores de caudal. Además el sistema de gas portador contiene a menudo un tamiz molecular para eliminar agua y otras impurezas. [46]

#### **1.4.3.2.Sistema de inyección de muestra**

La eficacia de la columna requiere que la muestra sea de un tamaño adecuado y que sea introducida rápidamente; la inyección lenta de muestras demasiado grandes provoca un ensanchamiento de las bandas y una pobre resolución. El método más común de inyección de muestra implica el uso de una microjeringa para inyectar una muestra líquida o gaseosa a través de un diafragma o septum, en una cámara de vaporización instantánea situada en la cabeza de la columna.

Las columnas analíticas ordinarias requieren de un tamaño de muestra que varía de unas pocas décimas de microlitro a 20  $\mu\text{L}$ . Sin embargo las columnas capilares exigen muestras mucho menores (alrededor de  $10^{-3}$   $\mu\text{L}$ ); en estos casos se emplea un sistema divisor de la muestra que permite pasar a la cabeza de la columna solamente una pequeña fracción de la muestra, desechando el resto. [47]

Actualmente se disponen de sistemas de inyección automáticos que minimizan el error producido por una inyección lenta, además de dispensar una cantidad más exacta.

#### **1.4.3.3.Columna y horno**

En cromatografía de gases se usan dos tipos generales de columnas, las empacadas y las abiertas o capilares. Actualmente las columnas empacadas han sido sustituidas gradualmente por las columnas capilares debido a que éstas son más eficaces y rápidas.

Las columnas cromatográficas varían desde menos de 2 hasta 50 m de longitud o más. Están construidas con acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o teflón. A fin de poder colocarse en el interior de un horno termostatzado.

La temperatura de la columna es una variable importante que para un trabajo preciso ha de regularse a las décimas de grado, por ello la columna se introduce dentro de un horno de temperatura controlada. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de la muestra y el grado de separación requerido. A menudo es conveniente emplear una programación de temperatura, con lo que se aumenta la temperatura de la columna bien sea de forma continua o por etapas, donde al mismo tiempo se tiene lugar la separación. [48]

#### **1.4.3.4. Sistemas de detección**

Durante el desarrollo de la cromatografía de gases se han investigado y utilizado docenas de detectores. A continuación se detalla el detector de ionización de llama, uno de los utilizados más frecuentemente.

##### **1.4.3.4.1. Detección de ionización de llama**

El detector de ionización de llama o FID, es el detector más utilizado, y por lo general, uno de los más aplicables en cromatografía de gases. Es un quemador, donde el efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y con aire para luego encenderse eléctricamente. La mayoría de compuestos orgánicos, cuando se pirolizan a la temperatura de una llama de hidrógeno – aire, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama. [49]

## **1.5. Homogenización de la muestra**

En el tratamiento de la muestra es necesario recalcar la importancia de disminuir el tamaño de partícula para garantizar la representatividad de la submuestra a analizar y aumentar el contacto de la muestra con el solvente de extracción. En principio se basa en la fricción ocasionada entre un molino y la muestra de cárnico o en el movimiento que causa un agitador mecánico para la homogenización de una mayonesa

## **1.6. Métodos de extracción**

### **1.6.1. Extracción Folch**

Existe una gran cantidad de métodos de extracción de grasa con solventes para muestras de alimentos e incontables variaciones de los mismos, todos estos se basan en la solubilidad que tienen los compuestos grasos en solventes apolares. Uno de los métodos más usados es el método Soxhlet recomendado en la ISO-1443, pero dicho método utiliza una digestión ácida previa a la extracción con solvente, la cual, al ser muy agresiva puede cambiar la composición de ácidos grasos en la muestra, en específico, puede aumentar la cantidad de ácidos grasos trans y no dar resultados confiables de los mismos. Por esta razón se optó por el método de extracción planteado por Jordi Folch en 1957.

El método de extracción Folch consiste en una extracción de la materia grasa en frío con una mezcla cloroformo:metanol 2:1 (v/v) añadida a la muestra homogenizada, posteriormente se filtra y se añade agua o una solución salina para separar los componentes no lipídicos. En este método cloroformo, metanol, y agua se mezclan en un embudo de separación en las proporciones 8:4:3 en volumen. Cuando la mezcla se deja reposar, se obtiene un sistema bifásico. [50] Las dos fases se recogen por separado y finalmente, el

extracto clorofórmico es evaporado y se pasa a un vial con una cantidad determinada de hexano para su posterior derivatización y análisis.

En el trabajo realizado por J. A. García y I. Díaz en el Centro de Tecnología de la Carne, Unidad de Química Alimentaria en Cataluña se realiza una comparación bibliográfica de los métodos de extracción y posterior cuantificación de grasa total y perfil de ácidos grasos. En dicho estudio se compararon el método de extracción ISO-1443, de Folch, de Bligh y Dyer, una variación de Folch y algunos métodos de extracción acelerada. Los resultados de esta investigación aseguran que los métodos de extracción más utilizados son las mezclas de cloroformo:metanol en sus distintas proporciones y que los resultados cuantitativos de estos métodos respecto del método ISO-1443 no suelen diferir de modo importante por lo que se puede concluir que se extraen cantidades similares de lípidos. Además, la digestión en caliente y medio ácido puede provocar la formación de moléculas extrañas, la degradación de algunos ácidos grasos y la isomerización de enlaces cis; estos resultados no son críticos para determinar la cantidad total de grasa de un alimento, pero si pueden afectar a la composición de los ácidos grasos. [51] Por todo lo mencionado anteriormente, se deduce que el método de extracción utilizado, el método de Folch, arroja resultados confiables al contenido de grasa de las muestras y a la composición lipídica de la misma.

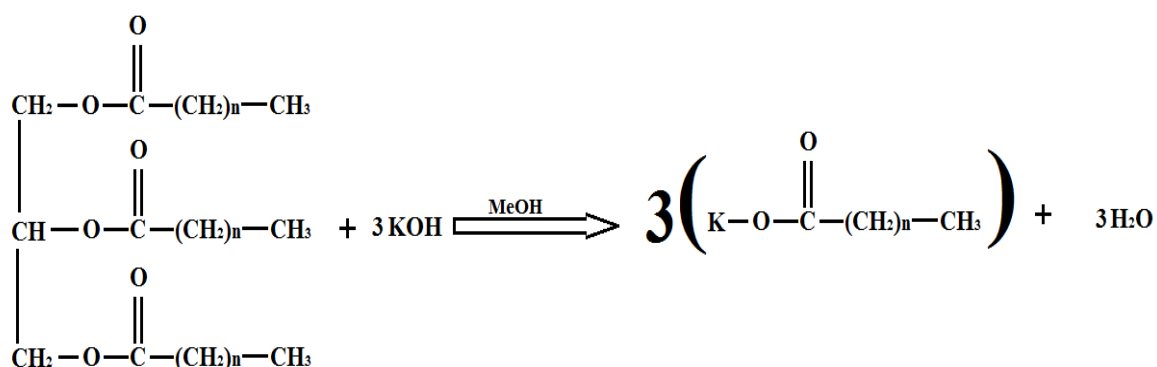
En otro trabajo de investigación, realizado por Sara J. Iverson, Shelley L.C. Lang y Margaret H. Cooper llamado “Comparación de los métodos la Bligh y Dyer y Folch para la determinación de lípidos totales en una amplia gama de tejidos marinos”, realizado en el Departamento of Biología de la Universidad de Dalhousie en Halifax, Canadá, indica que el contenido total de lípidos de todas las muestras se determinó con precisión utilizando el método de extracción Folch. Adicionalmente, al presentarse cantidades bajas de lípidos en

las muestras, los resultados de la extracción Folch y Bligh y Dyer eran idénticos. En segundo lugar, las estimaciones del porcentaje de lípidos en el alto contenido graso del aceite de pescado, utilizando la extracción Folch, está acorde con el contenido lipídico calculado. Además, el mismo estudio señala que el método de Bligh y Dyer puede tener pérdidas cuando el contenido lipídico de las muestras es alto. [52] Por lo tanto el método de extracción utilizado además de ser confiable, es reproducible.

### 1.7. Derivatización de ácidos grasos

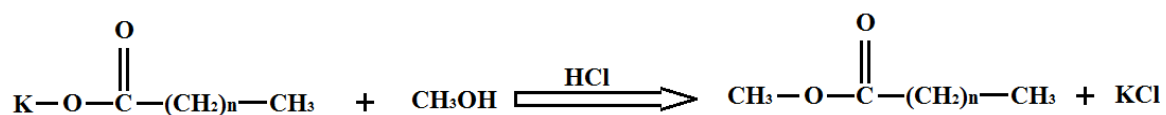
El análisis de las mezclas complejas de ácidos grasos obtenidos por hidrólisis de los lípidos naturales se puede realizar hoy en día de manera precisa y sensible. En este procedimiento, los ácidos grasos son convertidos, en primer lugar, en una forma más volátil, generalmente en ésteres metílicos comúnmente llamados FAMES por sus siglas en inglés. [53] En dicha derivatización se utiliza metanol debido a que es el alcohol de menor peso molecular, lo que da mayor volatilidad al éster de ácido graso.

A continuación se muestra la reacción de saponificación de los ácidos grasos en la que un triglicérido es hidrolizado para generar su sal potásica en medio de metanol.



**Figura 1.2. Reacción de saponificación de un triglicérido**

A continuación se muestra la reacción de transesterificación de la sal potásica de ácido graso por medio de metanol en medio de ácido clorhídrico.



**Figura 1.3. Reacción de metilación de un ácido graso**

Sobre este tema, existen varios estudios que analizan las variedades de métodos de transesterificación. Por ejemplo, un estudio realizado en la Facultad de Ciencias Químicas y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Kebangsaan en Malasia, indica que el método utilizando KOH y HCl en metanol requiere menos tiempo, es menos costoso y más amigable con el medio ambiente que el método usando Trimetilsilildiazometano (TMS-DM) que es más conveniente para un análisis preciso y completo de muestras ricas en ácidos grasos cis y trans. Sin embargo, el mismo estudio señala que los cromatogramas para ambos métodos muestran que todos los picos bien resuelto con una buena separación entre ácidos grasos. [54]

Existe otro estudio comparativo de derivatización de ácidos grasos titulado “Preparación de metil ésteres de ácidos grasos para el análisis de lípidos marinos por cromatografía de gases” en el que compara los métodos de transesterificación utilizando hidróxido de sodio y ácido clorhídrico en metanol, cloruro de acetilo y trifluoruro de boro con un análisis estadístico de tipo ANOVA y en este se concluye que ambos métodos generan resultados equivalentes, siempre que las muestras sean completamente solubles en el medio de reacción, parámetro del cual se concluye suma importancia debido a que cuando el medio de reacción no es el adecuado, los resultados estimados de ácidos grasos se subestiman. [55] Por todo lo mencionado anteriormente, se denota que el método

utilizado es razonablemente preciso, exacto, de fácil utilización, de implementación más segura para el analista y el medio ambiente, comparado con el método de transesterificación con TMS-DM. Además de mantener resultados comparables con los métodos de cloruro de acetilo y trifluoruro de boro, siempre y cuando la muestra sea totalmente soluble en el medio de reacción utilizado.

## **CAPÍTULO 2**

### **2.1. Metodología**

La presente investigación pertenece a un estudio descriptivo – transversal; es descriptivo ya que analiza y representa diferentes variables en forma de datos, permitiendo de esta manera conocer de manera general y básica las características de una población o grupo humano. Es un estudio transversal, puesto que mide a la vez la prevalencia de determinada exposición y del efecto en una muestra poblacional en un solo momento temporal; es decir, permite estimar la magnitud y distribución de una variable o condición en un momento dado. Este estudio marca un punto de partida para el desarrollo de otros estudios prospectivos para analizar los efectos del consumo de dichos productos sobre la salud.

#### **2.1.1. Unidad de análisis**

Productos ecuatorianos catalogados como embutidos y mayonesas. Se analizaron 15 variedades de embutidos: mortadela, salchicha, chorizo, jamón, morcilla, tocino y paté; y 2 variedades de mayonesas: corriente y light, que se expenden en supermercados de la capital.

#### **2.1.2. Universo o muestra:**

Para conocer que productos son considerados como de mayor consumo, se aplicó una encuesta a 800 madres de familia de niños en edad escolar entre 5 y 15 años de escuelas y colegios de la capital. Para garantizar la representatividad de la muestra y evitar un sesgo socioeconómico, la encuesta se realizó en escuelas fiscales, municipales,

fiscomisionales y privadas de la capital, abarcando todos los niveles económicos de la población en la muestra. El porcentaje de encuestados en cada instituto escolar de diferente categoría económica está planteado de acuerdo con la última Encuesta de Estratificación del Nivel Socioeconómico del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) realizada en el 2011.

El tipo de muestreo fue propositivo, puesto que se seleccionó de manera intencionada un número de participantes suficiente como para tener inferencias de calidad apropiada. La encuesta fue realizada en cinco estratos (de acorde a la encuesta de estratificación social del INEC), el 1,9% de las encuestas se tomaron en estrato A, el 11,2% en nivel B, el 22,8% en nivel C+, el 49,3% en estrato C- y el 14,9% en nivel D. [55]

En la encuesta constaron las 15 variedades de embutidos: mortadela, salchicha, chorizo, jamón, morcilla, tocino y paté; y 2 variedades de mayonesas: corriente y light; productos que se consideran tienen una cantidad importante de lípidos en su fabricación y que posiblemente contienen ácidos grasos trans. De cada grupo de alimentos se solicitó a los encuestados señalar la marca y lugar de compra del producto. Se escogieron los tres productos de mayor consumo de cada grupo de alimentos y se los compró en cinco establecimientos ubicados en diferentes sectores de la capital, señalados en la encuesta. Es decir que de los tres productos de mayor consumo se adquirieron 3 unidades de cada uno; las unidades fueron idénticas, es decir contaban con el mismo peso, presentación, empaque o envase, pero de diferente lote de producción.

De esta manera se seleccionó tres marcas de mayor consumo de mortadela (corriente, extra y especial), tres marcas de salchichas (hot-dog, de pollo y longaniza), tres marcas de chorizo (corriente, especial y colombiano), tres marcas de jamón (serrano,

sanduchero y jamonada), una marca de morcilla (de sangre), una marca de tocino (tocineta ahumada), una marca de paté (de carne de res y cerdo) y dos marcas de mayonesas (corriente y light). Los lugares de compra señalados como habitual en dichos productos fueron las cadenas de supermercados más grandes a nivel nacional.

### **2.1.3. Instrumento**

El tipo que se utilizó como apoyo para recoger la muestra fue un cuestionario auto administrado con 16 casillas de variedades de productos, en donde se debe indicar el producto que consume con mayor frecuencia, la marca del mismo y el lugar donde adquiere regularmente el producto. El análisis de la información obtenida fue realizado mediante estadística descriptiva.

### **2.1.4. Metodología utilizada para la determinación de ácidos grasos**

Una vez adquiridas las muestras se procedió a realizar la extracción de grasas saponificables, luego su esterificación y análisis. Para la realización de todo el proceso se utilizaron los siguientes materiales, equipos, reactivos y soluciones:

#### **2.1.4.1. Materiales y equipos para la extracción:**

- Molino de carne Victoria
- Agitador mecánico
- Probeta
- Vasos de precipitación
- Balanza analítica
- Soporte universal
- Espátula

- Erlenmeyer
- Tapón de caucho
- Embudos
- Embudo de separación
- Pipeta graduada
- Pipeta volumétrica
- Pipeta automática
- Pipeta Pasteur
- Viales con tapa
- Gradilla
- Balones de base redonda
- Rotavapor
- Baño de ultrasonido Branson 3800

#### **2.1.4.2. Equipo de cromatografía de gases**

- Generador de hidrógeno marca Parker ChromGas, modelo GasGenerator 9090
- Cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies, modelo 7890A
- Detector de ionización de llama (FID)
- Columna capilar Agilent HP-88 de 60 m de longitud, 250  $\mu\text{m}$  de diámetro y 0.2  $\mu\text{m}$  de espesor de película

#### **2.1.4.3. Reactivos y soluciones:**

- Hidróxido de potasio G.A.
- Ácido clorhídrico concentrado G.A.
- Sulfato de sodio anhidro G.A.
- Metanol G.A.

- Cloroformo G.A.
- Cloruro de sodio G.A.
- n-Hexano G.A.

Solventes: Cloroformo:Metanol (2:1) v/v y n-Hexano

Solución de lavado del extracto: Cloruro de sodio 0.9%

Solución para saponificación: Hidróxido de potasio 0.5M en metanol

Solución para transesterificar: Ácido clorhídrico concentrado:metanol (1:4) v/v

#### **2.1.4.4. Procedimiento:**

##### **2.1.4.4.1. Homogenización**

- Para las muestras de mayonesas se utilizó un recipiente de 1 L de capacidad, donde se homogenizaron mediante un agitador mecánico por un tiempo de 10 min.
- En el caso de los embutidos, se utilizó un molino de carne para disminuir el tamaño de partícula de los mismos

##### **2.1.4.4.2. Extracción y derivatización**

- Pesar 1 g de muestra homogenizada y colocar en un erlenmeyer con tapón.
- Añadir 20 mL de solvente de extracción Folch (cloroformo:metanol 2:1) [56]
- Agitar la mezcla por 30 min en baño de ultrasonido.
- Filtrar para separar el extracto de materia sólida.
- Lavar con 4 mL de NaCl 0.9% para separar las fases del extracto.
- Aislar en un embudo de separación, la fase clorofórmica del extracto que contiene los lípidos de la muestra.

- Secar la fase clorofórmica al pasarla a través de un embudo con lana de vidrio y sulfato de sodio anhidro y depositarla en un balón de rotavapor.
- Evaporar en rotavapor el extracto clorofórmico a presión reducida de -14 inHg y 35°C hasta sequedad.
- Redisolver los lípidos en 1 mL de hexano y lavar el balón de evaporación con 1 mL de hexano 2 veces más; pasar a un vial de tapa rosca.
- Añadir 2.5 mL de solución de KOH 0.5 M en metanol y cerrar el tubo [57]
- Calentar por 45 min. a baño maría a 80°C y dejar enfriar.
- Extraer 3 veces con 2 mL de hexano y, utilizando un embudo de separación, aislar la fase insaponificable.
- A la fase saponificada, añadir 1 mL de solución de HCl 1:4 v/v en metanol y cerrar el tubo.
- Calentar a baño maría por 25 min. a 50°C.
- Añadir 5 mL de agua destilada.
- Extraer la fase orgánica que contiene los metil ésteres de ácidos grasos por tres ocasiones, utilizando 2 mL de hexano.
- Secar nuevamente con sulfato de sodio anhidro con la ayuda de un embudo y lana de vidrio.
- Pasar el extracto lipídico de hexano a un nuevo vial con tapa.
- Almacenar en refrigeración, hasta el día en que se vaya a realizar la lectura en cromatografía de gases.
- El método utilizado para CG fue el AOAC 996.06. [58]

#### **2.1.4.5. Condiciones de análisis cromatográfico**

##### **2.1.4.5.1. Inyector automático:**

- Volumen de inyección: 1µL.

- Lavados de jeringa con solvente: 2 antes y 2 después de inyección.
- Lavados de jeringa con muestra: 2 veces previo a inyección.
- Bombeos de jeringa en la muestra: 6 veces previo a inyección.

#### **2.1.4.5.2. Cámara de inyección**

- Calentamiento: 250°C.
- Presión: 32.193 psi.
- Flujo total: 74.4 mL/min.
- Purga de septum 3 mL/min.
- Modo: Split
- Razón de Split: 50:1
- Flujo de Split: 70 mL/min.

#### **2.1.4.5.3. Condiciones de columna**

- Modelo: Agilent HP-88.
- Dimensiones: 60 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0.2  $\mu\text{m}$ .
- Flujo: constante a 1.4 mL/min.
- Velocidad lineal promedio: 27.855 cm/s.
- Gas Portador: Helio.

#### **2.1.4.5.4. Condiciones de horno de columna**

- Tiempo de equilibrio: 3 min.
- Temperatura inicial: 125°C.
- Rampa de temperatura 1: 6°C/min hasta llegar a 145°C, mantener esta temperatura 26 min.
- Rampa de temperatura 2: 2°C/min hasta llegar a 220°C, mantener esta temperatura 15 min.

#### **2.1.4.5.5.** Condiciones de detector

- Calentamiento: 260°C.
- Flujo de aire: 400 mL/min.
- Flujo de hidrógeno: 40 mL/min.
- Flujo de gas makeup (nitrógeno): 30 mL/min.

# CAPÍTULO 3

## 3.1. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 3.1.1. Calibración

A continuación se presenta un cromatograma del estándar de metil ésteres de ácidos grasos utilizado este estudio (Supelco FAME mix C4-C24); aquí se presenta la concentración de 10 mg/ml.

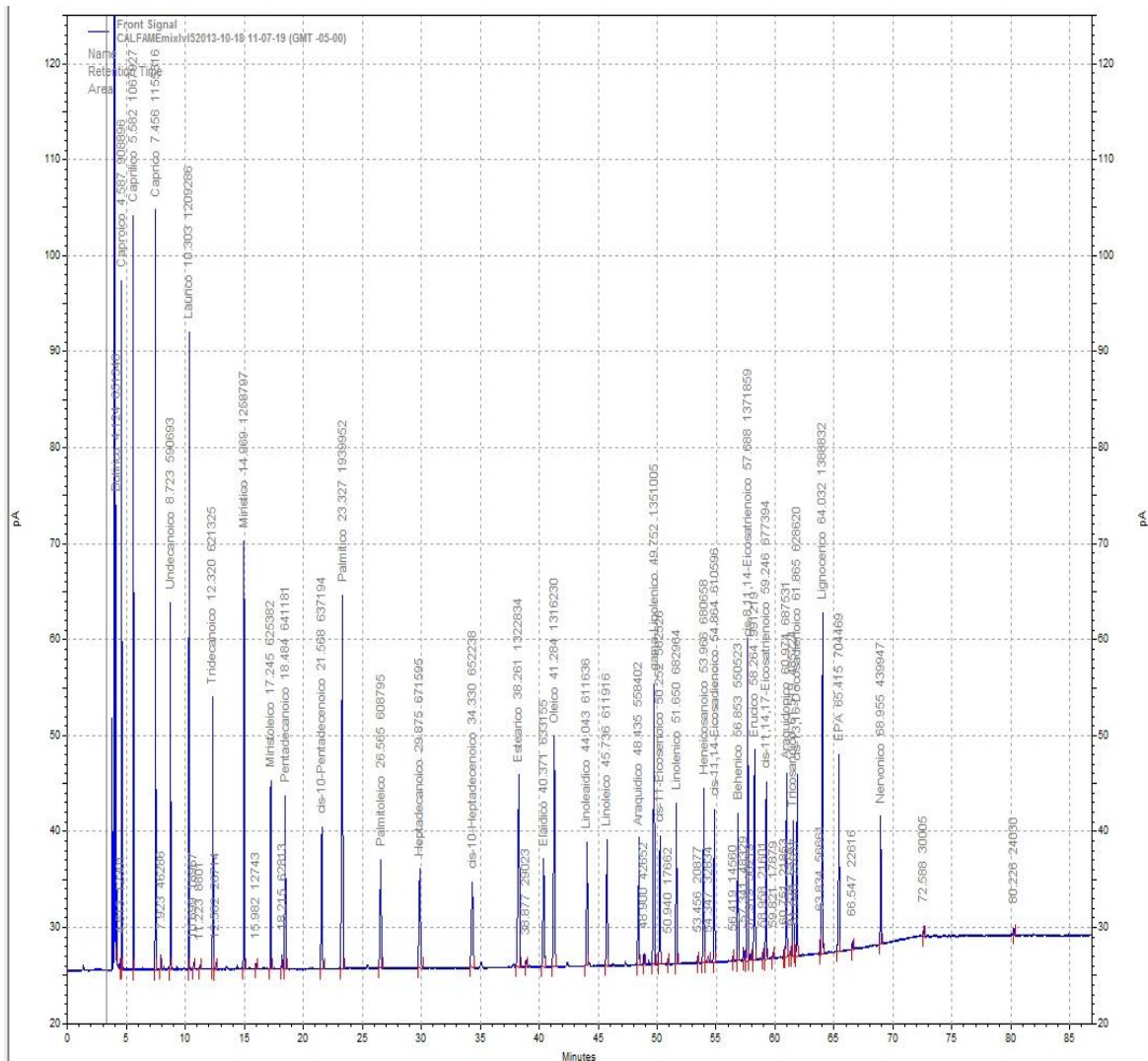


Figura 3.1. Cromatograma de estándar de metil ésteres de ácidos grasos (C4-C24)

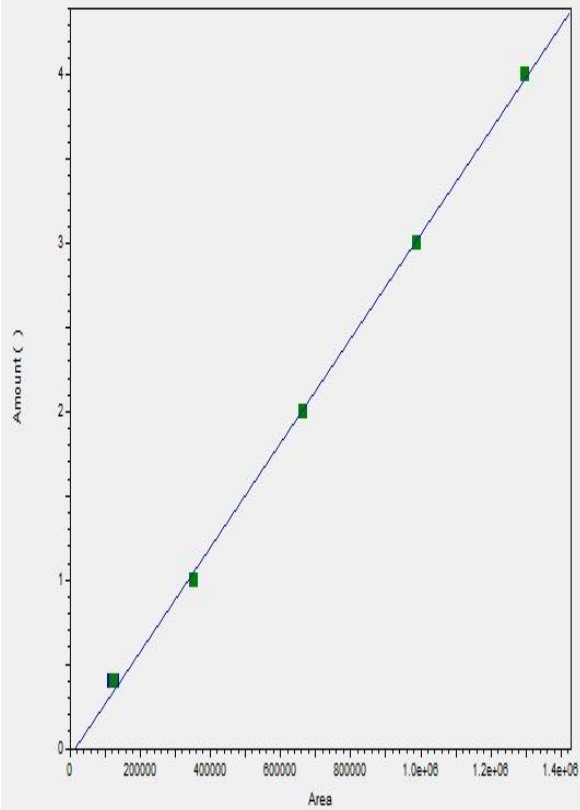
El cromatograma del estándar muestra una amplia resolución de todos los picos de ésteres de ácidos grasos. Además los tiempos de retención de cada pico se repiten para cada nivel de calibración y en las muestras. Por lo cual se deduce que la separación de la mezcla es muy eficiente debido a que logra cumplir su objetivo de separación en un tiempo de 85 minutos, y es además reproducible debido a que los tiempos de retención se mantienen para las diluciones del estándar y que, por consiguiente, las condiciones de análisis han sido optimizadas para el análisis de metil ésteres de ácidos grasos.

Seguidamente se presenta las curvas de calibración para dos ácidos grasos C18, el esteárico y su isómero insaturado, el oleico, analizadas a las condiciones adecuadas anteriormente dichas. Aquí se observa las concentraciones y las áreas respectivas para cada punto de calibración, cada punto de calibración es un promedio de 3 lecturas de la misma concentración, lo que muestra que la precisión de las medidas es alta, ya que cada lectura de calibración recae sobre el mismo punto.

Además se puede observar que los coeficientes  $R^2$  son muy cercanos a la unidad y mayores que 0.98 (lo cual se repite en todas las curvas de calibración presentadas en anexos), y dado que éste parámetro mide la correlación lineal de los niveles de calibración, se concluye que las curvas de calibración son muy confiables para la determinación a efectuarse [59].

Level	Amount	Area	RF	Last Area	Residual	Rep StDev	Rep %RSD	Re
1	0.4	124831	3434081368894e-006		0.0551459	4978.02	3.98782	
2	1	353331	3020736929395e-006	347971	-0.0512603			
3	2	665552	3502440079813e-006	659507	-0.0164888			
4	3	989858	3307377421812e-006	997631	-0.0190764			
5	4	1296909	3425648985395e-006	1326036	0.0316788			

- Butirico
- Caproico
- Caprilico
- Caprico
- Undecanoico
- Laurico
- Tridecanoico
- Miristico
- Miristoleico
- Pentadecanoico
- cis-10-Pentadecenoico
- Palmítico
- Palmitoleico
- Heptadecanoico
- cis-10-Heptadecenoico
- Estearico**
- Eláidico
- Oleico
- Linoleídico
- Linoleico
- Araquídico
- gamma-Linolenico
- cis-11-Eicosenoico
- Linolenico
- Heicosenoico
- cis-11,14-Eicosadienoico
- Behenico
- cis-8,11,14-Eicosatrienoico



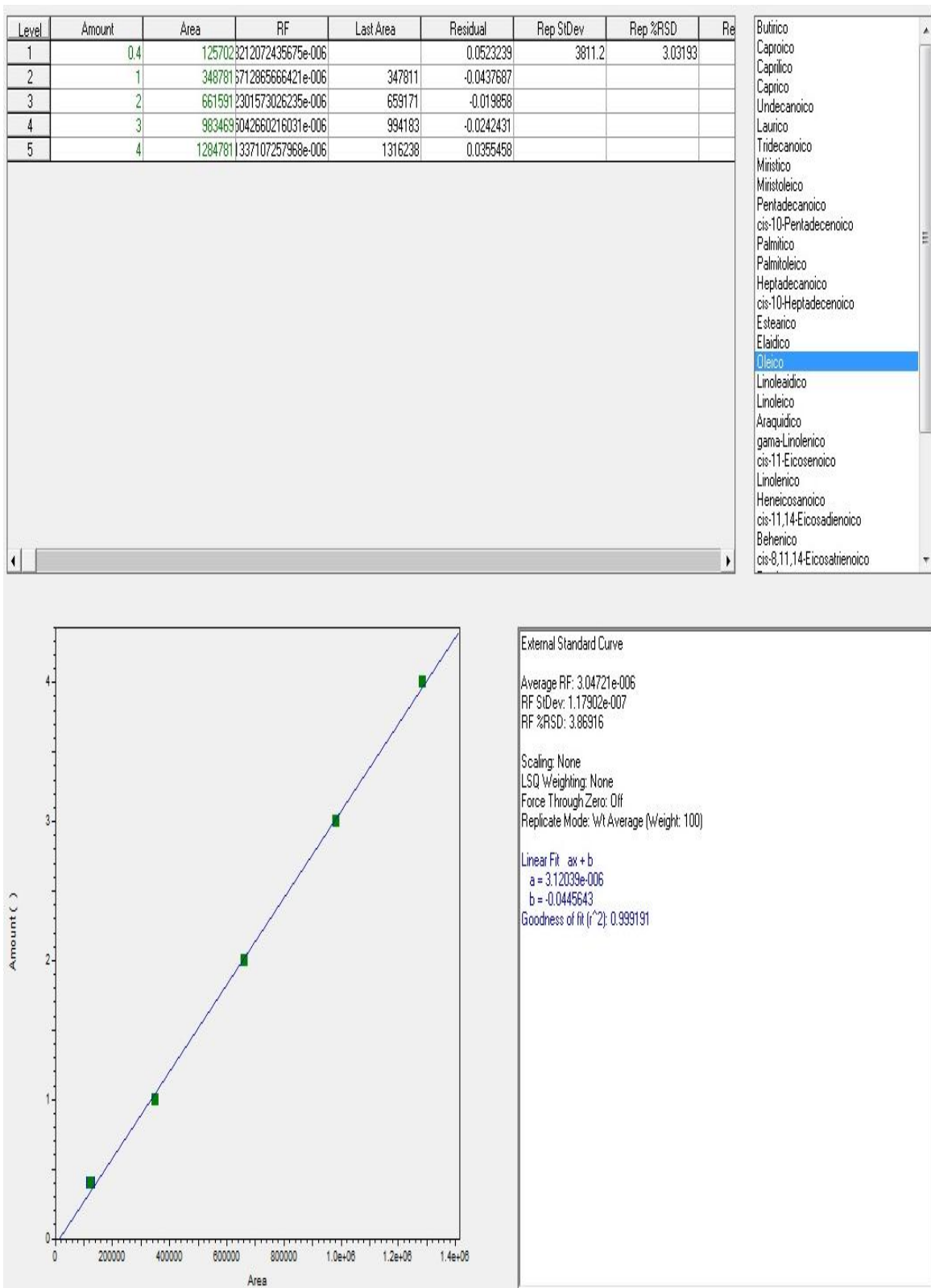
External Standard Curve

Average RF: 3.03091e-006  
 RF StDev: 1.35900e-007  
 RF %RSD: 4.48381

Scaling: None  
 LSQ Weighting: None  
 Force Through Zero: Off  
 Replicate Mode: Wt Average (Weight: 100)

Linear Fit:  $ax + b$   
 $a = 3.09149e-006$   
 $b = -0.0410586$   
 Goodness of fit ( $r^2$ ): 0.999143

**Figura 3.2. Curva de calibración para el ácido esteárico C18:0**



**Figura 3.3. Curva de calibración para el ácido oleico C18:1Δ9c**

Las curvas de calibración de los demás ácidos grasos y los cromatogramas de los metil ésteres de ácidos grasos presentes en las muestras se encuentran en anexos.

