

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**ADECUACION DEL METODO DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN LA  
IDENTIFICACION DE GRASAS TRANS EN MARGARINA**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR  
ERICKA BEATRIZ BRUNO RODRÍGUEZ  
CARMEN ESTHER LÓPEZ MIRANDA**

**PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA**

**NOVIEMBRE, 2012**

**SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR:**

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

**SECRETARIO GENERAL:**

DRA. ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANO:**

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

**SECRETARIO:**

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LÓPEZ

## **COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACION**

### **COORDINADORA GENERAL:**

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo.

### **ASESORA DEL AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS, COSMETICOS Y VETERINARIOS:**

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

### **ASESORA DEL AREA DE ANALISIS DE ALIMENTOS Y QUIMICA AGRICOLA.**

MSc. Ena Edith Herrera Salazar

### **DOCENTES DIRECTORES:**

Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras

Lic. Juan Agustín Cuadra Soto

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos de manera especial a:

Nuestro padre celestial por ser fiel y ayudarnos a lo largo de nuestra carrera y trabajo de graduación.

*“Ama al señor con ternura y él cumplirá los anhelos más profundos de tu corazón” (Salmos 37:4)*

Lic. Henry Hernández, por transmitir sus valiosos conocimientos para la realización de este trabajo, por su paciencia y apoyo incondicional en todo momento.

Lic. Agustín Cuadra por su apoyo, tiempo dedicado en la realización de este trabajo y motivarlo siempre a seguir a delante.

Lic. Jorge Carranza, que nos brindo su valioso apoyo para poder realizar nuestro trabajo de graduación.

Licda. Odette Rauda, coordinadora general de trabajos de graduación, por sus consejos y correcciones para realizar un buen trabajo de graduación.

Licda. Zenia Ivonne de Márquez y Msc. Enna Herrera, nuestras queridas asesoras de área por sus consejos, correcciones y tiempo dedicado a lo largo de nuestro trabajo de graduación.

Y a todas las personas que nos motivaron y apoyaron en nuestro trabajo de graduación.

Carmen y Ericka

## DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi mamá, quien a lo largo de mi vida ha velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Te amo profundamente.

A mi abuelita, por sus enseñanzas y fuerzas para seguir adelante en cualquier adversidad, esto también te lo debo a ti.

A mi esposo, que más que con palabras con hechos has demostrado el gran amor que me tienes, gracias por el apoyo, comprensión y paciencia que has tenido para conmigo. Te amo tanto.

A mis maestros. Msc. Mirna Sorto por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales, al Lic. Henry Hernández, por el apoyo ofrecido en la elaboración de este trabajo gradación.

A mis amigas: Kriscia Amaya, Glenda Cañas. ¡Gracias por motivarme y estar siempre en las buenas y malas conmigo! Se les quiere mucho.

A mi compañera de Tesis, Carmen López quien merece una mención especial, por haberme permitido trabajar junto a ella en este proyecto de gran importancia para ambas.

Ericka Bruno

## DEDICATORIA

Con mucho cariño dedico mi trabajo de graduación:

A mi Papa Dios, mi mejor amigo Jesús y mi Madre María a quienes he consagrado este esfuerzo a lo largo de todos mis estudios.

A mis padres, Mario y Patricia, por su apoyo y amor sin condiciones por inculcarme valores y apoyarme constantemente.

A mis hermanos, Jorge Mario, David Alexander y Ana Gabriela, porque en los momentos más difíciles siempre te tuve a ti.

A mi querida Karla Miranda, por tu amor y apoyo de toda la vida, por creen en mi y hacerme reír en todo momento.

A mi novio, Vito Alberti, por tu paciencia, por dar cada paso conmigo a lo largo de estos años e instarme a seguir adelante con alegría y a sus padres Vito y Patricia por sus consejos y apoyo.

A mi padrastro Juan Carlos, por aceptarme como tu hija, consentirme y apoyarme en mis estudios.

A mi familia: Tía Norma, Tío Danilo, Tío Harry, Tío Victor, Yani de López, Karina Figueroa, Tía Carmen abuelos, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta.

A mis amigos, Olivia Villalta, Rocío Fuentes, Mezly Calvo, Francisco Casares, Luis Castillo, Juan Pacheco, Lisette de Gonzales, Kathya Gavidia, Raúl Serpas.

A mis asesores, Lic. Henry Hernández y Lic. Agustín Cuadra, por su esfuerzo y paciencia, gracias por el apoyo brindado. Así como también, Lic. Odette Rauda por sus ánimos y buenos consejos.

A mi compañera de tesis, Ericka Bruno, por emprender esta aventura conmigo y por confiar en que podrías trabajar conmigo.

Y a todos aquellos que me brindaron su apoyo, GRACIAS A USTEDES!!

*“No tengas miedo, pues yo estoy contigo; no temas, pues yo soy tu Dios. Yo te doy fuerzas, yo te ayudo, yo te sostengo con mi mano victoriosa” (Isaías 41,10)*

Carmen López

## INDICE GENERAL

	<b>Página</b>
<b>RESUMEN</b>	
<b>CAPÍTULO I</b>	
1.0 <b>Introducción</b>	xviii
<b>CAPÍTULO II</b>	
2.0 <b>Objetivos</b>	
<b>CAPITULO III</b>	
3.0 <b>Marco Teórico</b>	23
3.1 <b>Lípidos</b>	23
3.1.1 Clasificación de los lípidos	23
3.2 <b>Grasas</b>	24
3.2.1 Importancia nutricional	25
3.2.2 Funciones en el organismo	26
3.3 <b>Proceso de transformación de las grasas</b>	26
3.4 <b>Grasas trans</b>	28
3.4.1 Formación de ácidos grasos trans	29
3.4.2 Efectos adversos	30
3.5 <b>Generalidades de la Margarina</b>	33
3.6 <b>Importancia del análisis de las grasas</b>	34
3.7 <b>Métodos instrumentales</b>	35
3.7.1 Espectroscopia	35
3.7.2 Espectroscopia Infrarroja	35
3.7.3 Análisis Cualitativo	36
3.7.4 Espectroscopia en el rango IR-mediano	36
3.7.5 Aplicaciones cualitativas	37
3.8 <b>Análisis de ácidos grasos trans por espectroscopia</b>	37

<b>infrarroja</b>	
3.8.1 Principio	38
3.8.2 Procedimiento	39
3.8.3 Aplicación	39
<b>3.9 Adecuabilidad del Método</b>	<b>41</b>
<b>CAPITULO IV</b>	
<b>4.0 Diseño Metodológico</b>	<b>44</b>
<b>4.1 Tipo de estudio</b>	<b>44</b>
<b>4.2 Investigación bibliográfica</b>	<b>44</b>
<b>4.3 Investigación de campo</b>	<b>45</b>
<b>4.4 Parte Experimental</b>	<b>47</b>
4.4.1 Toma y transporte de la muestra	47
4.4.2 Método de análisis	47
<b>CAPITULO V</b>	
<b>5.0 Resultados</b>	<b>55</b>
<b>CAPITULO VI</b>	
<b>6.0 Conclusiones</b>	<b>90</b>
<b>CAPITULO VII</b>	
<b>7.0 Recomendaciones</b>	<b>93</b>
<b>Bibliografía</b>	
<b>Glosario</b>	
<b>Anexos</b>	



## INDICE DE FIGURAS

FIGURA	N°	Pág.
1	Configuración tipo cis	29
2	Configuración tipo trans	29
3	Resumen de los principales efectos adversos de los ácidos grasos trans.	31
4	Estructura del estándar negativo 1,2,3-tri(cis-9-octadienol) glicerol (Trioleina)	40
5	Estructura del estándar positivo 1,2,3-tri(trans-9-octadienol) glicerol (Trielaidina).	41
6	Viñeta para identificar las muestra.	47
7	Diagrama de los porcentajes de 7 marcas de margarina analizadas.	61
8	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Mirasol presentación barra (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ y (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	65
9	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Mirasol presentación Tarro. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	66
10	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Cremy presentación barra Vitaminada. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	67
11	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Cremy presentación barra aceite de oliva. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	68
12	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Mazola presentación Barra. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	69
13	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Suly	70

	presentación Barra. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	
14	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Francessa presentación Barra. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	71
15	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Dany presentación Barra. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	72
16	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Issima presentación Empaque granel. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	73
17	Espectro Infrarrojo representativo de Margarina Issima presentación Barra. (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	74
18	Gráfico de Resultados en porcentaje de la presencia de ácidos grasos trans en margarinas analizadas.	78
19	Espectro Infrarrojo Estándar Negativo, Trioleina: (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ , (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	80
20	Espectro Infrarrojo Estándar Positivo, Trielaidina: (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ , (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	81
21	Comparación de espectros infrarrojos de estándares de Trioleina y Trielaidina.	82
22	Acercamiento del Espectro de comparación de Trioleina y Trielaidina en la región de 966 $\text{cm}^{-1}$ .	82
23	Espectro Infrarrojo de la "Manteca Nieve": (A) Espectro en la región de 4000 a 500 $\text{cm}^{-1}$ , (B) Acercamiento a 966 $\text{cm}^{-1}$ .	84
24	Análisis de selectividad en muestra con comportamiento positivo a la presencia de ácidos grasos Trans: (A) Espectro	86

en la región de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ , (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$ .

- 25      Análisis de selectividad en muestra con comportamiento      87  
negativo a la presencia de ácidos grasos Trans: (A) Espectro  
en la región de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ , (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$ .

## INDICE DE TABLAS

<b>TABLA</b>	<b>N°</b>	<b>Pág.</b>
<b>1</b>	Supermercados ubicados en Metrocentro y sus alrededores.	<b>55</b>
<b>2</b>	Marcas y presentaciones de margarina comercializadas en Súper Selectos cuarta etapa, Metrocentro.	<b>56</b>
<b>3</b>	Marcas y presentaciones de margarina comercializadas en Súper Selectos octava etapa, Metrocentro	<b>57</b>
<b>4</b>	Marcas y presentaciones de margarina comercializadas en Súper Selectos Metrosur	<b>57</b>
<b>5</b>	Marcas y presentaciones de margarina comercializadas en Despensa de Don Juan Metrocentro	<b>58</b>
<b>6</b>	Marcas y presentaciones de Margarina más comercializadas en los Súper mercados del área de Metrocentro San Salvador	<b>59</b>
<b>7</b>	Porcentajes de cada Marca de Margarina analizados.	<b>61</b>
<b>8</b>	Resultados de la identificación de ácidos grasos Trans los análisis de margarina.	<b>63</b>
<b>9</b>	Porcentajes de resultados: no detectable (-) y detectable (+) de ácidos grasos trans.	<b>78</b>

## INDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO</b>	<b>N°</b>	
	<b>1</b>	Método oficial de análisis infrarrojo de grasas según AOAC y traducción al idioma español.
	<b>2</b>	Procedimientos del equipo de Espectrofotometría Infrarrojo IR- SHIMADZU AFFINITY
	<b>3</b>	Guía de observación para elegir las marcas y presentaciones de margarina más comercializaciones en supermercados del área de Metrocentro San Salvador y sus alrededores
	<b>4</b>	Mapa de ubicación del Universo: supermercados en el área de Metrocentro San Salvador para la recolección de muestras.
	<b>5</b>	Cuadro de parámetros para métodos Normalizados según guía de validación de CONACYT, El Salvador.
	<b>6</b>	Cuadro resultados del análisis de las 128 muestras de Margarina.
	<b>7</b>	Empaques de las 7 marcas de Margarina y sus presentaciones más comercializadas.
	<b>8</b>	Certificado de Análisis de estándar positivo, Tri (Trans-9-octadecenoil-glicerol) con traducción al idioma español.
	<b>9</b>	Certificado de Análisis de estándar negativo Tri (cis-9-octadecenoil-glicerol) con traducción al idioma español.
	<b>10</b>	Garantía de pureza de estándares positivos y negativos y traducción al español.
	<b>11</b>	Fotografías de proceso experimental.
	<b>12</b>	Especificaciones del espectrofotómetro infrarrojo Shimadzu IRAffinity-1

## ABREVIATURAS

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
FDA:	Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos.
$\mu\text{L}$ :	Microlitros
$\mu\text{m}$ :	Micrometros
FTIR:	Infrarrojo por transformada de Fourier
IR:	Infrarrojo
ATR:	Reflectancia total atenuada
$\text{cm}^{-1}$ :	Centímetro elevado a menos uno
$\lambda$ :	Longitud de onda
KBr:	Bromuro de Potasio
IR-Medio:	Infrarrojo medio
IR-Cercano:	Infrarrojo cercano
NIR:	Infrarrojo cercano
nm:	Nanómetro
OPS:	Organización Panamericana de la Salud
AOAC:	Asociación Oficial de Químicos Analistas.
AOCS:	Sociedad Americana de Químicos del Aceite.
TFA:	Acido graso trans
ZnSe:	Selenio de Zinc
USP:	Farmacopea de los Estados Unidos de América
FAME:	Esteres metílicos de ácidos grasos

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación consistió en adecuar un método de Espectrofotometría Infrarroja para la identificación de grasas trans en las margarinas de mayor comercialización en El Salvador, realizando la toma de muestra de la matriz en los supermercados ubicados en la zona del centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores.

De los cuatro puntos de venta ubicados en dicho centro comercial, se tomo una muestra de 128 margarinas de las 7 marcas más comercializadas y una vez recolectadas se analizaron en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, durante el período de Junio- Septiembre, aplicando el método de Espectrofotometría Infrarroja de transformada de Fourier, el objetivo principal fue obtener el espectro de la muestra para posteriormente analizar los espectros obtenidos y compararlos con el control positivo (Trieladina), el cual se empleó como estándar, se evaluó la Selectividad del método mediante el cual se prepararon mezclas en proporciones de tal manera que se determino el grado de afección que tendría una muestra de margarina con resultado positivo y negativo al ser contaminada con manteca, en la identificación del enlace C=C del isómero trans, al ser esta una sustancia extraña a la matriz analizada.

El resultado de esta investigación indico que de las 7 marcas de margarina las más comercializadas (58%) corresponde a las marca de Margarina Mirasol, Issima, Francessa y Mazola, en las cuales la metodología utilizada no detecto la deformación del enlace C=C del isómero trans, mientras que al 42% restante se detecto la deformación del enlace C=C del isómero trans las cuales corresponden a las marcas, Dany, Suly y Cremy.

Según investigación bibliográfica las grasas trans se encuentran principalmente en alimentos industrializados que han sido sometidos a hidrogenación o al

horneado como los pasteles, entre otros y están relacionados con enfermedades como diabetes, obesidad y daños cardiacos. Afectando así a la población que consume estos productos.

En los resultados de selectividad se comprobó que el método es útil para identificación de ácidos grasos trans por lo que concuerda con el comportamiento que presentaron los estándares analizados el cual recomienda el método oficial descrito por la Asociación Oficial de Químicos Analistas,

Con esta investigación se brinda información importante tanto para las personas que consumen Margarina en sus diferentes presentaciones, como para las personas encargadas de la elaboración de este producto, así como también, para los que están a cargo de comercializarlas.

Este estudio queda vigente para futuras investigaciones dentro o fuera de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, así mismo, se recomienda que se aplique a otros tipos de matrices, utilizando métodos analíticos, tales como Cromatografía de gases.



**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION**

## 1.0 INTRODUCCION

Al estudiar las grasas trans las relacionamos con numerosas enfermedades que afectan a la población en el presente, como por ejemplo, enfermedades cardiacas, diabetes, inflamaciones entre otras. En El Salvador, no existe una normativa que regule o controle los límites sugeridos de grasas trans en alimentos.

Para poder identificar grasas en alimentos, la metodología analítica ofrece una amplia variedad de métodos apropiados que resultan siendo muy importantes ya que este tipo de análisis en alimentos que contienen grasas deben realizarse con el fin de determinar sus características físicas y químicas, su pureza y para conocer modificaciones o alteraciones que el producto haya sufrido al variar sus condiciones.

En el presente trabajo de investigación se aspira adecuar un método de Espectroscopia Infrarroja para identificar grasas trans en Margarina que se consumen en El Salvador, basándonos en un metodología oficial de la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC), puesto que estos analistas profesionales, anteriormente realizaron esta práctica, analizando grasas trans en un Espectrofotómetro de Transformada de Fourier con celda de Reflectancia Total Atenuada, el cual se adecuo a las condiciones del Laboratorio Fisicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de El Salvador. De esta manera esta propuesta científica queda vigente para futuras investigaciones y mejorías que respalden este método, para una posible validación en el futuro en esta área de trabajo.

La toma de muestras analizadas se realizó en los supermercados del área del centro comercial Metrocentro San Salvador durante el periodo de Junio-Septiembre, estas fueron analizadas en el Laboratorio Fisicoquímico de aguas

de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. Se eligieron por medio de una guía de observación las 7 marcas en sus presentaciones más comercializadas en estos centros de distribución.

Se analizaron 128 muestras, el número de análisis que se realizaron fue dictado por un paquete estadístico digital llamado "Statgraphic v5.1". Se analizaron los espectros obtenidos de cada muestra y se comparó con su Espectro Patrón para determinar si era detectable o no detectable a las grasas trans y de esta manera poder demostrar que este método es se puede adecuar para realizar dichas determinaciones en el Espectrofotómetro Infrarrojo Transformada de Fourier.

Los parámetros de calidad de un método analítico son de vital importancia para asegurar la idoneidad de un método para solucionar un problema analítico.

Hemos visto también que el químico analítico dispone de diferentes opciones para conseguir una mayor selectividad, mediante la eliminación directa de las interferencias, o la optimización de las condiciones experimentales y/o instrumentales.

**CAPITULO II**  
**OBJETIVOS**

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Adecuar el método de espectroscopia Infrarroja en la identificación de grasas trans en Margarina.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

2.2.1 Elaborar una guía de observación para identificar las diferentes marcas y presentaciones de margarina comercializadas en los supermercados del área del centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores.

2.2.2 Seleccionar las marcas y presentaciones de mayor comercialización en los supermercados del centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores.

2.2.3 Analizar por espectrofotometría infrarroja de transformada de Fourier las muestras seleccionadas.

2.2.4 Comparar los espectros obtenidos por espectroscopia infrarroja con el respectivo control positivo para verificar la presencia de grasas trans en las muestras seleccionadas.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEORICO**

## 3.0 MARCO TEORICO

### 3.1 LIPIDOS <sup>(1)</sup>

Los lípidos, proteínas y carbohidratos son los componentes principales de los alimentos, son un grupo de sustancias que, en general son solubles en éter, cloroformo u otros solventes orgánicos pero son escasamente solubles en agua, el concepto más aceptado actualmente es el que se basa en su solubilidad, cuando hablamos de grasas nos referimos a el grupo de lípidos que encontramos sólidos.<sup>(1)</sup>

La Administración de Alimentos y medicamentos de Estados Unidos (FDA) ha establecido un concepto regulatorio con propósitos encaminados a la nutrición y lo define grasa total como la suma de ácidos grasos a partir de C<sub>4</sub> a C<sub>24</sub> calculados como triglicéridos. Esta definición aclara cualquier disputa sobre el etiquetado nutricional de un alimento.

#### 3.1.1 Clasificación general de los lípidos <sup>(1)</sup>

##### a. Lípidos simples:

- Grasas: Esteres de ácidos grasos con glicerina (triglicéridos)
- Ceras: Son esterres de ácidos grasos con alcoholes de cadena larga y otros como gliceroles como por ejemplo, esterres de Vitamina A y Vitamina D).

##### b. Lípidos compuestos:

- Fosfolípidos: esterres de glicerol de ácidos grasos, ácidos fosfóricos y otros grupos que contienen nitrógeno, por ejemplo, fosfatidiletanolamina.
- Cerebrosidos: Compuestos que contiene ácidos grasos, hidratos de carbono y una fracción de nitrógeno. Ej. Galactocerebrosido.
- Esfingolipidos: Son grupos que contienen ácidos grasos, un resto de nitrógeno y un grupo fosforilo. Ej. Esfingomielinas.

##### c. Lípidos derivados:

Son sustancias derivadas de lípidos neutros o lípidos compuestos. Tienen en

general propiedades de los lípidos, ejemplos son los ácidos grasos, alcoholes de cadena larga, esteroides, vitaminas solubles en grasa e hidrocarburos.

La mayoría de los lípidos presentes en los productos alimenticios son los siguientes: ácidos grasos y sus glicéridos, incluyendo el mono, di y triglicéridos; fosfolípidos, esteroides (incluyendo el colesterol), ceras y pigmentos liposolubles y vitaminas.

En contraste con los lípidos los términos grasas y aceites a menudo se refieren a los productos a granel crudo o refinado que han sido extraídos de animales o de semillas oleaginosas y otras plantas, el término “grasa” se refiere a lípidos sólidos extraídos a temperatura ambiente.

### **3.2 GRASAS**

En bioquímica, las grasas son sustancias apolares que las hacen insolubles en agua, esto se debe a que tienen átomos de carbono e hidrogeno unidos de modo covalente puro y por lo tanto no forman dipolos que interactúen con el agua. Este es un término genérico para designar varias clases de lípidos, aunque generalmente se refiere a los acilglicéridos, que son ésteres en los que uno, dos o tres ácidos grasos se unen a una molécula de glicerina, formando monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos respectivamente y deben modificarse físicamente para poder ser absorbidos por la pared del intestino, esta absorción es tanto más fácil cuanto menor es el punto de fusión y más aun si este es inferior a la temperatura corporal de 37°C. (2)

Las grasas son la fuente más concentrada de calor y energía, estas producen 9 calorías por cada gramo de grasa. El requerimiento diario recomendado es un quinto de la asignación calórica es decir un 20 %. Las grasas verdaderas están compuestas de los elementos químicos carbono, hidrogeno y oxigeno, pero combinados en un ordenamiento estructural y en una porción diferente de



los carbohidratos. Las grasas verdaderas son conocidas como ácidos grasos.

(3)

### **3.2.1 Importancia nutricional**

La FDA, ha definido el “Contenido de grasas” con el propósito de elaborar un etiquetado nutricional, como: El total de lípidos totales a ácidos grasos expresado como triglicéridos, por lo tanto debe ser declarado como no mayor de 0.5 (1/2) y debe ser cercano a 5 g ( $\pm 0.5$ ) si la porción contiene menos de 0.5 gramos, el contenido se puede expresar como cero.

En esta definición se incluyen los “ácidos grasos” que pueden ser derivados de los triglicéridos, glucolípidos, ácidos grasos libres, etc.

Su concentración se expresa como gramos de triglicéridos para propósitos de etiquetado nutricional por lo tanto requiere de un cálculo estequiométrico para cambiar del método de extracción y gravimetría a ácidos grasos de esteres metílicos utilizados en una metodología por cromatografía de gases.

Las “Grasas saturadas” se definen con propósitos de etiquetado nutricional como: la suma en gramos de todos los ácidos grasos sin dobles enlaces, se declara como no mayor de 0.5 (1/2) y debe ser cercano a 5 g ( $\pm 0.5$ ) si la porción contiene menos de 0.5 gramos, el contenido se puede expresar como cero.

Un alimento con menos de 0.5 gramos de grasas saturadas por porción se expresa en su etiquetado en el contenido como: cero.

Los ácidos grasos polinsaturados: son definidos como cis, cis-metilen-interrumpido de ácido graso polinsaturado y tiene el mismo requerimiento para el reporte de gramos de las grasas saturadas.

Los ácidos grasos monoinsaturados: se define como ácido graso cis-monoinsaturado, el requerimiento indica que para que el ácido graso sea cis no se deben incluir ácidos grasos que contengan isómeros trans

### 3.2.2 Funciones en el organismo

- Las grasas sirven como fuente concentrada de calor y energía.
- La grasa transporta vitaminas liposolubles A, D, E y K.
- La grasa transmite una sensación de saciedad debido a que se digiere con mayor lentitud en el estomago que los carbohidratos y las proteínas.
- La grasa coopera en la función tisular normal.
- La grasa almacenada puede usarse como reserva para abastecer de combustible al cuerpo.
- La grasa almacenada ayuda a mantener a los órganos en su lugar y los protege de posibles lesiones.

### 3.3 PROCESO DE TRANSFORMACION DE GRASAS.<sup>(7)</sup>

La transformación o modificación de distintos tipos de aceites y grasas surgió principalmente con el fin de aprovechar aceites no utilizables para usos convencionales, como los aceites de pescado y el aceite de algodón, el producto de la hidrogenación parcial de estos aumenta la vida útil y reduce los requisitos de refrigeración. Dado que a menudo se requiere bicarbonato de sodio para suspender las grasas solidas a temperatura ambiente, los aceites parcialmente hidrogenados pueden remplazar a las grasas animales que se usan tradicionalmente en panaderías (como la mantequilla y la manteca de cerdo). También son una alternativa económica a otros semisólidos, tales como el aceite de palma. Dado que los aceites vegetales parcialmente hidrogenados pueden remplazar las grasas animales, los productos resultantes se pueden consumir (salvo otros ingredientes) con la ayuda de algunos adherentes. <sup>(6)</sup>

Posteriormente se desarrolló en la industria de alimentos la modificación de los aceites para adecuarlos a usos muy diversos. El propósito de estos procesos es, principalmente modificar los puntos de fusión de grasa y aceites para mejorar sus propiedades funcionales en aplicaciones específicas, también,

mejorar la estabilidad de los aceites y grasas transformadas. Las principales reacciones de modificación que se realizan son:

- Fraccionamiento de grasas.
- Hidrogenación.
- Transesterificación.

La hidrogenación en aceites y grasas consiste en una reacción química a una temperatura y presión adecuada en la cual el hidrógeno se adiciona a los dobles enlaces encontrados de forma natural en los triglicéridos presentes en aceites de origen vegetal y animal, este hidrogeno proviene de una reacción electroquímica o por un proceso de electrolisis, en presencia de un catalizador que puede ser Níquel a base de sílice. Esto se realiza con el objetivo de saturar las grasas y aumentar el punto de fusión final del producto terminado, esto lo hacemás resistente a la oxidación, entre otros.

La hidrogenación es el único proceso utilizado en la industria de aceites y grasas que permite alterar la estructura molecular de ésteres de glicerol. La reacción química producida es complicada, debido a varios factores, uno de ellos corresponde a la isomerización simultánea de los enlaces insaturados. De igual manera, los ésteres deben contener uno, dos o más uniones insaturadas en cada cadena. Cada doble enlace puede ser isomerizado o hidrogenado a diferentes proporciones dependiendo de la posición o el entorno molecular. <sup>(7)</sup>

Existe dentro de la hidrogenación una su clasificación, la hidrogenación completa y la parcial, siendo esta ultima en donde se forman los ácidos grasos trans debido a que la reacción química se detiene, los átomos de hidrogeno reaccionan con los dobles enlaces para completar la saturación, sin embargo, hay algunos que no lo hacen lo que significa que el hidrogeno es removido y se forma el enlace insaturado nuevo, pasando de una configuración cis a una trans. Esto se debe a que los aceites se componen de cadenas de esterres grasos en distintas proporciones o porcentajes lo que ocasiona que la reacción

sea competitiva, ciertos ácidos grasos tienen más probabilidad que otros de reaccionar por eso se saturan de manera incompleta.

### 3.4 GRASAS TRANS

Los ácidos grasos trans (TFA) son un tipo de ácido grasos insaturado que se encuentra principalmente en alimentos industrializados, los cuales han sido sometidos a hidrogenación o al horneado. Se encuentran de forma natural en pequeñas cantidades en la leche y la grasa corporal de los rumiantes. <sup>(11)</sup>

Los ácidos grasos trans se forman en el proceso de hidrogenación parcial que se realiza sobre las grasas con el fin de solidificarlas, para utilizarlas en diferentes alimentos. Un ejemplo de este proceso es la solidificación del aceite vegetal líquido, para la fabricación de margarina, lo que promueve la frescura, la textura y mejora la estabilidad.

Los “ácidos grasos trans”, deben ser incluidos en el etiquetado nutricional de un alimento. La definición del etiquetado nutricional requiere que los ácidos grasos trans no sean conjugados. Las grasas trans, una declaración de los gramos de grasas trans por porción se define como la suma de todos los ácidos grasos insaturados que contiene uno o más dobles enlaces aislados (no conjugados), en configuración trans, a menos que el contenido de grasas totales en una porción sea menor de 0.5 gramos, no es necesario declarar su contenido en la etiqueta de información nutricional, y se rotula como “libre de grasas trans” o no se reportan ácidos grasos o contenido de colesterol. <sup>(1)</sup>

El valor máximo en el consumo de grasas trans se encuentra en el rango de 1 al 3 % del consumo total de grasas, es decir, de 20-60 calorías/ (2-7g) para una persona que consuma 2000 calorías diarias.

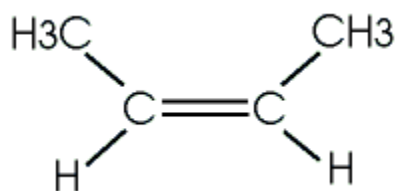
Poca literatura especifica un límite de estas sustancias, incluso países desarrollados no cuentan con leyes o normativas que establezcan un valor recomendado exacto a excepción de Argentina que cuenta con un proyecto de ley para regular el consumo de grasas trans y su debido etiquetado en los productos que las contienen.

### 3.4.1 Formación de ácidos grasos trans

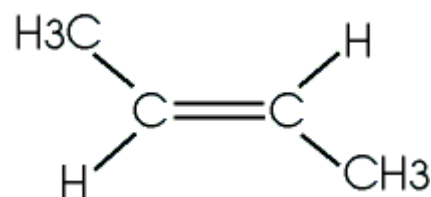
Una de las características principales de la hidrogenación es hacer más sólida la grasa, por ejemplo los aceites vegetales que se encuentra en estado líquido. El proceso de hidrogenación promueve la frescura, mejor textura, mejor estabilidad y por lo tanto una mayor calidad al producto terminado.

