

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



ELABORACIÓN DE UNA PRÁCTICA DE DETERMINACIÓN DE GRASAS
TRANS EN QUESADILLAS DE UNA MARCA X POR EL MÉTODO DE
ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR LA TRANSFORMADA DE FOURIER.
TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DE DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO(A) EN QUIMICA Y FARMACIA

PRESENTADO POR:

ERIKA LUCIA ARAUJO PARADA

SAÚL ISRAEL AYALA GALDÁMEZ

JUNIO 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORES

LICENCIADO HENRY ALFREDO HERNÁNDEZ CONTRERAS

MAESTRA DELMY IDALIA HERNÁNDEZ HUEZO

TUTOR

LICENCIADO MARIO ANTONIO HERNÁNDEZ MELGAR

AGRADECIMIENTOS

A Lic. Mario Antonio Hernández Melgar, por haber ayudado a culminar este proceso de graduación, brindando su apoyo en esta última etapa.

A mi compañero de tesis Saúl Ayala, que brindo de su buena disposición y esfuerzo para poder realizar esta etapa de nuestra carrera que con mucho sacrificio y dedicación se ha culminado.

A mi compañera Erika Araujo, por compartir esta etapa final de la carrera y su esfuerzo por trabajar y finalizar juntos este proyecto.

A Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras y Msc. Delmy Idalia Hernández Huevo por formar parte de nuestro tribunal evaluador y guiarnos para obtener un excelente resultado en esta última etapa.

A la Universidad de El Salvador que nos brindó la oportunidad de crecer profesionalmente, a la Facultad de Química y Farmacia y a sus docentes que con su vocación a lo largo de toda la carrera brindaron calidad de tiempo y conocimientos que sin duda alguna son invaluable.

Erika Araujo y Saúl Ayala.

DEDICATORIAS

A Dios, por darme el don de la fortaleza y el entendimiento para poder finalizar esta etapa de mi vida. Estoy segura que Él saca de nuestra nada lo mejor y su amor e infinita misericordia nos acompaña siempre.

A mi madre por no darse por vencida y crear con gran sacrificio la oportunidad de poder estudiar, gracias por luchar y apoyarme.

A Hna. Socorro que sin duda alguna su granito de arena fue una gran oportunidad que me ayudo en el proceso de mi carrera.

Finalmente, a todas aquellas personas que conocí a lo largo de esta carrera que me brindaron su apoyo y palabras de valor. Muchas gracias.

Erika Araujo.

DEDICATORIAS

Agradezco a Dios, por haberme llevado en este camino el cual me permite culminar esta carrera, fueron años muy difíciles en los cuales estuve a punto de rendirme, pero Dios siempre estuvo a mi lado, y me brindo todo lo necesario para poder hacer esto una realidad. Hoy más que nunca puedo decir que sin él, esto no hubiera sido posible.

Agradezco a mis padres y a mi hermana, por su valioso esfuerzo, por el enorme sacrificio y lucha constante, por su apoyo incondicional en todo momento durante mi formación académica, y gracias a su respaldo en todo momento, con mucho orgullo puedo decir que lo que soy, después de Dios se los debo a ellos.

Agradezco a mis asesores de tesis y mi compañera de tesis por su guía durante todo este proceso de trabajo de grado, y a cada uno de los docentes que dejaron una huella durante mi formación como estudiante, gracias a los conocimientos impartidos en sus clases, y por los consejos que siempre tuvieron a bien brindarme tanto dentro como fuera de las aulas.

A mis amigos y compañeros de estudios y de trabajo que siempre estuvieron ahí de manera genuina y leal para animarme e impulsarme siempre a tomar las mejores decisiones durante este largo camino en el desarrollo de este trabajo de graduación. Por esas palabras de ánimo, por simplemente escucharme cuando las cosas se ponían difíciles. Muchísimas gracias por siempre estar ahí.

Saúl Ayala.

INDICE

ABREVIATURAS

GLOSARIO

RESUMEN

CAPITULO I

1.0 INTRODUCCIÓN 14

CAPITULO II

2.0 OBJETIVOS 17

CAPITULO III

3.0. MARCO TEORICO 19

3.1 Lípidos ⁽¹⁾ 19

3.1.1 Clasificación de los lípidos ⁽¹⁾ 20

3.2 Los ácidos grasos 21

3.2.1 Funciones de las grasas y los ácidos grasos 23

3.2.2. Recomendación de la OMS 24

3.3 Ácidos grasos trans 25

3.3.1 Formación de las grasas trans. 27

3.3.2 Efectos adversos de los ácidos grasos trans. 29

3.4 Generalidades de las quesadillas. 34

3.5 Métodos instrumentales 36

3.5.1 Espectroscopia ⁽⁸⁾ 36

3.5.2 Espectroscopia Infrarroja ⁽⁸⁾ 36

3.5.3 Análisis cualitativo ⁽⁸⁾ 37

3.5.4 Espectroscopia en el IR-Mediano 37

3.6 Análisis de ácidos grasos trans por espectroscopia infrarroja. ⁽⁹⁾ 38

3.6.1 Principio (METODO 2000:10 AOAC) ⁽⁹⁾ 39

3.6.2 Descripción de otro procedimiento según el Método: 14-95 de AOCS 40

3.6.3 Aplicación del método 40

3.6.4 Medición de ácidos grasos trans mediante espectroscopía ATR de reflexión simple. 41

CAPITULO IV	
4.0. PRODUCTO FINAL	46
CAPITULO V	
5.0 CONCLUSIONES	58
CAPITULO VI	
6.0 RECOMENDACIONES	60
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	
ANEXOS	

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág. N°
1	Estructura de los ácidos grasos cis y trans	27
2	Efectos fisiológicos potenciales de los ácidos grasos trans	32
3	Muestras de quesadillas	35
4	Mantenimiento de comportamiento	42
5	Espectro de la trioleína	42
6	Curva de calibración	43
7	Coefficiente de correlación	43
8	Diagrama esquemático de los componentes esenciales de un interferómetro.	50
9	Etiqueta de identificación de muestra	52

INDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Clasificación de lípidos	19
2	Principales ácidos grasos que se encuentran en la dieta	20
3	Funciones de las grasas y ácidos grasos	22
4	Componentes de manera general de las quesadillas	35
5	Especificaciones del equipo de Espectroscopia infrarroja	67

ABREVIATURAS

- **AOCS:** Sociedad americana de aceites químicos
- **AOAC:** Asociación de Químicos Analíticos Oficiales
- **Colesterol LDL:** Lipoproteínas de baja densidad
- **Colesterol HDL:** Lipoproteínas de alta densidad
- **FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos
- **FTIR:** Espectroscopia infrarroja de la transformada de FURIER.

GLOSARIO

- **Adipogénesis:** proceso en el cual se da la formación de adipocitos a partir de una célula madre. Estos almacenan ácidos grasos y su diámetro ronda entre los 20 a 200nm. Contienen una gran gota de lípidos que desplaza al núcleo a la periferia, escasas mitocondrias, elementos antibacterianos, radicales libres, óxido nítrico, citocinas y adipocinas.
- **Fosfolípidos:** son lípidos anfipáticos, se encuentran en todas las membranas celulares. Disponiéndose como bicapas lipídicas. Pertenecen al grupo de lípidos de derivados del glicerol, presenta una estructura similar a la de los triglicéridos.
- **Hidrogenación:** proceso por el que se adiciona hidrogeno a compuestos orgánicos no saturados. En un solo proceso la hidrogenación puede permitir la formación de enlaces entre carbonos simples a partir de alquenos y alquinos, enlaces carbono-oxígeno a partir de cetonas, aldehídos o ésteres, y enlaces carbono-nitrógeno para aminas a partir de iminas o nitrilos.

RESUMEN

Las grasas trans son un tipo de ácidos grasos insaturados que se forman durante el proceso de hidrogenación de los aceites vegetales. Son consideradas perjudiciales para la salud debido a su impacto negativo en los niveles de colesterol, aumentando el colesterol LDL (malo) y disminuyendo el colesterol HDL (bueno), lo que puede aumentar el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Esta investigación consistió en elaborar una práctica que permita determinar las grasas trans presentes en quesadillas de una marca X ya que se considera, que esta matriz alimentaria, es muy común y forma parte del consumo diario de las personas, además de su precio accesible. Para ello se plantea un método de Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier basado en una metodología oficial de la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC) 2000:10.

Para determinar dichas grasas se utiliza una celda infrarroja de reflexión total atenuada (ATR), los espectros obtenidos de las muestras fueron comparados con el estándar positivo de (Trielaídina).

En cuanto al respaldo teórico, se centró en la búsqueda de información donde se evalúen las grasas trans en los alimentos, utilizando el método antes dicho. La información, se recopiló por medio de bases de datos de la Universidad de El Salvador, Science Direct, Google académico, entre otros.

Para el desarrollo de esta práctica, se recomienda que las muestras se obtengan de manera aleatoria en las diferentes tiendas y puntos de distribución ubicados en los alrededores de la Universidad de El Salvador y que su análisis se realice dentro de las instalaciones del Laboratorio de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

CAPITULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

Con la presente investigación se pretende poder plantear una propuesta para la determinación de grasas trans en quesadillas de una marca X por medio del método de espectroscopia infrarroja por la transformada de Fourier; es importante dar a conocer y al mismo tiempo generar conciencia sobre qué tipo de grasas se consumen o hacen parte de la dieta diaria.

Las temáticas desarrolladas de manera teórica durante el diplomado de especialización “Análisis Químico de los Alimentos”, desarrollado en la Facultad de Química y Farmacia, durante los meses de septiembre 2023 a marzo 2024, son de mucha importancia para poder proponer una práctica de laboratorio que permita que la metodología seleccionada pueda ser aplicada con éxito. En esta investigación se optó describir un procedimiento para la determinación de grasas trans en una matriz alimentaria sólida, como lo son las quesadillas.

