

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA

CROMATOGRAFIA DE GAPA FINA APLICADA
A LA INDUSTRIA DE ACEITES Y GRASAS

TESIS

PRESENTADA POR

BERENICE BARRAZA DE MEDINA

PREVIA A LA OPCION DEL TITULO

LICENCIADA EN

QUIMICA INDUSTRIAL

1974

511-1
B-203
1974
1-2

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UES BIBLIOTECA CENTRAL



INVENTARIO: 10120431



RECTOR

Dr. Juan Allwood Paredes

SECRETARIO GENERAL

Dr. Manuel Atilio Hasbún

FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA

ESCUELA DE INGENIERIA

DECANO

Ing. Rodolfo Jenkins

SECRETARIO

Ing. Werner Heymann

JEFE DEL DEPARTAMENTO

Dr. Angel Ricardo Villafuerte

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA

CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA
APLICADA A LA INDUSTRIA DE
ACEITES Y GRASAS

DIRECTOR

Lic. José Antonio Silva

ASESORES

Lic. Víctor Manuel Segura

Ing. Francisco Monroy

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA

ESTE TRABAJO LO DEDICO:

AL SER OMNIPOTENTE

A la memoria de mis padres

*Margoth R. de Barraza y
Rodolfo Barraza Hernández*

A mi querido esposo

José Roberto Medina

A mi hija con amor

Selene Berenice

A mis hermanas

Rhina y Ruth Armida

A mis familiares y compañeros

C O N T E N I D OPágina N°PRIMERA PARTEFUNDAMENTOS GENERALES

I	- <u>INTRODUCCION</u>	1
II	- <u>OBJETIVO</u>	3
III	- <u>GENERALIDADES</u>	6
	1. <i>Historia de la Cromatografía</i>	6
	2. <i>Técnica</i>	8
	2.1 <i>Preparación de Muestras</i>	11
	2.2 <i>Preparación de Capas</i>	13
	2.3 <i>Cámaras Separadoras</i>	19
	2.4 <i>Eluyentes y Adsorbentes</i>	20
	2.5 <i>Elaboración de Cromatogramas</i>	22
	2.6 <i>Métodos de Comprobación</i>	27
	2.7 <i>Conservación de Cromatogramas</i>	28
	2.8 <i>Determinación Cuantitativa de Cromatogramas</i>	28
	2.9 <i>Cuadro Guía para Resultados - Cromatográficos</i>	31
	<i>Bibliografía</i>	32

SEGUNDA PARTEPRACTICAS DE LABORATORIO

I	- <u>INTRODUCCION</u>	33
II	- <u>GENERALIDADES</u>	35

III - <u>EXTRACCION DE GRASAS Y SEPARACION DE</u> <u>ADITIVOS</u>	39
IV - <u>ANTIOXIDANTES</u>	40
<i>Práctica N° 1</i>	41
<i>Recomendaciones. Conclusiones</i>	45
<i>Bibliografía</i>	46
V - <u>PRESERVATIVOS</u>	47
<i>Práctica N° 2</i>	47
<i>Recomendaciones. Conclusiones</i>	51
<i>Bibliografía</i>	52
VI - <u>COLORANTES</u>	53
<i>Práctica N° 3</i>	54
<i>Recomendaciones. Conclusiones</i>	57
<i>Bibliografía</i>	58
VII - <u>PESTICIDAS</u>	59
<i>Práctica N° 4</i>	60
<i>Recomendaciones. Conclusiones</i>	65
<i>Bibliografía</i>	66
VIII- <u>RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES GENERALES</u>	67
<u>BIBLIOGRAFIA GENERAL</u>	69

PRIMERA PARTE

FUNDAMENTOS GENERALES

I - INTRODUCCION

En la elaboración del presente trabajo se han tenido que advertir ciertas dificultades propias del tema; una de ellas, y quizás la principal, ha sido la poca información que al respecto se tiene sobre las últimas investigaciones.

La Bibliografía con que se cuenta señala los puntos de partida, dejando al investigador el desarrollo de sus principios en una forma más amplia.

La Cromatografía de Capa Fina, es hoy en día un método standard imprescindible. Debido a su sensibilidad y rapidez, ha conquistado un lugar seguro en el análisis químico desplazando a otros procedimientos de práctica reciente.

La Cromatografía de Capa Fina ha solucionado muchas dificultades que resultaban demasiado entretenidas con los métodos cromatográficos anteriores a éste. La Cromatografía de Papel, - por ejemplo, se encuentra totalmente superada.

Como instrumento analítico dentro del campo de la Química, es de reciente aplicación y en tal virtud tiende a extraviarse en la infinidad de descubrimientos técnicos propios de la época.

Sin embargo, su valor como auxiliar práctico en la solución de muchos problemas es innegable e insospechado. En las áreas de Biología y Farmacia, su difusión y conocimiento es amplio.- La Medicina Forense, por ejemplo, en la tarea importante de - identificar productos farmacéuticos y venenos en los líquidos del cuerpo, cuenta con su valiosa ayuda por la rapidez que a veces se requiere de un método de análisis. En la Agricultura, la enorme difusión de pesticidas tóxicos representa un peligro para la vida animal y la Cromatografía de Capa Fina ofrece un

método altamente sensible para las combinaciones que en estos casos alteran el proceso metabólico.

Sus aportes a la Industria también son generosos y de especial manera habrá de ser objeto en el presente trabajo su contribución en el sector de alimentos y en particular de las grasas y los aceites.

II - OBJETIVO

Preliminarmente, el presente trabajo tiene la finalidad de describir a grandes rasgos un nuevo y revolucionario método de análisis para luego hacer notar sus implicaciones en el Control de Calidad de la Industria Alimenticia y, específicamente, en el campo de aceites y grasas.

Por el hecho de que la literatura sobre el tema está muy dispersa y en gran parte difícil de encontrar, la elaboración de esta tesis viene a llenar un hueco importante. En este sentido, la exposición por sí sola logra una utilidad en su objetivo y de tal manera recoge ya en sus primeras líneas algún mérito.

La Cromatografía de Capa Fina ofrece al estudioso de la materia, un instrumento poco común para llevar a cabo realizaciones concretas. Lo práctico, que resulta en el campo de la investigación, hace que su valor no quede dentro de elucubraciones teóricas y se reduzca a una mera curiosidad científica.

Uno de los primeros objetivos propuestos, es el de analizar sus ventajas en relación con otros métodos similares. Al respecto, cabe traer a cuenta la cita que hace Kurt Randerath de L. Zechmeister y L. Von Cholnoky (Die Chromatographische - Adsorptionmethode): "Todo progreso científico supone un desarrollo del método. Un procedimiento específico de laboratorio recién descubierto, conquista en rápida sucesión, campos científicos y técnicos, hasta que finalmente se agota y es sustituido por otro procedimiento más eficaz."

En términos generales la Cromatografía de Capa Fina asegura ciertas ventajas sobre otros sistemas. Entre ellas figuran de manera sobresaliente:

- . 7 .
- a) *Las condiciones de separación se fijan en forma sencilla. Los resultados se pueden transportar directamente a la Cromatografía Preparatoria en Capa, pues en ambos métodos se emplean adsorbentes con iguales propiedades de separación y el mismo tamaño de grano.*
- b) *Nitidez de Separación. Siendo mucho menor el tamaño de los granos, la actividad del adsorbente resulta bastante mayor que la Cromatografía en Columna, concentrándose en menos espacio las zonas de sustancia.*
- c) *Localización Segura. Sobre una capa de pocos milímetros de espesor, las sustancias se localizan mejor que en cargas cilíndricas en columna. El curso de las separaciones se puede seguir continuamente con la vista, mientras que en la Cromatografía de Columna sólo es posible eluyendo la zona.*
- d) *Hay economía de tiempo. La duración del revelado es mucho menor que en la Cromatografía de Columna. Un revelado tarda más o menos una hora en separaciones cromatográficas por adsorción sobre sílice gelatinosa o silicagel. La duración total depende naturalmente del número de revelados previsto y la separación total queda concluida en el día. En comparación con la Cromatografía en Papel que tarda más de veinticuatro horas, es notorio el ahorro de tiempo.*
- e) *El límite inferior de apreciación de las sustancias que han de identificarse por la Cromatografía de Capa Fina, viene a ser diez veces más bajo que en Cromatografía de Papel.*
- f) *Aun con cantidades mínimas de sustancias se posibilita lograr separaciones apreciables.*

- g) El empleo preferido de adsorbentes inorgánicos para capas delgadas, permite reconocer las sustancias disgregadas - aun con aspercivos **enérgicos** como el ácido sulfúrico y el permanganato potásico que no pueden utilizarse en la Cromatografía de Papel porque destruyen la celulosa. Además de ello, la fluorescencia propia de los sorbentes inorgánicos facilitan la identificación de sustancias observadas con luz ultravioleta..
- h) Hay ahorro de eluyente. La cantidad necesaria para una separación normal de 20 gramos de sustancia mixta, es de 5 litros; para esta prueba en Cromatografía de Columna, es de 25 litros.
- i) Requiere muy poco aparato. Además, los instrumentos son sencillos y fácilmente manejables..

Por lo anteriormente expuesto, el trabajo de laboratorio en Cromatografía de Capa Fina sirve más a los fines que nos hemos propuesto, es decir, a demostrar que al aplicarlo en el análisis de los aceites y grasas, tendremos un camino más sencillo y un sistema más exacto para llegar a las conclusiones.

III - GENERALIDADES

1. Historia de la Cromatografía

El análisis de adsorción llamado Cromatografía, fue descubierto por Michael Tswett, en 1903, fecha en la cual no se le dio al descubrimiento la importancia que merecía. No fue sino hasta en 1931, que Kuhn y Lederer, así como Winterstein, lo introdujeron en el método de la Química Sintética de los colorantes polienos. El primer trabajo trató de la separación de los componentes del caroteno ya conocido, y el aislamiento del Alfa y Beta caroteno.

Tswett, encontró que algunos pigmentos vegetales como el de la clorofila podrían ser separados, agregando éter de petróleo a su mezcla, a través de una columna de Carbonato Cálcico, en donde se formaban zonas verdes y amarillas.

Tswett predijo: "Es muy posible que el caroteno de las hojas, no sea un individuo químico, sino una mezcla de dos o más homólogos que podrían separarse entre sí, con ayuda del método de adsorción, mediante el empleo de adsorbentes adecuados."

El ímpetu del desarrollo de la Química de los Carotenoides, fue la aplicación de la Cromatografía como norma preparativa de Kuhn, Winterstein, Karrer y otros. También recibió impulsos decisivos con la investigación de los pigmentos de las hojas verdes, flavinas y otros materiales colorantes vegetales.

Asimismo, aunque un poco lento, ha evolucionado en la separación de combinaciones no coloreadas elaborándose métodos de comprobación.

La Química Moderna no puede prescindir de la Cromatografía, la cual se ha convertido en Método Standard. Los estudios de Tswett fueron los que impulsaron a Martin y Synger, que, en 1941 desarrollaron la Cromatografía de Reparto, en donde usaron columnas de Gel de Sílice. El procedimiento llevado a cabo fue el mismo usado por Tswett que lo desarrolló con disolventes orgánicos adecuados.

Consden, Gordon y Martin, en 1944 sustituyeron la sustancia soporte que era la Gel de Sílice, por tiras de papel, y fue allí donde dio principio la "Cromatografía en Papel".

Los límites de la Cromatografía de Papel se reconocieron después de algunos años, pues tenía muchas dificultades con las sustancias lipófilas, pero aún así se consideró como la mejor Cromatografía.

No existía un procedimiento general aplicable a la Adsorción Cromatográfica Analítica, pero Izmailov y Shraiber en el año 1938 describieron el principio de la Cromatografía de Capa Fina. Ellos procedieron así: esparcieron óxido de aluminio sobre placas de cristal y separaron diversas sustancias en estas capas, las cuales no eran compactas. A la vez, y por su cuenta, T. J. Williams cromatografiaba, en capas adsorbentes, entre dos placas de cristal, en donde una de ellas tenía un orificio para que los eluyentes y las soluciones se pusieran en contacto.

Meinhard y Hall usaron por primera vez un aglutinante (Almidón) para conseguir mayor estabilidad mecánica de las capas. Kirchner, Miller, Keller y algunos colaboradores, ampliaron el procedimiento hasta demostrar su utili-

dad para la separación e identificación de Terpenos. Estos trabajaron en placas de vidrio estrechos; mientras Reitseman trabajaba en placas de vidrio anchas, en donde se podía cromatografiar una al lado de la otra, pudiéndose hacer bidimensionalmente.

Aun con todos los estudios hechos hasta la fecha, no se le dio importancia debida hasta que Egon Sthal en 1958, dio a conocer muchos trabajos en donde la Cromatografía de Capa Fina se introdujo como procedimiento de la Cromatografía de Adsorción Analítica. Sthal indicó un aparato de aplicación práctica y fácilmente manejable, con el cual se podían preparar capas de espesor de 250 micras y como adsorbente "Silicagel", y así el procedimiento fue normalizado.

2. Técnica

La Cromatografía de Capa Fina se podría definir diciendo que es el procedimiento donde, con una dirección pre-determinada, se desplaza una solución de sustancias por medio de una materia sólida insoluble, ya sea orgánica o inorgánica y que retiene los componentes con una medida distinta para cada uno de ellos.

Para obtener resultados lo mejor posibles en este Método, las placas deberán poseer determinadas propiedades de las cuales se citan:

- a) Que el sorbente o adsorbente sea lo más homogéneo posible;
- b) El espesor de la placa ha de ser uniforme no sólo por placa, sino por serie; y

c) La actividad de la placa debe ser lo más constante - dentro de lo posible.