Los ácidos grasos trans también están en algunos alimentos de forma natural, principalmente en la carne y en los productos lácteos.

Al final de la reacción parcial de hidrogenación en ciertas mezclas de aceite, el índice de yodo es diferente de cero debido a que hay existencia de enlaces dobles o insaturaciones con una posición trans, ver figura 2.



**Figura N°1.**Configuración tipo Cis.



**Figura N°2.**Configuración tipo Trans.

La proporción de ácidos grasos trans que consumimos en la dieta es pequeña (menos de 3% de las calorías de la dieta) comparada con 12% de las calorías de la dieta que provienen de las grasas saturadas. <sup>(3)</sup>

### 3.4.2 Efectos adversos<sup>(4)</sup>

La grasa se almacena en el cuerpo en el tejido adiposo. Demasiado tejido adiposo es dañino ya que el peso adicional obliga al corazón a trabajar más duro y esto acorta la duración de la vida. Las grasas trans conducen con facilidad a la obesidad y es precursora de la arterioesclerosis. Estudios recientes indican que el consumo de grasas trans promueve la inflamación sistemática, así como también aumenta el riesgo de la arterioesclerosis y la muerte subirá por problemas cardiacos, los ácidos grasos trans (TFA) alteran el metabolismo de otras sustancias en nuestro organismo y algunas actividades fisiológicas dependiendo de la duración de la ingesta.

Los alimentos grasos reaccionan al oxígeno y a la luz haciéndose rancios con destrucción de su contenido vitamínico. Incluso a bajas temperaturas. El tiempo de almacenamiento de los alimentos grasos deberá ser limitado. Las grasas se digieren con lentitud y su cocinado a temperaturas altas puede hacerlas menos digeribles. Los ácidos grasos trans no sólo aumentan la concentración de lipoproteínas de baja densidad LDL en la sangre que disminuyen las lipoproteínas de alta densidad HDL, responsables de transportar el "colesterol bueno", lo que provoca un mucho mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. <sup>(11)</sup>Dietas altas en grasas promueven la incidencia espontánea en cáncer, esto puede ser debido, en parte, a una baja ingesta de lipoproteínas.<sup>(5)</sup>

Además se ha asociado el consumo de ácidos grasos trans a que las mujeres sean más propensas al padecimiento de diabetes tipo II.

La evidencia y de los efectos adversos son claros, por lo tanto si se disminuye el consumo de grasas trans se puede reducir el riesgo de enfermedades coronarias, ya que su consumo no es fundamental ni aporta beneficio nutricional.

Los riesgos al consumir grasas trans se reportan desde un valor arriba de cero, es decir que cuando se consume se está expuesto ya en el riesgo, por esa razón es recomendable consumir lo menos posible este tipo de grasas. El ser humano necesita de un 20 % a un 35 % de grasas en nuestro organismo para el vivir diario. (10)

Los efectos fisiológicos potenciales de los ácidos grasos trans son resumidos como sigue en la siguiente figura.

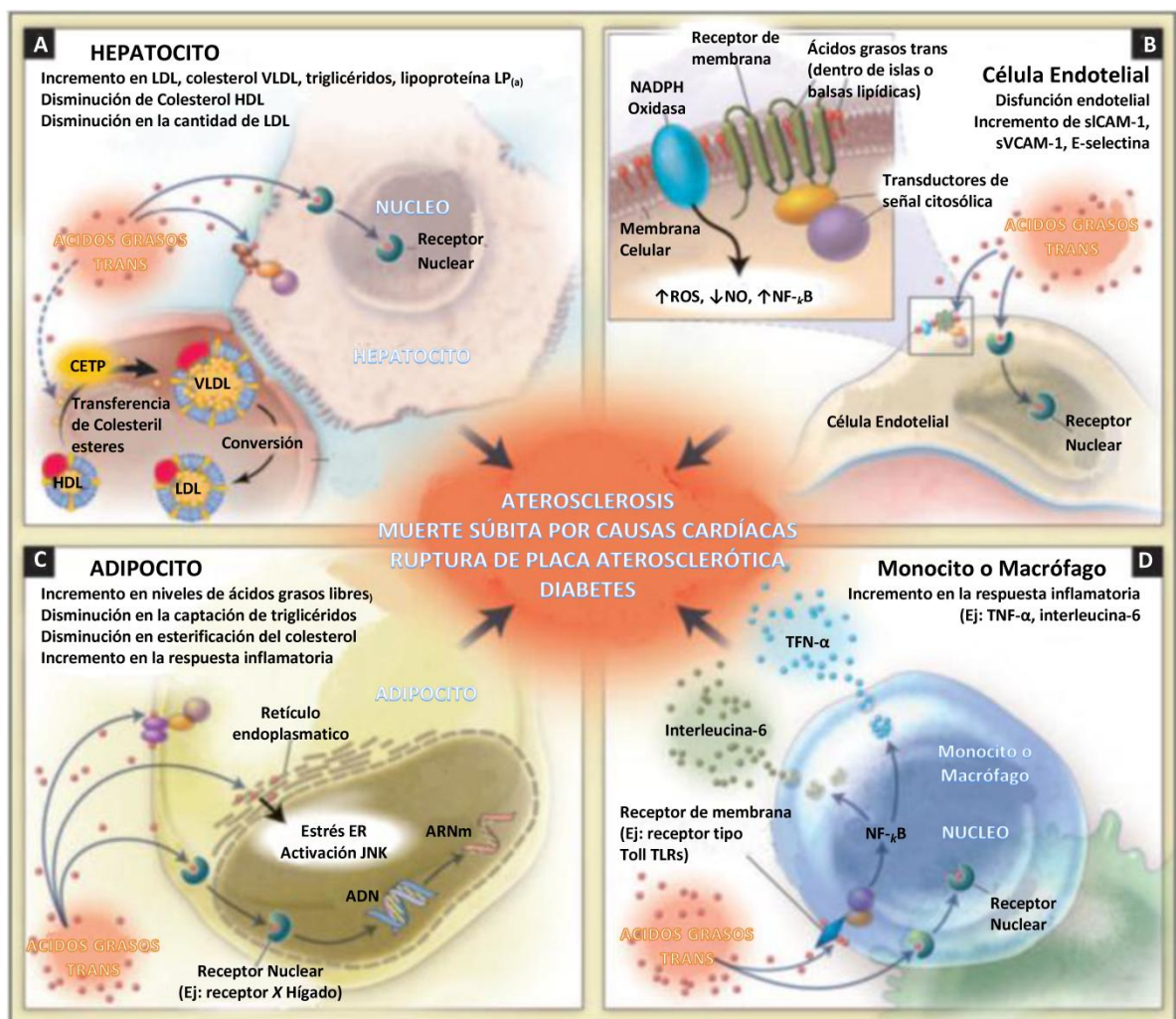


Figura N°3 Efectos fisiológicos potenciales de los ácidos grasos trans.

Los ácidos grasos trans se relacionan con cambios en la producción de hepatocitos, la secreción, y el catabolismo de las lipoproteínas, junto con los efectos sobre las proteínas plasmáticas de transferencia del colesterilester (CETP), probablemente toma en cuenta los efectos adversos de los ácidos grasos trans en los niveles de lípidos en suero (panel A). El efecto sobre la CETP probablemente no es directa, sino mediada a través de efectos sobre la membrana o receptores nucleares (línea discontinua).

Los ácidos grasos trans también alterar el metabolismo de otros ácidos grasos y posiblemente, las respuestas inflamatorias de los adipocitos. Además, el óxido nítrico dependiente de la disfunción endotelial y del aumento de los niveles de moléculas de adhesión circulantes (molécula de adhesión intercelular soluble 1 [sICAM-1] y molécula de adhesión celular soluble vascular-1 [sVCAM-1]) se observan con la ingesta de grasas trans. Los ácidos grasos trans también modular la actividad de los monocitos y macrófagos (Panel D), como se manifiesta por una mayor producción de mediadores inflamatorios.

Cada uno de estos efectos se han observado en estudios controlados en seres humanos y pueden, individualmente o en conjunto, aumentar el riesgo de aterosclerosis, ruptura de la placa aterosclerótica, muerte súbita por causas cardíacas, y diabetes.

Los mecanismos subcelulares para estos efectos no están bien establecidos, pero que podría ser mediada por los efectos sobre los receptores de membrana que se localizan y están influenciadas por los fosfolípidos de membrana específicos (Panel B), tales como el óxido nítrico endotelial (NO) sintasa o receptores tipo toll; por unión directa de los ácidos grasos trans a los receptores nucleares que regulan la transcripción de genes, tales como el receptor X del hígado (Panel C), y por efectos directos o indirectos sobre las respuestas del retículo endoplasmático (ER), tales como la activación de la Jun N-terminal quinasa (JNK). Tales hipótesis de vías subcelulares - que se ha demostrado que existen para otros ácidos grasos - requieren investigación adicional. .



### **3.5 MARGARINA**

La margarina es un producto graso, de origen animal o vegetal, en emulsión estable con leche o con crema, fermentado por fermentos lácticos seleccionados.

La margarina se obtiene a partir de materia prima y sustancias en perfecto estado de conservación, se permite el empleo de materias primas como por ejemplo grasas de aceite animal de bovinos, ovinos o caprinos, así mismo, grasas de origen vegetal comestibles, hidrogenadas o no, o cualquier número de combinaciones de estas sustancias. Como lo indica su definición estos productos contienen diferentes productos lácteos de calidad aceptada, se emplean también en la fabricación de las margarinas aromatizantes como diacetilo, colorantes vegetales como el azafrán y el achiote, es obligatoria la adición de Vitamina A en pequeñas cantidades (15.000 UI- 50.000), Vitamina D (500- 2.000), es obligatorio el aceite de algodón o aceite de ajonjolí como indicador a la dosis mínima de 5%. Es permitido agregar a la margarina, como conservador, ácido ascórbico y sus sales de sodio, potasio o calcio en dosis máxima de 0.05%, ácido benzoico o benzoato de sodio, así como también antioxidantes.

La norma de alimentos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) así como en el codex alimenticio salvadoreño no existe un apartado que indique la cantidad de grasas trans permitidas en las margarinas debido a la falta de leyes o normativas que indiquen un rango o una cantidad sugerida de consumo de grasas trans.

La margarina debe estar exenta de impurezas y suciedad, hongos, microorganismos patógenos y otros que causan descomposición o indiquen una manipulación defectuosa del producto.

Entre las características organolépticas más importantes de la margarina están:

- Tener un aspecto homogéneo
- Brillante.
- Untuoso al tacto.
- Sin granulaciones y de textura firme
- Debe tener un olor y sabor propio y color amarillento.<sup>(8)</sup>

### 3.6 IMPORTANCIA DEL ANALISIS DE LAS GRASAS<sup>(1)</sup>

Problemas como el efecto de las grasas en la salud y los requerimientos de etiquetado en la comida, hacen que sea necesario que analistas de comida sean capaces de no solo medir el contenido de lípidos totales de un producto alimenticio, sino también, para caracterizarlos. Las preocupaciones en cuanto a la salud requieren la medición de parámetros tales como, el contenido de colesterol fitoesteroles y ácidos grasos saturados mono y polinsaturados. La estabilidad de los lípidos impacta la vida útil de los productos alimenticios y en su seguridad, ya que algunos productos de oxidación (ej. Malonaldehido, oxido de colesterol) tienen propiedades toxicas. Otra área de interés es el análisis de aceites y grasas utilizadas en la frituras que contienen mucha grasa. Finalmente el desarrollo de ingredientes de los lípidos que no son biodisponibles como por ejemplo sacarosa y poliésteres, o lípidos que no constituyen la dieta normal de 9 cal/g acentúan la necesidad de caracterizar lípidos en la comida.

Los lípidos presentes en los productos alimenticios o grasas a granel y aceites pueden ser caracterizados por la medición de la cantidad de sus diversas fracciones que incluyen ácidos grasos mono, di, y tri gliceroles, fosfolípidos, esteroides (incluyendo el colesterol y fitoesteroides). Otro medio de categorización de fracciones de lípidos es inherente al etiquetado nutricional que implica la medición de no solo grasa total, sino también, la cuantificación de la saturación de las grasas, grasas monoinsaturados, ácidos grasos polinsaturados y sus isómeros trans.

### 3.7 METODOS INSTRUMENTALES.<sup>(1)</sup>

Los métodos instrumentales ofrecen numerosas ventajas en comparación con otros métodos. En general son rápidas, no destructivas y requieren una preparación mínima de la muestra y menor consumo de productos químicos. Sin embargo, el equipo puede ser costoso y las mediciones a menudo requieren establecer curvas de calibración específicas para diversas composiciones. A pesar de estos inconvenientes, los métodos instrumentales son muy utilizados en control de calidad aplicados a la investigación.

#### 3.7.1 Espectroscopia <sup>(1)</sup>

La espectroscopia se ocupa de la producción, medida, e interpretación de los espectros que se presentan de interacción de la radiación electromagnética con la materia. Los métodos espectroscópicos están siendo ampliamente utilizados para los análisis cuantitativos y cualitativos. Los métodos espectroscópicos basados en absorción o emisión de la radiación en el ultravioleta (UV), visible (Vis), el infrarrojo (IR), y RMN (de resonancia magnética nuclear) frecuentemente son los más comúnmente encontrados en los laboratorios de análisis de alimentos. <sup>(2)</sup>

#### 3.7.2 Espectroscopia Infrarroja<sup>(1)</sup>

La espectroscopia infrarroja (IR) refiere a la medida de la absorción de diversas frecuencias de la radiación del IR por los alimentos u otros sólidos, líquidos, o gases. Una molécula puede absorber la radiación del IR debido a cambios vibracional que se producen dando movimientos de estiramiento y de flexión (tijera, oscilatorio, torcer, maneado).

La región infrarroja del espectro electromagnético abarca la radiación con números de onda comprendidos entre 12.800 a 10  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponden a longitudes de ondas de 0.78 a 1.000  $\mu\text{m}$ . Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de la instrumentación, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano; las

técnicas y aplicaciones de los métodos basados en casa unos de las tres regiones del espectro infrarrojo difieren considerablemente.

La aparición en la última década de equipos de espectroscopia Infrarroja de transformada de Fourier relativamente baratos ha aumentado notablemente el número y tipo de aplicaciones de la radiación del infrarrojo fundamental. La razón de este incremento radica en el aumento de la relación señal/ruido y de los límites de detección, en un orden de magnitud e incluso mayor que puede conseguirse con los instrumentos con interferómetros, los cuales se utilizan en análisis tanto cualitativos como cualitativos. También han empezado a parecer aplicaciones de esta región espectral en los estudios microscópicos de superficies, análisis de sólidos mediante reflectancia total atenuada.

### 3.7.3 **Análisis cualitativo.**<sup>(9)</sup>

Para la identificación de los compuestos orgánicos es muy generalizado y común el uso de espectroscopia infrarroja mediano por los químicos analistas. La aparición de este tipo de instrumentos revoluciono la manera en que los químicos identifican muestras.

En el análisis cualitativo con un instrumento de espectroscopia es un proceso que consta de dos etapas. La primera etapa implica la determinación de los grupos funcionales y la segunda etapa consiste en la comparación detallada del espectro del compuesto desconocido con los espectros de compuestos puros que contienen todos los grupos funcionales que encontrados en la primera etapa. En este caso es particularmente útil la región de la huella dactilar, comprendida entre  $1,200\text{cm}^{-1} - 600\text{ cm}^{-1}$ , en esta región en donde los compuestos orgánicos presentan sus picos característicos.

### 3.7.4 **Espectroscopia en el IR-Mediano.**<sup>(1)</sup>

La espectroscopia IR-medio mide la habilidad de las muestras de absorber luz

en la región de  $2.5 - 1.5 \mu\text{m}$  ( $4000 - 659\text{cm}^{-1}$ ). Las absorciones fundamentales son observadas primeramente en esta región del espectro.

Para la espectroscopia IR-Medio existen dos tipos de espectrómetros los cuales son:

- a. Instrumentos dispersivos, los cuales usan un monocromador para dispersar las frecuencias individuales de la radiación y secuencialmente pasar a través de la muestra de tal manera que la absorción de cada frecuencia pueda ser medida.
- b. Los instrumentos de la transformada de Fourier, en los cuales la radiación no se dispersa, sino mas bien, todas las longitudes de onda llegan al detector simultáneamente y un tratamiento matemático, llamado Transformada de Fourier, es usado para convertir los resultados en un espectro IR típico. Este equipo en vez de un monocromador, posee un interferómetro.

### **3.7.5 Aplicaciones cualitativas**

El centro de frecuencias y la intensidad relativa de las bandas de absorción pueden ser utilizadas para identificar grupos funcionales específicos presentes en una sustancia desconocida. Una sustancia además puede ser identificada comparando su espectro en el IR-Medio con un juego de espectros patrones y determinar cuál es el que presenta mayor coincidencia.

## **3.8 ANALISIS DE ACIDOS GRASAS TRANS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.**

La mayoría de las grasas y aceites naturales extraídos de fuentes vegetales solo contienen dobles enlaces cis aislados (es decir metileno-interrumpido no conjugado). Las grasas y aceites extraídos a partir de fuentes animales pueden

contener pequeñas cantidades de dobles enlaces trans. Puesto que el isómero trans es termodinámicamente más estable, cantidades adicionales de dobles enlaces trans se forman en grasas y aceites que sufren una oxidación durante el tratamiento de procedimientos tales como: extracción, calefacción y la hidrogenación.

La concentración de los isómeros trans en ácidos grasos es comúnmente analizada utilizando técnicas de cromatografía de gases, sin embargo el presente trabajo está orientado a la identificación con el uso de espectroscopia infrarroja.

### **3.8.1 Principio (METODO 2000:10 AOAC)**

La concentración de los ácidos grasos trans se puede medir en un pico de absorción a  $966\text{ cm}^{-1}$  en el espectro IR.

En la mayoría de grasas y aceites vegetales de origen natural, los componentes insaturados contienen solamente dobles enlaces aislados en configuración cis. Estos enlaces dobles cis se pueden isomerizar a configuración trans durante su procesamiento y extracción por: oxidación, conversión, calentamiento y el proceso de hidrogenación parcial.

Las grasas animales y marinas pueden contener cantidades medibles de isómeros geométricos de ácidos grasos trans de origen natural. Los enlaces dobles trans aislados en los ácidos grasos de cadena larga, los ésteres metílicos de ácidos grasos, los jabones y triacilgliceroles se pueden medir por espectroscopia infrarroja (IR). Una banda de absorción única con un máximo en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$  ( $\mu\text{m } 10.3$ ), se presenta por la vibración C-H de la deformación del enlace doble C=C trans, se exhibe en los espectro de todos los compuestos que contienen un grupo aislado trans por lo que se puede determinar cualitativamente.

Esta banda no se observa en los espectros correspondientes a los ácidos grasos saturados e insaturado cis. La medida de la intensidad de esta banda de

absorción bajo condiciones analíticamente controladas es la base para un método cuantitativo para la determinación de ácidos grasos trans totales. No se requiere que las muestras de ensayo, grasas y aceites se conviertan a esteres metílicos de ácidos grasos antes del análisis.

Este método es aplicable para grasas y aceites que contengan > 1% de la insaturación conjugada, materiales que contenga grupos funcionales que modifiquen la intensidad de la vibración de la deformación C-H de la doble banda trans, o en general a cualquier material que contenga constituyentes cuyos grupos funcionales que generan una banda de absorción específica, o que este suficientemente cerca de interferir con la banda de vibración de absorción C-H de la doble banda trans aislada  $966\text{ cm}^{-1}$ .

### **3.8.2 Descripción de otro procedimiento según el Método: 14-95 de AOCS**

(1)

No se requiere que las muestras líquidas se conviertan en esteres metílicos y se disuelven en un disolvente apropiado que no absorba en la región de infrarrojo fuertemente, por la simetría plana del disulfuro de carbono o tetracloruro de carbono.

La absorbancia de los espectros entre  $1500$  y  $900\text{ cm}^{-1}$  son obtenidos usando espectroscopia infrarroja. El metilelaidato se usa como un patrón externo en el cálculo del contenido de dobles enlaces trans. Alternativamente la AOCS con el método Cd 14d-96 determina el total de ácidos grasos trans usando reflexión total atenuada de infrarrojo por transformada de Fourier.

### **3.8.3 Aplicación del método**

Los métodos descritos solo detectan isómeros trans aislados (no conjugados). Esto es especialmente importante cuando las muestras oxidadas son de interés ya que la oxidación resulta de una conversión de insaturaciones no conjugadas a dobles enlaces conjugados.

Además el método de la AOCS, se limita a las muestras que contienen por lo menos un 5 % de isómeros trans, y el método Cd 14d-96 se limita para muestras que contiene al menos 0.8 % de isómeros de ácidos grasos trans. Para las muestras que contienen menos del 0.8% de dobles enlaces trans se recomienda un método de cromatografía de gases de la AOCS, Ce if-96).

Este método es aplicable para grasas y aceites que contengan >1% de la insaturación conjugada, materiales que contenga grupos funcionales que modifiquen la intensidad de la vibración C-H de la deformación del doble enlace C=C en posición trans, o en general a cualquier material que contenga constituyentes cuyos grupos funcionales que generan una banda de absorción específica, o que esté suficientemente cerca de interferir con la banda de vibración de absorción C-H del doble enlace trans aislado a  $966\text{ cm}^{-1}$ .

El método, recomienda utilizar los estándares primarios Trielaidina (TE) Y Trioleina (TO)

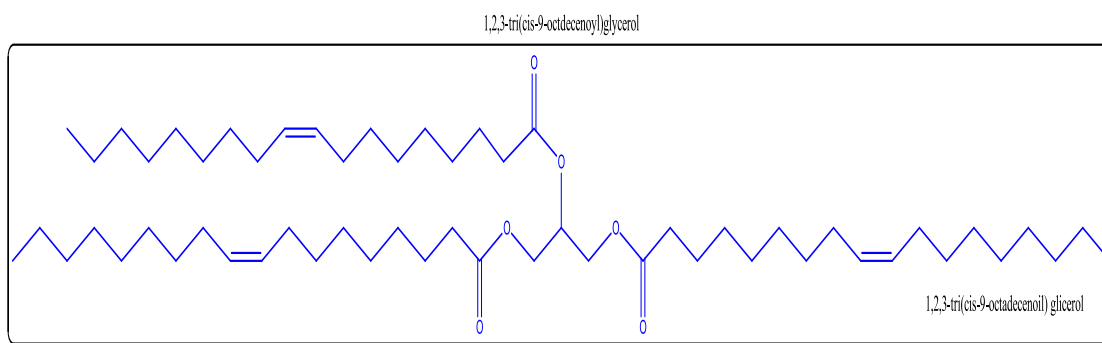


Figura N°4 Estructura del estándar negativo 1,2,3-tri(cis-9-octadienol) glicerol (Trioleina)



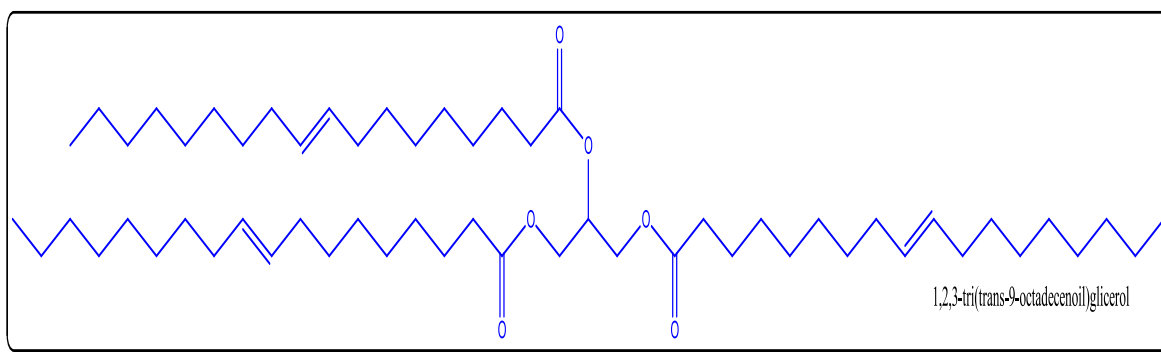


Figura N° 5 Estructura del estándar positivo 1,2,3-tri(trans-9-octadienol)glicerol (Trielaidina)

### 3.9 ADECUABILIDAD DE UN METODO

Para que un resultado analítico concuerde con el propósito requerido, sea aplicado un método de análisis descrito en la guía de validación del CONACYT que hace alusión según el tipo de procedimiento de prueba, que en el caso de este trabajo de graduación se hizo uso del siguiente parámetro:

Selectividad / Especificidad

Procedimiento de determinación de la selectividad.

En el estudio de la selectividad, como norma general se comparan los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia o ausencia de impureza, productos de degradación, sustancias relacionadas, excipientes (matriz o placebo), y dependiendo del tipo de muestra, tipo de técnica analítica, instrumento de medición.

Partiendo de la experiencia en el análisis de la muestra, se deben establecer las posibles sustancias y/o elementos y adicionar cantidades conocidas de estas,

solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones de análisis.

Para métodos de identificación:

Se deben seleccionar sustancias que potencialmente interfieran en la determinación con base en la estructura molecular del analito, precursores, sustancias relacionadas, vías degradativas, entre otros.

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLOGICO**

## 4.0 DISEÑO METODOLOGICO

### 4.1 TIPO DE ESTUDIO

- a. **Experimental:** Son más utilizados en el campo de las ciencias naturales. Se caracterizan por la inducción y la manipulación del factor casual, para la determinación posterior de un efecto. El estudio se realizó en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, al analizar margarina con el objetivo de identificar grasas trans en 7 marcas diferentes en todas las presentaciones encontradas, comparando cada resultado con los espectros patrones para el análisis de grasas trans, según la metodología oficial.
- b. **Transversal:** Es un tipo de estudio observacional y descriptivo, que mide a la vez la exposición de un efecto en una muestra poblacional en un solo momento temporal. Es transversal ya que la recolección de muestras y la parte práctica se realizó de los meses de Julio – Septiembre de 2012.
- c. **Prospectivo:** debido a que este trabajo de investigación es un antecedente bibliográfico, el cual podrá aplicarse a futuras investigaciones.

### 4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

La investigación bibliográfica se realizó en las siguientes bibliotecas:

- Biblioteca “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca “P. Florentino Idoate, S.J.” de la Universidad Centroamericana José Simeón Cañas
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador

- Biblioteca de la Organización Panamericana de la salud (OPS) y del Ministerio de Salud.
- Internet.

### 4.3 INVESTIGACION DE CAMPO

Se realizó en los supermercados ubicados en el área del centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores (3 sucursales de Súper Selectos y 1 sucursal de la Despensa de Don Juan, (ver Anexo N° 4), se utilizó una guía de observación dirigida al gerente de cada establecimiento (Ver Anexo N° 3) a fin de conocer las marcas y presentaciones de Margarina mas comercializadas de cada uno de estos supermercados.

#### A. **Universo:**

Siete marcas de Margarina en sus presentaciones más comercializadas.

#### B. **Muestra:**

Se analizaron 128 muestras de Margarina distribuidas en las 7 marcas más comercializadas dentro del área delimitada.

Para determinar el número de muestras que se analizaron en las 7 marcas de margarina en las presentaciones más comercializadas se utilizó el software estadístico llamado Statgraphic V5.1. Estableciendo así un diseño factorial  $2^7$ , que permitió el estudio del efecto de cada factor (7 marcas de margarina) sobre la variable de respuesta (detectable o no detectable), obteniendo así 128 ejecuciones a realizar (obtención de espectros infrarrojos en las presentaciones de cada marca). El diseño fue ejecutado en un solo bloque. El orden de los experimentos no se aleatorizó en el diseño pero si en la ejecución de las determinaciones, analizando las muestras sin observar marca o procedencia.

Posteriormente con los espectros obtenidos de cada muestra se comparó con los espectros del estándar positivo (Trielaidina) y negativo (Trioleina) analizados.

### C. Resumen del diseño:

Para obtener el número de análisis a realizar se utilizó el programa estadístico Statgraphic V5.1.

Clases de Diseño: En Pantalla  
Nombre de Diseño: Factorial  $2^7$

BASE DEL DISEÑO	UNIDADES
Número de factores experimentales:	7
Número de bloques:	1
Número de ejecuciones:	128
Error: Grados de libertad:	99
Aleatorizado:	No

### RESPUESTAS

Presencia de Grasas

“Detectado” representado por (+1)

“No detectado” representada por (-1)

FACTORES	No Detectado	Detectado
Isima	-1	1
Mirasol	-1	1
Dany	-1	1
Suli	-1	1
Mazola	-1	1
Cremy	-1	1
Francesa	-1	1

#### 4.4 PARTE EXPERIMENTAL (ver Anexo N ° 1)

##### 4.4.1 Toma y transporte de la muestra

Las muestras a analizar se recolectaron en las sucursales de Súper Selectos y Despensa de Don Juan localizadas en el área del centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores (ver anexo N°4) y se identificaron con la etiqueta que se muestra a continuación:

MARCA:
LOTE:
PRESENTACIÓN:
FECHA DE VENCIMIENTO:
SUCURSAL:
FECHA DE MUESTREO:

Figura N° 6 Etiqueta para identificación de muestra

Las muestras recolectadas se transportaron desde el supermercado hasta el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador en un depósito hermético y en condiciones equivalentes a la temperatura de  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  para conservar hasta donde fuese posible las características organolépticas del producto.