La determinación de grasas trans en alimentos es crucial para evaluar su calidad nutricional y su impacto en la salud. En este caso, está enfocado en alimentos comerciales de alto consumo en la población, se considera este tipo de alimento como “de alto consumo” debido a distintos factores, uno de ellos es el tiempo, ya que muchas personas llevan un ritmo de vida acelerado día a día que les limita el poder optar por otro tipo de alimentos, específicamente en el desayuno.

Otro factor que se puede considerar es el económico, donde una parte de la población carece de recursos suficientes, impidiendo tener otras opciones de alimentos más nutritivos.

Esta investigación plantea y explica el fundamento de la metodología, que sirve de respaldo para poder desarrollar la práctica de laboratorio, la cual, en el transcurso del

diplomado impartido virtualmente durante un periodo aproximado de ocho meses con la explicación de diferentes aspectos teóricos se describió una metodología obteniendo así el producto final.

En este sentido, diversos estudios científicos han utilizado la espectroscopia infrarroja para determinar las grasas trans en matrices alimentarias, demostrando su eficacia y fiabilidad como herramienta analítica. Gracias a este método, es posible controlar la calidad nutricional de los alimentos y garantizar la salud de los consumidores.

CAPITULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL:

- 2.1.1. Elaborar una práctica para determinar las grasas trans presentes en quesadillas de una marca X por el método de Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier.

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 2.2.1. Investigar sobre los riesgos que conlleva la ingesta elevada de grasas trans en el cuerpo humano.
- 2.2.2. Realizar la búsqueda de una metodología que permita el estudio de las grasas trans en una matriz alimentaria.
- 2.2.3. Proponer un procedimiento analítico por medio de investigación bibliográfica que permita la determinación de grasas trans en las muestras de quesadillas de una marca X mediante la comparación de espectros infrarrojos por Transformada de Fourier para obtener el producto final.

CAPITULO III

3.0. MARCO TEORICO

3.1 Lípidos ⁽¹⁾

Los lípidos (del griego lipos que significa grasa) son el cuarto grupo principal de moléculas presentes en todas las células. A diferencia de los ácidos nucleicos, las proteínas y los polisacáridos, los lípidos no son poliméricos. Sin embargo, se agregan, y es en este estado en el que llevan a cabo su función más obvia como matriz estructural de las membranas biológicas.

Los lípidos exhiben mayor variedad estructural que las otras clases de moléculas biológicas. Hasta cierto grado, los lípidos son una categoría general de sustancias similares únicamente por ser en gran medida hidrófobas y solo escasamente solubles en agua.

En general, los lípidos llevan a cabo tres funciones biológicas (a pesar de que algunas parecen servir para más de un propósito en ciertas células):

- Las moléculas de lípidos bajo la forma de bicapas lipídicas son componentes esenciales de las membranas biológicas.
- Los lípidos que contienen cadenas hidrocarbonadas sirven como depósitos de energía.
- Muchos acontecimientos de señalización intracelular e intercelular involucran moléculas de lípidos.

Entonces podemos decir que los lípidos son sustancias de origen biológico solubles en solventes orgánicos como cloroformo y metanol. Por lo tanto, son fáciles de separar de otros materiales biológicos mediante extracción con solventes orgánicos. Las grasas, los aceites, determinadas vitaminas y hormonas, así como la mayor parte de los componentes no proteicos de las membranas son lípidos. ⁽²⁾

3.1.1 Clasificación de los lípidos ⁽¹⁾

Cualquier clasificación de los lípidos presenta limitaciones, y la nomenclatura elegida para denominar cada uno de los grandes grupos puede incluso conducir a falsas interpretaciones. Una forma práctica de clasificar a los lípidos es con base en su composición que puede ser la de la siguiente tabla:

Tabla 1. Clasificación de los lípidos ⁽¹⁾

Clasificación de los lípidos	
Lípidos simples	Lípidos compuestos
Ácidos grasos	Acilglicéridos
Terpenoides	Fosfoglicéridos
Carotenoides	Esfingolípidos
Esteroides	Ceras
Prostaglandinas	Esteridos

Los lípidos simples son aquellos cuya estructura molecular es unitaria solo incluyen ésteres de ácidos grasos y un alcohol.

En contraposición a los lípidos simples, los lípidos compuestos son aquellos cuya molécula presenta dos o más componentes claramente diferenciados, de los cuales al menos uno manifiesta propiedades de lípido cuando se considera por separado, esto es, que presentan un alcohol, ácidos grasos u otros compuestos.

Existe otra clase de lípidos, estos son los lípidos derivados, son los que no se pueden clasificar definitivamente como simples o compuestos; los esteroides, las prostaglandinas, los leucotrienos, los tromboxanos, los carotenoides y las vitaminas lipídicas son solo

algunos ejemplos. Muchas de estas sustancias se producen (derivan) in vivo a partir de los carbonos de ácidos grasos. ⁽¹⁾

3.2 Los ácidos grasos

Los ácidos grasos son cadenas de hidrocarburos que contienen un metilo (CH₃-) y un extremo carboxilo (-COOH). La Tabla 2 muestra los principales ácidos grasos que se encuentran en la dieta. Los ácidos grasos varían en la longitud de la cadena de carbono y el grado de insaturación (el número de dobles enlaces en la cadena de carbono) y se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Ácidos grasos saturados
- Ácidos grasos cis-monoinsaturados
 - Ácidos grasos poliinsaturados cis
 - ácidos grasos n-6
 - ácidos grasos n-3
 - Ácidos grasos trans

Una cantidad muy pequeña de grasa en la dieta se produce como fosfolípidos, una forma de grasa que contiene una molécula de glicerol que está esterificada con dos ácidos grasos y ya sea inositol, colina, serina o etanolamina. En el cuerpo, los fosfolípidos se encuentran principalmente en las membranas celulares y las membranas de los glóbulos de la leche.

Tabla 2. Principales ácidos grasos que se encuentran en la dieta ⁽³⁾

Categoría del ácido graso	Ácidos grasos específicos encontrados en la dieta
Ácidos grasos saturados	<ul style="list-style-type: none"> - Ácido caprílico, 8:0a - Ácido caproico, 10:0 - Ácido láurico, 12:0

Continuación de Tabla 2.

	<ul style="list-style-type: none"> - Acido mirístico, 14:0 - Acido palmítico, 16:0 - Acido esteárico, 18:0
Ácidos grasos monoinsaturados <i>Cis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Ácido miristoleico, 14:1 n-7 - Acido palmitoleico, 16:1 n-7 - Ácido oleico, 18:1 n-9 (representan el 92% de los ácidos monoinsaturados de la dieta.) - Acido cis-vaccenico, 18:1 n-7 - Ácido eicosenoico, 20:1 n-9 - Ácido erucico, 22:1 n-9
Ácidos grasos polinsaturados <i>Cis</i>	
Ácidos grasos polinsaturados n-6	<ul style="list-style-type: none"> - Acido linoleico, b 18:2 - Acido gamma-linoleico, 18:3 - Ácido dihomo-g-linoleico, 20:3 - Acido araquidónico, 20:4 - Ácido adrenico, 22:4 - Ácido docosapentanoico, 22:5
Ácidos grasos polinsaturados n-3	<ul style="list-style-type: none"> - Acido alfa-linoleico, b 18:3 - Acido eicosapentaenoico, 20:5 - Ácido docosapentanoico, 22:5 - Ácido docohexanopentanoico, 22:6
Ácidos grasos <i>Trans</i>	<ul style="list-style-type: none"> - 9-trans, 18:1; 9-trans, 16:1; 9-cis,11-trans, 18:2; 9-trans,12-cis, 18:2; 9-cis,12-trans, 18:2

- El primer valor se refiere a la longitud de la cadena o número de átomos de carbono y el segundo valor se refiere al número de dobles enlaces.
- El ácido linoleico y el ácido α -linolénico no se pueden sintetizar en el organismo y, por tanto, son esenciales en la dieta. ⁽³⁾

3.2.1 Funciones de las grasas y los ácidos grasos

Una fuente importante de energía para el cuerpo, la grasa ayuda a la absorción de las vitaminas A, D, E, K solubles en grasa y otros componentes de los alimentos, como los carotenoides. Los ácidos grasos actúan en la señalización celular y alteran la expresión de genes específicos implicados en el metabolismo de lípidos y carbohidratos.

Los ácidos grasos, los constituyentes principales de los triglicéridos, también pueden servir como precursores o ligandos de receptores que son importantes reguladores de la adipogénesis, la inflamación, la acción de la insulina y la función neurológica. La tabla 3 resume las funciones de las grasas y los ácidos grasos.

Tabla 3. Funciones de las grasas y los ácidos grasos ⁽³⁾

Grasa total *	<ul style="list-style-type: none"> - Principal fuente de energía - Ayuda a la absorción de las vitaminas liposolubles y carotenoides
Ácidos grasos saturados	<ul style="list-style-type: none"> - Fuentes de energía - Componentes estructurales de las membranas celulares - Permitir el funcionamiento normal de las proteínas
Ácidos grasos monoinsaturados cis	<ul style="list-style-type: none"> - Componentes clave de los lípidos estructurales de la membrana, particularmente mielina del tejido nervioso
Ácidos grasos poliinsaturados cis	
Ácidos grasos poliinsaturados n-6	<ul style="list-style-type: none"> - Sustratos para la producción de eicosanoides, incluidos prostaglandinas - Precursores del ácido araquidónico

	<ul style="list-style-type: none"> - Componentes de los lípidos estructurales de la membrana - Importante en las vías de señalización celular - Vital para el funcionamiento normal de las células epiteliales - Involucrado en la regulación de genes para proteínas que regulan la síntesis de ácidos grasos
Ácidos grasos poliinsaturados n-3	<ul style="list-style-type: none"> - Precusores para la síntesis de eicosapentaenoico ácido (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA). - EPA es el precursor de los eicosanoides n-3
Fosfolípidos	<ul style="list-style-type: none"> - Componentes principales de las membranas celulares

* Grasa total se refiere a todas las formas de triacilglicerol, independientemente de la composición de ácidos grasos. ⁽³⁾

3.2.2. Recomendación de la OMS

Reducir el consumo total de grasa a menos del 30% de la ingesta calórica diaria contribuye a prevenir el aumento insalubre de peso entre la población adulta.

