

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man on horseback, holding a sword and a shield, set against a background of green hills. Above the figure are several heraldic symbols, including a golden crown, a red lion, and a golden castle. The Latin motto "OBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CETERAS" is inscribed around the perimeter of the seal.

**“EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE ACEITE FIJO  
OBTENIDO POR EXTRUSIÓN EN FRÍO DE CUATRO ESPECIES NATIVAS DE  
GUATEMALA DE LA FAMILIA ROSACEAE: *Rubus tupy*, *Rubus kiowa*, *Rubus  
occidentalia* y *Rubus fruticosus*”**

**MONICA MARISOL MONTENEGRO CONTRERAS**

**ANA SOFIA BARRONDO LIMA**

**GUATEMALA, MARZO 2012**

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE ACEITE FIJO  
OBTENIDO POR EXTRUSIÓN EN FRÍO DE CUATRO ESPECIES NATIVAS DE  
GUATEMALA DE LA FAMILIA ROSACEAE: *Rubus tupy*, *Rubus kiowa*, *Rubus  
occidentalia* y *Rubus fruticosus*”**

**SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN**

**PRESENTADO POR**

**MONICA MARISOL MONTENEGRO CONTRERAS**

**ANA SOFIA BARRONDO LIMA**

**PARA OBTAR AL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA**

**GUATEMALA, MARZO 2012**

## JUNTA DIRECTIVA

Oscar C3bar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio G3lvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fausto Ren3 Beber Garc3a	Vocal IV
Br. Carlos Francisco Porras L3pez	Vocal V

# AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto de Investigación: "Evaluación y Caracterización de Aceites Fijos de Nueces y Semillas de Ocho Especies Vegetales para su Aplicación Industrial". FODECYT 011-2010.

A la asesora del seminario de Investigación: Licda. Aylin Santizo, por su amistad asesoría y apoyo a lo largo del seminario.

Al Co-Asesor del Seminario de Investigación: Lic. Armando Cáceres, por su amistad, asesoría y apoyo a lo largo del seminario.

A la Revisora del Seminario de Investigación: Licda. Julia García, por su amistad, asesoría y apoyo a lo largo del seminario.

A la Licda. Sully Cruz coordinadora del Laboratorio de Productos Naturales –LIPRONAT- por el espacio brindado en el laboratorio, apoyo y asesoramiento.

A la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería –LIEXVE- por el espacio brindado y el equipo en su laboratorio.

A la Universidad del Valle de Guatemala, por su apoyo en la fase experimental brindándonos asesoría en los análisis.

A la finca el INCERTAL, ubicada en el departamento de Chimaltenango, por facilitarnos la colecta del material vegetal.

## ACTO QUE DEDICO

A Dios:

Por ser el Creador, Arquitecto, Luz, Guía, Esperanza y Amor en mí camino; y por darme la oportunidad de concluir esta etapa con éxito.

A mis padres:

Ing. Hugo Leonel Montenegro Franco y Marisol Contreras Morales de Montenegro como una recompensa a sus constantes esfuerzos, sacrificios e incondicional apoyo. Por haberme dado la oportunidad de gozar de todos los privilegios de su amor, protección, guía y educación.

A mis hermanos:

Edgar Antonio Montenegro Contreras y Mario Francisco Montenegro Contreras, ¡GEMELOS! Gracias por el apoyo incondicional brindado en todas las etapas de este proceso y por aquellos temas de discusión que me hicieron retomar el sentido.

A mis abuelitos:

PATERNOS: Ovidio Antonio Montenegro Mejicanos y Berta Franco Andrino

MATERNOS: Francisco Contreras Mijangos y Delma Evelina Morales

¡PAPITOS! Gracias por las constantes oraciones y haberme dado la dicha de compartir a su lado este triunfo.

A mis tíos y primos:

Por ser ejemplo de superación y el motor que impulsa fuerza a mi vida.

A mis maestros:

Lic. Armando Cáceres, Licda. Aylin Santizo, Licda. Julia García y Licda. Sully Cruz.

¡GRACIAS! Por creer en mis capacidades y haberme dado la oportunidad de crecer en conocimiento por sus enseñanzas.

A mis compañeros:

Por los momentos compartidos, su apoyo pero sobre todo por su amistad.

En especial al grupo LIPRONENSE; Carol, Max, Nereida, Carlos, Barbara, Ivon, Keila, Eva, Ingrid y a mi compañera de seminario Sofía al compartir aventuras, desavenencias y triunfos en esta etapa.

# ACTO QUE DEDICO

A Dios:

Por iluminar mí camino y brindarme la fortaleza necesaria para alcanzar la meta.

A mis padres:

César Augusto Barrondo Figueroa y Rosa Margarita Lima de Barrondo como una recompensa a sus esfuerzos y constantes sacrificios.

A mis hermanas:

Mayra Lizeth y Silvia Patricia, gracias por su apoyo y palabras de aliento.

A la familia Samayoa:

Por abrirme las puertas de su casa y brindarme su amistad.

A mis abuelitos:

José Efraín Barrondo Méndez (Q.E.P. D), Margarita Figueroa de Barrondo (Q.E.P.D) y Sofia Lima (Q.E.P.D) con todo mi cariño.

A mis sobrinos:

Luisa María, Diego, Héctor Andrés y Andrea con cariño.

A mis cuñados:

Héctor y Francisco en agradecimiento a la ayuda que me brindaron.

A mis tíos y primos

A mis compañeros:

Por los momentos compartidos, su apoyo pero sobre todo por su amistad.

# ÍNDICE

	Página
I.     Ámbito de la investigación	1
II.    Resumen	2
III.   Antecedentes	3
IV.    Justificación	8
V.     Objetivos	10
• Generales	
• Específicos	
VI.    Hipótesis	11
VII.   Materiales y Métodos	12
• Universo	
• Muestra	
• Metodología	
VIII.  Resultados	25
IX.    Discusión de Resultados	33
X.     Conclusiones	37
XI.    Recomendaciones	38
XII.   Referencias Bibliográficas	39
XIII.  Anexos	42

## I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

El proyecto titulado: “EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE ACEITE FIJO OBTENIDO POR EXTRUSIÓN DE CUATRO ESPECIES NATIVAS DE GUATEMALA DE LA FAMILIA ROSACEAE: *Rubus tupy*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus fruticosus*; pertenece a la rama de las ciencias básicas, en la disciplina de las ciencias naturales y exactas con posible impacto en la industria, la salud y el medio ambiente.

En Guatemala desde 1966 se empezó la investigación de nuevas fuentes de grasas y aceites, estos estudios permitieron que actualmente se realicen diversos proyectos relacionados con la extracción de aceites esenciales y aceites fijos de diversas especies vegetales, como en el caso del proyecto titulado: CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITES ESENCIALES COMO NUEVOS RECURSOS PARA EL DESARROLLO AGROINDUSTRIAL. FASE III; en el cual se evalúa las características químicas de los extractos y aceites de las 9 especies evaluadas, se llevó a cabo en el año 2005 en la Facultad de CCQQ y Farmacia de la USAC. CARACTERIZACIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS DE OCHO ESPECIES MESOAMERICANAS DE PIPERACEAS Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA PARA SU APROVECHAMIENTO COMO NUEVOS RECURSOS AROMÁTICOS Y/O MEDICINALES; realizado en la Dirección General de Investigación, en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) y el Departamento de Citohistología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la USAC, junto con el apoyo del Laboratorio Farmaya S.A. en el año 2006; la tesis de pregrado titulada CARACTERIZACIÓN DE ACEITES ESENCIALES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO PIPER Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA; estudio que se realizó en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT- de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC en el año 2008; por mencionar algunos.

La aplicación de los aceites fijos en la industria cosmética y alimenticia ha ido en aumento en los últimos años, como es el caso de la extracción del aceite fijo del café tostado para su uso en la rearomatización del café soluble, estudio que se realizó en la Universidad de Colombia con sede en Bogotá en el año 2007 (López, 2007). Otra aplicación de los aceites fijos que está en el desarrollo del biodiesel, el cual utiliza para su fabricación aceites vegetales o grasas animales con o sin uso previo.

La importancia de este estudio, radica principalmente, en proporcionar a la sociedad guatemalteca otra herramienta para el desarrollo agroindustrial, ya que al obtener el aceite fijo de la especie *Rubus* (moras), este puede ser utilizado en la industria cosmética, alimenticia e industrial, además, de contribuir a la investigación de la flora nativa de Guatemala.

Al finalizar el estudio se obtuvo información que permitió establecer la calidad de los aceites fijos presentes en las especies estudiadas y predecir su posible uso en la industria, la salud y el medio ambiente.

## II. RESUMEN

El fruto de las cuatro especies *Rubus tupy*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus fruticosus*, se obtuvo de la plantación de la finca el INCERTAL, en el departamento de Chimaltenango en el municipio de Parramos. Las muestras de material vegetal fueron procesadas con el fruto en un molino de cuchillas eléctrico, por periodos cortos, llevando a cabo cada proceso en un periodo de tres minutos. El jugo obtenido se filtro en un colador en donde fue recolectada la muestra. Luego se lavó para la eliminación de pulpa en un contenedor con agua, repetidas veces, la semilla fue recogida en una manta para prevenir la pérdida de la misma. Luego se procedió al secado de la muestra en un horno de convección a una temperatura de 60 °C hasta reducir la humedad a un valor menor del 10%, para luego ser almacenadas en bolsas ziploc.

El aceite fijo de las cuatro especies de mora investigadas, *Rubus tupy*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus fruticosus*, se extrajo de las semillas de cada fruto, mediante la extrusión en frío por medio de la prensa CARVER, modelo C serie N 24000 536; esta prensa se distinguen por que es hidráulica y por poseer un sistema de tornillos de compresión haciendo su fácil adaptación a todo tipo de semillas, sin tener que cambiar significativamente la dotación estándar de la misma; a demás de ser sencillas en cuanto a su mantenimiento, garantiza la conservación de las cualidades organolépticas de los aceites producidos.

Luego de obtener el aceite fijo de las especies de mora antes mencionadas, se procedió a evaluar sus características organolépticas, como, olor, color y apariencia; características fisicoquímicas, por medio de pruebas, como, pH, índice de refracción, índice de saponificación, índice de yodo. Se les determino también su perfil de ácidos grasos a través de cromatografía de gases.

Posteriormente se interpretaron los resultados, los cuales se describen en los siguientes incisos del presente trabajo de investigación.

### III. ANTECEDENTES

El proyecto de investigación se realizó en la Sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería -LIXVE- y en el Laboratorio de Productos Naturales -LIPRONAT- de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Se tienen varias investigaciones tanto a nivel de tesis de grado como investigaciones de oleorresinas en la línea de Extracciones Vegetales.

La investigación de nuevas fuentes de grasas y aceites se inició en Guatemala desde 1966, en donde Aguilar menciona en su obra titulada "Relación de unos aspectos de la flora útil de Guatemala", las características fisicoquímicas de 85 aceites y grasas vegetales nativas e introducidas, de uso común en Guatemala.

Entre los estudios más recientes sobre grasas y aceites vegetales se puede mencionar el de López (2008) estudio tres especies del género *Piper*, para evaluar sus propiedades medicinales, metabolitos secundarios y actividad biocida de extractos metanólicos, diclorometánicos y aceites esenciales, concluyendo que: la especie *P. Jacquemontianum* posee el mayor rendimiento de aceite esencial, comparada con las otras dos especies evaluadas; los aceites esenciales de las especies estudiadas no poseen actividad biocida y que las muestras evaluadas poseen metabolitos secundarios como, alcaloides, flavonoides, antraquinonas, principios amargos, aceites volátiles y cumarinas.

Piedrasanta (2007) en su trabajo evaluó la composición química y el rendimiento de aceite esencial de hoja y raíz de valeriana, concluyendo: el componente del aceite esencial para la raíz de valeriana procedente de Totonicapán es el ácido valérico.

Sagastume (2006) caracterizó los aceites esenciales de tres especies del género *Piper*, mediante tamizaje fitoquímico y cromatografía gaseosa, concluyendo: que las especies analizadas poseen diversos metabolitos secundarios como, alcaloides, saponinas, flavonoides, aceites volátiles, principios amargos y cumarinas; y que los aceites esenciales mayoritarios son:  $\beta$ -elemeno, espatulenol y cis-calamenano.

Véliz (2006) evaluó ocho especies mesoamericanas de piperáceas, mediante la caracterización del aceite esencial y extractos de las mismas para su aprovechamiento en recursos aromáticos y/o medicinales, así como su actividad biocida, concluyendo que: los aceites esenciales obtenidos sí poseen actividad biocida y que el linalool puede ser utilizado en la industria de perfumería.

Cáceres (2005), en el cual se llevó a cabo la caracterización fisicoquímica de extractos y aceites, se evaluó la bioactividad y contribución de las especies involucradas para su comercialización; concluyendo que los aceites de las especies evaluadas poseen actividad antimicrobiana, insecticida y citotóxica.

Quiroa (2005) menciona en su estudio, la comparación fisicoquímica de dos especies de laurel, concluyendo que: los componentes mayoritarios del aceite esencial

son 1,8-cineol y linalool. CONCYT (2001-2002) este proyecto evaluó el aceite esencial de cuatro plantas medicinales cultivadas en Guatemala, el resultado obtenido fue, que la especie vegetal Pericón (*Tagetes lucida cav*) posee un porcentaje de rendimiento de 0.2831% el cual es muy cercano a la literatura.

Otro estudio que permite destacar la utilidad y aplicación de los aceites esenciales es el que se llevó a cabo en los años de 1998- 1999, titulado: DETERMINACIÓN DE LA

FACTIBILIDAD DE LA EXTRACCIÓN/DESTILACIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE JENGIBRE, AJO Y AJONJOLÍ COMO PRODUCTOS DE EXPORTACIÓN.

Con respecto a la familia de las Rosaceae los estudios aún son pocos, sobre todo de su aceite fijo, obtenido de las semillas del fruto, ya que su utilidad radica en la fabricación de alimentos como jaleas y mermeladas, así como producto de exportación.

Cabe destacar que Guatemala posee las condiciones climáticas ideales para el cultivo de estas especies, las cuales se exportan a otros países y también son de consumo interno. Sin embargo en la literatura se encuentra información acerca de sus propiedades medicinales atribuidas, como en el caso del artículo publicado en la revista Propiedades de la Plantas-Plantas Medicinales (2008), en el cual se identifican los metabolitos secundarios encontrados en la Zarzamora (*Rubus fruticosus*), el más abundante, los taninos, que se encuentra en todas las partes de la planta, a los cuales se le atribuye su acción antidiarreica, hipoglucemiante, astringente y antiinflamatoria de las mucosas digestivas.

Otros metabolitos encontrados: azúcares, pectina, inositol, ácido láctico, ácido oxálico, vitamina C y antocianina, las cuales ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos, además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo.

Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante (Ver tabla No.1). Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que estas son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas. (MIYAZAWA T, 1999)

Para el análisis y caracterización fisicoquímica de los aceites fijos, se utilizan varios métodos, pero este estudio se enfoca a la cromatografía de gases como método para determinar el perfil de ácidos grasos que poseen los aceites obtenidos de las especies a estudiar, en el artículo titulado, CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE HOJAS DE *Pedilanthus tithymaloideides* (L.) Poit. (Suárez et. al. 2009), en donde el perfil de ácidos grasos se determinó mediante cromatografía gaseosa acoplada a masas, obteniendo como resultado 11 picos, identificando al ácido 7-palmitico metiléster y el ácido esteárico como los componentes mayoritarios.

Véliz (2006) utiliza la cromatografía de gases para identificar los componentes de los aceites esenciales de las especies de *Piper* evaluadas, concluyendo que los componentes de mayor porcentaje son, germacrano D en un 18%, E-nerolidol en un 23.4%, alcanfor en un 28.4% y linalool en un 69.4%.

Existen varias aplicaciones los ácidos grasos en las diferentes áreas; los aceites grasos o fijos son extraídos, en su mayoría, de las semillas, como el girasol, maíz, maní, soya, entre otros, o de la pulpa de algunos frutos como la palta, oliva, coco. Además de su potencial energético, tienen un gran valor nutritivo por su contenido en ácidos grasos esenciales y en vitaminas liposolubles, especialmente, de vitamina E.

Álvarez (2007) en su artículo, el uso del aceite de Palta para su aplicación en la elaboración de shampoo, crema y jabón líquido y gel; el cual se obtuvo por extrusión en frío de la pulpa de frutos maduros y deshidratados. El aceite de rosa mosqueta que se utiliza para desvanecer manchas, atenuar cicatrices, mejora la elasticidad de la piel, hidratación, etc, es uno de los aceites más utilizados en la industria cosmética, el cual también se puede obtener por extrusión en frío. El aceite de almendras se utiliza por sus propiedades emolientes, suavizantes y cicatrizantes; en la industria cosmética para combatir la resequedad de la piel, las cicatrices; se obtiene por extrusión en frío de la almendra.