##### 4.4.2 Método de análisis

Para el análisis experimental, se utilizó el procedimiento que tiene su fundamento en el método oficial para cuantificar grasas trans de la Asociación Americana de Químicos Analistas (AOAC) (ver Anexo N°1).

#### 4.4.3 Equipo y material:

- Equipo de Espectrofotometría Infrarroja Shimadzu IR-Affinity
- Unidad de Reflectancia Total Atenuada (ATR)
- Pipeta serológica de boca ancha
- Goteros
- Baño de María Precitherm PFV
- Termómetro
- Tubos de boca ancha de 50 mL
- Probetas de 10 mL
- Celda de Bromuro de potasio (KBr)
- Jeringa de Tuberculina
- Gradilla
- Espátulas
- Micropipeta

#### 4.4.4 Reactivos:

- Estándares: TRIOLEINA como estándar negativo, (Ver certificado de calidad en Anexo N° 9) TRIELAIDINA como estándar positivo (Ver certificado de calidad en Anexo N°8)
- Solvente: Etanol (para limpieza del cristal de la unidad ATR) y Acetona grado ACS (para limpieza de celda de bromuro de potasio)

#### 4.4.5 Procedimiento (Anexo N°1)

##### Parte I: Análisis de Muestras de Margarina

- A. Encender el espectrofotómetro IR y el computador
- B. Inicializar el programa IR-Solution



- C. Conectar el computador por medio del programa con el espectrofotómetro IR utilizando el comando "**Measure**", comando "**Admin**", Inicializar. Dejar un tiempo de equilibrio de 15 minutos.
- D. Permitir que el programa registre las condiciones del equipo y que reconozca automáticamente el accesorio ATR.
- E. Dejar correr un barrido de las condiciones iniciales del equipo con la unidad ATR armada sin muestra como sigue: utilizar el comando "**Measure**", y presionar "**BKG**" para obtener el espectro blanco (Background).
- F. Tomar una cantidad de la muestra desde su empaque primario con una espátula y colocar en un tubo de boca ancha de 50 mL.
- G. Tratar la muestra de la siguiente manera: Colocar el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra en un baño de maría Precitherm y controlar con un termómetro que la temperatura se encuentre a  $62^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , hasta la fundición y separación de las fases.
- H. Tomar una pequeña cantidad de muestra fundida con una pipeta o un gotero.
- I. Colocar la muestra distribuida uniformemente en el cristal de la celda y acoplarla en la unidad ATR del equipo Infrarrojo Shimadzu IR-Affinity.
- J. Analizar la muestra presionando el comando "**Measure**", coleccionar la información de la muestra en el espacio "**coment**" y presionar en "**Sample**" para obtener el espectro correspondiente para identificar la muestra de los  $4000$  a los  $500\text{ cm}^{-1}$ .
- K. Limpiar la celda con un pañuelo suave y luego con un algodón impregnado de alcohol.

- L. Comparar los espectros obtenidos con el estándar positivo y negativo recabado. (Procedimiento parte 2)
- M. Observar si existe la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero Trans que aparece cercano a los  $966\text{ cm}^{-1}$ .

**Parte 2: Obtención de espectros de estándares.**

- A. Proceder de forma similar que PROCEDIMIENTO 3, parte 1, literales A., B. y C.
- B. Limpiar el material de ventana de la celda de Bromuro de potasio con algodón impregnado con acetona grado ACS.
- C. Armar la celda sin estándar
- D. Colocar la celda en el compartimiento para celdas espectrofotómetro IR y obtener el espectro de blanco (Background).
- E. Sacar la celda, desarmarla y volver a limpiar la celda de la misma forma que en el literal B. de la Parte 2
- F. Quebrar con cuidado, las ampollas que contienen los estándares y extraer con una jeringa de tuberculina un equivalente a  $50\text{ }\mu\text{L}$ .
- G. Colocar la cantidad medida del Estándar en una cara de la ventana limpia y seca para luego colocar la otra ventana sobre la anterior, permitiendo que el estándar se distribuya uniformemente y sin burbujas.
- H. Armar con cuidado la celda
- I. Colocar la celda en el Espectrofotómetro IR y obtener el espectro Infrarrojo del estándar desde los  $4000$  a los  $500\text{ cm}^{-1}$ .
- J. Sacar la celda y Volver a limpiar la celda de la misma manera que en el literal B. de la Parte 2 y proceder con el siguiente estándar según los pasos F. a I.

K. Al finalizar dejar las ventanas de celda limpia y seca en desecador.

### **Parte 3: Prueba de selectividad/especificidad. (Anexo 5)**

En un proceso de identificación, la teoría recomienda que se deben seleccionar sustancias que potencialmente interfieran en la determinación con base en la estructura molecular del analito para evaluar la respuesta del equipo en las mismas condiciones de análisis, puesto que el método oficial para la identificación de grasas trans descrito por la AOAC no especifica como determinar este parámetro, se sugiere en este trabajo de investigación la utilización de la Manteca Nieve, por poseer propiedades similares a la matriz analizada, por lo tanto la práctica de selectividad queda a opción del analista.

Se prepararon mezclas en diferentes proporciones, para determinar el grado de afección que tendría una muestra de margarina con resultado positivo a la identificación del enlace C=C del isómero trans, siendo esta la marca Dany y otra con resultado negativo, la marca Francessa, al ser contaminada con una sustancia considerada como extraña a la matriz analizada, en este caso Manteca nieve dichas muestras fueron preparadas en proporciones (Margarina / Manteca): 90:10, 80:20, 70:30 y 60:40 utilizando probetas de 10 mL.

### **Procedimiento**

- A. Encender el espectrofotómetro IR y el computador
- B. Inicializar el programa IR-Solution
- C. Conectar el computador por medio del programa con el espectrofotómetro IR utilizando el comando “**Measure**”,

comando "**Admin**", Inicializar. Dejar un tiempo de equilibrio de 15 minutos.

- D. Permitir que el programa registre las condiciones del equipo y que reconozca automáticamente el accesorio ATR.
- E. Dejar correr un barrido de las condiciones iniciales del equipo con la unidad ATR armada sin muestra como sigue: utilizar el comando "**Measure**", y presionar "**BKG**" para obtener el espectro blanco (Background).
- F. Tomar una pequeña cantidad de las muestras de margarina Dany, Francessa y manteca nieve desde su empaque primario con una espátula y colocar en un tubo de boca ancha de 50 mL.
- G. Tratar la muestra de la siguiente manera: Colocar el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra y un tubo aparte colocar la manteca nieve en un baño de maría Precitherm y controlar con un termómetro que la temperatura se encuentre a  $62^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , hasta la fundición y separación de las fases.
- H. Obtener los espectros por separado de: Margarina Dany, Margarina Francessa y Manteca nieve.
- I. Tomar desde el tubo de ensayo de boca ancha que se encuentra en el baño de María las cantidades de margarina y manteca para mezclar las proporciones margarina/manteca en probetas de 10 mL
- J. Con la probeta colocar la mezcla de cada proporción, distribuida uniformemente en el cristal de la celda y acoplarla en la unidad ATR del equipo Infrarrojo Shimadzu IR-Affinity.
- K. Analizar la muestra presionando el comando el comando "**Measure**", coleccionar la información de la muestra en el espacio "**coment**" y presionar en "**Sample**" para obtener el espectro

correspondiente para identificar la muestra de los 4000 a los 500  $\text{cm}^{-1}$ .

- L. Limpiar la celda con un pañuelo suave y luego con un algodón impregnado de alcohol.
- M. Comparar los espectros obtenidos con el estándar positivo y negativo recabado.
- N. Observar si existe la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero Trans que aparece cercano a los 966  $\text{cm}^{-1}$ .

**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

## 5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Para el desarrollo del presente trabajo de investigación se plantearon cinco objetivos específicos, el cumplimiento de estos se detalla a continuación.

5.1 Con respecto a la elaboración de una guía de observación para identificar las diferentes marcas y presentaciones de margarina comercializadas en los supermercados del área del centro comercial Metrocentro y sus alrededores, se realizó una guía de observación (Anexo N°3) para determinar cuáles marcas y presentaciones se comercializan con mayor frecuencia en los establecimientos del área delimitada del centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores se ubica en mapa ver (Anexo N°4). La guía fue útil porque de esta manera se conoció la variedad de marcas de Margarinas que se comercializan.

Tabla N°1 Supermercados ubicados en el área del centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores.

SUPERMERCADO	LOCALIZACION	CODIGO
Súper Selectos	Cuarta Etapa, Metrocentro	Súper Selectos 1
	Octava Etapa, Metrocentro	Súper Selectos 2
	Metrosur	Súper Selectos 3
Despensa de Don Juan	Frente a Metrosur	Despensa de Don Juan

Para poder determinar las marcas de margarina mas comercializadas y llevar a cabo la investigación, fue necesario indagar en general la diversidad de marcas y presentaciones de las mismas comercializadas en los establecimientos descritos en las Tablas N° 2, 3, 4 y 5.

5.2 Selección de las marcas y presentaciones de mayor comercialización en el centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores.

Al visitar los supermercados del área delimitada se obtuvo la información que se presenta en las siguientes tablas:

Tabla N° 2 Marcas y presentaciones de margarina comercializadas en Súper Selectos cuarta etapa, Metrocentro

SUPERMERCADO	MARCA/MARGARINA	PRESENTACION
SUPERSELECTOS 1	MIRASOL	Barra vegetal
		Barra Light
		Tarro Vegetal
		Tarro Light
	DANY	Barra Vegetal
		Barra dietética
	FRANCESSA	Barra normal
	BLUE BONETE	Barra normal
	MAZOLA	Barra Normal
		Barra light

Por lo demás, se verifico: los precios de las margarinas más comercializadas y su etiquetado nutricional.

Se determino que en los cuatro supermercados se encuentran margarinas de igual marca y presentación lo que permitió escoger las más comercializadas, pero también se encontraron marcas que únicamente se comercializaban en uno de estos establecimientos pero que poseen igual demanda por la población. Por lo que se considero importante tomarlas en cuenta para la investigación.



Tabla N° 3 Marcas y presentaciones de margarina comercializadas en Súper Selectos octava etapa, Metrocentro.

SUPERMERCADO	MARCA/MARGARINA	PRESENTACION
SUPERSELECTOS 2	MIRASOL	Barra vegetal
		Barra Light
		Tarro Vegetal
		Tarro Light
	DANY	Barra Vegetal
		Barra dietética
	FRANCESSA	Barra normal
	MAZOLA	Barra Normal
		Barra light
		Empaque a granel

Tabla N° 4 Marcas y presentaciones de margarina comercializadas en Súper Selectos Metrosur.

SUPERMERCADO	MARCA/MARGARINA	PRESENTACION
SUPERSELECTOS 3	MIRASOL	Barra vegetal
		Barra Light
		Tarro Vegetal
		Tarro Light
	DANY	Barra Vegetal
		Barra dietética
	FRANCESSA	Barra normal
	MAZOLA	Barra Normal
		Barra light
		Granel

Tabla N° 5 Marcas y presentaciones de margarina comercializadas en Despensa de Don Juan Metrocentro

SUPERMERCADO	MARCA/MARGARINA	PRESENTACION
DESPENSA DE DON JUAN	MAZOLA	Barra
		Granel
	MIRASOL	Barra Maíz
		Barra light
		Barra vegetal
		Tarro vegetal
		Tarro Light
		Spray
		SULI
	ISSIMA	Granel
	CREMY	Barra vitaminada
		Barra light
		Barra con aceite de oliva
	FRANCESSA	Barra
	I CAN'T BELIEVE IS NOT BUTTER	Tarro

Posteriormente, se determinaron las marcas de margarinas más comercializadas en los supermercados, tomándose aproximadamente 18 unidades de cada marca a razón de distribuir las 128 muestras a analizar, estas se presentan en la tabla N° 6:

Tabla N° 6 Marcas y presentaciones de Margarina más comercializadas en los supermercados del área del centro comercial Metrocentro San Salvador y sus alrededores.

SUPERMERCADO	MARCA/MARGARINA	PRESENTACION
Cuarta Etapa, Metrocentro Súper Selectos 1	Mirasol	Barra
		Tarro Normal
	Dany	Barra
	Mazola	Barra
	Francessa	Barra
	Issima	Barra
Empaque a granel		
Octava Etapa, Metrocentro Súper Selectos 2	Mirasol	Barra
		Tarro Normal
	Cremy	Barra Vitaminada
		Barra con aceite de oliva
	Dany	Barra
	Mazola	Barra
Francessa	Barra	
Issima	Empaque granel	
Metrosur Súper Selectos 3	Mirasol	Barra
		Tarro
	Issima	Empaque granel
	Dany	Barra
	Francessa	Barra
Enfrente a Metrosur Despensa de Don Juan	Mirasol	Barra
		Tarro Normal
	Mazola	Barra
	Francessa	Barra
	Issima	Barra
		Empaque granel
	Suly	Barra
Cremy	Barra Vitaminada	
	Barra con aceite de oliva	

Porcentaje de cada marca analizada relacionado al total de las 128 muestras recolectadas que indico el programa statgraphic v5.1, dividiendo este número entre las 7 marcas más comercializadas de Margarina, así obtener un aproximado de cuantas muestras por marca se analizarían.

Muestras recolectadas → 100%

N°muestras por marca → X%

$$X\% = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de muestras por marca})(100\%)}{\text{muestras recolectadas}}$$

DATOS:

- Muestras recolectadas: 128 muestras
- Muestras analizadas por marca: Francessa, Danny e Issima fueron 18 muestras analizadas, para la marca Mirasol, Cremy y Mazola se analizaron 19 muestras y de la marca Suly se analizaron 17 muestras.

Porcentaje en representación para Marcas de Margarina: Francessa, Dany e Issima

$$\% = \frac{(18)(100\%)}{128} = 14.06\% \cong 14\%$$

Porcentaje en representación para Marcas de Margarina: Mirasol, Cremy, Mazola

$$\% = \frac{(19)(100\%)}{128} = 14.84\% \cong 15\%$$

Porcentaje en representación para Marcas de Margarina: Suly

$$\% = \frac{(17)(100\%)}{128} = 13.28\% \cong 13\%$$

Tabla N°7 Porcentajes de cada Marca de Margarina analizados.

MARCA	Muestras	%
Mirasol	19	15%
Mazola	19	15%
Francesa	18	14%
Cremy	19	15%
Dany	18	14%
Suly	17	13%
Issima	18	14%
TOTAL	128	100%

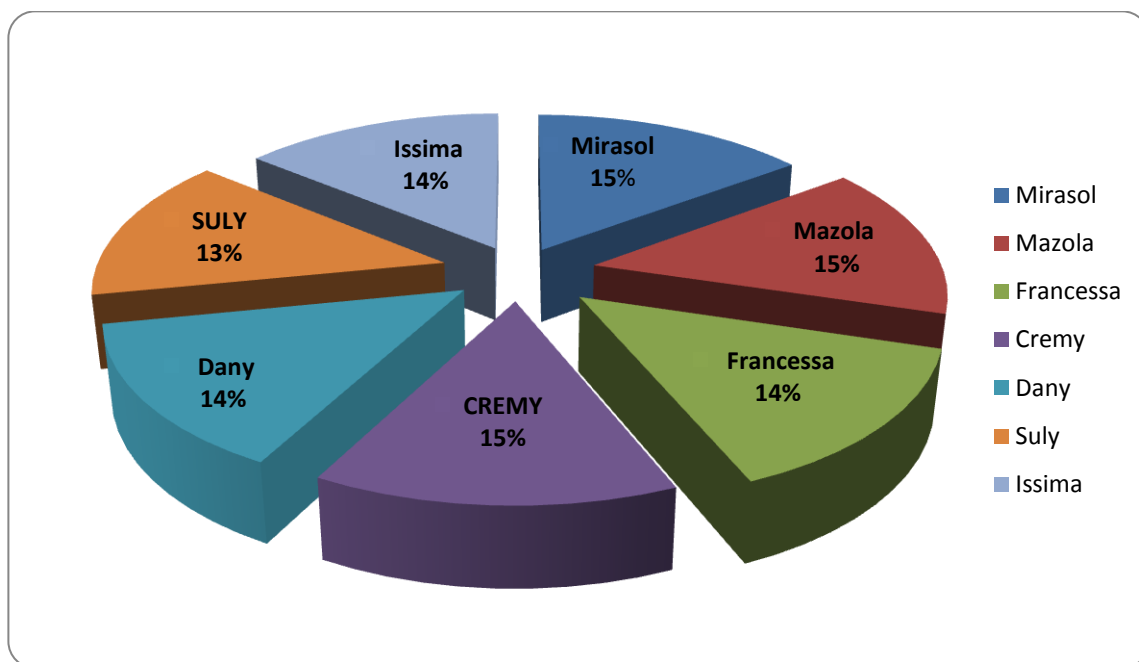


Figura N°7 Diagrama de los porcentajes de las 7 marcas de margarina analizadas

5.3 Con respecto al análisis por espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier de las muestras de margarina recolectadas, se llevó a cabo el procedimiento descrito en la parte experimental, recolectando la información en la región IR comprendida desde los 4000 a los 500  $\text{cm}^{-1}$ , y realizando un acercamiento (zoom) correspondiente al área de interés en donde se esperaba apareciera la deformación del enlace C=C del isómero trans, es decir a 966  $\text{cm}^{-1}$ .

Al realizar la toma de muestras, estas fueron transportadas al Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia para ser analizadas en el Espectrofotómetro Infrarrojo de Transformada de Fourier con unidad de Reflectancia Total Atenuada, se llevaron a cabo los 128 análisis indicados en la metodología, obteniéndose un espectro por cada muestra, en los cuales se procuro estudiar la deformación del doble enlace C=C del isómero Trans a que aparece a 966  $\text{cm}^{-1}$ , esto determino la presencia (+1) o ausencia (-1) de grasas trans en las muestras según se reporta en el Anexo N° 6.

Los resultados positivos se reportan en la tabla N° 8, de estos amerita hacer énfasis en que se distribuye en todos los supermercados bajo estudio y el país de procedencia es Guatemala

Tabla N° 8 Resultados positivos a la identificación de ácidos grasos trans en margarina

MARCA	LOTE	ESTABLECIMIENTO	FECHA VENCIMIENTO	PROCEDECENCIA	RESULTADO
Cremy Vit	B128072721	Súper selectos 1	70113	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B166202711	Despensa de Don Juan	140213	Guatemala	(+1)
Suly	A001373467	Despensa de Don Juan	221212	Guatemala	(+1)
Dany	B768905435	Súper Selectos 2	21112	Guatemala	(+1)
Dany	B073065567	Súper Selectos 1	120413	Guatemala	(+1)
Dany	B093077156	Súper Selectos 2	91112	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B166272721	Despensa de Don Juan	140213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B120489272	Despensa de Don Juan	140213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit.	B116203311	Despensa de Don Juan	50813	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B173168980	Súper Selectos 2	80613	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B130262031	Despensa de Don Juan	140613	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B020471758	Despensa de Don Juan	230914	Guatemala	(+1)
Cremy Vit.	B166272781	Despensa de Don Juan	230713	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B178948754	Despensa de Don Juan	231213	Guatemala	(+1)
Suly	A355226024	Despensa de Don Juan	210812	Guatemala	(+1)
Suly	A354089780	Despensa de Don Juan	200812	Guatemala	(+1)
Suly	A354560123	Despensa de Don Juan	210812	Guatemala	(+1)
Suly	A355256035	Despensa de Don Juan	270812	Guatemala	(+1)
Suly	A35814089	Despensa de Don Juan	80912	Guatemala	(+1)
Dany	06:16	Súper Selectos	100313	Guatemala	(+1)
Suly B.	B123100954	Despensa de Don Juan	111213	Guatemala	(+1)
Suly B.	B160316423	Despensa de Don Juan	100213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B122620812	Súper Selectos 2	271213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B047271111	Súper selectos 2	140313	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B166701497	Despensa de Don Juan	260813	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B167637328	Súper Selectos 3	71213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B167046081	Despensa de Don Juan	290913	Guatemala	(+1)

Continuación

MARCA	LOTE	ESTABLECIMIENTO	FECHA VENCIMIENTO	PROCEDENCIA	RESULTADO
Suly	A922889572	Despensa de Don Juan	181112	Guatemala	(+1)
Suly	A796187601	Despensa de Don Juan	71012	Guatemala	(+1)
Dany	B185307411	Súper selectos 1	80812	Guatemala	(+1)
Dany	B044107522	Súper Selectos 1	151212	Guatemala	(+1)
Dany	B01127422	Despensa de Don Juan	40213	Guatemala	(+1)
Dany	B041287431	Súper Selectos 2	80113	Guatemala	(+1)
Dany	B067267421	Súper selectos 3	211212	Guatemala	(+1)
Dany	B073067411	Súper Selectos 2	170313	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B127280123	Súper Selectos 2	70113	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B080202721	Súper Selectos 3	201112	Guatemala	(+1)
Suly	A133258519	Despensa de Don Juan	191112	Guatemala	(+1)
Dany	B032287512	Súper selectos 2	30213	Guatemala	(+1)
Dany	B073067411	Súper Selectos 2	311112	Guatemala	(+1)
Suly	A876543987	Despensa de don Juan	170513	Guatemala	(+1)
Cremy Vit.	B127280123	Súper Selectos 2	70113	Guatemala	(+1)
Suly	A136341298	Despensa de Don Juan	120313	Guatemala	(+1)
Suly	A109879654	Despensa de don Juan	110213	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B131327708	Despensa de Don Juan	270313	Guatemala	(+1)
Suly	A045666876	Despensa de don Juan	40912	Guatemala	(+1)
Dany	B185307411	Súper Selectos 2	130113	Guatemala	(+1)
Dany	B042097433	Súper Selectos 1	210613	Guatemala	(+1)
Dany	A020223307	Súper Selectos 1	160213	Guatemala	(+1)
Suly	A102133675	Despensa de don Juan	140812	Guatemala	(+1)
Suly	A102987154	Despensa de don Juan	170413	Guatemala	(+1)
Dany	B876543555	Súper selectos 1	70812	Guatemala	(+1)
Dany	B123675324	Súper selectos 1	10113	Guatemala	(+1)
Dany	B987541230	Súper selectos 3	61212	Guatemala	(+1)



Los resultados obtenidos por marca y presentación fueron los siguientes (se incluye el espectro Infrarrojo representativo así como el acercamiento al rango de estudio cercano a 966  $\text{cm}^{-1}$ ).

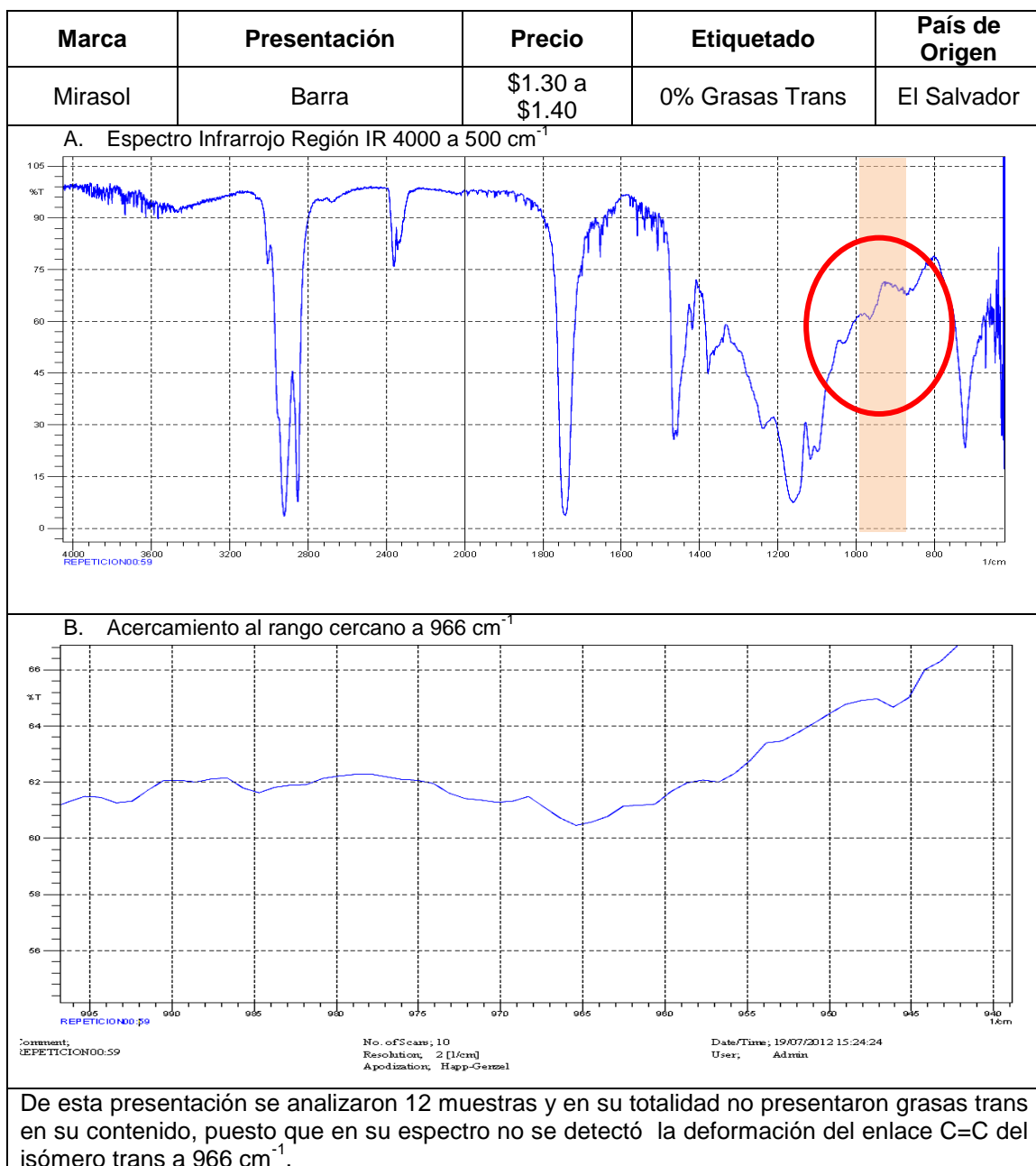


Figura N° 8. Espectro infrarrojo representativo de Margarina Mirasol presentación barra. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$ .

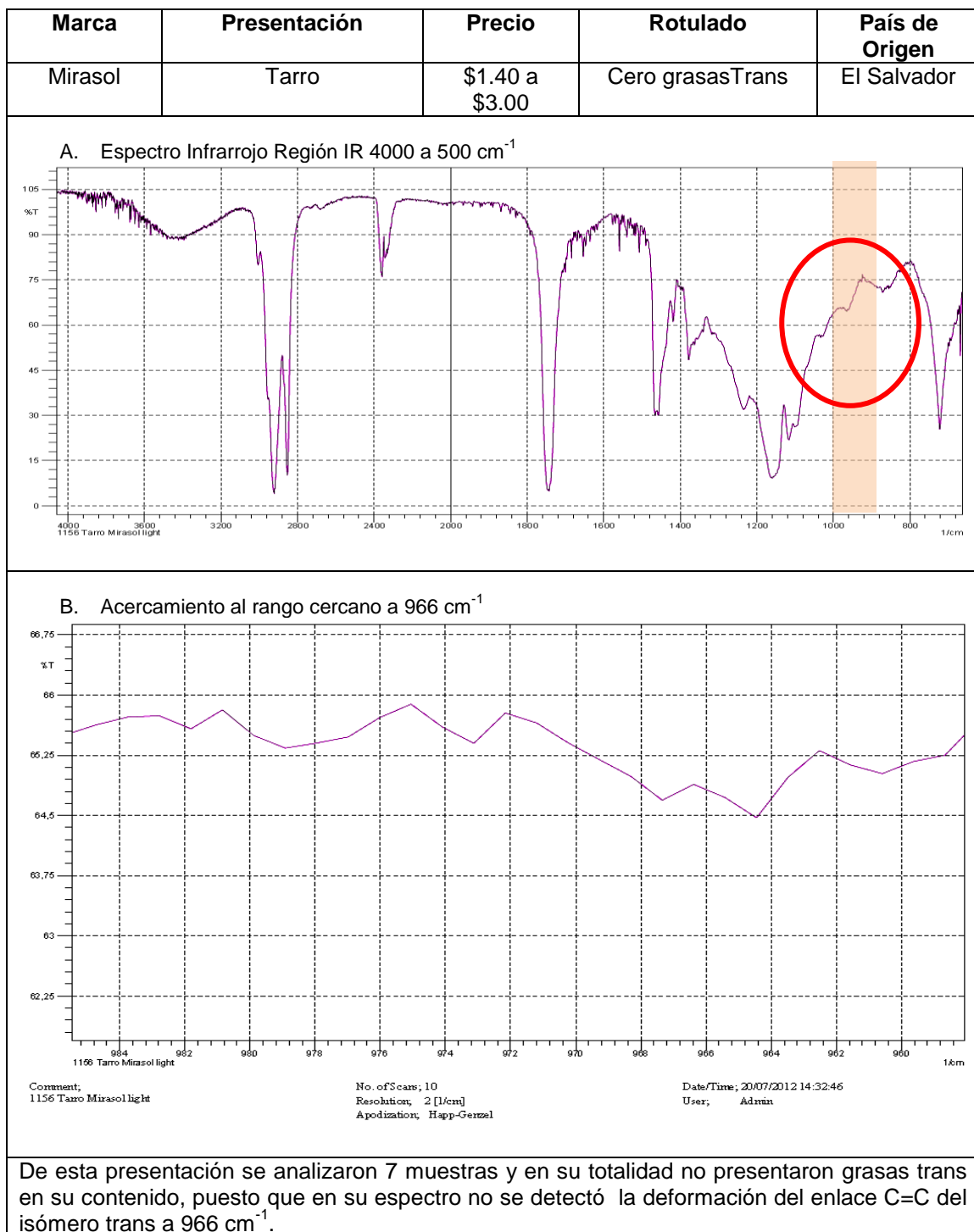


Figura N° 9 Espectro infrarrojo representativo de Margarina Mirasol presentación tarro. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$ .