Además, para reducir el riesgo de desarrollar enfermedades no transmisibles es preciso:

- limitar el consumo de grasas saturadas a menos del 10% de la ingesta calórica diaria;
- limitar el consumo de grasas trans a menos del 1%; y
- sustituir las grasas saturadas y las grasas trans por grasas no saturadas, en particular grasas poliinsaturadas. ⁽⁴⁾

3.3 Ácidos grasos trans

Se denominan ácidos grasos trans (AGt) a aquellos ácidos grasos (AG) que poseen, al menos, un doble enlace de configuración geométrica trans. Los AGt se encuentran de forma natural, en la carne y la leche procedentes de rumiantes, pero también pueden formarse por hidrogenación catalítica (AGtHC) de los aceites vegetales.

La hidrogenación permite obtener grasas semisólidas de interés tecnológico para la elaboración de distintos alimentos. Ello se debe a que la configuración trans aumenta el punto de fusión, cambia la polaridad y modifica las propiedades espectrométricas de los AG. Los dobles enlaces cis provocan la curvatura de las cadenas carbonadas mientras que los trans la mantienen rígida.

Así, la incorporación de los AGt a los fosfolípidos de las membranas celulares puede dar lugar a una reducción significativa de la fluidez de las mismas y afectar a las actividades enzimáticas asociadas a éstas. Por estas razones, los AGt presentes en algunos alimentos, son objeto de gran preocupación e interés científico. Los AGt presentan la misma cinética y utilizan las mismas vías metabólicas que otros AG.

Los ácidos grasos trans no son esenciales y no confieren beneficios para la salud conocidos, Por lo tanto, no se estableció ningún Requerimiento medio estimado (EAR) y, por lo tanto, tampoco se estableció una Ingesta diaria recomendada (RDA) o Ingesta adecuada (IA).

Al igual que con los ácidos grasos saturados, existe una tendencia lineal positiva entre la ingesta de ácidos grasos *trans* y la concentración de colesterol LDL y, por lo tanto, un mayor riesgo de enfermedades coronarias. Se recomienda que las personas mantengan su consumo de ácidos grasos *trans* lo más bajo posible sin comprometer la adecuación nutricional de su dieta.

Los alimentos que contienen ácidos grasos *trans* incluyen la margarina en barra tradicional y las mantecas vegetales sometidas a hidrogenación parcial y diversos productos de panadería y alimentos fritos preparados con aceites parcialmente hidrogenados. La leche, la mantequilla y las carnes también contienen ácidos grasos *trans*, pero en niveles más bajos.

Al igual que con otros ácidos grasos, la absorción es de aproximadamente el 95 por ciento. Los ácidos grasos *trans* se transportan de manera similar a otros ácidos grasos de la dieta y se distribuyen en las fracciones de éster de colesterilo, triacilglicerol y fosfolípidos de la lipoproteína.

Los datos disponibles en animales y humanos indican que el contenido de ácidos grasos *trans* de los tejidos (excepto el cerebro) refleja el contenido de la dieta y que no se produce una acumulación selectiva. Los ácidos grasos *trans* se catabolizan completamente en dióxido de carbono y agua.

No es posible ni aconsejable lograr un cero por ciento de energía a partir de ácidos grasos saturados o ácidos grasos *trans* en las dietas típicas, ya que esto requeriría cambios dietéticos extraordinarios que pueden conducir a una ingesta inadecuada de proteínas y micronutrientes, así como otros efectos indeseables.

Se recomienda que las personas mantengan su consumo de ácidos grasos saturados y *trans* lo más bajo posible mientras siguen una dieta nutricionalmente adecuada. ⁽³⁾

La ingesta de grasas *trans* se ha relacionado con un mayor riesgo de padecer cardiopatías coronarias, al contribuir a una acumulación de placa en el interior de las arterias que puede provocar un ataque cardíaco. Por este motivo, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) exige que el contenido de grasa *trans* de los alimentos sea incluido en la etiqueta de información nutricional para ayudar a los

consumidores a determinar cómo es que cada alimento contribuye a su ingesta total de este tipo de grasas en su dieta.

Muchos alimentos procesados contienen aceites parcialmente hidrogenados (PHO, por sus siglas en inglés), la principal fuente de grasas trans en los mismos.

En 2013, la FDA llegó a la determinación preliminar de que los aceites parcialmente hidrogenados ya no eran “generalmente considerados como seguros” o "GRAS", como se le conoce a esta clasificación por sus siglas en inglés. La FDA está por concretar dicha medida y, de ahora en adelante, considerará los aceites parcialmente hidrogenados como aditivos alimentarios que necesitan una aprobación previa a su comercialización, ⁽⁵⁾

3.3.1 Formación de las grasas trans.

Las grasas trans, ácidos grasos insaturados con al menos un doble enlace en la configuración trans (Ver Fig. 1), se forman durante la hidrogenación parcial de los aceites vegetales, un proceso que convierte los aceites vegetales en grasas semisólidas para su uso en margarinas, cocción comercial y procesos de fabricación.

Desde la perspectiva de la industria alimentaria, los aceites vegetales parcialmente hidrogenados son atractivos debido a su larga vida útil, su estabilidad durante la fritura y su semisolidez, que puede personalizarse para mejorar la palatabilidad de los productos horneados y dulces.

Las principales fuentes de grasas trans son las comidas rápidas fritas, los productos de panadería, los refrigerios envasados, las margarinas y las galletas saladas (Tabla 1). Las grasas trans naturales se consumen en cantidades más pequeñas (alrededor del 0,5 por ciento de la ingesta total de energía) en las carnes y productos lácteos de vacas, ovejas y

otros rumiantes; Estas grasas trans son producidas por la acción de bacterias en el estómago de los rumiantes.

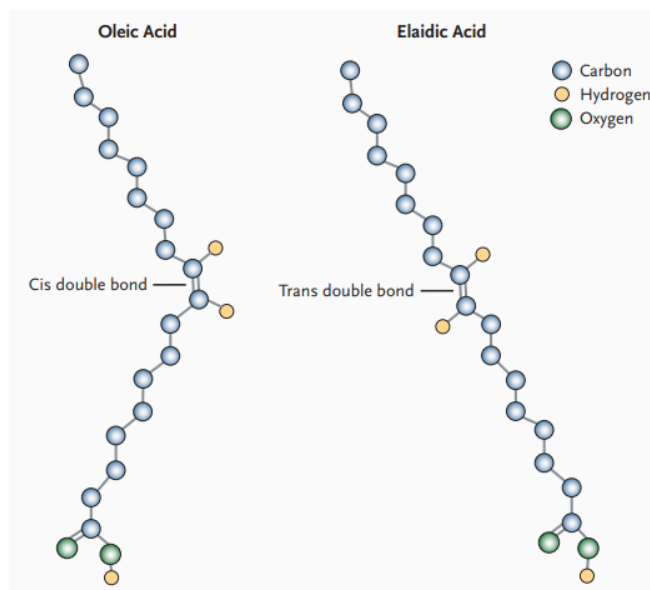


Figura 1. Estructura de los ácidos grasos cis y trans.⁶

Tanto el ácido oleico como el ácido eláidico son ácidos grasos de 18 carbonos con un enlace doble simple. Sin embargo, el ácido oleico tiene un doble enlace cis (los átomos de hidrógeno están en el mismo lado del enlace), lo que provoca una doblez o torcedura en la cadena de ácidos grasos, mientras que el ácido eláidico tiene un doble enlace trans (los átomos de hidrógeno están en lados opuestos del enlace), que endereza la cadena de ácidos grasos.

El enlace trans imparte una estructura más similar a la de las grasas saturadas, alterando las propiedades fisiológicas y los efectos del ácido graso. En el ácido eláidico, el doble enlace se produce en el noveno átomo de carbono (trans-18: 1n-9).

Los aceites parcialmente hidrogenados contienen mezclas de isómeros en los que el enlace trans puede ocurrir en cualquier lugar entre el 4º y el 10º carbono; también están presentes

cantidades más pequeñas de isómeros con un segundo doble enlace trans (trans, trans-18:2).

3.3.2 Efectos adversos de los ácidos grasos trans.

Lípidos séricos

Los principales efectos de los ácidos grasos trans sobre los niveles de lípidos séricos se han evaluado en ensayos dietéticos controlados. El efecto sobre los niveles de lípidos séricos del reemplazo isocalórico de grasas saturadas o grasas insaturadas cis con grasas trans se calculó a partir de un metaanálisis de 12 ensayos controlados aleatorizados sobre el consumo de ácidos grasos *trans* publicados hasta noviembre de 2005 (Figura 2).

Estos datos se obtuvieron de 524 sujetos en 39 grupos de estudio separados o períodos de estudio con el uso de métodos previamente descritos (Mensink R, Universidad de Maastricht: comunicación personal) y establecieron los efectos de las grasas saturadas y *cis* insaturadas sobre los niveles de lípidos séricos.