Pérez (2005) menciona que el aceite de aguacate posee propiedades nutricionales beneficiosas para la salud y su aplicación tópica sobre la piel dañada mejora todas aquellas lesiones provocadas por alguna afección; ya que es rico en vitamina D y E.

## 2.1. Definiciones:

### 2.1.1 Cromatografía de gases:

La cromatografía de gases es una técnica cromatográfica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte. La fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases (GC): la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases (GC).

En la GSC la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce mediante el proceso de adsorción en línea, este tipo de cromatografía tiene aplicación limitada, ya que la retención del analito sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. Su única aplicación es la separación de especies gaseosas de bajo peso molecular. La GLC utiliza como fase estacionaria moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un sólido inerte.

La GC se lleva a cabo en un cromatógrafo de gases. Éste consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), y el detector.

Al analizar los ácidos por cromatografía gaseosa se tiene como objetivo principal obtener metil-ésteres de los ácidos grasos para facilitar su separación y así poder ser identificados. (Skoog 1994)

#### 2.1.2. Ácido Graso:

Un ácido graso es una biomolécula orgánica de naturaleza lipídica formada por una larga cadena hidrocarbonada lineal, de número par de átomos de carbono, en cuyo extremo hay un grupo carboxilo. Cada átomo de carbono se une al siguiente y al precedente por medio de un enlace covalente sencillo o doble. Al átomo de su extremo le quedan libres tres enlaces que son ocupados por átomos de hidrógeno ( $\text{H}3\text{C}-$ ). Los demás átomos tienen libres dos enlaces, que son ocupados igualmente por átomos de hidrógeno (...  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  ...).

Los ácidos grasos forman parte de los fosfolípidos y glucolípidos, moléculas que constituyen la bicapa lipídica de todas las membranas celulares. En los mamíferos, incluido el ser humano, la mayoría de los ácidos grasos se encuentran en forma de triglicéridos, moléculas donde los extremos carboxílico ( $-\text{COOH}$ ) de tres ácidos grasos se esterifican con cada uno de los grupos hidroxilos ( $-\text{OH}$ ) del glicerol (glicerina, propanotriol); los triglicéridos se almacenan en el tejido adiposo (grasa). (Lehninger 1976)

#### 2.1.3. Ácido Graso Esencial:

Se llaman ácidos grasos esenciales a algunos ácidos grasos, como el linoleico, linolénico o el araquidónico que el organismo no puede sintetizar, por lo que deben obtenerse por medio de la dieta.

Tanto en el régimen dietario, como la biosíntesis suministran la mayoría de los ácidos grasos requeridos por el organismo humano, y el exceso de proteínas y glúcidos ingeridos se convierten con facilidad en ácidos grasos que se almacenan en forma de triglicéridos.

No obstante, muchos mamíferos, entre ellos el hombre, son incapaces de sintetizar ciertos ácidos grasos poliinsaturados con dobles enlaces cerca del extremo metilo de la molécula. En el ser humano es esencial la ingestión de un precursor en la dieta para dos series de ácidos grasos, la serie del ácido linoleico (serie  $\omega$ -6) y la del ácido linolénico (serie  $\omega$ -3).

#### Papel biológico de los ácidos grasos:

- **Función energética**

Los ácidos grasos son moléculas muy energéticas y necesarias en todos los procesos celulares en presencia de oxígeno, ya que por su contenido en hidrógenos pueden oxidarse en mayor medida que los glúcidos u otros compuestos orgánicos que no están reducidos.

Cuando es demasiado bajo el nivel de insulina o no hay suficiente glucosa disponible para utilizar como energía en los procesos celulares, el organismo quema ácidos grasos para ese fin y origina entonces cuerpos cetónicos, productos de desecho que causan una elevación excesiva del nivel de ácido en la sangre, lo que podría conducir a la cetoacidosis, un problema importante y muchas veces ignorado o pospuesto hasta otra vez. Los síntomas de esta enfermedad van desde la presencia de un aroma a quitaesmalte en el aliento, hasta la aparición de pequeñas manchas de color amarillento (o verduzco) sobre la piel, y la ligera acidificación del semen, que conlleva un cierto dolor al eyacular.

- **Función estructural**

Los ácidos grasos son componentes fundamentales de los fosfolípidos y esfingolípidos, moléculas que forman la bicapa lipídica de las membranas de todas las células.

- **Función reguladora**

Algunos ácidos grasos son precursores de las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, moléculas con una gran actividad biológica, que intervienen en la regulación y control de numerosos procesos vitales, como la respuesta inflamatoria, regulación de la temperatura corporal, procesos de coagulación sanguínea, contracción del músculo liso, etc. (Lehninger 1976)

#### 2.1.4. Grasa

Sustancia apolar insoluble en agua, posee muchos átomos de carbono e hidrógeno unidos covalentemente. (Lehninger 1976)

#### 2.1.5. Lípido:

Compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas, alifáticas o aromáticas; poseen también átomos de fósforo y nitrógeno. (Lehninger 1976)

Las grasas y los lípidos son los principales componentes de los alimentos, contribuyen también a su textura y valor nutricional. Las principal fuente son las semillas oleaginosas, las frutas y las hortalizas presentan bajas concentraciones, excepto, el aguacate, aceitunas y algunas nueces. Entre las semillas ricas en aceite se encuentran, las de girasol, colza; entre las nueces, manías, macadamia, almendras, etc. (Lehninger 1976)

## IV. JUSTIFICACIÓN

El fruto de mora (*Rubus*) se utiliza en la preparación de ciertos productos a nivel industrial y artesanal, como jaleas, mermeladas, refrescos, como colorante en la industria de alimentos balanceados, así como producto de exportación.

Actualmente en Guatemala, se consumen productos que utilizan como materia prima el fruto de mora. En la alimentación tiene mucha importancia debido a sus propiedades y beneficios que aporta al ser humano, entre ellos se encuentra la propiedad antioxidante que proporciona el flavonoide antocianidina, este le brinda el color característico rojizo o púrpura al fruto.

El interés por los pigmentos antocianicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. En los países de Sur América como Brasil el uso industrial más innovador del fruto de mora es la extracción de su aceite fijo, debido que se obtiene la antocianidina pura, al cual se le atribuyen las propiedades de regeneración y antioxidación de radicales libres; este compuesto es aparentemente inafectable por el frío o el calor, retiene su potencial a pesar del tiempo; tiene los efectos del radical anti-cáncer, anti-libre, vigorizando el hígado, beneficiando al riñón, alimentando la sangre, promoviendo la salivación, humedeciendo los intestinos y favorece su liberación. También puede acelerar la regeneración de la piel, aligerar la piel, quitar puntos y hacer la piel suave y rica en elasticidad. (MIYAZAWA T.,1999)

Con la ejecución del presente proyecto se espera proponer a las comunidades rurales así como a organizaciones no gubernamentales, instituciones gubernamentales y pequeñas empresas agroindustriales guatemaltecas una alternativa de industrialización de diferentes variedades de moras cultivadas en Guatemala; para que la sobreproducciones de esta especie vegetal sea aprovechada, ya que al ser un producto perecedero debe comercializarse inmediatamente, para evitar pérdidas; pues los aceites fijos pueden permanecer almacenados por determinados periodos de tiempo, conservando las propiedades del efecto radical anti-libre como el de la regeneración de la piel. Se pueden obtener nuevos productos para exportación con la producción de aceites fijos de calidad que sean competitivos en el mercado.

La importancia de este proyecto radica en que Guatemala es un país rico en diferentes especies vegetales, que pretende proporcionar una alternativa de proceso agroindustrial que no se está explotando; se pueden obtener nuevos productos para exportación con la producción de aceites fijos de calidad que sean competitivos en el mercado. Además puede contribuir al desarrollo y mejora del nivel de vida de los pequeños productores agrícolas pues incentiva el cultivo de productos agrícolas prometedores que pueden procesar para obtener productos con mayor valor agregado.

El consumo del fruto de mora (*Rubus*) tiene un impacto directo en la alimentación y la salud debido a las propiedades que proporciona la composición química del mismo. Entre los efectos terapéuticos conocidos se encuentra la reducción de la enfermedad coronaria, efectos antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos, además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. (Garzon, G. 2008)

Las especies de *Rubus idaeus* (frambuesa), *Rubus glaucus* (mora de castilla), *Rubus occidentalis* (mora cultivada) y *Rubus folius* (zarzamora) son especie nativas de Guatemala. Estas especies son cultivadas únicamente para exportación y el fruto no es aprovechado en la obtención de aceite fijo, el cual es poco estudiado en nuestro país según revisión bibliográfica realizada.

## V. OBJETIVOS

### a. General

1. Evaluar y caracterizar los aceites fijos de las semillas de cuatro especies de *Rubus* cultivadas en Guatemala para su aplicación en la industria.

### b. Específicos

1. Determinar el porcentaje de rendimiento del proceso de extracción de aceite fijo de la especie *Rubus* por expresión en frío.
2. Describir las características de apariencia, color y olor de los aceites fijos de las cuatro especies de *Rubus* estudiadas.
3. Caracterizar y evaluar los aceites fijos de semillas de *Rubus* con mayor porcentaje de rendimiento a través de índices fisicoquímicos.
4. Establecer el perfil de ácidos grasos de los aceites fijos obtenidos de las semillas de las especies de *Rubus* en estudio.
5. Determinar la principal aplicación industrial de cada uno de los aceites fijos en estudio.

## VI. HIPÓTESIS

Al menos dos de las especies de la familia Rosaceae del género *Rubus* estudiadas poseen porcentajes de rendimiento de aceite fijo superiores al 10%.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### a. Universo

Semillas de especies vegetales de la familia de las Rosáceas del genero *Rubus* cultivadas en Guatemala. Que poseen dentro de su composición aceite fijo.

### b. Muestras a estudiar.

b.1. *Rubus occidentalis* (Rosaceae)

b.2. *Rubus fruticosus* (Rosaceae)

NOMBRES COMUNES: Frambuesa negra, Frambueso Europeo; Mora Silvestre.

HABITAT: crece en climas templados, nativa del este de Norte América y Europa

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: es un arbusto que crece entre 2 y 3 m de altura, crece en forma de mata con sus ramas inicialmente erectas en el primer período vegetativo y después encorvadas bajo el peso de la vegetación. Las ramas bienales, las raíces son perennes, dotadas de una densa cabellera radicular; se encuentran preferentemente en la parte más superficial (aproximadamente en los primeros 25 cm). (Paglietta, 1984). Las hojas son compuestas, de borde aserrado, provistas de un largo pedúnculo y pueden tener 3 a 5 folíolos (generalmente 5). El color de las hojas es verde intenso en el haz y verde grisáceo en el envés; el limbo esta surcado por venación muy conspicua que hacen su superficie más o menos arrugada; también este es un carácter varietal distintivo. Su flor, muy pequeña, está formada por cinco pétalos y un cáliz en forma de estrella. El fruto, compuesto por distintas drupas convexas, surge una vez la flor ha sido fecundada, y su maduración dura cuatro semanas.

b.2. *Rubus tupy*, ( Rosaceae) : no se encontró información en la bibliografía consultada.

b.3. *Rubus kiowa*, (Rosaceae): no se encontró información en la bibliografía consultada

### c. Recursos Humanos:

c.1. Investigadores: Br. Mónica Marisol Montenegro Contreras

Br. Ana Sofía Barrondo Lima

c.2. Asesora de la Investigación: Licda. Aylin Santizo Juárez

## **d. Metodología:**

### **d.1. Obtención de material vegetal**

Las cuatro especies de *Rubus* se colectaron en la plantación INCERTAL, en el departamento de Chimaltenango en el municipio de Parramos, empresa que colaborará en este componente del proyecto.

### **d.2. Modelo de muestreo**

El modelo de muestro que se planteo es preferencial y por conveniencia.

### **d.3. Composición de la muestra**

Se obtuvo una muestra representativa de frutos y semillas de las cuatro especies de *Rubus* (1-2 Kg); 250 g de material se identifico y guardado como muestra boucher de cada especie, y material restante será utilizado para la obtención de aceite fijo, el cual fue sometido a pruebas de laboratorio (Caracterización organoléptica y fisicoquímica).

### **d.4. Procesamiento y embalaje de la droga vegetal**

Las muestras fueron procesadas conforme a técnicas convencionales de secado y molienda. El almacenamiento, embalaje y transporte se realizó conforme a los principios aceptados.

Las muestras fueron procesadas con el fruto en un molino de cuchillas eléctrico, por periodos cortos, llevando a cabo cada proceso en un periodo de tres minutos. El jugo obtenido se filtro en un colador en donde fue recolectada la muestra. Luego se lavo para la eliminación de pulpa en un contenedor con agua, repetidas veces, la cual se recogió en una manta para prevenir la pérdida de la misma. Luego se procedió al secado de la muestra en un horno de convección a una temperatura de 60 °C hasta reducir la humedad a un valor menor del 10%. Cuando se encontró con el valor de humedad adecuado se almaceno en bolsas ziploc.

### **d.5. Extracción de aceites fijos de cada especie**

Se obtuvo el aceite fijo de cada especie de *Rubus* a través de la técnica de expresión en frío; por medio de una prensa de tornillo de alta presión; la expresión en frío posee varias etapas: limpieza (eliminación de sustancias extrañas), secado (si es necesario debido al contenido de humedad que no debe ser mayor del 10%) y trituración (útil para obtener una harina de alto grado proteico). (Farmacopea Española 2002). Una vez realizada las etapas previas a la expresión, se debe proceso la muestra de inmediato porque se, sino, activan las enzimas lipasas, presentes en las semillas (Badui, S; 2006).

La eficacia del proceso de expresión es tal que solo el 3 al 6 % del aceite permanece en la torta. (Farmacopea Española 2002). En algunos casos la

transformación de polvos gruesos, es conveniente para aumentar la superficie de contacto de la droga vegetal y facilitar la extracción del aceite.

Para la obtención del aceite se utilizó una Prensa de Aceite CARVER (modelo C serie N 24000 536) las que se distinguen por ser un método de prensado hidráulico. Dentro de las características de la prensa de aceite CARVER, se puede mencionar que el sistema utilizada tornillos de compresión; se adapta a todo tipo de semillas, sin tener que cambiar significativamente la dotación estándar de la misma; son sencillas en cuanto a su mantenimiento, garantizando la posibilidad de efectuar cambios rápidos de semillas en caso de necesidad; además se asegura la conservación de las cualidades organolépticas de los aceites producidos.

#### **d.6. Preparación de la muestra de aceite**

Se preparó según el método oficial 981.11 de la AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). Se utilizó el líquido claro libre de sedimento. Para determinaciones en donde el resultado puede verse afectado por la presencia de agua (índice de yodo), secar la muestra como sigue: agregar sulfato de sodio anhidro en proporción 1-2g por 10g de aceite y dejar en horno a 50° C. Agitar vigorosamente y filtrar hasta obtener un filtrado claro. (Firestone & Yurawecz, 2005).

Según la norma COGUANOR NGO 34 073, las muestras deben guardarse en envases limpios y secos de vidrio ámbar. Cuando no se dispongan de estos, pueden emplearse frascos de vidrio envueltos en papel oscuro. La tapadera de vidrio debe ser de vidrio esmerilado o con algún aislante adecuado.

#### **d.7. Caracterización organoléptica del aceite fijo obtenido de cada especie**

d.7.1. Materiales y Equipo: Lámpara de luz difusa, espectrofotómetro UV-VIS y carta de color tipo PANTONE.

d.7.2. Reactivos: Ciclohexano R.

d.7.3. Cristalería: Tubos de vidrio para ensayos comparativos de 16mm de diámetro interno y fondo plano y celdas de cuarzo para el espectrofotómetro UV-VIS.

d.7.4. Descripción de la apariencia del aceite obtenido.

Se integro un panel de tres personas que describieron el aceite obtenido en cuanto a grado de limpieza, presencia de sedimentos o partículas en suspensión observables.

d.7.5. Determinación del color del aceite fijo obtenido.

Se determino por un panel de tres personas, que describieron el aceite obtenido, contenido en tubos de vidrio para ensayos comparativos. La columna

del líquido se examina según el eje vertical del tubo sobre fondo blanco, los matices deben apreciarse con luz difusa. (Farmacopea Española 2002). Se comparan contra una carta de color tipo Pantone o contra soluciones coloreadas preparadas según métodos farmacopeicos.

#### d.7.6. Absorbancia

Se disolvió 0.1000g del aceite a examinar en ciclohexano R y diluir hasta 10.0 con el mismo disolvente. Se estableció la longitud de onda de máxima absorbancia y el valor de la misma. (Farmacopea Española 2002).