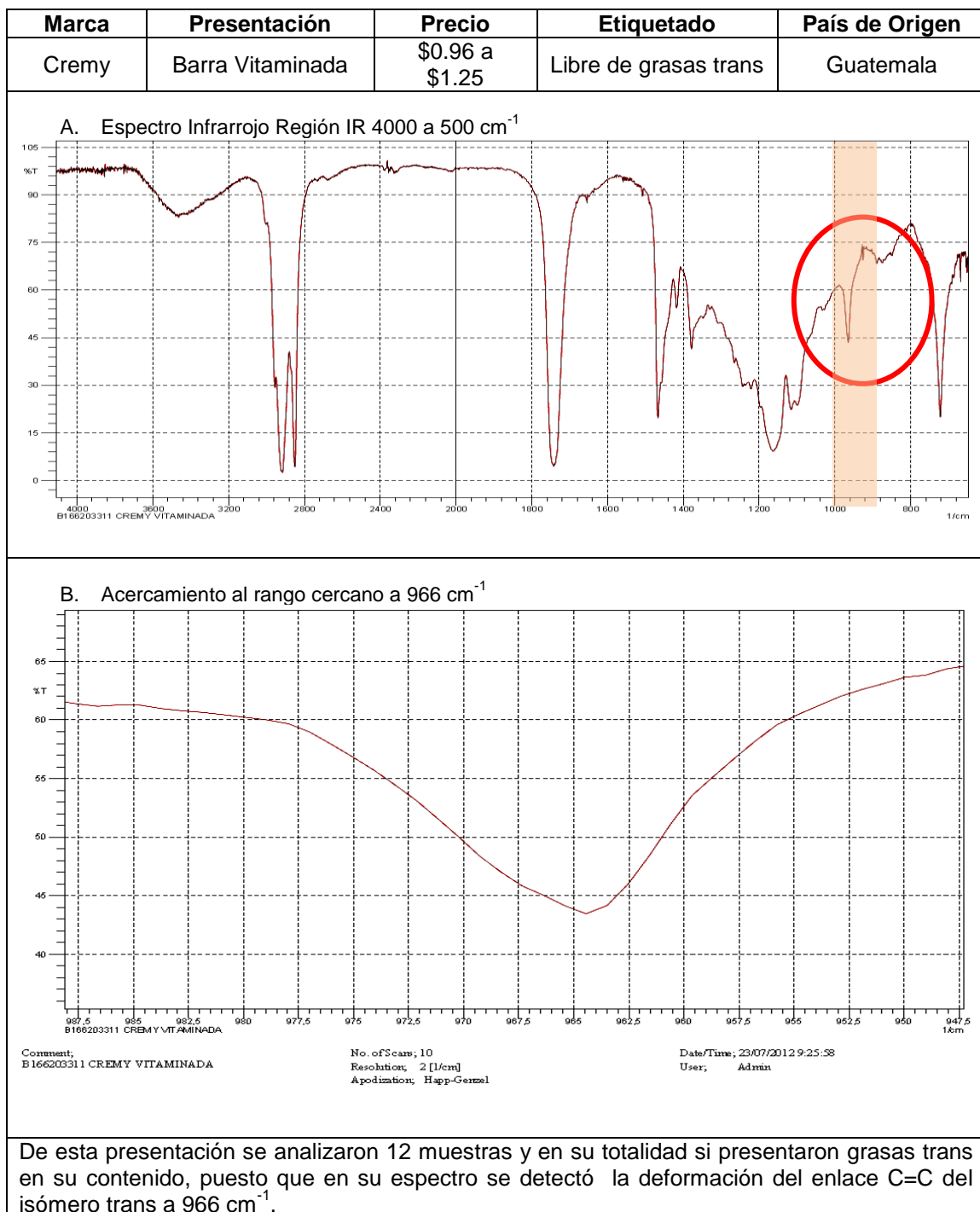


Figura N° 10. Espectro infrarrojo representativo de Margarina Cremy presentación barra Vitaminada. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$

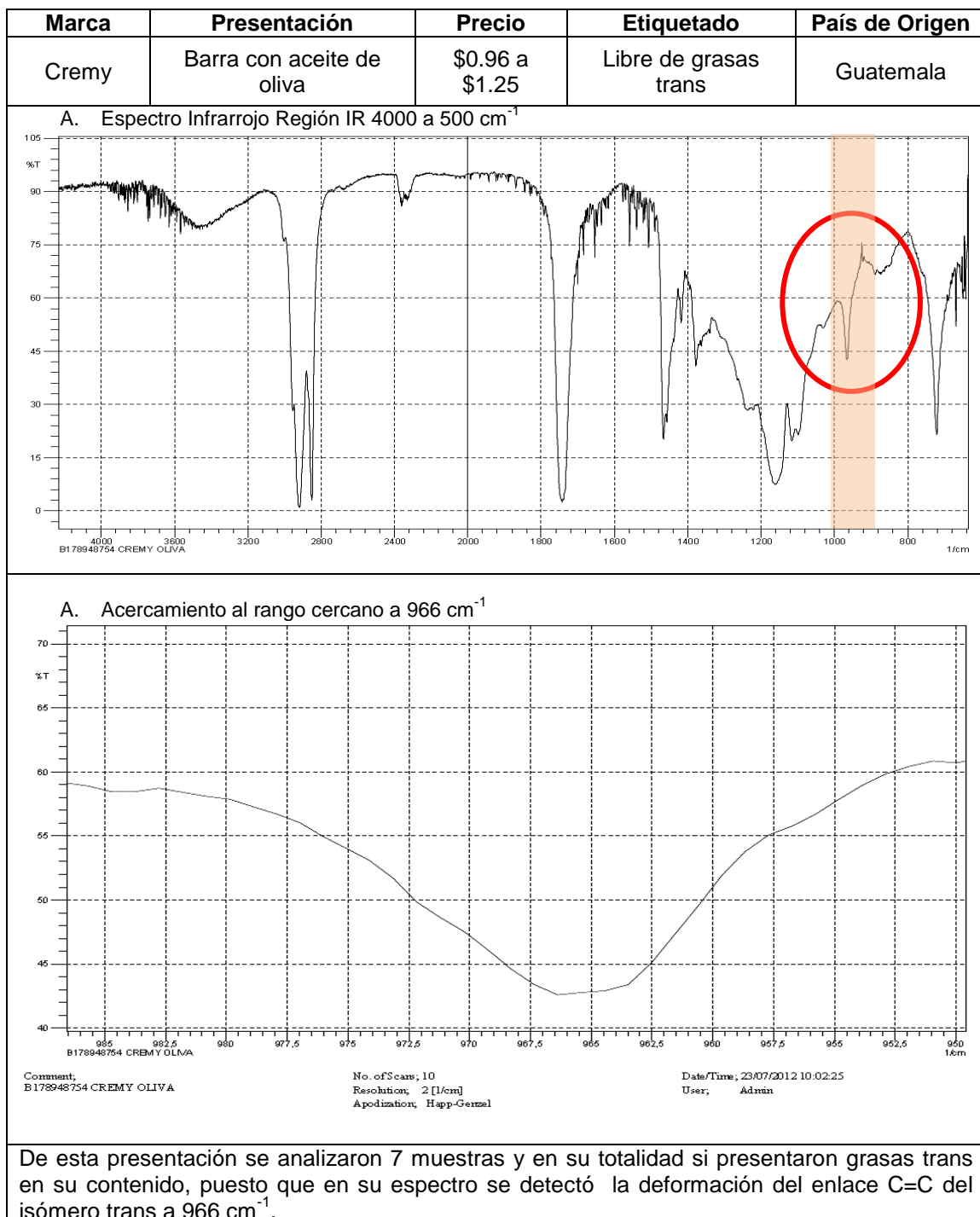


Figura N° 11 Espectro infrarrojo representativo de Margarina Cremy presentación barra aceite de oliva. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$

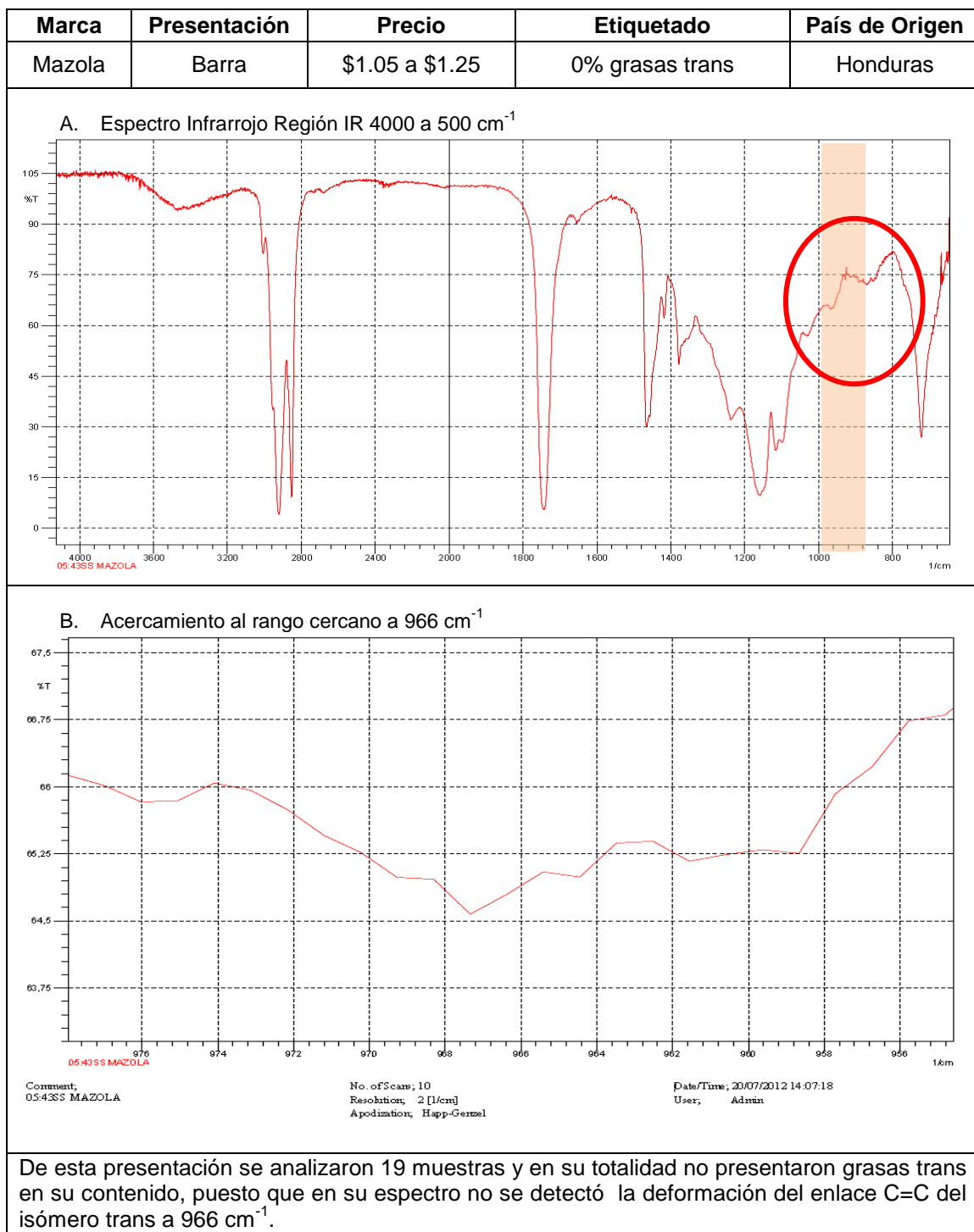


Figura N° 12 Espectro infrarrojo representativo de Margarina Mazola presentación barra. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$

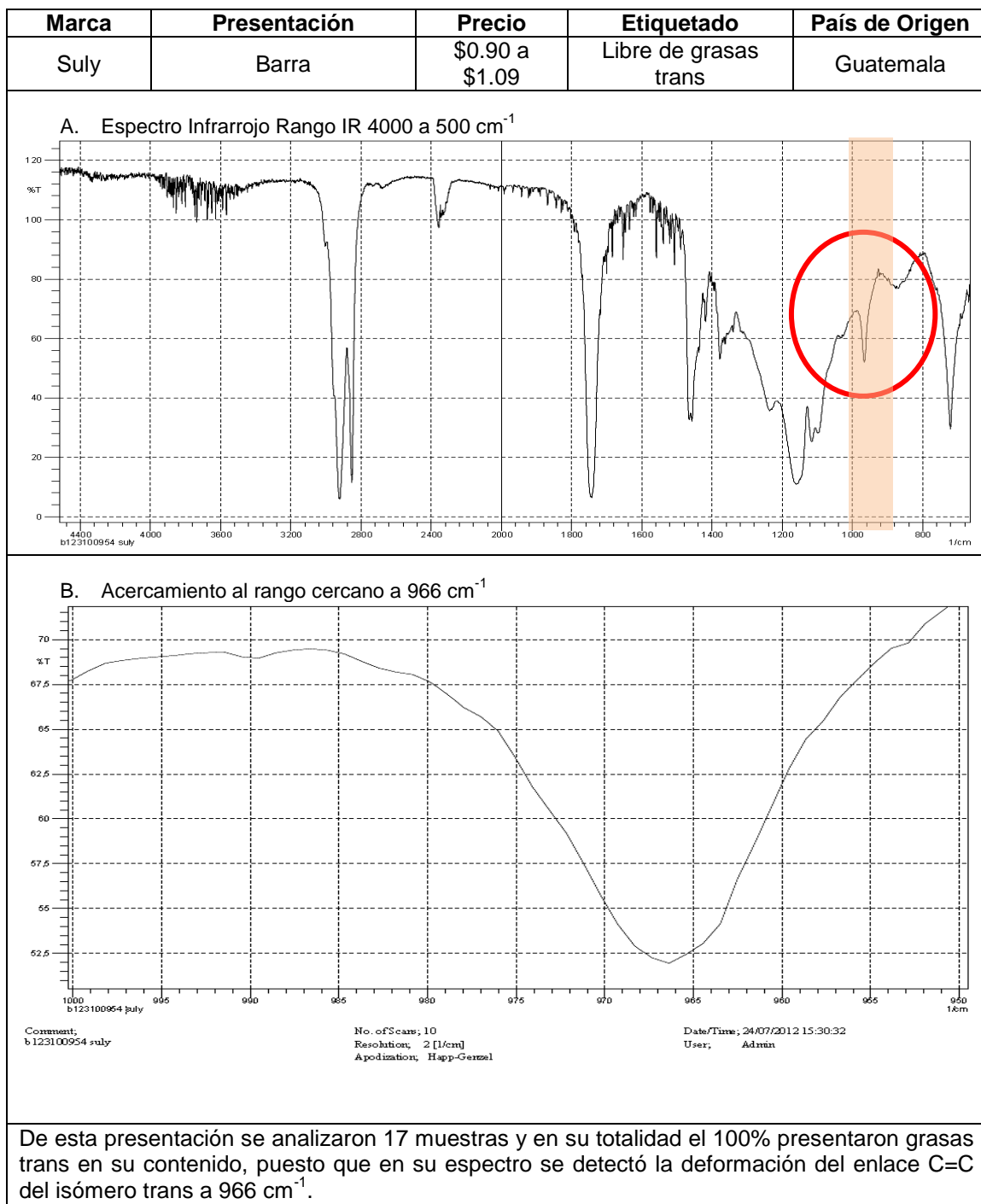


Figura N° 13 Espectro infrarrojo representativo de Margarina Suly presentación barra. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$ .

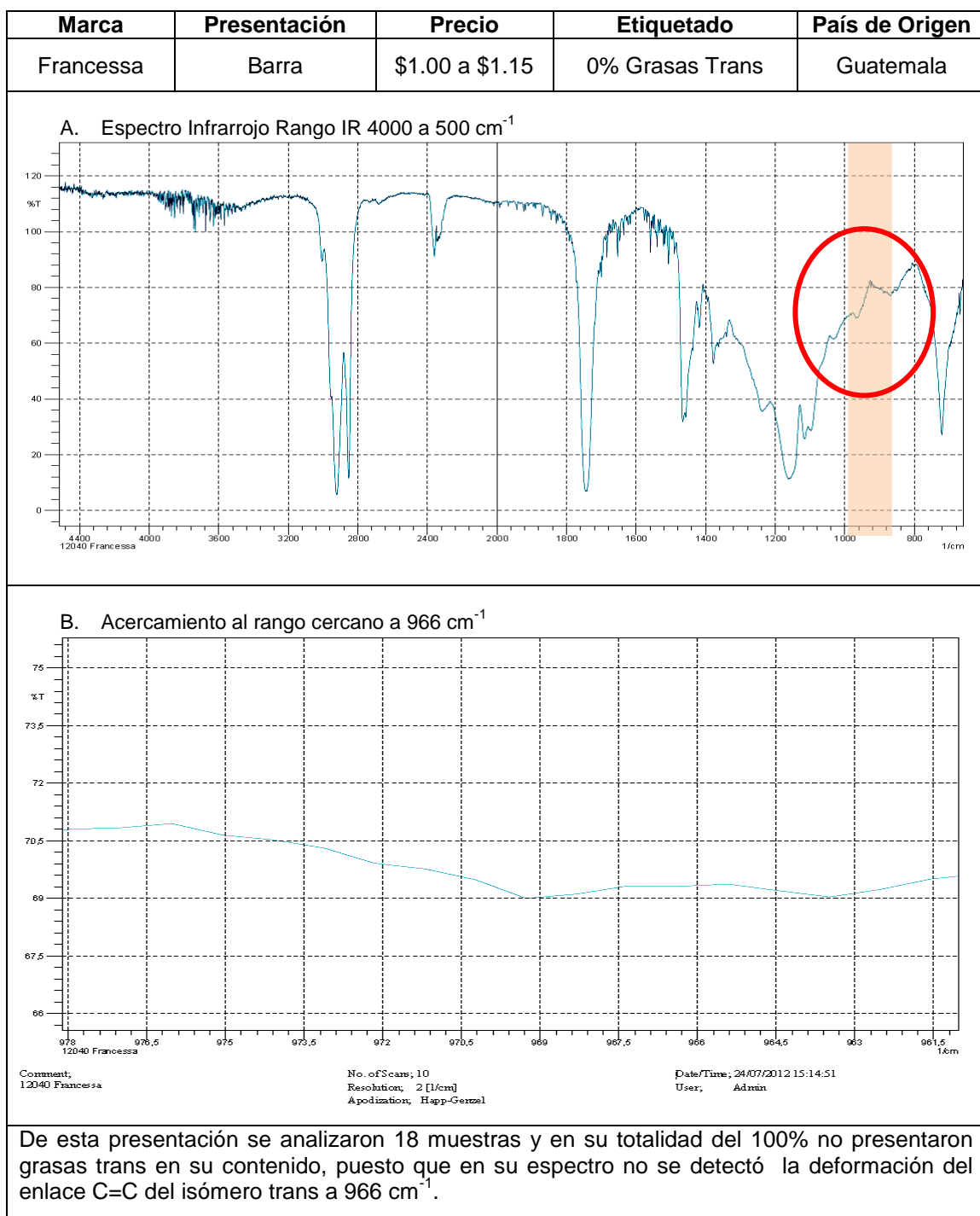


Figura N° 14 Espectro infrarrojo representativo de margarina Francesa presentación Barra. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$ .

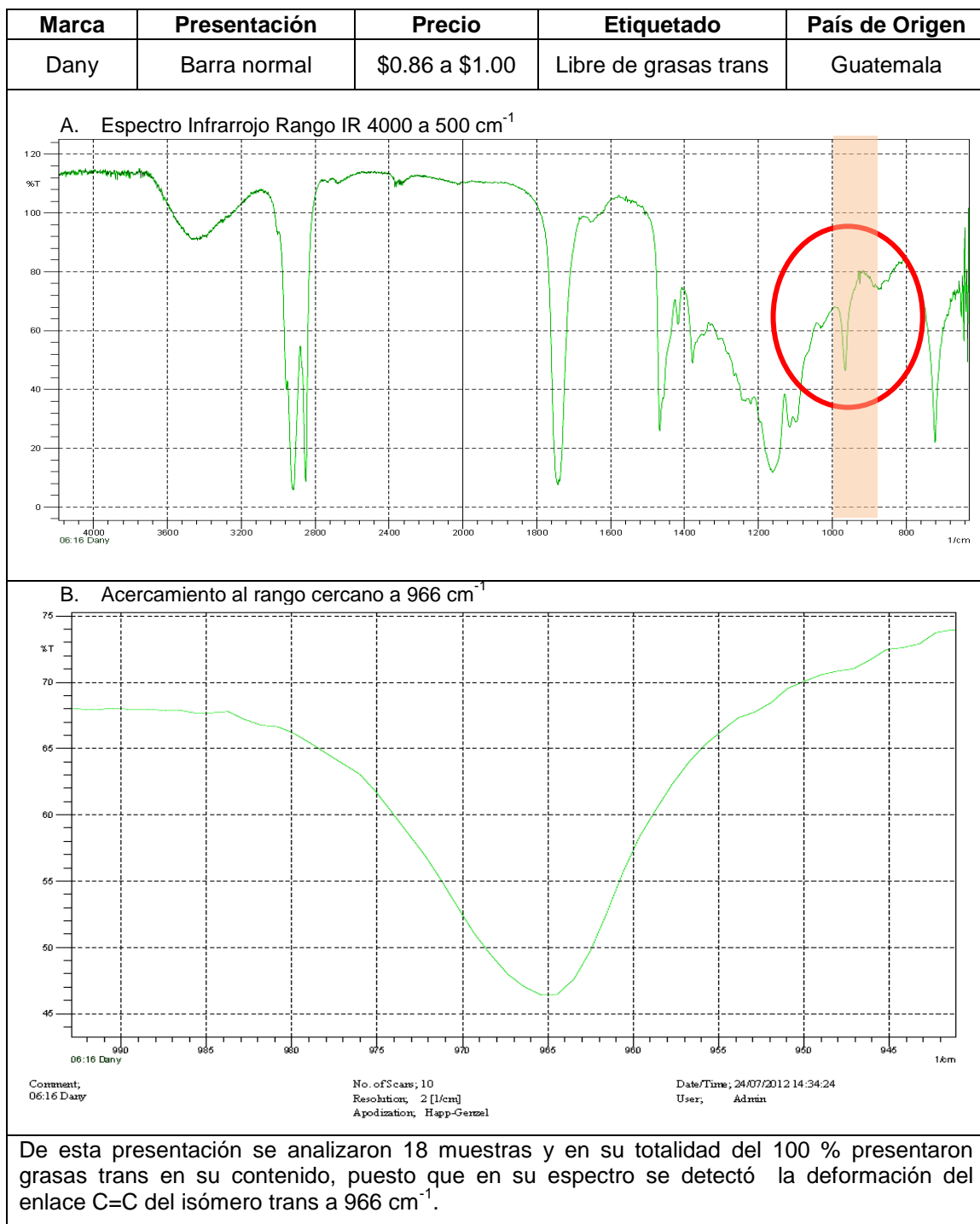


Figura N° 15 Espectro Infrarrojo representativo de margarina Dany presentación Barra. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$ .



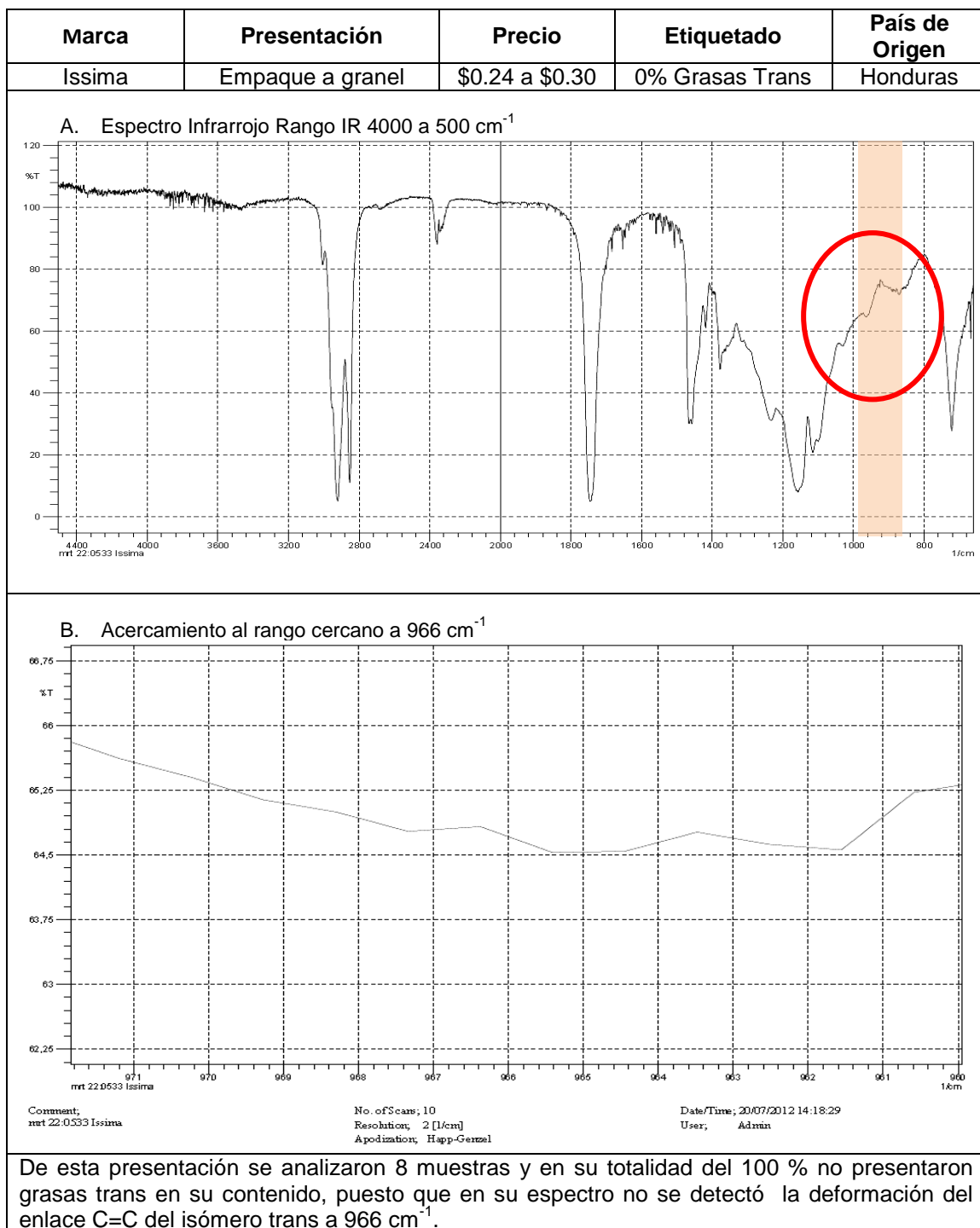


Figura N° 16 Espectro infrarrojo representativo de margarina Issima presentación empaque granel. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$

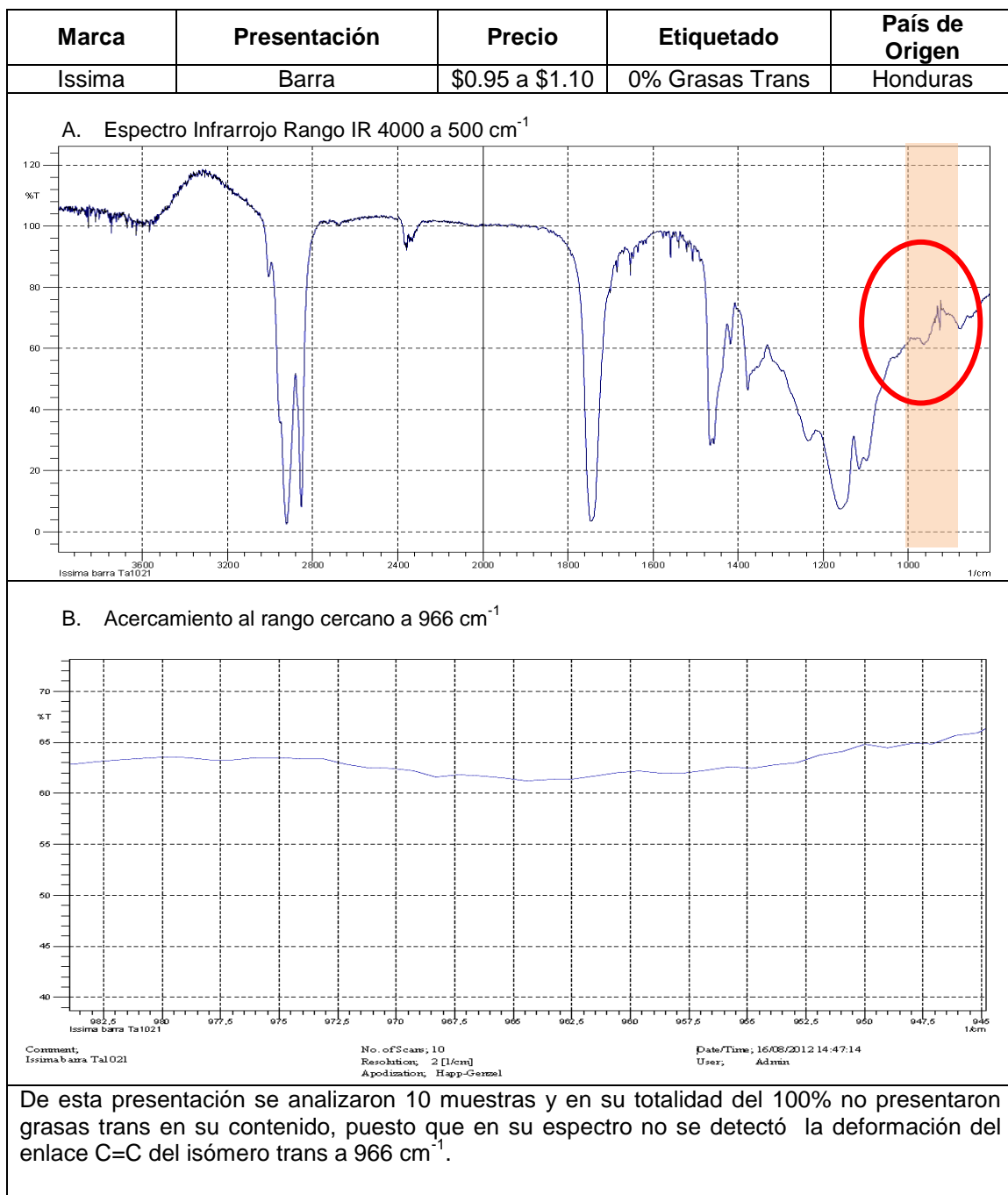


Figura N° 17 Espectro infrarrojo representativo de margarina Issima presentación barra. (A) Espectro en la región de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a 966  $\text{cm}^{-1}$