Las diferentes sustancias del problema a desarrollarse, son arrastradas con diferentes velocidades y de aquí que aparezcan zonas de sustancias o manchas a diferentes distancias del origen. Esta separación puede desarrollarse por distintos sistemas: Proceso de adsorción, de Reparto, y de Intercambio iónico o con diferentes combinaciones entre ellos.

La medida de velocidad de desplazamiento está dada por R_f cuyo valor viene dado por:

$$R_f = \frac{\text{distancia de la sustancia al origen}}{\text{distancia del frente del eluyente al origen}}$$

Dado que los valores de R_f varían mucho por diversas causas y que no siempre esas causas pueden ser controladas, es recomendable hacer el Cromatograma al lado de las mezclas desconocidas, la sustancia conocida, la cual servirá de comparación. Para la identificación se puede también cromatografiar la sustancia conocida junto a la desconocida. Si con eluyentes distintos se obtiene una misma mancha, probablemente no se trata de una sustancia sino que de una combinación. Así también se evitan interferencias por sales e impurezas, puesto que las sustancias que se desplazan juntas están sujetas a las mismas irregularidades.

Arbitrariamente puede darse el valor de 1 a R_f como valor de una sustancia de referencia y así cromatografiar refiriéndose los otros valores a 1; luego estos valores obtenidos son los llamados Valores Relativos R_x .

$$\text{Valor de } R_x = \frac{\text{distancia de la sustancia al origen}}{\text{distancia de la sustancia } x \text{ al origen}}$$

Puede darse el caso de que R_x sea mayor que 1.

Deberá tenerse mucho cuidado al encontrar el valor de R_f pues representa una característica física.

$$R_f \times 100 = h R_f$$

Recomendaciones para obtener un valor R_f reproducible:

1º) A causa de que los adsorbentes de un lote a otro tienen una ligera variación, es aconsejable llevar a cabo las pruebas con un mismo lote de adsorbentes.

También el valor de R_f depende del tamaño medio de los gránulos de los adsorbentes.

2º) La actividad de los adsorbentes se determina por la duración del calentamiento y de la temperatura, por ésto las placas deberán tener el mismo tratamiento - previo.

3º) El espesor de la capa deberá ser uniforme a lo largo de la placa, pues también repercute en los valores de R_f .

Si el espesor varía de 0.2 a 0.3 mm. las diferencias de R_f son despreciables.

4º) Los eluyentes deberán ser de calidad. Los disolventes deberán ser muy puros para poder reproducir los resultados.

En el caso que deban prepararse los eluyentes, se procurará hacerlos para cada caso; también deberá cuidarse de que si los eluyentes son de varios componentes, se almacenarán en recipientes herméticos con el objeto de que no haya evaporación.

- 5º) La atmósfera de la cámara deberá estar completamente saturada de eluyente.
- 6º) La técnica con que se cromatografía deberá ser cuidadosamente elaborada, ya que hay diferencia de velocidad de desplazamiento si se cromatografía con el método ascendente y luego se cambia al horizontal o descendente.
- 7º) La relación de las distancias, deberá ser constante; o sea:

$$K = \frac{\text{Superficie del eluyente al punto de origen}}{\text{Superficie del eluyente al frente del eluyente}}$$

Debido a que el eluyente tiene varios componentes, - en el trayecto tiende a la separación de los mismos.

- 8º) La cantidad de sustancia que se aplica en el cromatograma debe ser limitada, ya que de ella depende grandemente el valor de R_f . Estas cantidades dependen para cada caso en particular.

2.1 Preparación de las Muestras

Puede servirnos de muestra una mezcla X, que se pone en solución y se aplica a una distancia de 1.5 - 2 cm. del borde de la placa, o sea, de la línea de origen, llevándose alineada por medio de una plantilla. La muestra puede aplicarse ya sea en gotas o en banda o franjas.

Las soluciones que se hacen con las sustancias problemáticas, están entre los límites de 0.1% a 1%, pudiendo llegar hasta 5%.

Las gotas que deben aplicarse según el tipo, serán de igual tamaño, con un diámetro variable de 2 a 5 milímetros.

Se recomienda el cuidado de poner un volumen determinado, para obtener una cromatografía de calidad. Para que no haya formación de colas, es necesario que la cámara esté saturada de eluyente y haya uniformidad de espesor de las capas en las placas. Asimismo, la cantidad de sustancia a cromatografiar debe ser la necesaria.

La muestra se puede aplicar con una variedad de instrumentos:

Un tubo de platino usualmente para soluciones de 1%.

Una micropipeta de bulbo con una capacidad de 1 a 100 μ l. Estas pueden usarse llenas o a niveles menores. La exactitud es más o menos de 1%.

Están también, las pipetas de Lambda con un determinado volumen, por ejemplo, de 1 a 1000 μ l. Además, existen las micropipetas automáticas.

Hay micropipetas graduadas con capacidad de 10 μ l y son las usadas para medir el azúcar en la sangre o glucémica.

Se requiere a menudo standarizarlas.

El uso de microjeringas es necesario. Estos aparatos son elaborados con alta precisión. En su parte superior tienen un tornillo micrométrico de aplicación práctica. Preferiblemente se emplean para cromatografía de gas-líquido, existiendo nuevas y diferentes modalidades.

des de ellas. Las hay con capacidad de $5 \mu\text{l}$. y graduadas en $0.2 \mu\text{l}$.

Es de considerar en relación al tratamiento de la muestra que la aplicación en banda depende especialmente de la uniformidad que se haga de esa aplicación. Cuando la solución se acomoda por puntos, la banda es borrosa.

Para esta aplicación en caso que hayan varias sustancias, puede usarse el aplicador Morgan. Con este aditamento pueden ponerse 19 soluciones de diferentes sustancias.

Wagner y Pohl, propusieron emplear para esta aplicación, cepillos. Posteriormente, Tamura la cambió - adaptando un cepillo a una pipeta capilar, o sea una micropipeta.

Esta operación puede realizarse por medio de 2 placas de vidrio rectangulares, que están sobrepuestas y que tienen una fisura capilar que se llena automáticamente al sumergirla en la solución.

2.2 Preparación de Capas

La preparación de las capas puede llevarse a cabo por cuatro diferentes métodos: el de vertido, de inmersión, de extensión y de atomización.

a) El de Vertido

Este método no requiere aparatos especiales. La cantidad necesaria de adsorbente es pesada para luego hacer una suspensión homogénea, debiendo agitarse bastante tiempo para que resulte un solvente

satisfactorio.

Una cantidad de este solvente, seguidamente de prepararse, se vierte sobre la placa con cierta inclinación, a la vez agitando para que no se sedimente.

Pataki, después de ciertas prácticas, comparó las desviaciones de los valores R_f con las placas preparadas con este método y las preparadas con extendedores, resultando estas últimas que la reproducibilidad es mejor que en las anteriores.

Como se dijo al principio, no es necesario aparatos especiales, pero sí requiere trabajo y no es económico, de aquí que es dudoso que en el futuro adquiera importancia práctica.

b) El de Inmersión

Este se hace con dos placas de vidrio que tengan igual tamaño y se arreglan de manera que tengan contacto, la superficie de una con la superficie de la otra, es decir, cara a cara y se sumergen en la suspensión del sorbente preparado. Es decir, que las placas se recubren en una superficie; el solvente se evapora rápidamente de la capa.

Para activarla se seca en un "hot plate" durante 1 a 3 minutos.

c) El de Extendedores

Existen dos clases de extendedores, uno en donde el grosor de la capa viene fijo, y otro que es móvil, es decir, puede ser regulado por medio de tornillos.

La masa a extender, por ejemplo Silicagel G, se prepara de la siguiente manera: pesar 25.0 g. de silicagel G y mezclarlos con 50 ml. de agua destilada, removiéndolos en un mortero o agitándolos fuertemente en un erlenmeyer cerrado. La suspensión fluida se endurece a causa del yeso contenido. De aquí que hay que llenar el extendedor inmediatamente después de haberlo preparado, previamente haber graduado el grosor deseado de la capa en el extendedor.

Cuando la masa fluida está en el recipiente del extendedor, se hace girar la palanca 180° hacia la izquierda, de tal manera que en la flecha roja se vea claramente la abertura que es necesaria para la entrada de aire. Se espera que la masa asome y se comienza a recubrir. Uno se sitúa frente a la parte media de la plantilla y se sujeta al extendedor con ambas manos y se desplaza sin hacer presión sobre la placa.

Luego, al llegar al final, la palanca se gira nuevamente los 180° a la derecha, con el objeto de que no haya salida de líquido.

Después de que se ha hecho el recubrimiento, se afloja el tornillo que se halla lateralmente sobre la flecha y se saca, para poder limpiarlo.

Para llevar a cabo la limpieza, se cepillaron con agua corriente cada una de las piezas del aparato y luego se enjuagan con agua destilada. Esta limpieza se debe hacer con gran cuidado para que no sufra rasguños o golpes; ya que debe estar siempre

la superficie lisa.

Los extendedores fijos, son los llamados de Tipo Kirchner.

Después de prepararse, las placas pasan, empujándose una con otra; la base del extendedor debe estar fija.

Los de tipo movible, son los llamados de Stahl; el movimiento del extendedor pasa a través de una línea de placas bien alineadas.

d) Procedimiento de Atomizador

Este método se lleva a cabo por medio de atomizadores o pulverizadores, por ejemplo, una pistola de spray en donde la suspensión se pone en el depósito de ella, el cual sale por medio de un flujo de aire.

Además, existen los recubrimientos en forma automática; también hay las llamadas cromatoplasmas y cromatofolios, en donde las placas y folios vienen listos para ser usados.

Cuando se requiera recubrir capas con distinto grosor, se ordenan de tal manera que la de mayor espesor sea la primera, y la última de menor espesor.

Puede recubrirse con otro método y es que las placas de vidrio se oprimen desde abajo contra dos carriles guía por medio de una bolsa inflable; el aparato se desplaza con ayuda de un motor.

Además están los de fabricación propia, de material plástico, pues a veces se usan suspensiones que -

contienen nitrato de plata y los de metal son atacados; a veces se usan barras de vidrio con los extremos reforzados con argollas de goma o de plástico.

La suspensión se vierte sobre la placa de vidrio y se alisa la capa pasando la barra de vidrio sobre la placa.

Sobre estas placas, las cuales están preparadas manualmente, no es recomendable cromatografiar bidimensionalmente, además, los efectos de borde determinan una mayor o menor velocidad de desplazamiento.

Existen unas capas con gradientes y es cuando la composición del soporte en una dirección varía en forma progresiva. Daremos un ejemplo para la elaboración de una capa Kieselgur-silicagel con gradiente, se hace lo siguiente:

20 g. de Kieselgur G se agitan en un matraz con 45 ml. de agua destilada, hasta obtener una suspensión uniforme. En otro matraz se mezclan 18 g. de silicagel HF con 45 ml. de agua.

Las suspensiones se vierten una en cada una de las dos cámaras distribuidoras. Deberá cuidarse que las cámaras se rellenen uniformemente en toda su longitud. La capacidad de separación de una capa de cierto espesor, depende principalmente de la calidad del adsorbente y como complemento el método de aplicación.

Después del recubrimiento, las placas deberán pasar a secado, llevándose a cabo así: 10 minutos de reposo hasta que se opaque la superficie recubierta, de

preferencia se secan durante toda la noche.

Para obtener un buen secado, pasa por las siguientes etapas:

- a) La superficie de la capa inicialmente está fluida con cierto brillo;
- b) Después de unos minutos se vuelve un poco opaca; y
- c) Cuando la mitad del contenido de agua se ha evaporado, la capa se vuelve blanca opaca.

Luego pasan al proceso de Activación, donde se ponen en un armario secador con calentamiento de 105°C durante 30 minutos; pero si se necesitan más activas, la temperatura y el tiempo se aumentan.

Las placas deberán ponerse con el lado recubierto hacia arriba.

Para conservar las placas se deberán poner en un desecador o en un armario de conservación de placas. - Cuando las placas se ponen calientes, el grifo del desecador debe permanecer abierto conectado a un tubo de secado que está lleno de gel azul; para que el aire húmedo no desactive la placa y que la proteja de los vapores de laboratorio.

El desarrollo de las placas se lleva a cabo en recipientes de vidrio con tapón esmerilado o en cubetas sandwich que son aconsejables cuando se usan solventes de mucha volatilidad y para los cromatofolios. - Siempre hay que recordar de marcar con un lápiz de punta aguda el frente de la placa, como también de marcar los puntos en donde se ha puesto la sustancia

problema.

2.3 Cámaras Separadoras

Para cromatografía de capa fina descendente, horizontal, técnica circular y técnica de gradiente, es necesario cámaras separadoras especiales.

El material de las cámaras es preferible de vidrio, aunque puede usarse plástico o acero inoxidable.

Stahl dijo que la evaporación en la superficie y el volumen de la cámara tenían cierta relación,

Esta relación es de 1:20 en cámaras rectangulares y 1:0.1 a 0.5 en otras cámaras,

De aquí que es de mucho significado la saturación de las cámaras y así eliminar los efectos de borde.

Los efectos de borde ocurren especialmente cuando la mezcla de solventes que se usan tienen una diferencia de polaridad grande, además de su densidad y su densidad de vapor.

El efecto es debido a la no adecuada saturación de las cámaras. Una buena y eficaz saturación es la de agitar la cámara, también poniendo papel filtro impregnado de eluyente, en las paredes de las cámaras.

Cuando la cámara no está bien saturada, los valores de R_f son menores, como también la humedad relativa de las cámaras.