En comparación con el consumo de un número igual de calorías de grasas saturadas o *cis* insaturadas, el consumo de ácidos grasos trans eleva los niveles de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL), reduce los niveles de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL) y aumenta la relación entre el colesterol total y el colesterol HDL, un poderoso predictor del riesgo de cardiopatía coronaria.

Las grasas trans también aumentan los niveles sanguíneos de triglicéridos en comparación con la ingesta de otras grasas, aumentan los niveles de lipoproteína Lp (a) y reducen el tamaño de partícula del colesterol LDL, cada uno de los cuales puede aumentar aún más el riesgo de cardiopatía coronaria.

Por tanto, los ácidos grasos trans tienen efectos muy adversos sobre los lípidos séricos. Aunque se esperaría que estos efectos aumenten el riesgo de cardiopatía coronaria, la relación entre la ingesta de grasas trans y la incidencia de cardiopatía coronaria informada

en estudios prospectivos ha sido mayor que la predicha por los cambios en los niveles de lípidos séricos solos, lo que sugiere que los ácidos grasos trans también pueden influir en otros factores de riesgo de cardiopatía coronaria.

La evidencia reciente indica que las grasas trans promueven la inflamación.

En las mujeres, una mayor ingesta de ácidos grasos trans se asoció con una mayor actividad del sistema del factor de necrosis tumoral (TNF); entre aquellos con un índice de masa corporal más alto, una mayor ingesta de ácidos grasos trans también se asoció con un aumento de los niveles de interleucina-6 y proteína C reactiva.

En un estudio de mujeres con sobrepeso, una mayor ingesta de grasas trans se asoció nuevamente con una mayor actividad del sistema TNF y niveles elevados de interleucina-6 y proteína C reactiva.

En pacientes con enfermedad cardíaca establecida, los niveles de membrana de ácidos grasos trans (un biomarcador de la ingesta dietética de grasas trans) se asociaron de forma independiente con la activación de respuestas inflamatorias sistémicas, incluidos niveles sustancialmente aumentados de interleucina-6, TNF- α , receptores de TNF, y proteína quimioatrayente de monocitos 1.

También se han informado efectos inflamatorios en ensayos controlados aleatorizados. En pacientes con hipercolesterolemia, la producción de interleucina-6 y TNF- α por células mononucleares cultivadas fue mayor después de un mes de una dieta de margarina de soja (6.7 por ciento de energía de ácidos grasos trans) que después de un mes de una dieta de aceite de soja. (0,6 por ciento de energía procedente de ácidos grasos trans); la producción de interleucina-1 β no se vio afectada significativamente.

En otro ensayo, cinco semanas de una dieta en la que el 8% de la ingesta energética provenía de ácidos grasos trans, en comparación con el ácido oleico, aumentaron los niveles plasmáticos de interleucina-6 y proteína C reactiva.

En estos ensayos, los efectos inflamatorios de los ácidos grasos no difirieron significativamente de los de las grasas saturadas. Debido a que la presencia de inflamación es un factor de riesgo independiente de aterosclerosis, muerte súbita por causas cardíacas, diabetes e insuficiencia cardíaca, los efectos inflamatorios de las grasas trans pueden explicar en parte sus efectos sobre la salud cardiovascular.

Por ejemplo, sobre la base de la asociación positiva entre los niveles de proteína C reactiva y el riesgo de enfermedad cardiovascular, la diferencia en los niveles de proteína C reactiva observada con una ingesta media de grasas trans del 2,1 por ciento, en comparación con el 0,9 por ciento, de la ingesta energética total correspondería a un aumento del riesgo de aproximadamente un 30 por ciento.

Función de las células endoteliales.

Varios estudios sugieren que las grasas trans provocan disfunción endotelial. Después del ajuste por otros factores de riesgo, una mayor ingesta de ácidos grasos trans se asoció con un aumento de los niveles de varios marcadores de disfunción endotelial, incluida la molécula de adhesión intercelular soluble 1, la molécula de adhesión soluble de células vasculares 1 y la E-selectina.

La E-selectina fue similar a los hallazgos en un ensayo aleatorio cuando el ácido oleico o los carbohidratos fueron reemplazados isocalóricamente con grasas trans. En otro ensayo, el consumo de ácidos grasos trans afectó la función endotelial, como se refleja en una reducción en la vasodilatación mediada por el flujo de la arteria braquial en 29 por ciento, en comparación con la ingesta de grasas saturadas.

Otros efectos.

Los ácidos grasos trans pueden influir en otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. En ensayos controlados, el consumo de grasas trans redujo la actividad de la paraoxonasa sérica, una enzima que está estrechamente asociada con el colesterol HDL, y afectó la actividad posprandial del activador del plasminógeno tisular.

Se han realizado ensayos que evalúan los efectos del consumo de ácidos grasos trans sobre la sensibilidad a la insulina. Se muestran resultados variables. Tal variabilidad puede deberse a diferencias en la población o la medida de resistencia a la insulina examinada y puede depender de la duración de la ingesta (los ensayos a corto plazo pueden no detectar un efecto).

Se necesitan más investigaciones para dilucidar los posibles efectos de los ácidos grasos trans en estas y otras vías fisiológicas. ⁽⁶⁾

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

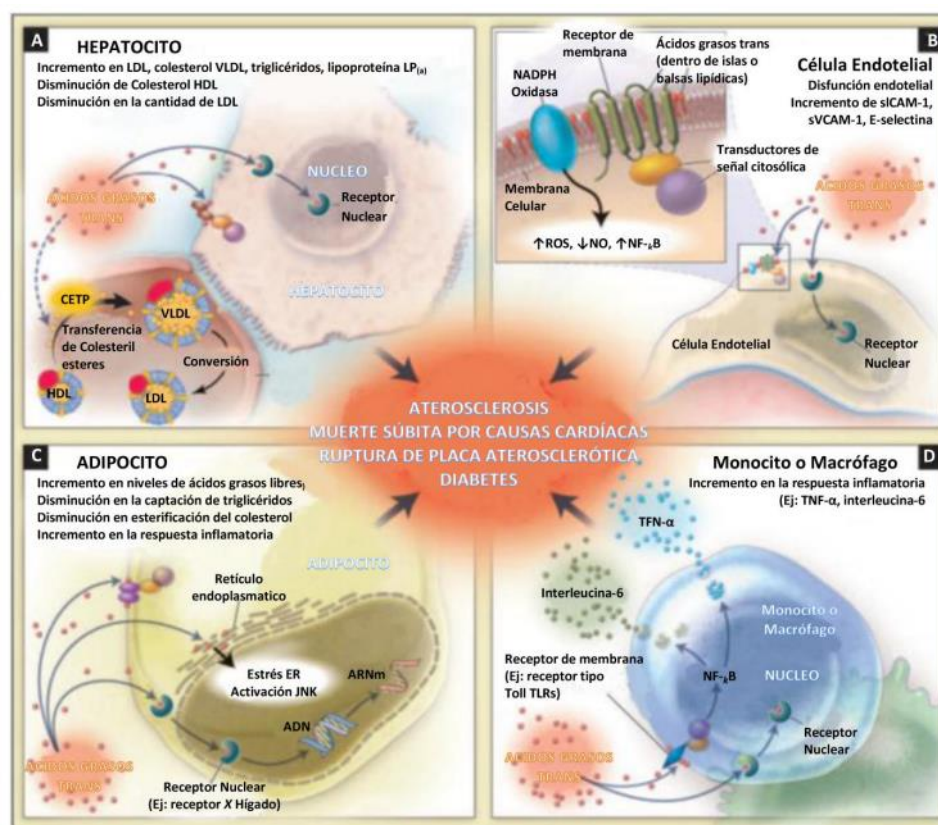


Figura 2. Efectos fisiológicos potenciales de los ácidos grasos trans.⁶

Los cambios en la producción de hepatocitos, la secreción y el catabolismo de las lipoproteínas, junto con los efectos sobre la proteína de transferencia de éster de colesterol

plasmático (CETP), probablemente explican los efectos adversos de los ácidos grasos trans en los niveles de lípidos séricos (Panel A).

El efecto sobre la CETP probablemente no sea directo, sino que esté mediado por efectos sobre los receptores nucleares o de membrana (línea discontinua). Los ácidos grasos trans también alteran el metabolismo de los ácidos grasos y, posiblemente, las respuestas inflamatorias de los adipocitos. Además, la disfunción endotelial dependiente de óxido nítrico y el aumento de los niveles de moléculas de adhesión circulantes (molécula de adhesión intercelular soluble 1 [sICAM-1] y molécula de adhesión de células vasculares soluble 1 [sVCAM-1]) se observan con la ingesta de grasas trans.

Los ácidos grasos trans también modulan la actividad de los monocitos y macrófagos (Panel D), como se manifiesta por una mayor producción de mediadores inflamatorios. Cada uno de estos efectos se ha observado en estudios controlados en humanos y puede, individualmente o en conjunto, aumentar el riesgo de aterosclerosis, rotura de placa, muerte súbita por causas cardíacas y diabetes.

Los mecanismos subcelulares de estos efectos no están bien establecidos, pero pueden estar mediados por efectos sobre los receptores de membrana que se localizan y están influenciados por fosfolípidos de membrana específicos (Panel B), como la sintasa de óxido nítrico (NO) endotelial o receptores de tipo toll.

Por unión directa de ácidos grasos trans a receptores nucleares que regulan la transcripción de genes, como el receptor X del hígado (Panel C); y por efectos directos o indirectos sobre las respuestas del retículo endoplásmico (ER), como la activación de la quinasa Jun N-terminal (JNK).