#### 5.4 Análisis de los espectros obtenidos para la determinación de la presencia de grasas trans en las muestras recolectadas

De la Marca de Margarina Mirasol se analizaron 19 muestras en 2 de sus presentaciones, barra y tarro, de diferentes lotes, de las cuales no presentaron grasas trans en su contenido, puesto que, en sus espectros Infrarrojos, no se observó el pico de absorción característico de la deformación C=C trans en  $966\text{ cm}^{-1}$ . La margarina Mirasol en las dos presentaciones analizadas declara en su etiquetado nutricional que en su contenido hay “cero % grasas trans”, lo que no puede llegar a determinarse debido a que el límite teórico del método para detectarlo debe ser arriba del 5%. (1) (8) (14)

De la Marca Cremy, se analizaron 19 muestras en dos presentaciones, Cremy Vitaminada y Cremy Oliva en barra, de diferentes lotes, en las dos presentaciones en su totalidad se evidenció la presencia de ácidos grasos trans, puesto que en su espectro infrarrojo se detectó el pico característico de la deformación C=C del isómero trans en la región cercana a  $966\text{ cm}^{-1}$ . Por lo que esta marca no cumple con su etiquetado nutricional que declara, “libre de grasas trans” el cual según la norma de etiquetado nutricional de la FDA corresponde a un porcentaje menor al 5% por porción y según la literatura el método de la AOAC 2000:10, se limita a las muestras que contienen al menos un 5 % de isómeros trans. (1)(8)(2) (14)

Para la marca Mazola se analizaron 19 muestras en su presentación barra pero de diferentes lotes y diferentes supermercados dentro del área delimitada y el 100% de las muestras no presentaron grasas trans en su contenido. La Margarina Mazola, declara en su etiquetado nutricional que en su contenido hay “cero % grasas trans”, esto no puede llegar a

determinarse debido a que el límite de detección del método teóricamente es de arriba del 5%. (1) (8)

De la Marca Suly, las 17 muestras analizadas en su presentación barra de diferentes lotes, presentaron grasas trans en su contenido, puesto que en los espectros infrarrojos se detectó la presencia del pico de absorción característico de la deformación C=C del isómero trans en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$ . Por lo que esta marca no cumple con su etiquetado nutricional que declara, “libre de grasas trans. (1)(8)

Se analizaron 18 muestras de la marca Francessa, las cuales en su totalidad no presentaron grasas trans en su contenido, puesto que en sus espectros Infrarrojos no se detectó la presencia del pico de absorción característico para la deformación C=C trans en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$ . La margarina Francessa, declara en su etiquetado nutricional correspondiente que en su contenido hay “cero % grasas trans”, esto no puede llegar a determinarse debido a que el límite de detección del método teóricamente es de arriba del 5%. (1) (8) (14)

De la Marca Dany, en 18 análisis realizados a muestras de diferente número de lote, se detectó la presencia grasas trans en su contenido, puesto que en su espectro infrarrojo se observó la presencia del pico de absorción característico para la deformación C=C del isómero trans en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$ . Por lo que esta marca no cumple con su etiquetado nutricional que declara, “libre de grasas trans”.(1)(8)

Las muestras de la Marca Issima en su totalidad no presentaron grasas trans, en las presentaciones analizadas, puesto que en sus espectros Infrarrojos no se detectó la presencia del pico de absorción característico

para la deformación C=C trans en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$ . La margarina Issima en las dos presentaciones analizadas declara en su etiquetado nutricional correspondiente que en su contenido hay “cero % grasas trans”, esto no puede llegar a determinarse debido a que el límite de detección del método teóricamente es de arriba del 5%. (1) (8)

Los resultados presentados a partir de la guía de observación (Ver anexo 3) que se realizó en los supermercados de Metrocentro de San Salvador y sus alrededores determino que son 7 marcas de margarina las más comercializadas como se presenta en los porcentajes analizados (ver figura N°7) y de estas en el 58% de las muestras analizadas correspondientes a las marca de Margarina Mirasol, Issima, Francessa y Mazola, la metodología utilizada no evidenció la deformación del enlace C=C del isómero trans, mientras que en el 42% de las muestras restante, correspondiente a las marcas, Dany, Suly y Cremy, si se deformó el enlace C=C.

Cálculos:

A. Para Muestras de margarina con detección negativa de ácidos grasos trans:(M. mirasol, M. Issima, M. Francessa, M. Mazola): 74 muestras

Muestras recolectadas → 100%

N°muestras con TFA(-) → X%

$$X\% = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de muestras sin TFA } (-)(100\%)}{\text{numero total de muestras recolectadas}}$$

$$\% = \frac{(74)(100\%)}{128} = 57.81\% \cong 58\%$$

B. Para muestras de margarina con presencia de ácidos grasos trans:(M. Dany, M. Cremy, M. Suly): 54 muestras.

Muestras recolectadas → 100%

N° muestras con TFA(+) → X%

$$X\% = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de muestras con TFA (+)})(100\%)}{\text{numero total demuestras recolectadas}}$$

$$\% = \frac{(54)(100\%)}{128} = 42.19\% \cong 42\%$$

Tabla N°9 Porcentajes de resultados: no detectado (-) y detectado (+) de ácidos grasos trans.

RESULTADO DE ANALISIS	TOTAL	PORCENTAJE
- Muestras de Margarina no detectable con ácidos grasos trans	74	42%
- Muestras de Margarina detectables con ácidos grasos trans	54	58%

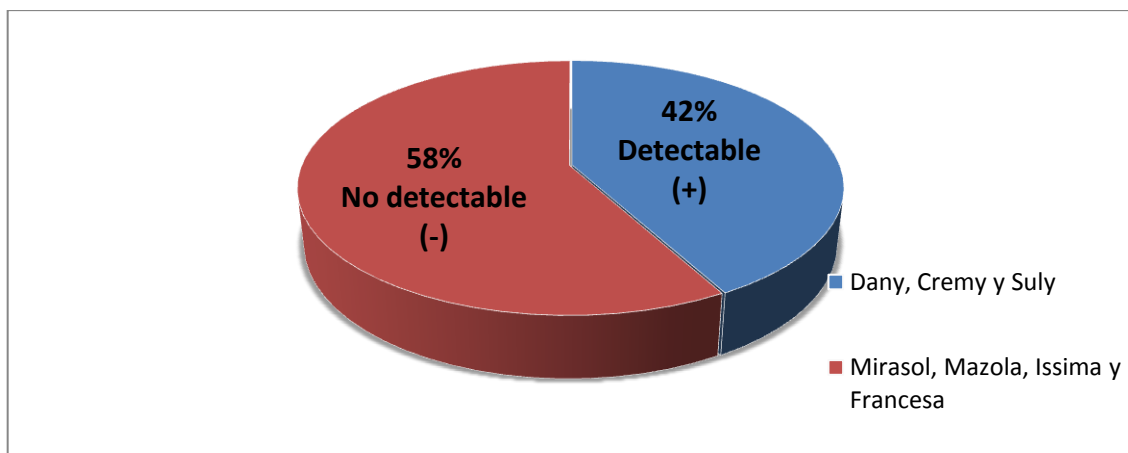


Figura N°18 Gráfico de Resultados en porcentaje de ácidos grasos trans en margarinas analizadas.

De esta manera del 100% de las muestras analizadas, en el 42% correspondiente a las marcas de Margarina Dany, Cremy y Suly, se evidencia la presencia de ácidos grasos trans.

- 5.5 Para poder comparar las muestras de Margarina analizadas por espectrofotometría infrarroja con el respectivo estándar de referencia positivo y negativo, se obtuvieron los espectros infrarrojos de las sustancias Trioleína y Trielaidina.

Los estándares de referencia utilizados son glicéridos que se encuentran en diferentes posiciones, cis y trans con un grado de pureza mayor del 99 % de los respectivos ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES).

El método oficial de la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC) recomienda utilizar estos estándares primarios Trielaidina (TE) y Trioleína (TO). por esta razón se utilizaron en el laboratorio Físicoquímico de aguas para comparar sus resultados con el de las muestras de Margarina bajo estudio.

Para la obtención de espectros infrarrojos, se utilizó una celda con ventanas de Bromuro de potasio en un Espectrofotómetro Infrarrojo de Transformada de Fourier.

El siguiente espectro infrarrojo de Trioleina estándar negativo no muestra el pico de absorción característico de grasas trans en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$

1

### ESPECTRO DE TRIOLEINA (ESTANDAR NEGATIVO)

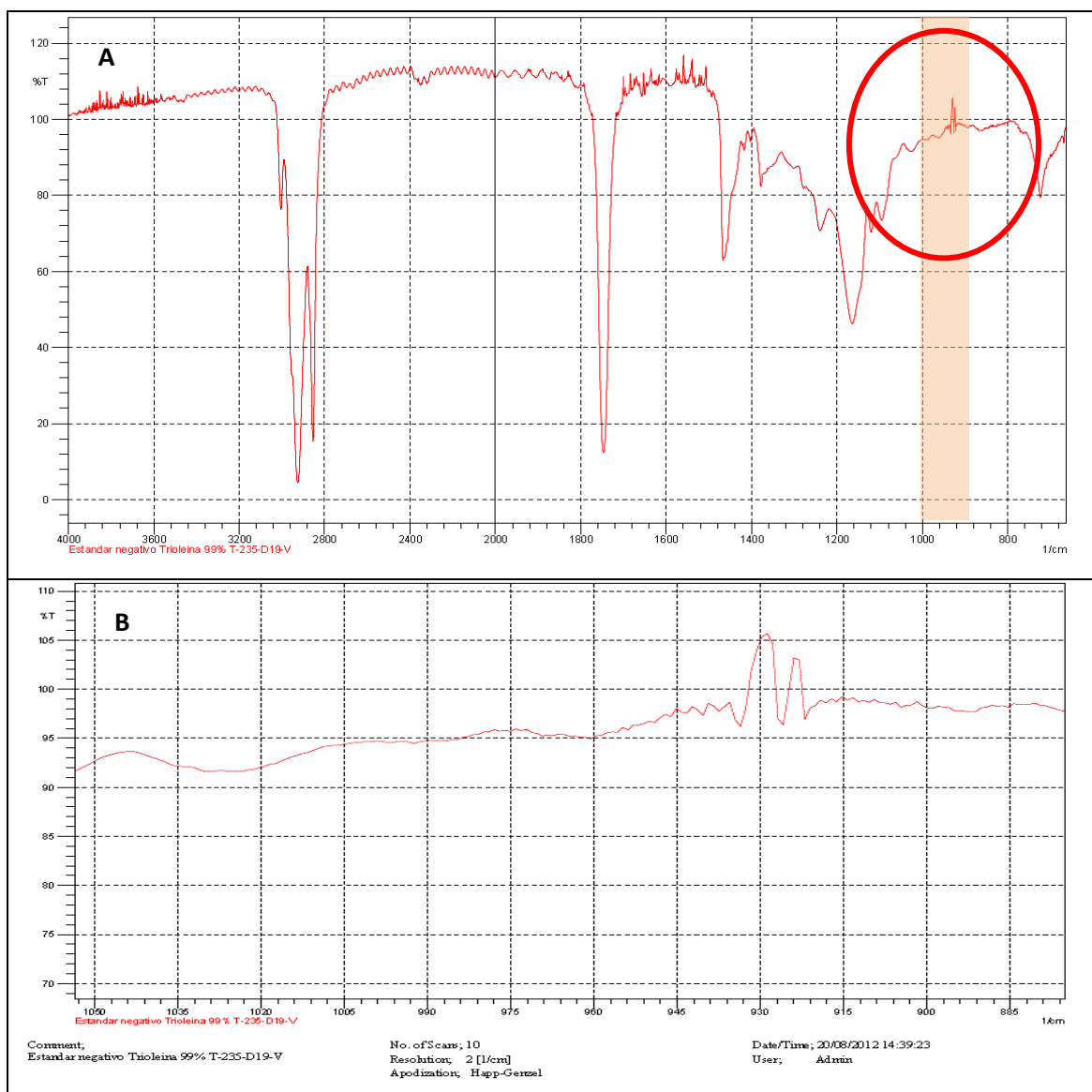


Figura N°19 Espectro infrarrojo del estándar negativo, Trioleina.  
(A) Espectro en la región de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $500\text{ cm}^{-1}$ .  
(B) Acercamiento a  $966\text{ cm}^{-1}$



En el siguiente espectro infrarrojo se observa el pico de la deformación del enlace C=C a  $966\text{ cm}^{-1}$  característico de las grasas trans.

### ESPECTRO DE TRIELAIDINA (ESTANDAR POSITIVO)

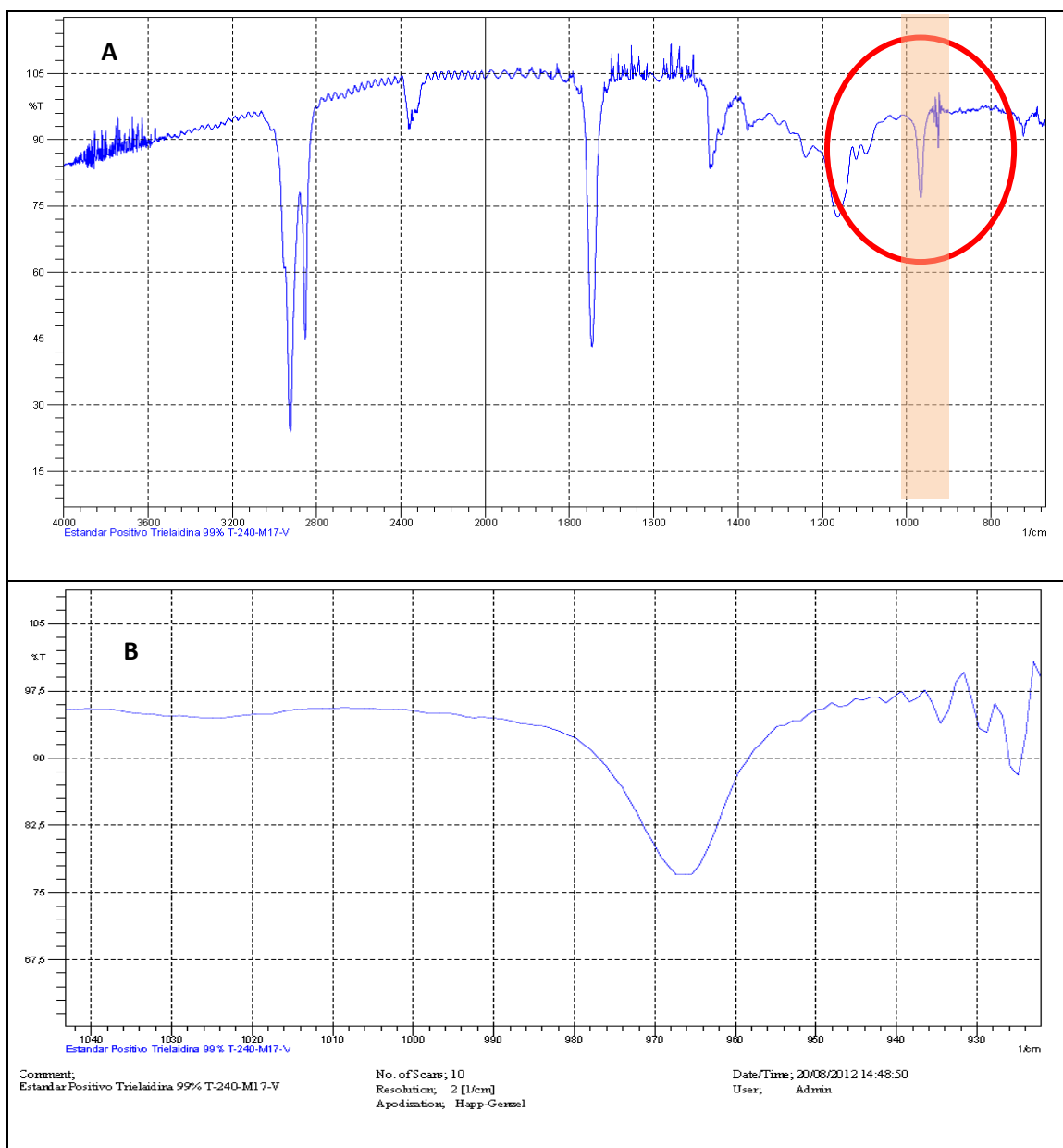


Figura N°20 Espectro infrarrojo del estándar positivo, Trielaidina.  
(A) Espectro en la región de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $500\text{ cm}^{-1}$ .  
(B) Acercamiento a  $966\text{ cm}^{-1}$

Al comparar ambos estándares por medio de los espectros superpuestos se observa con claridad la presencia del pico de absorción característico para la deformación C=C del isómero trans en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$ , y en el otro su ausencia.

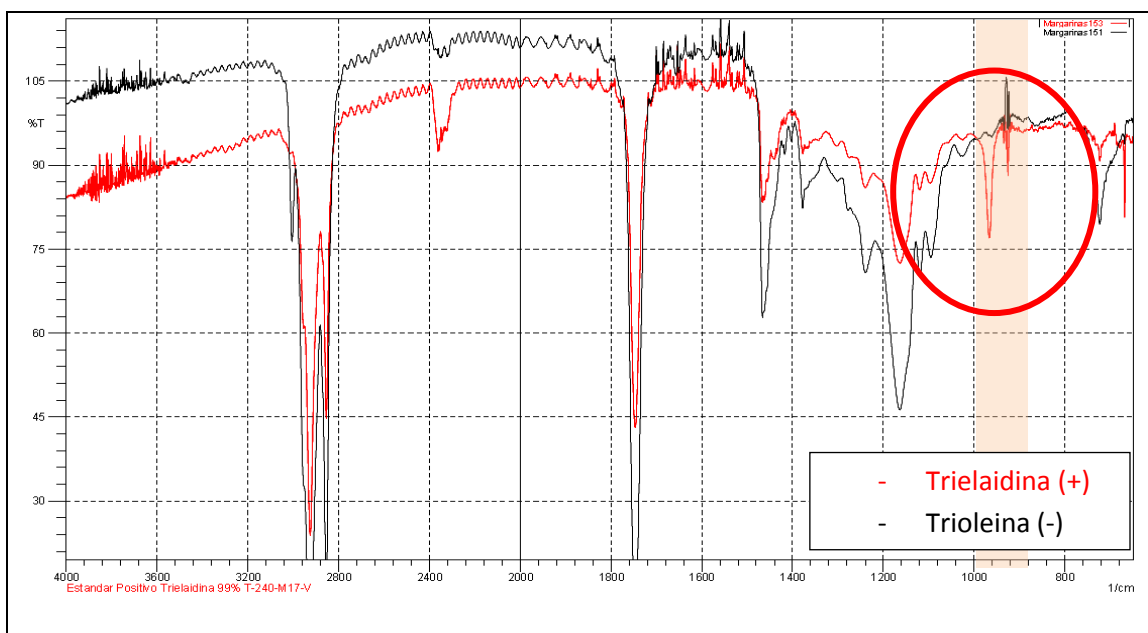


Figura N°21 Comparación de espectros infrarrojos de estándares de Trioleina y Trielaidina

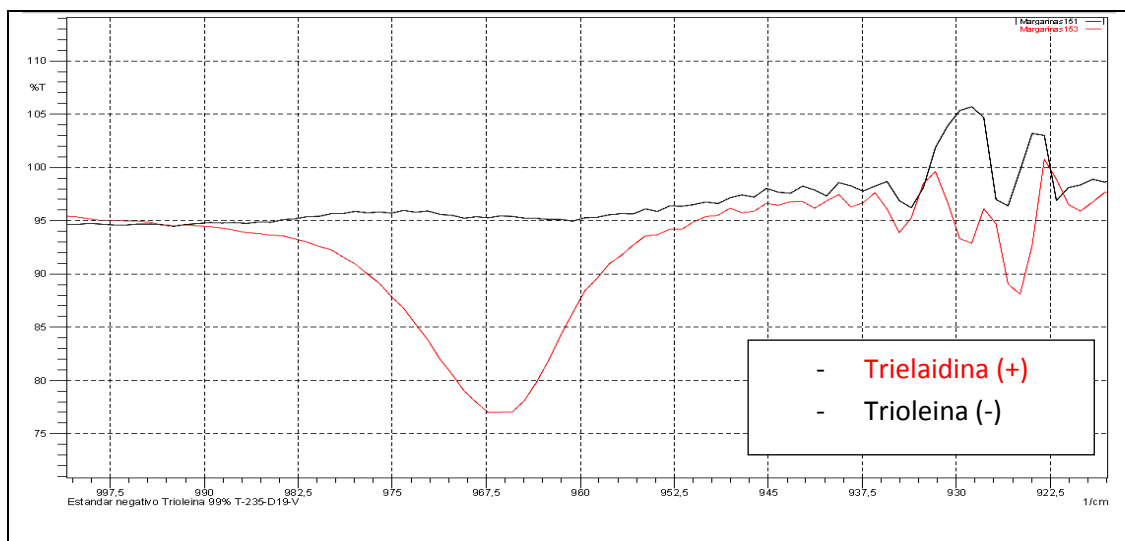


Figura N° 22 Acercamiento del Espectro de comparación de Trioleina y Trielaidina en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$

## 5.6 Determinación de la selectividad del método.<sup>(13)</sup>

La Selectividad se determinó mediante la preparación de mezclas de dos muestras estudiadas las cuales presentaron en el 100% de los análisis a todas sus presentaciones, un resultado positivo y negativo a la presencia de ácidos grasos Trans, dichas mezclas fueron preparadas en proporciones de margarina/manteca en ordenes porcentuales de 90:10, 80:20, 70:30 y 60:40. (la manteca fue analizada previamente para conocer sus propiedades espectrales en la región bajo estudio).

Las marcas elegidas para el estudio fueron:

- La marca Dany presentación barra con un comportamiento positivo a la detección de ácidos grasos trans en el rango cercano de número de onda de  $966\text{cm}^{-1}$ .
- La marca Francessa presentación barra con un comportamiento negativo a la detección de ácidos grasos trans en el rango cercano de número de onda de  $966\text{cm}^{-1}$ .

A continuación se realizó la mezcla en las proporciones propuestas con margarina y manteca en probetas de 10 mL, posteriormente se prosiguió a la obtención de los espectros de cada proporción para llevar a cabo una comparación entre los resultados.

El espectro infrarrojo obtenido de la Manteca (Mezcla de grasas vegetales y animales según su rotulado) se muestra a continuación en la figura N° 23.

Las muestras de margarina mezcladas con manteca se analizaron según la metodología oficial AOAC 2000:10 para cada análisis, las proporciones se prepararon siguiendo el orden margarina en mayor proporción y manteca en menor proporción, primero con una margarina que contiene

grasas trans (Marca Dany) para luego analizar mezclas con margarina que no presento grasas trans (Margarina Fracessa) con este método.

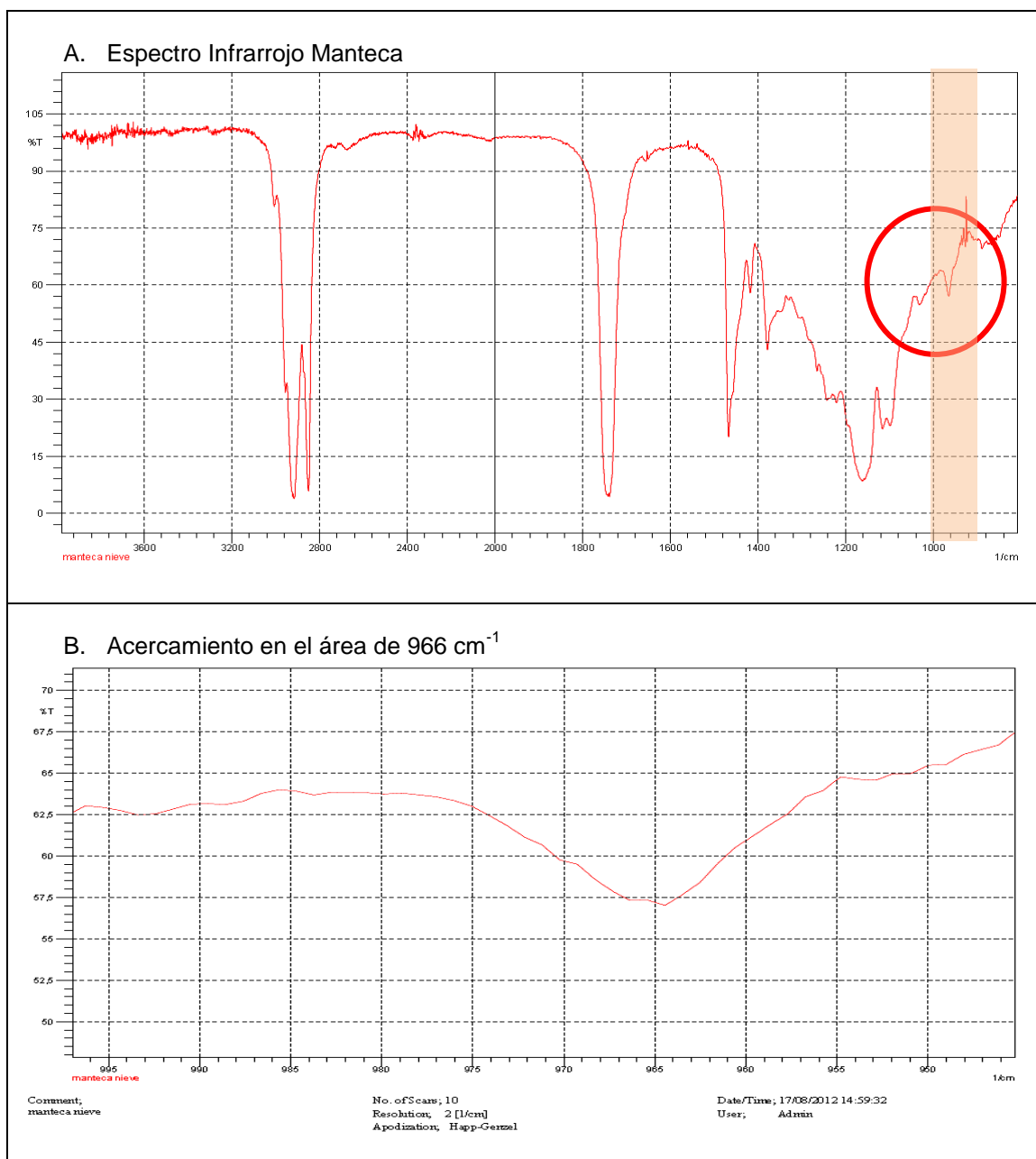


Figura N° 23 Espectro Infrarrojo de la “Manteca Nieve”. (A) Espectro en la región de 4000 cm<sup>-1</sup> a 500 cm<sup>-1</sup>.(B) Acercamiento a 966 cm<sup>-1</sup>.

A. Determinación de la selectividad con muestra con resultado positivo.

El espectro IR de las muestras de margarina Dany sin haberse mezclado con manteca se puede observar en la Figura N° 15.

Los resultados obtenidos de la prueba de selectividad se resumen en la figura N°24, con los espectros IR superpuestos para las cuatro proporciones Margarina/ Manteca: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40.

Para este análisis con la Margarina Dany se verificó una disminución en la intensidad del pico a  $966\text{ cm}^{-1}$  comparado al espectro recabado en un espectro normal obtenido de margarina Dany, ver Figura N°15.

Debido a que la Manteca presenta menor intensidad de pico a  $966\text{ cm}^{-1}$  produce un efecto de dilución ya que a medida se aumenta el porcentaje de Manteca a la margarina el pico representativo de ácidos grasos trans disminuye.

B. Determinación de la selectividad con muestra con resultado negativo.

El espectro IR del comportamiento de las muestras de margarina de la marca Francessa puede verse en la Figura N°14. Esta marca no se detectó ácidos grasos trans en el 100% de las muestras estudiadas en todas sus presentaciones como tal, por lo que se tomó como muestra negativa a la presencia de estas sustancias, luego se adiciono la Manteca en las proporciones Margarina/Manteca: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, utilizando probetas de 10 mL.

El espectro IR de las muestras de margarina Francessa sin haberse mezclado con manteca se puede observar en la Figura N° 14.