Las separaciones se llevan generalmente a temperatura ambiente; sin embargo, necesitan protegerse de la luz, temperatura y oxidación.

En el caso de las separaciones del caroteno, siendo éste sensitivo a la luz, se trabaja en cámaras cubiertas con aluminio negro o se trabaja en cuartos oscuros con luz roja o verde.

Para protegerlas de la oxidación se puede hacer una preparación de caja que se llenan de dióxido de carbono o nitrógeno y se coloca encima de las placas durante la separación.

2.4 Eluyentes y Adsorbentes

En la cromatografía hay un sistema de tres componentes como mínimo: adsorbente, medio de elución y compuesto cromatografiado.

El comportamiento cromatográfico depende tanto del adsorbente como del medio de elución.

El número de adsorbentes disponible es limitado, mientras que los eluyentes son varios.

Una generalidad es que, si se usa un adsorbente fuerte, el disolvente que se requiere deberá ser de fuerte poder de elución y viceversa. De aquí que ambos se hayan clasificado en serie. Así tenemos una serie de eluyentes clasificados según su poder de elución creciente. A esta serie se le llama Serie Eluótopa, la siguiente la clasificó G. Wohlleben.

n- pentano

Eter de petróleo

n- hexano

n- heptano

Ciclohexano

Tetracloruro de carbono

Tricloroetileno

Benceno

Diclorometano

Cloroformo

Diethyléter

Acetato de etilo

Piridina

Acetona

n- propanol

Etanol

Metanol

Agua

Entre los adsorbentes de uso comercial para la Cromatografía de Capa Fina, se pueden citar los siguientes:

El principal y más comunmente usado es el silicagel, el cual contiene un trece por ciento de yeso y sus gránulos son de cinco a veinticinco micras, específicamente es el llamado Silicagel G.

El Silicagel H no contiene yeso, ni aglutinantes orgánicos, sus gránulos son del mismo tamaño del Silicagel G., pero su pureza es más elevada y además su masa extendida se puede conservar durante algún tiempo.

Además de obtenerlos puros, se pueden obtener con indicadores de fluorescencia y son los llamados Silicagel G F₂₅₄ y H F₂₅₄; dicha fluorescencia viene dada por un silicato de zinc activado con manganeso.

Además de los anteriores, existen otros con características individuales o propias. El Oxido de Aluminio actualmente es poco usado; sin embargo, hoy en día existen diferentes clases: el Oxido de Aluminio G que tiene reacción alcalina, el Oxido de Aluminio TLC que no contiene aglutinante y su reacción alcalina es muy débil.

Existen otras clases de óxidos de aluminio, como el DS -0 sin yeso, y el DS-5 con 5% de yeso; al igual de los anteriores, hay con indicadores de fluorescencia del tipo DSF_{254}^0 y DSF_{254}^5 .

Por lo práctico, las casas comerciales han tirado al mercado muchas otras clases de adsorbentes, de los cuales se pueden citar: el Kieselgur, silicato magnésico, silicato cálcico, hidroxapatito, celulosa acetilada, poliamida, polietileno, sephadex y otros.

2.5 Elaboración de Cromatogramas

Se puede hacer por los siguientes métodos:

Cromatografía Ascendente

Regularmente se hace en vasijas que contienen eluyente, el cual deberá quedar a unos 0.5 a 1 cm. de altura, teniendo la cámara saturada, lo cual es de suma importancia.

Cuando se van a colocar varias placas en una cámara, no deberán estar muy cerca, más que todo en la base, pues podrían ascender entre las placas fases móviles. Si el espacio entre ellas es pequeño, es necesario impregnar papel filtro con eluyentes y pegarlo al dorso de cada placa, de tal manera que la parte -

inferior esté sumergida en el líquido revelador o eluyente. Si no es así no habría una buena saturación en la cámara.

Siendo el caso de varias placas, éstas deberán sacarse todas simultáneamente y nunca debe abrirse la cámara para sacar una placa y seguir cromatografiando.

Como trayecto bastan 100 mm., pero si las diferencias de velocidades son pequeñas, su trayecto debe aumentarse.

Hay que tomar en cuenta que cuando es mayor el trayecto, la difusión perturba y así se reduce la sensibilidad de comprobación.

Cuando el líquido llega a la línea límite, deberá sacarse inmediatamente la placa.

La concentración de los eluyentes es mucho menor en las proximidades del frente que en el origen, de aquí que el transporte de la sustancia no cesa en el instante en que el eluyente llega a la línea límite. Se desplazan todavía más; el valor R_f final será entonces aproximadamente 1.1 veces mayor.

Los valores R_f multiplicados por 100 son los llamados $h R_f$.

El frente del eluyente se marca inmediatamente de haberse sacado la placa y se secan las placas ya sea a temperatura ambiente o en un armario secador a temperatura elevada.

Cromatografía Continua

El aparato a usarse es un dispositivo sencillo, en la

parte superior de la placa se coloca una lámina de aluminio o una chapa de cobre en un ángulo de 35° a 45° obteniéndose un recipiente en forma de V que se llena con adsorbente seco.

Si se usa la lámina de aluminio, se fija a la placa con un alambre, y si es la chapa de cobre, con tornillos.

El adsorbente seco se pone arriba, el eluyente va ascendiendo y así se satura el adsorbente.

Este método tarda de 6 a 8 horas o toda la noche, aunque en algunos casos, al cabo de 2 horas se obtiene una buena saturación.

Cromatografía Descendente

Dentro de un recipiente aproximadamente de 20 x 15 x 23 cm., tapado herméticamente, se coloca una cubeta de reserva en la parte superior.

En esta cubeta se pone una tira de papel cromatográfico de la anchura de la placa. Por fuera de la cubeta está el remanente de rollo que se sujeta con una barra de vidrio, éste recibe eluyente de la cubeta de reserva; debe ponerse una segunda cubeta con adsorbente seco en la parte inferior y así el eluyente es absorbido.

Cromatografía Bidimensional

Cuando los componentes de una mezcla de sustancias no se pueden separar en una dirección, se cromatografía en dos direcciones y es la llamada Bidimensional.

Las soluciones a analizarse A-B-C Lámina A, (figura 1) se aplican a 2 ó 3 cms. de un ángulo y se cromatogra-

fía con eluyentes 1 en dirección 1.

Luego se saca de la cámara y se seca. Vemos en Lámina A, (figura 2) que las sustancias están parcialmente separadas y se encuentran paralelas y alineadas - al borde de la placa.

Nuevamente se colocan en un segundo eluyente de mangra que ascienda en dirección perpendicular a la primera, separándose C.

En el caso de una sola sustancia, se cromatografía en las dos direcciones de los eluyentes cortándose en un punto, Lámina A, (figura 3).

Además de los métodos ya citados, se encuentran otros, como por ejemplo, la Cromatografía horizontal, pudiéndose llevar a cabo por tres técnicas distintas: circular, centrífuga y horizontal propiamente dicha.

LAMINA A

FIGURA 1

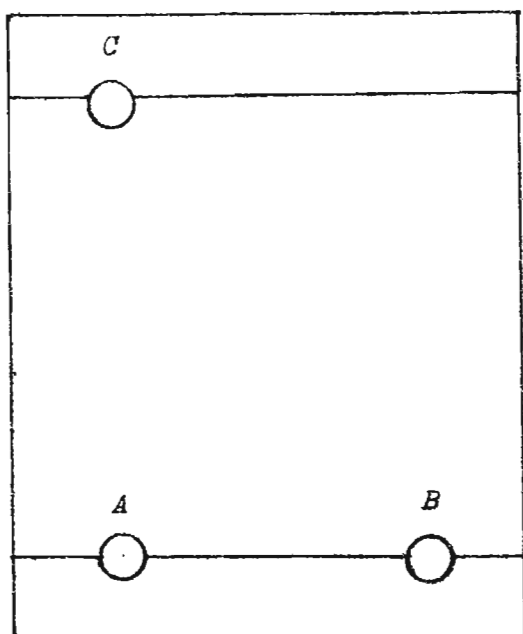


FIGURA 2

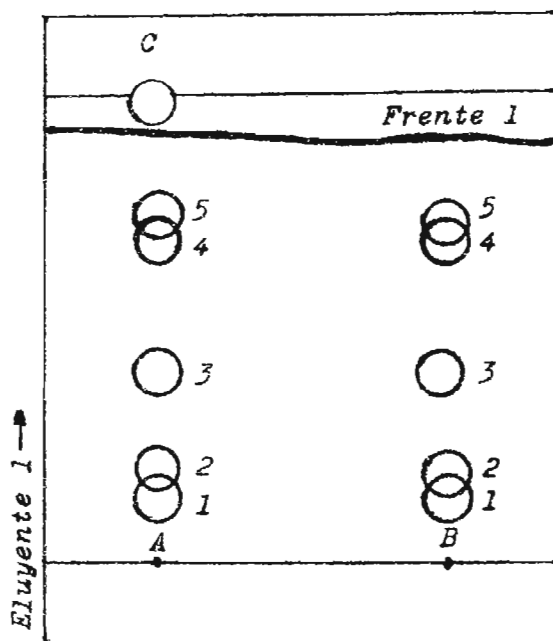
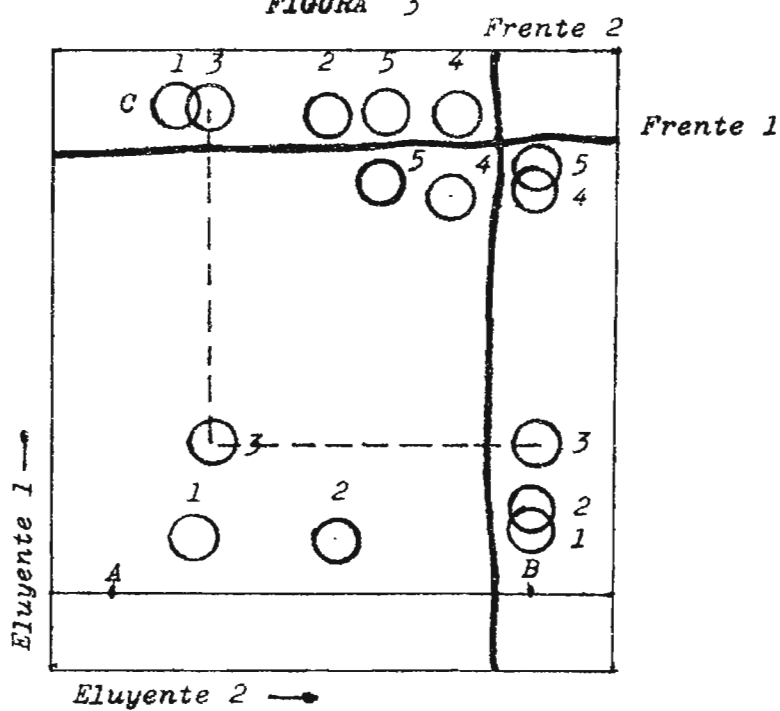


FIGURA 3



CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL

2.6 Métodos de Comprobación

Dado que algunas sustancias no son reconocibles por su color, es necesario la ayuda de los métodos de comprobación, de los cuales indicaremos algunos.

Por la absorción de luz o fluorescencia se vuelven invisibles, es así que se observan en la luz ultravioleta, ya sea de onda corta o larga, agregándose sustancia luminosa a la capa la cual fluoresce.

Como ya se dijo, en el comercio existen adsorbentes que traen sustancias fluorescentes.

Cuando se elaboran las placas, a la masa soporte se le agrega una solución acuosa de indicadores fluorescentes. Cuando se termina la Cromatografía, se pasan a una temperatura de 110°C y se dejan por 5 a 10 minutos al aire y luego se observan en la luz ultravioleta de onda corta.

Muchas combinaciones no tienen color propio, ni absorción de luz, ni fluorescencia, entonces se hecha mano a reactivos de comprobación especial; estos reactivos pueden aplicarse por medio de un pulverizador sobre la capa. Esta aspersion atomización no debe ser excesiva, pues las manchas se difunden.

Los reactivos que se usan pueden ser agresivos, como por ejemplo, ácido sulfúrico concentrado, sulfocrómico o una combinación de sulfúrico-nítrico.

A veces, la acción del vapor de yodo hace visibles combinaciones orgánicas, donde nada más se une físicamente en la mayoría de los casos. Este método se sigue así: en un recipiente cerrado se colocan en el

fondo, granos de yodo, este recipiente se coloca en baño de maría para producir vapores abundantes. Las coloraciones son marrones, las cuales si se han asperjado con almidón al 1%, son azules.

2.7 Conservación de Cromatogramas

Es aconsejable pulverizar una sustancia de dispersión plástica transparente especial sobre la capa, esta dispersión se endurece y así resulta una película flexible que puede ser retirada de la placa con sumo cuidado, y así es guardada indefinidamente.

2.8 Determinación Cuantitativa de Cromatogramas

Esta valoración se hace al igual que en la de papel, debiendo tomarse en cuenta un 5 a 10% de error.

Es conveniente que antes de usarse las placas deben estar limpias.

Los métodos con que se pueden valorar se dan a conocer:

1º) Método de Comprobación

Se hace por medio de mediciones de la superficie de las manchas, siendo ésta dependiente de la cantidad de sustancia aplicada.

Para hacer la medición, se puede transferir a papel milimetrado, donde se encuentran los milímetros cuadrados. Sobre una curva calibrada se anotan las cantidades de sustancia en función de la superficie. La superficie absoluta depende del espesor y la actividad de la capa separa-

dora, teniendo cuidado para que los resultados sean exactos; puede hacerse también cromatografiando cantidades conocidas y comparando el tamaño relativo de las manchas.

