UNIVERSIDAD DEL VALLE DE
GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

Validación del Método AOAC 994.15 para la determinación del perfil de ácidos grasos CIS-TRANS en aceite y grasas por cromatografía de gases

Por Ingrid Yurrita Pocasangre

Guatemala
2006

Validación del Método AOAC 994.15 para la determinación del perfil de ácidos grasos CIS-TRANS en aceite y grasas por cromatografía de gases

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE
GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

Validación del Método AOAC 994.15 para la determinación del perfil de ácidos grasos CIS-TRANS en aceite y grasas por cromatografía de gases

Trabajo de graduación presentado
por Ingrid Yurrita Pocasangre
para optar al grado académico de
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Guatemala
2006

Vo.Bo.:

(f) _____
Licenciada Ana Silvia Colmenares de Ruiz

Tribunal:

(f)_____
Doctor Cesar Ricardo Bressani

(f)_____
Licenciada Patricia Palacios de Palomo

(f)_____
Licenciada Ana Silvia Colmenares de Ruiz

Fecha de aprobación:

PREFACIO

Este trabajo de graduación surgió de la inquietud por un tema de mucha actualidad, la necesidad de contar con un método confiable que permita cuantificar la presencia de grasas trans en los alimentos que se comercializan y se consumen en Guatemala. A medida que se progresó en la revisión bibliográfica se pudo notar la necesidad de determinar el contenido de grasas trans debido a que su efecto en el organismo es muy dañino y no proveen de ninguna ventaja al mismo. El alcance de este trabajo se centra en la presencia de grasas trans en aceites y grasas debido a que los alimentos son un grupo muy amplio. Además, se hizo énfasis en el análisis de margarinas que se comercializan en los supermercados de Guatemala ya que son los alimentos que poseen mayor contenido de grasas trans y están al alcance de miles de guatemaltecos.

Este trabajo fue posible gracias a la ayuda del laboratorio INLASA que proporcionó los materiales y el equipo necesario para trabajar las muestras, a la guianza de la Licenciada Julia Alicia de Zeissig, al amor de mi familia y esposo, y con el apoyo del Departamento de Alimentos de la Universidad del Valle sin olvidar a mi asesora la Licenciada Ana Silvia de Ruiz cuyo apoyo y ayuda siempre fue incondicional.

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS

Cuadros Página

LISTA DE GRÁFICAS E ILUSTRACIONES

RESUMEN

Este trabajo busca establecer y validar el método para determinar de forma adecuada y cuantitativa la cantidad de grasas trans en aceites y grasas que se comercializan y se consumen en Guatemala. La razón es que se ha comprobado que las grasas trans son dañinas para la salud. Por lo tanto, este trabajo se enfoca en su cuantificación utilizando un método oficial, método AOAC 994.15 y su consecuente validación. Se tomaron 7 muestras de margarina que se comercializan en Guatemala y un aceite de oliva como control. Se encontró que 5 de las muestras de margarina poseen grasas trans, sin distinción entre margarinas normales y las dietéticas. El aceite de oliva de control y 2 margarinas no poseen grasas trans. En conclusión se pudo validar el método para la metilación, separación y cuantificación de ácidos grasos cis y trans con buena precisión aunque con un porcentaje de error en la exactitud con respecto de los certificados de los estándares utilizados.

I. INTRODUCCIÓN

La validación de un método que permita determinar y cuantificar la presencia de ácidos grasos trans en grasas y aceites que se comercializan en Guatemala es de suma importancia ya que se ha encontrado que estos ácidos grasos trans tienen un efecto negativo en la salud de los consumidores, en especial porque se cree que aumenta el nivel de colesterol en la sangre, lo que conlleva a enfermedades cardiovasculares serias. Los métodos oficiales AOAC han desarrollado un método para dicha determinación, el cual es necesario validar para así poder demostrar que se pueden determinar los ácidos grasos trans en aceites y grasas utilizando los equipos y reactivos que se encuentran al alcance en Guatemala. Esto es relevante ya que para poder exportar productos nacionales, en especial a Estados Unidos, es necesario declarar en las etiquetas nutricionales el contenido de grasas trans presentes en el alimento. A partir del presente año, 2006, la FDA (Food and Drug Administration) exige que en las etiquetas nutricionales de los alimentos se declare el contenido de grasas trans.

Por todo lo anterior, el presente trabajo se enfoca en el la determinación y cuantificación de ácidos grasos cis-trans presentes en grasas y aceites utilizando el método oficial AOAC 994.15 y un cromatógrafo de gases HP.

Se procedió a escoger una columna altamente polar, columna AT-SILAR-100 de 100 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y 0.2 µm de espesor de poli(bicianopropil siloxano), que cumpliera con las características deseadas y permitiera la separación de los ácidos grasos cis y trans, y su cuantificación. Se escogieron 7 muestras de margarinas que se comercializan en Guatemala y una muestra control de aceite de oliva. Todas las muestras fueron metiladas de acuerdo al método AOAC 994.15, se procedió luego a la inyecciones de estándares y el ajuste de condiciones cromatografica, luego se inyectaron las muestras en duplicado. Todos los resultados se analizaron estadísticamente y las conclusiones obtenidas fueron que si se pudo validar el método AOAC para muestras de grasas y aceites, se obtuvo la separación y cuantificación deseada con coeficientes de variación aceptables que indican una buena precisión aunque con un porcentaje de error

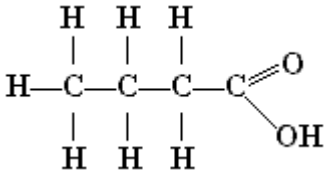
en la exactitud de los estándares con respecto a sus certificados. Además, se encontró que 5 de las muestras de margarina presentan grasas trans sin diferenciar entre margarinas normales y las dietéticas. Sólo 2 margarinas y el aceite de oliva control no presentaron grasas trans.

II. MARCO TEÓRICO

A. Lípidos

Los lípidos son un grupo de compuestos químicos que poseen características de grasa, son insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos. Estos compuestos están constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno. Estos forman cadenas hidrocarbonadas aromáticas o alifáticas. A veces también contienen nitrógeno y fósforo. Los aceites y las grasas son los lípidos que se encuentran en los alimentos, los cuales ayudan al sabor y textura de los mismos. (Badui, 1997). Entre el grupo de los lípidos se incluyen los monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, fosfátidos, cerebrosidos, esteroles, terpenos, alcoholes alifáticos y ácidos grasos. Las grasas presentes en la dieta sirven para suplir energía, llevar vitaminas liposolubles (A,D,E,K) y son un grupo de compuestos que son fuente de compuestos bioactivos y antioxidantes. Las grasas también son incorporadas dentro de las estructuras del cerebro y las membranas celulares. En la figura No. 1 se puede observar la estructura básica de los ácidos grasos, compuesta de carbono, hidrogeno, y oxigeno formando una cadena que termina en un grupo carboxilo (-COOH).

Figura No.1



(Zamora, 2005).

Los ácidos grasos saturados son aquellos en los cuales los carbonos están unidos a todos los hidrógenos posibles sin dejar espacios para dobles enlaces entre carbonos. Los ácidos grasos monoinsaturados son aquellos que sólo poseen un doble enlace. Y los ácidos grasos poliinsaturados son aquellos que poseen más de un doble enlace entre carbonos. Los ácidos grasos generalmente se representan por su forma abreviada, por ejemplo: C18:2, lo cual indica que es un ácido graso que está formado por una cadena de 18 carbonos con 2 dobles enlaces (ácido 9,12-octadecanoico o su nombre común ácido linoleico) ver figura 2. La forma abreviada puede representar varios isómeros del ácido

graso, aunque en la naturaleza solo representa a un ácido graso conocido como ácido linoleico. Ver figura No. 2.

Figura No. 2

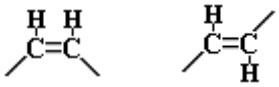
CH3(CH2)4CH=CHCH2CH=CH(CH2)7COOH

(Zamora, 2005)

B. Grasas trans

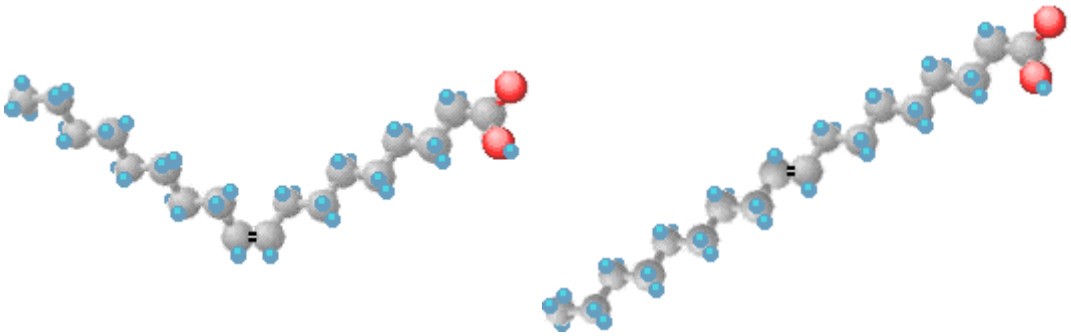
Los dobles enlaces entre carbonos los mantienen firmes y previenen la rotación de los mismos a lo largo del eje central. Esto lleva a la formación de isómeros geométricos que están dispuestos de tal forma que solo se pueden cambiar rompiendo los enlaces (Zamora, 2005). Esos isómeros geométricos son los denominados cis y trans. En la naturaleza generalmente se encuentran los isómeros cis; los isómeros trans se encuentran principalmente en las grasas hidrogenadas y en algunas grasas de animales bovinos como la mantequilla. La cantidad de posibles isómeros presentes en un ácido graso depende de la cantidad de dobles enlaces que posee. Por ejemplo, cuando un ácido graso posee dos dobles enlaces se pueden formar 4 isómeros: cis-cis, cis-trans, trans-cis, trans-trans. Las características químicas y físicas de los lípidos se ven influenciados por la cantidad de isómeros (Badui, 1997). Los prefijos latinos cis y trans describen la orientación de los átomos de hidrogeno con respecto al doble enlace. Cis significa "en el mismo lado" y trans significa "en lados opuestos". Como ya se explicó, en la naturaleza los ácidos grasos generalmente se encuentran en la forma cis, por ejemplo el ácido oleico (ácido 9-octadecanoico) presente en el aceite de oliva tiene una forma en "V" debido a su configuración cis en el doble enlace de la posición 9, en cambio la configuración trans (ácido elaídico) parece mas una línea recta. Ver figura No. 3 y 4.

Figura No.3



Cis Trans

Figura No. 4



Cis-9-octadecenoic acid (Oleic acid)

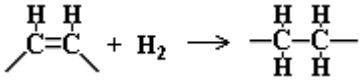
Trans-9-octadecenoic acid (Elaidic acid)

(Zamora, 2005).

C. Hidrogenación

Las grasas insaturadas al ser expuestas al aire se oxidan y forman compuestos que tienen sabores y olores desagradables dando lugar a compuestos de rancidez. La hidrogenación es el proceso químico comercial que permite agregar átomos de hidrogeno a las grasas insaturadas para disminuir la cantidad de dobles enlaces y retardar la rancidez de las mismas. Aceites insaturados, como el aceite de soya, que contienen ácidos grasos insaturados como oleico y linoleico, son calentados con compuestos metálicos catalíticos en presencia de hidrogeno gaseoso presurizado. El hidrógeno es incorporado en las moléculas de los ácidos grasos que luego se convierten en ácidos grasos saturados con hidrógeno. El ácido oleico (C18:1) y el ácido linoleico (C18:2) son transformados en ácido esteárico (C18:0) cuando son completamente saturados. Entonces el aceite vegetal líquido se convierte en grasas saturadas sólidas. Ver figura No. 5.

Figura No. 5



Proceso de hidrogenación

(Zamora, 2005).

Las grasas completamente saturadas son muy cerosas y sólidas como para ser usadas como aditivos para alimentos, así que los productores prefieren utilizar aceites parcialmente hidrogenados. Estos aceites también son producidos a altas temperaturas con catalizadores metálicos e hidrogeno presurizado, pero el proceso se detiene cuando el aceite tiene la consistencia deseada. Las altas temperatura y el uso de catalizadores debilitan los dobles enlaces de los aceites y hacen que gran cantidad de los dobles enlaces cis sean cambiados a enlaces dobles trans. De ahí que los ácidos grasos trans se encuentran principalmente en las grasas parcialmente hidrogenadas, aunque también se encuentran en las grasas hidrogenadas ya que las reacciones de hidrogenación usualmente no llegan al 100% de eficiencia (Zamora, 2005).