### 3.1.2. Cromatografía de los metil ésteres de ácidos grasos en las muestras

En el análisis de las muestras se observa que los tiempos de retención de cada metil éster de ácido graso concuerdan con los tiempos de retención de los mismos presentes en el estándar. Esto otorga reproducibilidad al método, y por lo tanto, se puede deducir que los tiempos de retención se repetirán en el análisis de otras muestras. A continuación se muestra el cromatograma de una de las muestras de mortadela (variedad extra), nótese que los tiempos de retención se repiten a los de la figura 3.1. correspondiente al análisis del estándar de metil ésteres de ácidos grasos (C4-C24) marca Supleco. La cuantificación de los ácidos grasos se hizo en base al total de ácidos grasos extraídos de 1 g de muestra, dando una medida por cantidad de materia analizada.

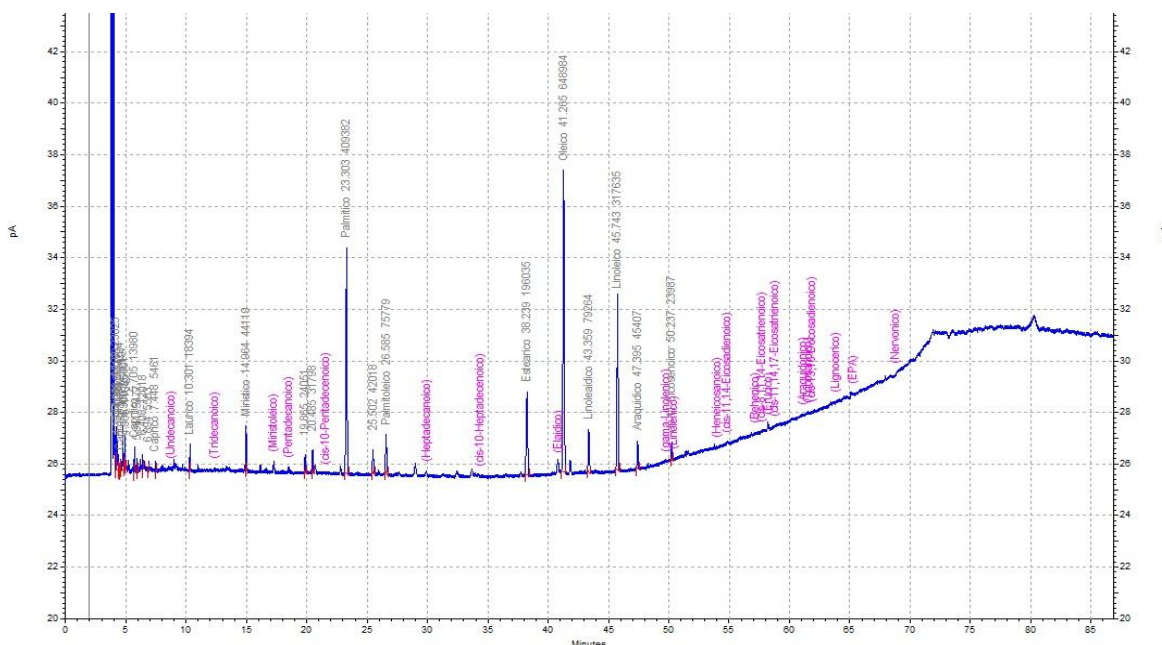


Figura 3.4. Cromatograma de separación de metil ésteres de ácidos grasos de la muestra de mortadela variedad extra

### 3.1.3. Resultados y análisis de contenido de ácidos grasos en muestras

**Tabla 3.1. Resultados de los parámetros de estandarización del método cromatográfico**

Ácido Graso	Límite de detección (%)	Límite de cuantificación (%)	Rango (%)		R <sup>2</sup>	Intercepto en Y (pA)	Pendiente (pA/(mg/ml))
Butírico	0,0277	0,0924	0,0924	4	0,999283	-0,0411841	6,26284E-06
Caprónico	0,0027	0,0092	0,0092	4	0,999192	-0,0644166	4,51398E-06
Caprílico	0,0068	0,0226	0,0226	4	0,999173	-0,0517719	3,8339E-06
Cáprico	0,0212	0,0708	0,0708	4	0,998971	-0,0563285	3,54313E-06
Undecanoico	0,0152	0,0506	0,0506	2	0,999084	-0,0297803	3,46695E-06
Láurico	0,0459	0,1530	0,1530	4	0,999211	-0,0624059	3,38947E-06
Tridecanoico	0,0142	0,0473	0,0473	2	0,999427	-0,0286527	3,31139E-06
Mirístico	0,0417	0,1390	0,1390	4	0,998996	-0,0551077	0,000003258
Miristoleico	0,0125	0,0416	0,0416	2	0,998893	-0,0239001	3,27451E-06
Pentadecanoico	0,0125	0,0416	0,0416	2	0,998913	-0,0206536	0,000003197
cis-10-Pentadecenoico	0,0122	0,0407	0,0407	2	0,998920	-0,0226738	3,32444E-06
Palmitico	0,1458	0,4861	0,4861	6	0,999019	-0,0706307	3,16432E-06
Palmitoleico	0,0133	0,0442	0,0442	2	0,998879	0,00833274	3,28067E-06
Heptadecanoico	0,0099	0,0331	0,0331	2	0,998707	0,00548003	3,11859E-06
cis-10-Heptadecenoico	0,0160	0,0533	0,0533	2	0,998247	0,0369587	3,01255E-06
Estéarico	0,0454	0,1514	0,1514	4	0,999143	-0,0410586	3,09149E-06
Elaídico	0,0815	0,2718	0,2718	2	0,998601	-0,00509871	3,21622E-06
Oleico	0,0391	0,1304	0,1304	4	0,999191	-0,0445643	3,12039E-06
Linoleáidico	0,0273	0,0911	0,0911	2	0,998751	-0,0147798	3,29288E-06
Linoleico	0,0927	0,3090	0,3090	2	0,998726	-0,0147593	3,34473E-06
Araquídico	0,0692	0,2308	0,2308	4	0,998950	-0,0460903	7,35565E-06
γ-Linolénico	0,0303	0,1009	0,1009	2	0,999124	-0,026081	1,51977E-06
cis-11-Eicosenóico	0,0395	0,1316	0,1316	2	0,999064	-0,0262606	3,65302E-06
Linolénico	0,0308	0,1028	0,1028	2	0,999278	-0,0183931	3,01769E-06
Heneicosanoico	0,0338	0,1128	0,1128	2	0,998653	-0,0235634	3,02219E-06
cis-11,14-Eicosadienoico	0,0335	0,1115	0,1115	2	0,999070	-0,0243742	3,37852E-06
Behénico	0,1027	0,3425	0,3425	4	0,998826	-0,0661351	7,5008E-06
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	0,0403	0,1344	0,1344	2	0,999050	-0,0333069	1,50825E-06
Erúctico	0,0380	0,1265	0,1265	2	0,999163	-0,031041	2,0966E-06
cis-11,14,17-Eicosatrienoico	0,0495	0,1649	0,1649	2	0,999197	-0,0318683	3,04789E-06
Araquidónico	0,0460	0,1533	0,1533	2	0,998721	-0,0285155	2,99706E-06
Tricosanoico	0,0491	0,1636	0,1636	2	0,998337	-0,0350979	4,33716E-06
cis-13,16-Docosadienoico	0,0450	0,1500	0,1500	2	0,998131	-0,064651	3,35856E-06
Lignocérico	0,1089	0,3631	0,3631	4	0,998934	-0,059558	2,97246E-06
EPA	0,0525	0,1751	0,1751	2	0,998736	-0,0294388	3,02678E-06
Nervónico	0,0491	0,1638	0,1638	2	0,998628	-0,043466	4,86615E-06

En la tabla 3.1. se presentan los datos de los parámetros de estandarización del método cromatográfico de las curvas de calibración de los ácidos grasos estudiados, como son límite de detección y cuantificación, coeficiente de correlación lineal, rango de determinación, intercepto en el eje Y, y pendiente.

De estos datos se observa que el menor límite de detección y cuantificación está dado para el ácido Caprónico, y el mayor para el ácido palmítico.

El menor rango de determinación es para el ácido linoleico, y el mayor para el ácido palmítico.

El coeficiente de linealidad es mayor para el ácido tridecanoico, y es menor para el ácido cis-13,16-docosadienoico.

La menor pendiente está dada para el ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico y la mayor para el ácido Behénico.

Esto teniendo en cuenta que para el menor nivel de calibración, la cantidad de ácido graso en disolución que se inyecta en el cromatógrafo está en el orden de 0,2 a 0,6 µg.

**Tabla 3.2. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados mortadelas de mayor consumo. Quito, 2013**

Ácido Graso	Denominación	Producto		
		Mortadela corriente	Mortadela extra	Mortadela especial
Butírico	C4:0	1,390	1,659	1,771
Capróico	C6:0	0,102	0,023	0,519
Caprílico	C8:0	0,273	0,028	0,379
Cáprico	C10:0	0,000	0,000	0,000
Undecanoico	C11:0	BDL	BDL	BDL
Láurico	C12:0	0,000	0,011	0,000
Tridecanoico	C13:0	BDL	BDL	BDL
Mirístico	C14:0	0,937	1,574	1,392
Pentadecanoico	C15:0	BDL	BDL	BDL
Palmítico	C16:0	17,237	20,995	21,930
Heptadecanoico	C17:0	BDL	BDL	BDL
Esteárico	C18:0	5,521	9,541	10,474
Araquídico	C20:0	4,651	4,875	2,389
Heneicosanoico	C21:0	0,244	BDL	BDL
Behénico	C22:0	2,609	BDL	BDL
Tricosanoico	C23:0	0,506	BDL	BDL
Lignocérico	C24:0	0,977	BDL	BDL
<b>% Total Saturados</b>		<b>34,448</b>	<b>38,707</b>	<b>38,853</b>
Miristoleico	C14:1	BDL	BDL	BDL
cis-10-Pentadecenoico	C15:1	BDL	BDL	BDL
Palmitoleico	C16:1	2,592	4,339	2,721
cis-10-Heptadecenoico	C17:1	BDL	BDL	BDL
Elaídico	C18:1 $\omega$ 9t	0,890	BDL	BDL
Oleico	C18:1 $\omega$ 9	35,542	33,916	40,157
cis-11-Eicosenóico	C20:1	0,654	0,993	0,327
Erúico	C22:1 $\omega$ 9	BDL	BDL	BDL
Nervónico	C24:1	0,087	BDL	BDL
<b>% Total Monoinsaturados</b>		<b>39,766</b>	<b>39,248</b>	<b>43,205</b>
Linoleaídico	C18:2 $\omega$ 6t	4,386	4,187	3,952
Linoleico	C18:2 $\omega$ 6	19,980	17,858	13,990
$\gamma$ -Linolenico	C18:3 $\omega$ 6	BDL	BDL	BDL
Linolénico	C18:3 $\omega$ 3	0,454	BDL	BDL
cis-11,14-Eicosadienoico	C20:2	0,163	BDL	BDL
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 6	BDL	BDL	BDL
cis-11,14,17-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 3	0,314	BDL	BDL
Araquidónico	C20:4 $\omega$ 6	0,105	BDL	BDL
cis-13,16-Docosadienoico	C22:2	BDL	BDL	BDL
EPA	C20:5 $\omega$ 3	0,384	BDL	BDL
<b>% Total Poliinsaturados</b>		<b>25,786</b>	<b>22,045</b>	<b>17,942</b>
<b>% Trans</b>		<b>5,276</b>	<b>4,187</b>	<b>3,952</b>
<b><math>\Sigma</math> Insat cis</b>		<b>60,275</b>	<b>57,107</b>	<b>57,195</b>
<b><math>\Sigma</math> sat + trans</b>		<b>39,725</b>	<b>42,893</b>	<b>42,805</b>
<b><math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0</b>		<b>34,204</b>	<b>33,352</b>	<b>32,331</b>
<b>(<math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0)/ Insat cis</b>		<b>4,952</b>	<b>9,886</b>	<b>8,806</b>
<b>Relación <math>\omega</math>6/<math>\omega</math>3</b>		<b>185,389</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

\*BDL = Debajo del límite de detección

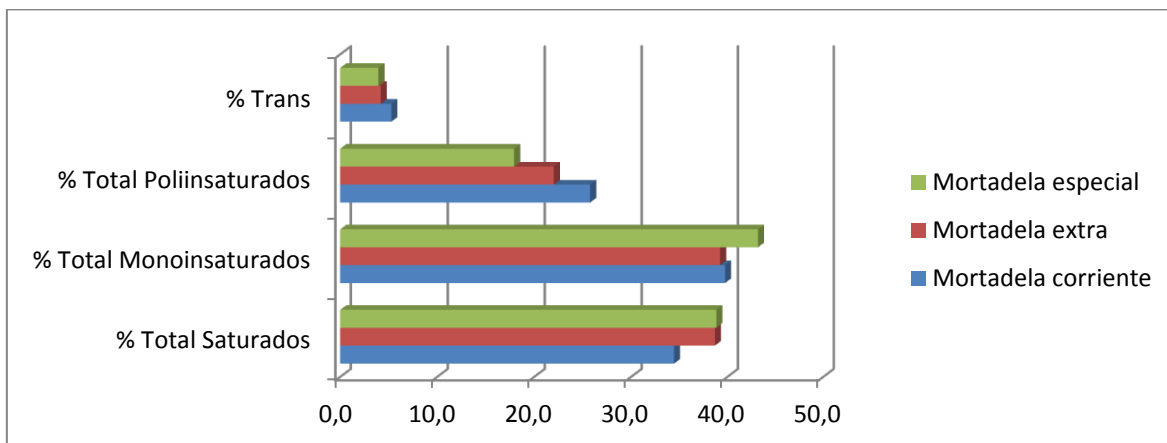
En la tabla 3.2. se puede observar que las variedades de mortadela tienen un contenido alto de ácidos grasos saturados donde el ácido palmítico es el más representativo, alrededor de un 17%, 21% y 22% para la mortadela corriente, extra y especial respectivamente; dando un total de ácidos grasos saturados de alrededor de 34%, 38% y 38% para las mismas variedades de mortadelas respectivamente. Los ácidos grasos monoinsaturados también están presentes en cantidades apreciables, entre el 34% y el 40% de los ácidos grasos totales, donde el ácido oleico conforma la mayor parte de los mismos. Mientras que los ácidos grasos poliinsaturados están presentes en alrededor de 25%, 22% y 18% para la mortadela corriente, extra y especial respectivamente.

Se puede observar que de las muestras de mortadela analizadas, todas presentan ácidos grasos trans, en alrededor del 5% para la variedad corriente y alrededor del 4% para las variedades extra y especial.

Es necesario recalcar que se determinó que la muestra de mortadela corriente tiene una relación  $\omega 6/\omega 3$  más alta de lo tradicional de 1-2:1 [60]; sin embargo, tiene también una ligera cantidad de ácido graso EPA.

En general, todas las variedades de mortadela estudiadas tienen un contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados mayor al contenido de ácidos grasos poliinsaturados. Siendo la variedad especial la que supera a las demás en contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados; sin embargo esta misma variedad contiene menor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en comparación a sus variedades análogas.

**Gráfico 3.1. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados mortadelas. Quito, 2013**



En el Gráfico 3.1. se observa la composición de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y trans de las muestras de mortadela. En dichas muestras se observa un contenido total medio de ácidos grasos, esto se reproduce al observar individualmente los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados que, en dichas muestras, están casi a la par. Se observa además que la mortadela corriente tiene un contenido de ácidos grasos poliinsaturados relativamente mayor al de las demás variedades de mortadela, en contraste, tiene una relación de ácidos grasos saturados y monoinsaturados menor a la de las otras variedades. Es importante recalcar que existe un contenido de ácidos grasos trans apreciable en las tres variedades de mortadela analizadas.

**Tabla 3.3. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados salchichas de mayor consumo. Quito, 2013**

Ácido Graso	Denominación	Producto		
		Salchicha Hot Dog	Salchicha de pollo	Salchicha longaniza
Butírico	C4:0	0,861	0,970	0,220
Caprónico	C6:0	0,167	0,147	0,010
Caprílico	C8:0	0,169	0,155	0,040
Cáprico	C10:0	0,000	BDL	0,143
Undecanoico	C11:0	BDL	BDL	BDL
Láurico	C12:0	0,000	0,000	0,140
Tridecanoico	C13:0	BDL	BDL	BDL
Mirístico	C14:0	0,988	0,298	1,223
Pentadecanoico	C15:0	BDL	BDL	0,018
Palmítico	C16:0	18,937	20,886	20,438
Heptadecanoico	C17:0	BDL	BDL	0,297
Estearico	C18:0	5,795	3,914	8,720
Araquídico	C20:0	5,755	6,203	10,638
Heneicosanoico	C21:0	BDL	BDL	1,218
Behénico	C22:0	BDL	BDL	0,917
Tricosanoico	C23:0	BDL	BDL	BDL
Lignocérico	C24:0	BDL	BDL	BDL
<b>Total Saturados</b>		32,670	32,572	44,020
Miristoleico	C14:1	BDL	BDL	0,018
cis-10-Pentadecenoico	C15:1	BDL	BDL	BDL
Palmitoleico	C16:1	3,735	6,469	2,685
cis-10-Heptadecenoico	C17:1	BDL	BDL	0,252
Elaídico	C18:1 $\omega$ 9t	BDL	BDL	0,935
Oleico	C18:1 $\omega$ 9	36,452	36,438	29,696
cis-11-Eicosenoico	C20:1	1,096	0,679	0,106
Erúico	C22:1 $\omega$ 9	0,127	0,000	0,000
Nervónico	C24:1	BDL	BDL	0,046
<b>Total Monoinsaturados</b>		41,409	43,587	33,739
Linoleídico	C18:2 $\omega$ 6t	4,394	5,843	5,223
Linoleico	C18:2 $\omega$ 6	21,407	17,998	2,444
$\gamma$ -Linolenico	C18:3 $\omega$ 6	BDL	BDL	12,004
Linolénico	C18:3 $\omega$ 3	BDL	BDL	1,963
cis-11,14-Eicosadienoico	C20:2	0,120	BDL	BDL
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 6	BDL	BDL	0,273
cis-11,14,17-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 3	BDL	BDL	0,298
Araquidónico	C20:4 $\omega$ 6	BDL	BDL	0,035
cis-13,16-Docosadienoico	C22:2	BDL	BDL	BDL
EPA	C20:5 $\omega$ 3	BDL	BDL	BDL
<b>Total Polinsaturados</b>		25,921	23,841	22,241
<b>% Trans</b>		4,394	5,843	6,158
<b><math>\Sigma</math> Insat cis</b>		62,936	61,585	49,821
<b><math>\Sigma</math> sat + trans</b>		37,064	38,415	50,179
<b><math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0</b>		31,270	34,501	41,459
<b>(<math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0)/ Insat cis</b>		3,497	4,478	1,284
<b>Relación <math>\omega</math>6/<math>\omega</math>3</b>		-	-	13,638

\*BDL = Debajo del límite de detección

En la tabla 3.3. se puede observar que alrededor de la tercera parte de los ácidos grasos totales extraídos de las variedades de salchichas Hot Dog y de pollo son saturados, alrededor de 32% para ambas variedades; en contraste, el contenido de ácidos grasos saturados se eleva en la variedad longaniza alcanzando un 44%. El ácido graso saturado presente en mayor cantidad en todas las variedades de salchicha analizadas es el ácido palmítico.

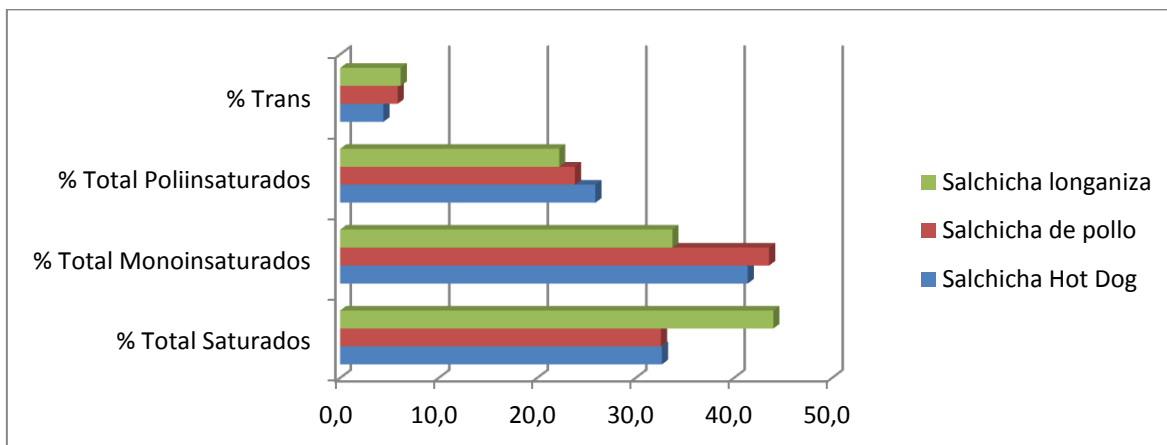
Al observar el contenido de ácidos grasos monoinsaturados, se observa que el ácido de mayor presencia es el ácido oleico, que está presente en alrededor de 36% para las variedades Hot Dog y de pollo, mientras que dicho ácido disminuye para la variedad longaniza a casi un 30%.

Se puede observar que de las muestras de salchichas analizadas, todas presentan ácidos grasos trans, en alrededor del 4%, 5% y 6% para las variedades Hot Dog, de pollo y longaniza respectivamente.

En esta muestra se presentan grandes cantidades de los ácidos saturados palmítico, esteárico y araquídico, así como de los insaturados oleico y  $\gamma$ -linolénico; además se observa que en esta muestra el ácido graso trans más representativo es el linoleáidico. La muestra de longaniza analizada tiene una relación  $\omega 6/\omega 3$  más alta de lo tradicional de 1-2:1

[61]

**Gráfico 3.2. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados salchichas. Quito, 2013**



En el Gráfico 3.2. se observa la composición de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y trans de las muestras de salchichas. Los datos demuestran que los ácidos grasos en las muestras de salchichas de pollo y Hot Dog es comparable debido a que presentan una cantidad similar de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados y una cantidad inapreciable de ácidos grasos trans. En contraste se observa que la salchicha longaniza tiene en general un alto contenido de ácidos grasos saturados en comparación a las demás variedades, además de mostrar un contenido apreciable de ácidos grasos trans.

En general, todas las variedades de salchicha estudiadas tienen un contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados mayor al contenido de ácidos grasos poliinsaturados.

Todas las variedades de salchicha contienen pequeños porcentajes de ácidos grasos trans.

**Tabla 3.4. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados chorizos de mayor consumo. Quito, 2013**

Ácido Graso	Denominación	Producto		
		Chorizo parrillero	Chorizo corriente	Chorizo paisa botón
Butírico	C4:0	0,214	0,114	0,046
Caprónico	C6:0	BDL	BDL	0,000
Caprílico	C8:0	0,001	0,002	0,000
Cáprico	C10:0	0,000	0,115	0,197
Undecanoico	C11:0	BDL	BDL	BDL
Láurico	C12:0	0,187	0,493	0,145
Tridecanoico	C13:0	BDL	BDL	BDL
Mirístico	C14:0	1,153	2,003	1,859
Pentadecanoico	C15:0	0,245	0,054	BDL
Palmítico	C16:0	22,124	20,015	22,274
Heptadecanoico	C17:0	BDL	BDL	0,183
Esteárico	C18:0	4,049	4,051	8,227
Araquídico	C20:0	0,267	BDL	BDL
Heneicosanoico	C21:0	BDL	BDL	BDL
Behénico	C22:0	BDL	0,155	0,157
Tricosanoico	C23:0	BDL	BDL	BDL
Lignocérico	C24:0	BDL	BDL	BDL
<b>Total Saturados</b>		28,240	27,002	33,089
Miristoleico	C14:1	0,245	0,054	BDL
cis-10-Pentadecenoico	C15:1	BDL	BDL	BDL
Palmitoleico	C16:1	7,311	4,091	2,503
cis-10-Heptadecenoico	C17:1	BDL	BDL	BDL
Elaídico	C18:1 $\omega$ 9t	BDL	BDL	BDL
Oleico	C18:1 $\omega$ 9	38,684	40,773	39,905
cis-11-Eicosenoico	C20:1	1,298	1,226	1,167
Erúxico	C22:1 $\omega$ 9	0,198	0,334	0,334
Nervónico	C24:1	BDL	0,017	0,138
<b>Total Monoinsaturados</b>		47,736	46,494	44,046
Linoleáídico	C18:2 $\omega$ 6t	BDL	BDL	BDL
Linolénico	C18:2 $\omega$ 6	23,798	25,760	21,710
$\gamma$ -Linolénico	C18:3 $\omega$ 6	BDL	BDL	0,011
Linolénico	C18:3 $\omega$ 3	0,172	0,328	0,509
cis-11,14-Eicosadienoico	C20:2	0,054	0,403	0,563
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 6	BDL	BDL	BDL
cis-11,14,17-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 3	BDL	BDL	BDL
Araquidónico	C20:4 $\omega$ 6	BDL	BDL	BDL
cis-13,16-Docosadienoico	C22:2	BDL	BDL	BDL
EPA	C20:5 $\omega$ 3	BDL	0,014	0,072
<b>Total Poliinsaturados</b>		24,024	26,504	22,865
<b>% Trans</b>		BDL	BDL	BDL
<b><math>\Sigma</math> Insat cis</b>		71,760	72,998	66,911
<b><math>\Sigma</math> sat + trans</b>		28,240	27,002	33,089
<b><math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0</b>		24,191	22,950	24,862
<b>(<math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0)/ Insat cis</b>		1,214	0,715	0,509
<b>Relación <math>\omega</math>6/<math>\omega</math>3</b>		499,264	171,734	51,311

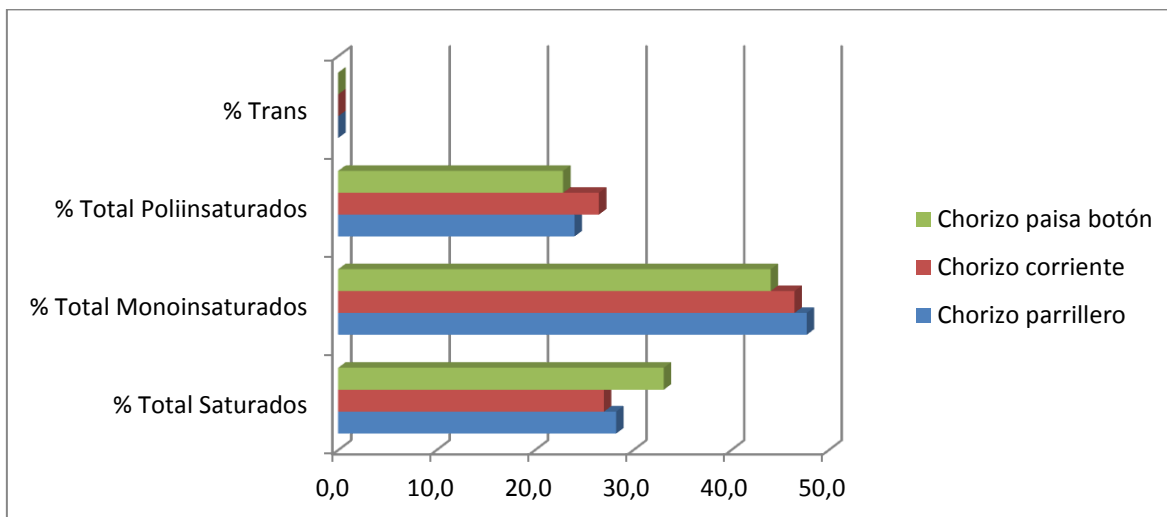
\*BDL = Debajo del límite de detección

En la tabla 3.4. se puede observar que las variedades de chorizo tienen un contenido medio de ácidos grasos saturados donde el ácido palmítico es el más representativo, alrededor de un 22% para las variedades parrillero y paisa botón y de 20% para la variedad corriente, le sigue el ácido esteárico con alrededor del 4% para el chorizo parrillero y el corriente y un 8% para el paisa botón; dando un total de ácidos grasos saturados de alrededor de 28%, 27% y 36% para el chorizo parrillero, corriente y paisa botón respectivamente. Los ácidos grasos monoinsaturados también están presentes en cantidades considerables, alrededor del 46% de los ácidos grasos totales, donde el ácido oleico conforma la mayor parte de los mismos. Mientras que los ácidos grasos poliinsaturados están presentes en alrededor de 24%, 26% y 23% para las variedades parrillero, corriente y paisa botón respectivamente; siendo el ácido linolénico el más representativo.