Es suficiente determinar para cada concentración el valor medio de varias determinaciones obtenidas en condiciones normales con placas de espesor igual y dándoles el tratamiento previo idéntico. Para unos límites de concentración media en capa fina, existe una proposición entre la superficie de las manchas y el logaritmo de la cantidad de sustancia aplicada.

La medición de las manchas puede hacerse por medio de un planímetro.

Para límites de mayor concentración hay una proporcionalidad entre la raíz cuadrada de la superficie de la mancha F y el logaritmo de la cantidad aplicada M .

$$\sqrt{F} = a \times \log M + b.$$

siendo a y b constantes individuales.

2º) Método de Dilución

Se elaboran varias diluciones de la sustancia problema y se determina el límite inferior de comprobación de Cromatografía de Capa Fina. De la solución desconocida se cromatografía varias diluciones, de ser posible en la misma placa y se determina qué dilución puede comprobarse.

Conociendo el límite inferior de comprobación y el factor de dilución puede calcularse la cantidad desconocida.

3º) Fotometría

Se deben confeccionar curvas calibradas con cantidades conocidas de la sustancia a determinarse.

Las manchas se valoran con un fotómetro después que han sido colocadas con algún reactivo.

Luego, el cromatograma se pasa por una ventana delante de una célula fotoeléctrica en donde se grafican las oscilaciones que se miden.

2.9 CUADRO GUIA PARA RESULTADOS CROMATOGRAFICOS

Clase de compuesto:.....

Literatura:.....

Capa adsorbente:.....

Espesor de la capa:..... tamaño:.....

Preparación y secado:.....

Tipo de cámara:..... Técnica de separación:..

Estado de saturación de la cámara:.....

Longitud de corrida:..... tiempo de corrida:.....

Composición del solvente y volumen total:.....

Datos de pureza de los componentes del solvente:....

Solvente y concentración usado para la aplicación:..

Distancia entre el punto de origen y el borde:.....

Cantidad aplicada:.....

Marcas especiales:.....

..... Fecha:.....

Sustancia	hR_f	hR_f	hR_f	Detección y sensibilidad
1	_____	_____	_____	_____
2	_____	_____	_____	_____
3	_____	_____	_____	_____
4	_____	_____	_____	_____
5	_____	_____	_____	_____
6	_____	_____	_____	_____
7	_____	_____	_____	_____
8	_____	_____	_____	_____
9	_____	_____	_____	_____
10	_____	_____	_____	_____

B I B L I O G R A F I A

1. STAHL, EGON

Thin-Layer Chromatography.

Springer-Verlag

2ª edición

1969

Berlín-Heidelberg - New York

Págs. 1 a 151.

2. RANDEATH, KURT

Enciclopedia de la Química Industrial

Tomo VIII

Ediciones Urmo, S.A.

2ª edición

1970

España

Págs. 1 a 92.

3. ABBOT, DAVID y ANDREWS, R.S.

Introducción a la Cromatografía

Editorial Alhambra, S.A.

2ª edición

1970

España

Págs. 1 a 30.

4. MERCK

Información Técnica sobre Cromatografía

de Capa Fina.

SEGUNDA PARTE

PRACTICAS DE LABORATORIO

I - INTRODUCCION

Las mismas limitaciones que en un principio se señalaron para la tarea de investigación teórica, habrán de tomarse en cuenta para el desarrollo de la etapa experimental.

Sin embargo, con el objeto de obtener óptimos resultados, se ha operado con las marchas que de acuerdo a las indicaciones de los autores, son las más efectivas. El instrumental y los diferentes reactivos se han tratado de adecuar lo más exactamente posible a las condiciones requeridas. Si bien es cierto, que no se ha tenido a la mano el material químico sofisticado que los expositores señalan en sus tratados, sí se ha contado con el suministro básico para poder seguir los pasos necesarios y llegar a resultados analíticos aceptables.

Una de las primera providencias que se tomaron para conocer el uso industrial de la Cromatografía de Capa Fina como método analítico, fue el abocarse al sector que con más propiedad se suponía familiarizado con el mismo.

Como es conocido por todos, la comercialización de las grasas y aceites y los productos derivados está representada en nuestro medio por grandes y medianos empresarios. La explotación casera de estos productos ha sido virtualmente eliminada y la producción en la mediana empresa no necesita de mayores comentarios por lo primitivo y rústico de sus procedimientos.

Sin embargo, se trató de llegar a ese número reducido de grandes fabricantes, habiéndose escogido una reconocida Empresa para indagar y estimar los alcances que un método tan novedoso aportaría al control de calidad.

Se tenía en mente proyectar algunas consideraciones de tipo técnico sobre lo que se estaba haciendo al respecto y lo que

se podría hacer si se coordinan estudios y aptitudes.

Lamentablemente, por razones ajenas a nuestra voluntad, no se logró el acceso a las fuentes necesarias. Como suele suceder en esta clase de trabajos, en que se requiere la cooperación y colaboración de muchos, algunas estimaciones fallan a pesar de los esfuerzos que se intenten para superarlas.

Dicho lo anterior, se procedió a fijar con algunos criterios que se tuvo a la mano, el estado actual de las Industrias de Aceites y Grasas.

II - GENERALIDADES

Dentro de los fabricantes que laboran con el aceite y las grasas, podemos distinguir dos clases: los que trabajan directamente con aceite y grasas, y los dedicados a obtener sus derivados.

Los diferentes procesos y equipos hacen que haya calidades diferentes.

Actualmente, para la preservación de aceites y grasas se están usando productos comerciales preparados, al grado que ya se especifica la cantidad necesaria de agentes oxidantes y sinérgicos para agregar a una determinada cantidad de producto. Generalmente estos productos traen BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno), ácido ascórbico, ácido sórbico, ácido cítrico, ácido benzoico.

Asimismo, por ejemplo, para deodorizar el aceite se usa el carbón activado y como medio de clarificación el uso de la tierra de infusorios. Las mantecas provienen generalmente de hidrogenar el aceite poniendo níquel como catalizador. La manteca se deodoriza por el mismo método.

Para la preparación de margarina, no existe propiamente un proceso, sino que una mezcla en donde se agregan uno a uno los ingredientes y los aditivos para luego empacar.

Igual que en los aceites, se ocupan preparados comerciales que contienen preservativos, antioxidantes y sinérgicos, colorantes (regularmente B caroteno), vitaminas, cloruro de sodio y aromatizantes.

El control de calidad en la Industria es diferente, ya que en unos casos los fabricantes se preocupan porque el producto

tenga apariencia externa aceptable, y otros consideran que - el sabor y rendimiento es más importante. En general, estas empresas cuentan con laboratorio de control de calidad aunque no se lleva a cabo todos los análisis, y de ahí la baja calidad del producto.

Entrando en materia, se hace necesario detallar ciertos aspectos propios de los productos a tratar.

Aceites Grasos

Son los cuerpos grasos que a temperatura ordinaria son líquidos; todos son ésteres de glicerina con varios ácidos poco hidrogenados de la serie eténica.

Los principales ésteres glicéridos de estos aceites proceden del ácido oleico $C_{18}H_{34}O_2$; ácido aráquico $C_{20}H_{40}O_2$; ácido linólico $C_{18}H_{30}O_2$; y el ácido linoleico $C_{18}H_{30}O_2$.

Los aceites grasos se encuentran en las semillas de muchos vegetales como aceitunas, almendras, linaza, ricino, algodón, cacahuete, coco, etc.

Su extracción se puede hacer por dos métodos: prensado y por disolventes. El primero de ellos generalmente se usa para los aceites comestibles. El proceso a seguir es de pulverizar o triturar en muelas de hierro o piedra la semilla, y la harina obtenida se presiona en prensas hidráulicas.

Los aceites pueden clasificarse por el tratamiento que han pasado: Aceite Crudo, Aceite Refinado y Aceite Puro.

El aceite crudo se obtiene por compresión mecánica o por extracción por medio de solventes. Este aceite no recibe ningún tratamiento físico ni químico.

El aceite refinado pasa por procesos de purificación que comprende varias etapas, a saber: lavado, neutralización, sedimentación, filtración, clarificación y deodorización. Además de los anteriormente dichos, se recomienda el de winterización, el cual es un proceso donde se somete el aceite refinado a bajas temperaturas, para que los glicéridos sólidos se vuelvan insolubles y se precipiten.

El aceite puro es una recolección de aceites de una sola especie vegetal.

Grasas

Son los cuerpos grasos sólidos a la temperatura ordinaria. - Esto se debe a que predominan en su composición ésteres de ácidos saturados. Las grasas abundan, ya sea vegetales o animales. Se clasifican en dos grupos: mantecas y sebos.

Mantecas

Son cuerpos grasos y blandos a la temperatura de 25°C a 35°C. La manteca artificial o margarina se extrae del sebo del buey o del sebo de la vaca.

Aceites y Grasas Hidrogenadas

Se les llama a los productos sólidos obtenidos de la hidrogenación catalítica de aceites y grasas vegetales comestibles.

Este aceite es preparado a partir del aceite refinado en buen estado de conservación, utilizándose generalmente níquel como catalizador, el producto debe deodorizarse después, debe de estar exento de impurezas, suciedades, mohos y microorganismos patógenos.

La margarina es un producto de consistencia plástica, el cual es una emulsión de agua y leche en grasa y/o aceite o de leche en grasa y/o aceite. Para su obtención se emplea aceite

o manteca vegetal o animal o la combinación de aceite y manteca.

El medio emulsionante puede ser agua potable o leche fresca o en polvo.

Los aditivos que pueden ser agregados, son:

Colorantes : Beta caroteno que tiene propiedades de vitamina.

Preservativos : Acido benzoico o benzoatos, ácido sórbico o sorbatos.

Agentes sinérgicos : Acido cítrico o citratos o ácido fosfórico.

Antioxidantes : BHA (butil hidroxil anisol)
BHT (butil hidroxil tolueno) o ambos.

Vitaminas : Vitamina A, D y E.

Cloruro de Sodio.

En el actual trabajo se analizará, siguiendo el método de Cromatografía de Capa Fina, los aditivos que los cuerpos grasos puedan tener, a saber:

I - Antioxidantes

II - Preservativos

III - Pesticidas

IV - Vitaminas.

III - EXTRACCION DE GRASAS Y SEPARACION DE ADITIVOS

Para llevar a cabo estos métodos, se hace necesario extraer primeramente la grasa del producto comercial a investigar.- Los productos a que nos referimos, son: mantequilla, margarina, aceite y manteca.

El método con el cual se extrajo las grasas, fue el siguiente:

Se pesó 40 gramos de producto, y se dispuso en una ampolla de bromo o ampolla de separación, en donde se agregó 250 ml. de éter de petróleo con que se agitó hasta disolver todo el producto graso. Seguidamente se agregó 40 ml. de metanol absoluto con el objeto de separar dos capas, una etérea y otra metanólica, ambas con sus propiedades; la metanólica se pasó a un beaker. Luego se trató nuevamente la etérea con 20 ml. de metanol absoluto dando el resultado anterior: separación de dos capas y así se pasó la capa metanólica al beaker. Esta capa lleva en solución los aditivos a estudiar se, como son antioxidantes, preservativos, colorantes y pesticidas. La solución metanólica así separada se le agregó 20 ml. de agua destilada y se concentró a una temperatura de 40°C para luego ser enfriada a 0°C. Con este enfriamiento se precipitaron sólidos los cuales se separaron por filtración; el líquido filtrado se trata con 20 ml. de etil acetato con el objeto de quitar el agua para que no haya mucha dilución del aditivo y se agrega sulfato de sodio anhidro para mejor desecación.

De ahí se filtra nuevamente este líquido, se concentra hasta unos 5 mls. y con ello queda preparada la muestra para ser aplicada a las placas cromatográficas.

IV - ANTIOXIDANTES

Un método de conservación de los cuerpos grasos es agregar antioxidantes y sinérgicos, ya sea sólo o mezclados entre sí, con el objeto de conservarlos por más tiempo.

Un antioxidante, por ejemplo, es el BHA (butil hidroxil anisol) y el BHT (butil hidroxil tolueno), ácido ascórbico o sus sales, y ácido cítrico. Hay casas comerciales que venden los productos (antioxidantes) preparados y con la especificación de la cantidad que se debe agregar a determinada cantidad de producto.

En la mayoría de los países hay pocos productos permitidos para aditamento de las grasas alimenticias. Las grasas se extraen con alcohol acuoso y a continuación se separan los aditivos cromatográficamente pudiendo trabajarse sobre capas de silicagel G, óxido de aluminio, poliamida, carbonato de zinc/óxido de aluminio.

Hay dos clases de antioxidantes: naturales y sintéticos.

Antioxidantes Naturales

Los tocoferoles se preparan sobre capas de silicagel G y como eluyente cloroformo o capas de óxido de aluminio y eluyente benceno. Esta separación se hace según el número de grupos metilo, así tenemos tres clases: tocoferoles trimetílicos, dimetílicos y metílicos.

Además, de esta separación se puede obtener las impurezas naturales relacionadas con ella.

Asperjando con ácido fosfomolibdico los cromatogramas, aparecen primero los tocoferoles y después aparecen los demás componentes.

Haciendo el cromatograma en capas de silicagel G con una mezcla como eluyente: éter de petróleo (P.E. 60-80°C)/éter diisopropílico /éter dietílico/ácido acético glacial. (85:12:4:1:1) se obtiene una buena separación total del alfa, beta, gamma y delta tocoferol.