Tales vías subcelulares hipotéticas, que se ha demostrado que existen para otros ácidos grasos, requieren una mayor investigación. TNF- α denota factor de necrosis tumoral α , especies de oxígeno reactivas a ROS, factor nuclear κ B de NF- κ B y ARN mensajero de ARNm. ⁽⁷⁾

3.4 Generalidades de las quesadillas

La quesadilla salvadoreña es una especie de pan elaborado con varios productos lácteos como el queso fresco o cuajada (de ahí proviene su nombre), los cuales sirven para la preparación de este esponjoso y húmedo que aparte de ser conocido como un plato típico en el país, también es un postre tradicional.

Por lo general las quesadillas siempre son elaboradas a base de harina de arroz, aunque también se pueden elaborar con harina de maíz (masa), en este caso veremos la receta específica de una marca ya establecida en nuestro país, para la elaboración de estas quesadillas.

Las quesadillas pueden encontrarse en las panaderías y en algunos lugares de venta de comida típica, tiendas y supermercados. En algunos pueblos de manera tradicional también la elaboración para venta o consumo propio de las quesadillas es algo muy común.

En los pueblos se acostumbra a usar hornos tradicionales los cuales son elaborados con barro, los hornos se calientan con leña, que después se retira para que queden las brasas que ayudaran a cocer las quesadillas. Sin duda es un postre muy exquisito por lo general se acompaña con una taza de café.

Pero las quesadillas de la marca X, son nuestro principal enfoque en esta investigación, estas varían en presentaciones y precios.



Figura 3. Muestras de quesadillas.
Fuente: Elaboración propia

Ingredientes (Ver Tabla 4) se presenta a continuación un listado de los principales ingredientes que componen las quesadillas que son parte de nuestro objeto de estudio en esta investigación.

Tabla 4. Componentes de manera general de las quesadillas

INGREDIENTES	
-Barra de margarina (en nuestro país es también conocida como mantequilla)	-Crema pura (conocida también como nata)
-Harina de trigo	-Polvo para hornear
-Harina de arroz	-Sal ajonjolí (conocida también como sésamo, sirve para decorar)
-Huevos	-Queso
-Azúcar	-Leche líquida

Fuente: Elaboración Propia

3.5 Métodos instrumentales

3.5.1 Espectroscopia ⁽⁸⁾

La espectroscopia se ocupa de la producción, medida, e interpretación de los espectros que se presentan de interacción de la radiación electromagnética con la materia. Los métodos espectroscópicos están siendo ampliamente utilizados para los análisis cuantitativos y cualitativos.

Los métodos espectroscópicos basados en absorción o emisión de la radiación en el ultravioleta (UV), visible (Vis), el infrarrojo (IR), y RMN (de resonancia magnética nuclear) frecuentemente son los más comúnmente encontrados en los laboratorios de análisis de alimentos.

3.5.2 Espectroscopia Infrarroja ⁽⁸⁾

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

La región infrarroja del espectro electromagnético abarca la radiación con números de onda comprendidos entre 12.800 a 10 cm^{-1} , que corresponden a longitudes de ondas de 0.78 a $1.000\mu\text{m}$.

Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de la instrumentación, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano; las técnicas y aplicaciones de los métodos basados en cada una de las tres regiones del espectro infrarrojo difieren considerablemente.

La aparición en la última década de equipos de espectroscopia Infrarroja de transformada de Fourier relativamente baratos ha aumentado notablemente el número y tipo de aplicaciones de la radiación del infrarrojo fundamental.

La razón de este incremento radica en el aumento de la relación señal/ruido y de los límites de detección, en un orden de magnitud e incluso mayor que puede conseguirse con los instrumentos con interferómetros, los cuales se utilizan en análisis tanto cualitativos como cuantitativos.

También han empezado a parecer aplicaciones de esta región espectral en los estudios microscópicos de superficies, análisis de sólidos mediante reflectancia total atenuada.

3.5.3 Análisis cualitativo ⁽⁸⁾

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

En el análisis cualitativo con un instrumento de espectroscopia es un proceso que consta de dos etapas. La primera etapa implica la determinación de los grupos funcionales y la segunda etapa consiste en la comparación detallada del espectro del compuesto desconocido con los espectros de compuestos puros que contienen todos los grupos funcionales que encontrados en la primera etapa.

En este caso es particularmente útil la región de la huella dactilar, comprendida entre $1,200\text{cm}^{-1} - 600\text{cm}^{-1}$, en esta región en donde los compuestos orgánicos presentan sus picos característicos.

3.5.4 Espectroscopia en el IR-Mediano

La espectroscopia IR-medio mide la habilidad de las muestras de absorber luz en la región de $2.5 - 1.5\mu\text{m}$ ($4000 - 659\text{cm}^{-1}$). Las absorciones fundamentales son observadas primeramente en esta región del espectro.

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

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

Aplicaciones cualitativas

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

3.6 Análisis de ácidos grasos trans por espectroscopia infrarroja. ⁽⁹⁾

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

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

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

3.6.1 Principio (METODO 2000:10 AOAC) ⁽⁹⁾

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

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

Las grasas animales y marinas pueden contener cantidades medibles de isómeros geométricos de ácidos grasos trans de origen natural. Los enlaces dobles trans aislados en los ácidos grasos de cadena larga, los ésteres metílicos de ácidos grasos, los jabones y triacilglicerol se pueden medir por espectroscopia infrarroja (IR).

Una banda de absorción única con un máximo en la región de 966 cm^{-1} ($\mu\text{m } 10.3$), se presenta por la vibración C-H de la deformación del enlace doble C=C trans, se exhibe en los espectros de todos los compuestos que contienen un grupo aislado trans por lo que se puede determinar cualitativamente.

Esta banda no se observa en los espectros correspondientes a los ácidos grasos saturados e insaturado cis. La medida de la intensidad de esta banda de absorción bajo condiciones analíticamente controladas es la base para un método cuantitativo para la determinación de ácidos grasos trans totales. No se requiere que las muestras de ensayo, grasas y aceites se conviertan a ésteres metílicos de ácidos grasos antes del análisis.

Este método es aplicable para grasas y aceites que contengan $> 1\%$ de la insaturación conjugada, materiales que contenga grupos funcionales que modifiquen la intensidad de la vibración de la deformación C-H de la doble banda trans, o en general a cualquier material que contenga constituyentes cuyos grupos funcionales que generan una banda de absorción específica, o que este suficientemente cerca de interferir con la banda de vibración de absorción C-H de la doble banda trans aislada 966 cm^{-1} . ⁽¹⁰⁾

3.6.2 Descripción de otro procedimiento según el Método: 14-95 de AOCS

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

La absorbancia de los espectros entre 1500 y 900 cm^{-1} son obtenidos usando espectroscopia infrarroja. El metilelaidato se usa como un patrón externo en el cálculo del contenido de dobles enlaces trans. Alternativamente la AOCS con el método Cd 14d-96 determina el total de ácidos grasos trans usando reflexión total atenuada de infrarrojo por transformada de Fourier. ⁽¹⁰⁾

3.6.3 Aplicación del método

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

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

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

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

3.6.4 Medición de ácidos grasos trans mediante espectroscopía ATR de reflexión simple.

Según el método de la AOCS, los análisis de contenido de ácidos grasos trans por FTIR deben hacerse mediante el método de transmisión o el método ATR, que resulta más sencillo, el accesorio MIRacle A (prisma de seleniuro de zinc) usado para la medición. También se utiliza un controlador de temperatura para mantener el prisma a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$).

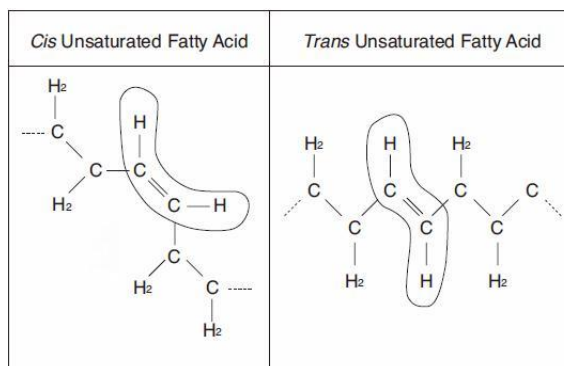


Figura 4. Mantenimiento de Comportamiento. ¹¹

Dos ácidos grasos insaturados se caracterizan por tener isómeros cis y trans, como se muestra en la Fig. 4. Se utilizan muestras de trioleína (trioleato de glicerol), con una única unión doble tipo cis, y trielaidina, que tiene una doble unión tipo trans. en la Fig. 5 se ven los espectros infrarrojos de ambas sustancias. En el espectro de trielaidina, la banda característica de trans-vinilo de los ácidos grasos insaturados se observa a 966 cm^{-1} .

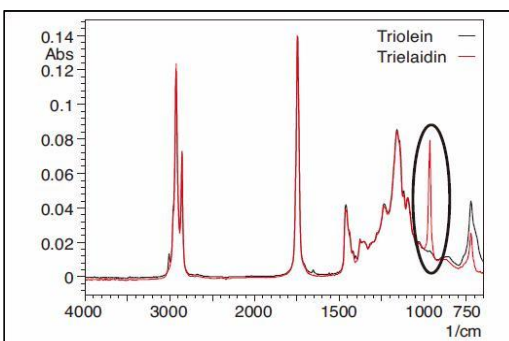


Figura 5. Espectro de trioleína. ¹¹

Usando como base la trioleína, se preparan muestras fortificadas con trielaidina en concentraciones de 0,1%, 0,2%, 0,5%, 1,0%, 2,0%, 5,0%, y 10,0% para generar una curva de calibración de ácidos grasos trans.