Se puede observar que de las muestras de chorizo analizadas, ninguna presenta ácidos grasos trans.

Al visualizar todo el conjunto de muestras de chorizo, todas las variedades de estudiadas tienen un contenido de ácidos grasos comparable entre saturados y monoinsaturados y poliinsaturados, además de no contener ácidos grasos trans. Se denota también que en las muestras de chorizo existe una cantidad considerable de ácido palmítico, oleico y linoleico. Todas las muestras de chorizo analizadas tienen una relación  $\omega 6/\omega 3$  más alta de lo tradicional de 1-2:1 [62] pero sobresale dicha relación en el chorizo parrillero donde alcanza casi 500.

**Gráfico 3.3. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados chorizos. Quito, 2013**



En el Gráfico 3.3. se observa la composición de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y trans de los productos denominados chorizos. Se observa que los contenidos más altos están en los ácidos grasos monoinsaturados, los cuales llegan a ser mayores al 40% del total de ácidos grasos extraídos; y que contienen una cantidad de ácidos grasos poliinsaturados casi comparables con la cantidad de ácidos grasos saturados para las tres muestras de chorizo, ambos con contenidos superiores al 20% de ácidos grasos totales.

Además, se observa que ninguna de las muestras de chorizo analizadas presenta en su composición, ácidos grasos insaturados de la configuración trans.

**Tabla 3.5. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados jamones de mayor consumo. Quito, 2013**

Ácido Graso	Denominación	Producto		
		Jamón jamonada	Jamón serrano	Jamón sandwichero
Butírico	C4:0	0,016	0,057	0,344
Caprónico	C6:0	BDL	0,008	BDL
Caprílico	C8:0	0,000	0,010	0,032
Cáprico	C10:0	BDL	0,217	0,000
Undecanoico	C11:0	BDL	BDL	BDL
Láurico	C12:0	BDL	0,126	0,007
Tridecanoico	C13:0	BDL	BDL	BDL
Mirístico	C14:0	0,039	1,889	1,256
Pentadecanoico	C15:0	BDL	0,023	BDL
Palmítico	C16:0	25,208	22,112	22,549
Heptadecanoico	C17:0	BDL	0,223	BDL
Estearico	C18:0	8,450	8,614	9,997
Araquídico	C20:0	BDL	BDL	1,275
Heneicosanoico	C21:0	BDL	BDL	BDL
Behénico	C22:0	BDL	0,241	0,152
Tricosanoico	C23:0	BDL	BDL	BDL
Lignocérico	C24:0	BDL	0,030	BDL
<b>Total Saturados</b>		33,713	33,550	35,611
Miristoleico	C14:1	BDL	0,023	BDL
cis-10-Pentadecenoico	C15:1	BDL	BDL	BDL
Palmitoleico	C16:1	2,112	3,582	2,356
cis-10-Heptadecenoico	C17:1	BDL	0,342	BDL
Eláidico	C18:1 $\omega$ 9t	39,375	BDL	36,338
Oleico	C18:1 $\omega$ 9c	BDL	44,589	1,988
cis-11-Eicosenoico	C20:1	BDL	1,362	1,320
Erúico	C22:1 $\omega$ 9	0,448	0,396	0,508
Nervónico	C24:1	BDL	0,026	0,161
<b>Total Monoinsaturados</b>		41,935	50,320	42,670
Linoleáidico	C18:2 $\omega$ 6t	BDL	0,077	0,730
Linoleico	C18:2 $\omega$ 6	24,352	14,655	20,041
$\gamma$ -Linolenico	C18:3 $\omega$ 6	BDL	0,035	BDL
Linolénico	C18:3 $\omega$ 3	BDL	0,763	0,444
cis-11,14-Eicosadienoico	C20:2	BDL	0,507	0,461
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 6	BDL	BDL	BDL
cis-11,14,17-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 3	BDL	BDL	BDL
Araquidónico	C20:4 $\omega$ 6	BDL	BDL	BDL
cis-13,16-Docosadienoico	C22:2	BDL	BDL	BDL
EPA	C20:5 $\omega$ 3	BDL	0,093	0,043
<b>Total Polinsaturados</b>		24,352	16,131	21,719
<b>% Trans</b>		39,375	0,077	37,068
<b><math>\Sigma</math> Insat cis</b>		26,912	66,373	27,321
<b><math>\Sigma</math> sat + trans</b>		73,088	33,627	72,679
<b><math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0</b>		64,638	25,013	62,683
<b>(<math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0)/ Insat cis</b>		56,584	0,283	6,596
<b>Relación <math>\omega</math>6/<math>\omega</math>3</b>		-	12,981	122,665

\*BDL = Debajo del límite de detección

En la tabla 3.5. se puede observar que las variedades de jamón tienen un contenido medio de ácidos grasos saturados donde el ácido palmítico es el más notable, alrededor de un 22% para las variedades sandwichero y serrano y de alrededor de 25% para la variedad jamonada, le sigue el ácido esteárico con alrededor de entre 8% y 10% dando un total de ácidos grasos saturados de alrededor de 33% para las variedades jamonada y serrano respectivamente, y un 35% para el sandwichero. Es considerable también la cantidad de ácidos grasos monoinsaturados, que se encuentra alrededor del 42% para la variedad jamonada y sandwichero, pero es mayor en el jamón serrano, donde llega al 50% de los ácidos grasos totales. Entre los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido oleico y su isómero trans, el ácido elaídico, conforman la mayor parte de los mismos.

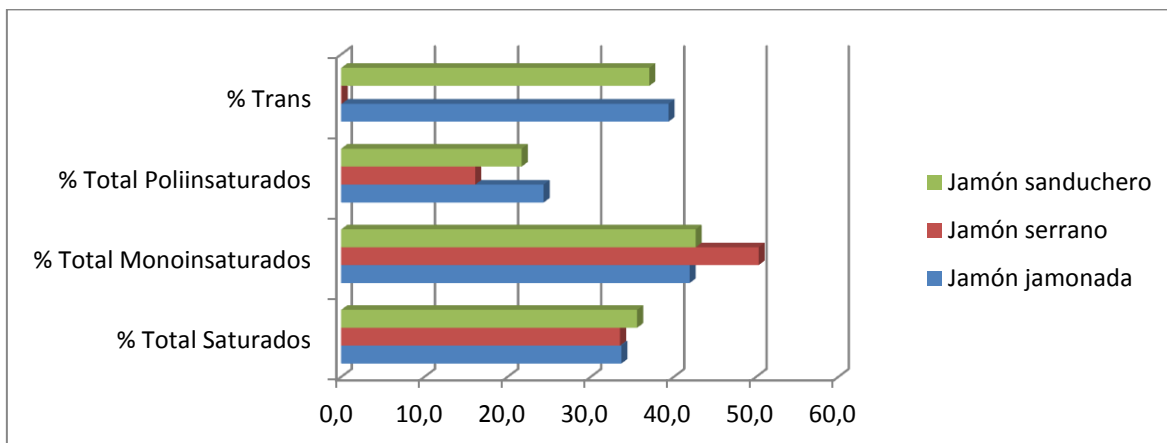
En el contenido de ácidos grasos totales, los ácidos grasos poliinsaturados están presentes en alrededor de 24%, 16% y 21% para las variedades jamonada, serrano y sandwichero respectivamente; siendo el ácido linolénico el más representativo.

Se puede observar que de las muestras de jamón analizadas, todas presentan ácidos grasos trans, pero el porcentaje de éstos en los ácidos grasos totales extraídos alcanza niveles altos llegando casi al 40% para las variedades sandwichero y jamonada, mientras que para el jamón serrano, este porcentaje apenas alcanza el 0,077%.

Se denota también que, en general, en las muestras de jamón existe una cantidad considerable de ácido palmítico, esteárico, oleico, elaídico y linoleico. Además, es necesario recalcar que las muestras de jamón serrano y jamonada contienen ligeras cantidades de EPA, ácido graso esencial beneficioso para la salud [63]

Las muestras de jamón analizadas tienen una relación  $\omega 6/\omega 3$  más alta de lo tradicional de 1-2:1 [64]; aunque es más notable en el jamón sandwichero.

**Gráfico 3.4. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados jamones. Quito, 2013**



En el Gráfico 3.4. se presenta la composición de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y trans de las muestras de jamones. Aquí se exhibe que el contenido de ácidos grasos poliinsaturados es menor al contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en las 3 muestras de jamón analizadas. Se observa además que el contenido de ácidos grasos monoinsaturados es mayor que el contenido total de ácidos grasos saturados y poliinsaturados. Se observa además que el contenido de ácidos grasos en el jamón serrano es comparable a las otras variedades de jamón; sin embargo tiene un mayor contenido de ácidos grasos monoinsaturados, y no posee ácidos grasos trans. Las muestras de jamón sandwichero y jamonada, a pesar de tener una cantidad comparable de ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados, tiene una alta cantidad de ácidos grasos trans por lo que se podría catalogarlo como un producto menos nutritivo que sus análogos. En general en las muestras de jamones, todas las variedades de estudiadas tienen un contenido de ácidos grasos comparable entre saturados y monoinsaturados y poliinsaturados, a excepción del jamón serrano que contiene una mayor cantidad de ácidos grasos monoinsaturados y casi no contiene ácidos grasos trans.

**Tabla 3.6. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) de embutidos denominados morcilla, tocineta y paté de mayor consumo. Quito, 2013**

Ácido Graso	Denominación	Producto		
		Morcilla de sangre	Tocineta ahumada	Pate de carne de cerdo y res
Butírico	C4:0	0,015	0,013	0,016
Capróico	C6:0	0,000	0,011	BDL
Caprílico	C8:0	0,000	0,000	0,000
Cáprico	C10:0	0,016	0,265	0,136
Undecanoico	C11:0	BDL	BDL	BDL
Láurico	C12:0	0,116	0,642	0,142
Tridecanoico	C13:0	BDL	BDL	BDL
Mirístico	C14:0	1,546	2,659	1,741
Pentadecanoico	C15:0	BDL	0,042	0,041
Palmitico	C16:0	22,856	22,402	20,890
Heptadecanoico	C17:0	BDL	0,194	0,232
Estearico	C18:0	6,194	6,528	7,435
Araquídico	C20:0	BDL	BDL	0,083
Heneicosanoico	C21:0	BDL	BDL	BDL
Behénico	C22:0	0,104	0,167	0,269
Tricosanoico	C23:0	BDL	BDL	0,030
Lignocérico	C24:0	BDL	BDL	0,000
<b>Total Saturados</b>		<b>30,848</b>	<b>32,924</b>	<b>31,015</b>
Miristoleico	C14:1	BDL	0,042	0,041
cis-10-Pentadecenoico	C15:1	BDL	BDL	BDL
Palmitoleico	C16:1	3,663	2,473	2,489
cis-10-Heptadecenoico	C17:1	BDL	0,192	0,210
Elaídico	C18:1 $\omega$ 9t	41,373	38,322	36,755
Oleico	C18:1 $\omega$ 9	2,867	1,765	2,085
cis-11-Eicosenoico	C20:1	1,078	1,056	1,430
Erúico	C22:1 $\omega$ 9	0,175	0,302	0,299
Nervónico	C24:1	0,120	0,074	0,175
<b>Total Monoinsaturados</b>		<b>49,276</b>	<b>44,227</b>	<b>43,483</b>
Linoleaídico	C18:2 $\omega$ 6t	BDL	BDL	0,051
Linoleico	C18:2 $\omega$ 6	19,013	21,975	24,234
$\gamma$ -Linolénico	C18:3 $\omega$ 6	BDL	0,006	0,022
Linolénico	C18:3 $\omega$ 3	0,395	0,377	0,449
cis-11,14-Eicosadienoico	C20:2	0,461	0,425	0,675
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 6	BDL	BDL	BDL
cis-11,14,17-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 3	BDL	BDL	BDL
Araquidónico	C20:4 $\omega$ 6	BDL	BDL	BDL
cis-13,16-Docosadienoico	C22:2	0,000	BDL	BDL
EPA	C20:5 $\omega$ 3	0,006	0,066	0,071
<b>Total Poliinsaturados</b>		<b>19,875</b>	<b>22,849</b>	<b>25,502</b>
<b>% Trans</b>		<b>41,373</b>	<b>38,322</b>	<b>36,806</b>
<b><math>\Sigma</math> Insat cis</b>		<b>27,779</b>	<b>28,754</b>	<b>32,180</b>
<b><math>\Sigma</math> sat + trans</b>		<b>72,221</b>	<b>71,246</b>	<b>67,820</b>
<b><math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0</b>		<b>66,027</b>	<b>64,718</b>	<b>60,385</b>
<b>(<math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0)/ Insat cis</b>		<b>4,666</b>	<b>2,455</b>	<b>1,309</b>
<b>Relación <math>\omega</math>6/<math>\omega</math>3</b>		<b>93,049</b>	<b>54,186</b>	<b>32,597</b>

\*BDL = Debajo del límite de detección

En la tabla 3.6. se puede observar que las variedades de morcilla de sangre, tocineta ahumada y paté de carne de cerdo y res tienen un contenido alto de ácidos grasos saturados donde el ácido palmítico es el más notable, alrededor de un 22% para los embutidos morcilla y tocineta, y de alrededor de 20% para el paté, seguido por el ácido esteárico con alrededor de 6% para morcilla y tocineta y un poco más para del 7% para el paté. Como resultado se obtuvo un total de ácidos grasos saturados de mayor al 30% para este segmento de embutidos. Es considerable también la cantidad de ácidos grasos monoinsaturados, que se encuentra alrededor del 49% para la morcilla de sangre, pero es menor en la tocineta y en el paté, donde se coloca en alrededor del 44% y 43% para ambos respectivamente. Entre los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido elaídico conforma la mayor parte, seguido por el ácido palmitoleico y oleico.

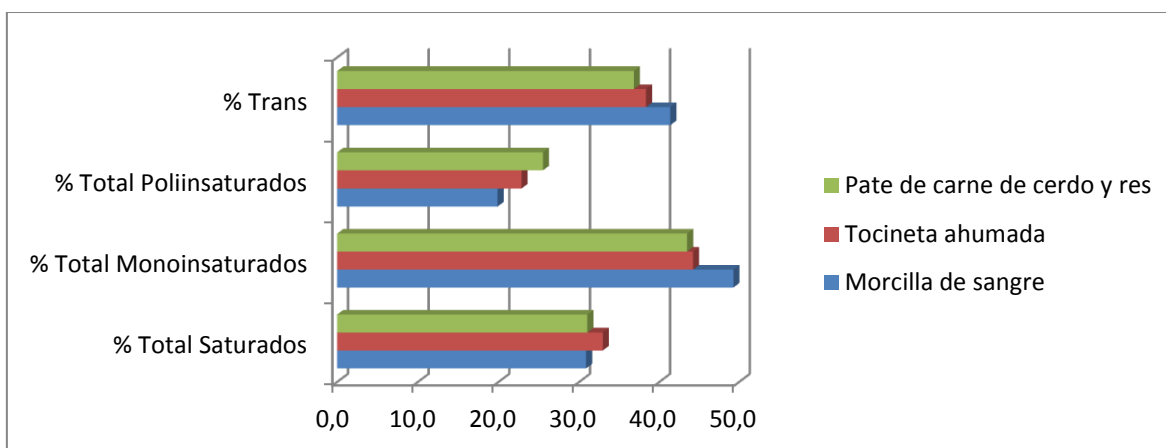
Los ácidos grasos poliinsaturados están presentes en alrededor de 19%, 22% y 25% para los embutidos morcilla, tocineta y paté respectivamente; siendo el ácido linolénico el más representativo.

Se puede observar que de las muestras de morcilla, tocineta y paté analizadas, todas presentan altos contenidos de ácidos grasos trans, dado que el porcentaje de éstos en los ácidos grasos totales extraídos alcanza niveles altos llegando a al 41%, 38% y 36% respectivamente, donde el ácido elaídico es el más representativo.

Se denota también que, en general, en las muestras de morcilla, tocineta y paté existe una cantidad considerable de ácido palmítico, esteárico, oleico, elaídico y linoleico.

En dichas muestras se observa una relación  $\omega 6/\omega 3$  más alta de lo tradicional de 1-2:1 [66], aunque resalta en la morcilla, donde ésta es mayor. También que la sumatoria de ácidos grasos saturados y trans es alta en este conjunto de embutidos analizados.

**Gráfico 3.5. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en embutidos denominados morcilla de sangre, tocineta ahumada y paté de carne de cerdo y res. Quito, 2013**



En el Gráfico 3.5. se observa la composición de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y trans de las muestras de morcilla de sangre, tocineta ahumada y paté de carne de cerdo y res. En este se aprecia que el contenido de ácidos grasos saturados y trans es alto para las tres muestras; lo que los convierte en alimentos poco saludables [65]. Las muestras de morcilla, tocineta y paté analizadas muestran cantidades medias de ácidos grasos saturados, siendo el porcentaje de estos muy cercano para dichas muestras, de alrededor del 30%. La muestra de paté de carne de cerdo y res presenta una alta cantidad de ácidos grasos monoinsaturados, pero se ve superada por la tocineta ahumada y aún más por la morcilla de sangre la cual alcanza casi al 50% de estos ácidos grasos; sin embargo una gran parte de éstos ácidos grasos la conforma el ácido graso trans elaidico. Este grupo de muestras tiene un contenido bajo de ácidos grasos poliinsaturados, donde se encuentran porcentajes de alrededor del 20%, siendo más bajo en la morcilla y más alto en el paté.

**Tabla 3.7. Contenido de ácidos grasos de mayonesas de mayor consumo.**

Quito, 2013

Ácido Graso	Denominación	Producto	
		Mayonesa corriente	Mayonesa light
Butírico	C4:0	0,014	0,013
Caprónico	C6:0	BDL	BDL
Caprílico	C8:0	0,000	0,000
Cáprico	C10:0	BDL	BDL
Undecanoico	C11:0	BDL	BDL
Láurico	C12:0	0,000	0,000
Tridecanoico	C13:0	BDL	BDL
Mirístico	C14:0	0,134	0,111
Pentadecanoico	C15:0	BDL	BDL
Palmitico	C16:0	10,712	10,769
Heptadecanoico	C17:0	BDL	BDL
Esteárico	C18:0	2,208	2,386
Araquídico	C20:0	1,268	0,073
Heneicosanoico	C21:0	BDL	0,048
Behénico	C22:0	BDL	0,033
Tricosanoico	C23:0	BDL	BDL
Lignocérico	C24:0	0,000	0,024
<b>Total Saturados</b>		14,336	13,458
Miristoleico	C14:1	BDL	BDL
cis-10-Pentadecenoico	C15:1	BDL	BDL
Palmitoleico	C16:1	0,254	0,184
cis-10-Heptadecenoico	C17:1	BDL	BDL
Elaídico	C18:1 $\omega$ 9t	20,777	21,385
Oleico	C18:1 $\omega$ 9	1,166	1,237
cis-11-Eicosenóico	C20:1	7,358	6,932
Erúico	C22:1 $\omega$ 9	BDL	0,021
Nervónico	C24:1	BDL	BDL
<b>Total Monoinsaturados</b>		29,554	29,760
Linoleaídico	C18:2 $\omega$ 6t	BDL	BDL
Linoleico	C18:2 $\omega$ 6	55,910	56,453
$\gamma$ -Linolenico	C18:3 $\omega$ 6	0,074	0,111
Linolénico	C18:3 $\omega$ 3	0,096	0,120
cis-11,14-Eicosadienoico	C20:2	BDL	0,017
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 6	0,030	0,066
cis-11,14,17-Eicosatrienoico	C20:3 $\omega$ 3	BDL	BDL
Araquidónico	C20:4 $\omega$ 6	BDL	BDL
cis-13,16-Docosadienoico	C22:2	0,000	0,014
EPA	C20:5 $\omega$ 3	BDL	BDL
<b>Total Polinsaturados</b>		56,110	56,782
<b>% Trans</b>		20,777	21,385
<b><math>\Sigma</math> Insat cis</b>		64,887	65,156
<b><math>\Sigma</math> sat + trans</b>		35,113	34,844
<b><math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0</b>		32,905	32,458
<b>(<math>\Sigma</math> sat + trans - C18:0)/ Insat cis</b>		0,655	0,355
<b>Relación <math>\omega</math>6/<math>\omega</math>3</b>		756,956	336,414

\*BDL = Debajo del límite de detección

En la tabla 3.7. se puede observar que las variedades mayonesa corriente y light tienen un contenido bajo de ácidos grasos saturados donde el ácido palmítico es el más notable, alrededor de un 10% para ambas variedades, seguido por el ácido esteárico con alrededor de 2% para las mismas. Como resultado se obtuvo un total de ácidos grasos saturados de alrededor del 14% para estas muestras. Estas muestras, entre todas las analizadas, son las que menor cantidad de ácidos grasos saturados y monoinsaturados contienen. La cantidad de ácidos grasos monoinsaturados es media y se encuentra alrededor del 30% para las variedades analizadas. Entre los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido eláidico es el más representativo, seguido por el ácido oleico y cis-11-eicosenoico.

Los ácidos grasos poliinsaturados son los más considerables en estas muestras, pues están presentes en alrededor de 56% del total de ácidos grasos extraídos; siendo el ácido linolénico el más notable.

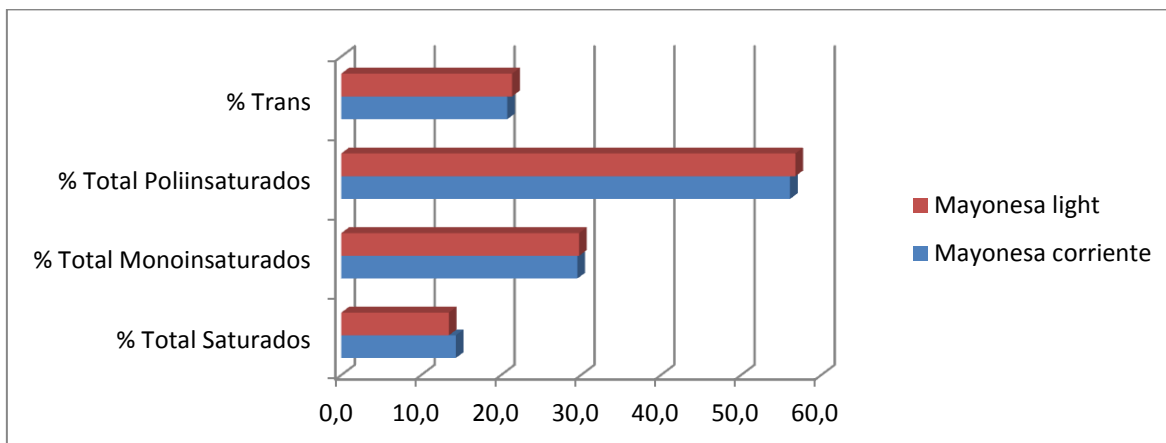
Se aprecia que de las muestras de mayonesa analizadas, todas presentan altos contenidos de ácidos grasos trans, debido a que alcanzan alrededor de 21% respectivamente, donde el ácido eláidico es el más representativo.

Se denota también que, en general, en las muestras de mayonesa existe una cantidad considerable de ácido linoleico, eláidico y palmítico.

En dichas muestras se observa una relación  $\omega 6/\omega 3$  más alta de lo tradicional de 1-2:1 [67].

En general, las muestras de mayonesa presentan porcentajes de ácidos grasos comparables entre sí, sin embargo, la relación  $\omega 6/\omega 3$  es menor en la variedad light.

**Gráfico 3.6. Contenido de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en mayonesas. Quito, 2013**



En el Gráfico 3.6. se observa la composición de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y trans de las muestras de mayonesas corriente y light. Se muestra que el porcentaje de ácidos grasos saturados es bajo, alcanzando porcentajes menores al 15%; sin embargo, el porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados es alto donde los más notables son los poliinsaturados llegando a porcentajes altos en ambas variedades de mayonesa analizadas, llegando a componer más de la mitad de los ácidos grasos extraídos. Es necesario recalcar ambas tienen un alto contenido de ácidos grasos trans de alrededor del 20%, pero la mayonesa light posee un porcentaje mayor de los mismos.

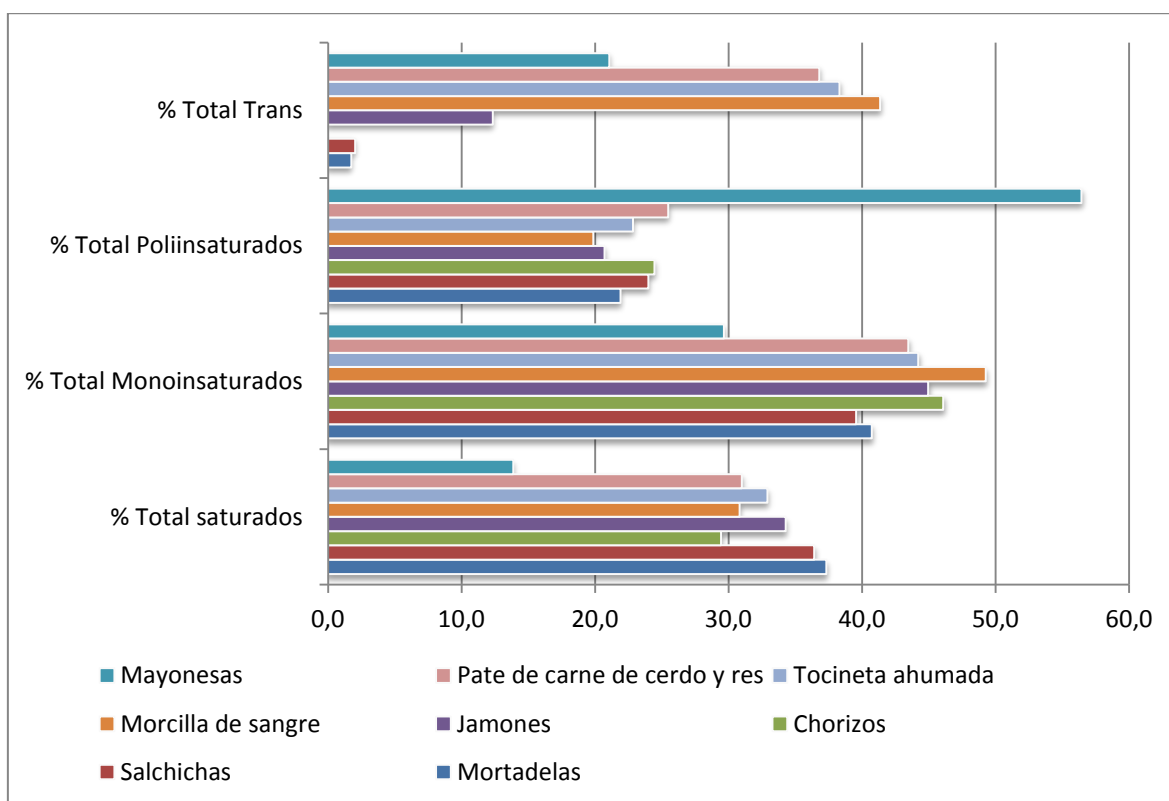
**Tabla 3.8. Índice de Horwitz para dos muestras de embutidos**

Ácido graso	Denominación	Muestras	
		Chorizo paisa botón	Jamón serrano
Láurico	C12:0	1,392	2,094
$\gamma$ -Linolénico	C18:3 $\omega$ 6	0,212	0,752

En la tabla 3.8. se presentan los índices de Horwitz para las muestras de chorizo paisa botón y jamón serrano, en esta se puede observar que los índices para estos ácidos grasos, el ácido láurico y el  $\gamma$ -linolénico, presentan índices de entre 0 y 2.

### 3.2.RESUMEN DE RESULTADOS

**Gráfico 3.7. Contenido promedio de ácidos grasos (en porcentaje total de ácidos grasos extraídos) en los embutidos y mayonesas analizados. Quito, 2013**



El gráfico 3.7. resume el contenido promedio de ácidos grasos saturados, insaturados y trans en las ocho variedades de alimentos analizados. En términos generales la concentración de grasas saturadas es alta, excepto en las mayonesas, debido a que presentan porcentajes relativamente bajos en comparación a las demás muestras. Por otro lado, el contenido de ácidos grasos insaturados es variable en los alimentos, pero se destaca

un contenido alto de ácidos grasos monoinsaturados en la morcilla. El contenido de grasas poliinsaturadas es significativo en las mayonesas, por la presencia alta de ácido linoleico. La concentración de grasas trans también es variable, sin embargo, se presenta una alta cantidad de las mismas en el paté, la morcilla, la tocineta ahumada, y las mayonesas. Ninguna de las muestras analizadas tiene aporte importante de ácidos grasos  $\omega 3$ , razón por la que la relación  $\omega 6/\omega 3$  se encuentra alejada de las recomendaciones de investigadores en el área y nutricionistas [68].

### **3.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

Al comparar el método cromatográfico utilizado en el presente trabajo con las publicaciones que existen para el análisis de metil ésteres de ácidos grasos existen 2 métodos que han sido ampliamente usados y han comprobado su eficacia, el AOAC 996.06 y el AOCS Ce 1h-05. Ambos métodos han sufrido incontables modificaciones debido a las múltiples variables de cada laboratorio, en especial tomando en cuenta la columna que dispone cada uno y la aplicación específica a la que se la desea dedicar (por ejemplo solamente determinar ciertos ácidos grasos o en específico los ácidos grasos trans totales). En el catálogo de Agilent Technologies se propone una variante del método 996.06 bastante cercana a la utilizada en este trabajo, en la que se logra separar exitosamente 69 componentes de una mezcla de metil ésteres de ácidos grasos; [69] debido a que la columna que se disponía era de una longitud menor a la utilizada en el catálogo de Agilent, se modificó ligeramente las rampas de temperaturas para lograr una separación no tan rápida pero que conserve la reproducibilidad y resolución de todos los picos.

El método cromatográfico utilizado en este trabajo presenta buenos parámetros de estandarización. En primer lugar presenta límites de detección tan bajos como 2 mg/L

(ácido caprónico), hasta llegar al límite más alto de 0,14 mg/mL del ácido palmítico que usualmente se presenta en cantidades mayores por ser un ácido graso abundante en la naturaleza, por lo que no es necesario un límite de detección menor para esta determinación en específico. Además este ácido graso presenta el mayor rango.

Las curvas de calibración de todos los ácidos grasos presentan unos coeficientes de linealidad cercanos a la unidad, siendo el menor de estos de 0,99813 que le corresponde al ácido cis-13,16-docosadienoico, siendo que este ácido no se presenta en la mayor parte de las muestras analizadas, se concluye que no es necesario un índice mayor. Pero sin embargo, cumple el requisito antes mencionado de superar el 0,98. El  $R^2$  promedio de todas las curvas de calibración es de 0,9989, por lo cual se denota que la determinación de metil ésteres de ácidos grasos es confiable.