Los resultados obtenidos se resumen en la figura N°25 con los espectros IR superpuestos para las cuatro proporciones

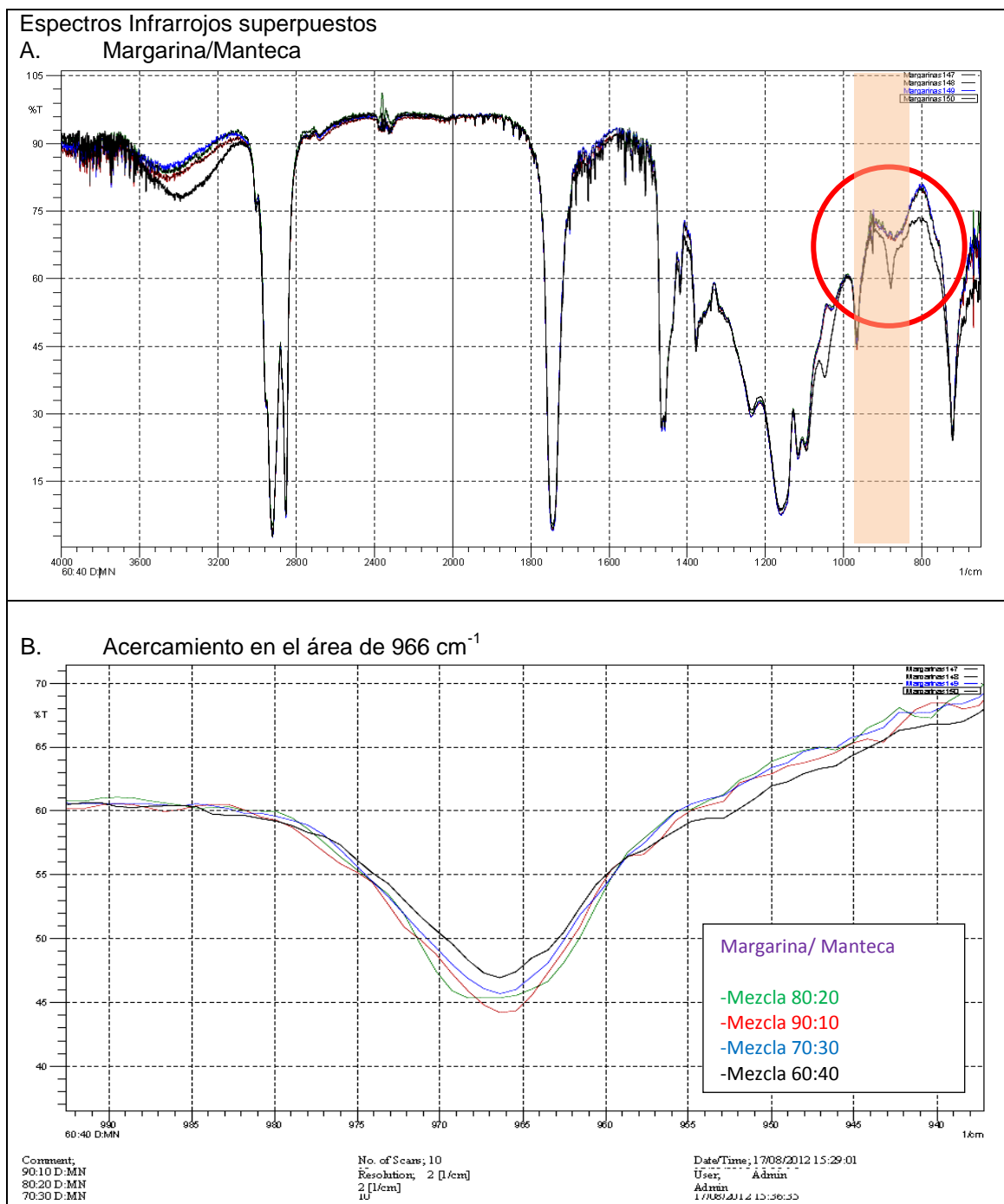


Figura N°24 Análisis de selectividad en muestra con comportamiento positivo a la presencia de ácidos grasos trans. (A) Espectro en la región de  $4000 \text{ cm}^{-1}$  a  $500 \text{ cm}^{-1}$ . (B) Acercamiento a  $966 \text{ cm}^{-1}$ .

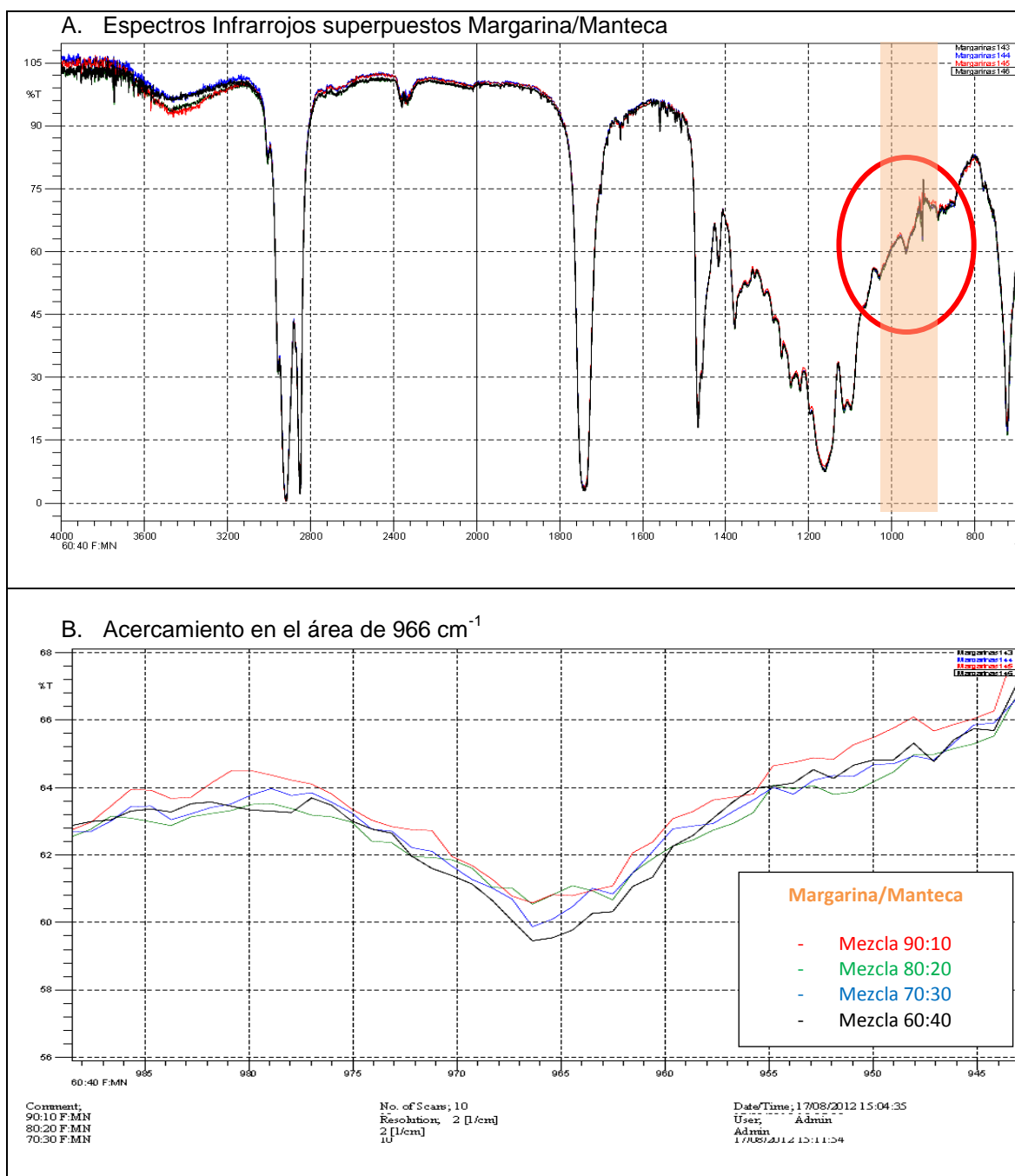


Figura N°25 Análisis de selectividad en muestra con comportamiento negativo a la presencia de ácidos grasos trans. (A) Espectro en la región de 4000 cm<sup>-1</sup> a 500 cm<sup>-1</sup>. (B) Acercamiento a 966 cm<sup>-1</sup>

Al finalizar el análisis para determinar la selectividad del método se observa para el caso de la Margarina Dany, la cual presentó ácidos grasos trans en el 100% de sus presentaciones, que: debido a la adición de Manteca Nieve, la cual también presenta ácidos grasos trans pero en menor intensidad según el espectro IR obtenido (ver figura N° 23), se puede observar que a medida que se aumenta la proporción de manteca, el pico característico disminuye su intensidad porque la manteca posee mucho menor concentración, esto produce un efecto de dilución de los ácidos grasos trans en la margarina.

Para el caso de la margarina Francesa, la cual no presentó ácidos grasos trans dentro del límite de detección del instrumento en el 100% de sus presentaciones analizadas normalmente, como tal habiéndose preparado mezclas con la Manteca Nieve en las proporciones antes mencionadas, la mezcla de margarina Francesa presentó el pico característico de ácidos grasos trans debido a la adición de la Manteca y en los espectros IR obtenidos, se puede observar que a medida se aumenta la proporción de manteca el pico característico a  $966\text{ cm}^{-1}$  aumenta.

Esto comprueba que el método es útil para la identificación de ácidos grasos trans y concuerda con el comportamiento que presentan los estándares analizados que recomienda el método oficial de la AOAC 2000.10.



**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. Los resultados de la guía de observación utilizada en los supermercados del área de Metrocentro de San Salvador y sus alrededores, indica que las marcas de Margarina que presentan más demanda por la población son: Mirasol, Dany, Suly, Francessa, Cremy, Issima, Mazola, en la presentación de barra debido a su menor precio y su disponibilidad en los Supermercados.
2. Al analizar las 7 marcas de Margarina de mayor comercialización en el país, en todas sus presentaciones en los supermercados seleccionados, se determinó que las muestras de las marcas Cremy, Suly y Dany presentaron el pico de absorción característico de ácidos grasos trans en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$  en cada uno de los espectros Infrarrojos obtenidos, lo que indica que el método permite identificar esta sustancia en las muestras con al menos 5% de ácidos grasos trans.
3. Las marcas de margarinas seleccionadas que reportan en el rotulado “libre de grasas trans” no cumple con dicha especificación, puesto que, el método por Espectroscopia infrarroja, de acuerdo con la teoría, no detecta menos de 5% de ácidos grasos trans.
4. la ingesta diaria o frecuente de margarina que presentan ácidos grasos trans puede ser dañina para la salud, y podría ocasionar enfermedades como diabetes, obesidad, daños cardiacos entre otras, etc.
5. Por medio del método de espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier y una celda de reflectancia Total atenuada (ATR) se

identificó la presencia de grasas trans, aplicando el método oficial de la AOAC 2000.10 en margarina, y se confirmó que el método es efectivo para el análisis cualitativo de ácidos grasos trans.

6. En el análisis de selectividad aplicando el método AOAC 2000:10 a mezclas de margarina que eran detectables y no detectables a la presencia de grasas trans en su totalidad, en la Manteca Nieve, dió como resultado que a la mezcla de la margarina que no presentaba grasas trans, es decir la marca Francessa, al adicionarle manteca nieve, evidencio el pico característico de grasas trans a  $966\text{ cm}^{-1}$ , y en la que presentaba grasas trans, es decir la marca Dany, se observó una disminución de intensidad del pico por un efecto de dilución de los ácidos grasos trans. Esto permite concluir que el método es útil para la identificación de ácidos grasos trans en esta matriz.
7. El método 2000:10 descrito por la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC) como es la de Espectrofotometría Infrarroja de transformada de Fourier, puede adecuarse a las condiciones del Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador para el análisis de ácidos grasos Trans en la matriz utilizada, Margarina.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

1. A la Industria de Alimentos que realice el análisis de Ácidos Grasos Trans en Margarinas y productos relacionados, el cual en su elaboración utiliza aceites y grasas, llevando a cabo control de calidad al producto terminado, así como las materias primas. Que permita adoptar el uso de aceites y grasas más saludables para garantizar la calidad de los alimentos.
2. A la población en general que disminuya el consumo de productos (margarinas) en la elaboración de alimentos y en su lugar utilizar grasas insaturadas o ácidos grasos poliinsaturados de la familia omega-3 y omega- 6, presentes en la mayoría de aceites de origen vegetal, como por ejemplo: maíz, canola y oliva, los cuales son más saludables, y proveen un efecto protector cardiovascular.
3. A las Autoridades de Salud Pública, realizar más estudios sobre Ácidos Grasos Trans en otros alimentos que se vendan en diferentes establecimientos los cuales contengan grasas y que son de consumo frecuente por parte de la población.
4. Que las autoridades correspondientes en el área de Salud en coordinación con el sector privado desarrollen programas de educación a la población, así como la correcta forma de leer etiquetas y su aplicación.
5. A las entidades encargadas de la vigilancia y registro de productos alimenticios, investigar las margarinas y otros productos que en su etiquetado nutricional reportan “cero % grasas trans”, aplicando el

método de Cromatografía de Gases, el cual es más sensible que el método por espectrofotometría infrarroja.

6. A las autoridades de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, realizar las gestiones necesarias para la obtención de estándares, materiales, reactivos y equipo de Cromatografía de Gases
  
7. Implementar el método propuesto en la oferta de servicio al Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador para la identificación de Ácidos Grasos Trans y dar seguimiento al análisis para llevar a cabo la validación del método.

## BIBLIOGRAFIA

1. Aceman, C. N. Dietary Reference Intakes Tables and Application. Institute of Medicine of National Academies. Advising the Nation. Improving Health, 2012. [Consultado 25 abril 2012].  
<<http://www.iom.edu/Activities/Nutrition/SummaryDRIs/DRI-Tables.aspx>>
2. CONACYT. (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). Guía de Validación de Métodos de Análisis Físicoquímicos. CONACYT, 2010.
3. Corporación Shimadzu. Manual de instrucciones, Guía de usuario IR-Affinity-1, Kyoto, Japón. Julio-2008.
4. Flores Torres, V. H. "Ácidos Grasos Trans", (base de datos en Internet) Universidad Peruana Cayetano Heredia. [Consultado el 17 de Abril 2012]. Disponible En:  
<http://www.slideshare.net/vflorestorres/cidos-grasos-trans>.
5. Kerschner, V. L. "Nutrición y Terapéutica Dietética". Editorial El Manual Moderno S.A. de C. V. México, D.F.
6. Nielsen, S. S. Food Analysis, Purdue University West Lafayette, (Fourth Edition) IN, USA: Springer Science Business Media; 2010.
7. Omaye, S. T. Director "Food and Nutritional Toxicology". CRC Press 2004.
8. OPS. (Organización Panamericana de la Salud). Aceites saludables y la eliminación de ácidos grasos trans de origen industrial en las Américas:

iniciativa para la prevención de enfermedades crónicas Washington, D.C.  
OPS, 2008

9. OPS. (Organización Panamericana de la Salud). Normas Sanitarias de Alimentos. Aprobada por el Consejo de Ministros de la Salud Pública de C.A. y Panamá 1964-1967. Serie No. 1
10. Skoog, H. N. Principios de Análisis Instrumental. 5ta Edición. España: McGraw-Hill; 2001.
11. The new England Journey. [Consultado 10 abril 2012]. Disponible en:  
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra054035?siteid=nejm&keytype=ref&ijkey=%2FUlbtKh3itKkQ&>
12. Trujillo Cerna, A. M. "Estudio de las Grasas y Aceites Utilizados en la Industria Alimenticia en El Salvador y sus Isómeros de Ácidos Grasos Cis y Trans". (Tesis) Universidad Centro Americana "José Simeón Cañas" Antiguo Cuscatlán, El Salvador, C.A., Mayo 2009.
13. Wood R., Nilsson. A., Wallin. H., Quality in the Food Analysis Laboratory. Series Editor P.S. Belton, 1998.
14. [www.ual.es/docencia/jfernand/ATA/Tema4/Tema4-Estructura y Función Lipidos.pdf](http://www.ual.es/docencia/jfernand/ATA/Tema4/Tema4-Estructura y Función Lipidos.pdf). FUNCION Y ESTRUCTURA DE LIPIDOS. [Consultado: 15 de Abril 2012].



## GLOSARIO

- ACIDO GRASO CIS: es un ácido graso insaturado que posee los grupos semejantes o idénticos (generalmente grupos –H) en el mismo lado de un doble enlace. Los ácidos grasos cis son isómeros de los ácidos grasos trans, en los que los –H se disponen uno a cada lado del doble enlace.<sup>(1)</sup>
- ACIDO GRASO TRANS: son un tipo de ácido graso insaturado que se encuentra principalmente en alimentos industrializados que han sido sometidos a hidrogenación o al horneado.<sup>(7)(4)</sup>
- ANALISIS CUALITATIVO: Se basa en una identificación y en la verificación de las cualidades del analito o de sus componentes, evita a cuantificación, busca información sobre la identidad o forma de la sustancia.<sup>(8)</sup>
- COMPUESTO ORGANICO: es una sustancia química que contienen carbono, formando enlaces carbono-carbono y carbono-hidrogeno. En muchos casos contiene oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, boro, halógeno y otros elementos menos frecuentes en su estado natural.<sup>(8)</sup>
- CROMATOGRAFIA DE GASES: es un método físico o de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia y la física. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.<sup>(8)</sup>
- ESPECTRO ELECTROMAGNETICO: a la distribución energética del conjunto de las ondas electromagnéticas. Referido a un objeto se denomina espectro electromagnético o simplemente espectro a la radiación electromagnética, que emite (espectro de emisión) o absorbe

(espectro de absorción) una sustancia. Dicha radiación sirve para identificar la sustancia de manera análoga a una huella dactilar.<sup>(8)(1)</sup>

- GRASAS: En bioquímica, grasa son sustancias apolares que las hacen insolubles en agua que se debe a que tienen muchos átomos de carbono e hidrogeno unidos de modo covalente puro y por lo tanto no forman dipolos que interactúen con el agua.<sup>(10)</sup>
- GRUPO FUNCIONAL: es un conjunto de estructuras submoleculares, caracterizadas por una conectividad y composición elemental específica que confiere reactividad química específica a la molécula que los contiene. Estas estructuras remplazan a los átomos de hidrogeno perdidos por las cadenas hidrocarbonadas saturadas. <sup>(8)</sup>
- HUELLA DACTILAR: En un espectro es la impresión visible o moldeada que identifica cada compuesto ya que es propio de cada uno.<sup>(8)</sup>
- ISOMERO: son compuestos que tienen la misma formula molecular pero diferente formula estructural y por tanto diferentes propiedades.<sup>(8)(1)</sup>
- LIPIDO: Los lípidos son un conjunto de moléculas orgánicas, la mayoría son biomoléculas, compuestas principalmente por carbono e hidrogeno y en menor medida oxigeno, aunque también pueden contener fosforo, azufre y nitrógeno, tienen como característica principal el ser hidrofobias o insolubles en agua y sí en solventes orgánicos como la bencina, el benceno y el cloroformo.<sup>(10)</sup>
- LIPOPROTEINA: Son complejos macromoleculares compuestos por proteínas y lípidos que transportan masivamente las grasas por todo el organismo. Son esféricas, hidrosolubles, formados por un núcleo de lípidos apolares (colesterol esterificado y triglicéridos) cubiertos con una capa externa polar de 2 nm formada por apoproteinas, fosfolípidos y colesterol libre.<sup>(10)</sup>

- LONGITUD DE ONDA: Describe cuan larga es la onda. La distancia existente entre dos crestas o valles consecutivos. Las ondas de la radiación electromagnética, las ondas del agua tienen longitudes de onda.<sup>(8)</sup>
- MATERIAL ESTANDAR DE REFERENCIA (PATRÓN PRIMARIO): Material emitido por la Oficina Nacional de Normas de Estados Unidos (U.S National Bureau of Standars) cuyo nombre fue cambiado recientemente a Instituto Nacional para Normas y Tecnología. <sup>(13)</sup>
- METODO ANALITICO: Adaptación específica de una técnica analítica para un propósito de medición seleccionado.<sup>(13)</sup>
- PARAMETRO DE DESEMPEÑO ANALITICO: Características de validación que necesitan ser evaluadas y que típicamente corresponden a la siguiente lista: exactitud, precisión, especificidad, límite de detección, límite de Cuantificación, linealidad, intervalo de linealidad y robustez. <sup>(13)</sup>
- PICO DE ABSORCION: Para una radiación X o gamma, es el pico de la curva representativa del espectro correspondiente a la absorción total de la energía o de los fotones en un material detector. Este pico difiere del pico fotoeléctrico en cuenta la absorción total al efecto producción de pares.<sup>(8)</sup>
- SELECTIVIDAD: Describe la habilidad de un procedimiento analítico para diferenciar entre varias sustancias en la muestra y es aplicable a métodos en los que dos o más componentes son separados y cuantificados en una matriz compleja. <sup>(13)</sup>
- SOBRETONO: es un componente senosoidal de la forma de una onda, de mayor frecuencia que su frecuencia fundamental. Generalmente el primer sobretono es el segundo armónico, el segundo sobretono el tercer armónico, etcétera.<sup>(8)</sup>

- VIDA UTIL: es la duración estimada que un objeto puede tener cumpliendo correctamente con la función para la cual ha sido creado. Normalmente se calcula en horas de duración.(8)

**ANEXOS**

## **ANEXO N° 1**

Método oficial de análisis infrarrojo de grasas según AOAC y traducción al idioma español.

AOAC Official Method 2000.10

Determination of Total Isolated *Trans* Unsaturated Fatty Acids in Fats and Oils by ATR-FTIR.

(This method is applicable to natural or processed oils and fats consisting of long-chain fatty acids, esters and triglycerides with *trans* levels  $\leq 5.0\%$ .)

Table 2000.10 Interlaboratory Study results for Total Isolated *trans* Content by ATR-FTIR

ID	True Value	$\bar{x}$ , %	# Labs <sup>a(b)</sup>	S <sub>r</sub>	% RSD <sub>r</sub>	S <sub>R</sub>	% RSD <sub>R</sub>	% Rec
		0.8	11(1)	0.1	7.5	0.2	21.1	103
		1.0	12(0)	0.1	10.5	0.3	29.3	97
		5.1	12(0)	0.1	2.3	0.2	3.1	102
		10.3	12(0)	0.4	3.6	0.5	5.1	103
		15.6	12(0)	0.3	2.2	0.5	3.3	103
		20.6	11(1)	0.9	4.5	1.0	5.0	103
		40.1	12(0)	1.4	3.5	1.4	3.5	100

a(b) a= number of labs retained after eliminating outliers, (b)= number of labs removed as outliers

A. Principle

In most naturally occurring vegetable fats and oils, unsaturated constituents contain only isolated double bonds in the *cis* configuration. These *cis* double bonds may be isomerized to the *trans* configuration during extraction and processing procedures, due to oxidation, conversion during heating, and/or partial hydrogenation. Animal and marine fats may contain measurable amounts of naturally occurring *trans* fatty acid geometric isomers. Isolated *trans* double bonds in long-chain fatty acids, fatty acid methyl esters (FAME), soaps and triacylglycerols may be measured by infrared (IR) spectroscopy. A unique absorption band with a maximum at ca 966  $\text{cm}^{-1}$  (10.3  $\mu\text{m}$ ), arising from a C-H deformation vibration about a *trans* double bond, is exhibited in the spectra of all compounds containing an isolated *trans* group; this band is not observed in the spectra of the corresponding saturated and *cis* unsaturated fatty acids. Measurement of the intensity of this absorption band under analytically controlled conditions is the basis for a quantitative method for the determination of total isolated *trans* fatty acids. Fat and oil test samples are not required to be converted to FAME prior to analysis.

This method is not applicable to fats and oils containing ca  $> 1\%$  of conjugated unsaturation (e.g., tung oil), materials containing functional groups which modify the intensity of the C-H deformation vibration about the *trans* double bond (e.g., castor oil which contains hydroxy fatty acids), or, in general, to any materials containing constituents which have functional groups that give rise to specific absorption bands at, or sufficiently close to interfere with, the 966  $\text{cm}^{-1}$  (10.3  $\mu\text{m}$ ) band of the C-H deformation vibration of the isolated *trans* double bond.

B. Apparatus

(a) *Fourier transform infrared (FTIR) spectrometer.*-- Capable of making measurements at  $4\text{ cm}^{-1}$  resolution in the spectral range covering  $1050\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ . The instrument data handling system to allow conversion of the spectra to absorbance, scale expansion of the x and y axes, readout of wavenumbers to the nearest  $1\text{ cm}^{-1}$  and absorbance to the nearest 0.0001 amu, and integration of the area under the absorption band at  $966\text{ cm}^{-1}$ . FTIR spectrometer equipped with a deuterated triglycine sulfate (DTGS) detector for greatest linearity. In the absence of test samples, a 1-min data collection at  $4\text{ cm}^{-1}$  resolution must yield, between  $1050\text{ - }900\text{ cm}^{-1}$ , a peak-to-peak noise level of  $\leq 0.0005$  amu. The  $966\text{ cm}^{-1}$  band for a 1% trielaidin standard, must yield a signal-to-noise ratio  $> 10:1$ .

(b) *Attenuated total reflection (ATR) infrared cell.*-- Equipped with a zinc selenide (or equivalent) crystal. The capacity of the horizontal ATR cell is ca  $50\text{ }\mu\text{L}$  and is capable of maintaining a constant temperature of  $65 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ .

(c) *Analytical balance.*-- With  $60\text{ g}$  capacity; capable of weighing  $0.3\text{ g} \pm 0.0001\text{ g}$ .

(d) *Disposable plastic pipets.*-- Capable of transferring  $50\text{ }\mu\text{L}$  test samples to ATR cell.

(e) *Steam water bath.*-- For melting fats.

### C. Reagents

(a) *Primary standards.*-- Trielaidin (TE) and triolein (TO) with purity  $>99\%$  (available from Nu Check Prep, Inc., P.O. Box 295, Elysian, MN 56028 USA).

### D. Preparation of Standards

*Trans Calibration Standards.* Weigh, to the nearest  $0.0001\text{ g}$ ,  $(0.3-x)\text{ g}$  of TO, and  $x\text{ g}$  of TE, into a  $10\text{ mL}$  beaker, where  $x$  equals  $0.0015, 0.0030, 0.0150, 0.0300, 0.0600, 0.0900, 0.1200$  and  $0.1500\text{ g}$ , in order to prepare  $0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 40,$  and  $50\%$  *trans* calibration standards, respectively.

### E. Calibration

For each *trans* standard, calculate the exact % *trans* expressed as the amount of TE as percent of total fat. Analyze each standard and determine the integrated area under the absorption band at  $966\text{ cm}^{-1}$  as described in G and H.



Using a first-order regression analysis, determine the slope and intercept of the line which best fits the plot of the area of the *trans* band for all the *trans* standards (y axis) as a function of % *trans* (x axis). Once a calibration curve has been established, it must be checked periodically to insure that it has not shifted.

#### F. Preparation of Test Samples

Solid fats must be gently melted and mixed. Test samples that appear cloudy due to the presence of water should be treated with anhydrous sodium sulfate until clear and filtered before removing the test portion for analysis.

#### G. Infrared Determination

Set up the FTIR operating parameters according to the manufacturer's recommendations for using an ATR cell with the following parameters: 1050-900  $\text{cm}^{-1}$  range, 64-scan (or appropriate number of scans needed to meet peak-to-peak noise level and SNR requirements given in B), 4  $\text{cm}^{-1}$  resolution, and triangular apodization functions (the most common weighting functions in FTIRs that suppress the magnitude of side lobes of interferograms). Conditions employed must be identical for test samples and calibration standards. The performance of FTIRs must be evaluated for wavenumber accuracy and noise level to insure that they are operating within the manufacturer's established specifications. For solid fats maintain ATR cell at  $65 \pm 2$  °C.

Materials for measuring the reference background single beam spectrum are (a) TO for calibration standards, (b) the unfortified material for *trans*-fortified test samples, and (c) an appropriate *trans*-free material such as the refined bleached source oil for test samples.

Using a disposable pipet, transfer (without weighing) ca 50  $\mu\text{L}$  of the neat (undiluted in any solvent) reference background material. Place the reference background material on the horizontal (face-up) ZnSe sampling surface of the ATR cell. The test portion must *completely* cover the horizontal surface of the crystal. Collect and save the single-beam spectrum to be used as background. Clean the crystal by wiping off the test portion with a disposable soft lint-free or low-lint tissue paper. In general, to minimize contamination, apply part of the next test portion then wipe it off the crystal before re-applying the ca 50  $\mu\text{L}$  test portion for analysis.

Place ca 50  $\mu\text{L}$  (without weighing) of the neat test portion on the horizontal ZnSe crystal. It must *completely* cover the surface of the crystal. Collect and save the single-beam spectrum of the test portion.

Ratio the test sample single-beam spectrum against that of the reference background, and convert to absorbance. Save the absorption spectrum. Repeat for other test samples.

#### H. Calculations

With the absorbance spectrum wavenumber scale expanded in the region from 1050 - 900  $\text{cm}^{-1}$ , integrate (electronically) the area under the 966  $\text{cm}^{-1}$  band between the limits 990 - 945  $\text{cm}^{-1}$ . Calculate the linear regression equation for Area vs. % *trans* plot of the *trans* calibration standards.

Using the slope and intercept generated for *trans* standards, calculate the % *trans* for test samples, by substituting the value of the integrated area of the *trans* band in the following equation:

$$\text{trans fat as TE, \%} = \frac{[\text{Area} - \text{Intercept}]}{\text{Slope}}$$

Report results to the nearest 0.1%.

