

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA



TESIS

Calidad nutrimental del aceite proveniente de *Rubus fruticosus*

Que presenta:

José Trinidad Pérez Herrera

Para obtener el título profesional de:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

Asesor de tesis: **D.C. Rafael Ortiz Alvarado**

Morelia, Mich. Abril 2017

Agradecimientos

A mis padres Trinidad Pérez y María Herrera que son los principales que gracias a su educación que me dieron todos estos 24 años de vida, ellos fueron por los cuales pude terminar mis estudios en general, a mis hermanos María Elena Pérez Agustín Pérez que son un ejemplo a seguir que nunca se rindieron en nada.

También a mi asesor el D.C. Rafael Ortiz Alvarado quien me oriento y permitió realizar este trabajo de investigación en su laboratorio en el cual todo este tiempo que estuve trabajando.

A mis amigos que en estos 5 años he llegado a conocerlos y considerarlos una segunda familia (Fernando, Luis Antonio, Eduardo, Alex, Roció del Carmen, Marleny, Diana, Bianca, Isela, Fernanda, entre otros que anden por ahí).

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Abstract	2
3. Introducción	3
4. Antecedentes	5
5. Justificación	29
6. Hipótesis	30
7. Objetivos	30
□ Objetivo general:	30
Determinar el valor nutrimental del aceite de la semilla del sistema producto <i>Rubus fruticosus</i> .	30
□ Objetivo específico:	30
A) Determinar el perfil de ácidos grasos del aceite proveniente de <i>Rubus fruticosus</i> .	30
B) Determinar la relación de ácidos grasos saturados e insaturados del aceite de <i>R. fruticosus</i> , como un alimento funcional.	30
8. Materiales y Métodos	31
9. Resultados	36
10. Conclusión	43
11. Discusión	46
12. Terminología	47
13. Glosario	488
14. Referencias	50

Índice de tablas

Tabla No. 1. Clasificación de ácidos grasos.....	4
Tabla No 2. Las especies poco explotadas, que contienen cantidades apreciables de ácidos grasos.....	13
Tabla No. 3. Colorantes para aceites comestibles.....	16
Tabla No. 4. Especificaciones físicas y químicas.....	21
Tabla No. 5. Parámetros de calidad para aceites (oliva extra virgen).....	22
Tabla No. 6. Aditivos para alimentos.....	23
Tabla No. 7. Moléculas antioxidantes.....	24
Tabla No. 8. Valor comercial de aceites comestibles.....	28
Tabla No. 9. Porcentaje de rendimiento en la extracción del aceite de la semilla de <i>Rubus fruticosus</i>	36
Tabla No. 10. Perfil de ácidos grasos de la zarzamora <i>Rubus fruticosus tuppi</i> obtenido por la extracción asistida por microondas.....	42
Tabla No. 11. Perfil de ácidos grasos de la zarzamora <i>Rubus fruticosus tuppi</i> obtenido por la extracción asistida por microondas.....	44
Tabla No. 12. Valor nutrimental de los ácidos grasos del aceite de <i>Rubus fruticosus</i>	45

Índice de figuras

Figura No. 1. Ácido esteárico.....	7
Figura No. 2. Ácido oleico.....	8
Figura No. 3. Ácido linoleico.....	9
Figura No. 4. Ácido linolenico.....	10
Figura No. 5. Molido de la semilla.....	31
Figura No. 6. Extracción de la semilla por el método de soxhlet.....	32
Figura No. 7. Extractos oleosos proveniente de la semilla de Zarzamora variedad Tuppy (<i>Rubus fruticosus</i>).....	34
Figura No. 8. ¹ H Espectros obtenidos a partir de muestras de semillas de mora utilizando como disolvente a) Éter etílico b) Pentano y c) H ₂ O (extracción asistida por microondas).....	37
Figura No. 9. Espectros ¹³ C de la muestra obtenidos por extracción asistida por microondas. La ampliación muestra los patrones característicos de los ácidos linoleico y linolénico.....	39
Figura No. 10. Una ampliación del espectro ¹³ C donde se muestra una comparación entre: a) ácido linoleico, B) ácido linolénico, c) una mezcla de ácidos linoleicos y linolénicos obtenida de la hidrólisis de la muestra de semillas de zarzamora, d) un extracto de semillas de zarzamora Antes de la hidrólisis que contiene triacilgliceroles (TAG).....	40