Los interceptos y pendientes de cada curva de calibración son muy variables debido a que dependen de la respuesta que tenga el detector frente a cada ácido graso, sin embargo se puede observar que las curvas de calibración pasan por puntos muy cercanos al 0, en promedio el intercepto en el eje Y es de -0,03. La pendiente de estas curvas denota sensibilidad, la cual es alta debido a que se encuentra en el orden promedio de  $4 \times 10^{-6}$  pA/(mg/ml). Se encontró la sensibilidad más baja para el ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico, y la más alta para el ácido behénico.

En cuanto al análisis de perfil de ácidos grasos y ácidos grasos trans, existen incontables estudios en otros países que señalan la importancia de dicha investigación. Uno de estos es trabajos se titula “Revisión de los niveles de ácidos grasos trans encontrados en distintos tipos de alimentos”; en este estudio se realiza una revisión bibliográfica de varias investigaciones con el mismo objetivo. Dicho trabajo recalca que existen muestras de

alimentos “libres de grasas trans”, como por ejemplo, margarinas, que contienen hasta con 34,30% de estos ácidos grasos. [70] Estos resultados son comparables a los obtenidos en este trabajo de disertación tomando en cuenta que las matrices analizadas son cárnicos y productos de base grasa. Es además significativo recalcar la importancia del estudio de perfil de ácidos grasos en alimentos para un país, en especial el Ecuador, debido a la poca cantidad existente de estos estudios que analicen los ácidos grasos de los alimentos expendidos localmente.

Al discutir sobre el análisis de las muestras, se observa que de las variedades de mortadela estudiadas, la mortadela corriente tiene una ligera cantidad del ácido graso EPA que ha demostrado según estudios ser beneficioso para el tratamiento de la hipertensión [71], lo que sería bueno para los consumidores de este producto. Sin embargo, debido a que la cantidad de este ácido graso apenas bordea el 0,38% de los ácidos grasos extraídos y sumado al hecho de que esta variedad contiene también un contenido apreciable de ácidos grasos trans de alrededor del 5% (contenido más alto entre las variedades de mortadela analizadas), convierte a esta muestra en medianamente recomendable frente a las variedades extra y especial, debido a que éstas contienen mayor cantidad de ácidos grasos saturados y menor cantidad de poliinsaturados.

En general, todas las variedades de mortadela estudiadas tienen un contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados mayor al contenido de ácidos grasos poliinsaturados. Siendo la variedad especial la que supera a las demás en contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados; sin embargo esta misma variedad contiene menor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en comparación a sus variedades análogas.

Entre las variedades de salchichas analizadas se puede observar que las variedades Hot Dog y de pollo tienen un contenido comparable de ácidos grasos, es decir presentan un porcentaje cercano de ácidos grasos saturados e insaturados y presentan grasas trans. En contraste, la variedad longaniza contiene más cantidad de ácidos grasos saturados, y menor cantidad de insaturados que sus análogas además de un porcentaje mayor de ácidos grasos trans, por lo cual no sería recomendable su consumo.

Las muestras de chorizo estudiadas tienen contenidos de ácidos grasos saturados e insaturados totales comparables, que demuestran que éstas se parecen entre sí. Es necesario destacar que la variedad paiza botón contiene una mayor cantidad de ácidos grasos saturados y una menor de insaturados.

Existe una relación  $\omega 6/\omega 3$  mucho mayor en la variedad parrillero, esto se debe a que contiene menor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega 3$ , lo que conlleva a que esta relación se eleve. Es necesario notar que es el único grupo de muestras que no contiene cantidades apreciables de ácidos grasos trans; lo cual es motivo para recomendar su consumo.

En las muestras de jamones se nota que tienen cantidades comparables de ácidos grasos saturados, pero el jamón serrano posee más ácidos grasos monoinsaturados que sus contrapartes, además de no poseer un porcentaje apreciable de ácidos grasos trans, lo cual es bueno para los consumidores de este producto, frente a otras variedades de jamones, con el único inconveniente de el precio de venta de éste, debido a que esta variedad sobrepasa en costo a las demás. Para las variedades jamonada y sandwichero es alarmante que la cantidad de ácidos grasos trans sea mayor que la cantidad de ácidos grasos saturados

debido a que estos dos tipos de ácidos grasos son peligrosos para la salud si son consumidos en exceso.

Para la muestra de morcilla, se nota que también tiene porcentajes de ácidos grasos comparables con los demás embutidos, pero es más evidente los ácidos grasos monoinsaturados, donde el ácido eláidico conforma la mayor parte. Es además la muestra que menos ácidos grasos poliinsaturados contiene; también se observa que el porcentaje de ácidos grasos trans es preocupante debido a que de todas las muestras analizadas, entre embutidos y mayonesas, esta muestra tiene el mayor contenido de estos ácidos grasos perjudiciales para la salud, por lo que se infiere que esta variedad de embutido es poco recomendable para su consumo.

La muestra de tocineta posee contenidos de ácidos grasos, saturados, mono y poliinsaturados comparables a todos los embutidos, sin embargo es necesario recalcar que posee una cantidad alta de ácidos grasos trans, siendo después de la morcilla la muestra analizada con mayor cantidad de estos ácidos grasos, seguida por el paté de carne de cerdo y res que al igual que la tocineta y la morcilla de sangre posee una relación comparable a los demás embutidos entre ácidos grasos pero además mucha cantidad de ácidos grasos trans. Entre estas muestras, la morcilla tiene mayor cantidad de ácidos grasos monoinsaturados pero menor cantidad de ácidos grasos saturados que los encontrados en la tocineta ahumada y en el paté de carne de res y cerdo.

En las mayonesas se observa que el contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados va en orden ascendente, debido a que estas matrices no poseen una gran cantidad de ácidos grasos saturados, sino más bien, debido a su composición oleosa tienen una cantidad alta de ácidos grasos poliinsaturados, siendo el

ácido linoleico el más notable. También se presentan cantidades de ácidos grasos monoinsaturados, pero al igual que los saturados, conforman una cantidad menor del total de ácidos grasos extraídos. Siendo estos últimos los de menor contenido entre todas las matrices analizadas.

Al analizar la variedad corriente frente a la light se observa que la variedad light tiene menor cantidad de ácidos grasos saturados y mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, lo que se traduce en una mejora frente a la variedad corriente. Sin embargo, a pesar de que ambas tienen una cantidad comparable de ácidos grasos trans, la variedad light tiene un poco más de estos.

En términos generales, de los ácidos grasos totales presentes en todas las variedades de embutidos, se observa que la mayor parte son ácidos grasos saturados y monoinsaturados y en menor medida los ácidos grasos poliinsaturados; esto demuestra concordancia con la procedencia de esta grasa de origen animal. En contraste, las variedades de mayonesa analizadas presentan un contenido mayor de ácidos grasos poliinsaturados, frente a los ácidos grasos saturados y monoinsaturados, que también concuerda con el origen de su preparación en la cual se usa aceites vegetales.

## CAPÍTULO 4

### 4.1. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1.1. Conclusiones

- La técnica de cromatografía de gases con columna capilar y detección FID para el análisis de metilesteres de ácidos grasos proporciona muy buenos resultados para los parámetros estadísticos necesarios en la cuantificación de estos;  $R^2$  cercanos a la unidad en promedio 0,998922 e interceptos cercanos a 0.
- En la presente investigación se concluye de acuerdo a los resultados obtenidos que existe un contenido significativo de ácidos grasos saturados en los embutidos y mayonesas de mayor consumo en la población del Distrito Metropolitano de Quito, situándose en alrededor del 31%.
- La muestra con mayor cantidad de ácidos grasos saturados es la salchicha de variedad longaniza con un contenido total de alrededor de 44%.
- Las muestras analizadas tienen un contenido promedio de ácidos grasos insaturados de alrededor de 41%, siendo más notables en la morcilla de sangre y en el chorizo parrillero.
- En las mayonesas sobresale el contenido de ácidos grasos poliinsaturados debido a que estos productos contienen altas cantidades de ácido Linoleico.
- De las muestras analizadas, dos variedades de mortadela, dos de salchicha, dos de jamones y las 3 variedades de chorizo presentan

contenidos inapreciables de ácidos grasos trans, lo cual es positivo para los consumidores de estos alimentos.

- Se encontró ligeras cantidades del ácido graso esencial  $\omega 3$  EPA en las muestras de mortadela corriente, chorizo corriente y paísa botón, jamón serrano y sandwichero, morcilla, tocineta y paté de carne de cerdo y res.
- El contenido de ácidos grasos trans en los productos analizados es de alrededor del 12% siendo más notable en la morcilla de sangre.
- En promedio, todas las muestras tienen alrededor de un 53% de ácidos grasos insaturados cis, de los cuales los valores más altos se encuentran en las mayonesas y en las variedades de chorizo parrillero y corriente.
- El ácido graso trans más relevante en las muestras analizadas es el ácido eláídico, pero también se presentan ligeras cantidades del ácido linoleáídico.
- La relación  $\omega 6/\omega 3$  no es la adecuada en las muestras analizadas, especialmente en las mayonesas, superando significativamente la relación recomendada. Ninguna de las muestras mantiene una relación  $\omega 6/\omega 3$  en concentraciones saludables, debido a que las cantidades de ácidos grasos de la familia  $\omega 3$  son bajas.
- La sumatoria promedio de grasas saturadas y grasas trans de los productos analizados es alrededor del 47%.

#### 4.1.1. RECOMENDACIONES

- Por los resultados obtenidos en este análisis de embutidos y mayonesas, se recomienda limitar el consumo de alimentos fuente de ácidos grasos trans como mayonesas, morcilla, tocineta y paté de carne de cerdo y res.
- Se sugiere ampliar la investigación sobre estas matrices mediante un análisis proximal de las mismas para conocer el contenido total graso, proteína bruta, fibra y contenido de cenizas para ahondar más sobre su contenido nutricional.
- Se propone ampliar esta investigación de perfil de ácidos grasos a otras matrices alimentarias, cuya variedad es extensa, para profundizar en la calidad de la grasa que estas contienen.
- Se recomienda realizar un estudio de nutrición de la ciudad de Quito para conocer los alimentos más consumidos por los habitantes y su efecto en la relación de ácidos grasos  $\omega 6/\omega 3$ .
- Se invita a realizar un estudio comparativo entre métodos de extracción de grasas, usando diferentes solventes o procedimientos, en varios alimentos para determinar el método de extracción de grasa óptimo para el análisis de perfil de ácidos grasos.
- Se sugiere probar el método con una columna capilar de mayor longitud y una configuración de temperatura de horno de columna diferente para aumentar la eficiencia de la separación de metil ésteres de ácidos grasos y realizar dicho análisis en menor tiempo.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Sabater, J. Sabater, G. *Ácidos grasos: importancia metabólica*. [en línea], Última modificación: 26 de Junio, 2006; Disponible en: <<http://www.sabater-tobella.com/index.php?id=331>> [Fecha de consulta: 11 de mayo de 2013]
- [2] Consulta FAO/OMS de Expertos (1994), *Grasas y aceites en la nutrición humana*, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. (Estudios FAO: Alimentación y Nutrición, N° 57).
- [3] [55] INEC, Encuesta de Estratificación del Nivel Socioeconómico. [en línea], Disponible:  
<[http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com\\_content&view=article&id=112&Itemid=90&&TB\\_iframe=true&height=700&width=1527](http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com_content&view=article&id=112&Itemid=90&&TB_iframe=true&height=700&width=1527)> [Fecha de consulta: 11/mayo/2013].
- [4] [63] Brouwer I., Wanders A., Katan M. (2010), *Effect of Animal and Industrial Trans Fatty Acids on HDL and LDL Cholesterol Levels in Humans – A Quantitative Review*, [en línea], Disponible: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2830458/>> [Fecha de consulta: 10/febrero/2014].
- [5] Guzmán, A. (2011), *Perfil de ácidos grasos y contenido de ácidos grasos trans en productos ecuatorianos de mayor consumo*, Disertación de licenciatura en Nutrición Humana, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
- [6] German J. y Dillard C., (2010), *Saturated Fats: A Perspective from Lactation and Milk Composition*, [en línea], Disponible:  
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2950926/>> [Fecha de consulta: 10/febrero/2014].

- [7] Castro-González M., Ojeda A., Silencio J., Cassis L., Ledesma H., Pérez-Gil F., (2004), *Perfil de ácidos grasos de 25 pescados marinos mexicanos con especial énfasis en sus ácidos grasos  $\omega 3$  como componentes nutracéuticos*, [en línea], Disponible: <[http://www.alanrevista.org/ediciones/2004-3/perfil\\_lipidico\\_pescados\\_marinos\\_mexicanos.asp](http://www.alanrevista.org/ediciones/2004-3/perfil_lipidico_pescados_marinos_mexicanos.asp)> [Fecha de consulta: 10/febrero/2014].
- [8] Ronayne P. (2000), *Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación del lactante*, [en línea], Disponible: <[http://www3.sap.org.ar/staticfiles/archivos/2000/arch00\\_4/00\\_231\\_238.pdf](http://www3.sap.org.ar/staticfiles/archivos/2000/arch00_4/00_231_238.pdf)> [Fecha de consulta: 10/febrero/2014].
- [9] [70] Griguol, V., León-Camacho, M., y Vicario I. (2007), *Revisión de los niveles de ácidos grasos trans encontrados en distintos tipos de alimentos*, Sevilla, En línea, Disponible: <<http://digital.csic.es/bitstream/10261/2457/1/Trans.pdf>> [Fecha de consulta: 10/febrero/2014]
- [10] [12] [15] [30] Bohinski, C. (1998), *Bioquímica*, 5º edición, Ed. Pearson Education, México, pp. 265-277.
- [11] [13] [14] Kolman J. (2004), *Bioquímica texto y atlas*, 3º edición, Ed. Panamericana, España, pp. 46.
- [16] [17] [18] [19] [20] [21] [22] [23] [24] [25] [26] [27] [28] [29] [31] Lehninger A. (2009), *Principios de Bioquímica*, 5º edición, Ed. Omega S.A., Barcelona, pp. 343-365.
- [32] [33] Velásquez G., (2006), *Fundamentos de una alimentación saludable*, 1º edición, Ed. Universidad de Antioquía, Medellín, pp. 50-51.

[34] [37] Morante S., Sierra I., Del Hierro I. (2007), *Desarrollo de métodos analíticos para la separación quiral y su aplicación al proceso de síntesis asimétrica*, Ed. Dykinson, Madrid, pp. 27.

[35] [59] Dosal, M., Villanueva, M. (2008), *Introducción a la metodología química*, [en línea], Disponible:

<[http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION\\_23498.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION_23498.pdf)>

[Fecha de consulta: 19/mayo/2014].

[36] Pickering W. (1980), *Química Analítica Moderna*, 1º edición, Ed. Reverté, Barcelona, pp. 44-45.

[38] [40] Henao L., Duarte M., Agreda J., Gómez F. (2009), *Espectrofotometría, Métodos espectroanalíticos*, Bogotá, pp. 1-2.

[39] IUPAC, (1995), *Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods including Detection and Quantification Capabilities*, Pure & Appl. Chem., 67 pp. 1699-1723.

[41] Jurado, J (2008), *Aplicación de Microsoft Excel a la Química Analítica: validación de métodos analíticos*, pp. 28, [en línea], Disponible: <<http://personal.us.es/jmjurado/docs/AQAEXCEL.pdf>> [Fecha de consulta: 15/mayo/2014].

[42] [43] [44] [45] [46] [47] [48] [49] Skoog D. (2001), *Principios de análisis instrumental*, 5º edición, Ed. McGraw-Hill, Madrid, pp.759-768.

[50] [56] Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S (1957), *A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues*, J. Biol. Biochem., 226, pp. 497-509

- [51] García J., Díaz I. (2006), *Nuevas tendencias en el análisis de ácidos grasos*, Cataluña, En línea, Disponible: <[www.researchgate.net/profile/Isabel\\_Diaz/publication/36731164\\_Nuevas\\_tendencias\\_en\\_el\\_analisis\\_de\\_cidos\\_grasos/file/3deec5253c2f50bcf7.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Isabel_Diaz/publication/36731164_Nuevas_tendencias_en_el_analisis_de_cidos_grasos/file/3deec5253c2f50bcf7.pdf)>
- [52] Iverson S., Lang S. y Cooper M., (2001), *Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue*, En línea, Disponible: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11795862>> [Fecha de consulta: 10/marzo/2014]
- [53] Salimon J., Talal A., y Salih N., (2014), *Comparison of two derivatization methods for the analysis of fatty acids and trans fatty acids in bakery products using gas chromatography*, The Scientific World Journal, Article ID 906407.
- [54] Carvalho A. y Malcata F., (2005), *Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Marine Lipids: Insight Studies*. J. Agricultural and Food Chemistry, 53, pp. 5049-5059
- [57] López, P., Pozo, P., Guzmán, A., (2012), *Perfil de ácidos grasos y contenido de ácidos grasos trans en productos ecuatorianos de mayor consumo*, Revista PUCE, 94, pp. 125-147
- [58] Horwitz W., Latimer G., (2005), *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18° edición, Ed. AOAC International, Maryland, Cap. 41, pp. 20-25.
- [60] [61] [62] [64] [66] [67] [68] Simopoulos A., (1999), *Essential fatty acids in health and chronic disease*, American Journal of Clinical Nutrition, vol. 70 no. 3, pp. 560s-569.
- [63] World Health Organization, (2011), *Marine oil supplementation to improve pregnancy outcomes*, En línea, Disponible:

<[http://www.who.int/elena/titles/bbc/fish\\_oil\\_pregnancy/en/](http://www.who.int/elena/titles/bbc/fish_oil_pregnancy/en/)> [Fecha de consulta: 19/marzo/2014]

[65] World Health Organization, (2011), *Potential cardiovascular mortality reductions with stricter food policies in the United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland*, En línea, Disponible: <<http://www.who.int/bulletin/volumes/90/7/11-092643/en/>> [Fecha de consulta: 19/marzo/2014]

[69] Agilent Technologies, (Edición 2011-2012) *Catálogo Esencial de Cromatografía y Espectroscopía: guía completa de referencia*, pp. 634.

[71] Grynberg, A. (2005), *Hypertension prevention: from nutrients to (fortified) foods to dietary patterns*, J. Human Hypertension., 19, pp. S25-S33

[72] National Center for Biotechnology Information, *PubChem Compounds*, En línea, Disponible: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>> [Fecha de consulta: 10/febrero/2014]



# Certificate of Composition

DESCRIPTION: F.A.M.E. Mix C4-C24

CATALOG NO.: 18919-1AMP  
LOT NO.: LC02357

MFG. DATE: Aug 2013  
EXP. DATE: Aug 2016

ANALYTE	CAS NO.	PURITY (1)	WEIGHT% (2)	SUPELCO LOT NO.
TRANS-9-ELAIDIC METHYL ESTER	1937-62-8	99.7	2.00	LB93221
METHYL LINOLENATE	301-00-8	99.9	2.00	LB89406
METHYL EICOSENOATE	2390-09-2	99.9	2.01	LC01495
CIS-10-HEPTADECENOIC ACID METH	75190-82-8	99.9	2.07	LB97262
CIS-11,14-EICOSADIENOIC ACID M	2463-02-7	99.9	2.01	LB92980
CIS-11,14,17-EICOSATRIENOIC AC	55682-88-7	99.9	2.00	LB94324
CIS-8,11,14-EICOSATRIENOIC ACI	21061-10-9	99.9	2.00	LB99668
CIS-13,16-DOCOSADIENOIC ACID M	61012-47-3	99.9	2.00	LB90799

(1) Determined by GC-FID unless otherwise noted.

(a) Resale Item.

(2) Weight percent of analyte, calculated by using analyte weights. The total may not equal 100% due to rounding. Weight concentrations may not remain stable after opening, even if resealed.

NIST-Traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot.

*Duane Funk*

Duane Funk  
Quality Manager

Supelco warrants that its products conform to the information contained in this publication. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. Please see the latest catalog or order invoice and packing slip for additional terms and conditions of sale.

**SUPELCO**  
Solutions within.™

595 North Harrison Road  
Bellefonte, PA 16823-0048 USA  
Phone (814) 359-3441

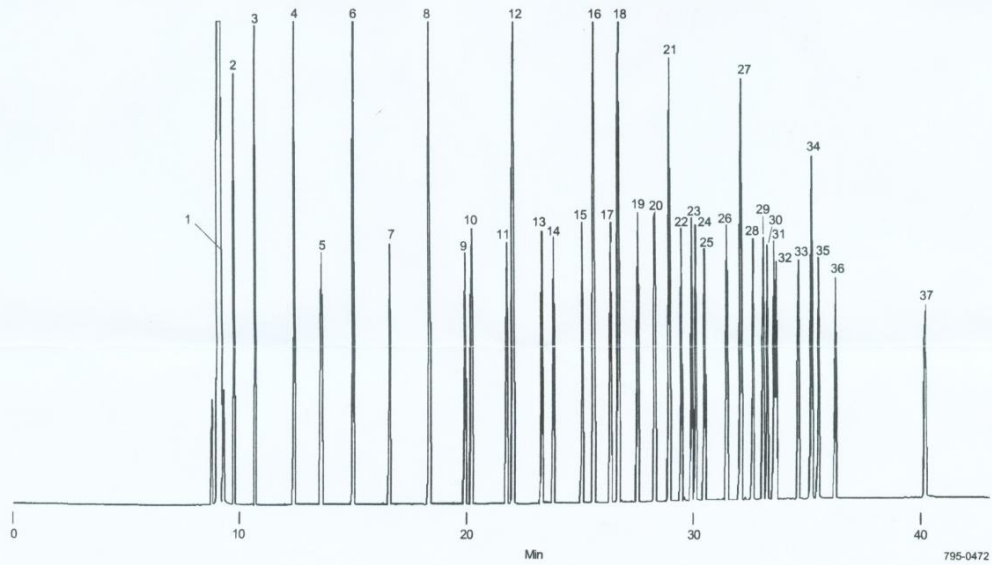
This Data Sheet Contains Important Information About The Product.

**Supelco™ 37 Component FAME Mix, 100mg Neat**  
Catalog No. 18919-1AMP

This fatty acid methyl ester (FAME) mixture is carefully prepared by weight. The weight percentage of each component is indicated.

Column: **SP™-2560, 100m x 0.25mm ID, 0.20µm film**  
Cat. No.: **24056**  
Oven: **140°C (5 min) to 240°C at 4°C/min**  
Carrier: **helium, 20cm/sec**  
Det.: **FID, 260°C**  
Inj.: **1µL, 260°C, split 100:1**  
Sample: **Dilute to 10mg/mL in methylene chloride**

Component	Weight %
1. Butyric Acid Methyl Ester (C4:0)	4%
2. Caproic Acid Methyl Ester (C6:0)	4%
3. Caprylic Acid Methyl Ester (C8:0)	4%
4. Capric Acid Methyl Ester (C10:0)	4%
5. Undecanoic Acid Methyl Ester (C11:0)	2%
6. Lauric Acid Methyl Ester (C12:0)	4%
7. Tridecanoic Acid Methyl Ester (C13:0)	2%
8. Myristic Acid Methyl Ester (C14:0)	4%
9. Myristoleic Acid Methyl Ester (C14:1)	2%
10. Pentadecanoic Acid Methyl Ester (C15:0)	2%
11. cis-10-Pentadecenoic Acid Methyl Ester (C15:1)	2%
12. Palmitic Acid Methyl Ester (C16:0)	6%
13. Palmitoleic Acid Methyl Ester (C16:1)	2%
14. Heptadecanoic Acid Methyl Ester (C17:0)	2%
15. cis-10-Heptadecenoic Acid Methyl Ester (C17:1)	2%
16. Stearic Acid Methyl Ester (C18:0)	4%
17. Elaidic Acid Methyl Ester (C18:1n9t)	2%
18. Oleic Acid Methyl Ester (C18:1n9c)	4%
19. Linolelaidic Acid Methyl Ester (C18:2n6t)	2%
20. Linoleic Acid Methyl Ester (C18:2n6c)	2%
21. Arachidic Acid Methyl Ester (C20:0)	4%
22. γ-Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n6)	2%
23. cis-11-Eicosenoic Acid Methyl Ester (C20:1)	2%
24. Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n3)	2%
25. Heneicosanoic Acid Methyl Ester (C21:0)	2%
26. cis-11,14-Eicosadienoic Acid Methyl Ester (C20:2)	2%
27. Behenic Acid Methyl Ester (C22:0)	4%
28. cis-9,11,14-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester (C20:3n6)	2%
29. Erucic Acid Methyl Ester (C22:1n9)	2%
30. cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester (C20:3n3)	2%
31. Arachidonic Acid Methyl Ester (C20:4n6)	2%
32. Tricosanoic Acid Methyl Ester (C23:0)	2%
33. cis-13,16-Docosadienoic Acid Methyl Ester (C22:2)	2%
34. Lignoceric Acid Methyl Ester (C24:0)	4%
35. cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid Methyl Ester (C20:5n3)	2%
36. Nervonic Acid Methyl Ester (C24:1)	2%
37. cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid Methyl Ester (C22:6n3)	2%



T703001  
©2003 Sigma-Aldrich Co.

SUPELCO  
Bellefonte, PA

## Anexo N°2.- Esquema de la encuesta

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES - FACULTAD DE ENFERMERIA**  
**ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS - CARRERA DE NUTRICIÓN HUMANA**



**PUCE**

**NOMBRE DEL ESTUDIO**  
**DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN PRODUCTOS ECUATORIANOS DE MAYOR CONSUMO**

<b>Edad</b>		<b>Años</b>
<b>Sexo</b>	<b>M</b>	<b>F</b>

**Nivel de educación máximo que ha aprobado la persona que compra (marque con una X, una sola respuesta):**

<b>Sin instrucción</b>		<b>Primaria incompleta</b>		<b>Primaria completa</b>	
<b>Secundaria incompleta</b>		<b>Secundaria completa</b>		<b>Superior incompleta</b>	
<b>Superior completa</b>		<b>Post-grado</b>			

**FAVOR SIRVASE CONTESTAR LAS SIGUIENTES PREGUNTAS DE LA MANERA MAS REAL POSIBLE PUESTO QUE SU INFORMACION NOS PERMITIRA CONOCER LAS CARACTERISTICAS DE LA OFERTA DE ALIMENTOS EN NUESTRO MEDIO**  
 De la siguiente lista de alimentos que aparece en cada una de las preguntas, marque con una **X** aquel alimento que consume con mayor frecuencia. Escriba el **tipo**, la **marca** y el **lugar** dónde lo compra. Se han agregado algunos ejemplos para su orientación pero si consume otro producto que no se nombre utilice la opción Otros.

Ejemplos de **Tipo** de embutido:

<b>Mortadelas</b>	Corriente; extra; light de pavo; bologna; especial; queso de chanco
<b>Salchichas</b>	Hot-dog; vienasas; vienesa coctel, de pollo; parrillera; light de pavo; frankfurter; ranchera; cervecero; botones, blanca; olmas; con queso; longaniza
<b>Chorizos</b>	Chorizillo; corriente; especial; español; tradicional; cervecero; colombiana; ahumado; parrillero
<b>Jamones</b>	Pastel mejicano, vienesa especial; jamonada; jamón light de pavo; de espalda; serrano; de pierna; navideño; americano; sandwichero; premium
<b>Morcillas</b>	De sangre; salame
<b>Tocinos</b>	Corriente; ahumado
<b>Paté</b>	De jamón; de hígado

Ejemplo de **Marca** de embutido:

La Ibérica; Fritz; Juris; La Suiza; Don Diego; La Europea; Federer; La Italiana, Gut; Los Andes; El Español; Plumrose; El artesano; Supermaxi; sin marca
--

Ejemplo de **Lugar** de compra:

Supermaxi; Santa María; Mi Comisariato; Tienda del barrio; Minimercado; Supermercados Tía; Aki; Magda; mercado popular; tercerna del barrio
---

**¿Qué embutido utiliza en su hogar con mayor frecuencia para preparar los alimentos? (una sola respuesta)**

<b>Mortadelas</b>		<b>tipo</b>		<b>Marca</b>		<b>Lugar de compra</b>	
<b>Salchichas</b>		<b>tipo</b>		<b>Marca</b>		<b>Lugar de compra</b>	
<b>Chorizos</b>		<b>tipo</b>		<b>Marca</b>		<b>Lugar de compra</b>	
<b>Jamones</b>		<b>tipo</b>		<b>Marca</b>		<b>Lugar de compra</b>	
<b>Morcillas</b>		<b>tipo</b>		<b>Marca</b>		<b>Lugar de compra</b>	
<b>Tocinos</b>		<b>tipo</b>		<b>Marca</b>		<b>Lugar de compra</b>	
<b>Patés</b>		<b>tipo</b>		<b>Marca</b>		<b>Lugar de compra</b>	
<b>Otros</b>		<b>tipo</b>		<b>Marca</b>		<b>Lugar de compra</b>	

**¿Qué MAYONESA utiliza en su hogar con mayor frecuencia para preparar los alimentos? (una sola respuesta)**

<b>Marca</b>		<b>Tipo</b>		<b>Lugar de compra</b>	
--------------	--	-------------	--	------------------------	--

# Anexo N°3.- Método cromatográfico utilizado para la determinación de perfil de ácidos grasos

## 41.1.28A

### AOAC Official Method 996.06 Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method First Action 1996 Revised 2001

(Applicable to determination of fat in foods.)

**Caution:** Boron trifluoride may be fatal if inhaled.

See Tables 996.06A–C for the results of the interlaboratory study supporting acceptance of the method.

#### A. Principle

Fat and fatty acids are extracted from food by hydrolytic methods (acidic hydrolysis for most products, alkaline hydrolysis for dairy products, and combination for cheese). Pyrogallic acid is added to minimize oxidative degradation of fatty acids during analysis. Triglyceride, triundecanoin ( $C_{11,0}$ ), is added as internal standard. Fat is extracted into ether, then methylated to fatty acid methyl esters (FAMES) using  $BF_3$  in methanol. FAMES are quantitatively measured by capillary gas chromatography (GC) against  $C_{11,0}$  internal standard. Total fat is calculated as sum of individual fatty acids expressed as triglyceride equivalents. Saturated and monounsaturated fats are calculated as sum of respective fatty acids. Monounsaturated fat includes only *cis* form.

#### B. Apparatus

(a) *Gas chromatograph (GC)*.—Equipped with hydrogen flame ionization detector, capillary column, split mode injector, oven temperature programming sufficient to implement a hold-ramp-hold sequence. Operating conditions: temperature ( $^{\circ}C$ ): injector, 225; detector, 285; initial temp, 100 (hold 4 min); ramp,  $3^{\circ}C/min$ ; final temp 240; hold 15 min; carrier gas, helium; flow rate, 0.75 mL/min; linear velocity, 18 cm/s; split ratio, 200:1.