La vitamina E que es soluble en las grasas, ejerce una acción antiesterilizante. A partir del aceite de trigo y de otros aceites vegetales, Evans y Emerson han aislado dos tocoferoles: el alfa y beta tocoferol, que tienen como fórmula - $C_{29}H_{50}O_2$ y $C_{28}H_{48}O_2$ respectivamente. Estas sustancias por sí, son oleosas y líquidas. Ambas poseen acción vitamínica E.

El tocoferol beta es llamado cumotocoferol o neotocoferol.

Antioxidantes Sintéticos

Estos pueden separarse en una dirección o en dos direcciones; si se usa esta última, el eluyente 1 es el cloroformo y como eluyente 2 el benceno sobre capas de silicagel G; los eluyentes más ventajosos son mezclas de metanol/acetona/agua en proporción de 3:1:1 ó 6:1:3, sobre capas de poliamida.

PRACTICA Nº 1

La muestra extraída con el método anteriormente expuesto, se aplica con un capilar a las placas previamente hechas a mano, las cuales son capas de silicagel G, que tienen un espesor de más o menos 0.2 mm. Se inyectan 2 a 4 gotas con los capilares.

Esta aplicación debe hacerse gota a gota esperando que se seque la que ha sido puesta anteriormente para aplicar la siguiente.

La cámara está previamente saturada de eluyente, en este caso se usó como eluyente el cloroformo. Con la cámara ya preparada

se dispuso las placas con las cuatro muestras de los productos a investigar, su corrida se llevó a cabo en más o menos 2 horas. Se quitaron las placas hasta que el eluyente recorrió los 10 cm. y se dejó secar para luego rociarlos con ácido fosfomolibdico. Después de 3 a 4 minutos se exponen las placas a los vapores de amoniaco en donde el fondo era blanco y se vuelve amarillo y las manchas que son azules se vuelven más visibles. En este caso la detección fue negativa.

Se hizo un nuevo ensayo, cambiando únicamente el eluyente. - Se trabajó con metanol-acetona-agua (60:20:20).

La detección fue con ácido fosfomolibdico y luego con vapores de amoniaco siguiendo el método anterior.

En este ensayo, el resultado fue positivo para las cuatro muestras, siendo con menos visibilidad la manteca.

Como tercera vez se hizo una nueva corrida, con capas de silicagel G, eluyente: tetracloruro de carbono-etanol (70:30) el cual dio negativo y como último ensayo se hizo con eluyente éter de petróleo-benceno-ácido acético (40:40:20) dando como resultado negativo.

Debido a la polaridad, que es la base para que los eluyentes trabajen, no es posible que resultaran positivos todos los métodos llevados a cabo.

Siguiendo el método segundo, en el cual nos dio positiva la detección, el resultado fue el siguiente:

Distancia de las manchas al origen:

Mantequilla : 6.5 cms.

Margarina : 6.5 cms.

Aceite : 8.5 cms.

Manteca : 8.5 cms.

$$R_f = \frac{\text{distancia de la mancha al origen}}{\text{distancia del frente del eluyente al origen}}$$

$$hR_f = R_f \times 100$$

$$hR_f (\text{mantequilla}) = \frac{6.5}{10} \times 100 = 65$$

$$hR_f (\text{margarina}) = \frac{6.5}{10} \times 100 = 65$$

$$hR_f (\text{aceite}) = \frac{8.5}{10} \times 100 = 85$$

$$hR_f (\text{manteca}) = \frac{8.5}{10} \times 100 = 85$$

Comparándose los datos obtenidos y los datos de la tabla 139 del libro *Thin - Layer Chromatography*, de Egon Stahl, corresponden a $BHT = 94$ y $BHA = 63$.

Luego tenemos para cada uno de los productos, los siguientes porcentajes de error:

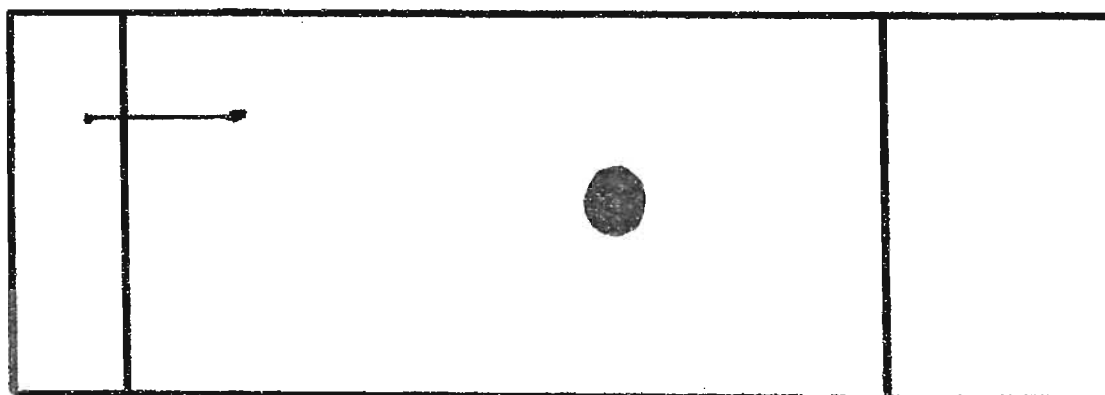
$$\text{Mantequilla} = \frac{65 - 63}{63} \times 100 = 3.17$$

$$\text{Margarina} = \frac{65 - 63}{63} \times 100 = 3.17$$

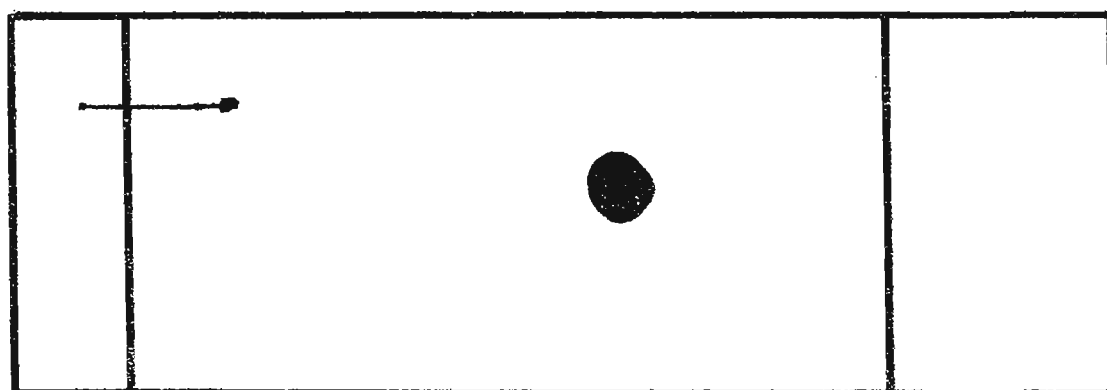
$$\text{Aceite} = \frac{94 - 85}{94} \times 100 = 9.57$$

$$\text{Manteca} = \frac{94 - 85}{94} \times 100 = 9.57$$

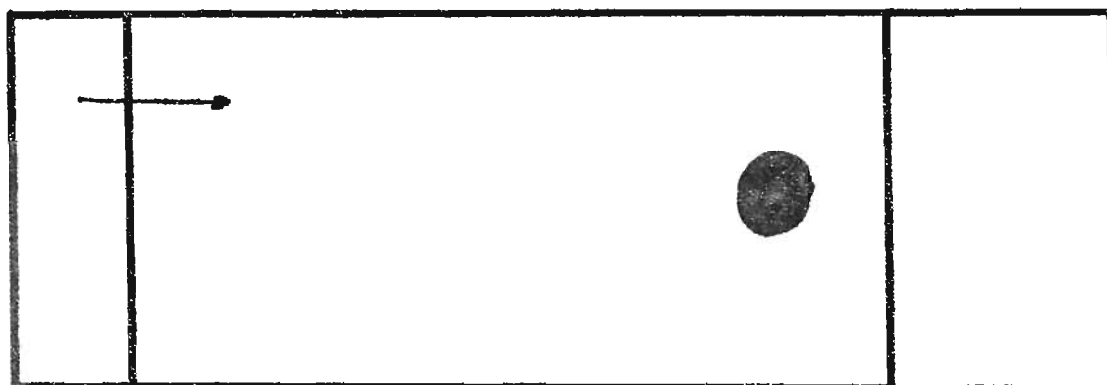
LAMINA B



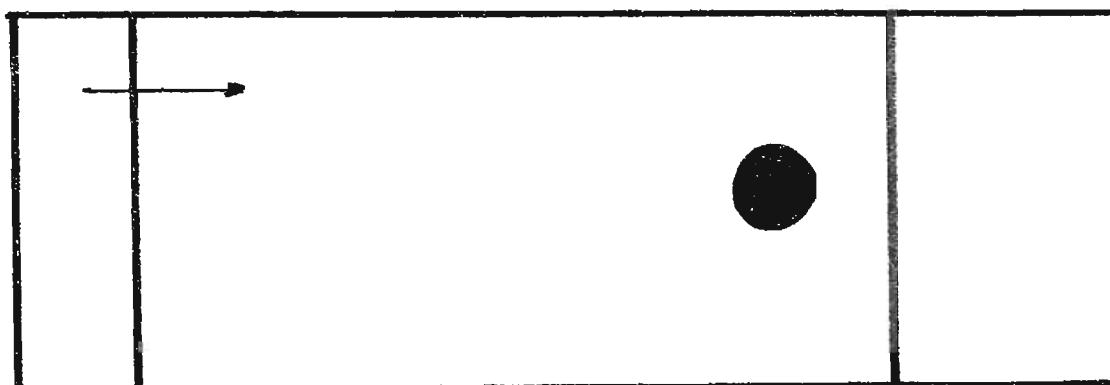
MARGARINA



MANTEQUILLA



ACEITE



MANTECA

RECOMENDACIONES

1. Los antioxidantes son aditivos imprescindibles en los alimentos y actualmente se importan en forma sintética para ser aprovechados por los fabricantes de aceites y grasas. Encontrándose, sin embargo, propiedades antioxidantes en algunos productos naturales, sería conveniente hacer el debido uso de ellos con el mismo objetivo.

CONCLUSIONES

1. Se obtuvo una detección positiva de Butilhidroxianisol (BHA) en los productos mantequilla y margarina, y para aceite y manteca se detectó Butilhidroxitolueno (BHT).
2. El control de antioxidantes por métodos cromatográficos en grasas y aceite, permite apreciar a primera vista la calidad del producto y el tiempo que tal producto conservará su calidad.

B I B L I O G R A F I A

1. *STHAL, EGON*
Thin - Layer - Chromatography
Springer - Verlag
2ª Edición
1969
Berlín - Heidelberg - New York
Págs. 631 a 636

2. *RANDERATH, KURT*
Enciclopedia de la Química Industrial
Tomo VIII
Ediciones Urmo, S. A.
2ª Edición
1970
España
Págs. 184 a 186

3. *SILVA, JOSE ANTONIO y RIVERA, AURA A. Z. DE*
Normalización de la Industria Alimenticia en
El Salvador. Estado Actual y Proyecciones de
Desarrollo.
Tesis
Universidad de El Salvador
El Salvador
1970
Págs. 38 a 40, 44 y 45

4. *Conversaciones sobre el Tema con la Doctora*
LILIAN NAVARRETE DE AYALA PINO
Jefe de Laboratorio de Control de Calidad
Agricultural Chemical de El Salvador, S. A.

V - PRESERVATIVOS

Los preservativos son sustancias que a semejanza de los antioxidantes, conservan por mucho más tiempo los productos alimenticios.

Su uso puede ayudar:

- a) Mantener la calidad de los alimentos; y
- b) Mejorar la estabilidad de ellos.

Hay una considerable cantidad de ácidos que se usan como preservativos teniendo unos más aceptación que otros en relación a sus propiedades. Los antimicrobianos, por ejemplo, evitan el crecimiento de hongos y en sus variedades podemos contar con el propionato de calcio, ácido propiónico, propionato y sorbato de sodio y ácido sórbico.

Por ejemplo, para el queso se recomienda el ácido caprílico, y en alimentos ricos en vitamina B se descarta el uso del bisulfito y metabisulfito de potasio, así como el sulfito, bisulfito y metabisulfito de sodio. El benzoato de sodio es preferido por su solubilidad en el agua y sirve en forma general aunque su cantidad de uso es limitada (0.1% lo máximo).

PRACTICA Nº 2

Al igual que en la anterior, se hizo la extracción para luego concentrar y poder aplicarse a las placas de silicagel GF₂₅₄. Estas placas se corrieron con eluyente éter de petróleo-éter dietílico-ácido acético (81:5:14) y vistas a la luz ultravioleta de onda corta, resultaron negativas.

Se hizo nuevamente la aplicación en placas de silicagel GF₂₅₄ y se cambió eluyente; en este método se corrió con pentano-

ácido acético (88:12). Luego fueron examinadas las placas ultravioleta de onda corta y se observaron manchas borrosas obscuras. La detección fue para las cuatro muestras: margarina, mantequilla, aceite y manteca, resultando positiva.

$$hRf(\text{mantequilla}) = \frac{6.5}{10} \times 100 = 65$$

$$hRf(\text{margarina}) = \frac{6.2}{10} \times 100 = 62$$

$$hRf(\text{aceite}) = \frac{6.3}{10} \times 100 = 63$$

$$hRf(\text{manteca}) = \frac{6.35}{10} \times 100 = 63.5$$

Como ya se dijo, los eluyentes no trabajan debido a su polaridad con respecto al adsorbente.

Para poder hacer referencia de los productos y la sustancia pura; se cromatografió el benzoato de sodio al 0.1% (acuoso) en placas de silicagel GF₂₅₄ y se colocó como eluyente pentano-ácido acético (88:12). Se detectó en lámpara ultravioleta, resultando lo siguiente:

hRf de 65.