1. Resumen

La población mundial se encuentra en crecimiento numérico, y esto implica que existan fuertes presiones en la producción, distribución y abastecimiento de alimentos. Bajo la óptica actual imperante, el mercado a nivel internacional marca la pauta en los diversos sistemas producto, a nivel local. México como nación y como potencia alimentaria no puede sustraerse a esta dinámica, por lo que se han generado diversos desafíos en lo local, por ejemplo, el estado de Michoacán es líder mundial en la producción de diversos alimentos que son referentes mundiales, como son la *P. americana* (aguacate, var. *Hass*) y en los últimos 15 años el mercado internacional ha posicionado a los productos conocidos, genéricamente, como frutillos Rojos. Lo cual ha marcado una tendencia en diversos municipios de la Entidad Michoacana. De esta manera productos como la zarzamora (*Rubus fruticosus*), se produce en varias latitudes del estado, que tienen una dinámica económica ceñida a estos parámetros internacionales, de esta manera solo se distribuyen y comercializan productos (frutos de *R. fruticosus*) que cumplen con los requerimientos que marca el mercado, dejando frutos (productos) que no logran posicionarse ni aún dentro de la industria del procesamiento de alimentos, generando cantidades ingentes de alimentos desperdiciados. Lo cual no abona al modelo económico de distribución de riqueza, a nivel local. Por lo que el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo generar datos que permiten identificar el potencial alimenticio del aceite obtenido de la semilla del sistema producto *R. fruticosus*, generando de esta forma lineamientos físicos, químicos y biológicos que permitan plantear el uso del aceite de *R. fruticosus* como un alimento funcional, esto debido a los tres tipos de datos fundamentales; a) el volumen de producción de frutos, b) el volumen de desperdicio de frutos y deshechos agroalimentarios no utilizados y c) la concentración de ácidos grasos de tipo poliinsaturados, que pueden incorporarse a la dieta humana. La metodología utilizada se fundamentó en procesos extractivos y procedimientos de análisis de ácidos grasos, por cromatografía de gases.

Palabras clave: *Rubus fruticosus*, ácidos grasos, aceite, nutrimental.

2. Abstract

The world population is in numerical growth, and this implies that there are strong pressures in the production, distribution and supply of food. Under the prevailing current view, the market at the international level sets the standard in the various product systems at the local level. Mexico as a nation and as a food power can not escape this dynamic, which has generated various challenges in the local, for example, the state of Michoacan is a world leader in the production of various foods that are global referents, such as *P. americana* (avocado, Hass var.) And in the last 15 years the international market has positioned the products known, generically, as Red fruit. This has marked a trend in several municipalities of the Michoacan Entity. In this way, products such as blackberry (*Rubus fruticosus*) are produced in several latitudes of the state, which have an economic dynamism in keeping with these international parameters, so that only products (fruits of *R. fruticosus*) are distributed and marketed. The requirements that mark the market, leaving fruits (products) that do not manage to position themselves or even within the food processing industry, generating huge amounts of wasted food. This does not pay to the economic model of wealth distribution at the local level. The objective of this research was to generate data to identify the nutritional potential of the oil obtained from the seed of the *R. fruticosus* product system, thus generating physical, chemical and biological guidelines that allow the use of the oil of *R. fruticosus* as a functional food, this because of the three fundamental data types; A) the volume of fruit production, b) the volume of fruit waste and unused agro-food waste, and c) the concentration of polyunsaturated fatty acids, which can be incorporated into the human diet. The methodology used was based on extractive processes and fatty acid analysis procedures, by gas chromatography.

3. Introducción.

La especie humana (*Homo sapiens*), es un organismo cuyo éxito depende de la disposición de alimentos, donde en los últimos años se ha puesto de manifiesto la importancia de los diferentes grupos de moléculas nutrimentales, donde destacan los carbohidratos simples, los carbohidratos complejos (fibra dietética), aminoácidos esenciales y moléculas de tipo lipídico que han sido muy controvertidas en los últimos 50 años. Cabe mencionar que en los últimos 3000 años, las moléculas lipídicas, como los aceites y las grasas han sido apreciadas de manera muy importante, como ha sido el caso del aceite de oliva (*Olea europea*). Por otro lado algunos núcleos humanos relativamente aislados como los inuit, ubicados en latitudes septentrionales han prevalecido a través de conseguir ácidos grasos de tipo poliinsaturados, estos por medio de la caza y la pesca de animales que logran acumular este tipo de lípidos. Estos dos ejemplos alimenticios, donde los lípidos juegan un papel importante para la supervivencia de culturas y civilizaciones humanas (separadas por el espacio y el tiempo) muestran de manera tangible la importancia de los lípidos en la dieta humana. Ortiz, A. R. (2017).