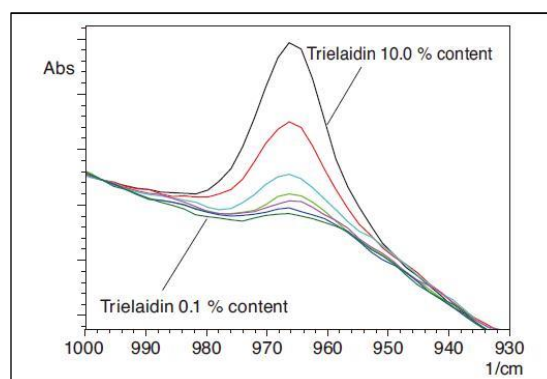


Figura 6. Curva de calibración. ¹¹

Los espectros infrarrojos se miden de la manera indicada. Se muestra el pico de ácidos grasos trans en las cercanías de 966 cm^{-1} , usado para generar la curva. Se obtiene un excelente coeficiente de correlación de 0,9999.

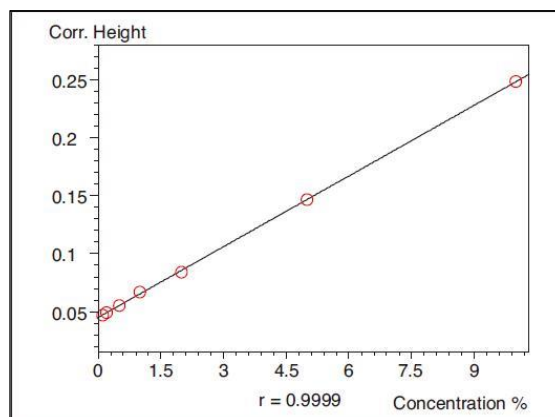


Figura 7. Coeficiente de correlación. ¹¹

Brevemente, el procedimiento experimental ATR-FTIR consta de varios pasos. La calibración se logra preparando primero con precisión estándares de grasas trans agregando cantidades variables (0–50%) de trielaidina pura (sin solvente) (trans -9-18: 1) a un aceite de referencia puro libre de trans.

A continuación, se coloca un pequeño volumen (que consta de una o dos gotas) de un patrón de calibración sobre la superficie horizontal precalentada (65 ° C) del elemento de reflexión interno (generalmente hecho de seleniuro de zinc o diamante) de un solo - o accesorio ATR de reflexión múltiple.

Dependiendo del diámetro del cristal de reflexión interno, este pequeño volumen de estándar de calibración TAG puede variar 1 μ L. Se observa que los cristales ATR más grandes permiten que el rayo infrarrojo rebote varias veces a través de la porción de prueba bajo investigación.

Esto significa que cuanto mayor sea el número de reflejos internos, mayor sensibilidad resultará y mejorará la relación señal-ruido. Esta ventaja será más útil con concentraciones bajas de grasas trans (por debajo del 5% de la grasa total). La superficie del elemento ATR debe estar completamente cubierta para una cuantificación precisa y se debe tener sumo cuidado para evitar la contaminación cruzada.

Para satisfacer plenamente este último requisito, se recomienda limpiar el elemento ATR con etanol. trans Referencia trans -9-18: 1 Los estándares de calibración TAG se miden mediante ATR-FTIR en relación con el de un aceite de referencia libre de trans para obtener espectros de absorción. La banda trans de 966 cm^{-1} para espectros trans -9-18: 1 generalmente se exhibe como una característica simétrica en una línea de base casi horizontal.

El área de la banda trans podría entonces integrarse electrónicamente entre los límites de 990 y 945 cm^{-1} , que se utiliza para generar una función de calibración. La función de regresión resultante que relaciona el área integrada de la banda de absorción y la cantidad de TAG trans -9-18: 1 (como porcentaje de la grasa total) generalmente tiene una y despreciable-intercepto y un valor de R^2 del coeficiente de regresión de 0.999.

De manera similar, las porciones de prueba de grasas y aceites desconocidos se miden en relación con el mismo aceite de referencia libre de trans utilizado para la calibración. El nivel de grasas o aceites trans (como porcentaje de la grasa total) se calcula sustituyendo el valor del área integrada de la banda trans en la función de regresión lineal.

Como se indicó anteriormente, este método ATR-FTIR también asume que el componente principal a ser determinado en muestras de prueba de aceite o grasa fundida desconocida es la trielaidina. ⁽¹⁰⁾

CAPITULO IV

4.0. PRODUCTO FINAL

Para la elaboración del producto final que está enfocado en la realización de una práctica de laboratorio basado en el aprovechamiento de los recursos teóricos del Diplomado en Análisis Químico de Alimentos se toman en cuenta los lineamientos establecidos por dicho curso. Las partes a contener son las siguientes:

1. Título de la práctica
2. Introducción
3. Objetivos
4. Tipo de método de análisis y Fundamento
5. Información general de la muestra
6. Reactivos
7. Materiales y equipos
8. Procedimiento de práctica de determinación
9. Cálculos involucrados
10. Normativas nacionales o internacionales a utilizar, para poder interpretar los resultados
11. Referencias bibliográficas

1. TITULO

Determinación de grasas trans presentes en quesadillas de una marca X por el método de Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier.

2. INTRODUCCIÓN

La espectrometría infrarroja es una de las herramientas instrumentales muy importantes en el campo del análisis espectroscópico para la determinación de diversos grupos funcionales. Esto se debe al alto contenido de información de los espectros en la llamada región espectroscópica de huellas dactilares, que permite la medición no solo de gases,

sino también de líquidos y sólidos. Hoy en día, la espectroscopia infrarroja está casi completamente dominada por la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

Los lípidos son un grupo de moléculas formadas por átomos de carbono e hidrógeno, principalmente, aunque pueden tener también átomos de nitrógeno, fósforo o azufre. Comúnmente los lípidos se clasifican en dos grandes grupos: aceites y grasas.

Los aceites a temperatura ambiente tienen forma líquida debido que en su composición hay en su mayoría ácidos grasos mono y poliinsaturados.

Las grasas están formadas fundamentalmente por ácidos grasos saturados y a temperatura ambiente son sólidas, al ser su temperatura de fusión más alta respecto a la temperatura ambiente.

Los espectros de FTIR-ATR de los lípidos presentan características muy particulares que los hace perfectamente distinguibles de otros componentes en los alimentos, por ejemplo, alrededor del intervalo entre 2950 y 2800 cm^{-1} aparecen picos asociados con los enlaces C-H o un pico intenso ubicado aproximadamente a 1740 cm^{-1} , el cual está relacionado con el enlace C=O del grupo carbonilo.

Las grasas trans están presentes en una variedad de alimentos siendo principalmente los productos comerciales que contienen grasas hidrogenadas. Hay estudios que demuestran que estas grasas elevan los niveles de los niveles séricos de lipoproteínas de baja densidad (LDL)-colesterol y lipoproteínas de alta densidad (HDL)-colesterol.

La cuantificación e identificación de los isómeros de ácidos grasos trans es difícil debido a la amplia gama de compuestos presentes en las grasas hidrogenadas. Por eso se desarrolló un método como lo es FTIR que fuera rápido y eficaz en la determinación de estas grasas trans.

3. OBJETIVOS

- Describir el fundamento y los componentes básicos de un espectrofotómetro infrarrojo
- Establecer las ventajas y desventajas de la espectroscopia IR.
- Realizar un muestreo aleatorio para la recolección de muestras de quesadillas de una marca X.
- Investigar qué causa el consumo elevado de grasas trans y verificar el etiquetado de la matriz de estudio.
- Buscar normas nacionales o internacionales que informen sobre este tipo de grasas trans.

4. TIPO DE MÉTODO DE ANÁLISIS Y FUNDAMENTO

ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER

La Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier, FTIR (Por sus siglas en inglés: Fourier Transform Infrared Spectroscopy) ha estado a disposición de los investigadores desde principios de 1970. Se basa en la interferometría y hace uso de una fuente completa del espectro en lugar de las longitudes de onda individuales generadas por los sistemas de rejilla y/o de prisma utilizados en espectroscopia de IR convencional.

Un interferómetro utiliza un divisor de haz para dividir la radiación de la fuente en dos partes, que se refleja en un espejo fijo y un espejo móvil, respectivamente (Fig. 8). Los dos haces se someten a interferencia constructiva y destructiva, ya que se recombinan en el divisor de haz debido a la diferencia en la dirección que varía entre los dos espejos.

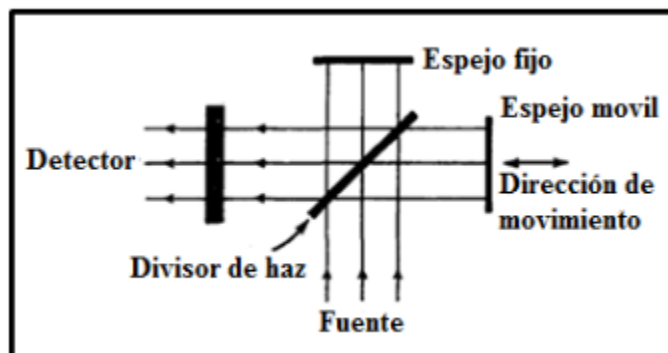


Figura. 8. Diagrama esquemático de los componentes esenciales de un interferómetro ⁽²⁾

Las fluctuaciones de intensidad producidas por el efecto de interferencia son medidas por el detector, la digitalización en tiempo real y el resultado es un interferograma que contiene toda la información espectral en relación con la muestra.

Con el fin de obtener información interpretable, el interferograma digital debe ser convertido por Transformada de Fourier a un espectro IR de emisión convencional, por ello al equipo de IR se le adapta una computadora que puede realizar esta conversión.

Los espectros de emitancia a su vez se pueden convertir en espectros de transmitancia y absorbancia. Espectrómetros FTIR tienen ventajas significativas sobre los instrumentos de tipo dispersivo, ya que proporcionan una mejora en la relación señal-ruido, mientras que su propiedad de multiplexación permite que todas las frecuencias sean detectadas simultáneamente, reduciendo drásticamente el tiempo de exploración sin pérdida de resolución.