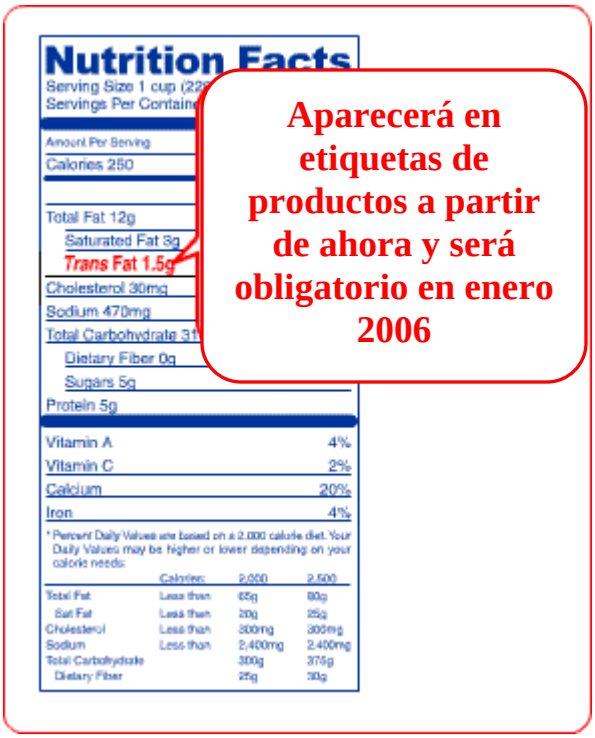
D. Grasas trans y la salud

Los ácidos grasos trans son grasas producidas durante el proceso de la hidrogenación, la cual tiene como fin estabilizar los aceites poliinsaturados y así prevenir su rancidez y mantenerlos en estado sólido a temperatura ambiente. Estos pueden ser muy dañinos para el corazón y pueden ser un riesgo para ciertos tipos de cáncer. Las grasas hidrogenadas son utilizadas en margarinas, comidas rápidas, comidas comerciales como donas, galletas dulces y saladas, alimentos procesados y alimentos fritos (Fosnocht, 2004).

Existe preocupación que el proceso de hidrogenación parcial puede tener efectos negativos, ya que destruye los ácidos grasos esenciales y se forman isómeros artificiales que son similares a las grasas saturadas, pero no pueden tener la misma actividad metabólica que los compuestos de los cuales son originados, y además inhibe la desnaturalización enzimática de los ácidos linoleico y linolenico. En los últimos cinco años se han realizado varios estudios metabólicos que han mostrado que los ácidos grasos trans incrementa la concentración del colesterol LDL y reducen la concentración del colesterol HDL en el plasma. En estos estudios también se ha encontrado que los ácidos grasos trans incrementan la relación del colesterol total a colesterol HDL casi el doble en el plasma, comparado con las grasas saturadas (Ascherio, 1997).

El metabolismo de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos como el ácido araquidonico resulta en la biosíntesis de mediadores que tienen efectos fisiológicos potentes como las prostaglandinas, prostaciclinas, tromboxanos, leucotrienes y lipoxinas. Sin embargo, cuando estos ácidos grasos se convierten en ácidos grasos poliinsaturados trans el organismo no puede producir este tipo de mediadores útiles debido a que las moléculas tienen formas no naturales que no son reconocidas por las enzimas. Aunque en ciertos productos animales se encuentran presentes pequeñas cantidades de ácidos grasos trans, en aceites parcialmente hidrogenados la cantidad de ácidos grasos trans es muy alta. Estos ácidos grasos trans son incorporados en las membranas celulares, haciendo que estas sean más densas haciendo que se alteren las funciones normales de la célula. Además, las grasas trans que son consumidas en la dieta elevan el nivel de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) las cuales son llamadas "colesterol malo" , lo cual aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Las grasas trans también reducen la cantidad de lipoproteínas de alta densidad (HDL) las cuales son llamadas "colesterol bueno", y elevan los niveles de triglicéridos en la sangre. Ambas condiciones se encuentran asociadas con la resistencia de la insulina lo cual conlleva a enfermedades como diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares. Investigadores han reportado que las personas que consumen aceites parcialmente hidrogenados, que contiene altas cantidades de grasas trans, presentan perfiles de lípidos en la sangre peores y tiene casi el doble del riesgo de tener ataques cardiacos, comparados con aquellos que no consumen aceites hidrogenados. Es por eso que la FDA (Food and Drug Administration) requiere que a partir del 2006 todas las etiquetas nutricionales presenten la cantidad de grasa trans (Zamora, 2005). El contenido de grasas trans debe ser declarado en las etiquetas nutricionales junto con las grasas saturadas y el colesterol. (FDA, 2004). Ver figura No.6.

Figura No. 6



(FDA, 2005).

Aunque en las etiquetas nutricionales la FDA requiere que se declare la cantidad de grasa trans presente en el alimento, no se coloca el porcentaje del valor diario. La razón es que aunque los científicos han encontrado que los ácidos grasos trans están relacionados con el incremento del riesgo de enfermedades coronarias, no se ha determinado un valor de referencia para los ácidos grasos trans. La FDA sí requiere que si el contenido de grasas trans es superior a los 0.5 g debe ser declarado (FDA, 2005).

Las grasas trans también tienen un efecto deteriorante sobre el cerebro y el sistema nervioso. El tejido neural está constituido principalmente por grasas y lípidos. La mielina está compuesta en un 30% de proteína y un 70% de grasas, siendo el ácido oleico y el DHA los principales ácidos grasos en la mielina. La mielina es la cobertura protectora de las neuronas. Estudios han revelado que los ácidos grasos trans provenientes de la dieta pueden ser incorporados en las membranas de las células del cerebro, incluyendo la mielina. Estas grasas sintéticas reemplazan el DHA natural de la membrana, afectando la actividad eléctrica de las neuronas. Las moléculas de ácidos

grasos trans alteran la habilidad de las neuronas de comunicarse y pueden causar degeneración neural y reducción de la capacidad mental. Desórdenes degenerativos como esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, y Alzheimer muestran que la membrana pierde ácidos grasos. Según un estudio canadiense, la ingestión de ácidos grasos trans comienza desde la infancia; este estudio muestra que aproximadamente el 7.2% de los ácidos grasos totales presentes en la leche materna son ácidos grasos trans que provienen de la alimentación de las madres con aceites parcialmente hidrogenados (Zamora, 2005).

Un estudio publicado en Journal of Lipid Research mostró que en unas pruebas realizadas a varias personas sin problemas de colesterol a los cuales se les proporcionó una dieta alta en ácido linoleico, otra alta el ácido esteárico y, por último, alto en ácidos grasos trans (elaídico principalmente); la dieta alta en ácidos grasos trans aumenta el colesterol. Encontraron que una dieta con 7.7% de energía (24g/día) proveniente de ácidos grasos trans significativamente reduce el nivel de colesterol HDL (colesterol bueno) y aumenta el nivel del colesterol LDL (colesterol malo) (Zock, 1992). Este estudio es apoyado por otro estudio similar publicado en The New England Journal of Medicine. En este estudio se llegó a la conclusión que los efectos de los ácidos grasos trans sobre el perfil de lipoproteínas del suero de la sangre es tan dañino como el consumo de ácidos grasos saturados que aumenta el colesterol. Esto se debe a que el consumo de ácidos grasos trans no sólo aumenta el nivel del colesterol LDL (colesterol malo) sino que también disminuyó el nivel del colesterol HDL (colesterol bueno) (Mensink, 1990).

Como se ha descrito anteriormente los ácidos grasos trans aumentan el colesterol y causan efectos adversos en la salud, de ahí que es importante conocer la cantidad de ácidos grasos trans presentes en los alimentos, en especial en grasas hidrogenadas que son las que los contienen en mayor cantidad, en especial las margarinas. En 1995 se realizó un estudio de todas las margarinas y mantecas que se encuentran en el mercado Danés. Cantidades significativas de ácidos grasos trans 18:1 fueron encontradas en margarinas duras 4.2 +/- 2.8% y en mantecas 6.8 +/- 3.1% (Ovesen, 1997).

Existen estudios que correlacionan la ingesta de ácidos grasos trans, con su almacenamiento en el cuerpo y el cáncer. Se pueden citar los siguientes estudios: *Ácidos grasos trans en el tejido adiposo y el cáncer de seno en un estudio de la Comunidad Europea sobre antioxidantes, ataques cardiacos y cáncer de seno* por Kolmer, *et al*. *Ácidos grasos trans están asociados con el riesgo de cáncer de próstata en un estudio de eficiencia con beta-carotenos y retinol* por King *et al*. *Consumo de ácido linoleico conjugado, grasas, y otros ácidos grasos en relación a cáncer de seno después de la menopausia: en Holanda, estudio de la dieta y el cáncer* por Voorrips, *et al*. *Consumo de alimentos de animales, métodos de cocina y el riesgo de cáncer de seno,* por Dai, *et al*.

La norma guatemalteca recomendada, COGUANOR NGR/ISO/IEC 17025 establece lineamientos para la validación de métodos para los laboratorios. Esta norma define la validación como una forma de confirmar, utilizando exámenes o evidencia objetiva, que se cumplen con los requisitos necesarios para un uso específico. Es necesario que el laboratorio valide los métodos no normalizados, los métodos que desarrolla o diseña, los métodos normalizados utilizados fuera del alcance previsto, así como para métodos normalizados que se han modificado las aplicaciones o cualquier otro cambio. Esto es para confirmar que dichos métodos son aptos para el uso deseado. La validación puede ser tan amplia como sea necesario para el campo o la aplicación deseada. El laboratorio debe mantener registros de todos los resultados, del procedimiento empleado para la validación y una declaración de la aptitud del método con respecto al uso deseado. (Norma COGUANOR NGR/ISO/IEC 17025).

Una o varias de las siguientes técnicas para la determinación del desempeño deben ser utilizadas:

- Calibración utilizando materiales o patrones de de referencia.
- Comparación de resultados utilizando otros métodos.
- Comparaciones interlaboratorios.
- Evaluación de los factores que influyen en los resultados.
- Evaluación de la incertidumbre de los resultados.

Al realizar algún cambio en los métodos no normalizados validados, se debe documentar la influencia que tienen dichos cambios y, de ser necesario, se debe realizar una nueva validación. La exactitud y el rango de los valores obtenidos utilizando métodos validados deben ser adecuados a las necesidades de los clientes, por ejemplo: los límites de detección, la linealidad, la repetibilidad o reproducibilidad, la incertidumbre, la selectividad del método, la robustez ante los cambios. Para la validación se deben incluir las especificaciones de los requisitos, las características de los métodos, la verificación de que se pueden cumplir con los requisitos y la declaración de la validez del método. Durante el desarrollo del método periódicamente se deben realizar revisiones para determinar si se siguen cumpliendo con las necesidades del cliente. En caso de ser necesaria alguna modificación de los requisitos en el plan de desarrollo deben ser autorizados y aprobados. Al realizar una validación se deben tomar en cuenta tres aspectos, los costos, las posibilidades técnicas y los riesgos que conlleva; dichos factores deben ser equilibrados de la mejor manera (Norma COGUANOR NGR/ISO/IEC 17025).

Acreditación es el procedimiento por medio del cual un ente reconocido formalmente muestra que una entidad es competente para desarrollar ciertas tareas. La acreditación ayuda a facilitar el intercambio comercial ya que elimina barreras técnicas y diferencias entre países. El laboratorio para el cual se está realizando la validación del método es para ampliar su acreditación por la Oficina Guatemalteca de Acreditación OGA en la norma para laboratorio de ensayo y calibración Norma NGR/ ISO/IEC 17025. La OGA es una oficina de acreditación que es parte del Sistema Nacional de Calidad del Ministerio de Economía. La OGA fue establecida de conformidad con el Acuerdo Gubernativo No. 145-2002, del 3 de mayo del 2002. Este fue modificado por el Decreto Ley No. 78-2005 del Congreso de la República, del 8 de diciembre de 2005. La función principal de la OGA es administrar y aplicar la acreditación para toda Guatemala con el propósito de reconocer formalmente la competencia técnica con base en las normas nacionales e internacionales vigentes. (OGA, 2006).

III. JUSTIFICACIÓN

A partir del año 2006 la FDA, organización encargada de la regulación de los alimentos en Estados Unidos de América, hizo obligatoria la declaración del contenido de grasa trans presente en los alimentos dentro del etiquetado nutricional. Entonces todo producto alimenticio que se exporta a los Estados Unidos requerirá la determinación y cuantificación del contenido de ácidos grasos trans.

Actualmente dicho análisis es ofrecido en el sector privado por un solo laboratorio, de ahí la importancia de desarrollar el método para la determinación de grasas trans ya que cada vez más industrias guatemaltecas requerirán dicho análisis. Esto no sólo presenta implicaciones económicas sino que también implicaciones médicas, ya que se ha encontrado a través de varios estudios que las grasas trans tienen un efecto negativo en la salud. Entre los efectos negativos se encuentra el aumento de los niveles de colesterol malo en la sangre, la disminución de los niveles de colesterol bueno, formación de mediadores que no pueden ser utilizados adecuadamente por el cuerpo y por ultimo, se ha relacionado la ingestión de grasas trans con la incidencia de cáncer.

Por todas estas razones se ha convertido en una necesidad el determinar la presencia de grasas trans en los alimentos que diariamente consumimos. Pero no sólo es necesario su determinación, sino también la cuantificación de las grasas trans presentes en el alimento. La cuantificación debe ser lo mas exacta posible y debe ser realizada por un laboratorio reconocido internacionalmente para que los análisis y el etiquetado nutricional sea reconocido a nivel mundial. Por eso este proyecto tiene como objetivo principal realizar la validación del método oficial AOAC, para poder llevar a cabo la correcta cuantificación y determinación de los ácidos grasos trans, la cual es requerida por la OGA para la acreditación en la norma COGUANOR NGR/ISO/IEC 17025 del laboratorio que realiza este tipo de análisis.

IV. OBJETIVOS

A. Generales

El objetivo principal es la validación del método oficial AOAC para la determinación y la cuantificación de los ácidos grasos cis y trans en grasas y aceites por medio de la cromatografía de gases.