Ahora bien, en los últimos 200 años, la industrialización ha generado una mayor disposición y diversidad de alimentos, lo cual ha impactado la supervivencia de la especie humana, por un lado los seres humanos han aumentado su esperanza de vida (75 años) y adicionalmente el número e individuos de nuestra especie ha aumentado una manera que pone en riesgo la viabilidad de nuestra especie. Por ello el área de la salud debe de trabajar de manera conjunta con la industria alimenticia, lo cual permite generar productos de calidad que no comprometan la salud humana y permitan generar un bienestar. Ortiz, A. R. (2017).

Las moléculas lipídicas contenidas en las especies biológicas que nos sirven de fuente de alimentos son importantes para mantener la salud humana. Como ejemplo de ello podemos mencionar a los ácidos grasos, que pueden ser ácidos grasos saturados e insaturados (monoinsaturados y poliinsaturados) ver tabla No.1, los cuales cumplen múltiples funciones biológicas en el cuerpo humano. Ortiz, A. R. (2017).

Tabla No.1 Clasificación de ácidos grasos.

Ácido grasos saturados	No. De carbonos	Ácidos grasos insaturados	No. De carbonos
Butírico	4:0	Crotónico	4:1 Δ^2
Láurico	12:0	Lauroleico	12:1 Δ^9
Mirístico	14:0	Miristoleico	14:1 Δ^9
Palmítico	16:0	Palmitoleico	16:1 Δ^9
		Palmitoleico	16:1 $\Delta^{9\text{TRANS}}$
Esteárico	18:0	Oleico	18:1 Δ^9
		Linoleico	18:1 $\Delta^{9,12}$
		Linolénico	18:1 $\Delta^{9,12,15}$
		Eláídico	18:1 $\Delta^{9\text{TRANS}}$
		Vacénico	18:1 Δ^{11}
Araquídico	20:0	Araquidónico	20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$
Lignocérico	24:0	Nervónico	24:1 Δ^{15}

(Teijón, 2006)

4. Antecedentes

Rubus fruticosus

Descripción botánica

Para describir las diversas variedades de zarzamoras de forma general, son arbustos vigorosos con numerosos tallos arqueados que brotan de la base de la planta, aristados y con la facultad de emitir raíces, (esto la diferencia de las frambuesas) cuyos tallos erectos son incapaces de emitir raíces. Los tallos poseen numerosas espinas prominentes como ganchos, aunque también se han obtenido variables sin espinas. Son tallos bianuales que durante el primer año se desarrollan y durante el segundo florecen para luego morir. Permanecen erectos solo durante su primer desarrollo para luego arquearse hasta tocar el suelo donde pueden enraizar. BOX J. M. M. (2005).

Las hojas son similares a las de frambueso, trifoliadas y estipuladas con peciolo más o menos espinosos. Los folios son oblongos y con el margen aserrado, de un verde oscuro y brillante por el haz y blanquecino por el envés, debido a la presencia de una vellosidad. Las flores son hermafroditas y autofértiles, pentámeras con pétalos de color blanco o rosado, agrupadas en inflorescencias en racimos, panículas o solitarias. Se desarrollan en los tallos de dos años y pueden ser terminales o axilares. BOX J. M. M. (2005).

La infrutescencia de las zarzamoras son realmente una polidrupa de 1-2 cm de largo, que está formado por varias pequeñas drupas carnosas de color verde, que a medida que maduran pasan al rojo hasta llegar al negro muy intenso y brillante (excepto la variedad *Longanberry* que puede presentar frutos rojos). Cada drupilla contiene una diminuta semilla leñosa y cuando están bien maduras tienen un agradable sabor dulzón. A diferencia de la frambuesa el receptáculo de la zarzamora queda unido al fruto al cogerlo. El sistema radicular de las zarzamoras, es fasciculado y superficial, pero más agresivo que el de los frambuesos. BOX J. M. M. (2005).