### **d.8. Características fisicoquímicas del aceite fijo obtenido de cada especie**

d.8.1. Materiales y Equipos: Balanza analítica, refractómetro de Abbé, viscosímetro digital Brookfield, refrigerador 4 a 10° C, aparato para toma de puntos de fusión, estufas con agitador, horno, Baño de maría, bulbos para micropipeta, papel limpialentes, termómetros de mercurio, magnetos, mecheros, matraz de reacción, soportes de metal, pinzas para bureta y pinzas universales de metal.

d.8.2. Reactivos: Tolueno, éter de petróleo, sulfato de sodio anhidro, ácido acético glacial, yoduro de potasio, ácido clorhídrico concentrado, permanganato de potasio, dióxido de magnesio, dicromato de potasio, tetracloruro de carbono, almidón soluble, tiosulfato de sodio, yodo, ácido sulfúrico, yoduro de potasio, hidróxido de potasio, etanol al 95%, fenoftaleína, anaranjado de metilo, hidróxido de sodio, éter dietílico, fluroglucinol y heptano.

d.8.3. Cristalería: Picnómetro de borosilicato, micropipetas de vidrio, beaker de 600 mL, capilares de vidrio, erlenmeyer de vidrio de 500 mL y con tapones esmerilados, erlenmeyer de 250 mL, balones aforados de vidrio, pipetas volumétricas de 20 y 25 mL, condensadores para reflujo, ampollas de decantación, buretas de 25 y 50 mL y tubos de ensayo de 150 X 25 mm.

#### d.8.4. Densidad o Gravedad Específica.

Según el método oficial AOAC 985.19 se determino con picnómetro a 20° C, previamente calibrado con agua recientemente hervida a 20° C. Para calcular el peso por unidad de volumen de la muestra se utilizará la fórmula:

$$D = \frac{W - W^1}{V}$$

$W - W^1$  = Diferencia entre el peso del picnómetro vacío y el picnómetro con muestra.

V = Volumen del picnómetro en mL a 20° C.

Para calcular la gravedad específica se utilizo la siguiente fórmula:

$$\text{Gravedad Específica} = D / \text{densidad del agua a } 20^{\circ} \text{ C}$$

D = Peso por unidad de volumen de la muestra a 20° C

Densidad del agua a 20° C = 0.99823 g/mL a 20° C. (Fuente AOAC.)

#### d.8.5. Índice de Refracción

Se determino utilizando un refractómetro de Abbe a 20° C, aplicando el método oficial AOAC 921.08. Para cargar el instrumento, abrir el doble prisma y colocar unas cuantas gotas de aceite sobre el prisma. Cerrar y asegurar firmemente el doble prisma para obtener una delgada capa de continua de aceite. Dejar reposar la muestra en el aparato unos cuantos minutos hasta que la temperatura de la muestra iguale la temperatura del doble prisma y realizar la lectura. Limpiar el doble prisma después de cada medición utilizando un paño suave humedecido con solventes como (tricloetileno, tolueno o éter de petróleo) (Firestone, 2005).

#### d.8.6. Viscosidad

Se determino siguiendo las recomendaciones farmacopeicas, en las cuales, se debe determinar a 20° C +/- 1° C para evitar sesgos en los resultados. En general este parámetro es el que deberá controlarse con sumo cuidado, ya que al aumentar la temperatura disminuye la viscosidad (USP XXIV, 1995). Se empleo un viscosímetro de Brookfield digital, por lo que deberán aplicarse las instrucciones del fabricante para determinar la viscosidad dinámica en centipois.

#### d.8.7. Punto de fusión

Se aplico el método oficial de AOAC 920. 157, se introducen 10 mm de aceite en un tubo capilar de paredes delgadas. Se sella uno de los extremos del capilar en una llama pequeña, cuidando de no quemar el aceite. Dejar los tubos capilares por lo menos 16 horas (una noche), dentro de un refrigerador a una temperatura de 4– 10°C. Fijar el capilar a un termómetro graduado a 0.2° C, dejando la parte sellada a la altura del bulbo de mercurio. Introducir el termómetro aproximadamente 30 mm, en un beaker de 600 mL que se ha llenada hasta la mitad con agua. Agitar el agua con un magneto a baja velocidad e inicial el calentamiento del beaker a una velocidad de 0.5° C/min. Tomar como punto de fusión la temperatura a la cual la sustancia se vuelve transparente, puede utilizarse una lupa para observar el derretimiento completo. Reportar el promedio de tres repeticiones. No debe variar más de 0.5° C (Firestone, 2005). También puede utilizarse un aparato específico para toma de punto de fusión.

#### d.8.8. Índice de Yodo

Se utilizó el método indicado en la norma COGUANOR NGO 34 072 h2, también indicado en el método oficial AOAC 920.159.

d.8.8.1. Reactivos a utilizar: Ácido acético glacial, cloro al 99.8% de pureza, almidón soluble, dicromato de potasio, solución de yoduro de potasio, solución indicadora almidón, solución 0.1N de dicromato de potasio, solución 0.1 de tiosulfato de sodio, reactivo de Wijs.

d.8.8.2. Preparación de la muestra: Se preparó según el método oficial 981.11 de la AOAC. Se utilizó el líquido claro libre de sedimento. Para determinaciones en donde el resultado puede verse afectado por la presencia de agua (índice de yodo), se seco la muestra como sigue: agregar sulfato de sodio anhidro en proporción 1-2g por 10g de aceite y dejar en horno a 50° C. Agitar vigorosamente y filtrar hasta obtener un filtrado claro. (Firestone & Yurawecz, 2005).

Según la norma COGUANOR NGO 34 073, las muestras deben guardarse en envases limpios y secos de vidrio ámbar. Cuando no se dispongan de estos, pueden emplearse frascos de vidrio envueltos en papel oscuro. La tapadera de vidrio debe ser de vidrio esmerilado o con algún aislante adecuado.

#### d.8.8.3. Procedimiento:

- En un recipiente de vidrio, pesar una cantidad de muestra (0.1586 g, exactitud de la pesada +/- 0.0001) tal que permita la existencia, después de la absorción, de un exceso de 50-60% de reactivo de Wijs agregado, es decir 100-150% (0.1269g, índice de yodo 200) de la cantidad absorbida. (Norma COGUANOR NGO 34 072 h2, 1982).
- Colocar cuidadosamente el recipiente con la muestra de aceite en un erlenmeyer de 500 mL y adicionar 20.0 mL de tetracloruro de carbono.
- Medir con pipeta volumétrica 25.0 mL de reactivo de Wijs, agregar al erlenmeyer que contiene la muestra, agitar con movimiento rotatorio, tapar.
- Preparar dos pruebas blanco y hacer la determinación simultánea con la muestra.
- Guardar los erlenmeyer en la oscuridad durante 30 min. A una temperatura de 25 +/- 5° C. Si el índice de yodo es mayor a 150, guardar la muestra a esta temperatura durante una hora.
- Agregar 20 mL de solución de yoduro de potasio y 100 mL de agua destilada.
- Titular con solución de tiosulfato de sodio 0.1N, agregando gradualmente y con agitación vigorosa, hasta que el color amarillo casi haya desaparecido.

- Adicionar 1-2 mL de solución de almidón y continuar la titulación hasta desaparición del color azul.
- Efectuar las determinaciones por duplicado.

#### d.8.8.4. Obtención de resultados:

Calcular aplicando la siguiente ecuación y promediando los resultados obtenidos en las determinaciones por duplicado:

$$\text{Índice de yodo} = 12.69 (V_1 - V_2) N / m$$

$V_1$  = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación de la prueba blanco, en mL.

$V_2$  = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación en la muestra, en mL.

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

m = Masa de la muestra, en gramos.

#### d.8.9. Índice de saponificación:

Se utilizó el método indicado en la norma COGUANOR NGO 34 072 h1, también indicado en el método oficial AOAC 920.160.

d.8.9.1. Reactivos a utilizar: Hidróxido de potasio solución alcohólica, ácido clorhídrico 0.5N, anaranjado de metilo, fenolftaleína.

d.8.9.2. Preparación de la muestra: Se preparó según el método oficial 981.11 de la AOAC. Se utilizo el líquido claro libre de sedimento. Para determinaciones en donde el resultado puede verse afectado por la presencia de agua (índice de yodo), secar la muestra como sigue: agregar sulfato de sodio anhidro en proporción 1-2g por 10g de aceite y dejar en horno a 50° C. Agitar vigorosamente y filtrar hasta obtener un filtrado claro. (Firestone & Yurawecz, 2005).

Según la norma COGUANOR NGO 34 073, las muestras deben guardarse en envases limpios y secos de vidrio ámbar. Cuando no se dispongan de estos, pueden emplearse frascos de vidrio envueltos en papel oscuro. La tapadera de vidrio debe ser de vidrio esmerilado o con algún aislante adecuado.

#### d.8.9.3. Procedimiento:

- Pesar 4 o 5 g de la muestra y adicionar con pipeta 50 mL de solución alcohólica de hidróxido de potasio, dejar que escurra el contenido unos 30 segundos.
- Conectar el condensador de aire y se hierva suavemente hasta saponificación completa, este proceso requiere aproximadamente una hora. Para evitar pérdidas, observar el anillo de vapor que se forma en el condensador no llegue hasta la parte superior de mismo.
- Enfriar, sin dejar que la muestra se gelatinice, lavar el interior del condensador con una porción pequeña de agua destilada.

- Retirar el condensador, adicionar 1 mL de fenoftaleína y titular con ácido clorhídrico, hasta desaparición de color rosado.
- Prepara una determinación blanco, de la misma forma que la muestra.
- Las determinaciones deben realizarse por duplicado.

#### d.8.9.4. Obtención de resultados:

El índice de saponificación se expresa en mg de hidróxido de potasio por gramo de muestra, se adquiere promediando los resultados obtenidos en las determinaciones por duplicado, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de saponificación, mg KOH/g} = 56.1 (V_1 - V_2) N/m$$

$V_1$  = Volumen de la solución de ácido clorhídrico empleado en la muestra blanco, en centímetros cúbicos.

$V_2$  = Volumen de la solución de ácido clorhídrico empleado en la en la muestra de aceite, en centímetros cúbicos.

N = Normalidad de la solución de ácido clorhídrico.

m = Masa de la muestra, en gramos. (Norma COGUANOR NGO 34 072 h1, 1982) (Firestone, 2005).

#### d.8.10. Materia no saponificable:

d.8.10.1. Reactivos a utilizar: Hidróxido de potasio etanólico, fenolftaleína, etanol neutro, hidróxido de potasio 0.1M.

d.8.10.2. Preparación de la muestra: Se preparo según el método oficial 981.11 de la AOAC. Se utilizará el líquido claro libre de sedimento. Para determinaciones en donde el resultado puede verse afectado por la presencia de agua (índice de yodo), secar la muestra como sigue: agregar sulfato de sodio anhidro en proporción 1-2g por 10g de aceite y dejar en horno a 50° C. Agitar vigorosamente y filtrar hasta obtener un filtrado claro. (Firestone & Yurawecz, 2005).

Según la norma COGUANOR NGO 34 073, las muestras deben guardarse en envases limpios y secos de vidrio ámbar. Cuando no se dispongan de estos, pueden emplearse frascos de vidrio envueltos en papel oscuro. La tapadera de vidrio debe ser de vidrio esmerilado o con algún aislante adecuado.

#### d.8.10.3. Procedimiento:

- Pesar exactamente 2.0 a 2.2 g de la muestra de aceite y transvasar a un erlenmeyer de 250 mL.
- Agregar 25.0 mL de solución etanólica de hidróxido de potasio 0.5N y someter a reflujo con ebullición suave por lo menos de una hora.
- Transferir la solución (caliente) de la muestra saponificada a la ampolla de decantación con 50 mL de agua (no se debe tirar, se utilizará después).

- Lavar la solución (aún caliente), tres veces con cantidades de 50 mL de éter etílico.
- Vaciar cada uno de estos lavados en otra ampolla de decantación que contenga 20 mL de agua.
- Agitar los tres lavado etéreos en la ampolla de decantación y lavarlos con tres porciones de 20 mL de agua (utilizar el agua del primer lavado).
- Lavar el extracto etéreo dos veces con 20 mL de solución acuosa de hidróxido de potasio 0.5M y dos veces más con 20 mL de agua destilada, hasta que el agua del lavado deje de reaccionar (en pH alcalino) con la fenoftaleína.
- Verter el extracto etéreo en un recipiente de vidrio previamente tarado y seco.
- Evaporar el solvente, secar el residuo a no más de 80° C hasta alcanzar peso constante.
- Disolver la materia no saponificable en alcohol neutro y titular con hidróxido de potasio 0.1M.
- No se requiere más de 0.1 mL para neutralizar los ácidos grasos libres. (Kirk, Sawyer & Egan, 2008).

#### d.8.11. Índice de Rancidez:

##### d.8.11.1. Índice de ácidos grasos libres:

Se utilizó el método indicado en el método oficial AOAC 940.28.

##### d.8.11.2. Procedimiento:

- Pesar 7.05 g de aceite bien mezclado en un beaker de 250 mL.
- Adicionar 50 ml de etanol caliente neutro (adicionar 2.0 mL de fenoftaleína e hidróxido de sodio 0.1M hasta coloración rosa permanente).
- Titular con NaOH 0.1M con agitación vigorosa hasta el primer cambio de color de rosa intenso a rosa suave, debe permanecer por más de un minuto.
- Calcular la cifra de ácidos grasos libres, como ácido oleico, 1 mL de hidróxido de sodio 0.1M equivale a 0.0282 g de ácido oleico. (Firestone, 2005) (Kirk, 2008).

##### d.8.11.3. Índice de rancidez

Se realizó el método indicado en la norma COGUANOR NGO 34 072 h12.

d.8.11.3.1. Reactivos a utilizar: fluoroglucinol al 0.1% en éter dietílico, ácido clorhídrico concentrado.

d.8.11.3.2. Reactivos a utilizar: fluoroglucinol al 0.1% en éter dietílico, ácido clorhídrico concentrado.

#### d.8.11.3.3. Procedimiento:

- Lavar los tubos de ensayo de vidrio d 150 x 25 mm con detergente, enjuagar con agua caliente y dejar en mezcla crómica durante algunas horas. Enjuagar varias veces con agua corriente, finalmente con agua destilada y secarlos en el horno.
- Agregar en un tubo de ensayo 10 mL de aceite, 10 mL de la solución de fluoroglucinol y 10 mL de ácido clorhídrico concentrado, agitar vigorosamente, durante 20 segundos. La aparición de un color rosado es indicación de rancidez incipiente. (COGUANOR NGO 34 h12, 1982).

#### d.8.12. Prueba de frío

Se utilizó el método indicado en la norma COGUANOR 34 072 h13.

Esta prueba es útil para la determinación de la eficiencia de hibernación.

Se toma una muestra de aceite representativa y se lleva a una temperatura de 0° C, se toma el tiempo en que la muestra de aceite permanece transparente; los triglicéridos de alto punto de fusión (esterarinas) lo enturbian a bajas temperaturas. Si el aceite se mantiene transparente durante cinco horas y media, se considera de buena calidad (Badui, 2006).

##### d.8.12.1. Procedimiento:

- Filtrar de 30 – 40 ml de la muestra de aceite, calentar la porción filtrada, agitar durante el calentamiento, hasta alcanzar 130° C. Retirar inmediatamente de la fuente de calentamiento.
- Llenar completamente un frasco de vidrio con la muestra, tapara herméticamente, ajustar la temperatura a 25° C en un baño de hielo.
- Sellar el frasco con parafina o algún otro medio que asegure la hermeticidad.
- Sumergir el frasco completamente en un baño de hielo, debe permanecer a una temperatura de 0° C por 5 horas y media (Hacer recambios de hielo).
- Retirar el frasco del baño de hielo y observar contra la luz para comprobar si existen cristales o enturbamiento. (No confundir las pequeñas burbujas de aire con cristales).
- La muestra debe ser clara, limpia y brillante.

#### d.8.13. Determinación del perfil de ácidos grasos del aceite fijo obtenido de las especies más promisorias

d.8.13.1. Materiales y Equipo: Cromatógrafo de Gases con detector FID, columna capilar de 15m X 0.10mm de diámetro interno y 0.10 micrómetros con recubrimiento polar (ditilene-glicol pulisuccinato); columna capilar de 15m X 0.10mm de diámetro interno y 0.10 micrómetros con recubrimiento especial que permita la separación de

ácidos poliinsaturados; estufa con agitador; pipetas automáticas de 1-100 microlitros y de 100-1000 microlitros; puntas descartables para pipetas automáticas.

d.8.13.2. Reactivos: Trifloruro de boro al 14% en metanol, hexano, heptano, tolueno,  $\text{BCl}_3$  - metanol 12% p/p, 2,2-dimethoxypropano, sulfato de sodio anhidro, nitrógeno o helio, estándares de ácidos grasos 2-4% en peso, estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos poliinsaturados, cloruro de metileno.

d.8.13.3. Cristalería: Balón de destilación de 50 mL, columna de reflujo, núcleos de ebullición, viales de microreacción de 5 mL con tapa sólida, viales de microreacción de 5 mL con tapa perforada, jeringa para inyección de 10 microlitros graduada a 0.1 microlitros.

#### d.8.13.4. Perfil de ácidos grasos, GLC de los esteres de ácidos grasos

Métodos directos para síntesis de ésteres metílicos de ácidos grasos, desarrollados por O'Fallon, Busboom, Nelson & Gakins en 2007; en donde se mutilan directamente los ácidos grasos presentes en la muestra en solución acuosa.