B. Específicos

1. La utilización del método AOAC para la metilación de los ácidos grasos presentes en las grasas y aceites para su posterior cuantificación utilizando cromatografía de gases.

2. Seleccionar la columna adecuada con base en la polaridad de los esteres metílicos cis-trans que permita una adecuada separación y cuantificación de los ácidos grasos cis-trans.

3. Encontrar las condiciones cromatográficas adecuadas para la correcta separación de los ácidos grasos con énfasis en los isómeros cis y trans.

4. La recuperación y la separación de los ácidos grasos en estándares reconocidos.

V. METODOLOGÍA

El alcance es la separación, identificación, y cuantificación de los ácidos grasos cis y trans entre C14 y C18, en muestras de aceites y grasas que se comercializan en Guatemala.

Para cumplir con los objetivos del este trabajo primero se hacen pruebas de la recuperación, separación e identificación de los estándares de ácidos grasos cis y trans con una columna adecuada utilizando un cromatógrafo de gases HP. La columna es escogida con base en la polaridad de los esteres metílicos cis-trans, de ahí que se utilizara una columna altamente polar. Para lograrlo se cambian y ajustan las condiciones cromatográficas hasta obtener las condiciones ideales en las cuales se logre la mejor separación de los picos de los ácidos grasos metilados.

Los estándares que se utilizan son mezclas de ácidos grasos metilados. El primer estándar es una mezcla de ácidos grasos cis metilados denominada AOAC Mix 6 y su certificado de calidad se encuentra en los anexos. El otro estándar que se utilizará es una mezcla de ácidos grasos cis y trans denominada K110 FAME Mix cuyo certificado de calidad también se encuentra en los anexos. Ambos estándares se almacenan en el congelador a -20 ºC.

El siguiente paso es la aplicación del método AOAC 994.15 (ver anexos) a varias muestras de grasas y aceites que se comercializan en Guatemala. Cada muestra se procesa por dos técnicos que, a su vez, las trabajan en duplicado. Dichos técnicos de laboratorio poseen un grado de escolaridad de nivel superior y además, poseen más de 20 años de experiencia en análisis fisicoquímicos. Los extractos obtenidos son inyectados en el cromatógrafo de gases HP empezando por los estándares y luego cada muestra en

duplicado. Antes de la inyección de los extractos, se programa el equipo a las condiciones ideales encontradas con anterioridad. Esto se comprueba inyectando nuevamente los estándares y observando si se obtiene la separación deseada, sino se logran se debe ajustar nuevamente el equipo. Luego se inyectan los extractos de las muestras en duplicado, como ya se explicó con anterioridad.

Cada diez inyecciones se vuelven a inyectar los estándares para comprobar que se sigue obteniendo la separación adecuada. Si al inyectar los estándares se comprueba que la separación no es la adecuada o la altura de los picos ha disminuido en un 50%, se deben enfriar el aparato, cortar la columna, volver a programar el equipo y comenzar nuevamente con los estándares.

Si las muestras no son inyectadas inmediatamente después de ser metiladas, se guardan en el congelador a -20 ºC, en los tubos de ensayo bien cerrados; y de ser necesario se almacenan por largos periodos de tiempo y se sustituye la atmósfera del espacio de cabeza con nitrógeno.

Luego se analizan todos los cromatogramas obtenidos y se procede a la identificación y cuantificación de los ácidos grasos cis y trans, formando el perfil. Todos los datos obtenidos se analizan estadísticamente para realizar la validación del método, haciendo énfasis en pruebas como la desviación estándar, el coeficiente de variación y el porcentaje de error para la determinación de las incertidumbres que se manejan con este método.

Los materiales y métodos a utilizar se encuentran descritos en los anexos.

VI. DATOS

A. Se pesaron 500 mg de cada muestra en duplicado, las muestras utilizadas fueron obtenidas de un supermercado local y las descripciones son los siguientes:

1. Muestra control: Aceite de oliva extra virgen
2. Muestra A: Margarina marca No.1, 12.5% reducida en aceite.
3. Muestra B: Margarina dietética marca No. 1, 25% reducida en aceite.
4. Muestra C: Margarina marca No. 2, 100% vegetal
5. Muestra D: Margarina light marca No. 2, 100% vegetal
6. Muestra E: Margarina marca No. 3, 12.5% reducida en grasa
7. Muestra F: Margarina light marca No. 3, 25% reducida en grasa
8. Muestra G: Margarina marca No.4, 100% vegetal.

B. En las tablas No. 1 a la No. 9 se presentan los datos obtenidos de las inyecciones cromatográficas de los estándares, la muestra control de aceite de oliva y las muestras de margarina. En dichas tablas se encuentran los porcentajes de cada ácido graso presente en los estándares y en las muestras comerciales, formando así su perfil cromatográfico de los ácidos grasos cis y trans. Además, se pueden observar los cálculos de las desviaciones estándar de los mismos, los promedios, así como su coeficiente de variación; y en el caso de los estándares su error relativo, factor de corrección y promedio.

VII. CÁLCULOS

Tabla No. 1: Cálculos de estándares

ESTÀNDAR AOCS MIX #6

		ÀCIDOS GRASOS POR ÀREA						
INYECCIÓN		MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITOLEICO	ESTEÀRICO	OLEICO	LINOLEICO	LINOLENICO
CERTIFICADO		2.00	30.04	3.00	13.98	40.84	7.10	3.02
	24	2.02	34.87	2.79	16.56	39.04	3.68	1.03
	26	2.06	35.05	2.80	16.53	38.91	3.63	1.02
	27	2.09	35.20	2.83	16.39	38.85	3.64	1.00
DESVIACIÓN ESTÀNDAR		0.03	0.13	0.02	0.07	0.08	0.02	0.01
PROMEDIO		2.05	35.04	2.81	16.50	38.94	3.65	1.02
COEFICIENTE VARIACIÓN		1.24	0.38	0.71	0.45	0.21	0.60	1.39
ERROR RELATIVO		2.71	16.64	-6.49	18.00	-4.66	-48.56	-66.32
FACTOR CORRECCIÓN		-0.06	-5.83	0.18	-2.97	1.82	1.77	0.67

ESTÀNDAR K110 FAME MIX

		ÀCIDOS GRASOS POR ÀREA							
INYECCIÓN		PALMÍTICO	PALMITOLEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÀRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINOLEIDATO	LINOLEICO
CERTIFICADO		12.47	12.51	12.50	12.44	12.46	12.58	12.42	12.6
	25	14.16	12.96	12.50	14.69	12.45	12.83	11.07	9.34
	28	13.95	12.75	12.24	15.02	12.64	12.94	11.14	9.32
	29	13.97	12.77	12.24	15.03	12.63	12.86	11.16	9.34
DESVIACIÓN ESTÀNDAR		0.10	0.10	0.12	0.16	0.09	0.05	0.04	0.01
PROMEDIO		14.02	12.83	12.33	14.91	12.57	12.88	11.12	9.33
COEFICIENTE VARIACIÓN		0.69	0.74	1.00	1.05	0.69	0.38	0.36	0.10
ERROR RELATIVO		12.47	2.53	-1.38	19.89	0.91	2.37	-10.44	-25.93
FACTOR CORRECCIÓN		-1.75	-0.32	0.17	-2.97	-0.11	-0.30	1.16	2.42

Tabla No. 2: Cálculos de muestra control

CONTROL	ACEITE DE OLIVA									
técnico 1	cis	cis	trans	cis	cis	trans	cis	trans	cis	cis
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
118	0.00	14.06	0.00	1.46	2.66	0.00	70.14	0.00	10.96	0.74
119	0.00	14.05	0.00	1.46	2.73	0.00	70.04	0.00	10.99	0.73
122	0.00	14.04	0.00	1.44	2.77	0.00	69.99	0.00	11.02	0.75
123	0.00	14.00	0.00	1.45	2.76	0.00	69.98	0.00	11.05	0.76
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.00	0.02	0.00	0.01	0.04	0.00	0.06	0.00	0.03	0.01
PROMEDIO	0.00	14.03	0.00	1.45	2.73	0.00	70.04	0.00	11.00	0.75
COEFICIENTE VARIACIÓN	0.00	0.16	0.00	0.54	1.61	0.00	0.09	0.00	0.30	1.50
técnico 2										
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
78	0.00	14.23	0.00	1.50	2.78	0.00	69.77	0.00	10.98	0.74
79	0.00	14.05	0.00	1.46	2.67	0.00	70.12	0.00	10.97	0.73
80	0.00	13.93	0.00	1.43	2.68	0.00	70.27	0.00	10.96	0.73
81	0.00	14.12	0.00	1.45	2.63	0.00	69.99	0.00	11.08	0.73
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.00	0.11	0.00	0.02	0.06	0.00	0.18	0.00	0.05	0.00
PROMEDIO	0.00	14.08	0.00	1.46	2.69	0.00	70.04	0.00	11.00	0.73
COEFICIENTE VARIACIÓN	0.00	0.78	0.00	1.61	2.05	0.00	0.26	0.00	0.42	0.42
TOTAL										
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.00	0.08	0.00	0.02	0.05	0.00	0.14	0.00	0.04	0.01
PROMEDIO	0.00	14.06	0.00	1.45	2.71	0.00	70.04	0.00	11.00	0.74
COEFICIENTE VARIACIÓN	0.00	0.59	0.00	1.26	1.96	0.00	0.19	0.00	0.37	1.44

Tabla No. 3: Cálculos de muestra A

MUESTRA A	MARGARINA 12% REDUCIDA EN ACEITE									
técnico 1	cis	cis	trans	cis	cis	trans	cis	trans	cis	cis
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
124	1.15	47.12	0.00	0.00	5.85	0.00	37.12	0.00	8.52	0.00
125	1.13	46.89	0.00	0.00	5.87	0.00	37.32	0.00	8.55	0.00
126	1.14	46.97	0.00	0.00	5.89	0.00	37.13	0.00	8.63	0.00
127	1.17	47.34	0.00	0.00	5.80	0.00	36.92	0.00	8.52	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.02	0.17	0.00	0.00	0.03	0.00	0.14	0.00	0.05	0.00
PROMEDIO	1.15	47.08	0.00	0.00	5.85	0.00	37.12	0.00	8.56	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	1.31	0.36	0.00	0.00	0.54	0.00	0.38	0.00	0.54	0.00
técnico 2										
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
82	1.15	46.91	0.00	0.00	6.00	0.00	37.17	0.00	8.63	0.00
83	1.15	46.76	0.00	0.00	5.82	0.00	37.26	0.00	8.77	0.00
84	1.12	46.55	0.00	0.00	5.83	0.00	37.54	0.00	8.73	0.00
85	1.07	46.03	0.00	0.00	5.95	0.00	38.01	0.00	8.73	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.03	0.33	0.00	0.00	0.08	0.00	0.33	0.00	0.05	0.00
PROMEDIO	1.12	46.56	0.00	0.00	5.90	0.00	37.50	0.00	8.72	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.89	0.71	0.00	0.00	1.31	0.00	0.87	0.00	0.58	0.00
TOTAL										
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.03	0.37	0.00	0.00	0.06	0.00	0.31	0.00	0.09	0.00
PROMEDIO	1.14	46.82	0.00	0.00	5.88	0.00	37.31	0.00	8.64	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.49	0.79	0.00	0.00	1.07	0.00	0.84	0.00	1.08	0.00

Tabla No. 4: Cálculos de muestra B

MUESTRA B	MARGARINA DIETÉTICA 25% REDUCIDA EN ACEITE									
técnico 1	cis	cis	trans	cis	cis	trans	cis	trans	cis	cis
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÀRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
46	1.20	47.57	0.00	0.00	5.66	0.00	36.74	0.00	8.58	0.00
47	1.14	46.74	0.00	0.00	5.90	0.00	37.34	0.00	8.66	0.00
48	1.15	46.74	0.00	0.00	5.75	0.00	37.32	0.00	8.80	0.00
49	1.11	46.37	0.00	0.00	5.81	0.00	37.63	0.00	8.85	0.00
DESVIACIÓN ESTÀNDAR	0.03	0.44	0.00	0.00	0.09	0.00	0.32	0.00	0.10	0.00
PROMEDIO	1.15	46.85	0.00	0.00	5.78	0.00	37.26	0.00	8.72	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.86	0.94	0.00	0.00	1.51	0.00	0.87	0.00	1.20	0.00
técnico 2										
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÀRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
88	1.13	46.81	0.00	0.00	5.79	0.00	37.38	0.00	8.67	0.00
89	1.13	46.81	0.00	0.00	5.84	0.00	37.37	0.00	8.64	0.00
90	1.08	46.37	0.00	0.00	5.85	0.00	37.83	0.00	8.66	0.00
91	1.05	46.22	0.00	0.00	5.92	0.00	37.95	0.00	8.68	0.00
DESVIACIÓN ESTÀNDAR	0.03	0.26	0.00	0.00	0.04	0.00	0.26	0.00	0.01	0.00
PROMEDIO	1.10	46.55	0.00	0.00	5.85	0.00	37.63	0.00	8.66	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.87	0.56	0.00	0.00	0.75	0.00	0.69	0.00	0.16	0.00
TOTAL										
DESVIACIÓN ESTÀNDAR	0.04	0.39	0.00	0.00	0.08	0.00	0.35	0.00	0.08	0.00
PROMEDIO	1.12	46.70	0.00	0.00	5.81	0.00	37.44	0.00	8.69	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	3.78	0.84	0.00	0.00	1.34	0.00	0.93	0.00	0.93	0.00