Taxonomía

Familia botánica: *Rosaceae*

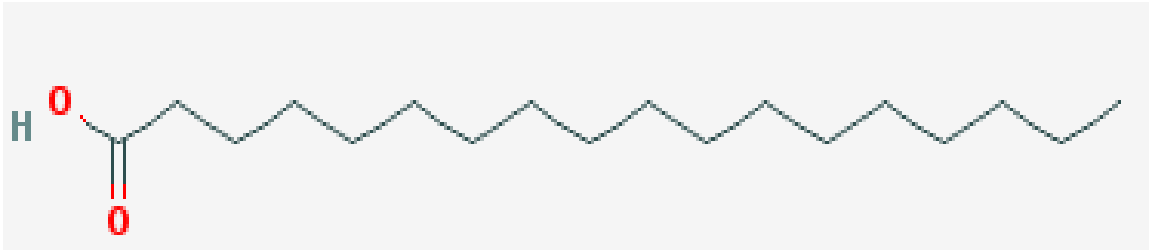
Especie: *Rubus sp*

Existen unas 250 especies semejantes del género *Rubus* repartidas por los cinco continentes con innumerables subespecies e híbridos, ya sea naturales o inducidos. Esto es debido a la facilidad que tienen estas especies para hibridarse y a la capacidad que poseen muchas especies de ellas de desarrollar semillas sin una polinización previa. Por ello las distintas especies y subespecies europeas de zarzamora se suelen agrupar bajo el nombre colectivo de *Rubus fruticosus*. L. BOX J. M. M. (2005).

Aceite comestible

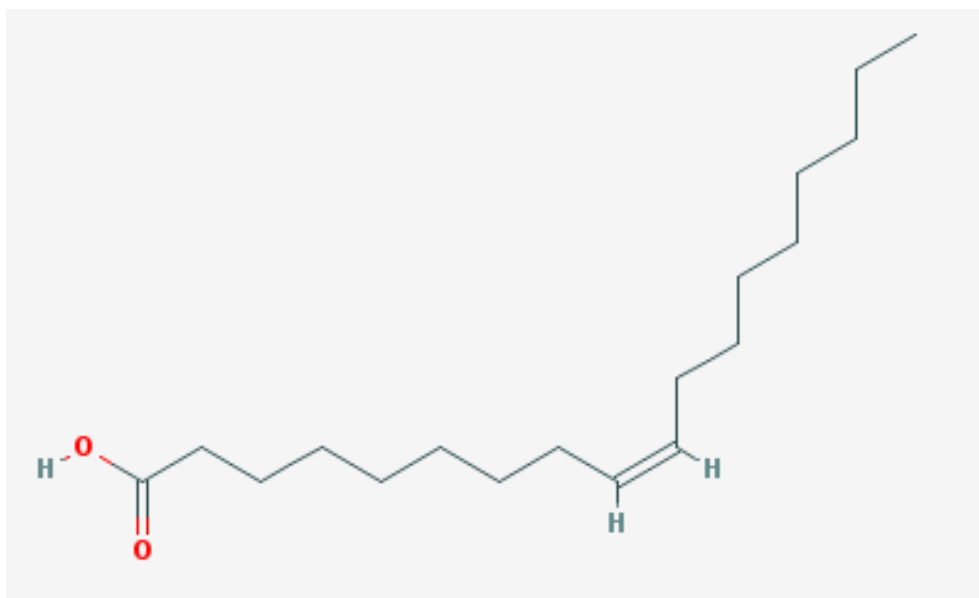
Se entiende por grasas y aceites comestibles los alimentos, que se componen de glicéridos de ácidos grasos y son de origen vegetal, animal o marino. Podrán contener pequeñas cantidades de otros lípidos, tales como fosfátidos, de constituyentes insaponificables y de ácidos grasos libres naturalmente presentes en las grasas o aceites. ("CXS_019s.doc - Codex Stan 19 Grasas y aceites.pdf", s/f).