(b) *Capillary column*.—Separating the FAME pair of adjacent peaks of  $C_{18,3}$  and  $C_{20,1}$  and the FAME trio of adjacent peaks of  $C_{22,1}$ ,  $C_{20,3}$ , and  $C_{20,4}$  with a resolution of 1.0 or greater. SP2560 100 m  $\times$  0.25 mm with 0.20  $\mu m$  film is suitable.

(c) *Mojonnier flasks*.

- (d) *Stoppers*.—Synthetic rubber or cork.
- (e) *Mojonnier centrifuge basket*.
- (f) *Hengar micro boiling granules*.
- (g) *Baskets*.—Aluminum and plastic.
- (h) *Shaker water bath*.—Maintaining  $70-80^{\circ}C$ .
- (i) *Steam bath*.—Supporting common glassware.
- (j) *Water bath*.—With nitrogen stream supply, maintaining  $40 \pm 5^{\circ}C$ .
- (k) *Wrist action shaker*.—Designed for Mojonnier centrifuge baskets.
- (l) *Mojonnier motor driven centrifuge*.—Optional; maintaining  $600 \times g$ .
- (m) *Gravity convection oven*.—Maintaining  $100 \pm 2^{\circ}C$ .
- (n) *Vortex mixer*.
- (o) *Gas dispersion tubes*.—25 mm, porosity “A,” extra coarse, 175  $\mu m$ .
- (p) *Three dram vials*.—About 11 mL.
- (q) *Phenolic closed top caps*.—With polyvinyl liner, to fit vials.
- (r) *Teflon/silicone septa*.—To fit vials.

#### C. Reagents

- (a) *Pyrogallic acid*.
- (b) *Hydrochloric acid*.—12M and 8.3M. To make 8.3M HCl, add 250 mL 12M HCl to 110 mL  $H_2O$ . Mix well. Store at room temperature ( $20-25^{\circ}C$ ).
- (c) *Ammonium hydroxide*.—58% (w/w).
- (d) *Diethyl ether*.—Purity appropriate for fat extraction.
- (e) *Petroleum ether*.—Anhydrous.
- (f) *Ethanol*.—95% (v/v).
- (g) *Toluene*.—Nanograde.
- (h) *Chloroform*.
- (i) *Sodium sulfate*.—Anhydrous.
- (j) *Boron trifluoride reagent*.—7%  $BF_3$  (w/w) in methanol, made from commercially available 14%  $BF_3$  solution. Prepare in the hood.
- (k) *Diethyl ether-petroleum ether mixture*.—1 + 1 (v/v).
- (l) *Triglyceride internal standard solution*.— $C_{11,0}$ -triundecanoin; 5.00 mg/mL in  $CHCl_3$ . Accurately weigh 2.50 g  $C_{11,0}$ -triundecanoin into 500 mL volumetric flask. Add ca 400 mL  $CHCl_3$  and mix until dissolved. Dilute to volume with  $CHCl_3$ . Invert flask at least 10 additional times. Triglyceride internal stan-

Table 996.06A Interlaboratory study results for determination of total fat in food by hydrolytic extraction—gas chromatography

Sample <sup>a</sup>	$\bar{x}$ , %	$s_r$	$s_R$	$r^b$	$R^c$	RSD <sub>r</sub> , %	RSD <sub>R</sub> , %	No. of labs excluded
Wheat-based cereal	1.96	0.208	0.260	0.582	0.728	10.6	13.3	—
Peanut butter	46.3	0.86	2.37	2.41	6.64	1.85	5.12	2/10
Fish sticks	11.2	0.354	0.541	0.991	1.51	3.14	4.80	2/10
Parmesan cheese	26.5	0.540	4.17	1.51	11.7	2.04	15.8	—
Chocolate cake (baked)	13.3	0.929	1.95	2.60	5.46	7.00	14.7	—
Fruit snack	3.92	0.087	0.146	0.244	0.409	2.22	3.74	1/10
Ground beef	21.9	1.11	1.82	3.11	5.10	5.06	8.32	1/10
Yogurt	1.46	0.131	0.222	0.367	0.622	8.98	15.2	—

<sup>a</sup> Blind duplicates.

<sup>b</sup>  $r = 2.8 \times s_r$ .

<sup>c</sup>  $R = 2.8 \times s_R$ .

<sup>d</sup> Outliers by either Cochran or Grubbs test.

**Table 996.06B Interlaboratory study results for determination of saturated fat in food stuffs by hydrolytic extraction—gas chromatography**

Sample <sup>a</sup>	$\bar{x}$ , %	$s_r$	$s_R$	$r^b$	$R^c$	RSD <sub>r</sub> , %	RSD <sub>R</sub> , %	No. of labs excluded
Wheat-based cereal	0.493	0.0391	0.0522	0.109	0.146	7.92	10.6	1/10
Peanut butter	8.72	0.257	1.81	0.720	5.07	2.95	20.7	1/10
Fish sticks	3.00	0.223	0.572	0.624	1.60	7.44	19.1	1/10
Parmesan cheese	17.4	0.311	2.46	0.871	6.89	1.79	14.1	—
Chocolate cake (baked)	3.56	0.171	0.304	0.479	0.851	4.81	8.55	—
Fruit snack	1.27	0.0242	0.0362	0.0678	0.101	1.90	2.83	2/10
Ground beef	9.98	0.636	1.39	1.78	3.89	6.38	13.9	1/10
Yogurt	0.986	0.119	0.170	0.333	0.476	12.1	17.2	—

<sup>a</sup> Blind duplicates.

<sup>b</sup>  $r = 2.8 \times s_r$ .

<sup>c</sup>  $R = 2.8 \times s_R$ .

<sup>d</sup> Outliers by either Cochran or Grubbs test.

standard solution is stable up to 1 month when stored in refrigerator (2–8°C).

(m) *Fatty acid methyl esters (FAMES) standard solutions.*—(1) *Mixed FAMES standard solution.*—Reference mixture containing series of FAMES, including C<sub>18:1</sub> *cis* and *trans* (available as GLC-85 from Nu Chek Prep, Elysian, MN 56028, USA, or equivalent). To prepare mixed FAMES standard solution, break top of glass vial, open, and carefully transfer contents to 3-dram glass vial. Wash original vial with hexane to ensure complete transfer and add washings to 3-dram glass vial. Dilute to ca 3 mL with hexane.

(2) *C<sub>11:0</sub> FAME standard solution.*—C<sub>11:0</sub>-Undecanoic methyl ester in hexane. Use only in preparation of individual FAME standard solutions, (3). To prepare C<sub>11:0</sub> FAME standard solution, break top of glass vial open and carefully transfer contents to 50 mL volumetric flask. Wash original vial with hexane to ensure complete transfer and add washings to 50 mL volumetric flask. Dilute to volume with hexane. C<sub>11:0</sub> FAME standard solution is stable up to 1 week when stored at 0°C.

(3) *Individual FAME standard solutions.*—Standard solutions of each of following FAMES: C<sub>4:0</sub>-tetraanoic methyl ester, C<sub>6:0</sub>-hexanoic methyl ester, C<sub>8:0</sub>-octanoic methyl ester,

C<sub>10:0</sub>-decanoic methyl ester, C<sub>12:0</sub>-dodecanoic methyl ester, C<sub>13:0</sub>-tridecanoic methyl ester, C<sub>14:0</sub>-tetradecanoic methyl ester, C<sub>14:1</sub>-9-tetradecenoic methyl ester, C<sub>15:0</sub>-pentadecanoic methyl ester, C<sub>15:1</sub>-10-pentadecenoic methyl ester, C<sub>16:0</sub>-hexadecanoic methyl ester, C<sub>16:1</sub>-9-hexadecenoic methyl ester, C<sub>17:0</sub>-heptadecanoic methyl ester, C<sub>17:1</sub>-10-heptadecenoic methyl ester, C<sub>18:0</sub>-octadecanoic methyl ester, C<sub>18:1</sub>-9-octadecenoic methyl ester, C<sub>18:2</sub>-9,12-octadecadienoic methyl ester, C<sub>18:3</sub>-9,12,15-octadecatrienoic methyl ester, C<sub>20:0</sub>-eicosanoic methyl ester, C<sub>20:1</sub>-8-eicosenoic methyl ester, C<sub>20:2</sub>-11,14-eicosadienoic methyl ester, C<sub>20:3</sub>-11,14,17-eicosatrienoic methyl ester, and C<sub>22:0</sub>-docosanoic methyl ester. Prepare individual FAME standard solutions as follows: Break top of glass vial open and carefully transfer contents to 3-dram glass vial. Wash original vial with hexane to ensure complete transfer and add washings to 3-dram glass vial. Add 1.0 mL C<sub>11:0</sub> FAME standard solution, (2), dilute to total volume of ca 3.0 mL with hexane. Individual FAME standard solutions are stable up to 1 week when stored in refrigerator (2–8°C).

#### D. Extraction of Fat

Finely grind and homogenize test samples prior to extraction of fat.

**Table 996.06C Interlaboratory study results for determination of monounsaturated fat in food stuffs by hydrolytic extraction—gas chromatography**

Sample <sup>a</sup>	$\bar{x}$ , %	$s_r$	$s_R$	$r^b$	$R^c$	RSD <sub>r</sub> , %	RSD <sub>R</sub> , %	No. of labs excluded
Wheat-based cereal	0.280	0.0320	0.0560	0.0896	0.157	11.4	20.0	—
Peanut butter	22.3	0.411	1.11	1.15	3.11	1.84	4.96	2/10
Fish sticks	1.83	0.165	0.313	0.462	0.876	9.02	17.1	—
Parmesan cheese	6.43	0.271	1.09	0.759	3.05	4.20	17.0	1
Chocolate cake (baked)	3.79	0.413	1.27	1.16	3.56	10.9	33.5	—
Fruit snack	1.08	0.0453	0.734	0.127	2.06	4.17	67.7	2/10
Ground beef	8.88	0.930	1.96	2.60	5.49	10.5	22.0	—
Yogurt	0.345	0.0222	0.0542	0.0621	0.152	6.42	15.1	1/10

<sup>a</sup> Blind duplicates.

<sup>b</sup>  $r = 2.8 \times s_r$ .

<sup>c</sup>  $R = 2.8 \times s_R$ .

<sup>d</sup> Outliers by either Cochran or Grubbs test.

[*Note:* With matrices of unknown composition, it may be necessary to analyze test portion without addition of internal standard to ensure against interferences. Should interfering peak be found, the area of  $C_{11}$  internal standard peak must be corrected before performing calculations. Use 2.0 mL chloroform instead of internal standard solution.]

(a) *Foods excluding dairy products and cheese.*—Accurately weigh ground and homogenized test portion (containing ca 100–200 mg fat) into labeled Mojonnier flask. Force material into flask as far as possible. Add ca 100 mg pyrogalllic acid, C(a), and 2.00 mL triglyceride internal standard solution, C(l). Add a few boiling granules to flask. Add 2.0 mL ethanol and mix well until entire test portion is in solution. Add 10.0 mL 8.3M HCl and mix well. Place flask into basket in shaking water bath at 70–80°C set at moderate agitation speed. Maintain 40 min. Mix contents of flask on Vortex mixer every 10 min to incorporate particulates adhering to sides of flask into solution. After digestion, remove flask from bath and allow to cool to room temperature (20–25°C). Add enough ethanol to fill bottom reservoir of flask and mix gently.

(b) *Dairy products.*—Accurately weigh ground and homogenized test portion (containing ca 100–200 mg fat) into labeled Mojonnier flask. Force material into flask as far as possible. Add ca 100 mg pyrogalllic acid, C(a), and 2.00 mL triglyceride internal standard solution, C(l). Add a few boiling granules to flask. Add 2.0 mL ethanol and mix well until entire test portion is in solution. Add 4.0 mL  $H_2O$  and mix well. Add 2.0 mL  $NH_4OH$ , C(e), and mix well. Place flask into basket in shaking water bath at 70–80°C set at moderate agitation speed. Maintain 10 min. Mix contents of flask on Vortex mixer every 5 min to incorporate particulates adhering to sides of flask into solution. After digestion, remove flask from water bath and add a few drops of phenolphthalein. Keep solution basic (pink) with addition of ammonium hydroxide. Add enough ethanol to fill bottom reservoir of flask and mix gently.

(c) *Cheese.*—Accurately weigh ground and homogenized test portion (containing ca 100–200 mg fat) into labeled Mojonnier flask. Force material into flask as far as possible. Add ca 100 mg pyrogalllic acid, C(a), and 2.00 mL triglyceride internal standard solution, C(l). Add a few boiling granules to flask. Add 2.0 mL ethanol and mix well until entire test portion is in solution. Add 4.0 mL  $H_2O$  and mix well. Add 2.0 mL  $NH_4OH$ , C(e), and mix well. Place flask into basket in shaking water bath at 70–80°C set at moderate agitation speed. Maintain 20 min. Mix contents of flask on Vortex mixer every 10 min to incorporate particulates adhering to sides of flask into solution. Add 10.0 mL 12M HCl and place flask into boiling steam bath and maintain 20 min. Mix flask contents every 10 min using Vortex mixer. Remove flask from steam bath and allow to cool to room temperature (20–25°C). Add enough ethanol to flask to fill bottom reservoir and mix gently.

Add 25 mL diethyl ether to Mojonnier flask from (a), (b), or (c). Stopper flask and place in centrifuge basket. Place basket in wrist action shaker, securing flask in shaker with rubber tubing. Shake flask 5 min. Rinse stopper into flask with diethyl ether–petroleum ether mixture, C(k). Add 25 mL petroleum ether, stopper flask, and shake 5 min. Centrifuge flask (in basket) 5 min at 600 × g. (*Note:* If centrifuge is not available, allow contents to set at least 1 h until upper layer is clear.) Rinse stopper into flask with diethyl ether–petroleum ether mixture. Decant ether (top) layer into 150 mL beaker and carefully rinse lip of flask into beaker with diethyl ether–petroleum ether mixture. Slowly evaporate ether on steam bath, using

nitrogen stream to aid in evaporation. Residue remaining in beaker contains extracted fat.

#### E. Methylation

Dissolve extracted fat residue in 2–3 mL chloroform and 2–3 mL diethyl ether. Transfer mixture to 3 dram glass vial and then evaporate to dryness in 40°C water bath under nitrogen stream. Add 2.0 mL 7%  $BF_3$  reagent, C(j), and 1.0 mL toluene, C(g). Seal vial with screwcap top containing Teflon/silicone septum. Heat vial in oven 45 min at 100°C. Gently shake vial ca every 10 min. (*Note:* Evaporation of liquid from vials indicates inadequate seals; if this occurs, discard solution and repeat the entire procedure.) Allow vial to cool to room temperature (20–25°C). Add 5.0 mL  $H_2O$ , 1.0 mL hexane, and ca 1.0 g  $Na_2SO_4$ , C(i). Cap vial and shake 1 min. Allow layers to separate and then carefully transfer top layer to another vial containing ca 1.0 g  $Na_2SO_4$ . (*Note:* Top layer contains FAMES including FAME of triglyceride internal standard solution.)

Inject FAMES onto GC column or transfer to autosampler vial for GC analysis.

#### F. GC Determination

Relative retention times (vs FAME of triglyceride internal standard solution) and response factors of individual FAMES can be obtained by GC analysis of individual FAME standard solutions and mixed FAME standard solution. Inject ca 2  $\mu$ L each of individual FAME standard solutions and 2  $\mu$ L of mixed FAMES standard solution. Use mixed FAMES standard solution to optimize chromatographic response before injecting any test solutions. After all chromatographic conditions have been optimized, inject test solutions from E.

#### G. Calculations

Total fat is the sum of fatty acids from all sources, expressed as triglycerides. Expressing measured fatty acids as triglycerides requires mathematical equivalent of condensing each fatty acid with glycerol. For every 3 fatty acid molecules, 1 glycerol ( $HOCH_2CHOHCH_2OH$ ) is required. Essentially, 2 methylene groups and 1 methine group are added to every 3 fatty acids.

Calculate retention times for each FAME in individual FAMES standard solutions, C(m)(3), by subtracting retention time of  $C_{11:0}$  peak from retention time of fatty acid peak. Use these retention times to identify FAMES in mixed FAMES standard solution. Use additional FAME solutions (from the same supplier) when necessary for complete FAME identity verification.

(a) Calculate response factor ( $R_i$ ) for each fatty acid  $i$  as follows:

$$R_i = \frac{P_{S_i}}{P_{S_{C_{11:0}}}} \times \frac{W_{C_{11:0}}}{W_i}$$

where  $P_{S_i}$  = peak area of individual fatty acid in mixed FAMES standard solution;  $P_{S_{C_{11:0}}}$  = peak area of  $C_{11:0}$  fatty acid in mixed FAMES standard solution;  $W_{C_{11:0}}$  = weight of internal standard in mixed FAMES standard solution; and  $W_i$  = weight of individual FAME in mixed FAMES standard solution.

(*Note:* Peaks of known identity with known relative retention times are listed in Table 996.06D. When peaks of unknown identity are observed during the chromatographic run, attempt to identify such peaks using MS, FTIR, etc. Peaks of unknown identity should not be included in the summation when quantifying fat in the test sample.)

**Table 996.06D Retention time of fatty acids and methyl ester (FAME)**

Fatty acid	Retention time, min	Relative retention times (to 11:0 int. std.)
4:0 Butyric	10.49	0.46
6:0 Caproic	12.36	0.54
8:0 Caprylic	15.69	0.68
10:0 Capric	20.39	0.89
11:0 Undecanoic	22.99	1.00
12:0 Lauric	25.58	1.11
13:0 Tridecanoic	28.15	1.22
14:0 Myristic	30.65	1.33
14:1 Myristoleic	32.63	1.42
14:1 <i>trans</i> -Myristelaidic	32.01	1.39
15:0 Pentadecanoic	33.04	1.44
15:1 Pentadecenoic	34.98	1.52
16:0 Palmitic	35.41	1.54
16:1 <i>trans</i> -Palmitelaidic	36.39	1.58
16:1 Palmitoleic	36.88	1.60
17:0 Margaric	37.54	1.63
17:1 Margaroleic	38.92	1.69
18:0 Stearic	39.78	1.73
18:1 <i>trans</i> -6-Petroselenic	40.50	1.76
18:1 <i>trans</i> -Elaidic	40.61	1.77
18:1 <i>trans</i> -11-Vaccenic	40.72	1.77
18:1 Petroselenic	40.90	1.78
18:1 Oleic	40.99	1.78
18:1 Vaccenic	41.18	1.79
18:1 Octadecenoic	41.54	1.81
18:2 <i>trans</i> -Linolelaidic	41.69	1.81
18:2 <i>trans</i> -9-Linolelaidic	42.11	1.83
18:2 <i>trans</i> -12-Linolelaidic	42.53	1.85
18:2 Linoleic	42.87	1.86
20:0 Arachidic	43.75	1.90
18:3 <i>g</i> -Linolenic	44.25	1.92
20:1 Eicosenic <i>cis</i> 5	44.42	1.93
20:1 Eicosenic <i>trans</i> 11	44.45	1.93
20:1 Eicosenic <i>cis</i> 8	44.67	1.94
20:1 Eicosenic <i>cis</i> 11	44.82	1.95
20:1 Eicosenic <i>cis</i> 13	44.99	1.96
18:3 Linolenic	45.02	1.96
18:2 Linoleic—conjugated	45.35	1.97
18:2 Linoleic—conjugated	45.40	1.97
21:0 Heneicosanoic	45.69	1.99
18:2 Linoleic—conjugated	46.18	2.01
18:4 Octadectetraenoic	46.39	2.02
20:2 Eicosadienoic	46.65	2.03
22:0 Behenic	47.46	2.06
20:3 <i>g</i> -Eicosatrienoic	47.94	2.09
22:1 Cetoleic	48.27	2.10
22:1 Erucic	48.50	2.11
20:3 Eicosatrienoic	48.68	2.12
20:4 Arachidonic	48.94	2.13
23:0 Tricosanoic	49.22	2.14
22:2 Docosadienoic	50.17	2.18
24:0 Lignoceric	50.79	2.21
20:5 Eicosapentaenoic	50.96	2.22
24:1 Nervonic	51.92	2.26
22:3 Docosatrienoic	51.98	2.26
22:4 Docosatetraenoic	52.28	2.27
22:5 Docosapentaenoic	54.75	2.38
22:6 Docosahexaenoic	55.82	2.43

**Table 996.06E Factors ( $f_{Tg}$ ) for conversion of FAMES to triglyceride equivalents**

Fatty acid	$F_{Ai}$ <sup>a</sup>	Tri/FAME ( $F_{Tg}$ ) <sup>b</sup>
4:0 Butyric	0.8627	0.9868
6:0 Caproic	0.8923	0.9897
8:0 Caprylic	0.9114	0.9915
10:0 Capric	0.9247	0.9928
11:0 Undecanoic	0.9300	0.9933
12:0 Lauric	0.9346	0.9937
13:0 Tridecanoic	0.9386	0.9941
14:0 Myristic	0.9421	0.9945
14:1 Tetradecenoic	0.9417	0.9944
15:0 Pentadecanoic	0.9453	0.9948
15:1 Pentadecenoic	0.9449	0.9947
16:0 Palmitic	0.9481	0.9950
16:1 Hexadecenoic	0.9477	0.9950
17:0 Margaric	0.9507	0.9953
17:1 Margaroleic	0.9503	0.9952
18:0 Stearic	0.9530	0.9955
18:1 Octadecenoic	0.9527	0.9955
18:2 Octadecadienoic	0.9524	0.9954
18:3 Linolenic	0.9520	0.9954
18:4 Octadectetraenoic	0.9517	0.9954
20:0 Arachidic	0.9570	0.9959
20:1 Eicosenic	0.9568	0.9959
20:2 Eicosadienoic	0.9565	0.9958
20:3 Eicosatrienoic	0.9562	0.9958
20:4 Arachidonic	0.9560	0.9958
20:5 Eicosapentaenoic	0.9557	0.9958
21:0 Heneicosanoic	0.9588	0.9961
22:0 Behenic	0.9604	0.9962
22:1 Docosaenoic	0.9602	0.9962
22:2 Docosadienoic	0.9600	0.9962
22:3 Docosatrienoic	0.9598	0.9961
22:4 Docosatetraenoic	0.9595	0.9961
22:5 Docosapentaenoic	0.9593	0.9961
22:6 Docosahexaenoic	0.9590	0.9961
23:0 Tricosanoic	0.9620	0.9964
24:0 Lignoceric	0.9963	0.9965
24:1 Nervonic	0.9632	0.9965

<sup>a</sup>  $F_{Ai}$  is the conversion factor for conversion of FAMES to corresponding fatty acids.

<sup>b</sup>  $F_{Tg}$  is the conversion factor for conversion of FAMES to triglycerides for individual fatty acids.

(b) Calculate amount of individual (triglycerides) ( $W_{TG}$ ) in test sample as follows:

$$W_{FAMEi} = \frac{P_i \times W_{C_{11:0}} \times 1.0067}{P_{C_{11:0}} \times R_i}$$

$$W_{TG} = W_{FAMEi} \times f_{TG}$$

where  $P_i$  = peak area of fatty acid  $i$  in test portion;  $W_{C_{11:0}}$  = weight of  $C_{11:0}$  internal standard added to test portion, g; 1.0067 = conversion of internal standard from triglyceride to FAME;  $P_{C_{11:0}}$  = peak area of  $C_{11:0}$  internal standard in test portion; and  $f_{TG}$  = conversion factor for FAMEs to triglycerides for individual fatty acids (see Table 996.06E).

(Note: If procedure is followed exactly,  $W_{C_{11:0}}$  should be 0.010 g.)

(c) Calculate amount of total fat in test sample (sum of all fatty acids; expressed as triglycerides [including *cis* and *trans* forms of monounsaturated acids]) as follows:

$$\text{Total fat, \%} = (\sum W_{DG} / W_{\text{test portion}})$$

where  $W_{\text{test sample}}$  = weight of test portion, g.

(d) Calculate weight of each fatty acid ( $W_i$ ) as follows:

$$W_i = W_{FAMEi} \times f_{FAi}$$

where  $f_{FAi}$  = conversion factors for conversion of FAMEs to their corresponding fatty acids (see Table 996.06E).

(e) Calculate percent of saturated fat in test sample (w/w; expressed as saturated fatty acids; sum of  $C_{4:0}$ ,  $C_{6:0}$ ,  $C_{8:0}$ , etc.) as follows:

$$\text{Saturated fat, \%} = (\sum \text{saturated } W / W_{\text{test portion}}) \times 100\%$$

(f) Calculate amount of monounsaturated fat in test sample (w/w; expressed as sum of only *cis* form of monounsaturated fatty acids [ $C_{16:1}$ ,  $C_{17:1}$ ,  $C_{18:1}$  *cis*,  $C_{20:1}$ , etc.]) as follows:

$$\text{Monounsaturated fat, \%} =$$

$$(\sum \text{monounsaturated } W / W_{\text{test portion}}) \times 100\%$$

$$\text{Polyunsaturated fat, \%} =$$

$$(\sum \text{polyunsaturated } W / W_{\text{test portion}}) \times 100\%$$

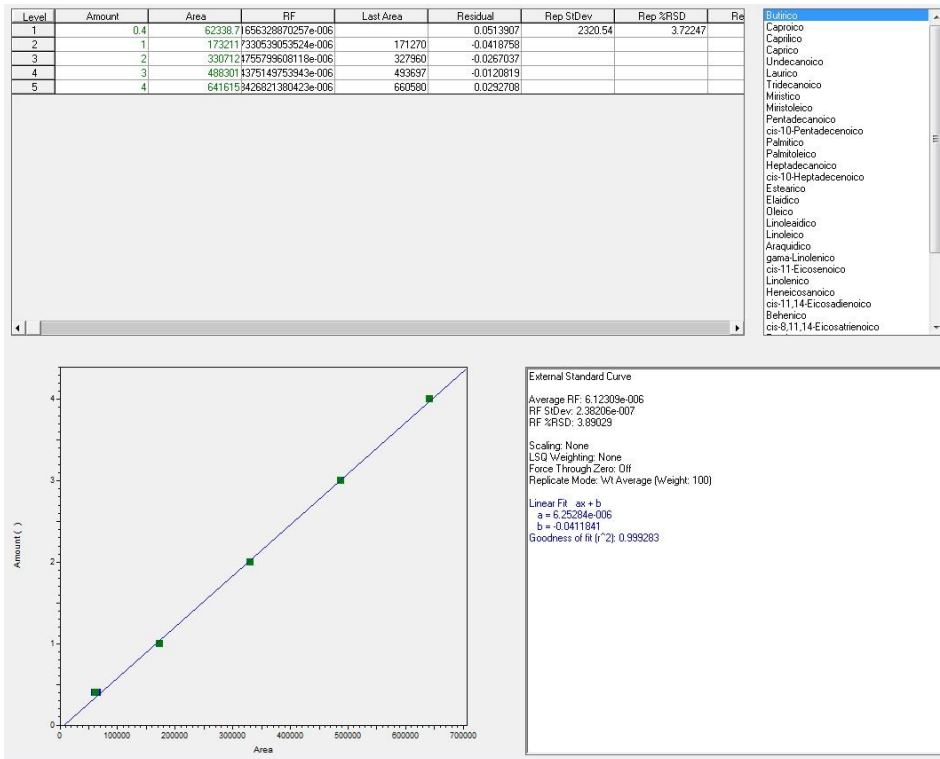
(Note: Test samples containing hydrogenated fat will yield complicated chromatograms due to large number of isomers formed during hydrogenation process. One general indication of hydrogenation is presence of  $C_{18:1}$  *trans* peak(s). For hydrogenated fat chromatograms, use the following guidelines to calculate FAME peak areas: *trans* peaks elute prior to *cis*, therefore, include all peaks between  $C_{18:1}$  *cis* and  $C_{18:2}$  *cis*, *cis* in calculation of  $C_{18:2}$  peak area. Often  $C_{18:1}$  *trans* "peak" consists of broad series of peaks [due to positional isomers from hydrogenation]; include all of these in  $C_{18:1}$  *trans* peak area.)

Reference: *J. AOAC Int.* 80, 555(1997); 82, 1146(1999).