Tabla No. 5: Cálculos de muestra C

MUESTRA C	MARGARINA 100% VEGETAL									
técnico 1	cis	cis	trans	cis	cis	trans	cis	trans	cis	cis
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÀRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
50	1.01	46.91	0.00	0.00	5.44	0.25	37.58	0.00	8.80	0.00
51	1.13	48.33	0.00	0.00	5.26	0.27	36.34	0.00	8.66	0.00
128	1.09	47.87	0.00	0.00	5.25	0.28	36.61	0.00	8.76	0.00
53	1.06	47.36	0.00	0.00	5.36	0.25	36.98	0.00	8.86	0.00
DESVIACIÓN ESTÀNDAR	0.04	0.53	0.00	0.00	0.08	0.01	0.46	0.00	0.07	0.00
PROMEDIO	1.07	47.62	0.00	0.00	5.33	0.26	36.88	0.00	8.77	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	4.03	1.12	0.00	0.00	1.43	4.02	1.26	0.00	0.83	0.00
técnico 2										
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÀRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
92	1.10	47.95	0.00	0.00	5.44	0.24	36.44	0.00	8.70	0.00
93	1.09	47.91	0.00	0.00	5.41	0.27	36.47	0.00	8.71	0.00
94	1.06	47.91	0.00	0.00	5.31	0.24	36.60	0.00	8.73	0.00
100	1.03	47.34	0.00	0.00	5.40	0.23	37.09	0.00	8.79	0.00
DESVIACIÓN ESTÀNDAR	0.03	0.25	0.00	0.00	0.05	0.02	0.26	0.00	0.04	0.00
PROMEDIO	1.07	47.78	0.00	0.00	5.39	0.24	36.65	0.00	8.73	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.61	0.53	0.00	0.00	0.86	7.07	0.71	0.00	0.40	0.00
TOTAL										
DESVIACIÓN ESTÀNDAR	0.04	0.42	0.00	0.00	0.07	0.02	0.39	0.00	0.06	0.00
PROMEDIO	1.07	47.70	0.00	0.00	5.36	0.25	36.76	0.00	8.75	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	3.41	0.89	0.00	0.00	1.30	6.85	1.07	0.00	0.69	0.00

Tabla No. 6: Cálculos de muestra D

MUESTRA D	MARGARINA 100% VEGETAL LIGHT									
técnico 1	cis	cis	trans	cis	cis	trans	cis	trans	cis	cis
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
54	0.94	39.38	0.00	0.00	8.63	10.09	33.81	0.00	7.14	0.00
55	0.95	39.57	0.00	0.00	8.55	10.14	33.65	0.00	7.13	0.00
56	0.91	39.07	0.00	0.00	8.72	10.17	33.99	0.00	7.13	0.00
57	0.93	39.27	0.00	0.00	8.56	10.25	33.91	0.00	7.08	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.01	0.18	0.00	0.00	0.07	0.06	0.13	0.00	0.02	0.00
PROMEDIO	0.94	39.32	0.00	0.00	8.62	10.16	33.84	0.00	7.12	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	1.56	0.46	0.00	0.00	0.79	0.55	0.37	0.00	0.32	0.00
técnico 2										
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
96	0.95	39.40	0.00	0.00	8.56	10.21	33.63	0.00	7.13	0.00
97	0.94	39.00	0.00	0.00	8.56	10.43	33.57	0.00	7.38	0.00
98	0.98	39.77	0.00	0.00	8.59	10.00	33.39	0.00	7.15	0.00
99	0.97	39.68	0.00	0.00	8.61	10.07	33.41	0.00	7.13	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.02	0.30	0.00	0.00	0.02	0.16	0.10	0.00	0.11	0.00
PROMEDIO	0.96	39.46	0.00	0.00	8.58	10.18	33.50	0.00	7.20	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	1.80	0.75	0.00	0.00	0.26	1.62	0.30	0.00	1.48	0.00
TOTAL										
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.02	0.26	0.00	0.00	0.05	0.12	0.20	0.00	0.09	0.00
PROMEDIO	0.95	39.39	0.00	0.00	8.60	10.17	33.67	0.00	7.16	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.10	0.65	0.00	0.00	0.62	1.21	0.61	0.00	1.20	0.00

Tabla No. 7: Cálculos de muestra E

MUESTRA E	MARGARINA 12.5% REDUCIDA EN GRASA									
técnico 1	cis	cis	trans	cis	cis	trans	cis	trans	cis	cis
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
58	1.20	42.38	0.00	0.00	6.41	7.71	37.77	0.00	3.97	0.00
59	1.29	43.12	0.00	0.00	6.28	7.63	37.09	0.00	3.94	0.00
60	1.24	42.75	0.00	0.00	6.33	7.63	37.48	0.00	3.97	0.00
61	1.21	42.35	0.00	0.00	6.39	7.50	37.98	0.00	4.00	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.03	0.31	0.00	0.00	0.05	0.07	0.34	0.00	0.02	0.00
PROMEDIO	1.23	42.65	0.00	0.00	6.35	7.62	37.58	0.00	3.97	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.75	0.73	0.00	0.00	0.80	0.98	0.90	0.00	0.61	0.00
técnico 2										
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMITICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
101	1.29	43.22	0.00	0.00	6.21	7.68	36.98	0.00	3.94	0.00
108	1.26	42.75	0.00	0.00	6.27	7.99	37.16	0.00	3.94	0.00
106	1.21	42.59	0.00	0.00	6.41	7.88	37.37	0.00	3.95	0.00
107	1.23	42.63	0.00	0.00	6.41	7.86	37.33	0.00	3.94	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.03	0.25	0.00	0.00	0.09	0.11	0.15	0.00	0.00	0.00
PROMEDIO	1.25	42.80	0.00	0.00	6.33	7.85	37.21	0.00	3.94	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.41	0.59	0.00	0.00	1.40	1.39	0.42	0.00	0.13	0.00
TOTAL										
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.03	0.29	0.00	0.00	0.07	0.15	0.32	0.00	0.02	0.00
PROMEDIO	1.24	42.72	0.00	0.00	6.34	7.74	37.40	0.00	3.96	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.65	0.69	0.00	0.00	1.15	1.94	0.86	0.00	0.58	0.00

Tabla No. 8: Cálculos de muestra F

MUESTRA F	MARGARINA LIGHT 25% REDUCIDA EN GRASA									
técnico 1	cis	cis	trans	cis	cis	trans	cis	trans	cis	cis
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
64	1.15	42.69	0.00	0.00	7.75	12.64	33.40	0.00	2.36	0.00
65	1.17	42.82	0.00	0.00	7.75	12.57	33.33	0.00	2.37	0.00
66	1.08	43.09	0.00	0.00	7.50	12.72	33.13	0.00	2.47	0.00
67	1.10	43.40	0.00	0.00	7.47	12.72	33.03	0.00	2.27	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.03	0.27	0.00	0.00	0.14	0.06	0.15	0.00	0.07	0.00
PROMEDIO	1.13	43.00	0.00	0.00	7.62	12.66	33.22	0.00	2.37	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.98	0.63	0.00	0.00	1.77	0.50	0.44	0.00	2.96	0.00
técnico 2										
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
109	1.32	42.53	0.00	0.00	7.22	12.83	33.32	0.00	2.41	0.00
110	1.14	41.86	0.00	0.00	7.64	12.06	34.45	0.00	2.56	0.00
111	1.15	41.72	0.00	0.00	7.56	11.84	34.93	0.00	2.48	0.00
112	1.14	41.93	0.00	0.00	7.68	12.02	34.43	0.00	2.50	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.08	0.31	0.00	0.00	0.18	0.38	0.59	0.00	0.06	0.00
PROMEDIO	1.19	42.01	0.00	0.00	7.53	12.19	34.28	0.00	2.49	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	6.43	0.73	0.00	0.00	2.40	3.11	1.72	0.00	2.22	0.00
TOTAL										
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.07	0.57	0.00	0.00	0.17	0.36	0.68	0.00	0.09	0.00
PROMEDIO	1.16	42.50	0.00	0.00	7.57	12.42	33.75	0.00	2.43	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	5.73	1.35	0.00	0.00	2.19	2.91	2.02	0.00	3.57	0.00

Tabla No. 9: Cálculos de muestra G

MUESTRA G	MARGARINA 100% VEGETAL									
técnico 1	cis	cis	trans	cis	cis	trans	cis	trans	cis	cis
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
68	1.11	43.62	0.00	0.00	7.45	13.52	32.05	0.00	2.26	0.00
69	1.11	43.40	0.00	0.00	7.49	13.01	32.50	0.00	2.23	0.00
70	1.09	42.97	0.00	0.00	7.44	12.72	33.20	0.00	2.33	0.00
71	1.08	42.82	0.00	0.00	7.43	12.78	33.30	0.00	2.34	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.01	0.32	0.00	0.00	0.02	0.31	0.51	0.00	0.05	0.00
PROMEDIO	1.10	43.20	0.00	0.00	7.45	13.01	32.76	0.00	2.29	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	1.13	0.74	0.00	0.00	0.29	2.41	1.57	0.00	2.00	0.00
técnico 2										
INYECCIÓN	MIRÍSTICO	PALMÍTICO	PALMITO-LEIDATO	PALMITOLEICO	ESTEÁRICO	ELAIDATO	OLEICO	LINO-LEIDATO	LINOLEICO	LINOLENICO
113	1.07	43.54	0.00	0.00	7.26	12.76	32.76	0.00	2.34	0.00
114	1.15	43.54	0.00	0.00	7.29	12.74	32.66	0.00	2.32	0.00
115	1.15	43.54	0.00	0.00	7.35	12.74	32.60	0.00	2.33	0.00
116	1.17	43.92	0.00	0.00	7.24	12.68	32.39	0.00	2.31	0.00
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.04	0.16	0.00	0.00	0.04	0.03	0.13	0.00	0.01	0.00
PROMEDIO	1.13	43.63	0.00	0.00	7.28	12.73	32.60	0.00	2.33	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	3.34	0.37	0.00	0.00	0.58	0.24	0.41	0.00	0.41	0.00
TOTAL										
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.03	0.33	0.00	0.00	0.09	0.26	0.38	0.00	0.04	0.00
PROMEDIO	1.12	43.42	0.00	0.00	7.37	12.87	32.68	0.00	2.31	0.00
COEFICIENTE VARIACIÓN	2.98	0.77	0.00	0.00	1.22	2.04	1.17	0.00	1.63	0.00

VIII. RESULTADOS

A. Resultados generales:

1. La columna para la determinación de los ácidos grasos cis y trans se escogió con base en su polaridad, en este caso una altamente polar, por eso se buscó una poli(bicianopropil siloxano) al 100%. El siguiente criterio que se utilizó fue que tenía que ser lo suficientemente larga para obtener una separación adecuada, por eso se escogió de 100 m. Por último se examinaron los cromatogramas de las casas comerciales para determinar cuál podía dar la mejor separación y tener un precio razonable, por eso se escogió de la casa Alltech. Juntando todas estas características la columna utilizada fue una AT-SILAR-100 de 100 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y 0.2 µm de espesor de poli(bicianopropil siloxano). Además, esta columna tiene la ventaja que puede separar los ácidos grasos PUFA que incluyen los ácidos graso omega 3 y omega 6. Aunque se encontraron algunas desventajas de la utilización de esta columna como son su difícil acondicionamiento pues requiere de condiciones de presión bastante altas (42 psi), tiene un tiempo de muerto en cada corrida de al menos 10 minutos, y separa los isómeros en especial los de C18 que hacen difícil la identificación y separación de los picos del C18 cis y C18 trans. Ver anexos.

2. Como se puede observar en las gráficas No. 1 y 2, los coeficientes de variación obtenidos de las inyecciones de los estándares certificados fueron menores al 2%, lo que muestra que el error entre inyecciones es bajo, obteniéndose así una buena repetibilidad o sea una buena precisión.

3. Al comparar los porcentajes de los ácidos grasos obtenidos en la inyección de los estándares y los porcentajes del certificado de los mismos se encontró que existe una diferencia, por eso se calcularon los porcentajes de error relativo los cuales sirvieron para obtener un factor de corrección basando en los valores promedios. Los factores de corrección se pueden observar en las gráficas No. 3 y 4. En dichas gráficas se muestra que los factores de corrección son aceptables, pues son menores a 10 puntos porcentuales, y sólo demuestran una variación debido a que se utilizó una columna diferente a la de los certificados y la composición de la columna afecta en la separación.

4. Además, se ajustaron las condiciones del equipo para obtener la mejor separación, siendo éstas diferentes a las de los certificados. Estos factores más otros factores presentes como los tipos de solventes utilizados, la pureza de los solventes, los gases empleados en el equipo, las condiciones ambientales y demás factores aleatorios que en las determinaciones afectan los resultados.