Se contempla como lípidos a aquellas moléculas que son derivados reales o potenciales de los ácidos grasos y sustancias relacionadas. Se conocen numerosas clases de lípidos, pero solamente un cierto número limitado de ellos tiene alguna importancia a nivel biológico. Uno de los grupos más importantes de los lípidos son los triacilglicerol, o sea esteres de ácidos grasos y el glicerol. Algunos de ellos actúan como hormonas o precursores de hormonas, otros en la digestión o como proveedores de energía almacenada (cada gramo genera 9 kcal), muchos de ellos cumplen una actividad biológica, los adipocitos cumplen una función de almacenamiento de sustratos energéticos (triglicéridos) y de ser un aislante corporal para evitar la difusión exagerada de calor generado por los procesos metabólicos y el oleico ejerce una acción beneficiosa en los vasos sanguíneos reduciendo el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (V, C, & R, 2003) (Ver Figuras No. 1, 2, 3 y 4).



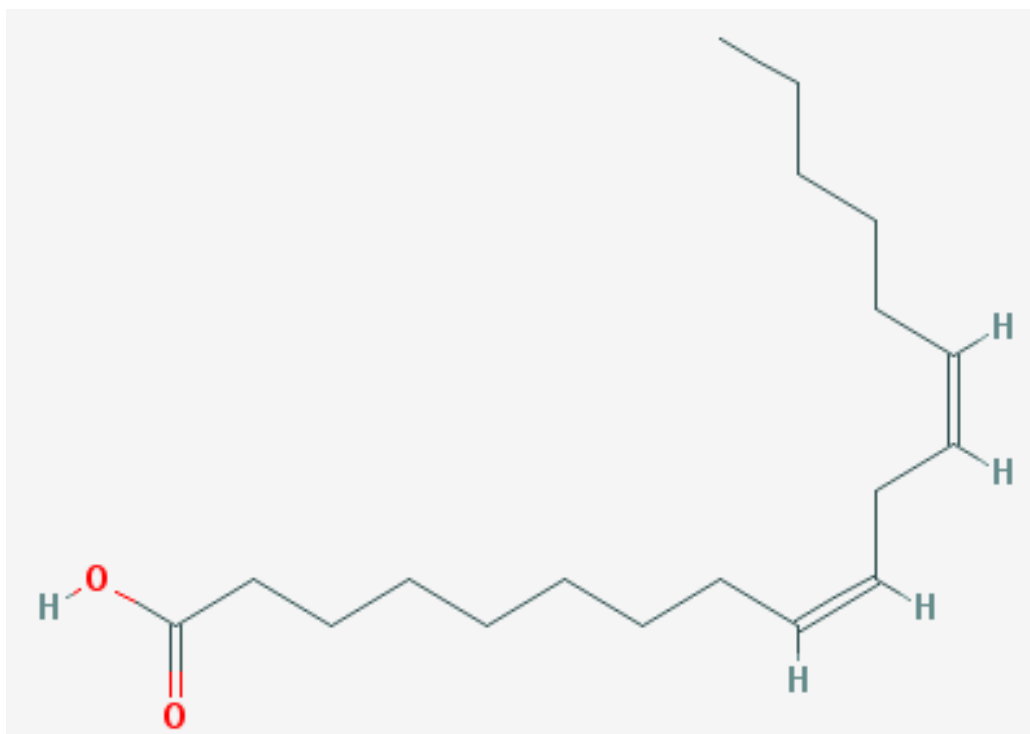
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/fl.html?cid=5281>

Figura No. 1. Ácido esteárico o ácido octadecanoico 18:0 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$) es un ácido graso saturado de 18 átomos de carbono, sólido a temperatura ambiente, de color blanco e inodora, se encuentra en grasa vegetal (menos del 5%). Ocupa la segunda posición, respecto al consumo de grasas saturadas en la dieta actual, con un 25%. Puede utilizarse en la piel, posee propiedades emolientes y protectoras y es fácilmente absorbido por la piel, convirtiéndolo en un excelente hidratante y humectante de elevada calidad en cremas y cosméticos. Mah et al., (2017)