##### d.8.13.4.1. Procedimiento operatorio

Se aplicó el sugerido por el método oficial AOAC 963.28

- Graficador o Detector de 2.5-5.0 mV de rango y menos del 1.5s de rango de respuesta.
- Fase móvil: Hidrógeno; 50 cm/sec constante.
- Temperatura del Horno: 100 °C, con incrementos graduales de 4-8 °C/min hasta 195 °C durante 1 minuto. Si el aparato no se puede programar de esta manera. Colocar la muestra a 100 °C y luego de un tiempo aumentar la temperatura a un valor intermedio entre 100-195 °C hasta que todos los componentes hayan eluido.
- Temperatura del puerto de inyección: 250 °C
- Temperatura del detector FID: 300 °C
- Volumen de inyección 0.2 micro litros, loop 200:1
- Preparar estándar (muestra conocida de metil ésteres de ácidos grasos) en heptano al 5-10%
- Inyectar primero de 0.2-0.5 microlitros del estándar y ajustar las condiciones según sea necesario.
- Analizar las muestras en las mismas condiciones del estándar.
- Medir tiempos de retención en distancias (s) para los ésteres conocidos.

- Graficar Log(s) como una función del número de átomos de carbono de los ácidos.
- Identificar los picos de las muestras utilizando el gráfico del estándar como referencia, interpolar si es necesario.
- Los ésteres eluirán en orden creciente de número de carbonos y de mayor grado de insaturación para el mismo número de carbonos.

#### d.8.13.4.1.1. Cálculos

$$C_i = G_i \times 100 / \text{suma } G_i$$

$G_i$  = área de pico correspondiente al componente  $i$

Suma  $G_i$  = suma de las áreas debajo de los picos

En ciertos casos, como por ejemplo, en presencia de componentes con menos de 12 átomos de carbono, existen grandes diferencias en pesos moleculares y presencia de grupos moleculares, por lo que deberá usarse un factor de corrección para convertir áreas de picos en porcentajes de peso. Determinar factores de corrección, analizando estándares de diferencia con metil ésteres de composición similar a la muestra bajo las mismas condiciones de operación. Para estándares de referencia.

$$\text{Porcentaje de peso de componente } i = B_i \times 100 / \text{suma } B_i$$

$B_i$  = peso del componente  $i$  en el estándar de referencia

Suma  $B_i$  = peso total de todos los componentes en el estándar de referencia. Calcular desde el cromatograma.

$$\text{Porcentaje (área/área) del componente } i = G_i \times 100 / \text{suma } G_i$$

Donde se calcula el factor de corrección para cada componente.

$$K_i = (B_i / \text{suma } B_i) \times (\text{suma } C_i / C_i)$$

Determinar el factor de corrección relativo de ácido palmítico,  $K_{16} = 1$ , entonces:

$$K' = K_i / K_{16}$$

Entonces para calcular el porcentaje de cada componente (como metil éster), multiplicar el área por el factor de corrección apropiado y utilizar las áreas corregidas:

$$\text{Porcentaje en peso de cada componente } i = (K'_i \times G_i) \times 100 / \text{suma } (K'_i \times G_i)$$

En ciertos casos, por ejemplo, cuando todos los componentes no han aludido, usar el estándar interno, S como  $C_{15}$  o  $C_{17}$  metil éster y determinar el factor de corrección. Entonces

Porcentaje por peso de componente i como metil éster =

$$(W_s / W) \times (k'_i / k'_s) \times (G_i / G_s) \times 100$$

$W_s$  = mg de estándar interno.

$W$  = mg totales de la porción de muestra, y suscrito S referente al componente de estándar interno.

#### d.8.13.4.1.2. Precisión:

Repetibilidad: Dos determinaciones individuales desarrolladas el mismo día por el mismo operador con el mismo aparato sobre la misma muestra para componentes mayoritarios (menor a 5%) no deben diferir menos del 3% del valor relativo con un valor absoluto de 1%. (Firestone & Horwitz, 2005)

#### d.8.13.5. Presencia y Cuantificación de ácidos grasos poliinsaturados

Los ácidos grasos poliinsaturados, llamados PUFAs por sus siglas en inglés, abarcan cadenas de 18, 20 y 22 carbonos que tienen dobles enlaces 2-6 con configuraciones cis, separados por un grupo metileno. El ácido linoleico y el ácido alfa-linoleico son necesarios para el desarrollo normal y el funcionamiento de los tejidos, por lo que se conocen como esenciales. (Kirk, 2008)

Los ácidos grasos poliinsaturados se identifican y determinan mediante cromatografía de gases de sus ésteres metílicos. Condiciones operacionales a utilizar:

- Columna polar de 15 m x 0.10 mm de diámetro interno y 0.10 micrómetros
- Temperatura del horno del cromatógrafo 140 °C, con aumento de 40 °C c/minuto hasta llegar a 280 °C donde se mantiene durante 2 minutos o hasta que eluyan todos los componentes del estándar externo.
- Temperatura del puesto de inyección: 250 °C
- Temperatura del detector FID: 180 °C
- Fase móvil: Hidrógeno 50cm/constante
- Volumen de eyección del estándar externo y de la muestra previamente preparadas: 0.2 microlitros.

## VIII. RESULTADOS

TABLA No.1 CONTROL DE CALIDAD DE SEMILLAS DE LAS ESPECIES *Rubus fruticosus*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy*.

Espece	Color según taco de color tipo PANTONE	Tamaño	% Semilla pura	Gramos De Semilla
<i>Rubus fruticosus</i>	Taco de color No.1 TOSCANA I4-10	Largo: 0.3 cm. Ancho: 0.1 cm.	100	129.4
<i>Rubus kiowa</i>	Taco de color No.1 JABALI I4-09	Largo: 0.3 cm. Ancho: 0.1cm.	100	197.4
<i>Rubus occidentalia</i>	Taco de color No.1 COLINDRES I4-06	Largo: 0.3 cm. Ancho: 0.1cm.	100	360.1
<i>Rubus tupy</i>	Taco de color No.1 JABALI I4-09	Largo: 0.3 cm. Ancho: 0.1cm.	100	189.5

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT.

TABLA No.2 CONTROL DE CALIDAD DE SEMILLAS DE LAS ESPECIES *Rubus fruticosus*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy*.

Espece	% humedad	Promedio	Desviación Estándar	Densidad	Promedio	Desviación Estándar
<i>Rubus fruticosus</i>	7.95	7.9	+/- 0.0288		0.89	+/- 0.0115
	7.9			0.9		
	7.95			0.88		
<i>Rubus kiowa</i>	8.4	8.4	+/- 0.02	0.76	0.76	+/- 0.0152
	8.38			0.74		
	8.42			0.77		
<i>Rubus occidentalia</i>	8.1	8.1	+/- 0.0115	0.83	0.81	+/- 0.0152
	8.1			0.81		
	8.12			0.8		
<i>Rubus tupy</i>	8.39	8.4	+/- 0.0057	0.71	0.70	+/- 0.0057
	8.4			0.7		
	8.4			0.7		
		Media= ± 0.01575				Media = ± 0.008925

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT

TABLA No.3. EXTRACCIÓN DE ACEITE DE LAS SEMILLAS DE LAS ESPECIES *Rubus fruticosus*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy*.

Especie	Extracción	Gramos Totales de Semilla	Gramos De Aceite	% Rendimiento
<i>Rubus fruticosus</i>	En frío por medio de PRENSA CARVER	129.4	2.7524	2.13
<i>Rubus kiowa</i>	En frío por medio de PRENSA CARVER	197.4	0.9094	0.46
<i>Rubus occidentalia</i>	En frío por medio de PRENSA CARVER	360.1	8.0464	2.23
<i>Rubus tupy</i>	En frío por medio de PRENSA CARVER	189.5	2.1568	1.14
<i>Rubus tupy</i>	SOLVENTE HEXANO	35	1.704	4.87

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales LIEXVE.

TABLA No.4 ENSAYOS ORGANOLÉPTICOS DEL ACEITE OBTENIDO DE LAS ESPECIES *Rubus fruticosus*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy*.

Especie	Olor	Color según taco de color tipo PANTONE	Color Absorbancia Máxima	Estado/ Apariencia
<i>Rubus fruticosus</i>	Característico grasa	a Taco de color No.1 PIÑA J2-07	411nm 473nm 532nm	Líquido Viscoso
<i>Rubus kiowa</i>	Característico grasa	a Taco de color No.1 MORGAN J1-08	No determinado	Líquido Viscoso
<i>Rubus occidentalia</i>	Característico grasa	a Taco de color No.1 RASPADO J2-06	304nm 411nm 474nm	Líquido Viscoso
<i>Rubus tupy</i>	Característico grasa	a Taco de color No.1 JIRAFA J1-07	301nm 409nm 362nm	Líquido Viscoso

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT.

TABLA No.5. ENSAYOS FÍSICOQUÍMICOS DEL ACEITE OBTENIDO DE LAS ESPECIES *Rubus fruticosus*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy*.

Especie	pH	Promedio	Desviación Estándar	Índice de Refracción	Promedio	Desviación Estándar
<i>Rubus fruticosus</i>	6	5.6	+/- 0.5773	1.4839	1.4826	+/- 0.00233
	6			1.4799		
	5			1.4840		
<i>Rubus kiowa</i>	6	6	+/- 0	1.48426	1.48292	+/- 0.00118
	6			1.4820		
	6			1.4825		
<i>Rubus occidentalia</i>	6	5.9	+/- 0.11547	1.4849	1.48485	+/- 0.0001802
	5.8			1.48465		
	6			1.4850		
<i>Rubus tupy</i>	6	5.9	+/- 0.0577	1.4842	1.4841	+/- 0.00
	5.9			1.4840		
	6			1.4841		
			Media = ± 0.18			Media = ± 0.00092

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT.

TABLA No.6. ENSAYOS FÍSICOQUÍMICOS DEL ACEITE OBTENIDO DE LAS ESPECIES *Rubus fruticosus*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy*.

Especies	Punto de Fusión (°C)	Promedio	Desviación Estándar	Densidad (g/ml)	Promedio	Desviación Estándar
<i>Rubus fruticosus</i>	35	34.33	+/- 0.577350	0.8971	0.8970	+/- 5.7 E-05
	34			0.8970		
	34			0.8971		
<i>Rubus kiowa</i>	35	35	+/- 0	0.8971	0.8976	+/- 0.00098
	35			0.8988		
	35			0.8971		
<i>Rubus occidentalia</i>	35	35.66	+/- 0.5773502	0.8972	0.8971	+/- 5.7 5E-05
	36			0.8971		
	36			0.8971		
<i>Rubus tupy</i>	35	35	+/- 1.00	0.8972	0.8971	+/- 0.00
	36			0.8972		
	34			0.8971		
			Media = ± 0.535			Media = ± 0.00049

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT.

TABLA No.7. ENSAYOS FÍSICOQUÍMICOS DEL ACEITE OBTENIDO DE LAS ESPECIES *Rubus fruticosus*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy*.

Especies	Índice de Saponificación	Promedio	Desviación Estándar	Índice de Yodo
<i>Rubus fruticosus</i>	203.37	203.01	+/- 0.5524	179.25
	202.38			
	203.30			
<i>Rubus kiowa</i>	No determinado			No determinado
<i>Rubus occidentalia</i>	192.07	191.06	+/- 1.0361	183.49
	190.00			
	191.12			
<i>Rubus tupy</i>	213.18	213.21	+/- 0.0360	179.25
	213.20			
	213.25			

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT.

TABLA No. 8. ANÁLISIS DE ACEITES FIJOS POR CROMATOGRFÍA DE GASES CON DETECTOR DE MASAS.

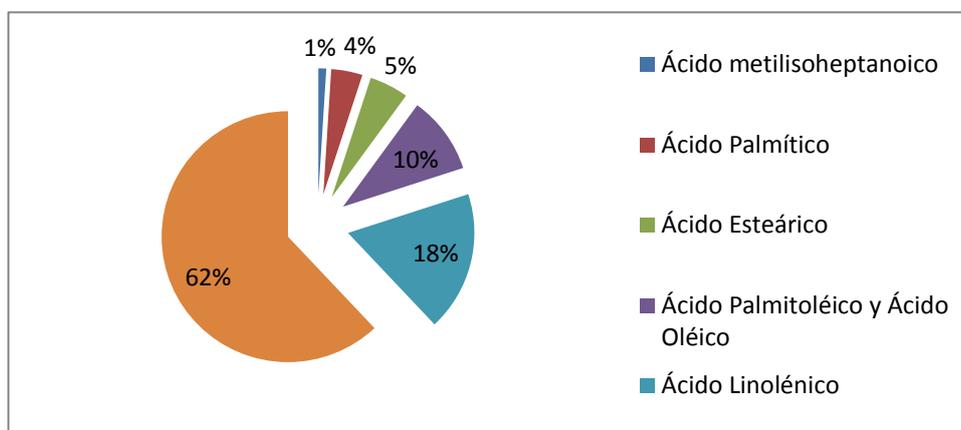
Especie	Ácido graso	Tiempo de retención
<i>Rubus occidentalia</i>	Ácido palmítico	11.948
	Ácido estéarico	14.040
	Ácido palmitoléico	14.650*
	Ácido oleico	14.650*
	Ácido linoleico	15.719
	Ácido metil iso heptadecanoico	16.205
	Ácido linolénico	16.842
<i>Rubus kiowa</i>	Ácido 2-metilheptanoico	11.938
	Ácido 9- metildodecanoico	14.581
	Ácido Linolelaidico	15.568
	Ácido 12-metil tetradecanoico	16.182
	Ácido cis-11,14,17 Eicosatrienoico	16.755
<i>Rubus fruticosus</i>	Ácido undecanoico	15.518*
	Ácido pentadecanoico(Z,Z)	15.518*
<i>Rubus tupy</i>	Ácido tridecanoico	11.916
		13.935
	Ácido oleico	14.577
	Ácido linoleico	15.582
	Ácido linolénico	16.751

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de la Universidad del Valle de Guatemala.

\*Aquí se encuentran en un solo pico ambos ácidos.

Gráfica No. 1

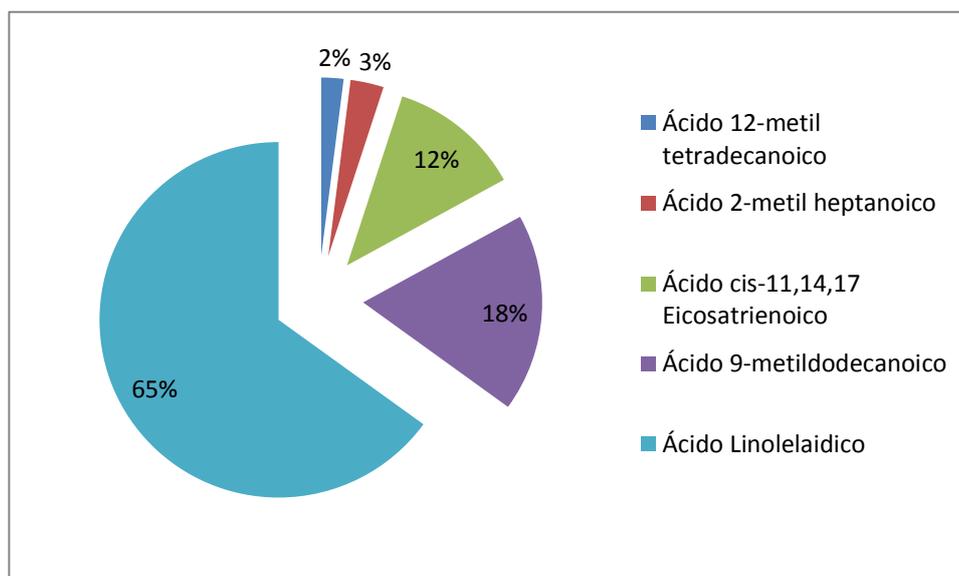
Contenido de ácidos grasos de la especie *Rubus Occidentalia* (%)



Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de la Universidad del Valle de Guatemala.