5. Se utilizó aceite de oliva como muestra control, y como se puede observar en la gráfica No. 5 se determinó que el coeficiente de variación es menor o igual al 2% lo cual es muy bueno, ya que se ha establecido que el coeficiente de variación debe ser menor al 10%. Este bajo valor de coeficiente de variación indica que la repetibilidad y la reproducibilidad son buenas y por ende la precisión es buena. Además, se pudo constatar que no se dan falsos positivos ya que el aceite de oliva no posee ácidos grasos trans y en los resultados de la gráfica No. 5 se muestra que no se obtuvo presencia de estos. Y su desviación estándar fue menor al 0.2 que es muy bueno.

6. La muestra de margarina A, como se observa en la gráfica No. 6 presento un coeficiente de variación menor al 3% y una desviación estándar menor al 0.5 lo cual demuestra que se obtuvo buena repetibilidad de inyecciones y reproducibilidad entre dos técnicos, o sea se tiene una buena precisión en el método. Esta muestra tampoco presenta grasas trans.

7. En la gráfica No. 7, de la muestra B, se puede determinar que el coeficiente de variación es menor al 4%, lo cual todavía es aceptable. Por lo tanto esto indica que la repetibilidad entre inyecciones es buena y la reproducibilidad entre técnicos para dicha muestra también es buena, siendo así la precisión también buena. Esto es confirmado por la desviación estándar que es menor al 0.5. Esta muestra tampoco posee grasas trans.

8. En el caso de la muestra C se puede observar en la grafica No. 8 la mayoría de los ácidos grasos tuvieron coeficientes de variación bajos (menores al 2%) exceptuando dos ácidos grasos el mirístico y el elaidato (trans) que tuvieron coeficientes de variación mucho mayores (3.41% y 6.85% respectivamente), aunque todavía aceptables. Pero al

observar la desviación estándar, la cual es menor al 0.55, se puede decir que la razón por la cual hubo tanta variación fue que tanto el mirístico como el elaidato estaban presentes en cantidades muy pequeñas y cualquier ligera variación hacia subir significativamente el coeficiente de variación. El mirístico tuvo un valor promedio de 1.07% (p/p) y el elaidato de 0.26% (p/p).

9. En la gráfica No. 9 se puede observar que el coeficiente de variación para la muestra D es menor o igual al 2%, mejorando así la precisión en especial para el ácido graso trans elaidato y para el ácido graso cis mirístico. En esta gráfica se demuestra que hubo buena repetibilidad de inyecciones y reproducibilidad entre técnicos. Esto se ve confirmado con una desviación estándar menor a 0.5.

10. Para la muestra E, según la gráfica No. 10 el coeficiente de variación es menor al 3% y con una desviación estándar menor a 0.34, demostrándose una buena repetibilidad y reproducibilidad, o sea para esta muestra se obtuvieron resultados con buena precisión.

11. La muestra F posee un coeficiente de variación superior (menor al 6.5%) aunque aceptable. Según la gráfica No. 11 se puede observar que los ácidos grasos con mayores coeficientes de variación son los que están en menor cantidad (mirístico, esteárico, elaidato y linoleico). La desviación estándar es menor a 0.38 por eso todavía es aceptable, por consiguiente la precisión de los resultados también es aceptable.

12. En la gráfica No. 12 se observan los coeficientes de variación para la muestra G, y se puede decir que los coeficientes de variación son menores al 3.5% y tienen una desviación estándar menor a 0.51. Siendo los que más varían los ácidos grasos mirístico y elaidato. Esto es aceptable y, por lo tanto, la precisión de los resultados es aceptable.

13. En general, se observa una tendencia a que los coeficientes de variación que más altos son para los ácidos grasos mirístico (cis) y elaidato (trans) que son los que usualmente se encuentran en menor cantidad en las muestras estudiadas. Esto puede ser

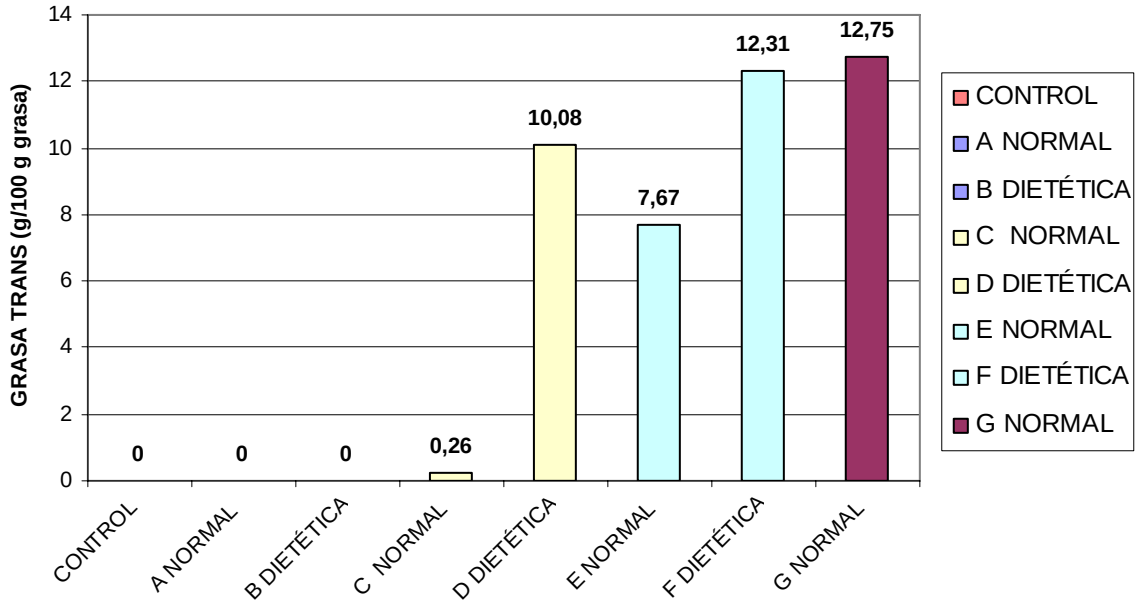
también porque las grasas trans depende su cantidad del proceso de hidrogenación al que fue sometida la muestra.

B. Resultados grasas trans:

14. Como se puede observar en la gráfica siguiente (gráfica No. 13) la muestra control, la muestra A y la muestra B no contienen grasa trans. En cambio las muestras C, D, E, F y G si contienen grasa trans en diferentes cantidades.

15. También se puede observar que, tanto las margarinas dietéticas como las normales poseen grasas trans, aunque en diferentes cantidades dependiendo de la cantidad de aceite hidrogenado o parcialmente hidrogenado que utilicen en su fabricación.

GRÁFICA #13 CANTIDAD DE GRASA TRANS



C. Comparación de los métodos AOAC, las modificaciones al método empleado y las condiciones de los certificados de los estándares:

Tabla No. 10

Método AOAC 994.15	Modificaciones al método empleado	Condiciones de los certificados de los estándares
Si se observa turbidez se debe filtrar la muestra por papel filtro.	No fue necesario filtrar la muestra.	_____
Utilizar entre 400 a 500 mg de muestra	Se utilizaron 500 mg de muestra	_____
Reactivo de BF_3 al 12%	Reactivo de BF_3 al 7%	
Solvente: heptano o hexano	Se utilizó de solvente: n-hexano	Solvente hexano
Orientado especialmente para isómeros cis y trans de C18	Se determinaron isómeros cis y trans de C14 a C18	Isomeros cis y trans de C14 a C18
Detector FID	Detector FID	Detector FID
Sistema de inyección: split 1:100	Sistema de inyección: split 1:50	Sistema de inyección: split 1:100
Temperatura del inyector: 225 ºC	Temperatura del inyector: 250 ºC	_____
Temperatura del detector: 250 ºC	Temperatura del detector: 250 ºC	_____
Programa de temperatura: Inicial 150 ºC Velocidad 1.0 ºC/ min Final 200 ºC por 20 min	Programa de temperatura: Inicial 160 ºC Velocidad 5.0 ºC/ min Final 240 ºC por 5 min	Programa de temperatura: Inicial 140 ºC Velocidad 10 ºC/ min Final 240 ºC por 2 min
Columna: capilar 100 m X 0.25 mm de silica fundida	AT-SILAR-100 de 100 m de largo, 0.25 mm de	AT-SILAR 30 m de largo, 0.25 mm de diámetro

recubierta con SP-2560 o un ciano-alquilpolisiloxano	diámetro interno y 0.2 µm de espesor de poli(bicianopropil siloxano)	interno y 0.25 µm de espesor de (50% cianopropil)-50% metilpolisiloxano
Gas portador: helio o hidrogeno ultrapuro	Gas portador: Nitrógeno ultrapuro	_____
Inyección: 1-2 µL	Inyección: 1 µL	Inyección: 1-2 µL
Cuantificación: por Espectrofotometría (IR) y con estándar externo de metil elaidato	Cuantificación: Por integración con el programa CHEMSTATION	Cuantificación: por porcentaje por peso.

IX. CONCLUSIONES

A. Se seleccionó la columna adecuada (AT-SILAR-100 de 100 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y 0.2 µm de espesor de poli(bicianopropil siloxano)) altamente polar que permitió la separación de los ácidos grasos cis y trans entre C14 y C18, y su posterior cuantificación.

B. Fue posible encontrar las condiciones cromatográficas adecuadas que permitieron la correcta separación de los ácidos grasos cis y trans entre C14 y C18, con coeficientes de variación aceptables.

C. Se logró la recuperación y separación aceptable de los ácidos grasos cis y trans metilados en estándares conocidos y certificados con precisión y un porcentaje de error en la exactitud que se utilizo para determinar un factor de corrección apropiado.

D. Se encontró que de 7 grasas que se comercializan en Guatemala, solamente 2 grasas (de la misma marca) no presentan ácidos grasos trans.

E. Se pudo determinar que de 5 grasas que se comercializan en Guatemala, tanto las margarinas dietéticas, como las normales poseen grasas trans.

X. RECOMENDACIONES

A. Se recomienda ampliar el alcance de la validación para que incluya matrices más complejas como alimentos, no sólo grasas y aceites. Para esto se debe investigar más y utilizar un método similar en el AOAC que es para la determinación de ácidos grasos cis y trans en alimentos. Ya que los etiquetados nutricionales de los alimentos actualmente requieren de la determinación de los ácidos grasos trans y su declaración en los mismos.

B. Es importante que se realicen investigaciones similares que incluyan los llamados PUFA, ácidos grasos poliinsaturados que incluyen los omega 3 y omega 6. Ya que estos ácidos grasos poliinsaturados de cadenas largas traen efectos positivos en la salud de las personas que los consumen. Actualmente hay varios estudios que apoyan el consumo de los ácidos grasos omega 3 y omega 6 que han despertado la curiosidad de los consumidores de saber que alimentos los contienen y en que cantidades. Según lo investigado en este trabajo se encontró que la columna seleccionada también es la adecuada para la separación de los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y omega 6, de allí la recomendación que se continúe con la determinación y cuantificación de estos ácidos grasos.

C. Se recomienda que de ser posible utilizar una columna de igual composición química pero de tamaño menor, como una de 60 metros. Ya que la de 60 metros logra la misma separación de los ácidos grasos cis y trans, sin las desventajas que tiene la de 100m.

XI. BIBLIOGRAFÍA

A. AOAC copia electrónica edición 17 ava, años 2000.

B. Ascherio, A; WC willett. 1997. *Health effects of trans fatty acids.* American Journal of Clinical Nutrition. 66: 1006S-1010S.

C. Badui, Salvador. 1997. *Química de los alimentos*. Longman de México Editores, México, D.F. 648 pp.

D. Dai, Q; XO Shu; F Jin; YT Gao; Zx Ruan; W Zheng. 2002. *Consumption of Animal Foods, Cooking Methods, and Risk of Breast Cancer*. Cancer Epidemiol. Biomarkers prev. 11 (9): 801-808.

E. FAPAS, 2006. *Central Science Laboratory*. Recuperado de internet el 4 de agosto de 2006. http://www.fapas.com.

F. FDA. 2005. *Food Labeling: Trans Fatty Acids in Nutrition Labeling, Nutrient Content Claims, and Health Claims*. Recuperado de Internet el 3 de Julio de 2006. http://fda.gov/

G. Fosnocht, K. 2004. *Trans Fatty Acids*. Medical Encyclopedia. Recuperado de internet el 3 de Julio de 2006.

H. King, IB, *et al*. 2005. *Serum Trans-Fatty acids are associated with risk of prostate cancer in beta-carotene and retinol efficacy trial.* Cáncer Epidemiol. Biomarkers Prev. 14 (4): 988-992.

I. Kolmeier, L, *et al*. 1997. *Adipose tissue trans fatty acids and breast cancer in the European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infaction, and Breast Cancer.* Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. 6 (9): 705-710.

J. Mensink, RP; MB Katan. 1990. *Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects*. The New England Journal of Medicine. 323 (7): 439-445.

K. Norma Guatemalteca Recomendada COGUANOR/NGR/ISO/IEC 17025. 1ª Revisión. Comisión Guatemalteca de Normas Ministerio de Economía.

L. OGA, 2006. *Acreditación en Guatemala*. Recuperado de internet el 4 de agosto de 2006. www.oga.com

M. Ovesen, L; T Leth; K Hansen. 1997. *Fatty acid composition of Danish margarines and shortenings, with special emphasis on trans fatty acids*. The American Society for Nutrition.

N. Voorrips, LE, *et al*. 2002. *Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands FCohort Study on Diet and Cancer*. American Journal Clinical Nutrition. 76 (4): 873-882.