## TRADUCCION AL IDIOMA ESPAÑOL

Determinación del total de ácidos grasos insaturados aislados en grasas y aceites por medio de ATR-FTIR.

(Este método es aplicable a aceites y grasas naturales o procesadas que contienen una cadena larga de ácidos grasos, ésteres y triglicéridos con  $\pm .0\%$  niveles *trans*)

### PRINCIPIO

En la mayoría de grasas y aceites vegetales de origen natural, los componentes insaturados contienen solamente dobles enlaces aislados de configuración *cis*. Estos enlaces dobles *cis* se pueden isomerizar a configuración *trans* durante su procesamiento y extracción, por oxidación, mientras su calentamiento y proceso de hidrogenación parcial. Las grasas animales y marinas pueden contener

cantidades medibles de isómeros geométricos de ácidos grasos trans de origen natural. Los enlaces dobles trans aislados en los ácidos grasos de cadena larga, los ésteres metílicos de ácidos grasos, los jabones y triacilglicerolos se pueden medir por espectroscopia infrarroja (IR). Una banda de absorción única con un máximo en la región de  $966\text{ cm}^{-1}$  ( $\mu\text{m } 10.3$ ), que se presenta por una vibración de la deformación de un enlace doble C-H trans, se exhibe en los espectro de todos los compuestos que contienen un grupo trans aislado. Esta banda no se observa en los espectros de los correspondientes a los ácidos grasos saturados e insaturado cis. La medida de la intensidad de esta banda de absorción bajo condiciones analíticamente controladas es la base para un método cuantitativo para la determinación de ácidos grasos trans totales. No se requiere que las muestras de ensayo, grasas y aceites se conviertan a ésteres metílicos de ácidos grasos antes del análisis.

Este método es aplicable para grasas y aceites que contengan  $> 1\%$  de la insaturación conjugada, materiales que contenga grupos funcionales que modifiquen la intensidad de la vibración de la deformación C-H de la doble banda trans, o en general a cualquier material que contenga constituyentes cuyos grupos funcionales que generan una banda de absorción específica, o que este suficientemente cerca de interferir con la banda de vibración de absorción C-H de la doble banda trans aislada  $966\text{ cm}^{-1}$ .

## APARATO

- a. Espectrómetro infrarrojo de Transformada de Fourier (FTIR): Capaz de hacer mediciones a una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  en la región del espectro cubriendo  $1050\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ . El sistema de manipulación de datos tiene un instrumento que permite la conversión del espectro a absorbancia, la expansión de escala del eje de las x, y, la lectura del número de onda cerca a  $1\text{ cm}^{-1}$  y absorbancia cerca de  $0.0001\text{mu}$  e integración del área bajo la banda de absorción a  $966\text{ cm}^{-1}$ . El espectrómetro FTIR equipado

con un detector de sulfato de triglicinadeuterado (DTGS) de una excelente linealidad. En la ausencia de muestras de ensayo, una recolección de datos de 1 min a una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  debe ceder, entre  $1050\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ , un nivel de ruido pico a pico de número 0.0005 amu. La banda de  $966\text{ cm}^{-1}$  para el estándar de Trielaidina 1%, debe ceder una señal de ruido  $> 10:1$ .

- b. Celda infrarroja de Reflectancia Total Atenuada (ATR): Equipada con un cristal de Selenio de Zinc. La capacidad de la celda ATR horizontal es  $50\mu\text{L}$  y es capaz de mantener una temperatura constante de  $65 \pm 2^\circ\text{C}$ .
- c. Balanza Analítica: Con capacidad de 60 g, capaz de medir  $0.3\text{ g} \pm 0.0001\text{g}$ .
- d. Pipetas de plástico descartables: Capaces de transferir  $50\text{ }\mu\text{l}$  de la muestra del ensayo a la celda ATR.
- e. Baño de vapor: Para derretir las grasas.

## REACTIVOS

Estándares primarios: Trielaidina (TE) y Trioleina (TO) de pureza > 99.0%

## PREPARACION DE ESTANDARES

Pesar cerca del 0.0001 g (0.3-x)g de Trioleina, y x g de Trielaidina, en un beaker de 10 mL, en donde x es igual a 0.0015, 0.0030, 0.0150, 0.0300, 0.600, 0.0900, 0.1200 y 0.1500g, para preparar 0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 40 y 50% estándares de calibración trans respectivamente.

## CALIBRACION

Para cada estándar trans, calcular el porcentaje exacto trans expresado como la cantidad de TE como porcentaje de grasas totales. Analizar cada estándar y determinar el área integrada bajo la banda de absorción a  $966\text{ cm}^{-1}$ .

Usando un análisis de regresión de primer orden, determinar la pendiente y el intercepto de la línea que mejor encaje en el área de las bandas trans de todos los estándares trans (eje de las y) en función de porcentaje trans (eje de las x). Una vez se halla establecido la curva de calibración debe ser revisada periódicamente para asegurar que no halla sido desplazada.

## PREPARACION DE LA MUESTRA

Las grasas solidas deben derretirse y mezclarse correctamente. Si existe alguna muestra que aparezca nublada debido a la presencia de agua se deben tratar con sulfato de sodio anhidro, hasta que las veamos claras, filtrar el contenido antes de remover la porción que se ocupara para el análisis.

## DETERMINACION INFRARROJA

Establecer los parámetros de operaciones de FTIR, de acuerdo a lo que recomienda el fabricante, para hacer uso de una celda ATR, con los siguientes parámetros: rango de  $1050 - 900\text{ cm}^{-1}$ , 64 determinaciones (a un número

apropiado de determinaciones que sean necesarias para satisfacer los niveles de ruido pico a pico), resolución de  $4\text{cm}^{-1}$  y funciones de apodización triangulares (las funciones de ponderación más comunes en FTIR que inhiben la magnitud de los lóbulos laterales de interferogramas). Deben utilizarse las mismas condiciones para las muestras del ensayo y para la calibración de los estándares. El rendimiento de FTIR debe ser evaluado para una longitud de onda exacta y nivel de ruido para asegurar que están operando dentro de las especificaciones que establece el fabricante. Para grasas sólidas debe mantenerse la celda ATR a temperatura de  $62 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Los materiales para medir el fondo del espectro del haz de referencia son:

- a. Trioleína para calibración,
- b. Material sin fortificar para muestras de ensayo trans-fortificadas,
- c. Un material apropiado libre de grasas trans, tales como el aceite refinado que es una fuente blanqueada.

Usando una pipeta desechable, transferir  $50\mu\text{L}$  de material base de referencia ordenado. Poner el material de base de referencia en la celda ATR de Zn Se horizontal. La porción del ensayo debe cubrir completamente la superficie horizontal del cristal.

Recolectar y guardar todos los espectros de un solo haz para ser usados como base. Limpiar el cristal sacando la porción del ensayo con un papel suave de seda desechable. En general para minimizar la contaminación, aplicar parte de la próxima muestra y volver a limpiar el cristal antes de volver a agregar  $50\mu\text{L}$  de la porción de la muestra para el análisis.

Colocar alrededor de  $50\mu\text{L}$  de la porción de ensayo ordenada en el cristal horizontal de ZnSe. Debe cubrir completamente la superficie del cristal.

Recolectar y guardar todos los espectros de un solo haz. Relacionar el espectro de un solo haz de la muestra de ensayo contra el espectro base de referencia y

convertir a absorbancia. Guardar el espectro de absorción. Repetir con las otras muestras.

#### CALCULOS

Con la escala de longitud de onda del espectro de absorbancia, que se expande desde 1050 – 900  $\text{cm}^{-1}$ , integrar el área bajo la banda 966  $\text{cm}^{-1}$  entre los límites de 900 – 945  $\text{cm}^{-1}$ . Calcular la ecuación de la regresión lineal para área vs % de área de la calibración de los estándares trans. Usando la pendiente y el intercepto generado por los estándares trans, calcular el porcentaje de % trans de las muestras de ensayo, sustituyendo el valor del área integrada de las bandas trans en la siguiente ecuación:

$$\text{Grasas trans como TE, \%} = \frac{[\text{Area} - \text{Intercepto}]}{\text{Pendiente}}$$

Reportar los resultados lo más cercano a 0.1%.

## **ANEXO N° 2**

PROCEDIMIENTO EN EL EQUIPO DE ESPECTROFOTOMETRIA  
INFRARROJO  
IR- SHIMADZU AFFINITY



## PROCEDIMIENTO

### Parte I: Análisis de Muestras de Margarina y determinación de especificidad

Encender el espectrofotómetro IR y la computadora

Inicializar el programa IR-Solution

- Conectar el computador por medio del programa con el espectrofotómetro IR utilizando el comando "**Measure**", comando "**Admin**", Inicializar. Dejar un tiempo de equilibrio de 15 minutos.
- Permitir que el programa registre las condiciones del equipo y que reconozca automáticamente el accesorio ATR.
- Dejar correr un barrido de las condiciones iniciales del equipo con la unidad ATR armada sin muestra como sigue: utilizar el comando "**Measure**", y presionar "**BKG**" para obtener el espectro blanco (Background).
- Tomar una cantidad de la muestra desde su empaque primario con una espátula y colocar en un tubo de boca ancha de 50 mL.
- Tratar la muestra de la siguiente manera: Colocar el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra en un baño de maría Precitherm y controlar con un termómetro que la temperatura se encuentre a  $62^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , hasta la fundición y separación de las fases.
- Tomar una pequeña cantidad de muestra fundida con una pipeta o un gotero.
- Colocar la muestra distribuida uniformemente en el cristal de la celda y acoplarla en la unidad ATR del equipo Infrarrojo Shimadzu IR-Affinity.
- Analizar la muestra presionando el comando el comando "**Measure**", coleccionar la información de la muestra en el espacio "**coment**" y presionar en "**Sample**" para obtener el espectro correspondiente para identificar la muestra de los  $4000$  a los  $500\text{ cm}^{-1}$ .

- Limpiar la celda con un pañuelo suave y luego con un algodón impregnado de alcohol.
- Comparar los espectros obtenidos con el patrón positivo y negativo recabado.
- Observar si existe la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero Trans que aparece cercano a los  $966\text{ cm}^{-1}$ .

**Parte 2: Obtención de espectros de estándares.** Proceder de forma similar que III. PROCEDIMIENTO, parte 1, literales A., B. y C.

- Limpiar el material de ventana de la celda de Bromuro de potasio con algodón impregnado con acetona grado ACS.
- Armar la celda sin estándar
- Colocar la celda en el compartimiento para celdas espectrofotómetro IR y obtener el espectro de blanco (Background).
- Sacar la celda, desarmarla y volver a limpiar la celda de la misma forma que en el literal B. de la Parte 2
- Quebrar con cuidado, las ampollas que contienen los estándares y extraer con una jeringa de tuberculina un equivalente a media gota.
- Colocar la cantidad medida del Estándar en una cara de la ventana limpia y seca para luego colocar la otra ventana sobre la anterior, permitiendo que el estándar se distribuya uniformemente y sin burbujas.
- Armar con cuidado la celda
- Colocar la celda en el Espectrofotómetro IR y obtener el espectro Infrarrojo del estándar desde los  $4000$  a los  $400\text{ cm}^{-1}$ .
- Sacar la celda y Volver a limpiar la celda de la misma manera que en el literal B. de la Parte 2 y proceder con el siguiente estándar según los pasos F. a I.
- Al finalizar dejar las ventanas de celda limpia y seca en desecador.

## PROCEDIMIENTO DE SELECTIVIDAD

- A. Encender el espectrofotómetro IR y el computador
- B. Inicializar el programa IR-Solution
- C. Conectar el computador por medio del programa con el espectrofotómetro IR utilizando el comando "**Measure**", comando "**Admin**", Inicializar. Dejar un tiempo de equilibrio de 15 minutos.
- D. Permitir que el programa registre las condiciones del equipo y que reconozca automáticamente el accesorio ATR.
- E. Dejar correr un barrido de las condiciones iniciales del equipo con la unidad ATR armada sin muestra como sigue: utilizar el comando "**Measure**", y presionar "**BKG**" para obtener el espectro blanco (Background).
- F. Tomar una pequeña cantidad de las muestras de margarina Dany, Francessa y manteca nieve desde su empaque primario con una espátula y colocar en un tubo de boca ancha de 50 mL.
- G. Tratar la muestra de la siguiente manera: Colocar el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra y un tubo aparte colocar la manteca nieve en un baño de maría Precitherm y controlar con un termómetro que la temperatura se encuentre a  $62^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , hasta la fundición y separación de las fases.
- H. Obtener los espectros por separado de: Margarina Dany, Margarina Francessa y Manteca nieve.
- I. Tomar desde el tubo de ensayo de boca ancha que se encuentra en el baño de María las cantidades de margarina y manteca para mezclar las proporciones margarina/manteca en probetas de 10 mL

- J. Con la probeta colocar una la mezcla distribuida uniformemente en el cristal de la celda y acoplarla en la unidad ATR del equipo Infrarrojo Shimadzu IR-Affinity.
- K. Analizar la muestra presionando el comando el comando “**Measure**”, coleccionar la información de la muestra en el espacio “**coment**” y presionar en “**Sample**” para obtener el espectro correspondiente para identificar la muestra de los 4000 a los 500  $\text{cm}^{-1}$ .
- L. Limpiar la celda con un pañuelo suave y luego con un algodón impregnado de alcohol.
- M. Comparar los espectros obtenidos con el patrón positivo y negativo recabado.
- N. Observar si existe la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero Trans que aparece cercano a los 966  $\text{cm}^{-1}$ .

### ANEXO N° 3

Guía de observación para elegir las marcas y presentaciones de margarina más comercializadas en supermercados del área de Metrocentro San Salvador y sus alrededores



### GUIA DE OBSERVACION

**OBJETIVO:** Conocer cuales son las marcas y presentaciones de margarina que mas demanda tienen en el supermercado.

Nombre del Supermercado: \_\_\_\_\_

Ubicación: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Marcas de margarinas con más demanda:

---

---

---

---

Presentaciones de Margarina con más demanda:

---

### ANEXO N° 4

Mapa de ubicación del Universo: supermercados en el área de Metrocentro San Salvador para la recolección de muestras.

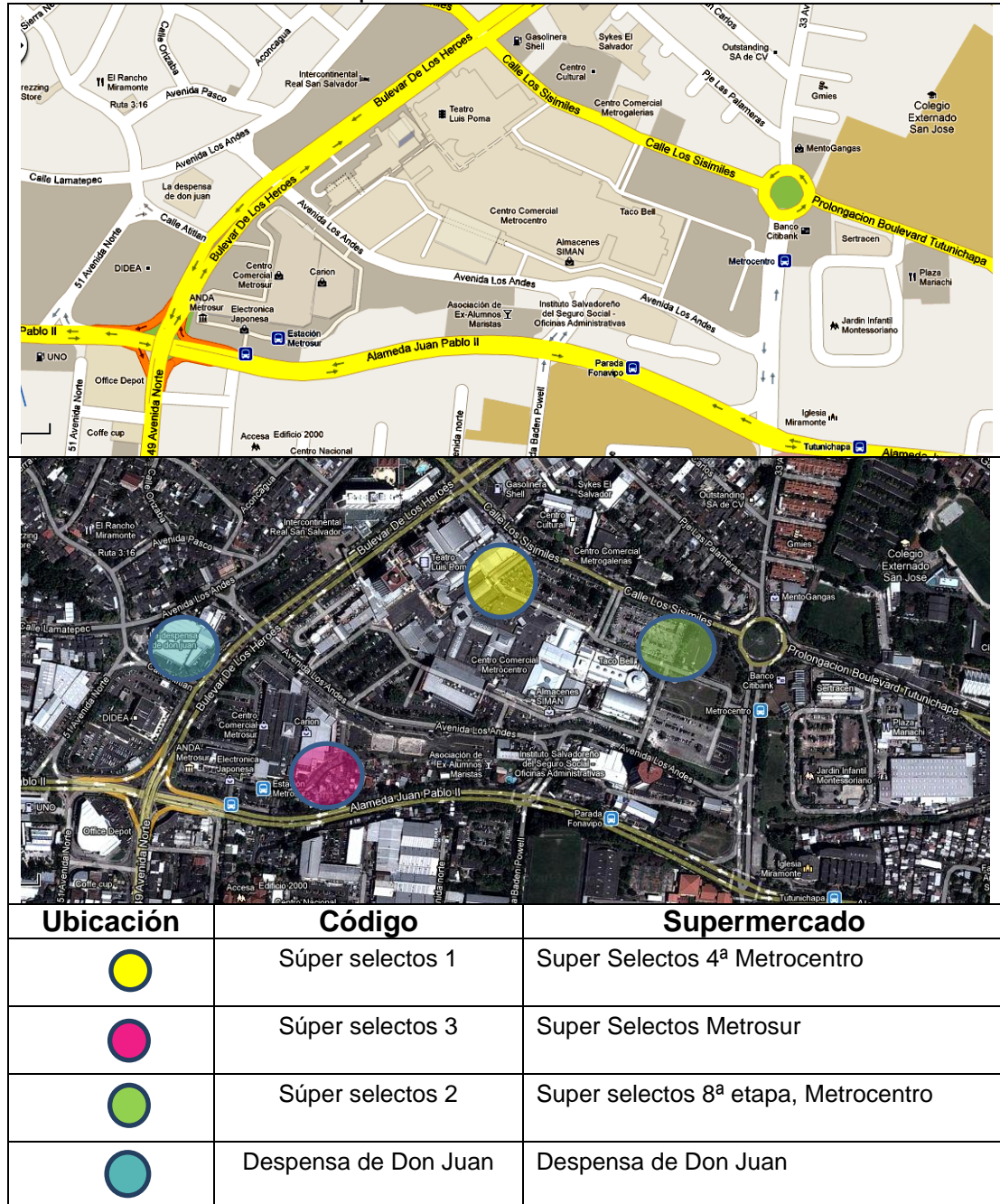


Figura N° 23 Mapa de ubicación del área delimitada, Metrocentro San Salvador y sus alrededores.

## ANEXO N° 5

### Cuadro de parámetros para métodos Normalizados según guía de validación de CONACYT, El Salvador

Cuadro N°1 Alcance de Validación según el tipo de procedimiento de prueba

Parámetros	Métodos Normalizados			
	Identificación	Cuantificación de componentes mayoritarios**	Cuantificación de componentes minoritarios o impurezas en trazas**	Evaluación de características establecidas*
Selectividad/ Especificidad	Sí	+	+	+
Estabilidad analítica de la muestra	+	+	+	+
Linealidad del Sistema	No	Sí	Sí	+
Linealidad del Método	No	+	+	+
Rango	No	+	+	+
Exactitud	No	Sí	Sí	+
Repetibilidad	No	Sí	Sí	Sí
Precisión Intermedia	No	Sí	Sí	Sí
Reproducibilidad	No	++	++	++
Límite de Detección	+	No	No	No
Límite de Cuantificación	No	+	+	+
Robustez	+	+	+	+

+: Puede o no requerirse, dependiendo de la normativa de referencia o la naturaleza del análisis

++: Dependerá de la disponibilidad de laboratorios.

\*: En esta categoría se hace alusión a procesos previos a la cuantificación (ej: disolución, liberación de analitos, etc) el método usado para la cuantificación (cuando aplique) se validará de acuerdo a columnas 2 ó 3.

\*\* : Ver Anexo 3.

**ANEXO N°6**

**RESULTADOS DE LOS 128 ANALISIS EN LAS DIFERENTES MARCAS Y  
PRESENTACIONES DE MARGARINA**



Tabla N°10 Resultados de la Identificación de ácidos grasos Trans en los análisis de margarina

MARCA	LOTE	ESTABLECIMIENTO	FECHA VENCIMIENTO	PROCEDENCIA	RESULTADO
Mirasol	15:17	Súper selectos 1	111112	El Salvador	(-1)
Mirasol	00:58	Súper Selectos 1	301212	El Salvador	(-1)
Mirasol	00:59	Súper Selectos 2	301112	El Salvador	(-1)
Mirasol	12:16	Súper Selectos 1	81212	El Salvador	(-1)
Mirasol	20:49	Súper Selectos 2	141212	El Salvador	(-1)
Mazola	dic-49	Súper Selectos 1	151112	Honduras	(-1)
Mazola	jun-23	Despensa de Don Juan	130213	Honduras	(-1)
Francessa	12:088	Súper Selectos 3	281212	Guatemala	(-1)
Francessa	1.034722222	Despensa de Don Juan	131212	Guatemala	(-1)
Cremy Vit	B128072721	Súper selectos 1	70113	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B166202711	Despensa de Don Juan	140213	Guatemala	(+1)
Suly	A001373467	Despensa de Don Juan	221212	Guatemala	(+1)
Issima	MRT12-01	Súper Selectos 1	141212	Honduras	(-1)
Issima	MRT03-01	Súper Selectos 2	10313	Honduras	(-1)
Dany	B768905435	Súper Selectos 2	21112	Guatemala	(+1)
Mazola	22-712	Súper Selectos 2	190912	Honduras	(-1)
Mazola	may-44	Súper Selectos 2	11212	Honduras	(-1)
Mazola	05:43	Súper Selectos 3	231013	Honduras	(-1)
Mirasol Tarro	01:05	Súper Selectos 3	311112	El Salvador	(-1)
Mirasol Tarro	01:12	Súper Selectos 3	141112	El Salvador	(-1)
Mirasol Tarro	02:54	Súper Selectos 3	81212	El Salvador	(-1)
Mirasol Tarro	11:56	Súper selectos 3	230113	El Salvador	(-1)
Mirasol	14:29	Súper Selectos 3	70913	El Salvador	(-1)
Francessa	1.000694444	Súper Selectos 2	171112	Guatemala	(-1)
Dany	B073065567	Súper Selectos 1	120413	Guatemala	(+1)
Dany	B093077156	Súper Selectos 2	91112	Guatemala	(+1)

Continuación

MARCA	LOTE	ESTABLECIMIENTO	FECHA VENCIMIENTO	PROCEDENCIA	RESULTADO
Mirasol B.	02:32	Despensa de Don Juan	220912	El Salvador	(-1)
Mirasol B.	23:11	Despensa de Don Juan	111112	El Salvador	(-1)
Mirasol B.	13:38	Despensa de Don Juan	151212	El Salvador	(-1)
Mirasol B.	00:37	Despensa de Don Juan	130813	El Salvador	(-1)
Mirasol Tarro	01:24	Súper Selectos 1	170513	El Salvador	(-1)
Suly B.	B123100954	Despensa de Don Juan	111213	Guatemala	(+1)
Suly B.	B160316423	Despensa de Don Juan	100213	Guatemala	(+1)
Francia	18.:0712	Súper Selectos 3	110213	Guatemala	(-1)
Francia	12:040	Súper Selectos 1	150313	Guatemala	(-1)
Issima EG	MRT22-30	Despensa de Don Juan	220912	Honduras	(-1)
Issima EG	MRT02-03	Despensa de Don Juan	160213	Honduras	(-1)
Issima EG	MRT12-01	Despensa de Don Juan	141212	Honduras	(-1)
Issima BARR	MRT02:03	Súper Selectos 1	160613	Honduras	(-1)
Cremy Vit	B122620812	Súper Selectos 2	271213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B047271111	Súper selectos 2	140313	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B166701497	Despensa de Don Juan	260813	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B167637328	Súper Selectos 3	71213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B167046081	Despensa de Don Juan	290913	Guatemala	(+1)
Mazola	04:14	Despensa de Don Juan	310612	Honduras	(-1)
Mazola	03.:69	Despensa de Don Juan	201212	Honduras	(-1)
Francia	20.:87	Despensa de Don Juan	250313	Guatemala	(-1)
Francia	12:08	Despensa de Don Juan	300113	Guatemala	(-1)
Suly	A922889572	Despensa de Don Juan	181112	Guatemala	(+1)
Suly	A796187601	Despensa de Don Juan	71012	Guatemala	(+1)
Mirasol b.	10:39	Despensa de Don Juan	231212	El Salvador	(-1)
Dany	B185307411	Súper selectos 1	80812	Guatemala	(+1)

Continuación

MARCA	LOTE	ESTABLECIMIENTO	FECHA VENCIMIENTO	PROCEDECENCIA	RESULTADO
Issima EG	MRT22-45	Súper Selectos 3	50613	Honduras	(-1)
Issima EG	MRT22-05	Súper Selectos 3	50612	Honduras	(-1)
Cremy Vit	B166272721	Despensa de Don Juan	140213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit	B120489272	Despensa de Don Juan	140213	Guatemala	(+1)
Cremy Vit.	B116203311	Despensa de Don Juan	50813	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B173168980	Súper Selectos 2	80613	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B130262031	Despensa de Don Juan	140613	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B020471758	Despensa de Don Juan	230914	Guatemala	(+1)
Cremy Vit.	B166272781	Despensa de Don Juan	230713	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B178948754	Despensa de Don Juan	231213	Guatemala	(+1)
Mazola	21-73	Despensa de Don Juan	240113	Honduras	(-1)
Mazola	27-13	Despensa de Don Juan	231013	Honduras	(-1)
Mazola	24.-05	Súper selectos 1	80413	Honduras	(-1)
Mazola	01.-13	Súper Selectos 2	300413	Honduras	(-1)
Mazola	21-90	Súper Selectos 2	210313	Honduras	(-1)
Suly	A355226024	Despensa de Don Juan	210812	Guatemala	(+1)
Suly	A354089780	Despensa de Don Juan	200812	Guatemala	(+1)
Suly	A354560123	Despensa de Don Juan	210812	Guatemala	(+1)
Suly	A355256035	Despensa de Don Juan	270812	Guatemala	(+1)
Suly	A35814089	Despensa de Don Juan	80912	Guatemala	(+1)
Issima barra	MRT03-01	Súper Selectos 2	10313	Honduras	(-1)
Dany	06:16	Súper Selectos	100313	Guatemala	(+1)
Mazola	08:14	Súper Selectos 1	151113	Honduras	(-1)
Mazola	09:38	Despensa de Don Juan	100713	Honduras	(-1)
Mazola	04:07	Súper Selectos 2	30313	Honduras	(-1)
Mirasol B.	20:28	Despensa de Don Juan	231112	El Salvador	(-1)

Continuación

MARCA	LOTE	ESTABLECIMIENTO	FECHA VENCIMIENTO	PROCEDENCIA	RESULTADO
Dany	B044107522	Súper Selectos 1	151212	Guatemala	(+1)
Dany	B01127422	Despensa de Don Juan	40213	Guatemala	(+1)
Dany	B041287431	Súper Selectos 2	80113	Guatemala	(+1)
Dany	B067267421	Súper selectos 3	211212	Guatemala	(+1)
Dany	B073067411	Súper Selectos 2	170313	Guatemala	(+1)
Cremy Oli.	B127280123	Súper Selectos 2	70113	Guatemala	(+1)
Cremy Oli.	B080202721	Súper Selectos 3	201112	Guatemala	(+1)
Suly	A133258519	Despensa de Don Juan	191112	Guatemala	(+1)
Mirasol T.	00:48	Súper Selectos 3	10912	El Salvador	(-1)
Dany	B032287512	Súper selectos 2	30213	Guatemala	(+1)
Dany	B073067411	Súper Selectos 2	311112	Guatemala	(+1)
Issima EG	MRT 03:01	Súper Selectos 2	210812	Honduras	(-1)
Issima EG	MRT 03:02	Despensa de Don Juan	10313	Honduras	(-1)
Issima EG	MRT 03:02	Despensa de Don Juan	10313	Honduras	(-1)
Francessa	12:042	Súper Selectos 2	111112	Guatemala	(-1)
Francessa	12:020	Despensa de Don Juan	201012	Guatemala	(-1)
Mazola	09-.27	Súper Selectos 3	180213	Honduras	(-1)
Suly	A876543987	Despensa de don Juan	170513	Guatemala	(+1)
Mirasol Tarro	11:.65	Súper Selectos 2	50113	El Salvador	(-1)
Cremy Vit.	B127280123	Súper Selectos 2	70113	Guatemala	(+1)
Suly	A136341298	Despensa de Don Juan	120313	Guatemala	(+1)
Suly	A109879654	Despensa de don Juan	110213	Guatemala	(+1)
Cremy Oliva	B131327708	Despensa de Don Juan	270313	Guatemala	(+1)
Mazola	12-.49	Súper Selectos 1	151112	Honduras	(-1)
Mazola	06-.23	Despensa de Don Juan	130213	Honduras	(-1)
Mazola	16:59	Despensa de Don Juan	80313	Honduras	(-1)

Continuación

MARCA	LOTE	ESTABLECIMIENTO	FECHA VENCIMIENTO	PROCEDENCIA	RESULTADO
Issima B.	MRT 23:30	Súper Selectos 3	80312	Honduras	(-1)
Suly	A045666876	Despensa de don Juan	40912	Guatemala	(+1)
Francia	14:080	Súper Selectos 1	141112	Guatemala	(-1)
Francia	18.:122	Despensa de Don Juan	20713	Guatemala	(-1)
Francia	12.:201	Súper Selectos 3	290613	Guatemala	(-1)
Francia	13:095	Súper Selectos 1	140213	Guatemala	(-1)
Francia	31:071	Súper Selectos 3	180313	Guatemala	(-1)
Issima B.	MRT 02022327	Súper Selectos 3	201013	Honduras	(-1)
Issima B.	MRT02022293	Súper Selectos 1	121012	Honduras	(-1)
Francia	1211708	Despensa de Don Juan	260113	Guatemala	(-1)
Francia	1211501:27	Súper Selectos 1	240113	Guatemala	(-1)
Francia	1211501:27	Súper Selectos 2	240113	Guatemala	(-1)
Francia	131084	Súper Selectos 2	240113	Guatemala	(-1)
Dany	B185307411	Súper Selectos 2	130113	Guatemala	(+1)
Dany	B042097433	Súper Selectos 1	210613	Guatemala	(+1)
Dany	A020223307	Súper Selectos 1	160213	Guatemala	(+1)
Issima EG	MRT02022293	Despensa de Don Juan	160213	Honduras	(-1)
Issima Barra	TA 8-23	Despensa de Don Juan	231211	Honduras	(-1)
Issima EG	MRT02022327	Súper Selectos 2	160213	Honduras	(-1)
Suly	A102133675	Despensa de don Juan	140812	Guatemala	(+1)
Suly	A102987154	Despensa de don Juan	170413	Guatemala	(+1)
Dany	B876543555	Súper selectos 1	70812	Guatemala	(+1)
Dany	B123675324	Súper selectos 1	10113	Guatemala	(+1)
Dany	B987541230	Súper selectos 3	61212	Guatemala	(+1)

## **ANEXO N° 7**

Empaques de las 7 marcas de Margarina y sus presentaciones mas comercializadas.