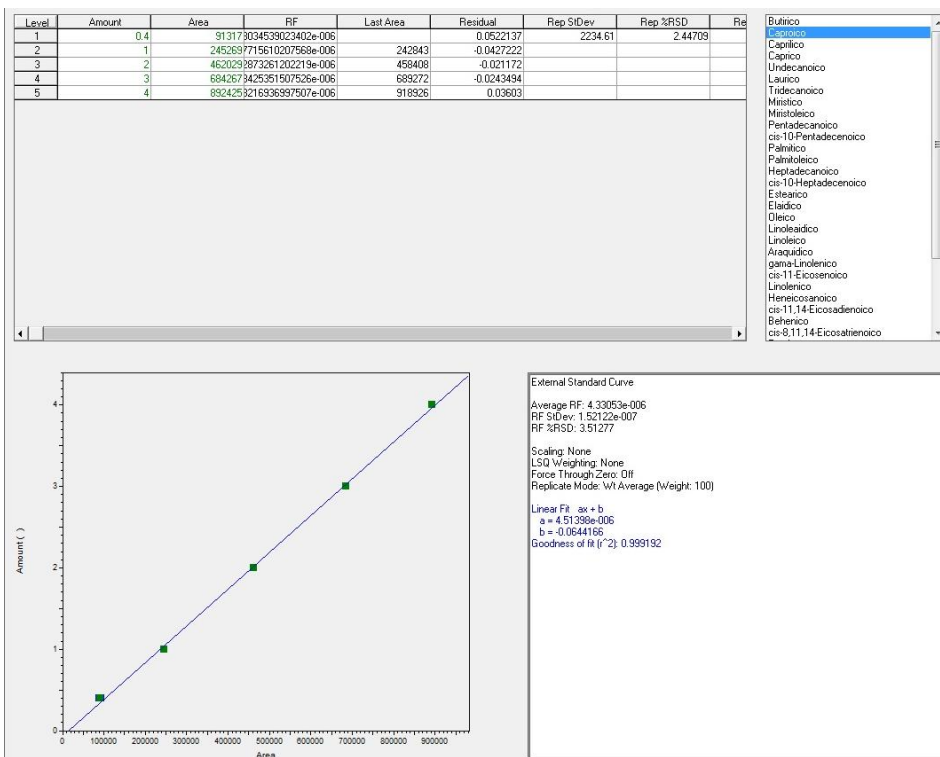
Revised: March 2002

## Anexo N°4.- Curvas de calibración para ésteres metílicos de ácidos grasos

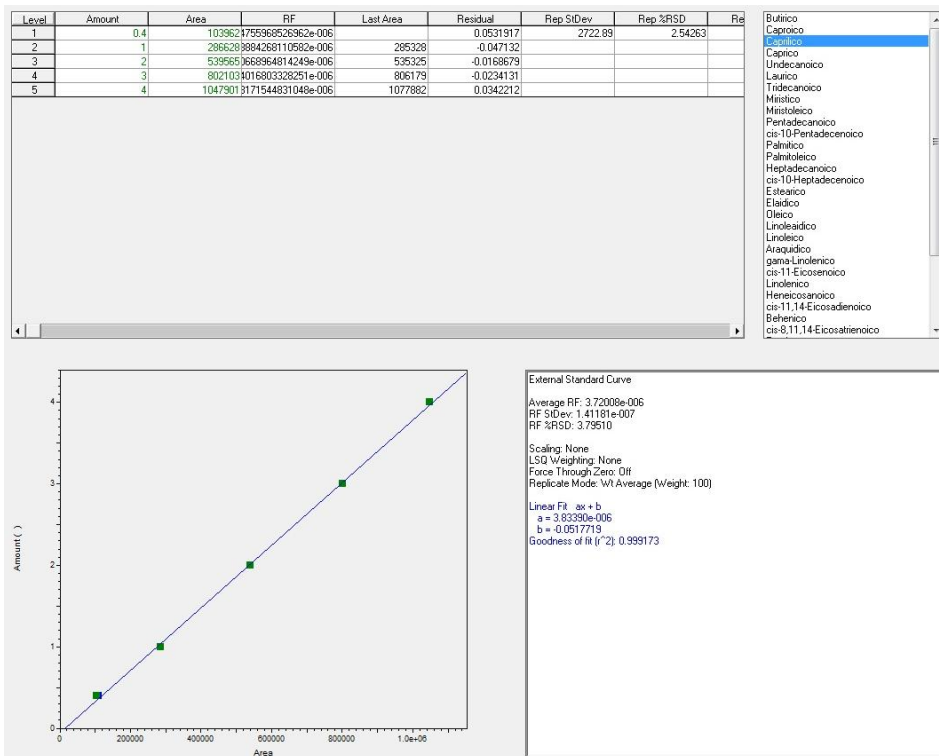
### • Ácido butírico C4:0



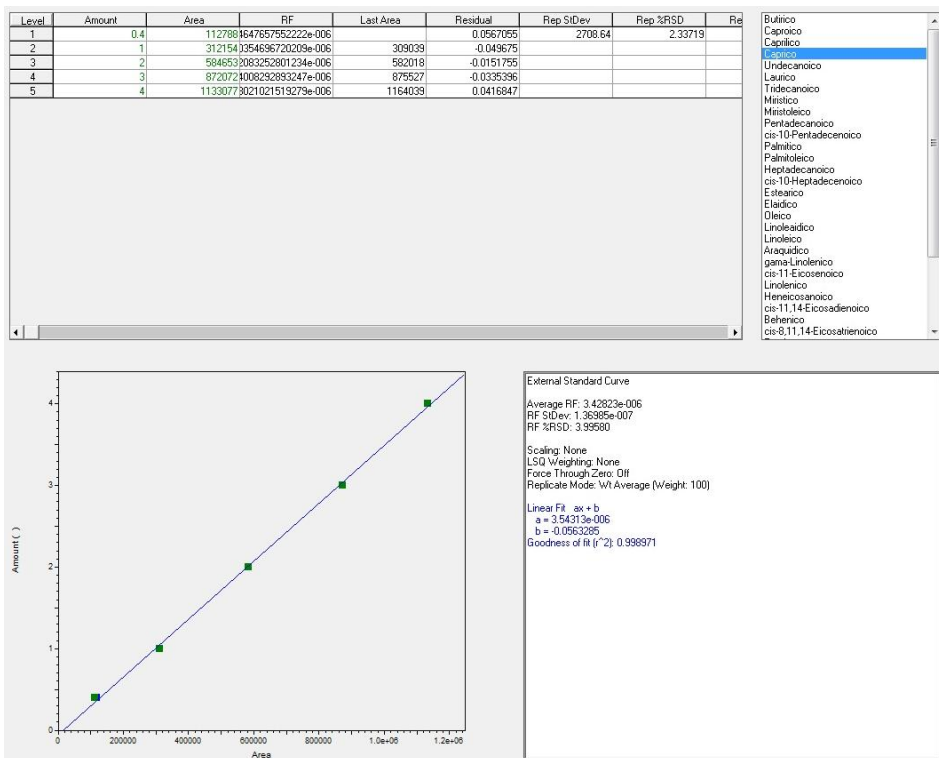
### • Ácido capríco C6:0



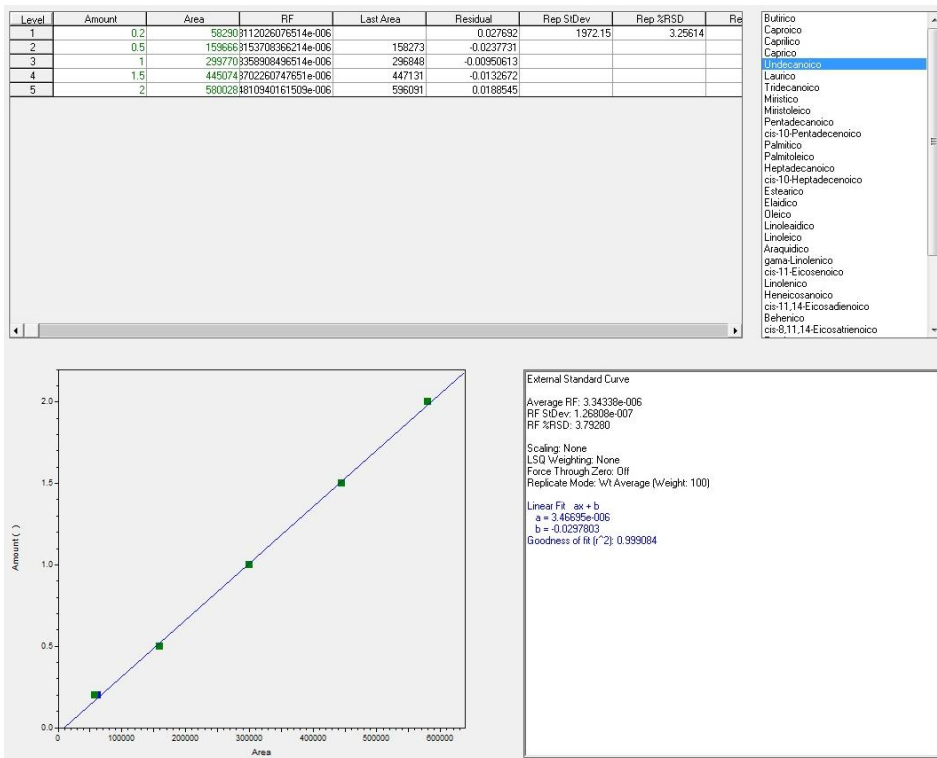
• **Ácido caprílico C8:0**



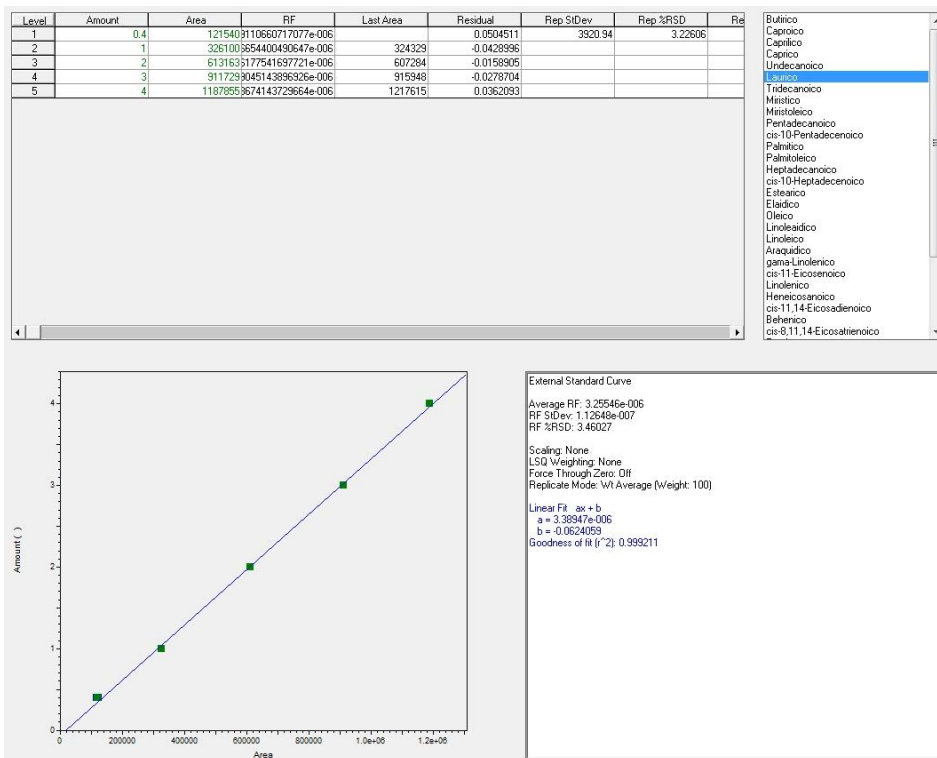
• **Ácido cáprico C10:0**



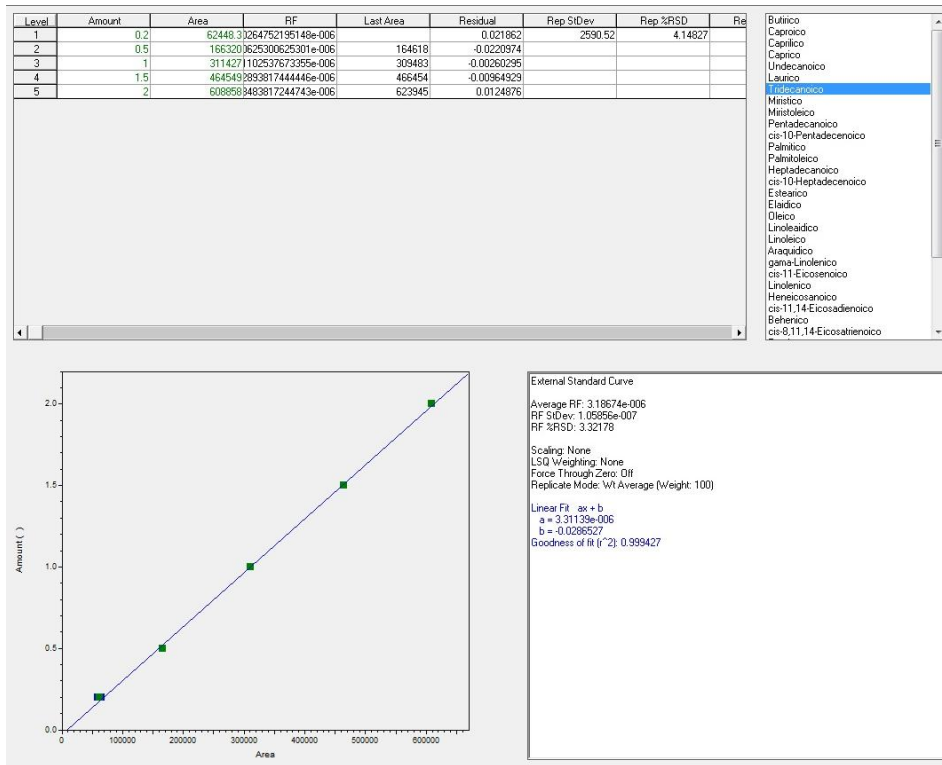
• **Ácido undecanoico C11:0**



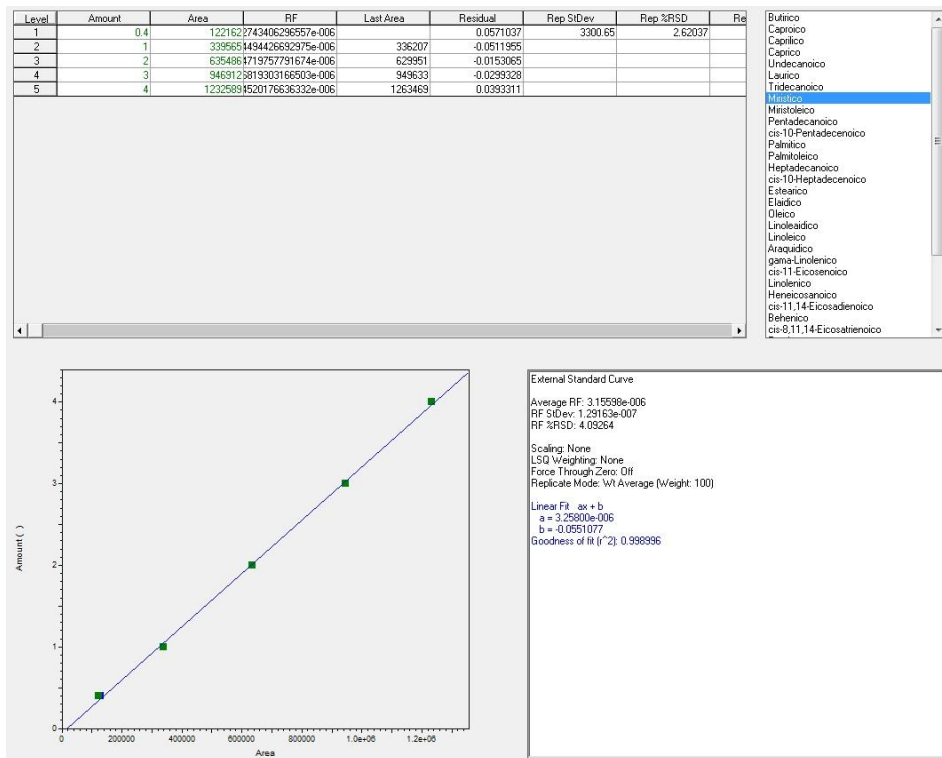
• **Ácido láurico C12:0**



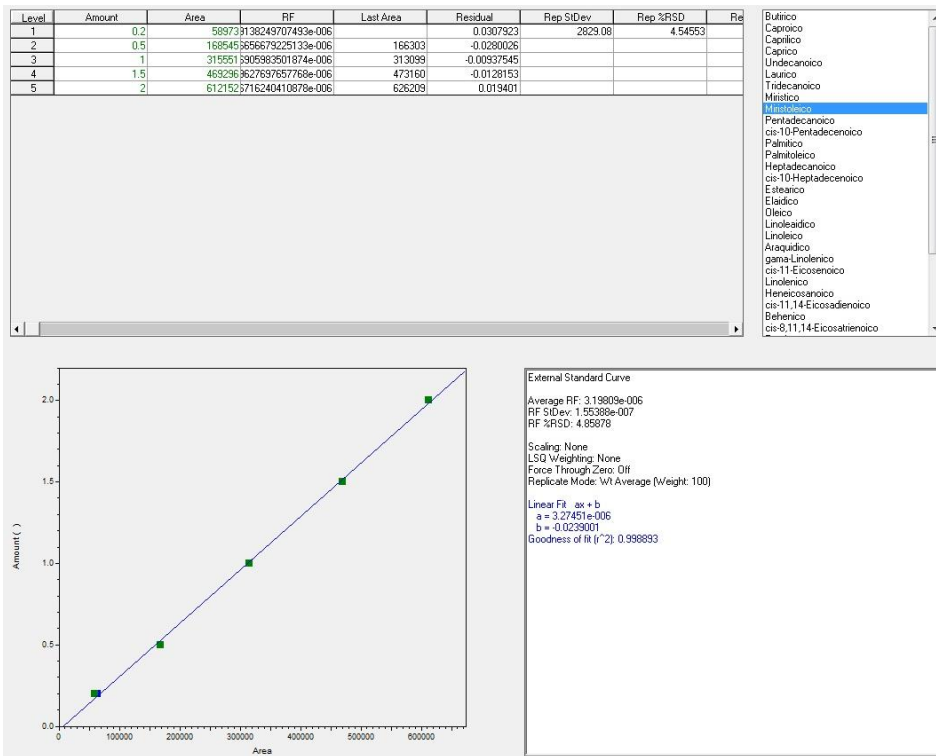
• **Ácido tridecanoico C13:0**



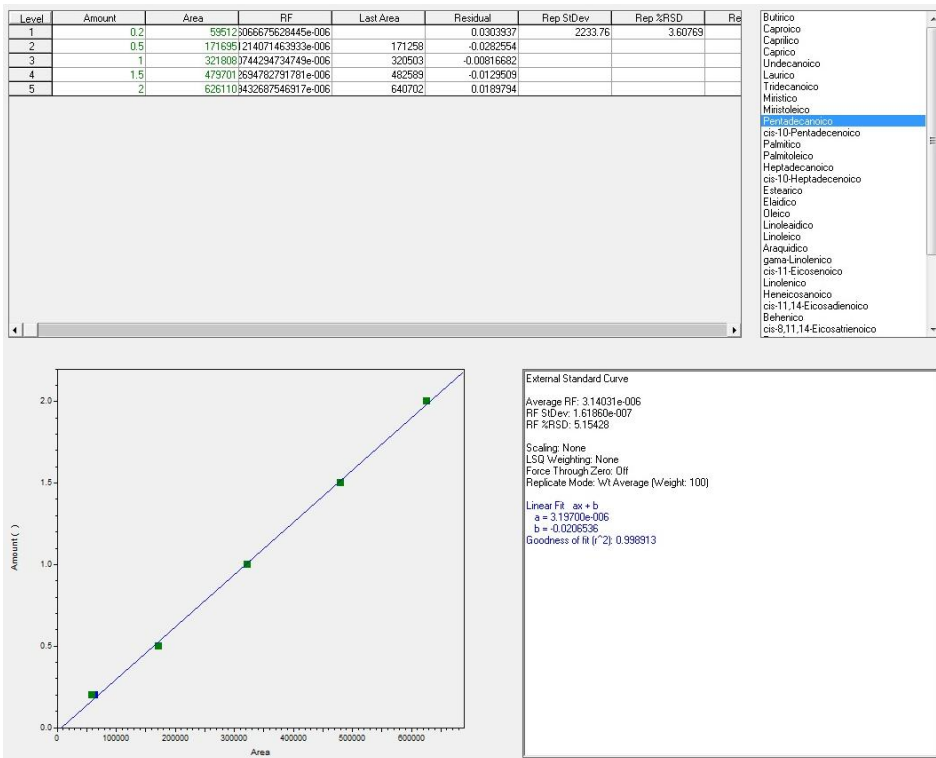
• **Ácido mirístico C14:0**



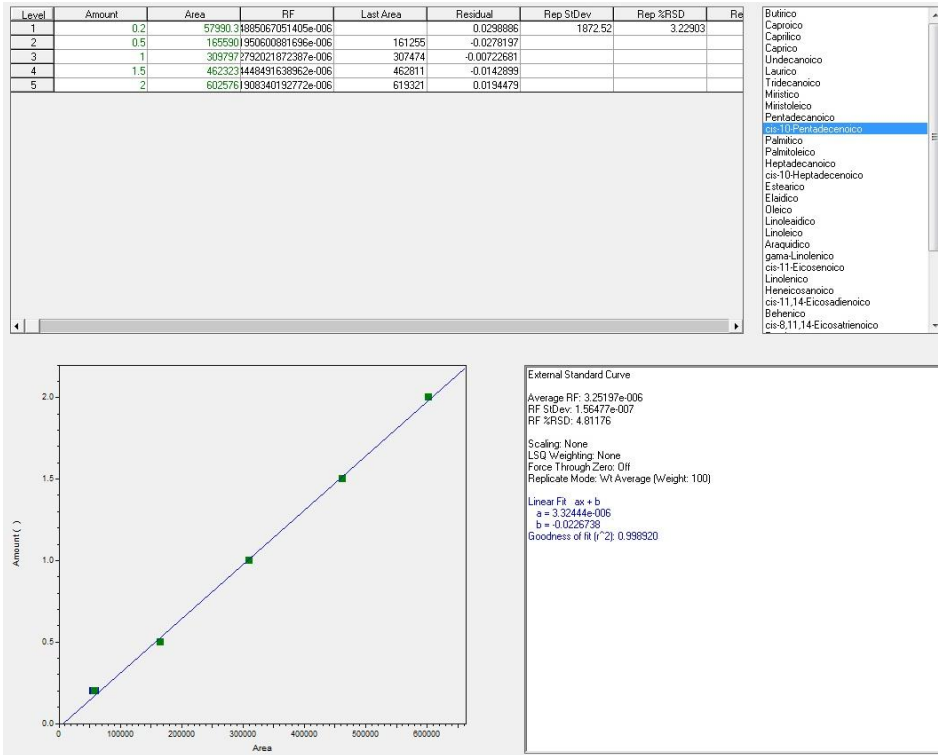
• **Ácido miristoleico C14:1Δ9c**



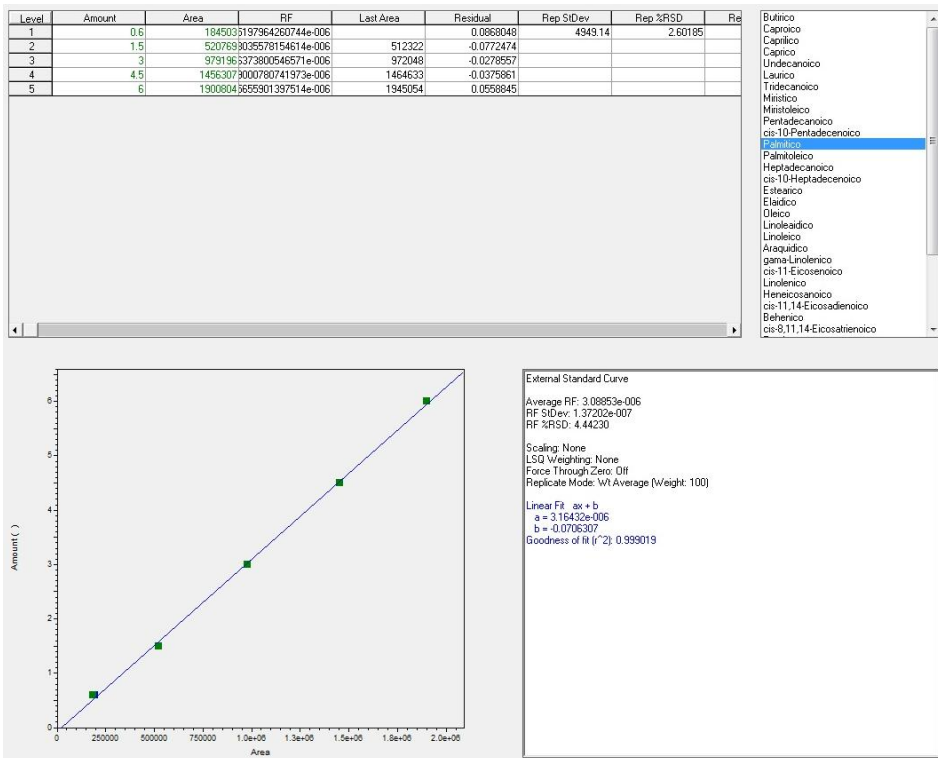
• **Ácido pentadecanoico C15:0**



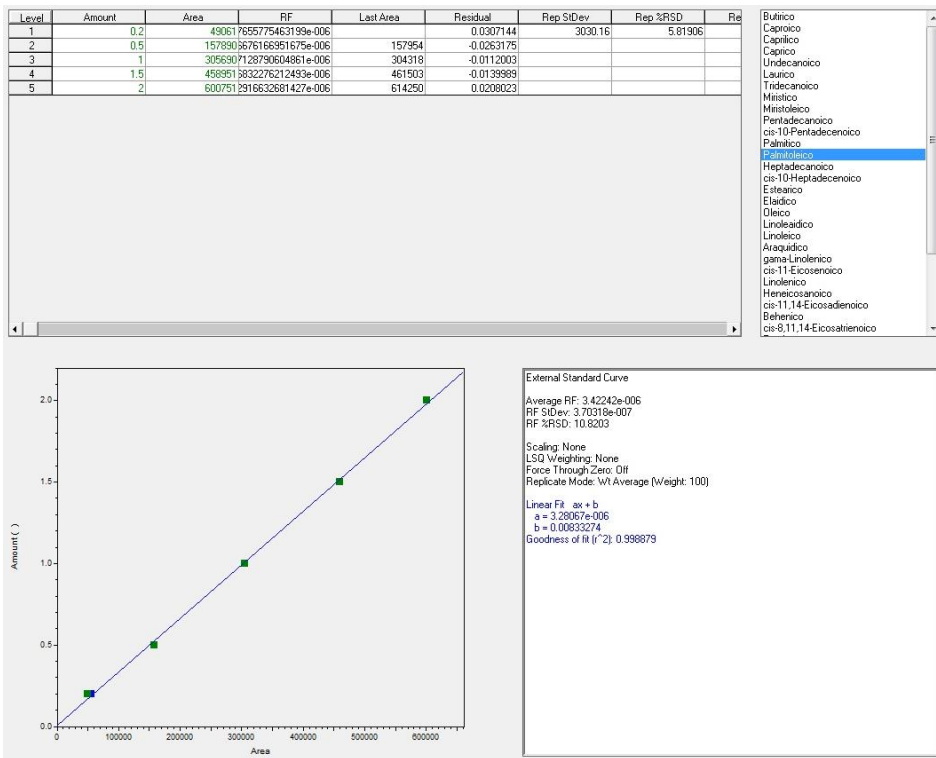
- Ácido cis-10-pentadecenoico C15:1Δ10c



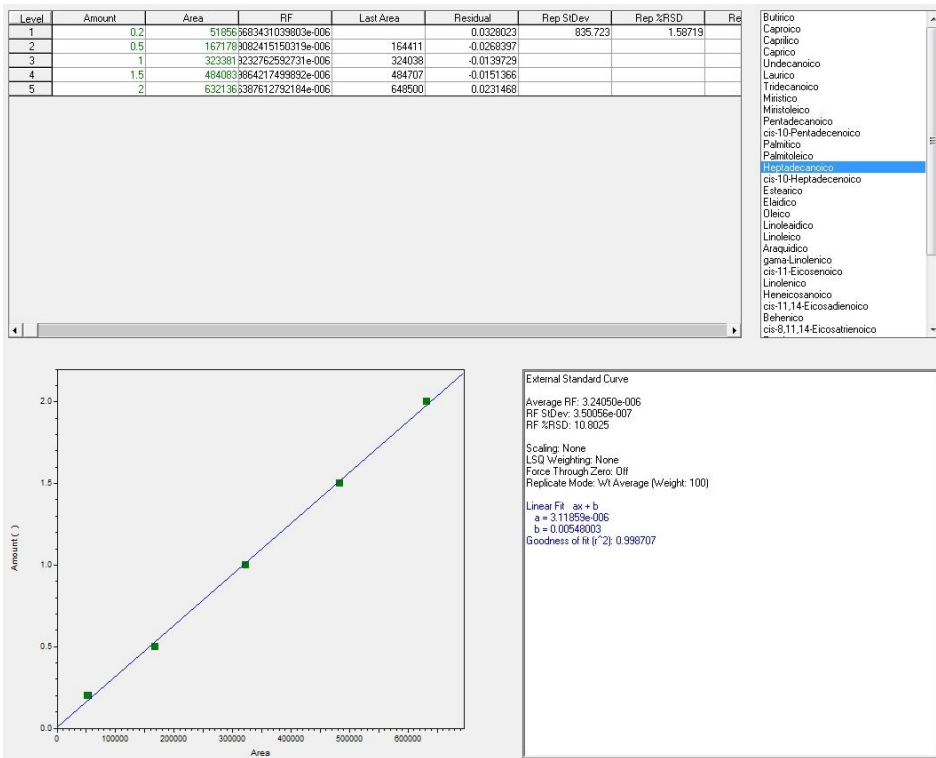
- Ácido palmítico C16:0



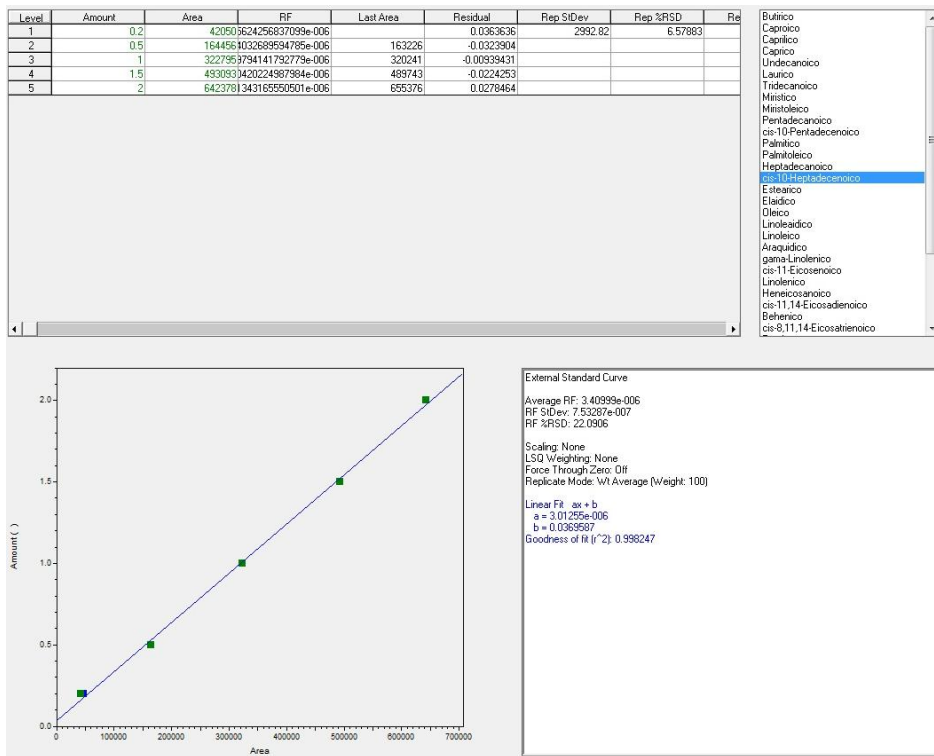
• **Ácido palmitoleico C16:1Δ9c**



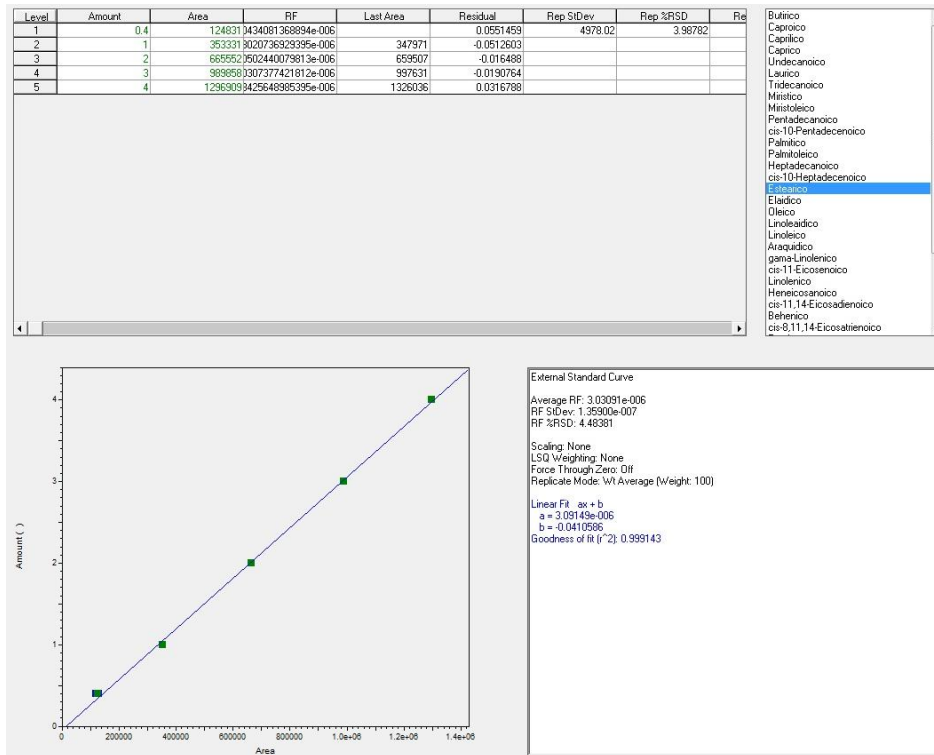
• **Ácido heptadecanoico C17:0**



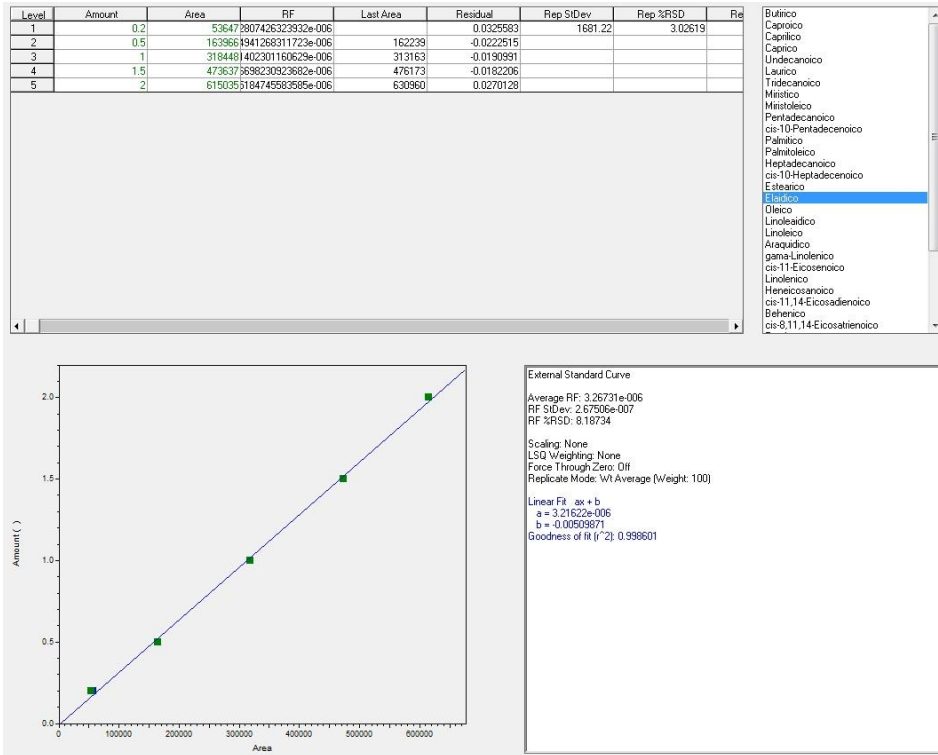
• **Ácido cis-10-heptadecenoico C17:1Δ10c**