O. Zamora, Antonio. 2005. *Fats, Oils, Fatty Acids, Triglycerides-Chemical Structure*. Recuperado de Internet el 3 de Julio de 2006. http://www.scientificpsychic.com

P. Zock, PL; MB Katan. 1992. *Hydrogenation alternatives: Effect of trans fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans*. Journal of Lipid Research 33: 399-410.

XII. ANEXOS

A. Método AOAC 994.15

Isomeros totales cis- y trans- octadecanoicos y composición general de ácidos grasos en aceites vegetales hidrogenados y grasas animales

Se puede aplicar a aceites parcialmente hidrogenados y grasas de animales terrestres que contienen > 5% de ácidos grasos trans. El método no aplica a aceites marinos hidrogenados o aceites de pescado parcialmente hidrógenos.

1. Materiales y equipo:
    a. Mezcla estándar de esteres metílicos cis y trans K110 FAME MIX de Alltech.
    b. Mezcla estándar de esteres metílicos cis AOCS MIX 6 de Alltech.
    c. Papel filtro
    d. Sulfato de sodio anhidro
    e. Reactivo de triflururo de boro 125 g de BF_3/L en metanol.
    f. Soluciones metanólica de hidróxido de sodio 0.5 M.
    g. Heptano o hexano para cromatografía de gases
    h. Solución rojo de metilo 0.1% en 60% de alcohol.
    i. Nitrógeno
    j. Solución de cloruro de sodio saturada.
    k. Matraz para la reacción
    l. condensador
    m. Cromatógrafo de gases HP, con columna polar, detector FID.

2. Método preparación de esteres metílicos:

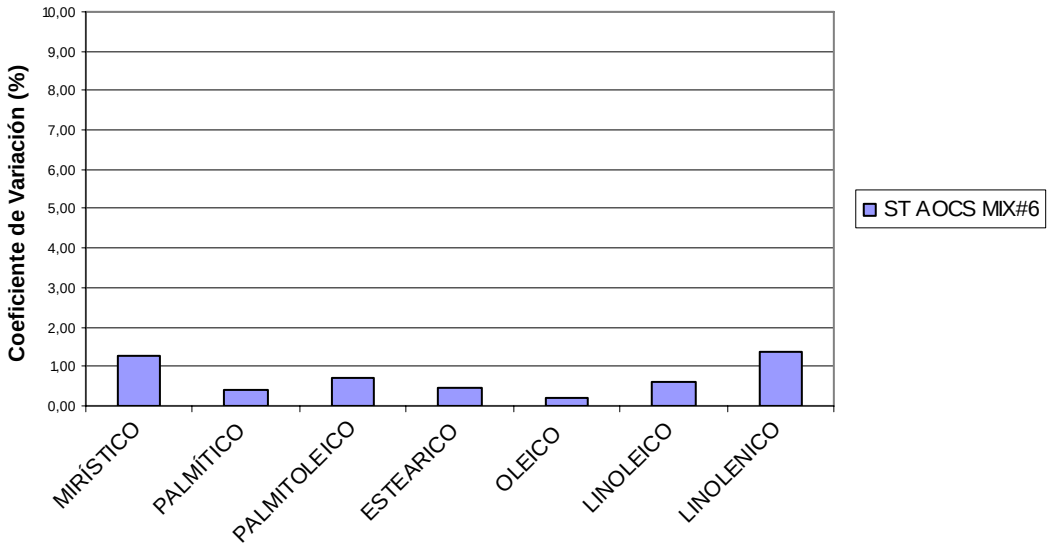
Fundir las grasas sólidas o ácidos grasos libre a una temperatura menor o igual a 10ºC sobre su punto de fundición y mezclar. Si se observa turbidez, se debe filtrar por papel filtro. Si la muestra diluida sigue túrbida por la presencia de agua, agregar una pequeña cantidad de sulfato de sodio anhidro a la muestra derretida, mezclar y dejar que se asiente antes de realizar la metilación. Utilizando entre 400 a 500 mg de grasa, preparar los esteres metílicos. Adicionar la muestra al matraz de reacción y luego agregar la solución metanólica de NaOH y perlas de ebullición. Colocar el condensador y reflujar hasta que los glóbulos de grasa desaparezcan (usualmente de 5-10 min). Agregar la solución de BF3 a través del condensador utilizando una pipeta y continuar la ebullición por 2 min. Agregar de 2-5 mL de heptano por el condensador y continuar la ebullición por 1 minuto más. Quitar de la fuente de calor, luego quitar el condensador y agregar 15 mL de la solución saturada de NaCl. Tapar el frasco y agitar fuertemente por 15 segundos. Agregar más solución saturada de NaCl para que flote el heptano hasta el cuello del matraz. Transferir 1 mL de la solución superior de heptano a un tubo de ensayo y agregar una pequeña cantidad de sulfato de sodio anhidro para quitar el agua presente.

Análisis de la composición de ácidos grasos por Cromatografía de Gases: Ajustar las condiciones del cromatógrafo inyectando 1 µL de los estándares, luego inyectar 1 µL las muestras en duplicado.

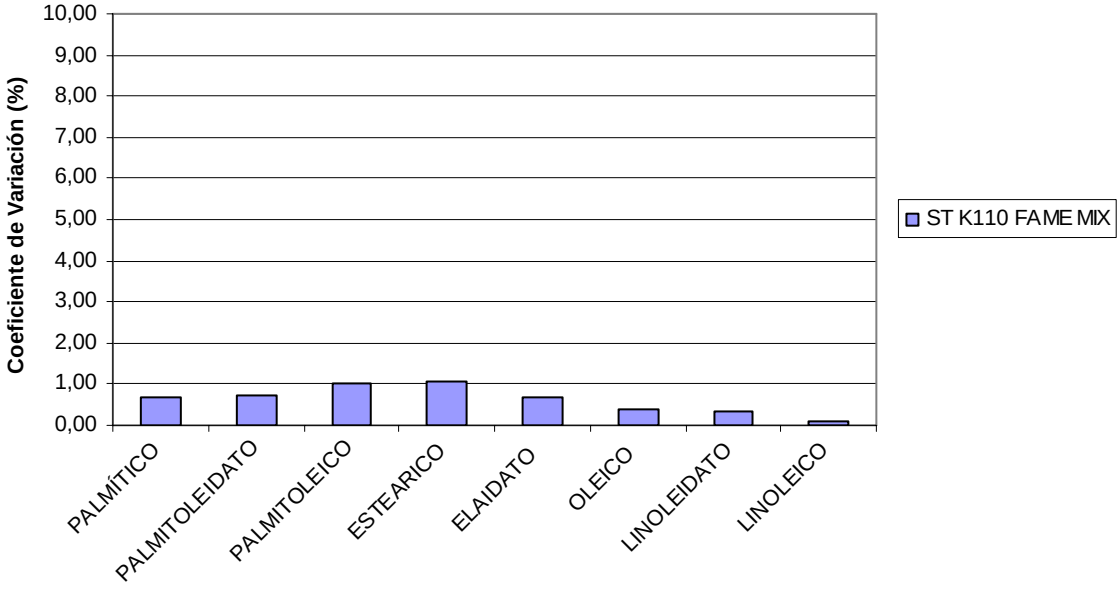
Modificaciones al método: Se utiliza una columna capilar, por lo tanto las condiciones cromatográficas serán diferentes. No se utiliza el método IR por no tener el equipo para implementarlo. El solvente utilizado fue el n-hexano.

B. Gráficas:

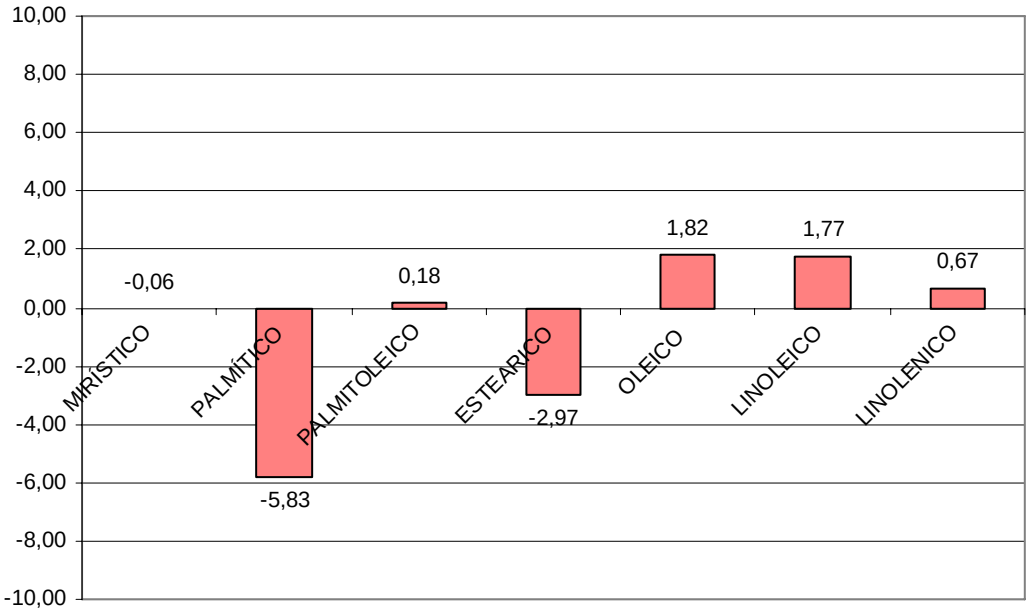
GRÁFICA #1: COEFICIENTE DE VARIACIÓN ST AOCS MIX#6