Con este dato podemos encontrar para cada producto el margen de error, así tenemos:

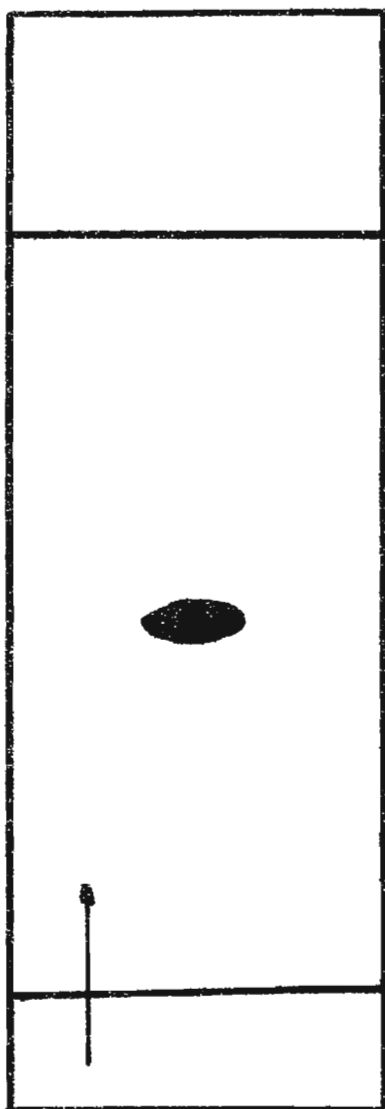
$$\% \text{ error (mantequilla)} = \frac{65 - 65}{65} \times 100 = 0$$

$$\% \text{ error (margarina)} = \frac{65 - 62}{65} \times 100 = 4.62$$

$$\% \text{ error (aceite)} = \frac{65 - 63}{65} \times 100 = 3.07$$

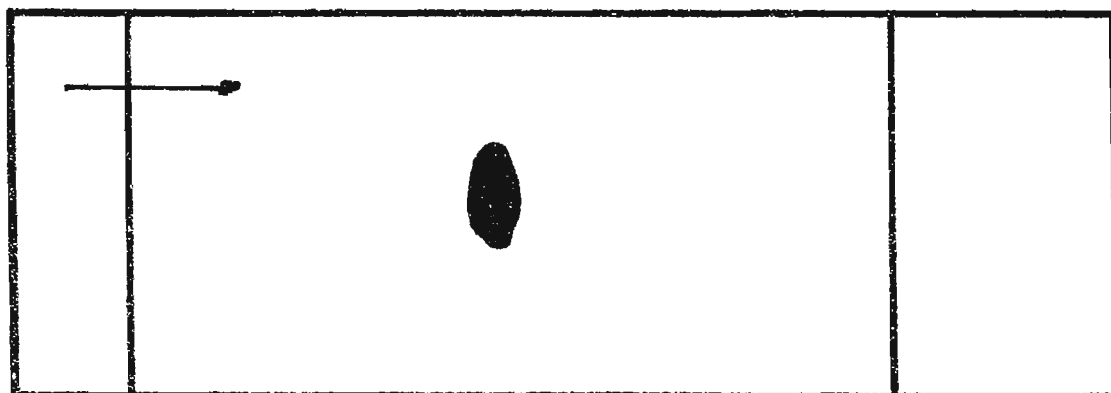
$$\% \text{ error (manteca)} = \frac{65 - 63.5}{65} \times 100 = 2.30$$

LAMINA C

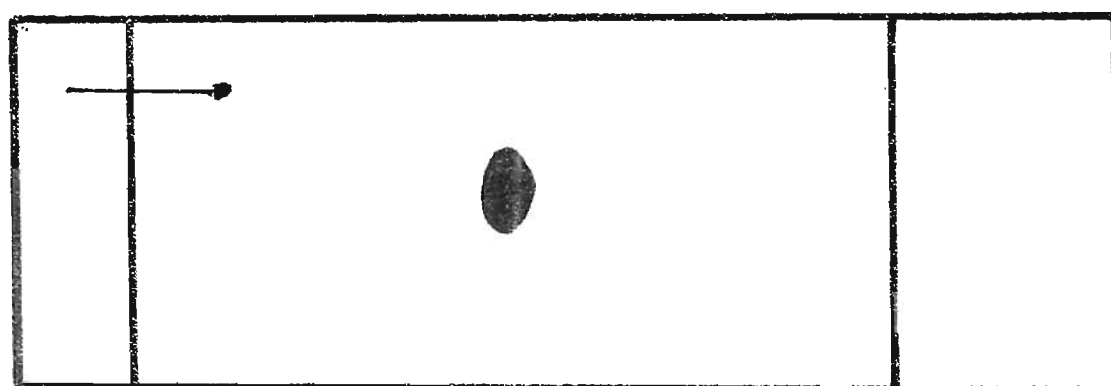


BENZOATO DE SODIO 0.1%

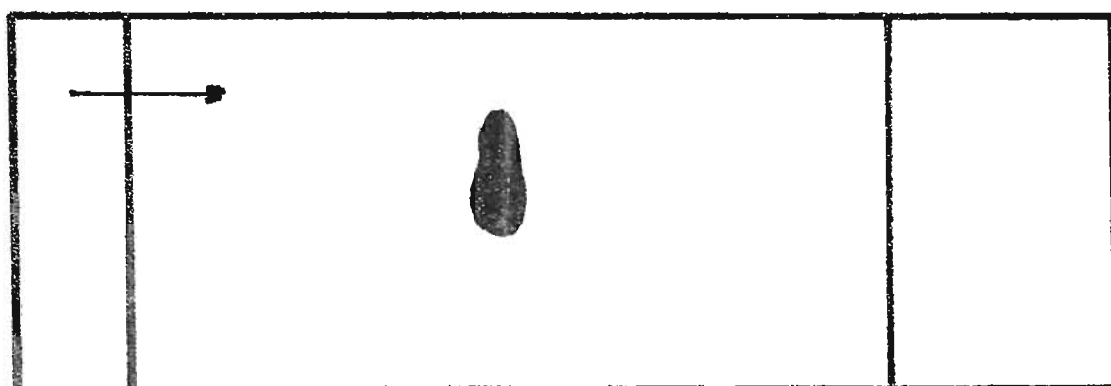
LAMINA D



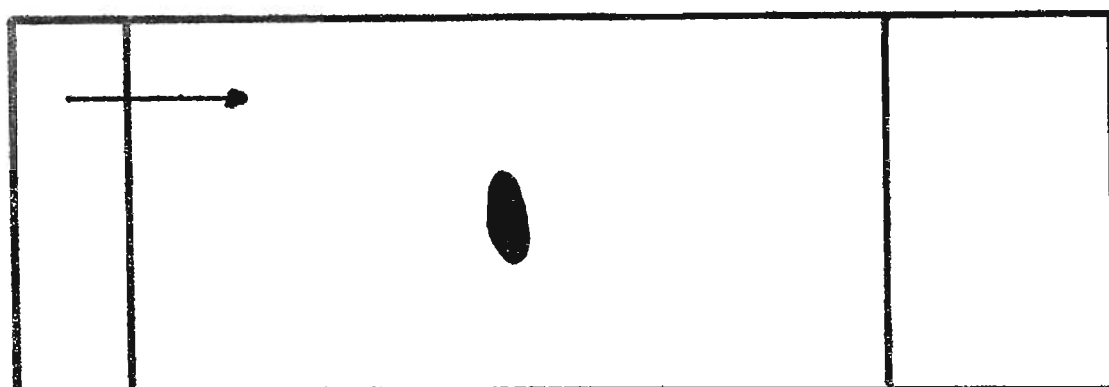
MARGARINA



MANTEQUILLA



ACEITE



MANTECA

RECOMENDACIONES

1. *Se hace necesario un análisis cuantitativo para determinar la cantidad de preservativo, que es conveniente usar como aditivo en los alimentos, ya que de sobrepasar los límites aconsejados se vuelve nocivo al organismo.*

CONCLUSIONES

1. *De acuerdo a las pruebas realizadas y los resultados obtenidos, los productos que fueron materia de análisis tienen preservativos.*
2. *Igual que los antioxidantes, el control de preservativos por Cromatografía de Capa Fina, nos indica el tiempo que el producto conserva sus propiedades organolépticas.*

B I B L I O G R Á F I A

1. STAHL, EGON

SPRINGER - VERLAG

2ª Edición

1969

Berlín - Heidelberg - New York

Págs. 636 a 638

2. DESROSIER, NORMAN W.

The Technology of Food Preservation

The Avi Publishing Co., Inc.

Edición III

Westport Connecticut

1970

Págs. 280 a 293.

VI - COLORANTES

Son sustancias agregadas a los diferentes productos para dar una mejor atracción visual al consumidor. Actualmente se está usando el betacaroteno, el cual es una sustancia que a su vez es rica en vitamina E.

Existen colorantes alimenticios sintéticos y naturales.

Entre los primeros, autorizados por algunas juntas que regulan el empleo de dichos colorantes y que no son tóxicos, tenemos los siguientes:

Amarillo sólido

Tartracina

Amarillo de quinolina

Crisoína S

Amarillo 27 175 N

Naranja G N

Amarillo Naranja S

Azorubina S

Rojo sólido E

Amaranto S

Ponceau brillante 4 R C

Ponceau cristal 6 R

Escarlata G N

Azul de Indanthreno R S

Indigotina I a

Negro brillante B N

Eritrosina extra azulado

Entre los colorantes alimenticios naturales se ocupan:

Caroteno

Colorante annato

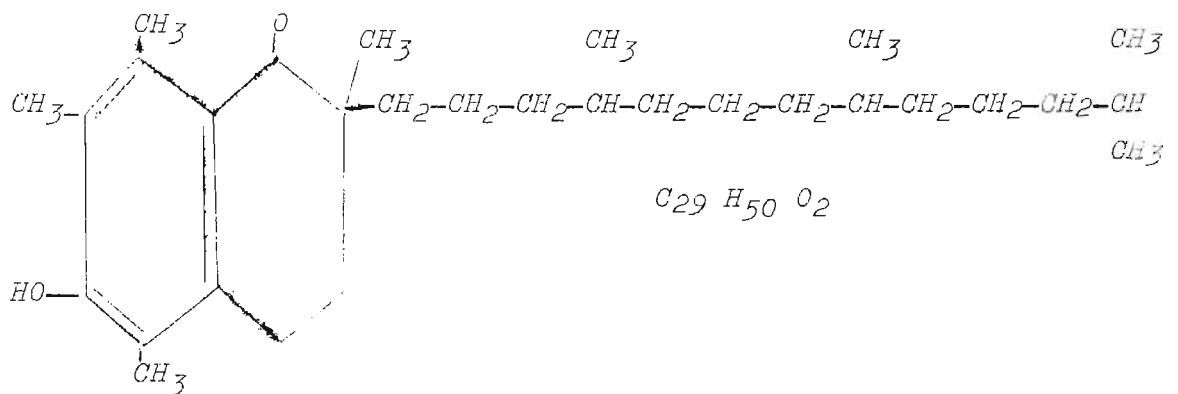
Colorante del pimentón

Cúrcuma de alimentos.

Los tocoferoles son antioxidantes potentes. Pertenecen al grupo de la vitamina E. El tocoferol gamma es el que tiene la máxima actividad antioxidante; le sigue el Beta y por último el Alfa, pero en actividad vitamínica siguen un orden inverso.

Además de ser ocupados en aceites y grasas vegetales, se ha comprobado su uso en grasas animales con una concentración no mayor de 0.03%.

Hay varios tocoferoles, pero el de mayor importancia es el alfa tocoferol, cuya fórmula es:



Se ha comprobado que la vitamina E (Beta Tocoferol) es un representante típico de un grupo de inhibidores que protegen a las grasas vegetales de la demolición o degradación de origen oxidativo.

PRACTICA Nº 3

Las muestras fueron extraídas siguiendo el método de las prácticas 1 y 2. Después de concentrarlas se dispuso inyectarlas en placas de silicagel GF₂₅₄ las cuales fueron elaboradas por inmersión; por medio de capilares se aplicó de las muestras en examen de 4 a 5 gotas, cromatografiándose como sustancia en

referencia la vitamina E.

Se corrieron con eluyente ciclohexano-éter etílico (80:20) para ser posteriormente observadas en la lámpara ultravioleta de onda corta y detectarse la presencia de aditivos colorantes en la margarina y mantequilla.