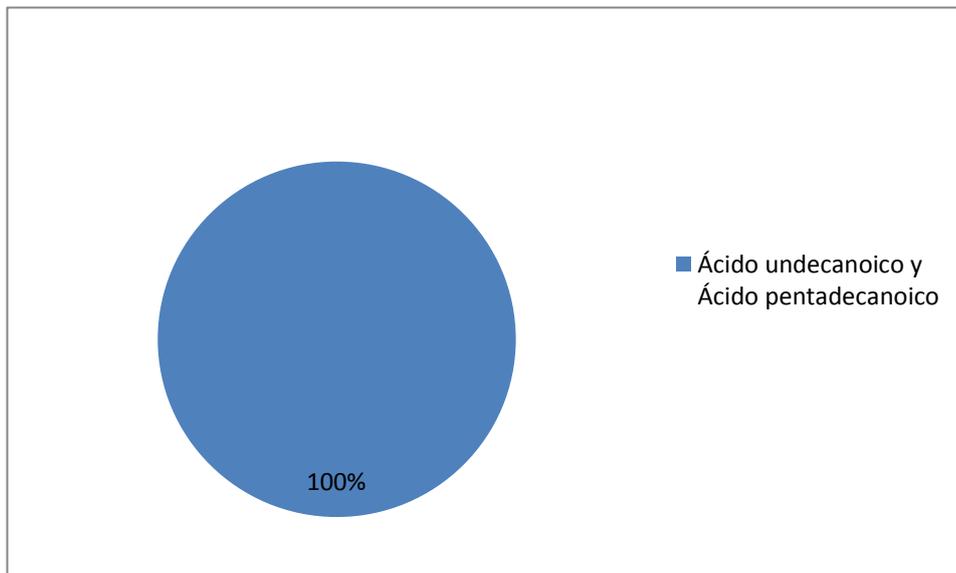
Gráfica No.2

Contenido de ácidos grasos de la especie *Rubus kiowa* (%)



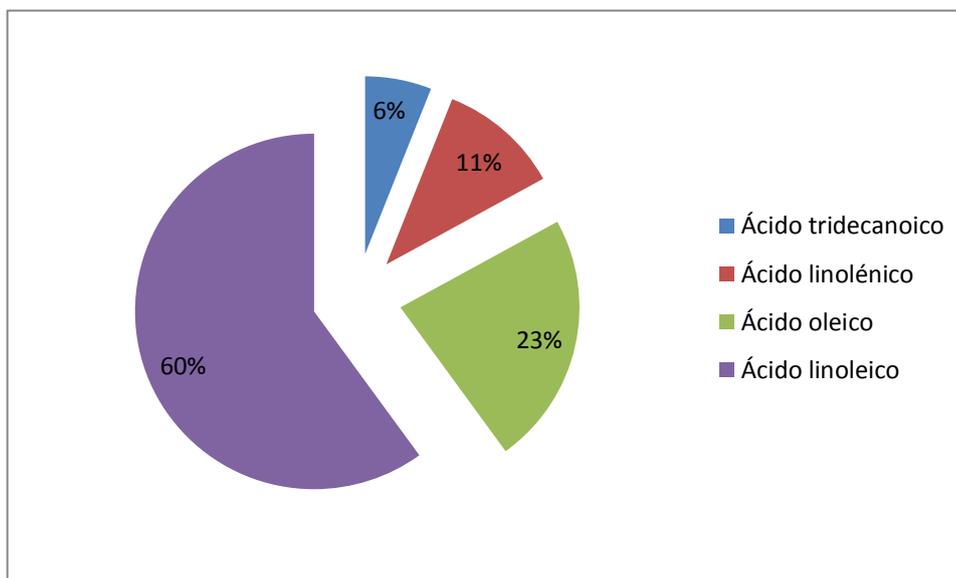
Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de la Universidad del Valle de Guatemala.

Gráfica No.3

Contenido de ácidos grasos de la especie *Rubus fruticosus* (%)

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de la Universidad del Valle de Guatemala.

Gráfica No. 4

Contenido de ácidos grasos de la especie *Rubus tupy* (%)

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de la Universidad del Valle de Guatemala.

TABLA No.9 CLASIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS ENCONTRADOS EN LAS ESPECIES *Rubus fruticosus*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy*.

Ácido Graso (%)	No. De átomos de Carbono	Fórmula química	Clasificación
<i>Rubus Occidentalia</i>			
Ácido metilisoheptanoico (1%)	18:0	$\text{CH}_3\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{COOH}/\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_2$	Saturado
Ácido palmítico (4%)	16:0	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_6$	Saturado
Ácido esteárico (5%)	18:0	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	Saturado
Ácido palmitoléico (10%)	16:0	$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$	Saturado
Ácido oléico (10%)	18:1	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	Insaturado
Ácido linolénico (18%)	18:3	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-}(\text{CH}_2)_7\text{-COOH}$	Insaturado
Ácido linoleico (62%)	18:2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH=CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$	Insaturado
<i>Rubus kiowa</i>			
Ácido 12-metil-tetradecanoico (2%)	15:0	$(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{COOH}/\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_2)$ ,	Saturado
Ácido 2-metil-heptanoico (3%)	18:0	$\text{CH}_3\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{COOH}/\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_2$	Saturado
Ácido cis-11,14,17-eicosatrienoico (12%)	20:3	$\text{CH}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$	Insaturado
Ácido 9-metildodecanoico (18%)	13:0	$\text{CH}_3\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$	Saturado
Ácido linolelaídico (65%)	18:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH=CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$	Insaturado
<i>Rubus fruticosus</i>			
Ácido undecanoico (100%)	11:0	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_9\text{-COOH}$	Saturado
Ácido pentadecanoico (100%)	15:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ .	Saturado
<i>Rubus tupy</i>			
Ácido tridecanoico (6%)	13:0	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_{11}\text{-COOH}$	Saturado
Ácido linolénico (11%)	18:3	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-}(\text{CH}_2)_7\text{-COOH}$	Insaturado
Ácido oléico (23%)	18:1	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	Insaturado
Ácido linoleico (60%)	18:2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH=CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$	Insaturado

Fuente: Slowing, I. UN TEXTO BÁSICO DE ORGÁNICA. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. En verde se identifican los ácidos grasos en mayor %

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para llevar el análisis fisicoquímico de los aceites fijos de las especies a estudiar, se inicio con el control de calidad de la materia vegetal, en este caso, las semillas de las cuatro especies de Rubus: *Rubus occidentalia*, *Rubus kiowa*, *Rubus fruticosus*, *Rubus tupy*; tomando en cuenta parámetros como: color, tamaño, porcentaje de humedad, presencia de microorganismos patógenos y gramos totales de semilla pura.

El color se determino utilizando como patrón un taco de color tipo PANTONE, para cada especie está asignado un código que lo identifica (TABLA No.1), se utilizó el taco de color No. 1 que abarca los colores, turquesas, verdes, cítricos y amarillos; el color predominante fue el amarillo en sus diferentes tonalidades. Se utilizó una regla para determinar el tamaño de las semillas de cada especie, midiendo el largo y ancho; concluyendo que las semillas de las cuatro especies de Rubus, poseen un tamaño estándar de 0.3 cm de largo y 0.1 cm de ancho (TABLA No.1). La mayor cantidad en gramos de semilla se obtuvo de la especie *Rubus occidentalia* con 360.1 gramos. El porcentaje de humedad se mantuvo por debajo del 10% ya que de esta manera se conserva el material vegetal en óptimas condiciones; se puede observar en la tabla No.2, que el porcentaje de humedad se mantuvo en un rango de 7 y 8% ( $\pm 0.016$ ). En este parámetro de calidad, se sometió al material vegetal a un proceso de secado, ya que en un principio poseía un porcentaje de humedad superior al 10%; utilizando un horno de convección a una temperatura de 40°C, durante periodos de tiempo cortos. El % de humedad se midió en una balanza de humedad. Como se puede observar en la tabla No.2 la densidad es diferente para cada especie, siendo menor a uno; este parámetro de calidad, se determino por el desplazamiento del volumen con respecto a la cantidad de materia vegetal. Para determinar la ausencia o presencia de microorganismos patógenos y/o enfermedades, se observó el material vegetal bajo un estereoscopio, determinando así que estaban libres de estos.

La extracción del aceite fijo del material vegetal de las cuatro especies de Rubus: *Rubus occidentalia*, *Rubus kiowa*, *Rubus fruticosus*, *Rubus tupy*; se realizó por extrusión en frío, utilizando para ello una prensa hidráulica marca CARVER, modelo C serie N 24000 536. Obteniendo un porcentaje de rendimiento para cada especie de: 2.13 % para *Rubus fruticosus*, 0.46% para *Rubus kiowa*; 2.23% para *Rubus occidentalia*, 1.14% para *Rubus tupy* (Ver tabla No. 2.) Para *Rubus tupy*, se extrajo el aceite fijo del material vegetal por medio de solventes, utilizando hexano, obteniendo un % de rendimiento de 4.87%; se realizó como una prueba extra para comparar los dos métodos, sin embargo, aunque se obtuvo un % de rendimiento alto, la calidad del aceite fijo se conserva mejor por el método de extrusión en frío. Se concluyó también que la especie con mayor % de rendimiento es *Rubus occidentalia*.

Extraídos los aceites fijos de cada especie, se determinaron sus características organolépticas, incluyendo parámetros como: olor, color, absorbancia máxima y apariencia. En la tabla No. 4, se detallan estos parámetros; los aceites fijos de las cuatro especies estudiadas, poseen un olor característico a grasa, el color fue

determinado mediante un taco de colores tipo PANTONE, abarcando las tonalidades amarillas; se determinó la longitud de onda a la cual la muestra (aceite fijo de diferentes especies de *Rubus*) absorbe la mayor cantidad de luz, para *Rubus fruticosus* la máxima absorbancia se encontró a 532nm; para *Rubus occidentalia* fue de 474nm y para *Rubus tupa*, fue de 362nm (ver tabla No. 4), este parámetro, podría ser útil como referencia para futuros estudios, para determinar la pureza del aceite fijo extraído de la misma especie que emplee diferentes métodos de extracción; la apariencia del aceite fijo es de un líquido viscoso para cada especie.

Se determinó de acuerdo a las propiedades fisicoquímicas que, los aceites fijos son ácidos ( $\text{pH}=5-6 \pm 0.18$ ); el índice de refracción aumenta según la longitud de las cadenas carbonadas y el número de enlaces dobles que forman el glicérido (Pascual, 2000), los aceites fijos evaluados, poseen un índice de refracción ligeramente alto ( $1.48 \pm 0.00092$ ), lo que podría indicar que los aceites fijos de *Rubus* son altamente insaturados y que existe una gran cantidad de ácidos grasos de cadenas largas, esto se corrobora con los resultados obtenidos en la cromatografía de gases (tabla No. 8), en donde se muestra que están compuestos en su mayoría por ácido linoleico (C18:2), en el caso de *Rubus occidentalia* y ácido linolelaídico (C18:1) para *Rubus kiowa*, excepto en la especie *Rubus fruticosus* que está formada en su mayoría por ácido undecanoico (C11:0) y pentadecanocio (C15:0)

La densidad, tomada a 25°C para los aceites fijos evaluados fue de  $0.897 \pm 0.00049$ , este parámetro está relacionado con el índice de yodo y el índice de saponificación (Pascual 2000), lo que nos demuestra que este dato debe ser relativamente alto, además se puede tomar como un indicador del grado de pureza del aceite fijo de la especie *Rubus*, para estudios futuros que utilicen otros métodos de extracción. Se determinó también que, los aceites fijos estudiados se funden  $35^\circ\text{C} \pm 0.535$ . ( ver tabla No.5 y 6).

Otro de los caracteres fisicoquímicos establecidos para evaluar los aceites fijos; además del índice de refracción y la densidad, fue, el índice de saponificación (que se expresa en mg de Hidróxido de Potasio/ gramo de aceite). El índice de saponificación también es un parámetro que sirve para identificar previamente la longitud de la cadena de ácidos grasos que forman los glicéridos de la grasa, su relación es inversamente proporcional (Firestone & Yurawecz, 2005).

Para la especie *Rubus occidentalia* el índice de saponificación fue de  $191.06 \pm 1.03$ , lo que indica que sus cadenas carbonadas en su mayoría deben ser cortas, pero como se puede observar en los resultados de la cromatografía de gases, el ácido graso que forma la mayor parte del glicérido es el ácido linoleico (62%), es un ácido graso de cadena larga posee 18 carbonos, por lo tanto no se comporta como lo indica la literatura. Para *Rubus kiowa* no fue posible llevar a cabo esta prueba ya que la cantidad de muestra no era la suficiente.

*Rubus fruticosus* presentó un índice de saponificación de  $203.01 \pm 0.55$ , lo que indica que sus cadenas carbonadas en su mayoría deben ser cortas, como en el caso de *Rubus occidentalia*, pero como se puede observar, está formado en su mayoría por el ácido linolelaídico, el cual posee 18 carbonos en su estructura, por lo tanto este dato tampoco se comporta como lo indica la literatura.

*Rubus tupy*, presentó un índice de saponificación de  $213.21 \pm 0.0360$ , por lo tanto se esperaría que esté compuesto por cadenas de ácidos grasos cortas; como se observa en los resultados, está formado en su mayoría por el ácido undecanoico que posee 11 carbonos y el ácido pentadecanoico con 15 carbonos, por lo tanto si se comporta como lo indica la literatura.

El índice de yodo es una prueba fisicoquímica que identifica y determina el grado de insaturación de una grasa o aceite y se expresa como gramos de Yodo/100gramos de muestra (Firestone & Yurawecz, 2005) y es específico para cada especie. Para *Rubus occidentalia*, el índice de yodo fue  $183.49 \pm 1.0361$ , lo que indica que está formado en su mayoría por ácidos grasos insaturados, lo cual se confirma en los resultados de la cromatografía de gases, ya que el ácido graso que forma la mayor parte del glicérido es el ácido linoleico, este es un ácido graso insaturado (C18:2). *Rubus kiowa*, no fue posible llevar a cabo esta prueba ya que la cantidad de muestra no era la suficiente.

*Rubus fruticosus*, presentó un índice de yodo de  $179.25 \pm 0.5524$ , se esperaría que en su mayoría el glicérido este formado por ácidos grasos insaturados, pero en este caso el glicérido está formado por ácidos grasos saturados: ácido undecanoico (C11:0) y el ácido pentadecanoico (C15:0), por lo tanto no se confirma lo que indica la literatura consultada.

*Rubus tupy*, presentó un índice de yodo de  $179.22 \pm 0.0360$ , lo que indica que el glicérido está formado en su mayoría por ácidos grasos insaturados, se confirma este resultado con el obtenido en la cromatografía de gases, ya que está formado por el ácido linoleico, este es un ácido graso insaturado (C18:2), por lo tanto si cumple con lo establecido en la literatura.

En el aceite fijo obtenido de la especie de *Rubus occidentalia*; el ácido graso con mayor porcentaje es el Ácido Linoleico con un 62%; dicho ácido es necesario en la dieta debido a que es precursor de las prostaglandinas y otros componentes de tipo hormonal ( Benyon, O'Neal 2003) seguido por el Ácido Linolénico con un 18% el cual es parte de los ácidos grasos esenciales para el organismo ( Benyon, O'Neal 2003.) Ver gráfica No. 1.

La gráfica No. 2, indica que en la especie *Rubus kiowa*, el ácido graso con mayor presencia es el Ácido Linolelaídico con un 65%, dicho ácido es un ácido poliinsaturado que incrementa los niveles del LDL en el organismo (Pérez, Perales, Uresti, Ramírez, González 2010) seguido por el Ácido Metildodecanoico con un 18%, que se utiliza en la síntesis de productos alimenticios y farmacéuticos.

Para la especie *Rubus fruticosus*, los ácidos grasos con mayor presencia son, el Ácido undecanoico y Ácido pentadecanoico, no se ha encontrado el uso de estos ácidos grasos en la literatura consultada. (ver gráfica No. 3); para la especie *Rubus tupa* el ácido graso con mayor porcentaje es Linoleico con un 60% (ver gráfica No. 4), dicho ácido es necesario en la dieta debido a que es precursor de las prostaglandinas y otros componentes de tipo hormonal (Benyon, O'Neal 2003), seguido por el Ácido Oleico con un 23% (ver gráfica No. 4); el Ácido Oleico es famoso por sus efectos beneficiosos sobre la salud cardiovascular y hepática, aumenta el llamado colesterol bueno (HDL) y reduce el colesterol malo (LDL) en sangre (Gil 2010).

Debido a que los ácidos grasos con mayor porcentaje, encontrados en las especies de *Rubus* estudiadas: *Rubus occidentalis*, *Rubus kiowa*, *Rubus fruticosus*, *Rubus tupa*, pueden ser utilizados con fines terapéuticos, es necesario llevar a cabo pruebas de DL<sub>50</sub>, antes de ser producidos comercialmente para consumo humano.

Con los resultados obtenidos, se logra, cumplir con el objetivo principal de este proyecto de investigación, a través de la evaluación fisicoquímica de los aceites fijos obtenidos de las diferentes especies de *Rubus* y mediante la determinación de su perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.

Los resultados generados son un aporte para nuevas investigaciones, sobre el material de desecho que se descarta por muchas empresas, ya que se genera nueva información de estas especies que son nativas de Guatemala; las personas interesadas pueden realizar pruebas fisicoquímicas, de bajo costo, para establecer calidad y pureza de los aceites obtenidos y darles un valor comercial.