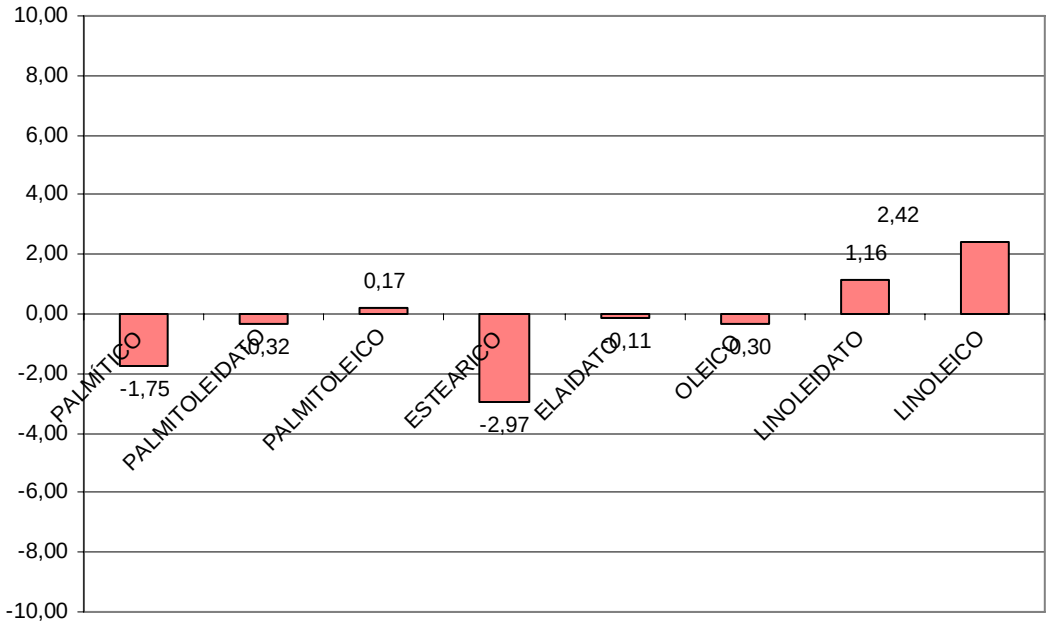
GRÁFICA #2: COEFICIENTE DE VARIACIÓN ST K110 FAME MIX



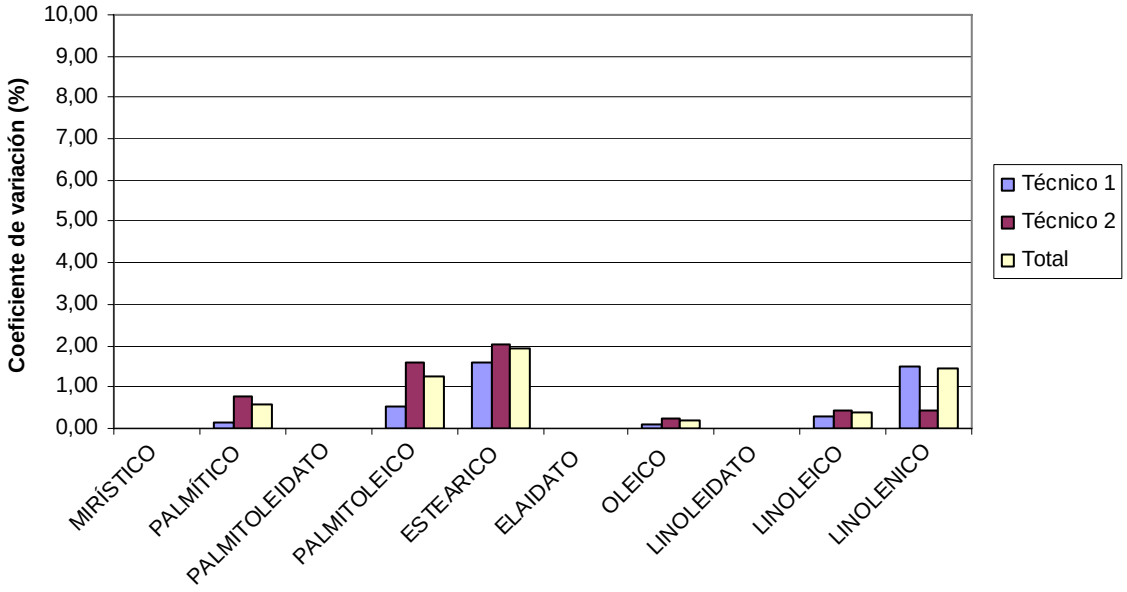
GRÁFICA #3: FACTORES DE CORRECCIÓN SEGÚN ESTÁNDAR AOCS MIX No.6



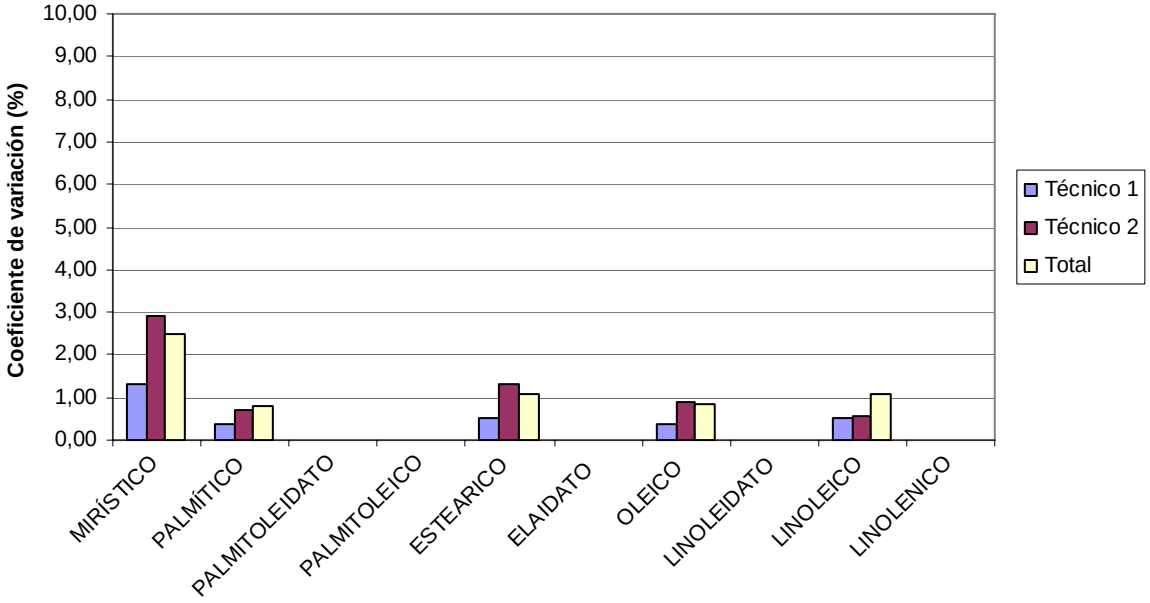
GRÁFICA #4: FACTORES DE CORRECCIÓN SEGÚN ESTÁNDAR K110 FAME MIX



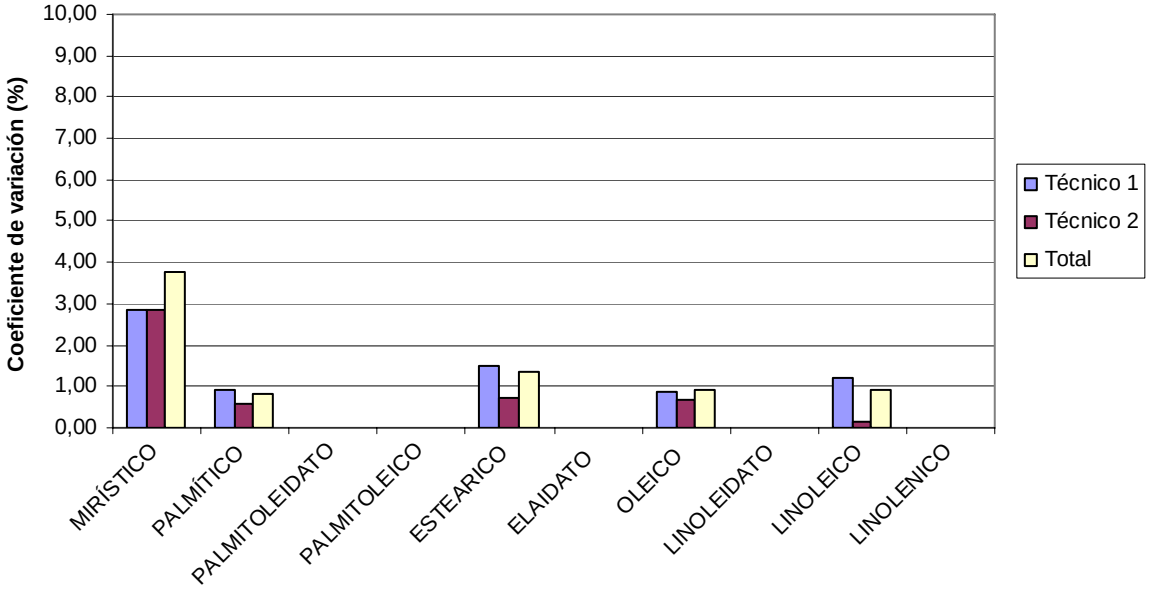
GRÁFICA #5: COEFICIENTE DE VARIACIÓN MUESTRA CONTROL (ACEITE DE OLIVA)