El resultado que se obtuvo, fue el siguiente:

$$hRf(\text{mantequilla}) = \frac{8.8}{10} \times 100 = 88$$

$$hRf(\text{margarina}) = \frac{8.5}{10} \times 100 = 85$$

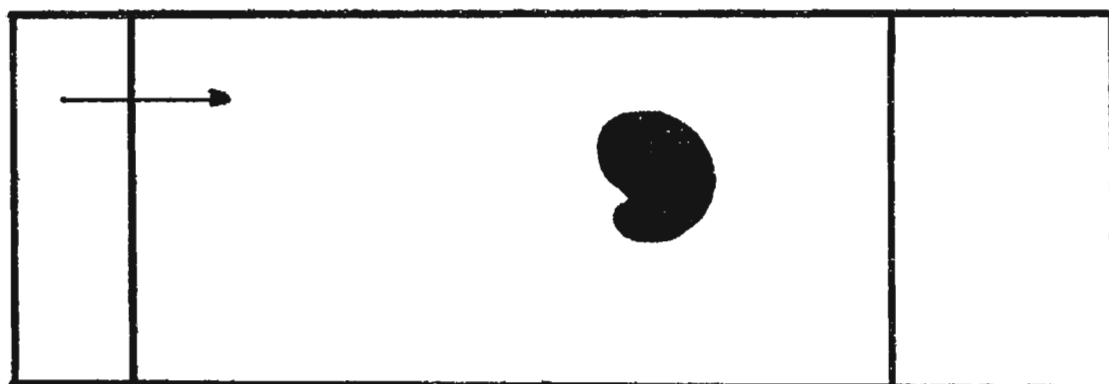
$$hRf(\text{vitamina E}) = \frac{8.5}{10} \times 100 = 85$$

Con esos datos, la relación para el porcentaje de error fue:

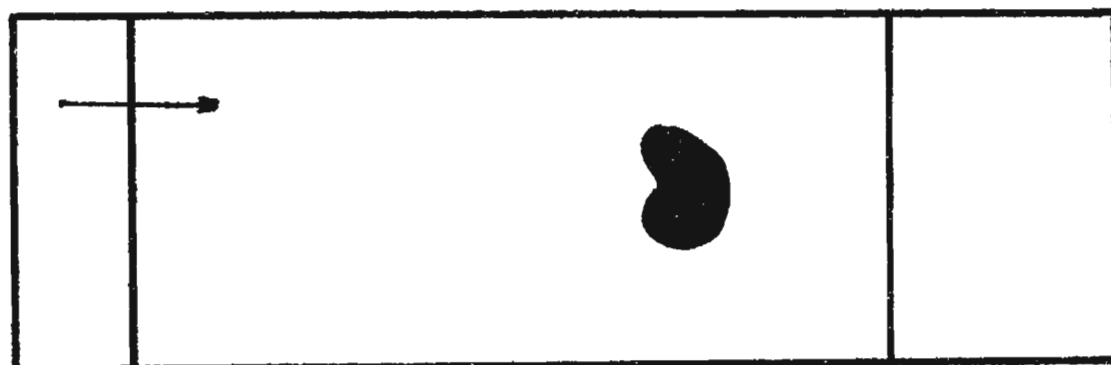
$$\text{Mantequilla} = \frac{88 - 85}{85} \times 100 = 3.52$$

$$\text{Margarina} = \frac{85 - 85}{85} \times 100 = 0$$

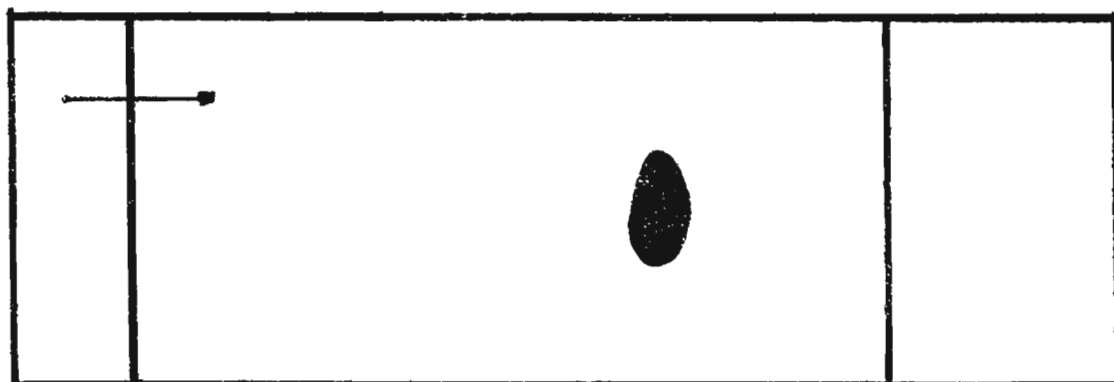
LAMINA E



MARGARINA



MANTEQUILLA



VITAMINA E

RECOMENDACIONES

1. *Habiendo una gran variedad de aditivos naturales con propiedades colorantes, sería conveniente que los fabricantes estudiaran la ventajas de su aplicación. Por ejemplo, el achiote es rico en vitamina A y sirve para los usos propuestos.*

CONCLUSIONES

1. *El colorante que de acuerdo a las pruebas efectuadas se detectó en la mantquilla y margarina, es el betacaroteno, ampliamente conocido por sus atributos vitamínicos. En el aceite y manteca, resultó el análisis negativo.*
2. *El control de un colorante del tipo del betacaroteno, se hace necesario no sólo por las características físicas del producto, sino porque tal producto tiene una intervención más profunda en las propiedades finales del producto terminado, como son la vitaminización y la protección.*

B I B L I O G R A F I A

1. STAHL, EGON
Thin Layer Chromatography
2ª Edición
Springer - Verlag
1969
Berlín - Heidelberg - New York
Págs. 283 a 288.

2. RANDEKATH, KURT
Enciclopedia de la Química Industrial
Tomo VIII
Ediciones Urmo, S. A.
2ª Edición
1970
España
Págs. 254 a 258.

3. GOTH, Dr. ANDRES
Farmacología Médica
Traduc. por Dr. Alberto Folch
5ª Edición
Editorial Interamericana, S. A.
México
1971
Pág. 538.

4. KIRTH, RAYMOND E. y DONALD F. OTHMER
Enciclopedia de Tecnología Química
Tomo I
1ª Edición
Editorial Hispanoamericana
México
1961
Pág. 990.

5. MERCK
Información sobre Cromatografía en Capa Fina
Folleto II
Identificación de vitaminas liposolubles
Emerck, Darmstadt Alemania.

VII - PESTICIDAS

Fuera de la utilidad normal para que fueron creados, estos productos representan un peligro constante para los animales de sangre caliente, incluyendo al hombre. Por lo expuesto, se hace necesario un análisis sensible y rápido para detectarlos.

Actualmente las sustancias con propiedades insecticidas de más importancia, son los ésteres del ácido tiofosfórico, - los hidrocarburos clorados y las piretrinas.

Para examinar el punto se ha seleccionado los hidrocarburos clorados o clorinados, pues ellos son difícilmente degradables.

Una diversidad de hidrocarburos clorados se usan como insecticidas, a saber: DDT (clorofenotano), clordano, hexaclorociclo hexano (lindano), Dieldrín, etc.

Estos pueden ser absorbidos cuando se ingieren y siendo también solubles en las grasas les es factible atravesar la piel. Se almacenan en cuerpos grasos y en dosis considerables llegan a producir la muerte de los organismos vivientes. En el ser humano los síntomas de tal envenenamiento varían desde la simple hiperirritabilidad hasta convulsiones graves que pueden lesionar por vida los órganos del cuerpo.

Por ese riesgo de intoxicación, existen tablas de tolerancia sobre los alimentos que anualmente se renuevan dándose a conocer por medio de boletines. Este control lo efectúan organismos gubernamentales en base a Codex Alimentarios estructurados por dependencias internacionales, como la OMS y la FAO. La Secretaría de Agricultura de los EE.UU. publica en forma periódica tablas de las cuales hemos recogido las

siguientes especificaciones:

Heptacloro	: 0 en carne.
Lindano	: 7 ppm en grasas animales.
Aldrín	: No hay tolerancia establecida. Se metaboliza con rapidez a dialdrín.
Dialdrín	: No tiene tolerancia establecida.
DDT	: 7 ppm en grasas animales.

(ppm = partes por millón)

PRACTICA Nº 4

Como en prácticas anteriores, se procede inicialmente a extraer la grasa, con una diferencia, precisamente en el método de extracción.

Se pesó 40 gramos de producto graso colocándolo en una ampolla de bromo o de separación. La grasa es disuelta al agregar 200 ml. de éter de petróleo. Después de haberse agitado y estar bien disuelta la grasa, se trata el producto con 100 ml. de acetonitrilo previamente saturado con éter de petróleo, debiendo agitarse nuevamente para que puedan separarse dos capas: la capa que no contiene grasa se trasvasa a otra ampolla de separación que contenga 100 ml. de éter de petróleo, 10 ml. de agua saturado de cloruro de sodio y 250 ml. de agua destilada. Esta operación se lleva a cabo con el objeto de limpiar o quitar las impurezas y se realiza por tres veces agitándose debidamente en cada una de ellas. Al separarse las dos capas se desecha la acuosa y la que queda se pasa por sulfato de sodio anhidro con el objeto de quitar toda el agua que lleva disuelta. A continuación se filtra para separar el sulfato de sodio ya hidratado y se concentra hasta unos 5 ml. Esta muestra queda lista para poderla aplicar en la placa.

La detección se llevó a cabo mediante dos métodos:

El primero se hizo en placas de silicagel GF₂₅₄ en donde se aplicó las muestras probiemas concentradas y las muestras de referencia con eluyente heptano. Posteriormente se procedió a agregar al eluyente 20 ml. de nitrato de plata (NO₃ Ag) al 0.5% y se realizó una nueva corrida. Se sacaron las placas, se dejaron secar al ambiente y seguidamente se observaron en la lámpara ultravioleta de onda corta (254 μ m). El resultado fue positivo para las muestras de margarina y aceite y para las de referencia negativo ya que estaban muy diluidas. Estas muestras de referencia fueron: aldrín, dialdrín, op DDT, lindano, pp DDE, pp DOD, pp DDT y heptacloro. Se hizo nuevamente el ensayo con las muestras de referencia, pero mezclando los aldrín y otra mezcla de los DDT, los dos grupos dieron positivo.

Distancias de las manchas:

Grupo Aldrín	: 5.6 cms.
Grupo DDT	: 5. cms.
Margarina	: 5.6 cms.
Aceite	: 5.9 cms.

Los hRf respectivamente son:

$$hRf = \frac{5.6}{10} \times 100 = 56 \text{ grupo aldrín}$$

$$hRf = \frac{5}{10} \times 100 = 50 \text{ grupo DDT}$$

$$hRf = \frac{5.6}{10} \times 100 = 56 \text{ margarina}$$

$$hRf = \frac{5.9}{10} \times 100 = 59 \text{ aceite}$$

Siendo los porcentajes de error, los siguientes: con respecto al grupo aldrín:

$$\frac{56 - 56}{56} \times 100 = 0 \text{ margarina}$$

$$\frac{59 - 56}{56} \times 100 = 5.35 \text{ aceite}$$

Y con respecto a los DDT:

$$\text{Margarina} = \frac{56 - 50}{50} \times 100 = 12$$

$$\text{Aceite} = \frac{59 - 50}{50} \times 100 = 18$$

Se hizo otro ensayo, aplicándose dichas muestras en placas de alúmina F₂₅₄ con eluyente heptano-acetona (98:2) y se obtuvo el resultado siguiente:

Grupo Aldrín : 7.8 cms.

Grupo DDT : 5.8 cms.

Margarina : 7.6 cms.

Aceite : 7.3 cms.

$$hRf (\text{aldrín}) = \frac{7.8}{10} \times 100 = 78$$

$$hRf (\text{DDT}) = \frac{5.8}{10} \times 100 = 58$$

$$hRf (\text{margarina}) = \frac{7.6}{10} \times 100 = 76$$

$$hRf (\text{aceite}) = \frac{7.3}{10} \times 100 = 73$$

Luego tenemos porcentajes de error para cada uno:

Relacionados a los aldrín

$$\text{Margarina} = \frac{76 - 78}{78} \times 100 = 2.56$$

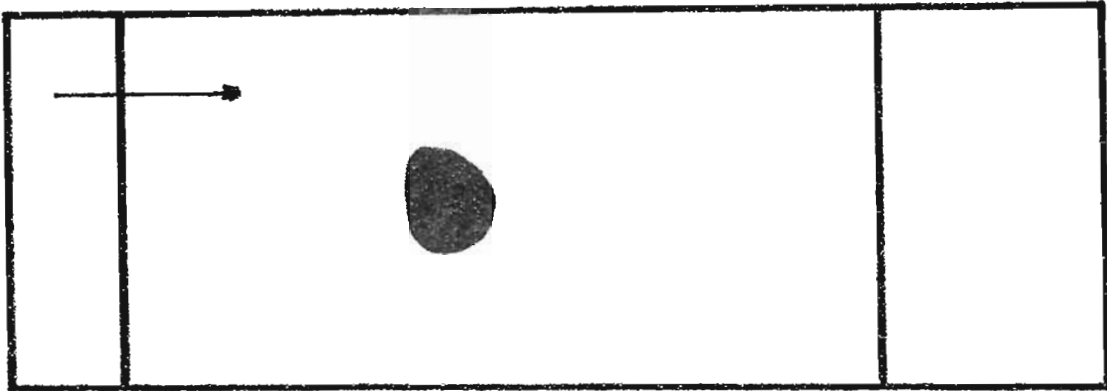
$$\text{Aceite} = \frac{73 - 78}{78} \times 100 = 6.41$$

Y con respecto a los DDT, tenemos:

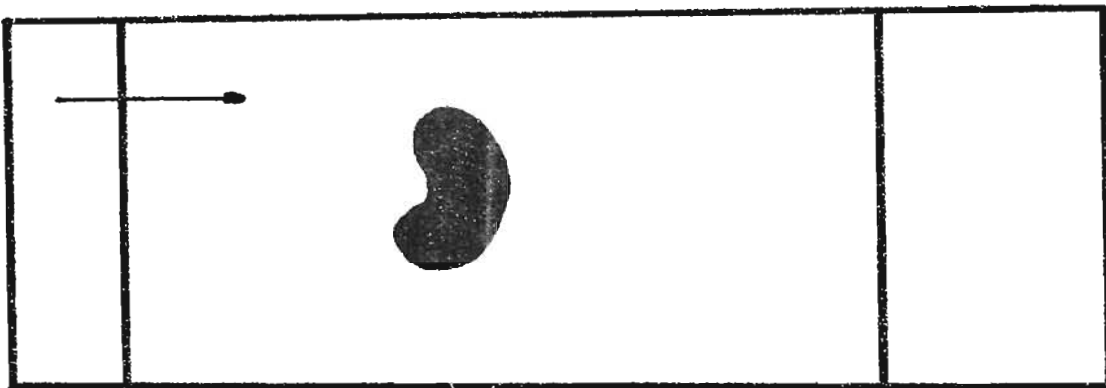
$$\text{Margarina} = \frac{76 - 58}{58} \times 100 = 31.03$$

$$\text{Aceite} = \frac{73 - 58}{58} \times 100 = 25.86$$

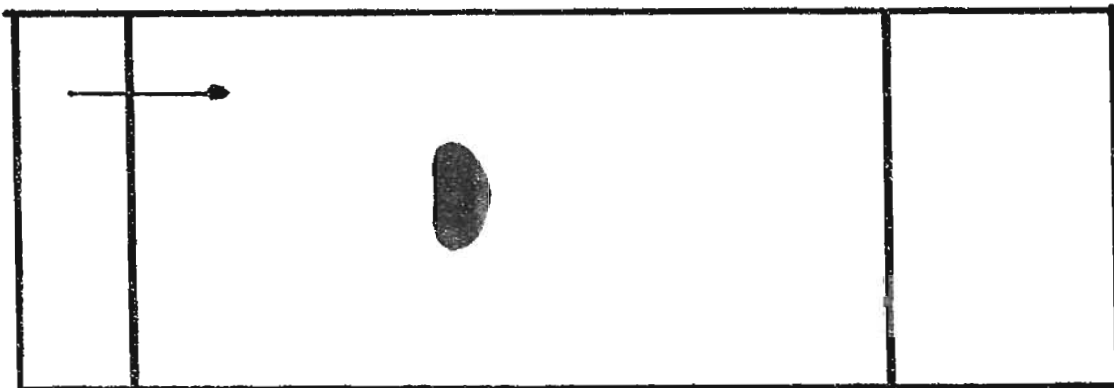
LAMINA F



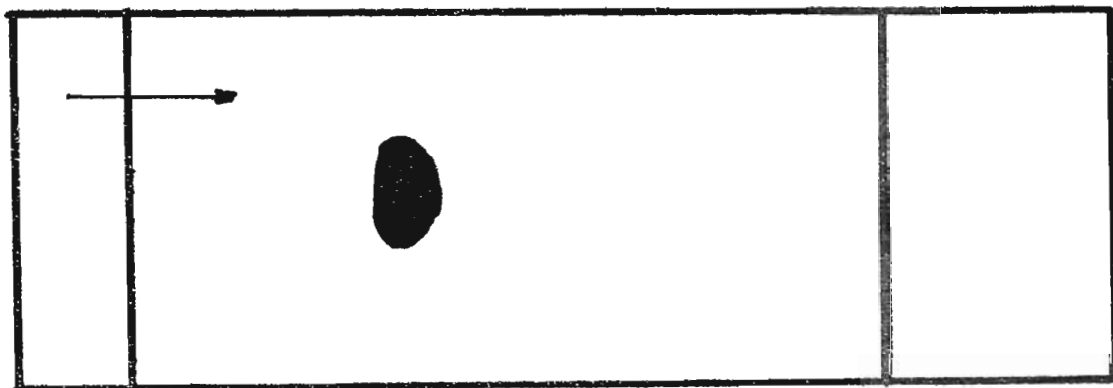
MARGARINA



ACEITE

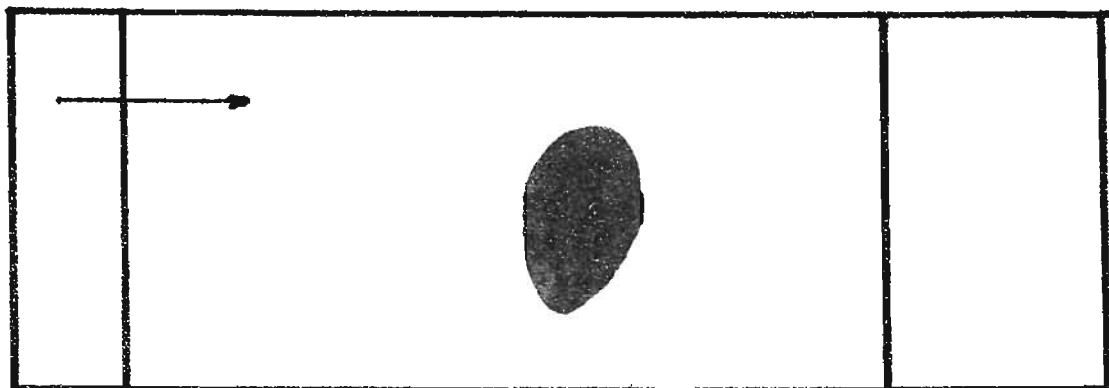


ALDRIN

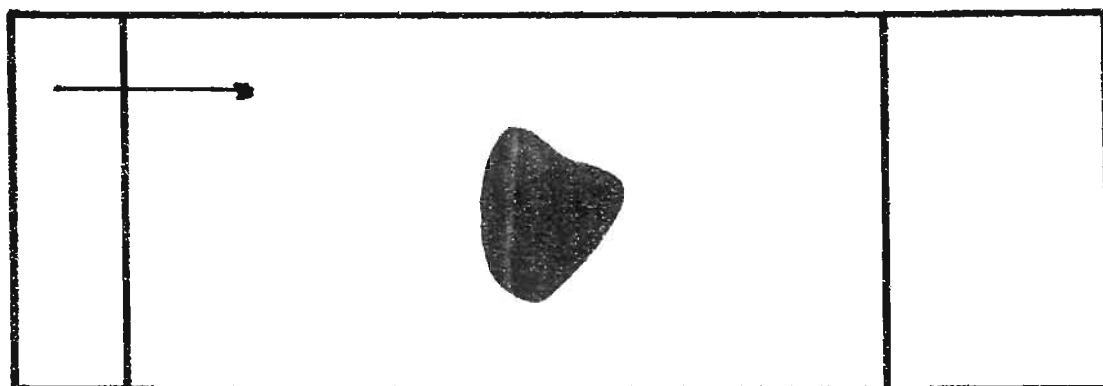


DDT

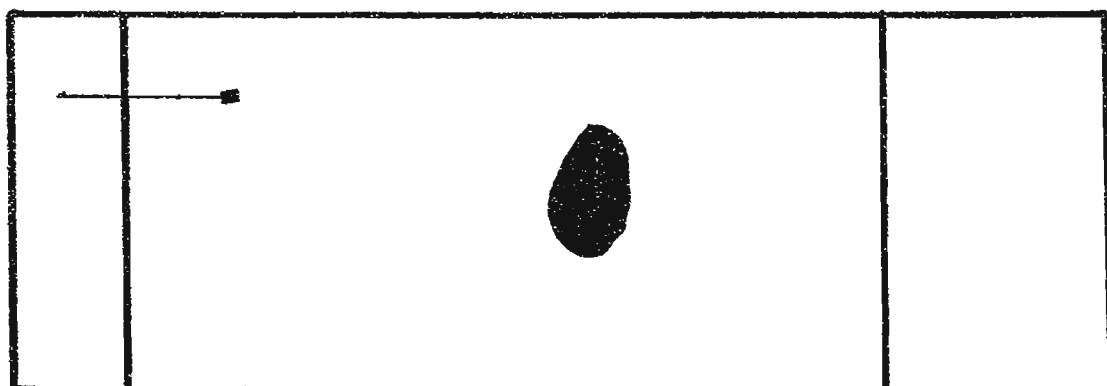
LAMINA G



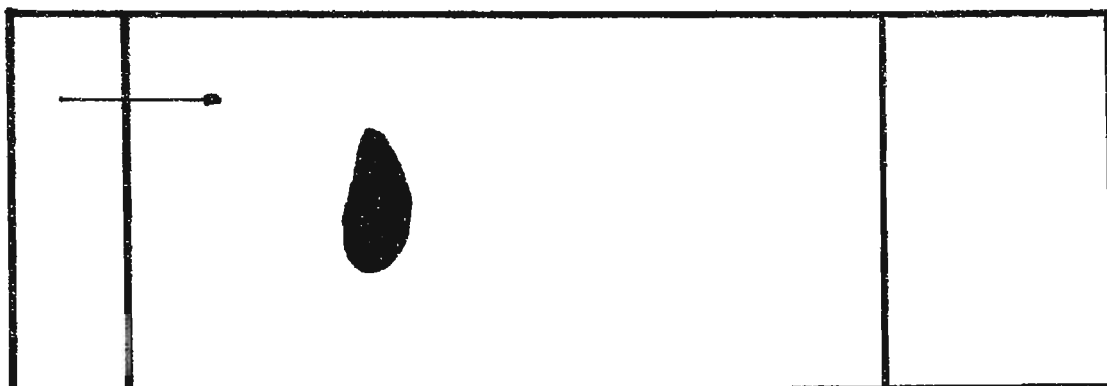
MARGARINA



ACEITE



ALDRIN



DDT

RECOMENDACIONES

1. *La Cromatografía de Capa Fina nos ha permitido detectar pesticidas en los productos examinados, pero este análisis cualitativo no basta para emitir un juicio práctico. Es aconsejable determinar cantidades con el análisis correspondiente para saber hasta qué punto estos aditivos han saturado el producto en detrimento de su valor alimenticio.*
2. *Se necesita pues, una regulación o control sobre los pesticidas para saber si el producto sobrepasa los límites de permisibilidad y este control debería acentuarse en los clorinados porque no se degradan tan fácilmente y además son los más tóxicos.*

CONCLUSIONES

1. *Se encontró trazas de pesticidas en los productos de origen vegetal, específicamente del tipo aldrín en el aceite y margarina. Esto se hacía sospechable por la constante fumigación a que son sometidas las cosechas en el campo. Un ejemplo es la semilla de algodón, cuyo uso industrial se aprovecha en el aceite. Este vegetal se cultiva en plantaciones extensas donde la exterminación de las plagas requiere el constante riego de pesticidas.*

B I B L I O G R A F I A

1. STAHL, EGON

Thin - Layer Chromatography

Springer - Verlag

2ª Edición

1969

Berlín - Heidelberg - New York.

Págs. 638 a 645.

2. RANDEATH, KURT

Enciclopedia de la Química Industrial

Tomo VIII

Ediciones Urmo, S. A.

2ª Edición.

1970

España

Págs. 249 a 254.

3. *Conversaciones sobre el Tema con la Doctora*

LILIAN NAVARRETE DE AYALA PINO

Jefe de Laboratorio de Control de Calidad

Agricultural Chemical de El Salvador, S. A.

VIII - RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES GENERALES

1. No se ha valorado el uso práctico de la Cromatografía de Capa Fina como método analítico. En la Industria de las grasas y aceite, la detección en los productos fabricados de ciertos aditivos con el método apuntado, no tiene un desarrollo pleno y normal en los laboratorios de Control de Calidad. Es posible que los fabricantes conozcan de este método, pero no lo ponen en práctica.

Por lo expuesto, es aconsejable que por medio de folletos divulgativos, si es posible, se haga saber la garantía y precisión que ofrece. Esta tarea no quedaría únicamente a los tradicionales centros de investigación ya establecidos, sino también podrían contribuir otros sectores directamente beneficiados con estos trabajos.

2. Se encontraron aditivos en los productos examinados. Se analizó principalmente antioxidantes, preservativos, colorantes y pesticidas. Los resultados se anotan de manera general, según el cuadro siguiente:

MUESTRAS	MANTEQUILLA	MARGARINA	ACEITE	MANTECA
Antioxidantes	+	+	+	+
Preservativos	+	+	+	+
Colorantes	+	+	-	-
Pesticidas	-	+	+	-

Convendría en estos productos, completar las pruebas para resultados más prácticos, con una investigación de - tipo cuantitativo. Esto podría permitir regulaciones más amplias en un control de calidad, ya que de un porcentaje

sobre la proporción normal de aditivos, puede depender la salud de un consumidor.

B I B L I O G R A F I A G E N E R A L

1. STAHL; EGON
Thin - Layer Chromatography
Springer - Verlag
2ª Edición
1969
Berlín - Heidelberg - New York

2. RANDEATH, KURT
Enciclopedia de la Química Industrial
Tomo VIII
Ediciones Urmo, S. A.
2ª Edición
1970
España

3. ABBOT, DAVID y ANDREWS, R. S.
Introducción a la Cromatografía
Editorial Alhambra, S. A.
2ª Edición
1970
España

4. MERCK
Información Técnica sobre Cromatografía de Capa Fina.
Emerck, Darmstadt Alemania

5. SILVA, JOSÉ ANTONIO y RIVERA, AURA AMERICA DE
Normalización de la Industria Alimenticia en El Salvador. Estado Actual y Proyecciones de Desarrollo.
Tesis
Universidad de El Salvador
El Salvador
1970

6. DESROSIER, NORMAN W.
The Technology of Food Preservation
The Avi Publishing Co., Inc.
Edición III
Westport Connecticut
1970

7. GOTH, Dr. ANDRES
Farmacología Médica
Traduc. por Dr. Alberto Folch
Editorial Interamericana, S. A.
5ª Edición
México
1971

8. KIRTH, RAYMOND E. y OTHMER DONALD F.
Enciclopedia de Tecnología Química
Tomo I
Editorial Hispanoamericana
1ª Edición
México
1961

oooooooooooooooooooo