Figura N° 24 Empaques de Margarinas analizadas marca Suly y Mazola



Figura N° 25 Empaques de Margarinas analizadas marca Cremosita y Dany





Figura N° 26 Empaques de Margarinas analizadas marca Mirasol e Issima



Figura N° 27 Presentación de Margarinas analizadas marca Mirasol en tarro

## **ANEXO N° 8**

Certificado de Análisis de estándar positivo, Tri(Trans-9- octadecenoil-glicerol)  
con traducción al idioma español.

**NU-CHEK PREP, INC.**  
P.O. Box 295 Elysian MN 56028 U.S.A.  
*The home of fine Lipid Organics*

LOWELL J. NUTTER  
BRIAN L. NUTTER

PHONE (507) 267-4582  
(507) 267-4689  
FAX (507) 267-4790  
info@nuchekprep.com  
www.nu-chekprep.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

DATE: JULY 18, 2012

SCIENTIFIC NAME: 1,2,3 TRI[TRANS-9-OCTADECENOYL]-GLYCEROL

COMMON NAME: TRIELAIDIN

DENSITY: UNKNOWN

GAS LIQUID CHROMATOGRAPHY: >99% ON METHYL ESTER

THIN LAYER CHROMATOGRAPHY: SHOWS ONLY THE TRIGLYCERIDE MOIETY PRESENT

FORMULA: C<sub>57</sub>H<sub>104</sub>O<sub>6</sub>

APPEARANCE: SOLID AT ROOM TEMPERATURE

LOT: T-240-M17-V

ORIGINAL SOURCE OF MATERIAL: SUNFLOWER OIL

FORMULA WEIGHT: 885.50

CAS # 537-39-3

SHELF LIFE: UNLIMITED IF UNOPENED AND STORED AT 0 DEGREES CENTIGRADE OR COLDER. ONCE OPENED, 6-12 MONTHS UNDER GOOD STORAGE CONDITIONS

OUR UNSATURATED COMPOUNDS ARE INSERTED IN VIALS BY VOLUME AND NOT WEIGHT, FLUSHED WITH NITROGEN AND SEALED UNDER HIGH VACUUM. EACH VIAL CONTAINS AT LEAST THE MINIMUM AMOUNT SPECIFIED ON THE LABEL.

SAFETY DATA INFORMATION

THIS COMPOUND MAY BE HARMFUL IF SWALLOWED, INHALED OR ABSORBED THROUGH THE SKIN. IT MAY CAUSE EYE IRRITATION, BE IRRITABLE TO MUCOUS MEMBRANES AND UPPER RESPIRATORY TRACT.

TO THE BEST OF OUR KNOWLEDGE THE TOXICOLOGICAL PROPERTIES HAVE NOT BEEN FULLY INVESTIGATED.

CONTAMINATION OF THE EYES OR SKIN SHOULD BE FOLLOWED BY WASHING WITH LARGE AMOUNTS OF WATER.

ALL OF THE COMPOUNDS WHICH YOU HAVE PURCHASED FROM NU-CHEK-PREP ARE HIGHLY PURIFIED LIPID STANDARDS THAT HAVE BEEN ISOLATED OR SYNTHESIZED FROM VARIOUS VEGETABLE OILS.

AS A FINAL PRECAUTIONARY MEASURE, ALL RESIDUAL VOLATILE ORGANIC CONTAMINATES ARE REMOVED BY HIGH VACUUM FRACTIONAL DISTILLATION. SINCE MANY OF OUR PURE PRODUCTS ARE UNSATURATED, THE FINAL PRODUCT IS GENERALLY FLUSHED WITH INERT GAS (i.e., N<sub>2</sub>) AND HERMETICALLY SEALED IN GLASS VIALS UNDER VACUUM AND STORED UNDER LOW TEMPERATURE (-30°C) CONDITIONS UNTIL READY FOR SHIPMENT.

THESE PRODUCTS ARE PREPARED IN SMALL RESEARCH QUANTITIES FOR THE LIPID ORGANIC SCIENTIFIC COMMUNITY. WHILE THESE MATERIALS MAY BE TOXIC, THEY ARE NOT INTENDED FOR HUMAN CONSUMPTION OR AS A MEDICINAL OR DRUG RELATED USES. OUR PRODUCTS ARE USED IN ANIMAL STUDIES AND AS STANDARDS STRICTLY FOR RESEARCH.

WE CERTIFY THAT THIS LOT CONFORMS TO THE PRODUCT SPECIFICATIONS AND HAS BEEN RELEASED FOR SALE.

## CERTIFICADO DE ANALISIS

FECHA: 18 DE JULIO, 2012

NOMBRE CIENTIFICO: 1,2,3 TRI TRANS-9 Octadienol glicerol

Nombre Común: Trielaidina

Densidad: Desconocida

Cromatografía gas líquido: >99% sobre metilester

Cromatografía capa fina: Muestra solo la mitad de triglicéridos presentes

Formula:  $C_{57}H_{104}O_6$

Apariencia: Solido a temperatura ambiente.

Lote: T-240-M17-V

Fuente original del material: Aceite de girasol.

Peso de la formula: 885.50

CAS # 537-39-3

Vida útil: Es ilimitada si no se abre el vial y almacenada a cero grados centígrados o mas helado. Una vez abierto, 6-12 meses bajo buenas condiciones de almacenamiento.

Nuestros compuestos insaturados son colocados en viales por volumen y no por peso, lavados con nitrógeno y sellados al vacío. Cada vial contiene al menos la mínimo cantidad especificada en lo rotulado.

## INFORMACION DE SEGURIDAD

Este compuesto puede ser perjudicial si se ingiere, inhala o se absorbe en la piel. Puede causar irritación en los ojos, puede ser irritable a las membranas mucosas y el tracto respiratorio superior. Para nuestros conocimientos, las propiedades toxicológicas no han sido investigadas por completo. La contaminación de los ojos o la piel debe ser tratada lavando con grandes cantidades de agua. Todos los compuestos que se adquieren en NU-CHEK-PREP son altamente lípidos altamente purificados que han sido aislados o

sintetizados de varios aceites vegetales. Como última medida de precaución, todos los contaminantes de residuos orgánicos volátiles son removidos por una destilación fraccionada de alto vacío.

Como muchos de nuestros productos son insaturados, el producto final es generalmente lavado con gas inerte ( $N_2$ ) y sellado herméticamente en viales de vidrio bajo vacío y almacenados a una baja temperatura ( $0\text{ }^\circ\text{C}$ ). Estas son las condiciones usuales hasta que es vendido.

Estos productos son preparados en cantidades pequeñas para la comunidad científica de los lípidos orgánicos. Mientras que estos materiales pueda que sean tóxicos, no son adecuados para el consumo humano ni tiene usos medicinales. Nuestros productos se utilizan en estudios con animales. Certificamos que este lote se ajusta a las especificaciones requeridas del producto y que ha sido lanzado para su venta.

## **ANEXO N ° 9**

Certificado de Análisis de estándar negativo Tri(cis-9- octadecenoil-glicerol) con traducción al idioma español.



P.O. Box 295 Elysian, MN 56028 U.S.A.

*The home of fine Lipid Organics*

LOWELL J. NUTTER  
BRIAN L. NUTTER

PHONE (507) 267-4582  
(507) 267-4689  
FAX (507) 267-4790  
info@nuchekprep.com  
www.nu-chekprep.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

DATE: July 18, 2012

SCIENTIFIC NAME: 1,2,3 TRI CIS-9 OCTDECENOYL GLYCEROL

COMMON NAME: TRIOLEIN

DENSITY: 0.90 GM/ML

GAS LIQUID CHROMATOGRAPHY: >99% ON METHYL ESTER

THIN LAYER CHROMATOGRAPHY: SHOWS ONLY THE TRIGLYCERIDE MOIETY PRESENT

FORMULA: C<sub>57</sub>H<sub>104</sub>O<sub>6</sub>

APPEARANCE: CLEAR COLORLESS LIQUID AT ROOM TEMPERATURE

LOT: T-235-D19-V

ORIGINAL SOURCE OF MATERIAL: SUNFLOWER OIL

FORMULA WEIGHT: 885.50

CAS # 122-32-7

THE EXPIRATION DATE ON STANDARDS RECEIVED FROM NU-CHEK-PREP IS 3-6 MONTHS ON AN OPENED VIAL UNDER GOOD STORAGE CONDITIONS. UNLIMITED IF THE VIAL IS UNOPENED. GOOD STORAGE CONDITIONS FOR AN OPENED VIAL IS KEPT AT 0 DEGREES CENTIGRADE OR COLDER AND FLUSHED WITH AN INERT GAS LIKE NITROGEN OR ARGON. THIS RIDES IT OF OXYGEN WHICH CAN CAUSE OXIDATION. FOR AN UNOPENED VIAL IT SHOULD BE KEPT AT 0 DEGREES OR COLDER.

THE EXPIRATION DATE STARTS THE DAY THE BUYER RECEIVES IT.

OUR UNSATURATED COMPOUNDS ARE INSERTED IN VIALS BY VOLUME AND NOT WEIGHT, FLUSHED WITH NITROGEN AND SEALED UNDER HIGH VACUUM. EACH VIAL CONTAINS AT LEAST THE MINIMUM AMOUNT SPECIFIED ON THE LABEL.

SAFETY DATA INFORMATION

THIS COMPOUND MAY BE HARMFUL IF SWALLOWED, INHALED OR ABSORBED THROUGH THE SKIN. IT MAY CAUSE EYE IRRITATION, BE IRRITABLE TO MUCOUS MEMBRANES AND UPPER RESPIRATORY TRACT.

TO THE BEST OF OUR KNOWLEDGE THE TOXICOLOGICAL PROPERTIES HAVE NOT BEEN FULLY INVESTIGATED.

CONTAMINATION OF THE EYES OR SKIN SHOULD BE FOLLOWED BY WASHING WITH LARGE AMOUNTS OF WATER.

ALL OF THE COMPOUNDS WHICH YOU HAVE PURCHASED FROM NU-CHEK-PREP ARE HIGHLY PURIFIED LIPID STANDARDS THAT HAVE BEEN ISOLATED OR SYNTHESIZED FROM VARIOUS VEGETABLE OILS.

AS A FINAL PRECAUTIONARY MEASURE, ALL RESIDUAL VOLATILE ORGANIC CONTAMINATES ARE REMOVED BY HIGH VACUUM FRACTIONAL DISTILLATION. SINCE MANY OF OUR PURE PRODUCTS ARE UNSATURATED, THE FINAL PRODUCT IS GENERALLY FLUSHED WITH INERT GAS (i.e., N<sub>2</sub>) AND HERMETICALLY SEALED IN GLASS VIALS UNDER VACUUM AND STORED UNDER LOW TEMPERATURE (0°C) CONDITIONS UNTIL READY FOR SHIPMENT.

THESE PRODUCTS ARE PREPARED IN SMALL RESEARCH QUANTITIES FOR THE LIPID ORGANIC SCIENTIFIC COMMUNITY. WHILE THESE MATERIALS MAY BE TOXIC, THEY ARE NOT INTENDED FOR HUMAN CONSUMPTION OR AS A MEDICINAL OR DRUG RELATED USES. OUR PRODUCTS ARE USED IN ANIMAL STUDIES AND AS STANDARDS STRICTLY FOR RESEARCH.

WE CERTIFY THAT THIS LOT CONFORMS TO THE PRODUCT SPECIFICATIONS AND HAS BEEN RELEASED FOR SALE.



## CERTIFICADO DE ANALISIS

FECHA: 18 DE JULIO, 2012

NOMBRE CIENTIFICO: 1,2,3 TRI CIS-9 Octadienol glicerol

Nombre Común: Trioleina

Densidad: 0.90 gm/ml

Cromatografía gas líquido: >99% sobre metilester

Cromatografía capa fina: Muestra solo la mitad de triglicéridos presentes

Formula:  $C_{57}H_{104}O_6$

Apariencia: Liquido incoloro a temperatura ambiente.

Lote: T-235-D19-V

Fuente original del material: Aceite de girasol.

Peso de la formula: 885.50

CAS # 122-32-7

La fecha de expiración de los estándares recibidos de NU-CHEK-PRERP es de 3 a 6 meses desde que el vial se abre si esta bajo buenas condiciones de almacenamiento. Es ilimitado si el vial no se abre.

Las buenas condiciones de almacenamiento para un vial que ya esta abierto, es mantenerlo a 0 grados centígrados o mas frio y lavarlo con un gas inerte como nitrógeno o argón. Esto se hace para deshacerse del oxigeno el cual puede causar oxidación. Para un vial sin abrir debería de mantenerse a cero grados centígrados.

La fecha de expiración empieza desde el día que el comprador lo recibe. Nuestros compuestos insaturados son insertados en nuestros viales por volumen y no por peso, se hacen lavados con nitrógeno y son sellados al vacío. Cada vial contiene al menos la mínima cantidad especificada en el rotulado.

### INFORMACION DE SEGURIDAD

Este compuesto puede ser perjudicial si se ingiere, inhala o se absorbe en la piel. Puede causar irritación en los ojos, puede ser irritable a las membranas mucosas y el tracto respiratorio superior. Para nuestros conocimientos, las

propiedades toxicológicas no han sido investigadas por completo. La contaminación de los ojos o la piel debe ser tratada lavando con grandes cantidades de agua. Todos los compuestos que se adquieren en NU-CHEK-PREP son altamente lípidos altamente purificados que han sido aislados o sintetizados de varios aceites vegetales. Como última medida de precaución, todos los contaminantes de residuos orgánicos volátiles son removidos por una destilación fraccionada de alto vacío.

Como muchos de nuestros productos son insaturados, el producto final es generalmente lavado con gas inerte ( $N_2$ ) y sellado herméticamente en viales de vidrio bajo vacío y almacenados a una baja temperatura ( $0^\circ C$ ). Estas son las condiciones usuales hasta que es vendido.

Estos productos son preparados en cantidades pequeñas para la comunidad científica de los lípidos orgánicos. Mientras que estos materiales pueda que sean tóxicos, no son adecuados para el consumo humano ni tiene usos medicinales. Nuestros productos se utilizan en estudios con animales. Certificamos que este lote se ajusta a las especificaciones requeridas del producto y que ha sido lanzado para su venta.

## **ANEXO N° 10**

Garantía de pureza de estándares positivos y negativos y traducción al español.

### PURITY GUARANTEE

NU-CHEK GENERALLY PREPARES CHROMATOGRAPHICALLY PURE COMPOUNDS LISTED IN OUR CATALOG AS HAVING A PURITY GREATER THAN 99%+. VARYING DEGREES OF PURITY (I.E. RELATIVELY PURE GREATER THAN 90%) ARE SO LISTED. COMPOUNDS OF LESSER DEGREE PURITY CAN ALSO BE OBTAINED BY SPECIAL REQUEST.

ALL PRODUCTS MADE AVAILABLE UNDER OUR LABEL ARE GUARANTEED TO MEET THE MINIMUM SPECIFICATIONS DESIGNATED AT THE TIME OF SALE. AGE OR CONDITION OF STORAGE MAY ALTER CHEMICAL PROPERTIES FOR WHICH CHANGE WE CANNOT BE HELD LIABLE.

IF AT THE TIME OF SALE ANY OF OUR PREPARATIONS ARE FOUND TO BE INFERIOR OR OF A DEGREE PURITY LESS THAN SPECIFIED, NU-CHEK WILL SUPPLY YOU (FREE OF CHARGE) AN ADEQUATE REPLACEMENT, OR AT OUR OPTION, REFUND YOUR PURCHASE PRICE. ALL CLAIMS MUST BE MADE WITHIN 60 DAYS OF INVOICE DATE. (ANTIOXIDANTS TEND TO ALTER NORMAL COMPOUND FUNCTIONS AND ARE NEVER ADDED UNLESS REQUESTED SPECIFICALLY.)

OUR UNSATURATED COMPOUNDS ARE INSERTED IN VIALS BY VOLUME AND NOT WEIGHT-FLUSHED WITH NITROGEN SEVERAL TIMES AND SEALED UNDER HIGH VACUUM. EACH VIAL CONTAINS AT LEAST THE MINIMUM AMOUNT SPECIFIED ON THE LABEL. EXACT WEIGHTS MAY BE OBTAINED IF DESIRED WITH A \$3.00 RESEAL CHARGE PER VIAL.

### **TRADUCCION**

NU-CHEK Generalmente prepara compuestos cromatograficamente puros, enlistados en nuestros catalogos, para tener una pureza mayor a a 99 %, variando los grados de pureza (relativamente mas puros que un 90%).

Tambien se pueden obtener compuestos de menor grado de pureza por peticion especial.

Todos los productos hechos disponibles bajo nuestro etiquetado estan garantizados para reunir el minimo de especificaciones designadas al momento de su venta. Las propiedades quimicas se pueden alterar por el tiempo o por las condiciones de almacenamiento por lo cual no nos hacemos responsables.

Si al momento de la venta, alguna de nuestras preparaciones son encontradas con un grado menor de pureza que el identificado, UN-CHEK suplira (libre de cargos) un reemplazo adecuado o reembolsar el precio de venta. Todos los reclamos deben ser hechos dentro de los proximos 60 dias a partir de la fecha de facturacion (los antioxidantes tienden a alterar las funciones normales de los componentes y nunca son agregados a menos de que se halla requerido especificamente)

Nuestros componentes instaruados son insertados en viales por volumen y no por peso con Nitrogeno varias veces y sellado al vacio. Cada vial contiene al menos el minimo de cantidad especificada en la etiqueta. El peso exacto debe ser obtenido si se desea con un cargo extra de 3 dolares por vial.

**ANEXO N° 11**

FOTOGRAFIAS DE PROCESO EXPERIMENTAL



Figura N°28 Aparato de Espectrofotometría Infrarroja de transformada de Fourier, con el ordenador que contiene el programa IR-RESOLUTION, en el laboratorio Físicoquímico de Aguas



Figura N° 29 Espectrofotómetro Infrarrojo de Transformada de Fourier

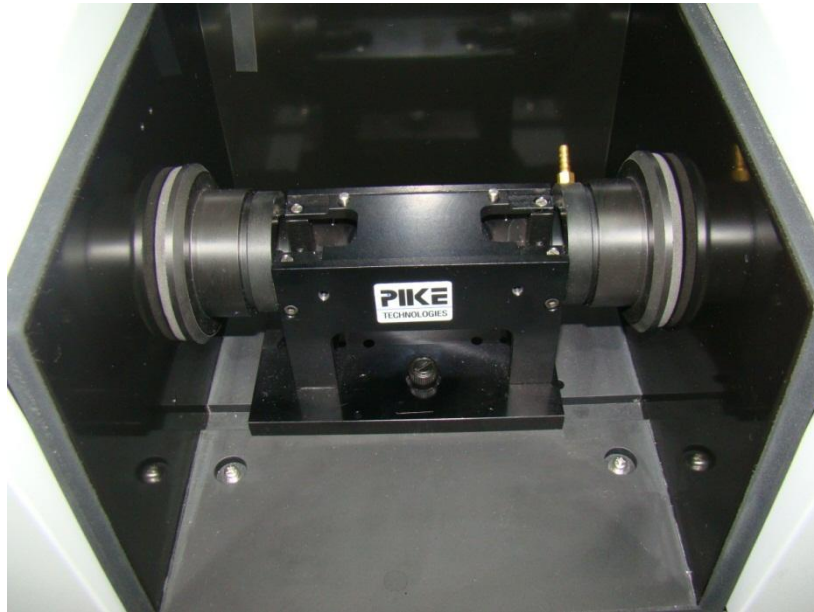


Figura N° 30 Soporte de celdas



Figura N°31 Celda de Reflectancia Total Atenuada en la que se realizaron los análisis de Margarinas





Figura N° 32 Diferentes muestras analizadas en el Espectrofotómetro Infrarrojo.

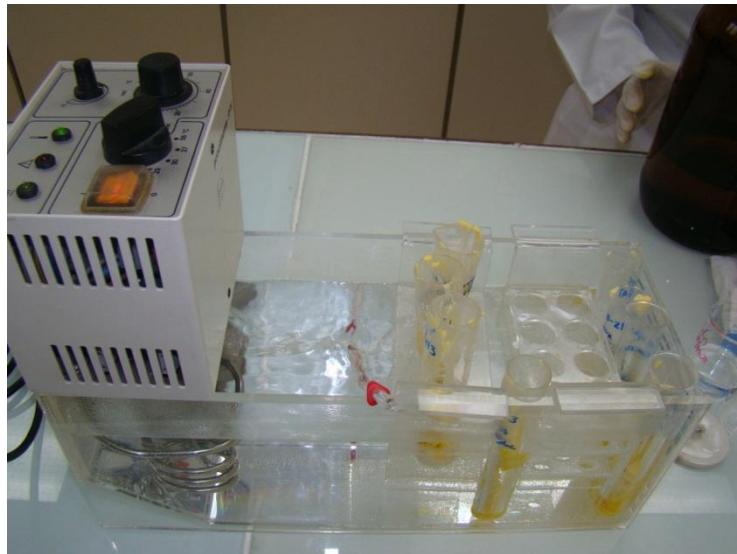


Figura N°33 Baño de María, Precitherm PFV, utilizado para fundir las muestras y mantenerlas a una temperatura de  $62 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$



Figura N° 34 Controlador de temperatura de baño de María.



Figura N°35 Estándares positivo y negativos (Trielaidina y Trioleina)

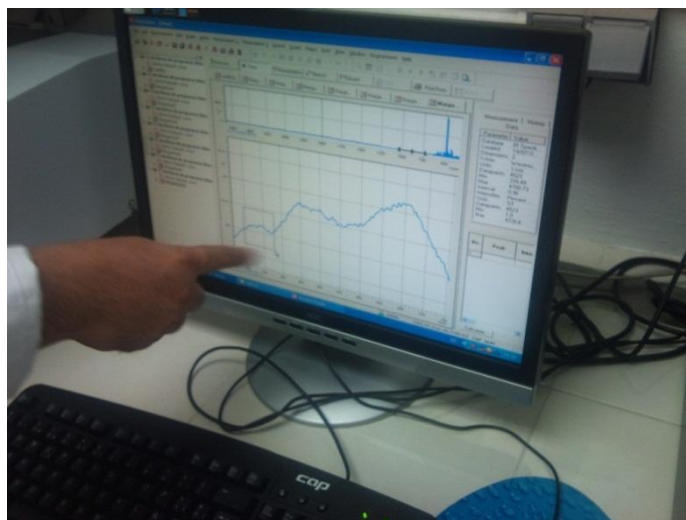


Figura N°36 Obtención de espectros infrarrojos por medio de un programa llamado IR-RESOLUTION



Figura N° 37 Tratamiento de muestras en el baño de María Precitherm PFV

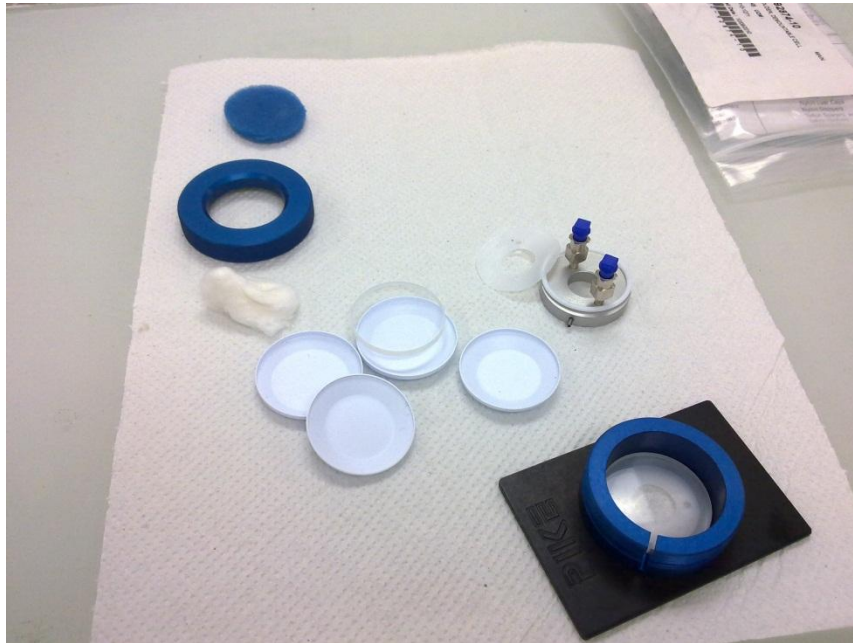


Figura N°38 Celda de Bromuro de Potasio para análisis de los estándares Positivo y negativo de presencia de grasas trans.



Figura N°39 Analistas trabajando en el Laboratorio Fisicoquímico de Aguas De la facultad de Química Y Farmacia, Universidad de El Salvador.

## ANEXO N° 12

### Especificaciones del espectrofotómetro infrarrojo Shimadzu IRAffinity-1

Tabla N°12 Especificaciones del espectrofotómetro infrarrojo Shimadzu IR-Affinity-1<sup>(14)</sup>

Característica	Observaciones
<b>Interferómetro</b>	Interferómetro de Michelson (ángulo de incidencia de 30 grados)
	Sistema avanzado de alineamiento dinámico
	Interferómetro sellado y secado con desecador automático
<b>Divisor de radiación</b>	Cubierta de Germanio y placa de KBr para región intermedia del IR (Standard)
	Cubierta de Germanio y placa de CsI para región Intermedia/lejana del IR (Opcional)
	Cubierta de Silicón y placa de CaF <sub>2</sub> para región cercana del IR (Opcional)
<b>Fuente</b>	Fuente de Globar (Cerámica) con enfriamiento de aire para la región intermedia/lejana del IR con 3 años de garantía (Standard)
	Lámpara de Tungsteno para región cercana del IR (Opcional)
<b>Detector</b>	Detector DLATGS con control de Temperatura para la región intermedia/lejana del IR (Standard)
	Detector MCT (Hg-Cd-Te) con enfriamiento con Nitrógeno líquido para la región intermedia del IR (Opcional)
	Detector InGaAs para región cercana del IR (Opcional)
<b>Rango de números de onda</b>	7,800 - 350 cm <sup>-1</sup>
	12,500 - 240 cm <sup>-1</sup> (Opcional)
<b>Resolución</b>	0.5, 1, 2, 4, 8, 16 cm <sup>-1</sup> (Intermedio/lejano del IR)
	2, 4, 8, 16 cm <sup>-1</sup> (cercano del IR)
<b>Razón S/N (señal/ruido)</b>	40,000: 1 y mayores (pico-a-pico, resolución de 4 cm <sup>-1</sup> , aprox. 2100 cm <sup>-1</sup> , escaneo (barrido) de 1 minuto)
<b>Sistema operativo</b>	Microsoft Windows 2000/XP
<b>Interface entre PC y FTIR</b>	IEEE 1394
<b>Monitoreo de hardware</b>	Auto diagnóstico, Monitor de estado
	Programa de validación en cumplimiento conforme con la Farmacopea Japonesa, Farmacopea Europea, Normas ASTM
<b>Procesamiento de datos</b>	Adición, Multiplicación, conversión Abs a % T, normalización, corrección de línea base, conversión logarítmica, difuminado, derivación, corrección ATR, conversión Kubelka-Munk, análisis de Kramers-Kronig, conversión de número de onda/longitud de onda, detección de pico, cálculo de área del pico, cálculo de espesor de película
<b>Procesamiento cuantitativo</b>	Curva de Calibración Multipunto con altura/área/radio o razón del pico, regresión multilinear (método MLR)
<b>Búsqueda de espectro</b>	Búsqueda de parámetros, Búsqueda, creación de Librería de espectros
<b>Proceso de impresión</b>	Generador de reportes
<b>Software opcionales</b>	Programación de Macro, cuantificación de PLS, curva adecuada, Presentación tridimensional con mapeo
<b>Rastreo de Auditoria</b>	Función de contenedor con almacenaje de interferograma/espectro de fondo (background), Historial de operación
	Protección con clave de ingreso
	Grabado Log
	Conformidad con FDA CFR Part 11, firma electrónica
<b>Detección de accesorios</b>	Reconocimiento automático del accesorio instalado. Además configuración de parámetros de escaneo o barrido y corrida de programación con macro.
	Accesorios ATR; ATR-8000A, ATR-8200HA, MIRacle A, DuraSample IR A, etc.
	Accesorios de reflectancia difusa; DRS-8000A, etc.
	Accesorios de reflectancia; SRM-8000A, RAS-8000A, etc.
<b>Dimensiones</b>	600 (W) x 680 (L) x 290 (H) mm
<b>Peso</b>	54 Kg