## X. CONCLUSIONES

1. El porcentaje de rendimiento de aceite fijo extraído por extrusión en frío de las diferentes especies de *Rubus*, fue menor al 10%, obteniéndose el mayor porcentaje de rendimiento de la especie *Rubus occidentalia* con 2.23%.
2. Los aceites fijos extraídos son líquidos, viscosos, de color amarillo, que abarca sus diferentes tonalidades y aroma característico.
3. Los aceites fijos en estudio de las diferentes especies de *Rubus*, son ácidos y altamente puros.
4. El índice de refracción ligeramente alto, establece que los ácidos grasos que forman los glicéridos de las diferentes especies de *Rubus*, son de cadena larga y poseen varias insaturaciones.
5. El índice de saponificación presentó valores elevados, sin embargo, únicamente el aceite fijo de *Rubus tupy* está formado en su mayoría por ácidos grasos de cadena corta.
6. Los aceites fijos analizados por medio de cromatografía de gas, de las diferentes especies de *Rubus*, poseen insaturaciones, con enlaces diénicos, siendo el ácido graso más abundante en la mayoría de las mismas, el ácido linoleico (C18:2).
7. El índice de yodo elevado indica la presencia de gran cantidad de ácidos grasos insaturados, como es el caso de los aceites en estudio.
8. El ácido graso obtenido de la especie *Rubus*, con posible uso terapéutico es el Ácido Linoleico, presente en las especies *Rubus occidentalia* y *Rubus tupy* ya que es precursor de prostaglandinas y otros componentes hormonales.
9. Se ha cumplido con el objetivo principal del estudio, ya que mediante pruebas fisicoquímicas y por cromatografía de gas, se evaluaron y caracterizaron los aceites fijos de semillas de cuatro especies de *Rubus* cultivadas en Guatemala para su aplicación en la industria.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Incluir dentro de las prácticas de laboratorio del curso que corresponda, el método de extrusión en frío.
2. Considerar la adquisición de una prensa hidráulica, para la implementación del método de extracción de aceites fijos.
3. Llevar a cabo pruebas de  $DL_{50}$  para los aceites fijos de la especie *Rubus*, para establecer la seguridad de su consumo.
4. Elaborar una base de datos con los resultados obtenidos de las pruebas fisicoquímicas, para que sirvan como referencia en futuros estudios.

## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar JI (1966) *Relación de unos aspectos de la flora útil de Guatemala*. Guatemala Ministerio de Agricultura, pp. 108-375
2. AOAC, 1995. Official Methods of Analysis of AOAC international, vol. 2 16<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemistry. Arlington. TX.
3. Álvarez, Eduardo (2007). APLICACIÓN DEL ACEITE DE PALTA EN COSMETOLOGÍA. Lima, Perú.
4. Badui, S. (2006). Química de los alimentos. (4<sup>a</sup> Ed.). Atlacomulco. México: Pearson Educación
5. Barrientos Gracia, M. (2001-2002). Proyecto CONCYT 77-00. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE 4 PLANTAS MEDICINALES CULTIVADAS EN GUATEMALA, MANZANILLA (*Matricaria recutita L.*), PERICÓN (*Tagetes lucida cav.*), AJENJO (*Artemisa absintium L.*) E HINOJO (*Foeniculum vulgare Miller*) Sección de Química Industrial del Centro de Investigación de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala – CII/USAC. Guatemala.
6. Cáceres A. (2006). Vademécum Nacional de Plantas Medicinales. Guatemala. Ministerio de Salud Pública. Universidad de San Carlos de Guatemala. 262p.
7. Cáceres, Armando et.al. (2005) CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITES ESENCIALES COMO NUEVOS RECURSOS PARA EL DESARROLLO AGROINDUSTRIAL. FASE III. Informe final de proyecto de investigación –DIGI-. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
8. Cano Morales, T. et. al. (1999). DETERMINACIÓN DE LA FACTIBILIDAD DE LA EXTRACCIÓN-DESTILACIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE JENGIBRE, AJO Y AJONJOLÍ, COMO PRODUCTOS DE EXPORTACIÓN. Informe final. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT) Centro de Investigaciones de Ingeniería (CCI), Planta Piloto de Extracción-destilación. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
9. Firestone, D. & Yurawecz, M. (Eds.). (2005). Oils and Fats. En Horwitz, W. & Latimer, G. (Eds.), Official Methods of Analysis, current through revision 1, 2006. (18<sup>a</sup> ed.) (pp. Chapter 41: 1-30). USA: AOAC International.
10. Garzon, G. (2008). Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds: A Review. Acta Biol.Colomb. 13, no.3, p.27-36. ISSN 0120-548X.
11. Slowing, I. 2005. UN TEXTO BÁSICO DE ORGÁNICA. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala C.A. 300pp.
12. Kirk, R., Sayer, R. & Egan, H. (2008). *Composición y Análisis de los alimentos de Pearson*. (2<sup>a</sup> ed). México: Grupo Editorial Patria.
13. Lehninger, A. L., 1976. *Curso breve de Bioquímica*. Omega, Barcelona, 447 pp.
14. López, Ana Lucrecia. (2008). CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE HOJA DE TRES ESPECIES DE PIPERACEAS (*P. jacquemontianum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum*) Informe final de tesis para optar al Título de Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
15. López, Mauricio. (2007) EXTRACCIÓN DE ACEITE FIJO DE CAFÉ PARA SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTICIA. Universidad Nacional de Colombia.

16. Marroquín González, A. (2008). OBTENCIÓN DEL EXTRACTO TÁNICO POR MACERACIÓN DINÁMICA DE LA CORTEZA DE ÁRBOLES JÓVENES DE CUATRO ESPECIES FORESTALES, A NIVEL LABORATORIO. Informe final de tesis. Sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala –CII/USAC. Guatemala.
17. Mauricio Hidalgo, G. (2006). DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL CRUDO DE LA HOJA DE HIGO (*Ficus carica* L), EXTRAÍDO A NIVEL DE PLANTA PILOTO. Informe final de tesis para optar al título de Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
18. MIYAZAWA T, NAKAGAWA K, KUDO M, MURAISHI K, SOMEYA K. (1999) Direct Intestinal Absorption of Red Fruit Anthocyanins, Cyanidin-3-Glucoside and Cyanidin-3,5-Diglucoside, Into Rats and Humans. *J Agric Food Chem.*47:1083-1091.
19. Norma COGUANOR NGO 34 072 h1. (1982). *Aceites y Grasas Comestibles. Determinación del índice de saponificación.* Guatemala: Diario Oficial.
20. Norma COGUANOR NGO 34 072 h2. (1982). *Aceites y Grasas Comestibles. Determinación del índice de yodo. Método de Wijs.* Guatemala: Diario Oficial.
21. Norma COGUANOR NGO 34 073. (1975). *Aceites y Grasas Comestibles. Toma de muestra.* Guatemala: Diario Oficial.
22. Norma COGUANOR NGO 34 072 h12. (1982). *Aceites y Grasas Comestibles. Prueba de rancidez. Ensayo de Kreis.* Guatemala. Diario Oficial.
23. Norma COGUANOR NGO 34 072 h13. (1982). *Aceites y Grasas Comestibles. Prueba de frío.* Guatemala: Diario Oficial.
24. Pascual, Gloria. (2000) EXTRACCION Y CARACTERIZACION DE ACEITE DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)". *Anales Científicos.* Volumen XLII. España.
25. Paglietta Roberto. 1986. *El frambueso.* Ediciones Mundiprensa. Madrid, España.
26. Pérez, R et.al. (2005) EL ACEITE DE AGUACATE Y SUS PROPIEDADES NUTRICIONALES. Universidad de Guadalajara, México.
27. Norma CODEX para los Aceites de Oliva Vírgenes y Refinados y los Aceites Refinados de Orujo de Aceituna. CODEX STAN 33-1981.
28. Real Farmacopea Española. 2002. 2<sup>a</sup> Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2801 p.
29. Quiroa (2005) OBTENCIÓN Y COMPARACIÓN FÍSICOQUÍMICA A NIVEL LABORATORIO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAUREL DE DOS DIFERENTES ESPECIES (*Litsea guatemalensis* Mez. y *Litsea glaucescens* HBK.) COLECTADAS EN TRES DIFERENTES LUGARES. Informe final de tesis para optar al Título de Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
30. United Status Pharmacopea-National Formulary. (1995) XXIV ed.
31. Slowing, I. UN TEXTO BÁSICO DE ORGÁNICA. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC.
32. Suarez, Hiran et.al. (2009) CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE HOJAS DE *Pedilanthus tithymaloides* (L.) POIT. *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* Versión On-Line ISSN 1028-4796. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962009000100004&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962009000100004&script=sci_arttext)

33. Sagastume Rivera, Dafne (2008) CARACTERIZACIÓN DE ACEITES ESENCIALES POR CROMATOGRFÍA DE GASES DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO PIPER Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA. Informe final de tesis para optar al Título de Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
34. Skoog, Douglas A. y Leary, James J. (1994). *Análisis Instrumental*, Armenia: McGraw-Hill. 84-481-0191-X.
35. Véliz, Ricardo. et.al. (2006). CARACTERIZACIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS DE OCHO ESPECIES MESOAMERICANAS DE PIPERACEAS Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA PARA SU APROVECHAMIENTO COMO NUEVOS RECURSOS AROMÁTICOS Y/O MEDICINALES. Informe final de proyecto de investigación –DIGI- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala

#### PÁGINAS DE INTERNET CONSULTADAS:

1. Nombre del artículo: Información y Propiedades de Zorzamora  
Fecha de consulta: 04/08/2010  
  
Disponible en: <http://propiedadesplantas.jaimaalkauzar.es/informacion-y-propiedades-de-la-zorzamora.html>
2. Nombre del artículo: Plantas Medicinales  
Fecha de consulta: 04/08/2010  
  
Disponible en: <http://www.encyclopediasalud.com/categorias/plantas-medicinales/articulos/zorza-y-zorzamora/>
3. Celema (2009) LA COSMÉTICA DEL ACEITE DE OLIVA. Disponible en: <http://www.sabor-artesano.com/aceite-oliva-cosmetica.htm>.

## XIII. ANEXOS

**Table 1: Fatty acid composition of vegetable oils as determined by gas liquid chromatography from authentic samples <sup>1</sup> (expressed as percentage of total fatty acids) (see Section 3.1 of the Standard)**

Fatty acid	Arachis oil	Babassu oil	Coconut oil	Cotton-seed oil	Grape-seed oil	Maize oil	Mustard-seed oil	Palm oil	Palm kernel oil	Palm olein <sup>2</sup>	Palm stearin	Palm superolein
C6:0	ND	ND	ND-0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND-0.8	ND	ND	ND
C8:0	ND	2.6-7.3	4.6-10.0	ND	ND	ND	ND	ND	2.4-6.2	ND	ND	ND
C10:0	ND	1.2-7.6	5.0-8.0	ND	ND	ND	ND	ND	2.6-5.0	ND	ND	ND
C12:0	ND-0.1	40.0-55.0	45.1-53.2	ND-0.2	ND	ND-0.3	ND	ND-0.5	45.0-55.0	0.1-0.5	0.1-0.5	0.1-0.5
C14:0	ND-0.1	11.0-27.0	16.8-21.0	0.6-1.0	ND-0.3	ND-0.3	ND-1.0	0.5-2.0	14.0-18.0	0.5-1.5	1.0-2.0	0.5-1.5
C16:0	8.0-14.0	5.2-11.0	7.5-10.2	21.4-26.4	5.5-11.0	8.6-16.5	0.5-4.5	39.3-47.5	6.5-10.0	38.0-43.5	48.0-74.0	30.0-39.0
C16:1	ND-0.2	ND	ND	ND-1.2	ND-1.2	ND-0.5	ND-0.5	ND-0.6	ND-0.2	ND-0.6	ND-0.2	ND-0.5
C17:0	ND-0.1	ND	ND	ND-0.1	ND-0.2	ND-0.1	ND	ND-0.2	ND	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.1
C17:1	ND-0.1	ND	ND	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1	ND	ND	ND	ND-0.1	ND-0.1	ND
C18:0	1.0-4.5	1.8-7.4	2.0-4.0	2.1-3.3	3.0-6.5	ND-3.3	0.5-2.0	3.5- 6.0	1.0-3.0	3.5-.5.0	3.9-6.0	2.8-4.5
C18:1	35.0-69	9.0-20.0	5.0-10.0	14.7-21.7	12.0-28.0	20.0-42.2	8.0-23.0	36.0-44.0	12.0-19.0	39.8-46.0	15.5-36.0	43.0-49.5
C18:2	12.0-43.0	1.4-6.6	1.0-2.5	46.7-58.2	58.0-78.0	34.0-65.6	10.0-24.0	9.0-12.0	1.0-3.5	10.0-13.5	3.0-10.0	10.5-15.0
C18:3	ND-0.3	ND	ND-0.2	ND-0.4	ND-1.0	ND-2.0	6.0-18.0	ND-0.5	ND-0.2	ND-0.6	ND-0.5	0.2-1.0
C20:0	1.0-2.0	ND	ND-0.2	0.2-0.5	ND-1.0	0.3-1.0	ND-1.5	ND-1.0	ND-0.2	ND-0.6	ND-1.0	ND-0.4
C20:1	0.7-1.7	ND	ND-0.2	ND-0.1	ND-0.3	0.2-0.6	5.0-13.0	ND-0.4	ND-0.2	ND-0.4	ND-0.4	ND-0.2
C20:2	ND	ND	ND	ND-0.1	ND	ND-0.1	ND-1.0	ND	ND	ND	ND	ND
C22:0	1.5-4.5	ND	ND	ND-0.6	ND-0.5	ND-0.5	0.2-2.5	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.2
C22:1	ND-0.3	ND	ND	ND-0.3	ND-0.3	ND-0.3	22.0-50.0	ND	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND-0.1	ND	ND	ND-1.0	ND	ND	ND	ND	ND
C24:0	0.5-2.5	ND	ND	ND-0.1	ND-0.4	ND-0.5	ND-0.5	ND	ND	ND	ND	ND
C24:1	ND-0.3	ND	ND	ND	ND	ND	0.5-2.5	ND	ND	ND	ND	ND

ND) = non detectable. Defined as < 0.05%

**CODEX STAN, 210,1999**

Table 1: Fatty acid composition of vegetable oils as determined by gas liquid chromatography from authentic samples <sup>1</sup> (expressed as percentage of total fatty acids) (see Section 3.1 of the Standard) (continued)

Fatty acid	Rapeseed oil	Rapeseed oil (low erucic acid)	Rice bran oil	Safflower-seed oil	Safflowerseed oil (high oleic acid)	Sesame-seed oil	Soyabean oil	Sunflower-seed oil	Sunflowerseed oil (high oleic acid)	Sunflowerseed oil (mid-oleic acid)
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	ND-0.2	ND	ND-0.2	ND	ND-0.1	ND-0.1	ND	ND
C14:0	ND-0.2	ND-0.2	0.1-0.7	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.1	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.1	ND-1
C16:0	1.5-6.0	2.5-7.0	14-23	5.3-8.0	3.6-6.0	7.9-12.0	8.0-13.5	5.0-7.6	2.6-5.0	4.0-5.5
C16:1	ND-3.0	ND-0.6	ND-0.5	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.3	ND-0.1	ND-0.05
C17:0	ND-0.1	ND-0.3	ND	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.2	ND-0.1	ND-0.2	ND-0.1	ND-0.05
C17:1	ND-0.1	ND-0.3	ND	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.06
C18:0	0.5-3.1	0.8-3.0	0.9-4.0	1.9-2.9	1.5-2.4	4.5-6.7	2.0-5.4	2.7-6.5	2.9-6.2	2.1-5.0
C18:1	8.0-60.0	51.0-70.0	38-48	8.4-21.3	70.0-83.7	34.4-45.5	17-30	14.0-39.4	75-90.7	43.1-71.8
C18:2	11.0-23.0	15.0-30.0	29-40	67.8-83.2	9.0-19.9	36.9-47.9	48.0-59.0	48.3-74.0	2.1-17	18.7-45.3
C18:3	5.0-13.0	5.0-14.0	0.1-2.9	ND-0.1	ND-1.2	0.2-1.0	4.5-11.0	ND-0.3	ND-0.3	ND-0.5
C20:0	ND-3.0	0.2-1.2	ND-0.9	0.2-0.4	0.3-0.6	0.3-0.7	0.1-0.6	0.1-0.5	0.2-0.5	0.2-0.4
C20:1	3.0-15.0	0.1-4.3	ND-0.8	0.1-0.3	0.1-0.5	ND-0.3	ND-0.5	ND-0.3	0.1-0.5	0.2-0.3
C20:2	ND-1.0	ND-0.1	ND	ND	ND	ND	ND-0.1	ND	ND	ND
C22:0	ND-2.0	ND-0.6	ND-0.5	ND-1.0	ND-0.4	NN-1.1	ND-0.7	0.3-1.5	0.5-1.6	0.6-1.1
C22:1	> 2.0-60.0	ND-2.0	ND	ND-1.8	ND-0.3	ND	ND-0.3	ND-0.3	ND-0.3	ND
C22:2	ND-2.0	ND-0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND-0.3	ND	ND-0.09
C24:0	ND-2.0	ND-0.3	ND-0.6	ND-0.2	ND-0.3	ND-0.3	ND-0.5	ND-0.5	ND-0.5	0.3-0.4
C24:1	ND-3.0	ND-0.4	ND	ND-0.2	ND-0.3	ND	ND	ND	ND	ND