Por medio de un láser interno se mantiene estable la longitud de onda. Otras ventajas son mayor rendimiento energético, mejor resolución de longitud de onda superiores (0,003-0,006 cm^{-1}) y la exactitud de longitud de onda superior obtenido a través del uso de un láser interno para mantener la calibración de longitud de onda.

La calibración láser asegura las manipulaciones de los datos subsiguientes tales como sustracción espectral, racionamiento, extracción, co-adición de escaneos y búsquedas de

la biblioteca, pudiendo todo esto llevarse a cabo con precisión. Operaciones similares en instrumentos dispersivos computarizados están limitadas por desviaciones de frecuencia con el tiempo.

PRINCIPIO (MÉTODO 2000:10 AOAC)

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

Las grasas animales y marinas pueden contener cantidades medibles de isómeros geométricos de ácidos grasos trans de origen natural. Los enlaces dobles trans aislados en los ácidos grasos de cadena larga, los ésteres metílicos de ácidos grasos, los jabones y triacilgliceroles se pueden medir por espectroscopia infrarroja (IR).

La concentración se puede determinar cualitativamente en el espectro IR. Una banda de absorción única con un máximo en la región de 966 cm^{-1} ($10.3\ \mu\text{m}$), se presenta por la vibración C-H de la deformación del doble enlace C=C trans, se exhibe en los espectros de todos los compuestos que contienen un grupo aislado trans. Esta banda no se observa en los espectros correspondientes a los ácidos grasos saturados e insaturado cis.

La medida de la intensidad de esta banda de absorción bajo condiciones analíticamente controladas es la base para un método a su vez cuantitativo para la 42 determinación de ácidos grasos trans totales. No se requiere que las muestras de ensayo, grasas y aceites se conviertan a ésteres metílicos de ácidos grasos antes del análisis.

5. INFORMACIÓN GENERAL DE LA MUESTRA

Tipo de matriz

Información del muestreo: Las muestras de la marca seleccionada se recolectarán en tiendas comerciales que se encuentran alrededor de la Universidad de El Salvador de San Salvador. Se elegirán 3 tiendas y de cada tienda se comprarán 2 muestras. Las muestras recolectadas posteriormente se rotularán con la etiqueta que se muestra a continuación:

NOMBRE:	
MARCA:	
LOTE:	
FECHA DE VENCIMIENTO:	
PESO NETO:	

Figura 9. Etiqueta de identificación de muestra.
Fuente: Elaboración propia.

Forma de almacenamiento de la muestra: Luego de que las muestras hayan sido recolectadas, estas se almacenaran en bolsas ziploc y serán transportadas al Laboratorio de Química y Farmacia con el cuidado de no aplastar la muestra y evitar que se destruya.

6. REACTIVOS

Estándares:

- TRIOLEÍNA como estándar negativo.
- TRIELAIDINA como estándar positivo.

Solventes:

- Etanol (para limpieza del cristal de la unidad ATR)
- Acetona grado ACS (para limpieza de celda de bromuro de potasio).

- Éter de Petróleo calidad para análisis (disolvente utilizado para extraer el aceite)

7. MATERIALES Y EQUIPOS

Equipo:

- Equipo de Espectrofotometría Infrarroja Shimadzu IR-Affinity-1 (Ver anexo N° 1, Especificaciones del Equipo)

Materiales:

- Unidad de Reflectancia Total Atenuada (ATR)
- Goteros para portar la muestra de aceite
- Baño de María
- Termómetro
- Tubos de ensayos de 20 mL (boca ancha)
- Probetas de 10 mL
- Celda de Bromuro de potasio (KBr)
- Gradilla
- Espátulas
- Mortero y pistilo
- Erlenmeyer de 25 mL
- Cámara de extracción de gases

8. PROCEDIMIENTO DE PRÁCTICA DE DETERMINACIÓN.

Tratamiento de la muestra:

Luego que las muestras han sido trasladadas al laboratorio de Química y Farmacias, estas se preparan para extraer el aceite como se indica a continuación:

1. Colocar las muestras recolectadas en un lugar limpio y seco.
2. Separar las muestras según lote si aplica y sacar de su empaque primario.
3. Transferir la muestra a un mortero y pistilo y triturar.
4. Una vez triturada la muestra, pesar 6 g de muestra y transferir a un Erlenmeyer de 125 mL
5. Trasladar el Erlenmeyer con la muestra pesada a una cámara de extracción de gases y haciendo uso de una probeta, medir 10 mL de éter de petróleo y agregar a la muestra.
6. Agitar manualmente por 5 minutos y dejar 5 minutos en reposo.
7. En tubos de ensayo previamente rotulados para cada una de las muestras, decantar la solución de aceite y éter de petróleo que se encuentra en el Erlenmeyer.
8. Dejar las muestras en reposo durante 12 a 24 horas con el objetivo que el éter de petróleo evapore y así se obtener un extracto puro de aceite.
9. Colocar el extracto de aceite en un tubo de boca ancha de 50 mL.

Procedimiento:

1. Encender el espectrofotómetro IR y la computadora
2. Iniciar el programa IR-Solution
3. Conectar el computador por medio del programa, con el espectrofotómetro IR utilizando el comando "Measure", comando "Admin", Inicializar. Dejar 15 minutos, antes de utilizar el equipo.
4. Permitir que el programa registre las condiciones del equipo y que reconozca automáticamente el accesorio ATR.
5. Limpiar el material de ventana de la celda de Bromuro de potasio con algodón impregnado con acetona grado ACS.
6. Armar la celda sin estándar

7. Colocar la celda en el compartimiento para celdas espectrofotómetro IR y obtener el espectro de blanco (Background).
8. Sacar la celda, desarmarla y volver a limpiar la celda de la misma forma que en el numeral 5.
9. Quebrar con cuidado, las ampollas que contienen los estándares y extraer con una jeringa de tuberculina un equivalente a 50 μL .
10. Colocar la cantidad medida del Estándar en una cara de la ventana limpia y seca para luego colocar la otra ventana sobre la anterior, permitiendo que el estándar se distribuya uniformemente y sin burbujas.
11. Armar con cuidado la celda
12. Colocar la celda en el Espectrofotómetro IR y obtener el espectro Infrarrojo del estándar desde los 4000 a los 500 cm^{-1}
13. Sacar la celda y volver a limpiar la celda de la misma manera que en el numeral 5 y proceder con el siguiente estándar según los numerales del 9 al 12.
14. Al finalizar dejar las ventanas de celda limpia y seca en desecador.
15. Luego proceder a la lectura de la muestra: Colocar el tubo de ensayo (paso 9 del tratamiento de la muestra) en baño de maría y controlar con un termómetro que la temperatura se encuentre a $62^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, hasta la fundición y separación de las fases.
16. Tomar con una pipeta o gotero, una pequeña cantidad de muestra fundida.
17. Colocar la muestra distribuida uniformemente en el cristal de la celda y acoplarla en la unidad ATR del equipo Infrarrojo Shimadzu IR-Affinity.
18. Analizar la muestra presionando el comando "Measure", coleccionar la información de la muestra en el espacio "coment" y presionar en "Sample" para obtener el espectro correspondiente e identificar las bandas desde los 4000 a los 500 cm^{-1}

19. Limpiar la celda con un pañuelo suave y luego con un algodón impregnado de alcohol.
20. Comparar los espectros obtenidos con la mezcla de estándar Trioleina-Trielaídina.
21. Observar si existe la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero Trans que aparece cercano a los 966 cm⁻¹.
22. Comparar los resultados obtenidos, con el estándar positivo y negativo. (ver análisis del estándar).

10. CÁLCULOS:

Representando la ecuación de línea recta se obtiene el porcentaje de ácidos grasos trans como sigue:

$$b \pm m (\text{TF } \%) = A$$

Despejando TF % se obtiene:

$$[\text{TF } (\%)] = \frac{A-b}{m}$$

En donde:

A: Absorbancia

b: intercepto

m: pendiente

A su vez la absorbancia se define como:

$$A = -\log I / I_0$$

En donde:

A: Absorbancia

I_0 : intensidad inicial de absorción de la radiación IR

I : intensidad final de absorción de la radiación IR.

Reportar los resultados lo más cercano a 0.1%.

11. NORMATIVAS NACIONALES O INTERNACIONALES A UTILIZAR, PARA PODER INTERPRETAR LOS RESULTADOS.

En El Salvador no existe una norma que regule el etiquetado y contenido en cuanto a grasas trans para este tipo de productos; se tomara en cuenta la siguiente norma de etiquetado:

- NSO 17.08.07:04 Requerimientos de etiquetado para productos preempacados.
- NSO CODEX CAC/GL 2 Directrices del Códex Alimentarius sobre etiquetado nutricional.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Dutta A. “Fourier Transform Infrared Spectroscopy”. Maharashtra Institute of Technology, Aurangabad, India. Capitulo 4.
2. Bernal Contreras, A.G. “Cuantificación de ácidos grasos trans en frituras populares (harinas fritas) por el método de espectroscopia infrarroja FTIR-ATR”. (Tesis) Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador, C.A., agosto 2016.
3. Bruno Rodríguez, E. B. “Adecuación del método de espectroscopia infrarroja en la identificación de grasas trans en margarina”. (Tesis) Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador, C.A., noviembre 2012.
4. <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/744/1/Cap%207%20La%20espectroscopia%20FTIR%20ATR.pdf>

CAPITULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. Es de suma importancia investigar y conocer los riesgos asociados con el consumo directo o excesivo de grasas trans en el cuerpo humano para comprender de mejor manera como estos afectan en la salud y así poder tomar las respectivas medidas preventivas. La información obtenida a través de la organización mundial de la salud, en un comunicado sobre “alimentación sana” es de mucha utilidad para concientizar a la población sobre los peligros de este tipo de grasas y promover así hábitos alimenticios más saludables.
2. Esta investigación destaca la importancia de encontrar una metodología adecuada para estudiar las grasas trans en una matriz alimentaria, específicamente como lo es la abordada en el desarrollo de esta práctica de determinación de grasas trans.
3. La práctica de laboratorio propuesta en esta investigación consiste en utilizar la Espectroscopia Infrarroja por la Transformada de Fourier para determinar las grasas trans en las quesadillas de una marca X, cumpliendo así con el objetivo de poder proponer un método analítico adecuado para la identificación de dichas grasas trans.

CAPITULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

1. A la Industria Alimenticia, hacer conciencia de todos los riesgos que conlleva ingerir una desmedida proporción de grasas saturadas en el cuerpo humano, ya que esto puede provocar muchas afecciones en las personas que consumen sus productos, es necesario llevar un estricto control de calidad tanto al producto terminado como las materias primas que darán origen a dicho producto. Para así usar aquellos aceites o grasas que sean más saludables y garantizar la calidad de los productos, pero sobre todo la calidad de la salud de las personas.
2. A los consumidores y población en general hacer conciencia en reducir el consumo excesivo de alimentos con altos índices de grasas trans, y que pueda tomarse como alternativas otros tipos de grasas o ácidos grasos de origen vegetal, siendo estos más saludables y que a su vez protejan nuestro cuerpo de diferentes enfermedades relacionadas con el consumo de grasas trans.
3. Basarse siempre en metodologías oficiales que nos puedan brindar resultados verídicos y claros a la hora de determinar grasas trans en una matriz alimentarias, en este caso el método de espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier el cual nos permite identificar la presencia de grasas trans en alimentos. Aplicando el método de la AOAC 2000.10 en la matriz alimentaria de interés, y de esta forma siempre confirmar la efectividad de dicho análisis cualitativo para ácidos grasos trans.
4. A las autoridades competentes siempre estar monitoreando y siempre verificar el debido cumplimiento del etiquetado de los alimentos, en cuanto a contenido de grasas trans que en efecto lo que se rotula en una etiqueta realmente sea parte de la composición de una matriz alimentaria.

5. Contar con todos los insumos necesarios mínimos para un adecuado desarrollo de la práctica de laboratorio planteada para la determinación de las grasas trans en las muestras de quesadillas y en base a todo lo investigado en este documento, para poder ejecutar de manera efectiva el desarrollo de la parte experimental, desde un muestreo realizado adecuadamente y así poder determinar grasas trans en la muestra de nuestro interés, y en la población involucrada.
6. Utilizar siempre métodos oficiales adecuándolos de la mejor manera posible a las condiciones que más se apeguen a la realidad en el desarrollo experimental como tal, en un laboratorio de investigación. Cuidado siempre de todos los detalles para poder obtener resultados certeros los cuales sustenten nuestra investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Tapia, Ó. C. (2004). Bioquímica de los procesos metabólicos (Capítulo 7). México: Reverte.
2. Donald Voet, J. G. (2007). Fundamentos De Bioquímica (Ed. II) (pp. 234). Madrid, Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A.
3. Jennifer J. Otten, J. P. (2012). Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements (pp. 125-129). Washington, D.C.: Institute of Medicine of National Academies. Advising the Nation. [Consultado 24 de enero de 2024] en https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/7222741/mod_resource/content/1/DRI2006.pdf
4. Organización Mundial de la Salud. (31 de agosto de 2018). Recuperado el 04 de febrero de 2024, de Alimentación sana: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
5. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA). (16 de 06 de 2015). Recuperado el 07 de febrero de 2024, de La FDA pone un alto a las grasas trans en los alimentos procesados: <https://www.fda.gov/consumers/articulos-en-espanol/la-fda-pone-un-alto-las-grasas-trans-en-los-alimentos-procesados>
6. Dariush Mozaffarian, M. e. (2006). Trans Fatty Acids. Boston: The new england journal of medicine.
7. Determinación de grasas en alimentos Método Soxhelt y Goldfish (internet). Com.mx. (citado el 27 de marzo de 2024). Disponible en: https://viresa.com.mx/blog_determinacion_grasas_soxhelt_goldfish
8. Rodríguez, E. B. (2012). Adecuación del Método de Espectroscopia Infrarroja en la Identificación de Grasas Trans en Margarina. El Salvador: Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia.

9. Mossoba, M. a. (2001). Rapid Determination of Isolated trans Geometric Isomers in Fats and Oils by Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (Vol.84). Journal of AOAC International, 1144-50.
10. Steinhart, M. M. (2009). Official Method 2000.10 Determination of Total Isolated Trans Unsaturated Fatty Acids in Fats and Oils by ATR-FTIR. (Vol.86). Journal of AOAC International, 1037–1045.
11. Análisis cuantitativo de ácidos grasos trans mediante FTIR - NotiJenck [Internet]. Com.ar. [citado el 25 de abril de 2024]. Disponible en: <https://www.notijenck.com.ar/aplicaciones/analisis-cuantitativo-de-acidos-grasos-trans-mediante-ftir>
12. Bernal Contreras, A.G. “Cuantificación de ácidos grasos trans en frituras populares (harinas fritas) por el método de espectroscopia infrarroja FTIR-ATR”. (Tesis) Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador, C.A., agosto 2016.

ANEXOS

ANEXO 1.

Tabla 5. Especificaciones del equipo de Espectroscopia infrarroja ⁽¹²⁾

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

ANEXO 2

METODO OFICIAL AOAC 2000:10

AOAC Official Method 2000.10**Determination of Total Isolated *Trans* Unsaturated Fatty Acids in Fats and Oils by ATR-FTIR.**

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

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

ID	True Value	\bar{x} , %	# Labs ^{a(b)}	S_r	% RSD _r	S_R	% RSD _R	% Rec
		0.8	11(1)	0.1	7.5	0.2	21.1	103
		1.0	12(0)	0.1	10.5	0.3	29.3	97
		5.1	12(0)	0.1	2.3	0.2	3.1	102
		10.3	12(0)	0.4	3.6	0.5	5.1	103
		15.6	12(0)	0.3	2.2	0.5	3.3	103
		20.6	11(1)	0.9	4.5	1.0	5.0	103
		40.1	12(0)	1.4	3.5	1.4	3.5	100

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

A. Principle

In most naturally occurring vegetable fats and oils, unsaturated constituents contain only isolated double bonds in the *cis* configuration. These *cis* double bonds may be isomerized to the *trans* configuration during extraction and processing procedures, due to oxidation, conversion during heating, and/or partial hydrogenation. Animal and marine fats may contain measurable amounts of naturally occurring *trans* fatty acid geometric isomers. Isolated *trans* double bonds in long-chain fatty acids, fatty acid methyl esters

(FAME), soaps and triacylglycerols may be measured by infrared (IR) spectroscopy. A unique absorption band with a maximum at ca 966 cm⁻¹ (10.3 μ m), arising from a C-H deformation vibration about a *trans* double bond, is exhibited in the spectra of all compounds containing an isolated *trans* group; this band is not observed in the spectra of the corresponding saturated and *cis* unsaturated fatty acids. Measurement of the intensity of this absorption band under analytically controlled conditions is the basis for a quantitative method for the determination of total isolated *trans* fatty acids. Fat and oil test samples are not required to be converted to FAME prior to analysis.

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

B. Apparatus

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

1% trielaidin standard, must yield a signal-to-noise ratio > 10:1.

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

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

(d) *Disposable plastic pipets*.--Capable of transferring 50 μL test samples to ATR cell.

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

C. Reagents

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

D. Preparation of Standards

Trans Calibration Standard. Weigh, to the nearest 0.0001 g, (0.3-x) g of TO, and x g of TE, into a 10 mL beaker, where x equals 0.0015, 0.0030, 0.0150, 0.0300,

0.0600, 0.0900, 0.1200 and 0.1500 g, in order to prepare 0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 40, and 50% *trans* calibration standards, respectively.

E. Calibration

For each *trans* standard, calculate the exact % *trans* expressed as the amount of TE as percent of total fat. Analyze each standard and determine the integrated area under the absorption band at 966 cm^{-1} as described in G and H. Using a first-order regression analysis, determine the slope and intercept of the line which best fits the plot of the area of the *trans* band for all the *trans* standards (y axis) as a function of % *trans* (x axis).

Once a calibration curve has been established, it must be checked periodically to insure that it has not shifted.

F. Preparation of Test Samples

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

G. Infrared Determination

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

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

Using a disposable pipet, transfer (without weighing) ca 50 μL of the neat (undiluted in any solvent) reference background material. Place the reference background material on the horizontal (faceup) ZnSe sampling surface of the ATR cell. The test portion must completely cover the horizontal surface of the crystal. Collect and save the single-beam spectrum to be used as background. Clean the crystal by wiping off the test portion with a disposable soft lint-free or

low-lint tissue paper. In general, to minimize contamination, apply part of the next test portion then wipe it off the crystal before re-applying the ca 50 μ L test portion for analysis.

Place ca 50 μ L (without weighing) of the neat test portion on the horizontal ZnSe crystal. It must completely cover the surface of the crystal. Collect and save the single-beam spectrum of the test portion.

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

H. Calculations

With the absorbance spectrum wavenumber scale expanded in the region from 1050 - 900 cm^{-1} , integrate (electronically) the area under the 968 cm^{-1} band between the limits 990 - 945 cm^{-1} . Calculate the linear regression equation for Area vs. % trans plot of the trans calibration standards.

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

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

Report results to the nearest 0.1%.