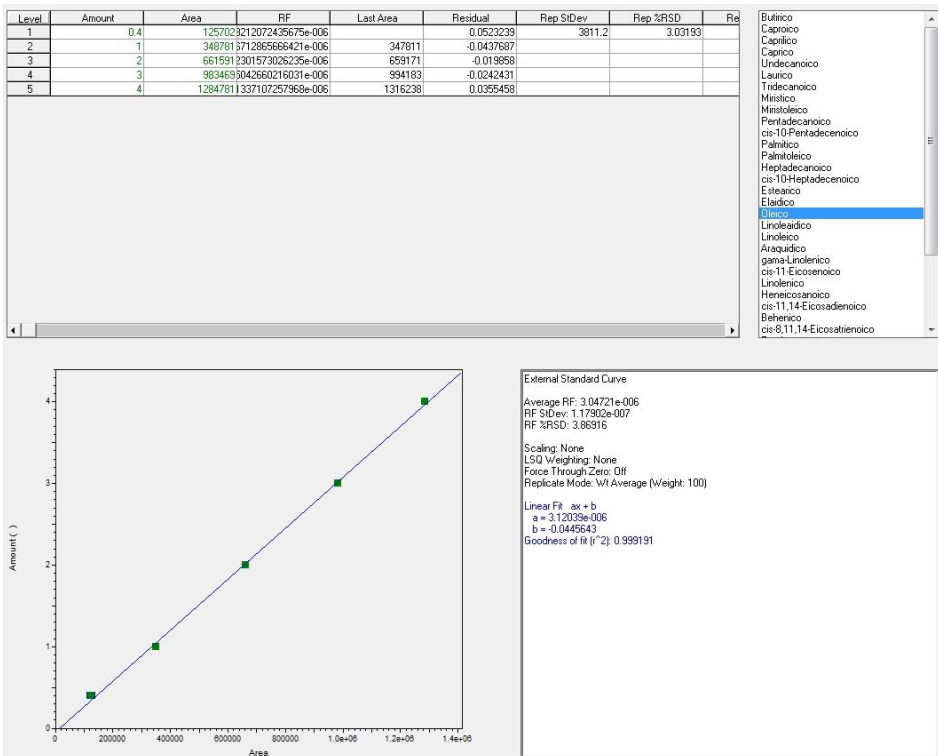
• **Ácido esteárico C18:0**



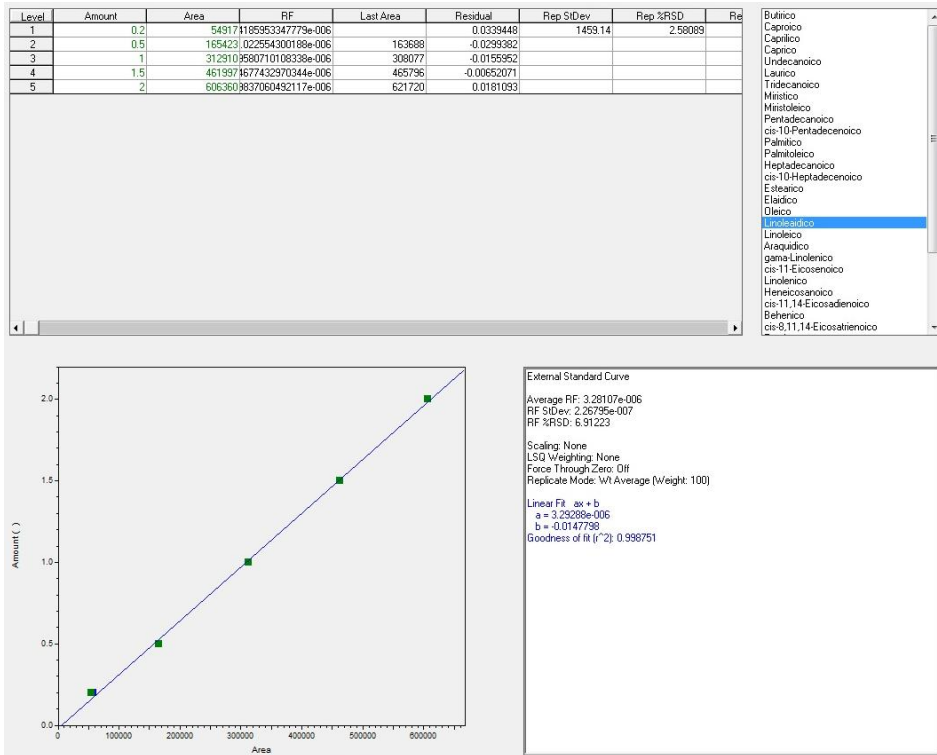
• **Ácido eláidico C18:1Δ9t**



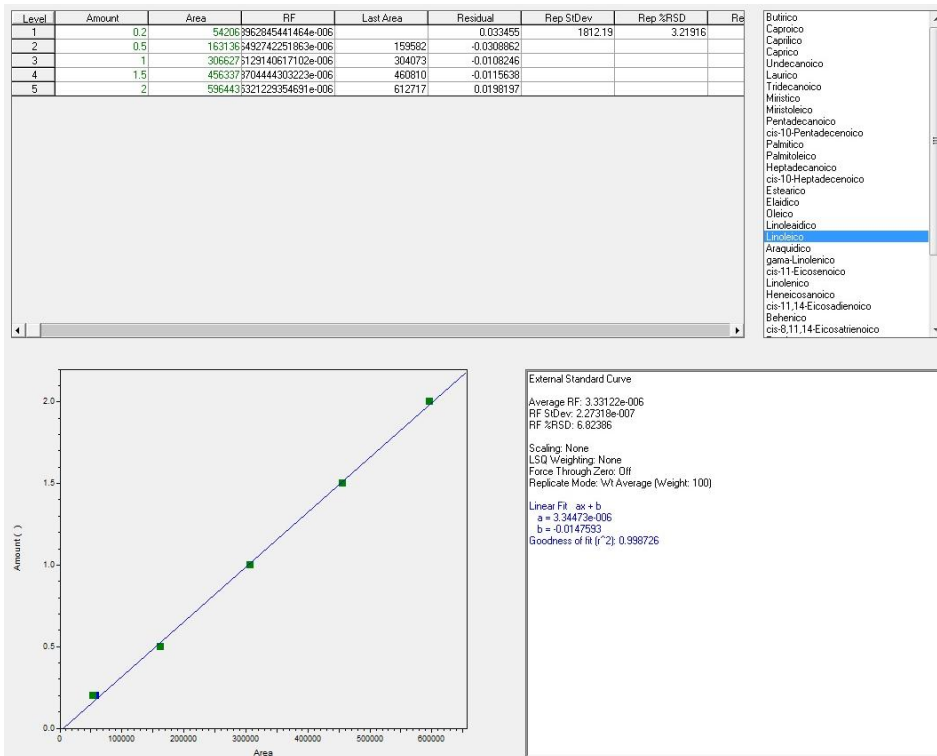
• **Ácido oleico C18:1Δ9c**



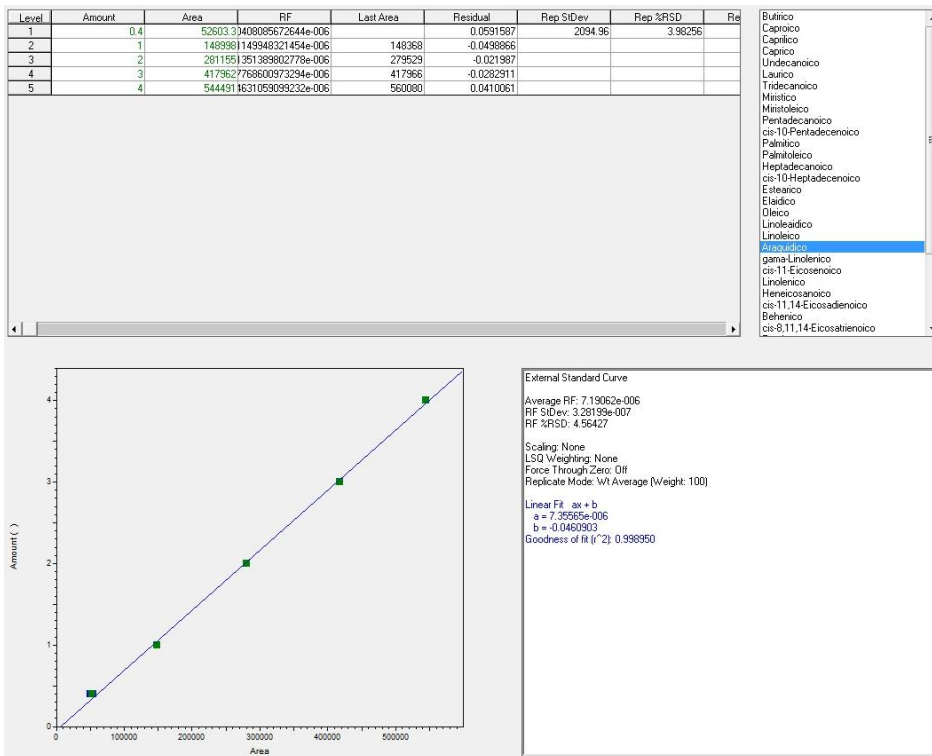
● **Ácido linoleáidico C18:2Δ9t,12t**



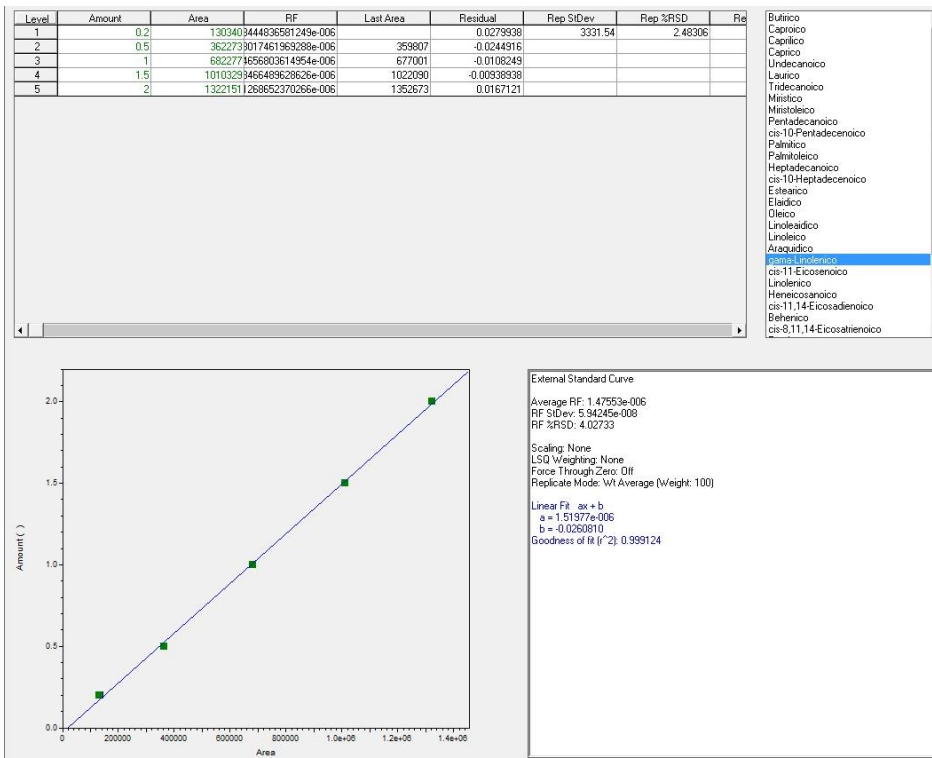
● **Ácido linoleico C18:2Δ9c,12c**



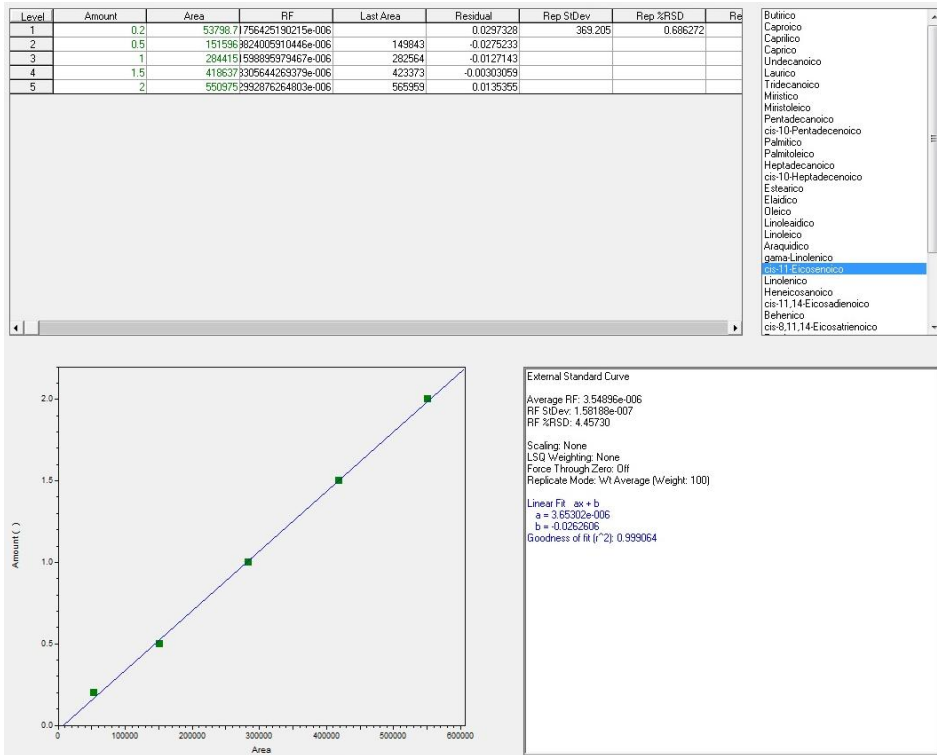
- Ácido araquídico C20:0



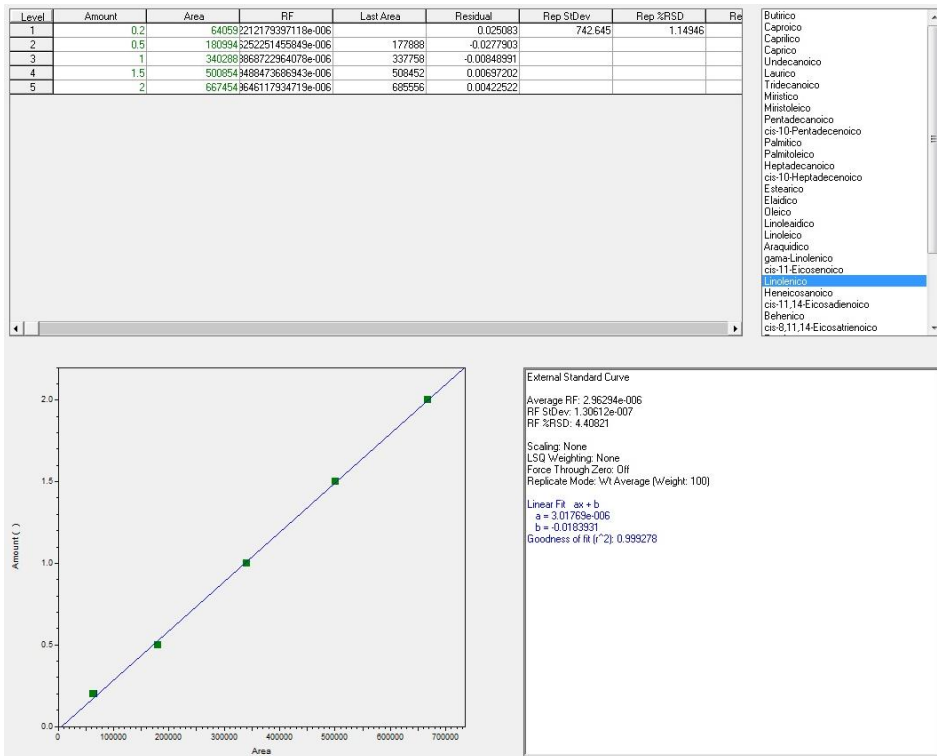
- Ácido  $\gamma$ -linolénico C18:3  $\Delta$ 6,9c,12c



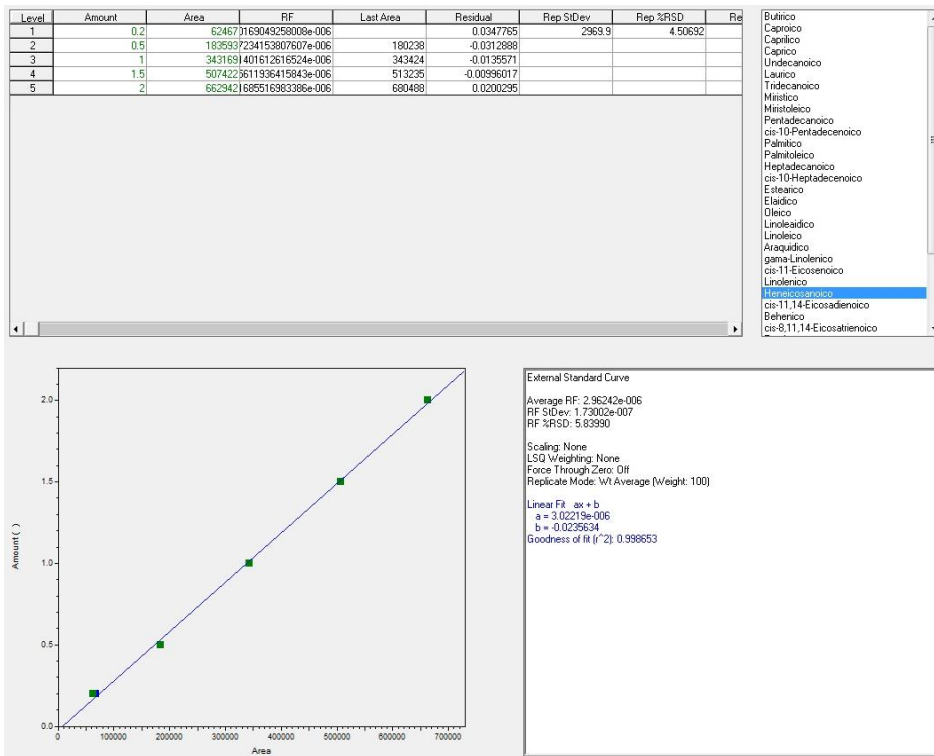
• **Ácido cis-11-eicosenoico C20:1Δ11c**



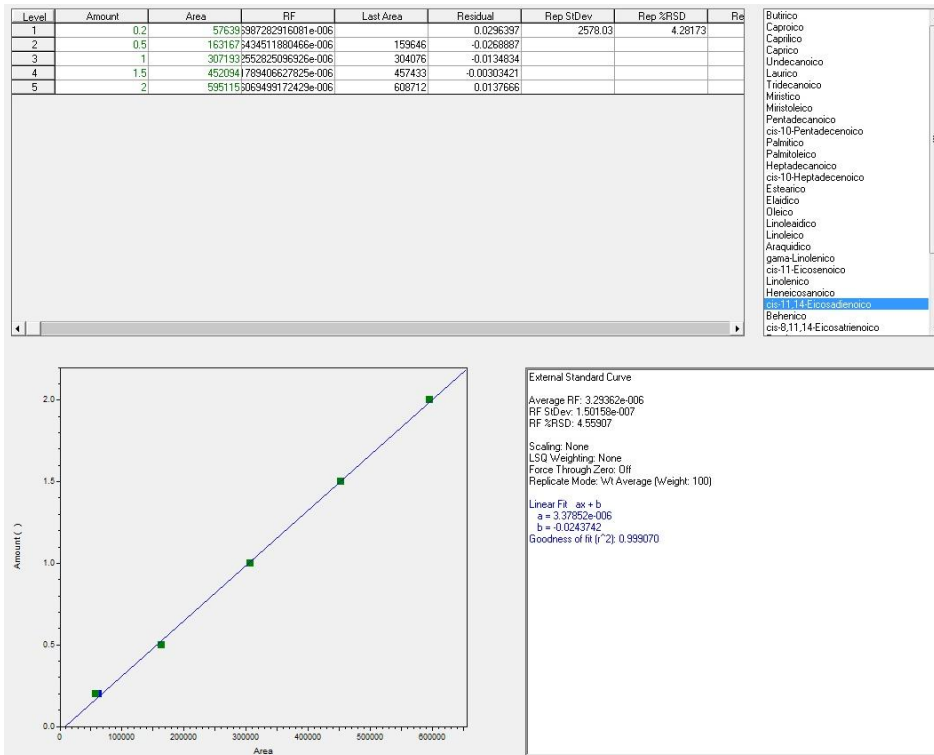
• **Ácido linolénico C18:3Δ9c,12c,15c**



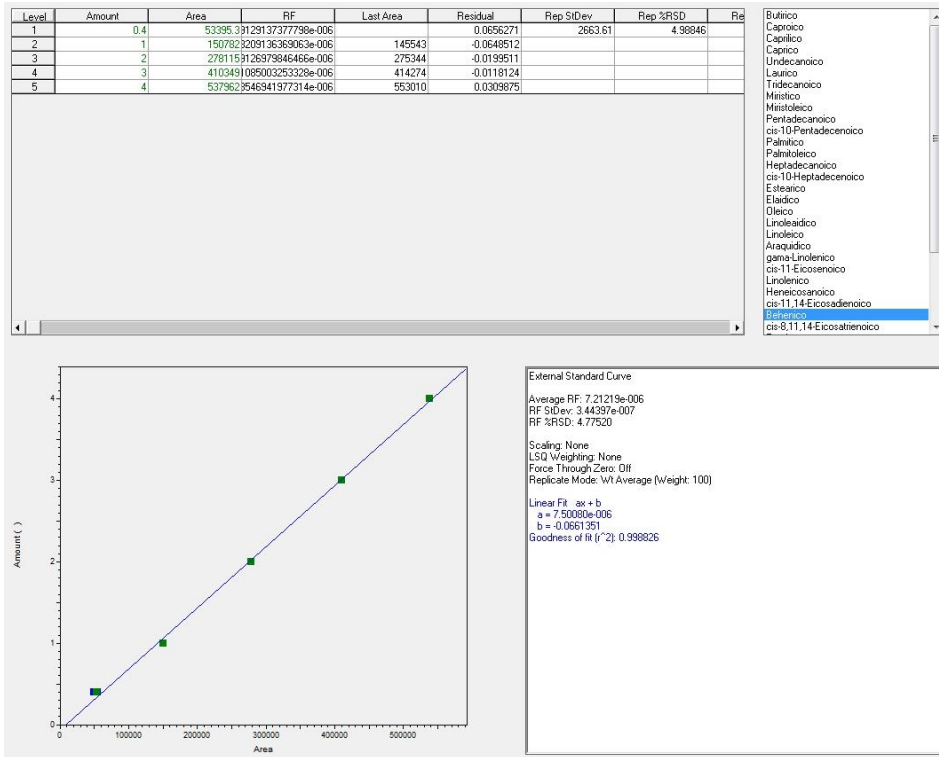
- Ácido heneicosanoico C21:0



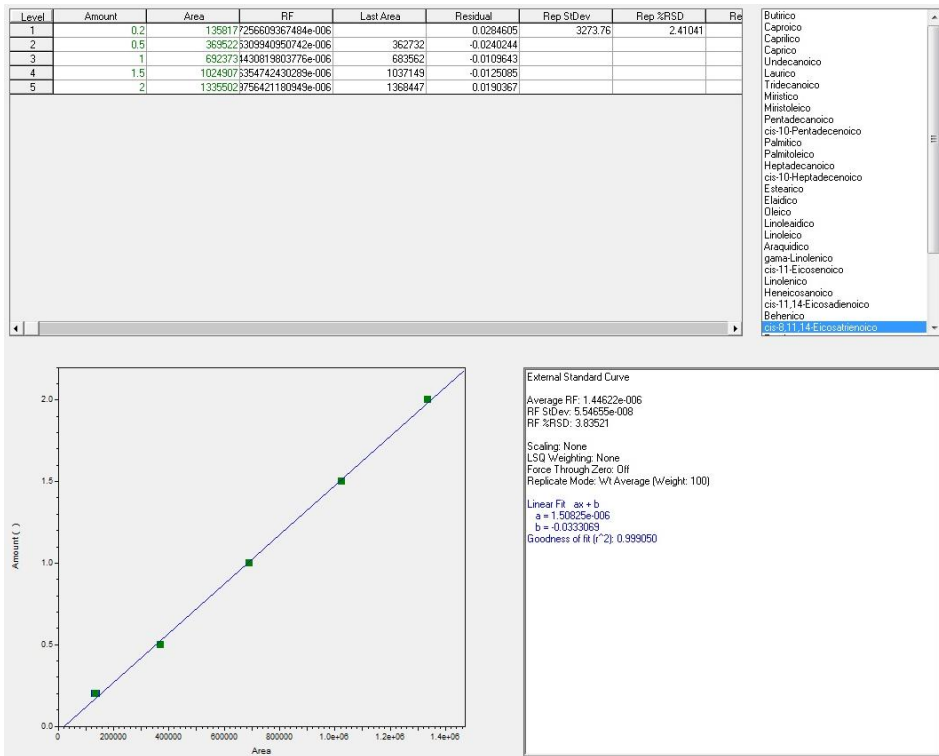
- Ácido cis-11,14-eicosadienoico C20:2Δ11c,14c