ND - non detectable, defined as  $\leq 0.05\%$

CODEX STAN, 210,1999



Table 2: Chemical and physical characteristics of crude vegetable oils

	Palm superolein	Rapeseed oil	Rapeseed oil (low erucic acid)	Rice bran oil	Safflower- seed oil	Safflower- seed oil (high oleic acid)	Sesameseed oil	Soyabean oil	Sunflower- seed oil	Sunflower- seed oil (high oleic acid)	Sunflower- seed oil (mid- oleic acid)
Relative density (x° C/water at 20°C)	0.900-0.925 x=40°C	0.910-0.920 x=20°C	0.914-0.920 x=20°C	0.910-0.929	0.922-0.927 x=20°C	0.913-0.919 x=20°C; 0.910-0.916 x=25°C	0.915- 0.924 x=20°C	0.919-0.925 x=20°C	0.918-0.923 x=20°C	0.909-0.915 x=25°C	0.914-0.916 x=20°C
Apparent density (g/ml)	0.897-0.920					0.912-0.914 at 20°C					
Refractive index (ND 40°C)	1.463-1.465	1.465-1.469	1.465-1.467	1.460 1.473	– 1.467-1.470	1.460-1.464 at 40°C; 1.466-1.470 at 25°C	1.465-1.469	1.466-1.470	1.461- 1.468	1.467- 1.471 at 25°C	1.461- 1.471 at 25°C
Saponification value (mg KOH/g oil)	180-205	168-181	182-193	180 – 199	186-198	186-194	186-195	189-195	188-194	182-194	190-191
Iodine value	≥ 60	94-120	105-126	90-115	136-148	80-100	104-120	124-139	118-141	78-90	94-122
Unsaponifiable matter (g/kg)	≤ 13	≤ 20	≤ 20	≤ 65	≤ 15	≤ 10	≤ 20	≤ 15	≤ 15	≤ 15	≤ 15

CODEX STAN, 210,1999

Table 3: Levels of desmethylsterols in crude vegetable oils from authentic samples<sup>1</sup> as a percentage of total sterols (see Appendix 1 of the Standard)

	Arachis oil	Babassu oil	Coconut oil	Cotton-seed oil	Grapeseed oil	Maize oil	Palm oil	Palm olein	Palm kernel oil	Palm stearin	Palm superolein
<b>Cholesterol</b>	ND-3.8	1.2-1.7	ND-3.0	0.7-2.3	ND-0.5	0.2-0.6	2.6-6.7	2.6-7.0	0.6-3.7	2.5-5.0	2.0-3.5
<b>Brassicasterol</b>	ND-0.2	ND-0.3	ND-0.3	0.1-0.3	ND-0.2	ND-0.2	ND	ND	ND-0.8	ND	ND
<b>Campesterol</b>	12.0-19.8	17.7-18.7	6.0-11.2	6.4-14.5	7.5-14.0	16.0-24.1	18.7-27.5	12.5-39.0	8.4-12.7	15.0-26.0	22.0-26.0
<b>Stigmasterol</b>	5.4-13.2	8.7-9.2	11.4-15.6	2.1-6.8	7.5-12.0	4.3-8.0	8.5-13.9	7.0-18.9	12.0-16.6	9.0-15.0	18.2-20.0
<b>Beta-sitosterol</b>	47.4-69.0	48.2-53.9	32.6-50.7	76.0-87.1	64.0-70.0	54.8-66.6	50.2-62.1	45.0-71.0	62.6-73.1	50.0-60.0	55.0-70.0
<b>Delta-5-avenasterol</b>	5.0-18.8	16.9-20.4	20.0-40.7	1.8-7.3	1.0-3.5	1.5-8.2	ND-2.8	ND-3.0	1.4-9.0	ND-3.0	0-1.0
<b>Delta-7-stigmastenol</b>	ND-5.1	ND	ND-3.0	ND-1.4	0.5-3.5	0.2-4.2	0.2-2.4	ND-3.0	ND-2.1	ND-3.0	0-0.3
<b>Delta-7-avenasterol</b>	ND-5.5	0.4-1.0	ND-3.0	0.8-3.3	0.5-1.5	0.3-2.7	ND-5.1	ND-6.0	ND-1.4	ND-3.0	0-0.3
<b>Others</b>	ND-1.4	ND	ND-3.6	ND-1.5	ND-5.1	ND-2.4	ND	ND-10.4	ND-2.7	ND-5.0	0-2.0
<b>Total sterols (mg/kg)</b>	900-2900	500-800	400-1200	2700-6400	2000-7000	7000-22100	300-700	270-800	700-1400	250-500	100

	Rapeseed oil (low erucic acid)	Rice bran oil	Safflowerseed oil	Safflowerseed oil (high oleic acid)	Sesameseed oil	Soyabean oil	Sunflowerseed oil	Sunflowerseed oil (high oleic acid)	Sunflowerseed oil (mid-oleic acid)
<b>Cholesterol</b>	ND-1.3	ND-0.5	ND-0.7	ND-0.5	0.1-0.5	0.2-1.4	ND-0.7	ND-0.5	0.1-0.2
<b>Brassicasterol</b>	5.0-13.0	ND	ND-0.4	ND-2.2	0.1-0.2	ND-0.3	ND-0.2	ND-0.3	ND-0.1
<b>Campesterol</b>	24.7-38.6	11.0-35.0	9.2-13.3	8.9-19.9	10.1-20.0	15.8-24.2	6.5-13.0	5.0-13.0	9.1-9.6
<b>Stigmasterol</b>	0.2-1.0	6.0-40.0	4.5-9.6	2.9-8.9	3.4-12.0	14.9-19.1	6.0-13.0	4.5-13.0	9.0-9.3
<b>Beta-sitosterol</b>	45.1-57.9	25.0-67.0	40.2-50.6	40.1-66.9	57.7-61.9	47.0-60	50-70	42.0-70	56-58
<b>Delta-5-avenasterol</b>	2.5-6.6	ND-9.9	0.8-4.8	0.2-8.9	6.2-7.8	1.5-3.7	ND-6.9	1.5-6.9	4.8-5.3
<b>Delta-7-stigmastenol</b>	ND-1.3	ND-14.1	13.7-24.6	3.4-16.4	0.5-7.6	1.4-5.2	6.5-24.0	6.5-24.0	7.7-7.9
<b>Delta-7-avenasterol</b>	ND-0.8	ND-4.4	2.2-6.3	ND-8.3	1.2-5.6	1.0-4.6	3.0-7.5	ND-9.0	4.3-4.4
<b>Others</b>	ND-4.2	ND	0.5-6.4	4.4-11.9	0.7-9.2	ND-1.8	ND-5.3	3.5-9.5	5.4-5.8
<b>Total sterols (mg/kg)</b>	4500-11300	10500-31000	2100-4600	2000-4100	4500-19000	1800-4500	2400-5000	1700-5200	

ND - Non-detectable, defined as  $\leq 0.05\%$

TABLA No.4. CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN VARIAS ESPECIES

Contenido de antocianinas en varias especies (en mg por cada 100 g de peso fresco)	
Especie	Contenido de antocianinas
<i>Euterpe oleracea</i>	320
<i>Ribes nigrum</i>	165-412
<i>Aronia melanocarpa</i>	1.480
<i>Solanum melongena</i>	750
<u>naraja</u>	~200
<i>Rubus fruticosus</i>	317
<i>Rubus occidentalis</i>	589
<i>Rubus idaeus</i>	365
<i>Vaccinium</i>	558
<i>Prunus cerassus</i>	350-400
<i>Ribes rubrum</i>	80-420
<u>uva roja</u>	888
<u>vino tinto</u>	24-35
<u>maíz morado</u>	1.642

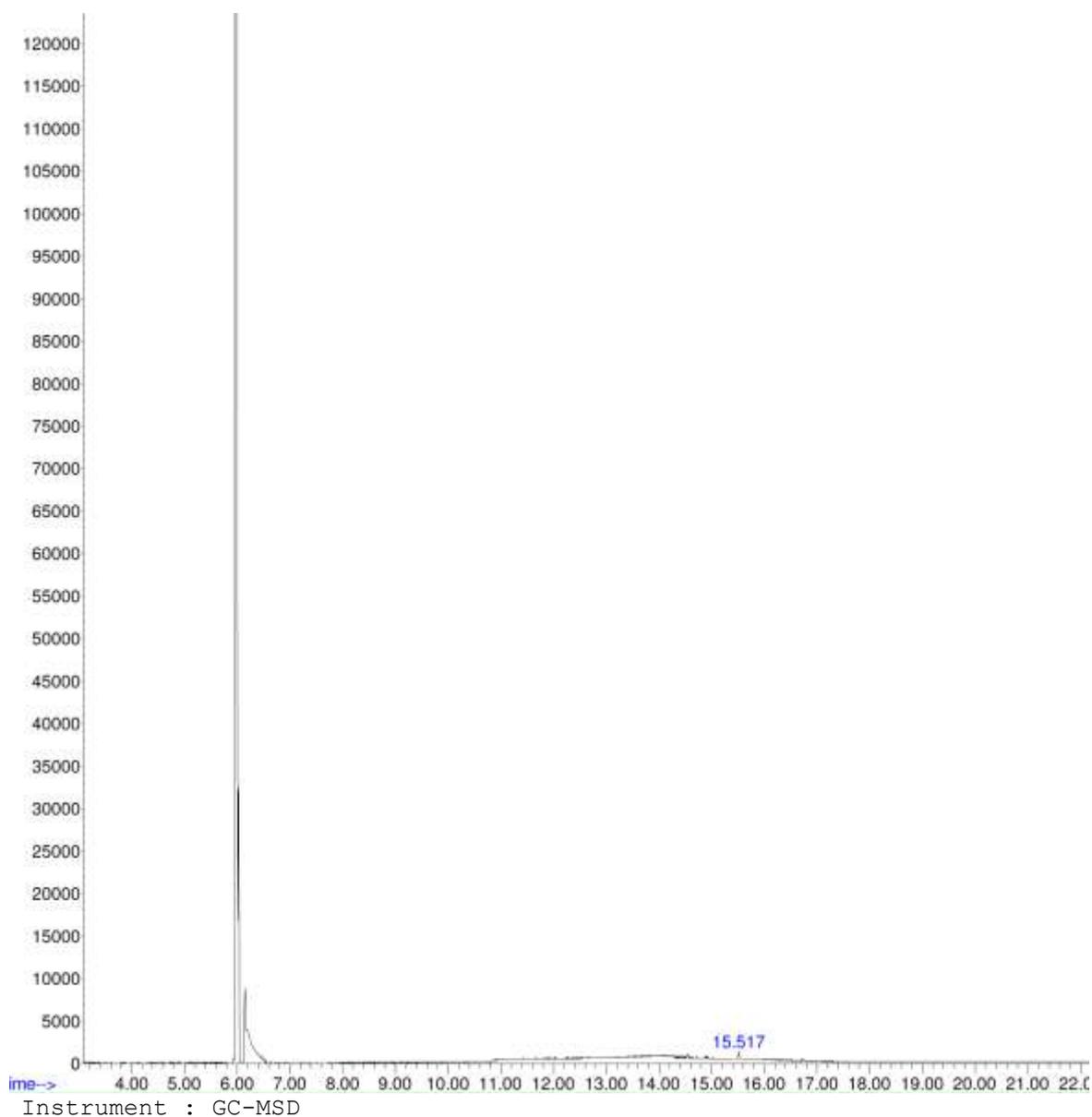
\*MIYAZAWA T, 1999

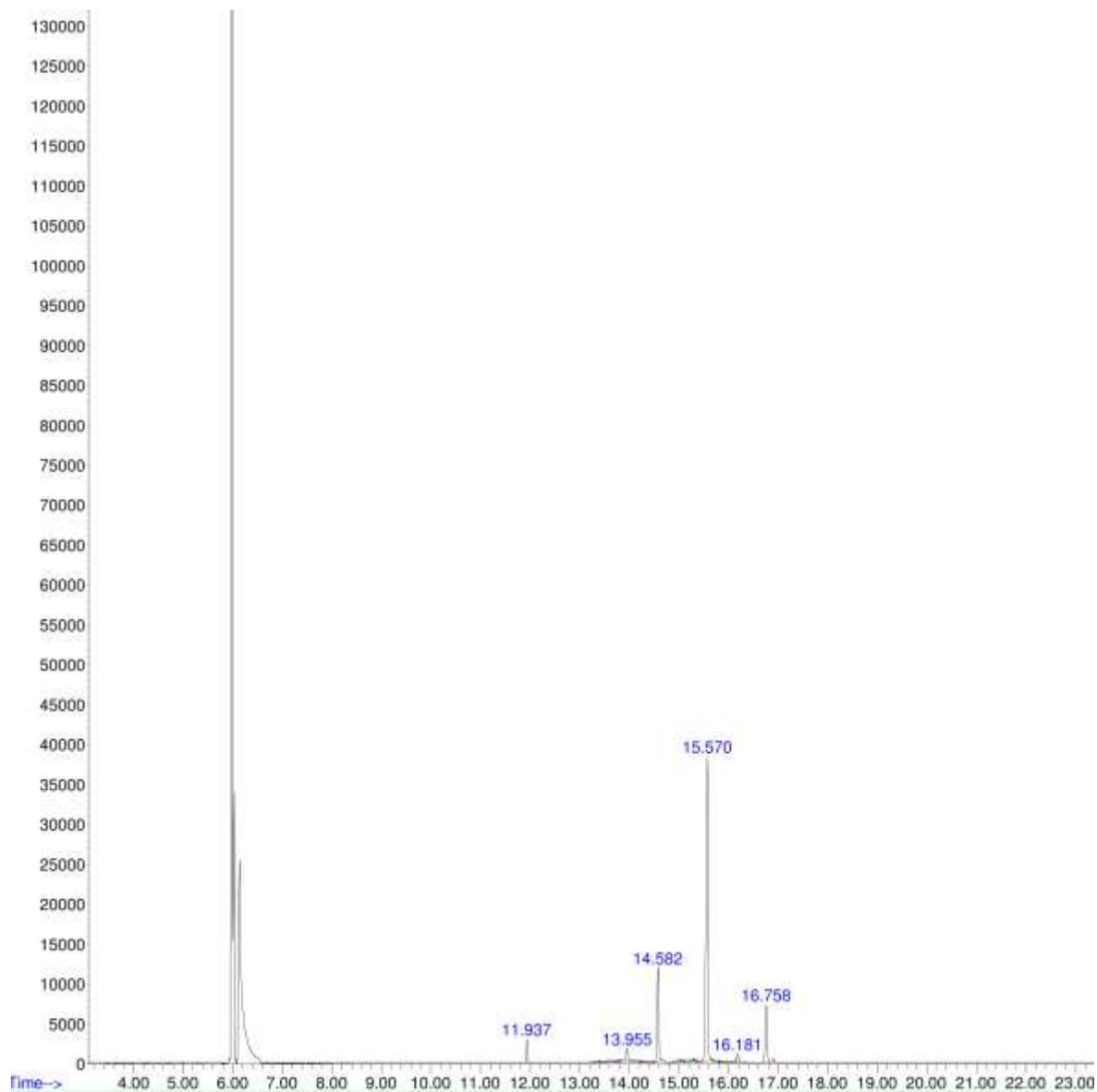
GRÁFICA No. 5. TIEMPOS DE RETENCIÓN PARA LA ESPECIE *Rubus fruticosus*