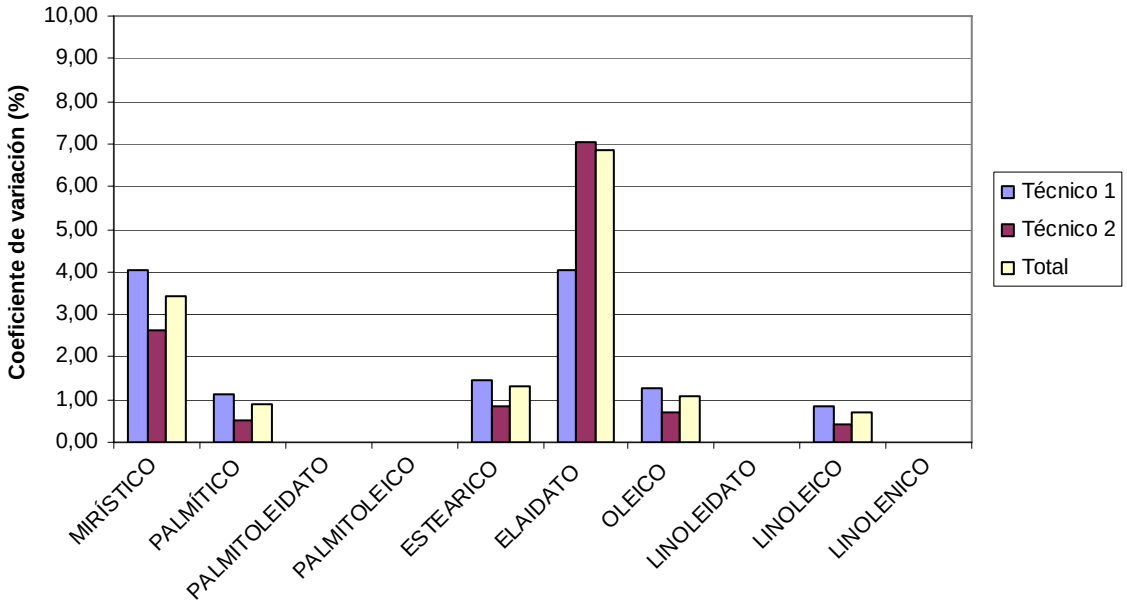
GRÁFICA #6: COEFICIENTE DE VARIACIÓN MUESTRA A



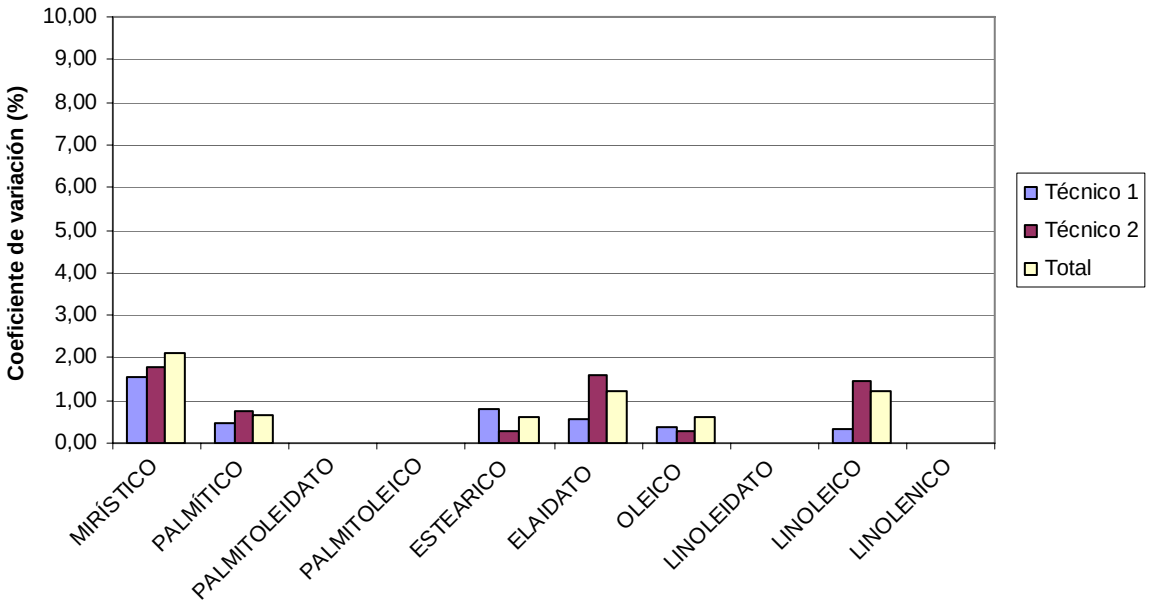
GRÁFICA #7: COEFICIENTE DE VARIACIÓN MUESTRA B



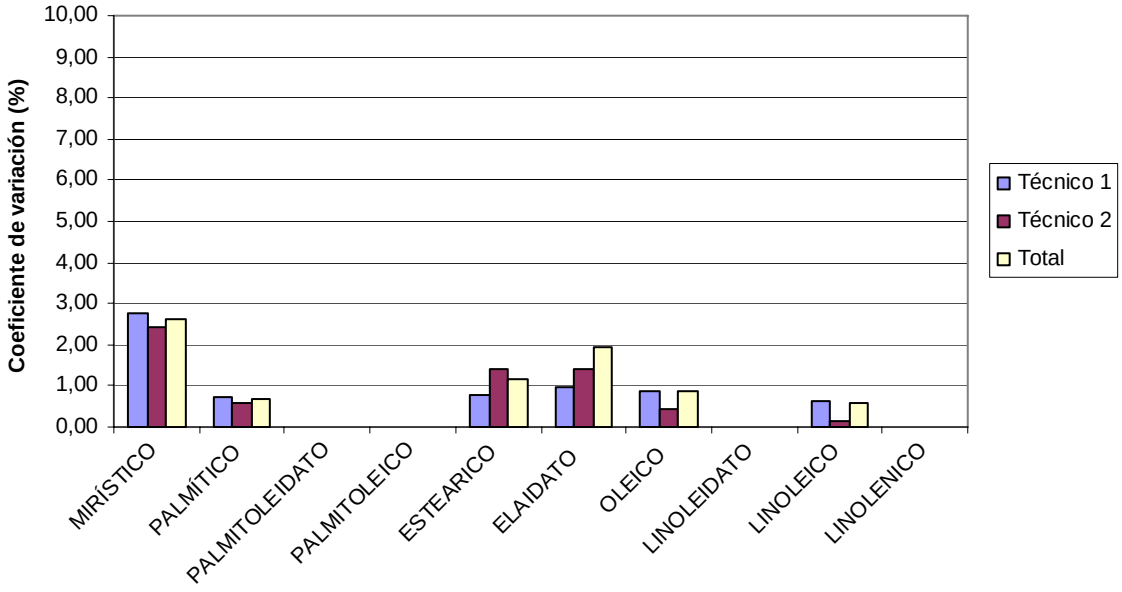
GRÁFICA #8: COEFICIENTE DE VARIACIÓN MUESTRA C



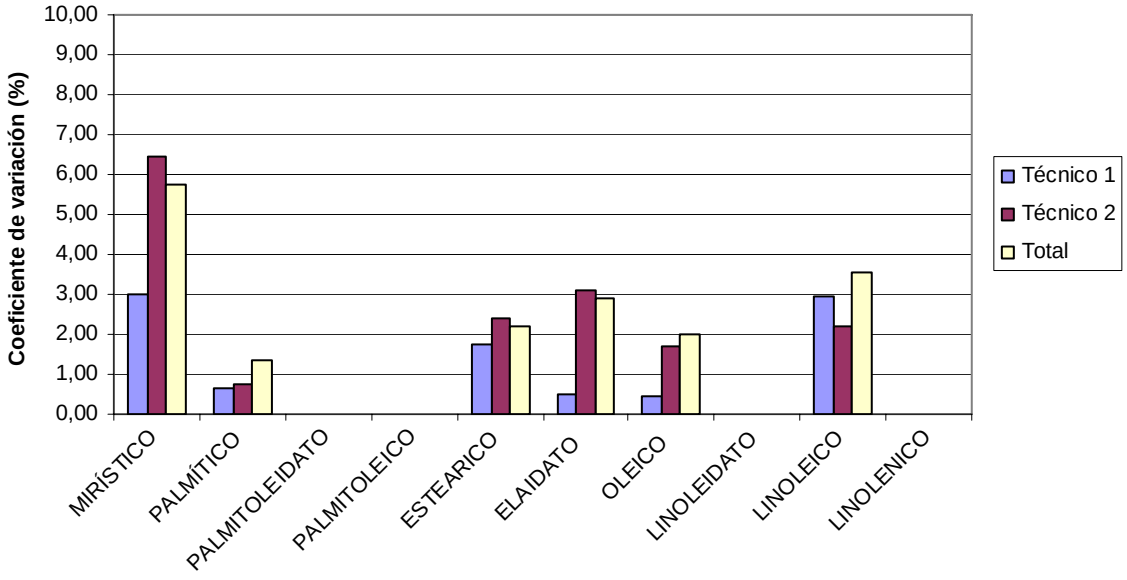
GRÁFICA #9: COEFICIENTE DE VARIACIÓN MUESTRA D



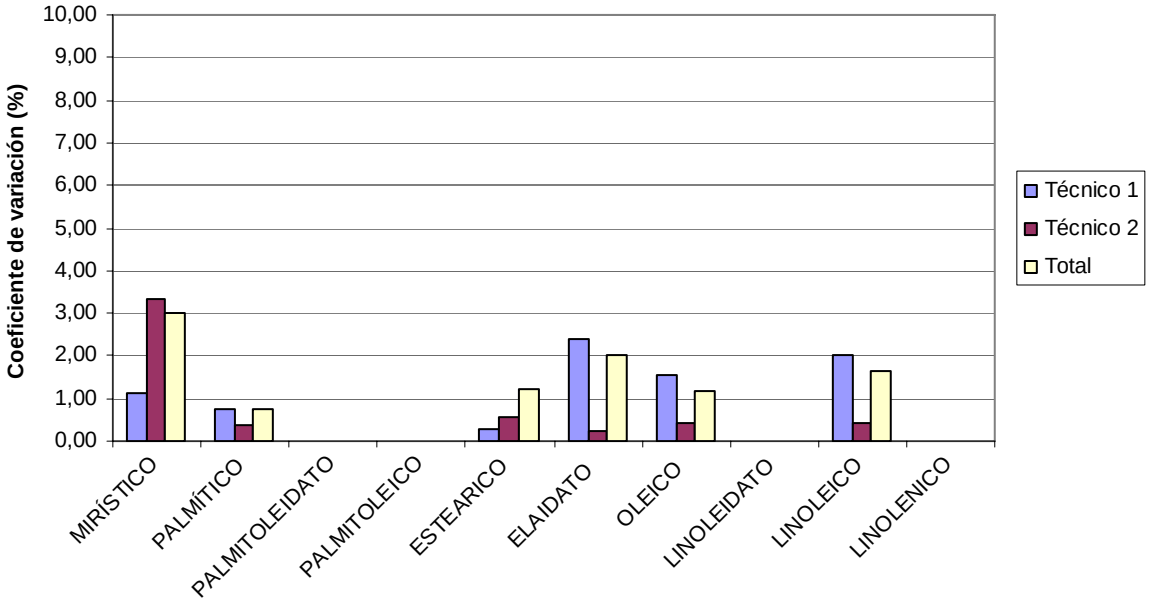
GRÁFICA #10: COEFICIENTE DE VARIACIÓN MUESTRA E



GRÁFICA #11: COEFICIENTE DE VARIACIÓN MUESTRA F



GRÁFICA #12 COEFICIENTE DE VARIACIÓN MUESTRA G



C. Certificados de calidad de los estándares utilizados y de la columna:

Analytical Standard Certificate of Quality

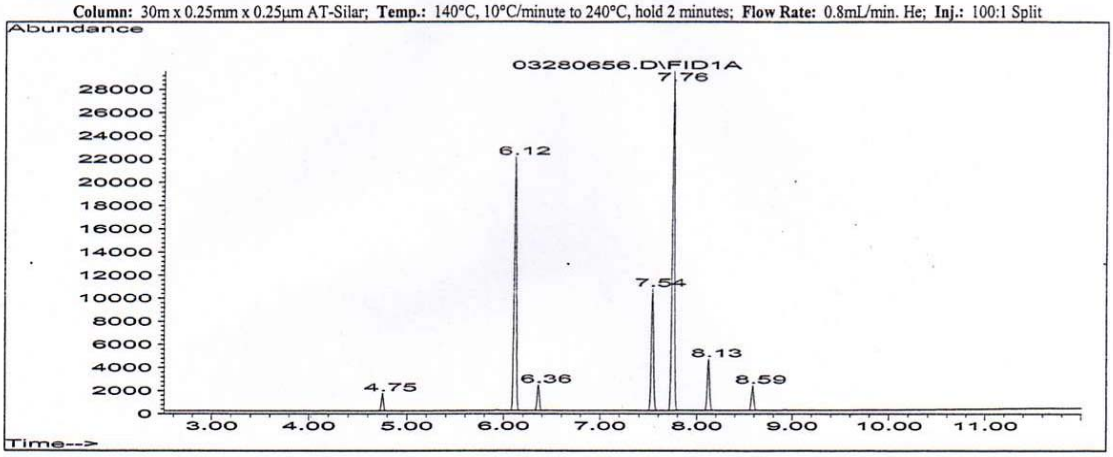
Alltech-Applied Science Labs • 2701 Carolean Drive • State College, PA 16801
PHONE: 888-395-9294 • FAX: 814-234-3594

Cat. No.: 625030 **Quantity:** 50mg

Description: AOCS Mix 6
Alternate Names:

Hazards: Use caution when handling
Storage: Keep in a well-closed container in a cool place and away from sparks and flames.

GC/FID Data for Lot No.: 0602010261
Column: 30m x 0.25mm x 0.25µm AT-Silar; **Temp.:** 140°C, 10°C/minute to 240°C, hold 2 minutes; **Flow Rate:** 0.8mL/min. He; **Inj.:** 100:1 Split



Peak Identification:

Peak Name	Chain	RT (min.)	% by wt.
1. Methyl Myristate	C14:0	4.75	2.00
2. Methyl Palmitate	C16:0	6.12	30.04
3. Methyl Palmitoleate	C16:1	6.36	3.00
4. Methyl Stearate	C18:0	7.54	13.98
5. Methyl Oleate	C18:1	7.76	40.84
6. Methyl Linoleate	C18:2	8.13	7.10
7. Methyl Linolenate	C18:3	8.59	3.02

Comments: All weights are traceable through N.I.S.T. Test No. 822/257177. The chromatogram represents a 2.0µL injection of approximately 2mg/mL solution in hexane.

QC Approval: _____
David Agostinelli, Chemist

Analytical Standard Certificate of Quality

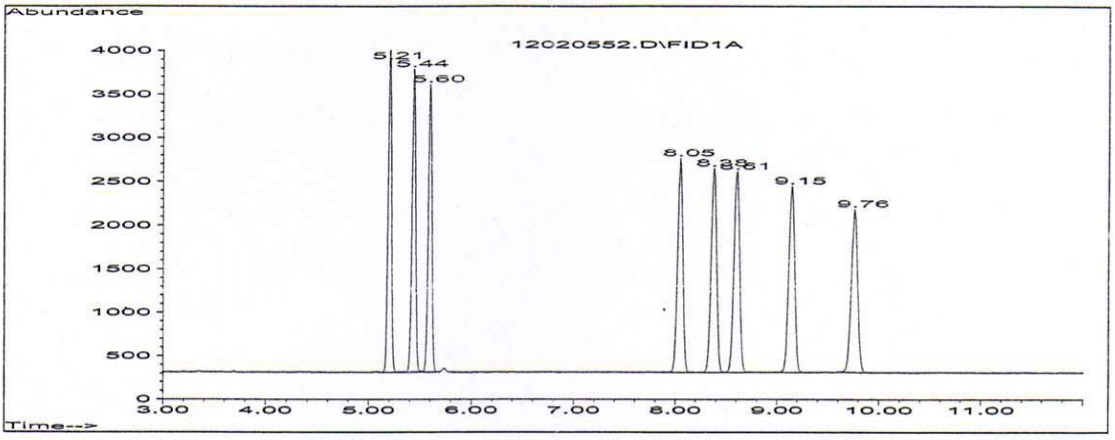
Alltech-Applied Science Labs • 2701 Carolean Drive • State College, PA 16801
PHONE: 888-395-9294 • FAX: 814-234-3594

Cat. No.: 625005 **Quantity:** 50mg

Description: K110 FAME Mix
Alternate Names:

Hazards: Use caution when handling
Storage: Keep in a well-closed container in a cool place and away from sparks and flames.

GC/FID Data for Lot No.: 0511000338
Column: 30m x 0.25mm x 0.25µm AT-Silar; **Temp.:** 180°C, 12 min. hold; **Flow Rate:** 0.8mL/min. He; **Inj.:** 100:1 Split



Peak Identification:

Peak Name	RT (min.)	% by wt.
1. Methyl Palmitate	5.21	12.47
2. Methyl Palmitelaidate	5.44	12.51
3. Methyl Palmitoleate	5.60	12.50
4. Methyl Stearate	8.05	12.44
5. Methyl Elaidate	8.38	12.46
6. Methyl Oleate	8.61	12.58
7. Methyl Linoelaidate	9.15	12.42
8. Methyl Linoleate	9.76	12.60

Comments: All weights are traceable through N.I.S.T. Test No. 822/257177. The chromatogram represents a 1µL injection of approximately 2mg/mL solution in hexane.

QC Approval: David Agostinelli, Chemist

Alltech QUALITY ASSURANCE CHROMATOGRAM

DESCRIPTION Serial Number: 33209-02
Stationary Phase: AT™-SILAR-100
Film Thickness: 0.2 µm

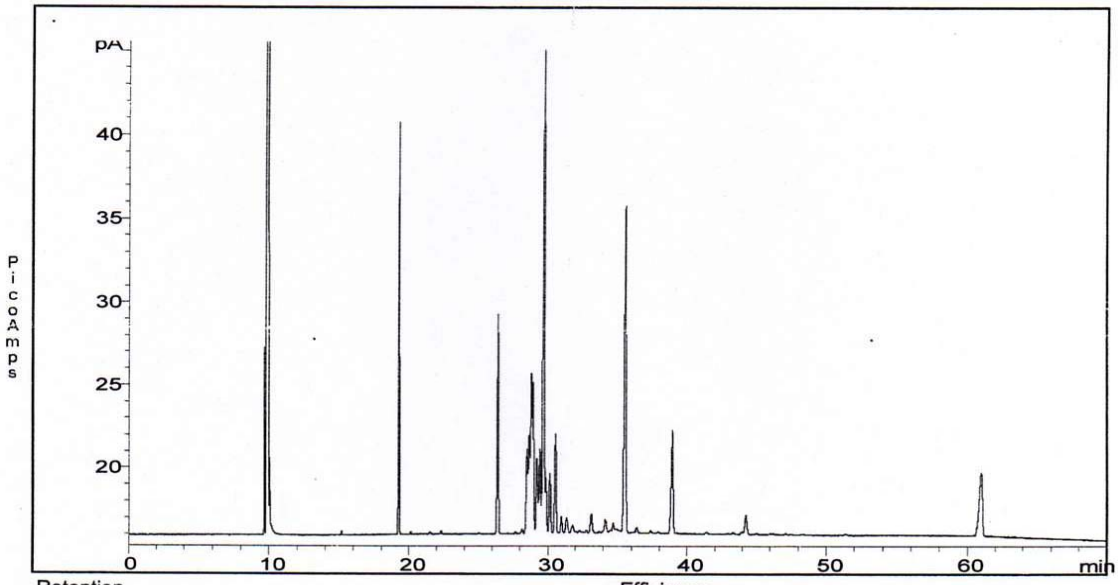
Part Number: 12643
Length: 100 m
ID: 0.25 mm

TEST CONDITIONS

Oven Temp: 175°C

Inj Temp: 220°C
Det. Temp: 220°C
Detector Type: FID
Split Ratio: 100:1
Test Station: 9414

Carrier Gas: Helium
Flow Rate: 1.0 ml/min
Linear Velocity: 19 cm/sec
Sample Size: 0.5 µl



Retention Time (min)	Name	k'	Efficiency (plates/meter)
9.82	Methylene chloride (solvent)		
19.25	C16:0		
26.40	C18:0		
29.68	C18:1 isomers		
35.53	C18:2		
38.91	C20:0		
44.23	C20:1 and C:18:3		
60.97	C22:0	5.18	3128

Alltech Associates, Inc. Corporate Headquarters
2051 Waukegan Road • Deerfield, IL U.S.A. 60015-1899
Phone: 847-948-8600 • Fax: 847-948-1078
Email: alltechemail.com • Website: www.alltechWEB.com

Alltech Associates, Inc.
2701 Carolean Industrial Drive • State College, PA 16801
Phone: 814-238-2406 • Fax 814-234-3594