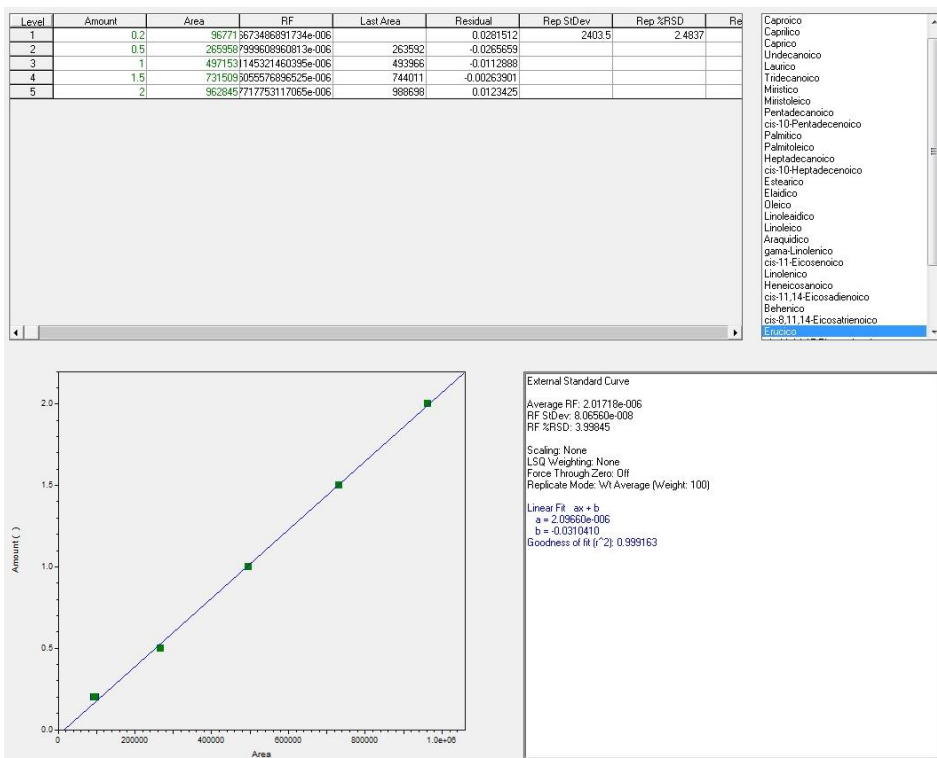
- Ácido behénico C22:0



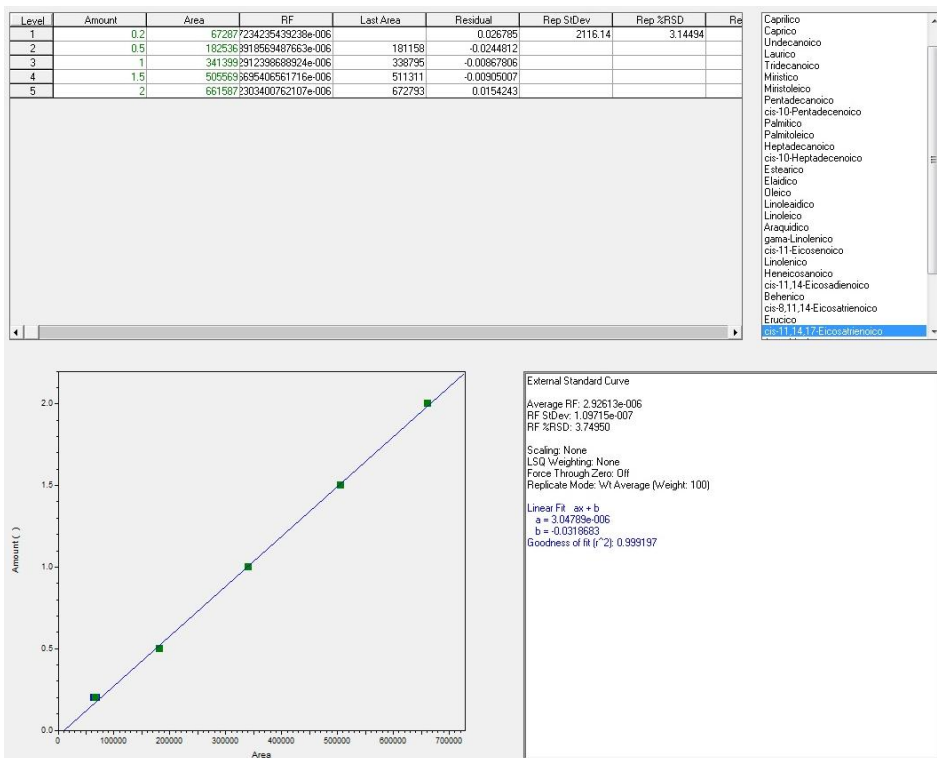
- Ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico C20:3 $\Delta$ 8c,11c,14c



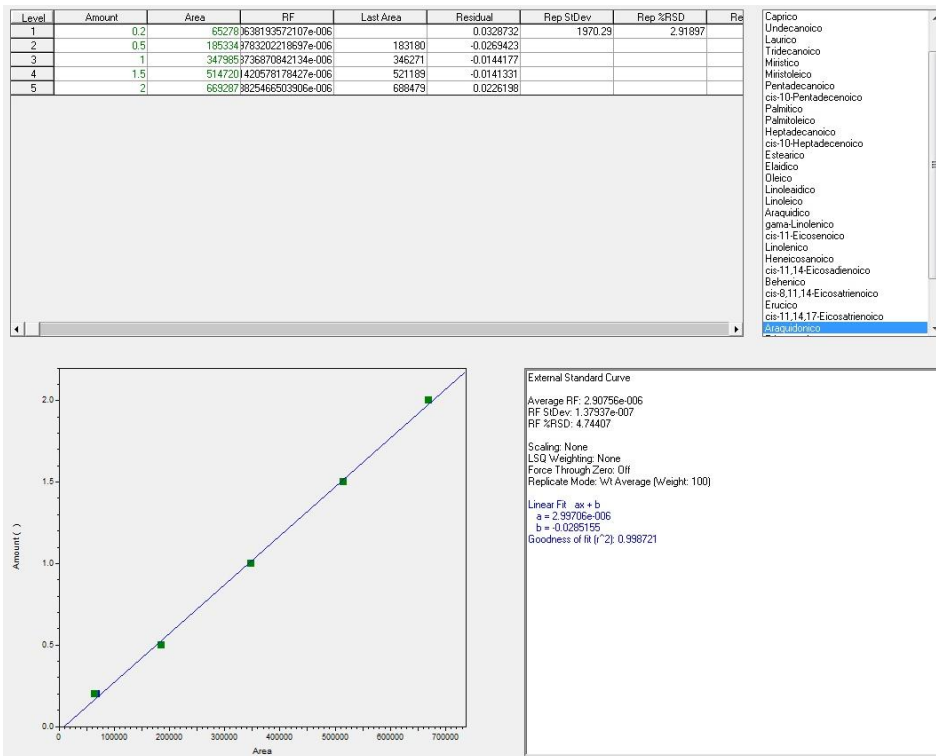
• **Ácido erúico C22:1Δ13c**



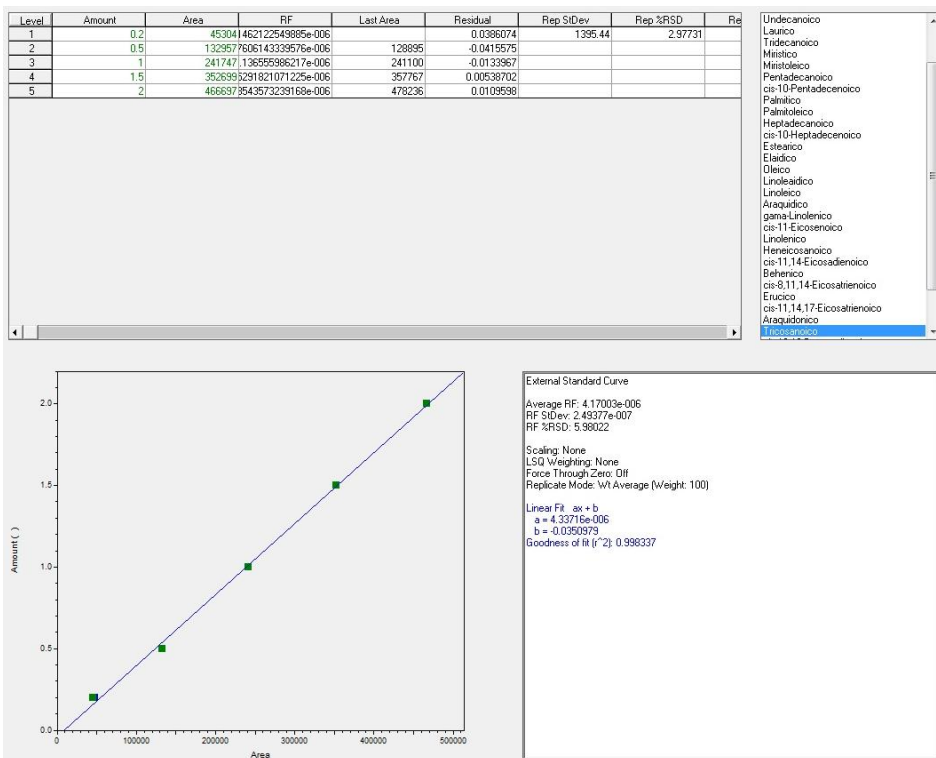
• **Ácido cis-11,14,17-eicosatrienoico C20:3Δ11c,14c,17c**



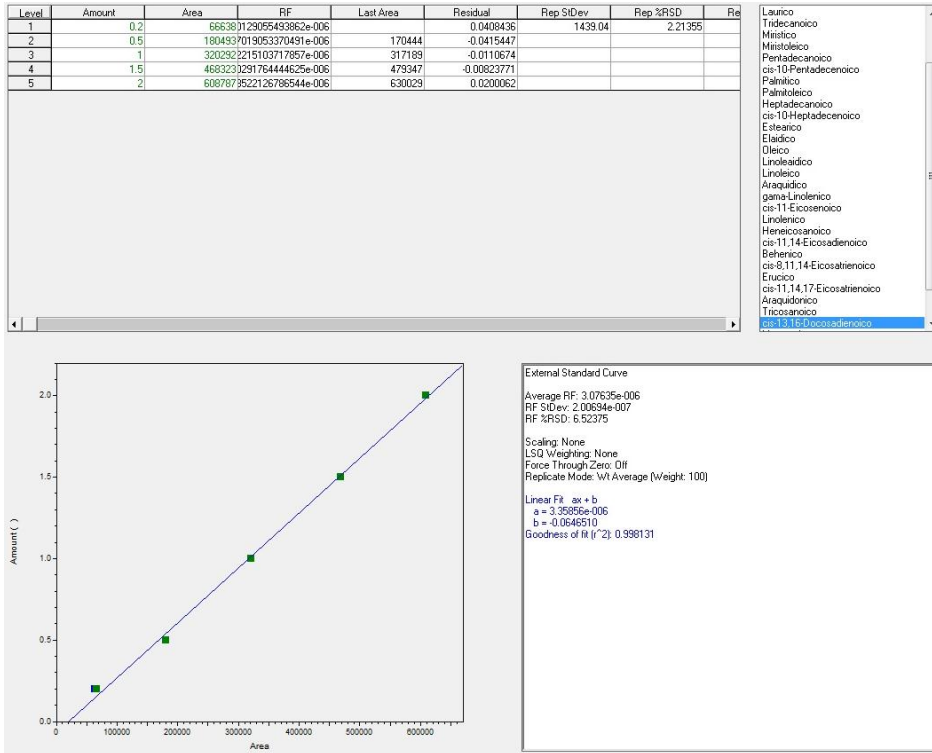
- **Ácido araquidónico C20:4Δ5c,8c,12c,14c**



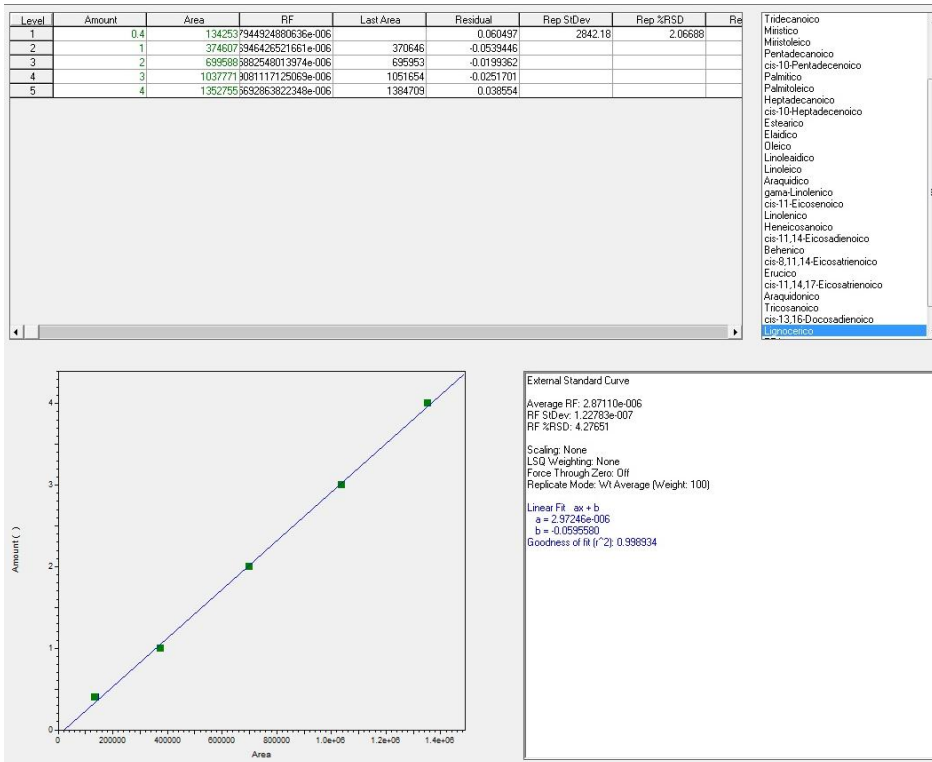
- **Ácido tricosanoico C23:0**



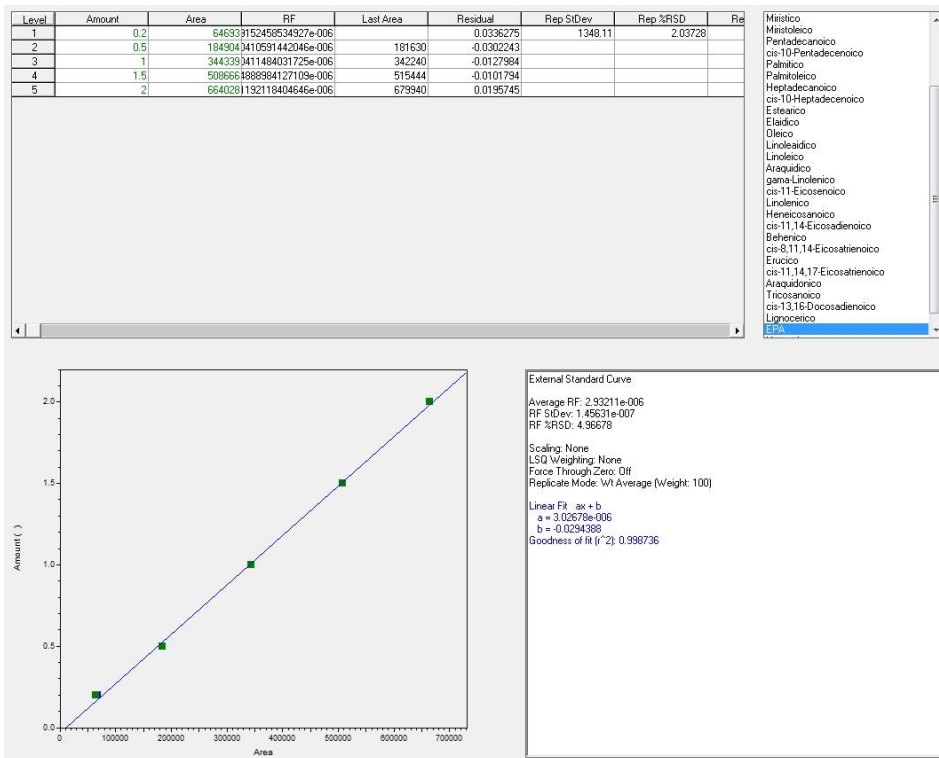
• **Ácido cis-13,16-docosadienoico C22:2Δ13c,16c**



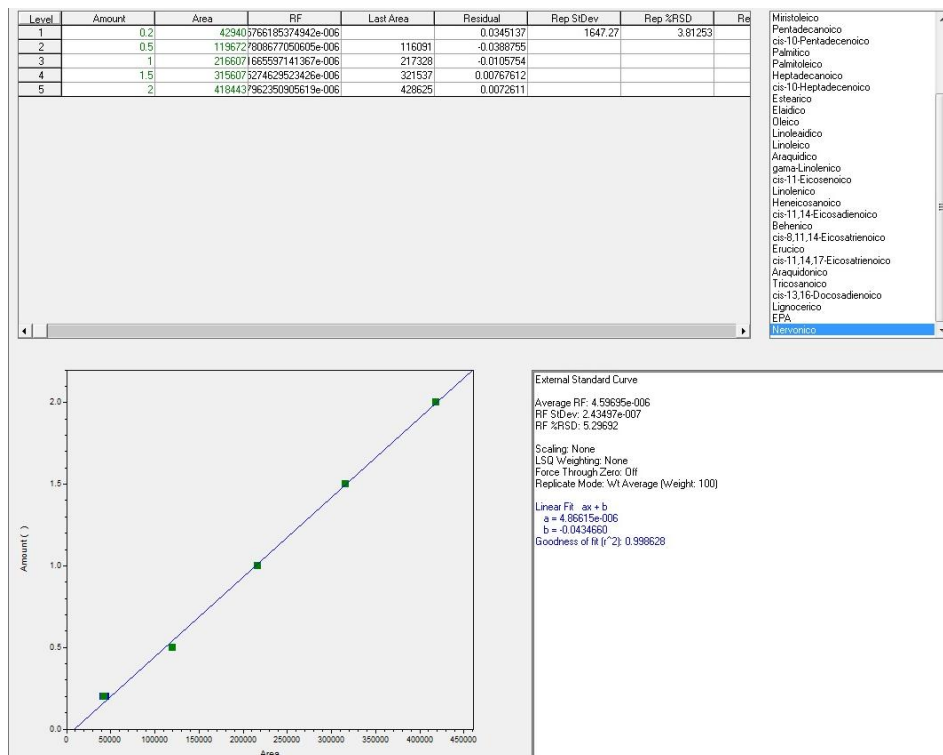
• **Ácido lignocérico C24:0**



- Ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (EPA) C20:5Δ5c,8c,11c,14c,17c

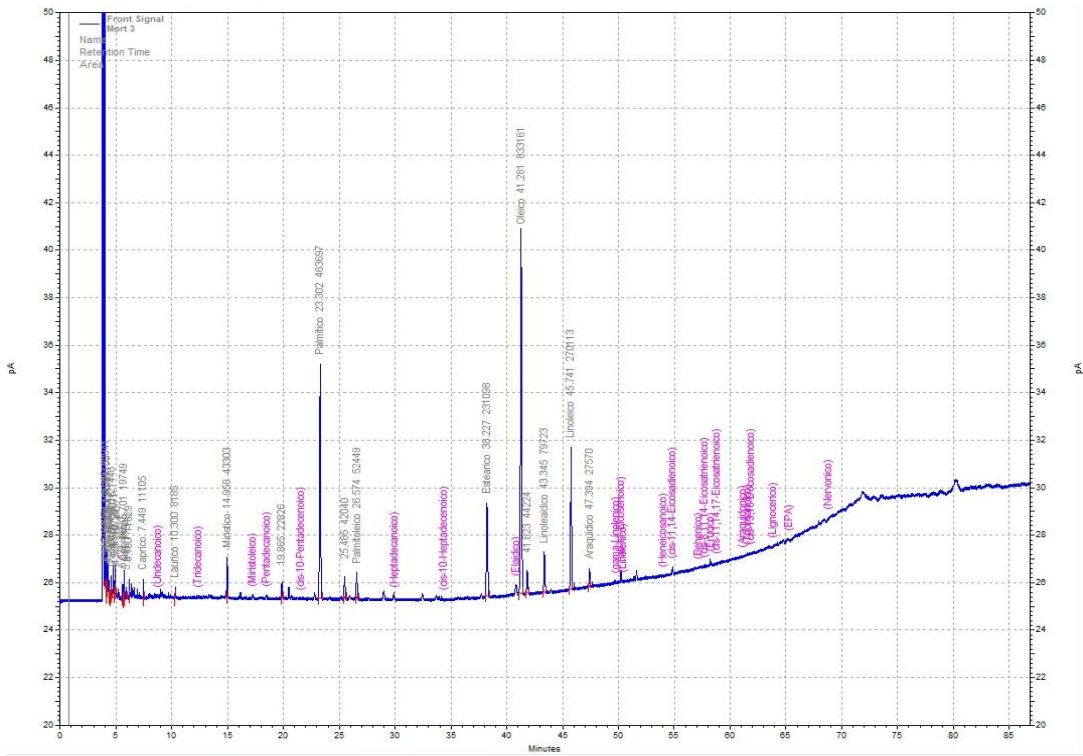


- Ácido nervónico 24:1Δ15c





- Mortadela especial



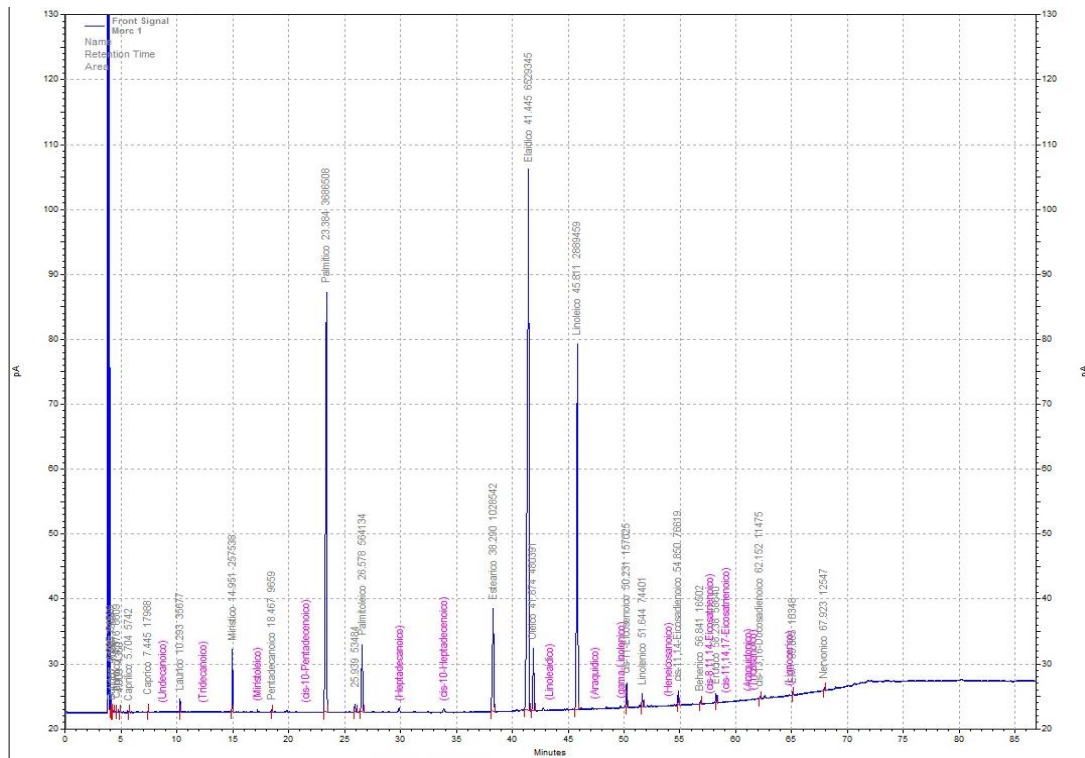




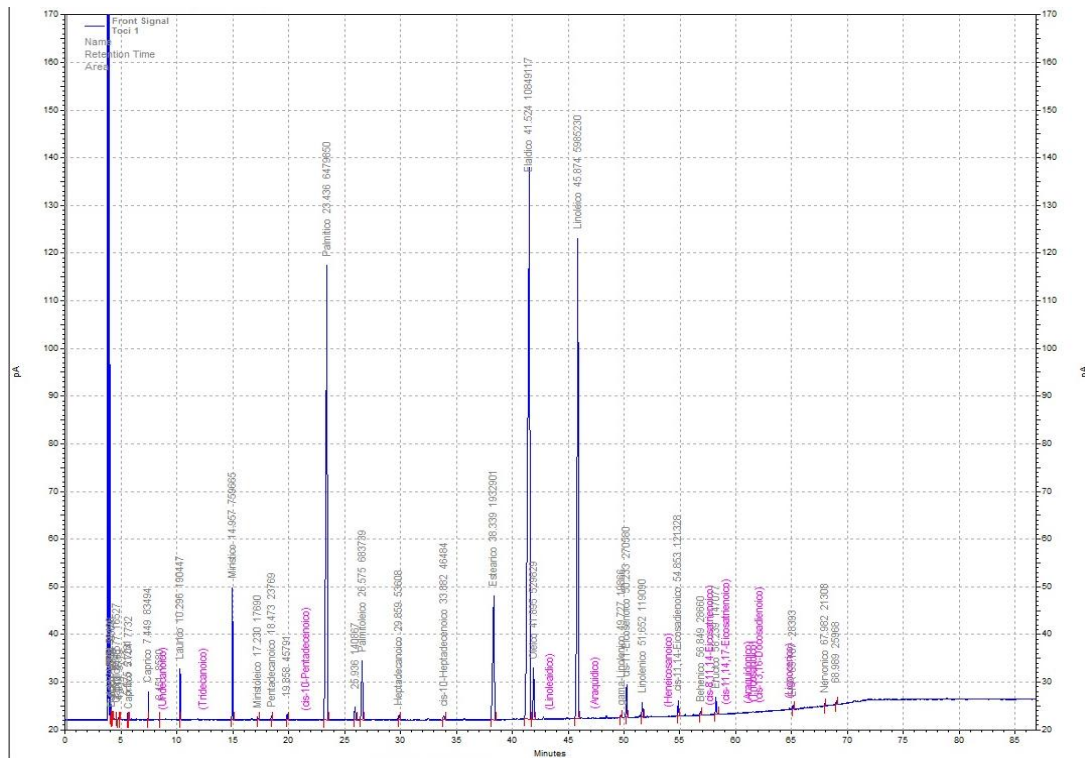




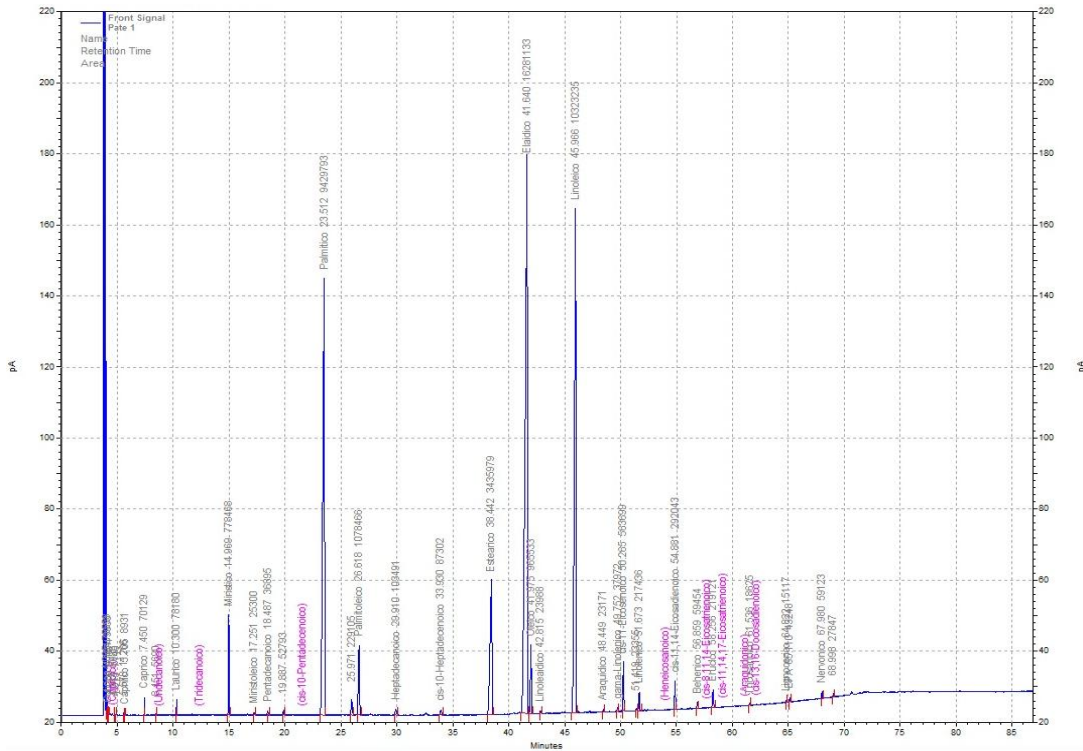
- Morcilla de sangre



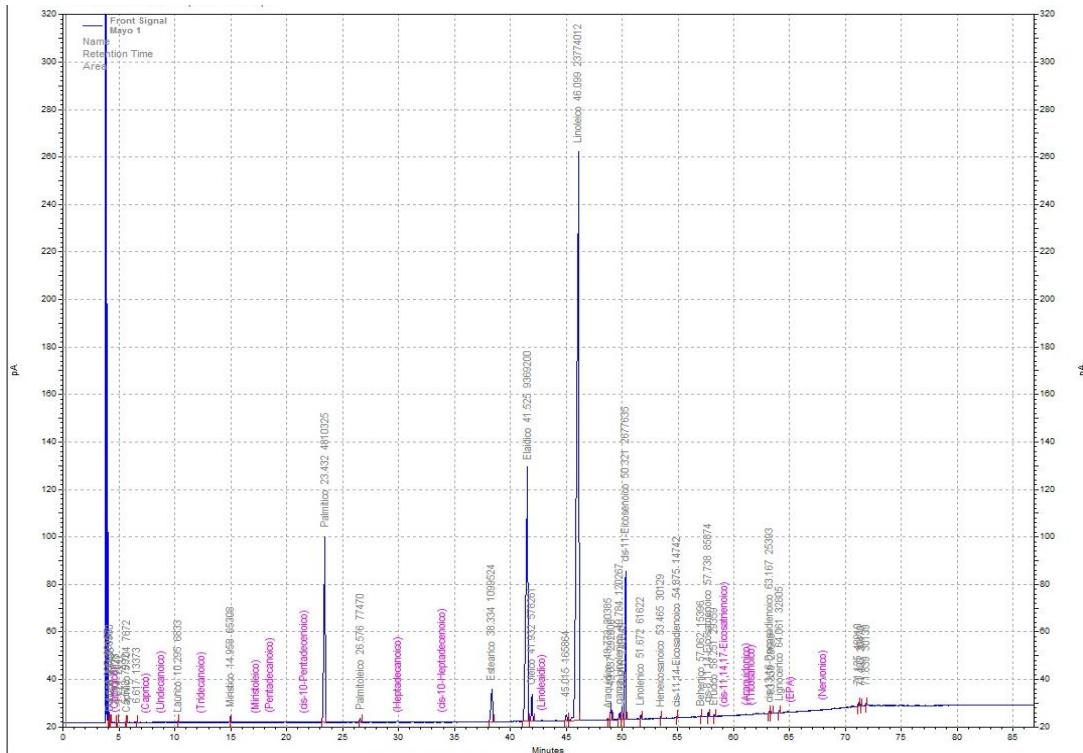
- Tocineta ahumada



- Paté de carne de cerdo y res



- Mayonesa corriente





## Anexo N°6.- Fotografías del tratamiento de las muestras para su análisis.

- Equipo de homogenización de las muestras de embutidos



- Homogenización de las muestras de mayonesas



- Pesado de las muestras y adición de solvente de extracción



- Equipo para extracción asistida con ultrasonido



- Extracción de la grasa saponificable



- Evaporación del solvente



- Transesterificación de los ácidos grasos



- Equipo de cromatografía de gases y su software