File :C:\msdchem\1\DATA\SERVICIO\USAC\12031011.D

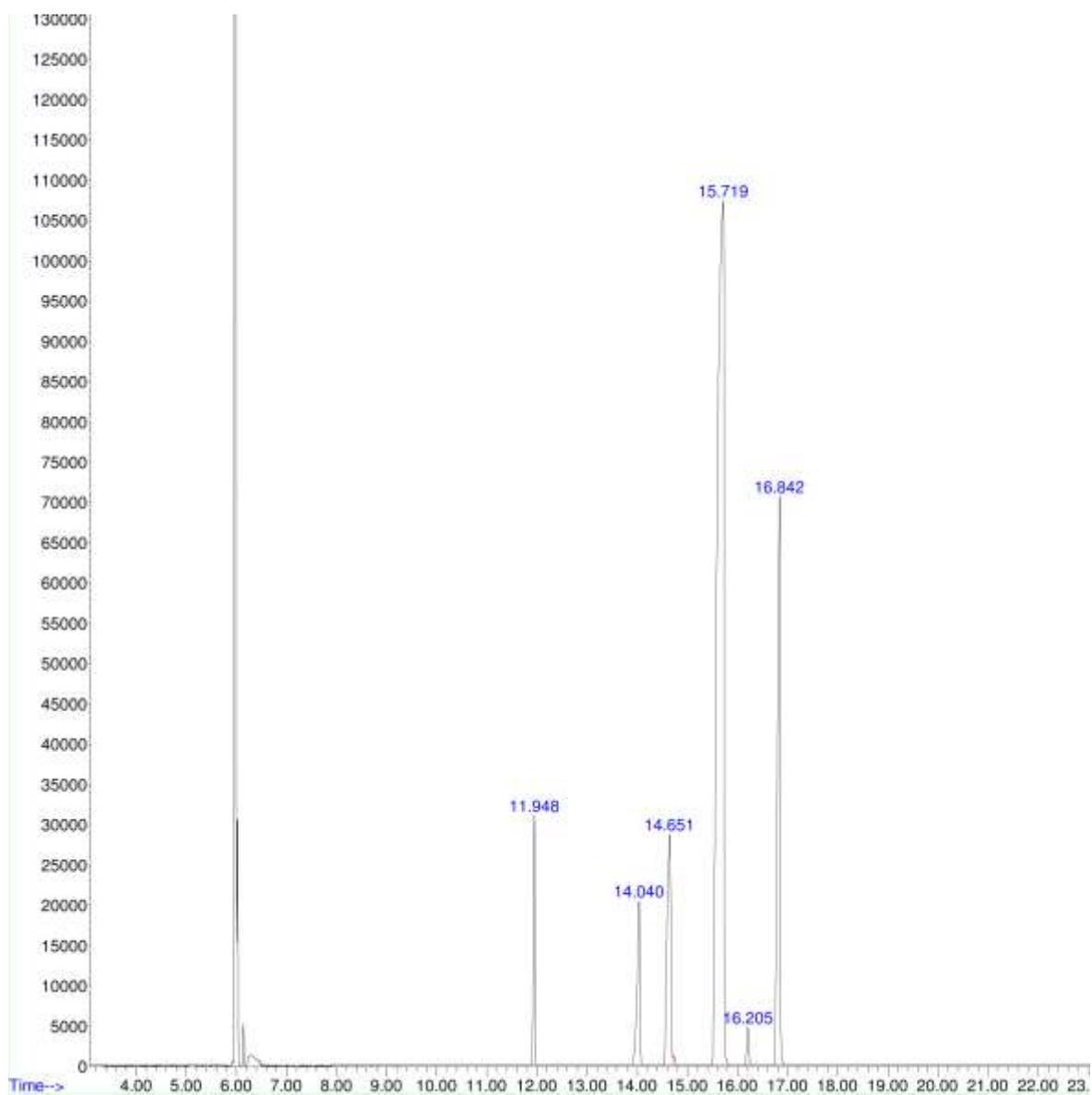
Operator : AdeM

Acquired : 3 Dec 2010 13:31 using AcqMethod AC GRASOS 88 SCAN 3.M

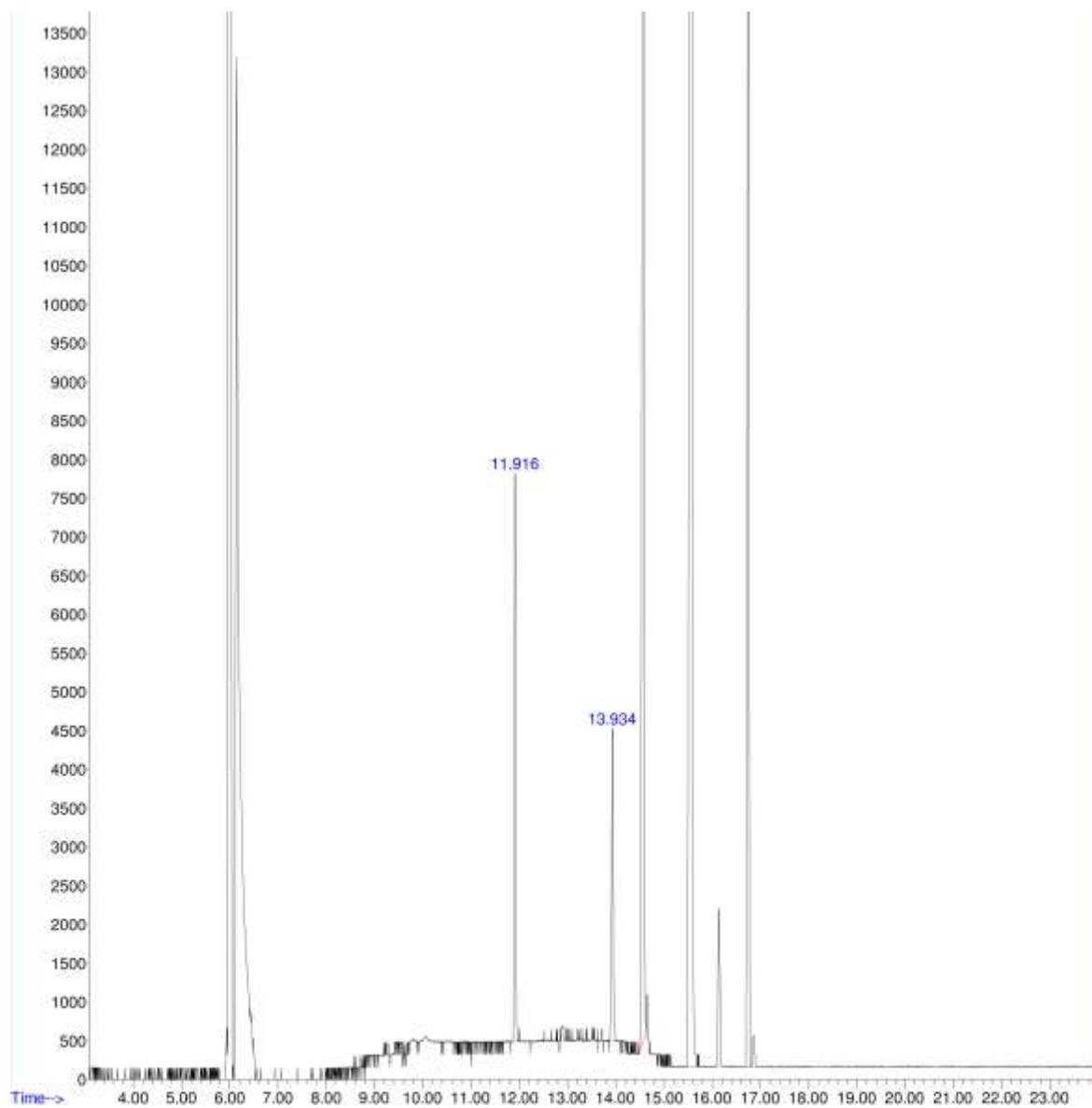


GRÁFICA No. 6. TIEMPOS DE RETENCIÓN PARA LA ESPECIE *Rubus kiowa*.

GRÁFICA No. 7. TIEMPOS DE RETENCIÓN PARA LA ESPECIE  
*Rubus occidentalia*.



GRÁFICA No. 8. TIEMPOS DE RETENCIÓN PARA LA ESPECIE  
*Rubus tupy*



GRÁFICA No. 9. HOJA DE DATOS PARA LA ESPECIE *Rubus fruticosus*

## Library Search Report

Data Path : C:\msdchem\1\DATA\SERVICIO\USAC\  
Data File : 12031011.D  
Title :  
Acq On : 3 Dec 2010 13:31  
Operator : AdeM  
Sample : Rubus fruticosus  
Misc :  
ALS Vial : 9 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	15.518	100.00	C:\Database\NIST05a.L			
			Ethanamine, N,N-difluoro-	1087	000758-18-9	2
			1-Pentyne, 4-methyl-	1191	007154-75-8	2
			Chlorine dioxide	390	010049-04-4	2

iC.ESENCIAL...angoSCAN 2.M Fri Dec 03 15:43:46 2010

GRÁFICA No. 10. HOJA DE DATOS PARA LA ESPECIE *Rubus kiowa*

## Library search report

Data Path : C:\msdchem\1\DATA\SERVICIO\USAC\  
 Data File : 12031014.D  
 Title :  
 Acq On : 3 Dec 2010 14:57  
 Operator : AdeM  
 Sample : R. Kiocua  
 Misc :  
 ALS Vial : 12 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	11.938	3.41	C:\Database\NIST05a.L			
			Butanoic acid, 2-methyl-	4189	000116-53-0	4
			N-Nitrosodimethylamine	766	000062-75-9	4
			1-Butanamine, 3-methyl-	1880	000107-85-7	4
2	13.953	2.48	C:\Database\NIST05a.L			
			1-Propanol, 2-methyl-	838	000078-83-1	4
			Propanoic acid	793	000079-09-4	4
			Propanoic acid	794	000079-09-4	4
3	14.581	17.14	C:\Database\NIST05a.L			
			9-Octadecenal	102810	005090-41-5	35
			(S)(+)-Z-13-Methyl-11-pentadecen-1	113410	1000130-84-8	32
			-ol acetate			
			Oxalic acid, allyl pentadecyl este	147792	1000309-24-3	22
4	15.568	63.57	C:\Database\NIST05a.L			
			2-Chloroethyl linoleate	148820	025525-76-2	91
			9,12-Octadecadienoic acid, methyl	121112	002566-97-4	76
			ester, (E,E)-			
			Bicyclo[2.2.2]octane, 2-methyl-	10368	000766-53-0	68
5	16.182	2.00	C:\Database\NIST05a.L			
			Thiirane, methyl-	813	001072-43-1	4
			Allyl mercaptan	809	000870-23-5	4
			Aminoguanidine	846	000079-17-4	4
6	16.755	11.41	C:\Database\NIST05a.L			
			1,3-Cyclooctadiene	5270	001700-10-3	58
			1,3-Cyclooctadiene	5275	001700-10-3	52
			10-Undecyn-1-ol	34843	002774-84-7	45

C:\ESENCIAL...angoSCAN 2.M Fri Dec 03 15:32:55 2010

GRÁFICA No. 11. HOJA DE DATOS PARA LA ESPECIE *Rubus occidentalia*

## LIBRARY SEARCH REPORT

Data Path : C:\msdchem\1\DATA\SERVICIO\USAC\  
 Data File : 12031013.D  
 Title :  
 Acq On : 3 Dec 2010 14:28  
 Operator : AdeM  
 Sample : R. occidentalia  
 Misc :  
 ALS Vial : 11 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Peak average  
 Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

k#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	11.948	4.23	C:\Database\NIST05a.L			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	105644	000112-39-0	97
			Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	105662	005129-60-2	96
			Hexadecanoic acid, methyl ester	105639	000112-39-0	94
2	14.040	5.05	C:\Database\NIST05a.L			
			Octadecanoic acid, methyl ester	123709	000112-61-8	94
			Octadecanoic acid, methyl ester	123700	000112-61-8	94
			Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	114865	006929-04-0	90
3	14.650	9.57	C:\Database\NIST05a.L			
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	122321	000112-62-9	95
			10-Octadecenoic acid, methyl ester	122312	013481-95-3	91
			14-Octadecenoic acid, methyl ester	122314	056554-48-4	91
4	15.719	62.55	C:\Database\NIST05a.L			
			9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	121106	000112-63-0	99
			10,13-Octadecadienoic acid, methyl ester	121100	056554-62-2	99
			9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	121093	002462-85-3	99
5	16.205	0.85	C:\Database\NIST05a.L			
			Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	114867	006929-04-0	64
			Methyl 6-methyl heptanoate	28909	002519-37-1	4
			1-Butanamine, 3-methyl-	1880	000107-85-7	4
6	16.842	17.75	C:\Database\NIST05a.L			
			9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	119876	000301-00-8	91
			11,14,17-Eicosatrienoic acid, methyl ester	137080	055682-88-7	87
			3-Dodecen-1-yne, (Z)-	32167	025091-24-1	58

GRÁFICA No. 12. HOJA DE DATOS PARA LA ESPECIE *Rubus tupy*

## Library Search Report

Data Path : C:\msdchem\1\DATA\SERVICIO\USAC\  
 Data File : 12031010.D  
 Title :  
 Acq On : 3 Dec 2010 13:03  
 Operator : AdeM  
 Sample : Rubus tupy  
 Misc :  
 ALS Vial : 8 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Peak average  
 Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

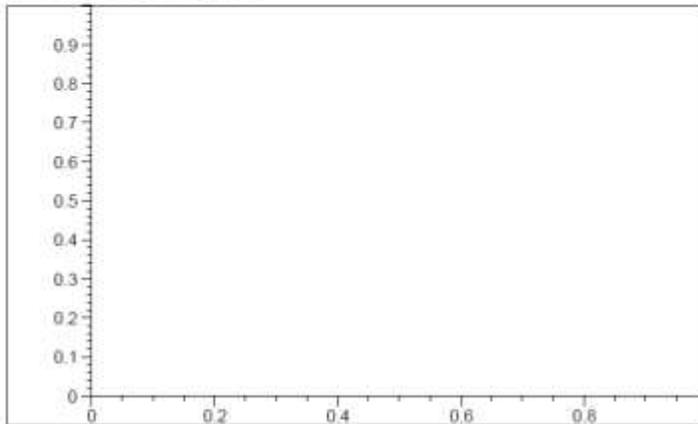
Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	11.916	3.68	C:\Database\NIST05a.L Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	114867	006929-04-0	50
			Decanoic acid, 2-methyl-	47223	024323-23-7	9
			4-Nonanol, 4-methyl-	28366	023418-38-4	9
2	13.935	2.56	C:\Database\NIST05a.L Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	114867	006929-04-0	9
			5-Hexen-3-ol, 2,2,4-trimethyl-	19310	090676-50-9	9
			2,2-Dimethyl-5-hexen-3-ol	12195	019550-89-1	9
3	14.577	22.48	C:\Database\NIST05a.L 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	122321	000112-62-9	95
			10-Octadecenoic acid, methyl ester	122312	013481-95-3	91
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	122323	000112-62-9	90
4	15.582	60.20	C:\Database\NIST05a.L 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	121093	002462-85-3	99
			9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-	121112	002566-97-4	95
			9,15-Octadecadienoic acid, methyl ester, (Z,Z)-	121114	017309-05-6	95
5	16.751	11.07	C:\Database\NIST05a.L 11,14,17-Eicosatrienoic acid, methyl ester	137080	055682-88-7	87
			9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	119876	000301-00-8	86
			1,3-Cyclooctadiene	5270	001700-10-3	58

GRÁFICA No. 13. DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA A LA CUAL SE OBSERVA LA MÁXIMA ABSORBANCIA (nm)

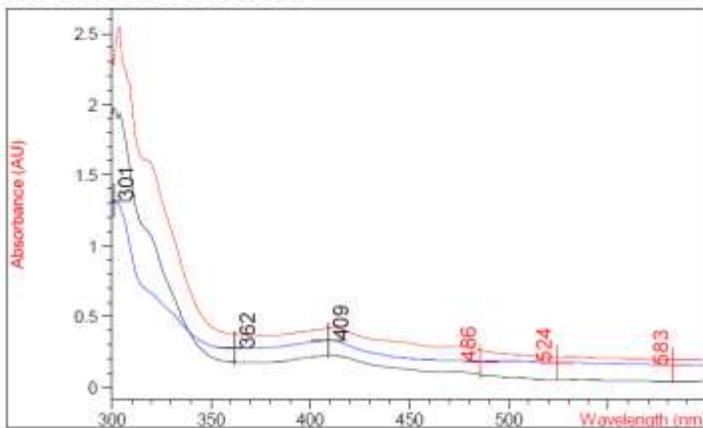
Hardcopy view

Date 5/12/2011 Time 14:57:49 Page 1 of

Last Blank Spectrum



Overlaid Sample Spectra



Sample/Result Table

#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1	fruticosus	411.0	0.22570	583.0	4.1315E-2
1		473.0	0.10796	523.0	5.3584E-2
1		532.0	5.5626E-2	465.0	0.10488
2	occidentalia	304.0	2.55100	583.0	0.19305
2		411.0	0.41874	588.0	0.19310
2		474.0	0.28736	594.0	0.19334
3	tupy	301.0	1.31740	583.0	0.15689
3		409.0	0.33147	524.0	0.17314
3		362.0	0.27673	486.0	0.18123

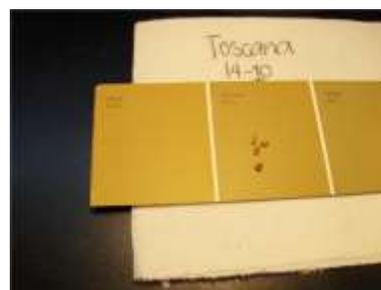
\*\*\* End Hardcopy view \*\*\*

## FRUTO ANTES DE LA EXTRACCIÓN DE LAS SEMILLAS



## CONTROL DE CALIDAD DE LAS SEMILLAS DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE RUBUS

## A. Color



## B. Tamaño



# LIMPIEZA Y EXTRUSIÓN DE SEMILLAS EN PRENSA HIDRAULICA



ELABORACION DE PRUEBAS FISICOQUIMICAS A LOS ACEITES OBTENIDOS POR MEDIO DE EXPRESION EN FRIO



ANALISIS DE ACEITES FIJOS EN CROMATOGRAFO DE GASES EN EL  
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE  
GUATEMALA