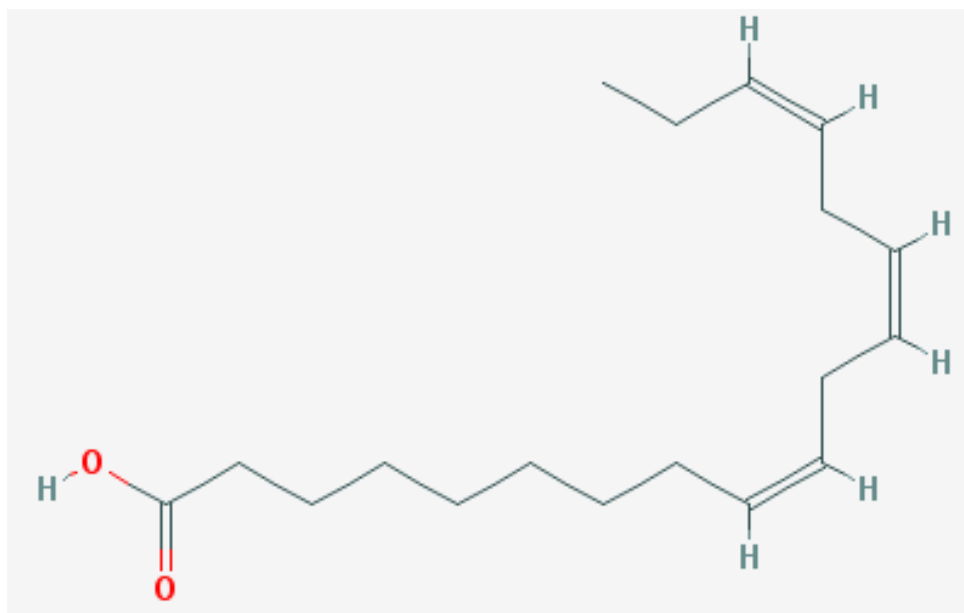
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/fl.html?cid=445639>

Figura No. 2. Ácido oleico o ácido *cis*-9-octadecenoico ($18:1\Delta^9$) es un ácido graso monoinsaturados de la serie omega 9 (ω -9) típico de los aceites vegetales como el aceite de oliva, cártamo, aguacate, etc. Ejerce una acción beneficiosa en los vasos sanguíneos reduciendo el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. Balk et al., (2016).



<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/fl.html?cid=5280934>

Figura No. 3. Ácido linoleico 18:2 $\Delta^{9, 12}$ es un ácido graso esencial de la serie omega 6 (ω -6), es decir, el organismo no puede crearlo y tiene que ser adquirido a través de la dieta humana. Es un ácido poliinsaturado, con dos dobles enlaces $\text{COOH}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$. Rodríguez, (2001)



<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/fl.html?cid=5280934>

Figura No. 4. Ácido linolénico 18:1 $\Delta^{9, 12, 15}$ es un ácido graso poliinsaturado, omega 3 (el isómero α) u omega 6 (el isómero γ), formado por una cadena de 18 carbonos con 3 dobles enlaces en las posiciones 9, 12 y 15. Dado el elevado número de insaturaciones que presenta, se trata de un ácido graso insaturado fácilmente oxidable. Su fórmula estructural es $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-}(\text{CH}_2)_7\text{-COOH}$. Koolman & Röhm, (2005).

Ácidos grasos saturados

Un ácido graso saturado es una cadena lineal de átomos de carbono unidos por enlaces sencillos (sin dobles enlaces). Los enlaces de la cadena entre los carbonos restantes están ocupados por hidrogeno. Marangoni et al., (2017).

Los ácidos grasos saturados se clasifican de acuerdo con la longitud de la cadena: corta (menor de 6 carbonos), media (entre 6 y 10 carbonos) y larga (igual a 12 carbonos o mayor). Las grasas de los alimentos con mayor proporción de ácidos grasos saturados de cadena larga permanecen solidas a temperatura ambiente. Una propiedad importante de los ácidos grasos saturados es que son más resistentes a la oxidación, al calor y a la luz. Los ácidos grasos saturados no solo son fuentes de energía, sino que también hacen parte de la estructura de la membrana plasmática y el organismo los puede sintetizar o recibir de la dieta. Marangoni et al., (2017).

Ácidos grasos insaturados.

Estos ácidos se clasifican según el número de dobles enlaces y de hidrógenos en la cadena de carbonos, es decir, a menor número de hidrógenos menor saturación; contrario a los ácidos grasos saturados, que tienen los carbonos completamente saturados con hidrógenos. Por la presencia de los dobles enlaces, los ácidos grasos insaturados son más reactivos químicamente que los ácidos grasos saturados. El grado de insaturación (número de dobles enlaces) determina el punto de fusión, temperatura a la cual la grasa solida se hace liquida. Ullah, Nadeem, & Imran, (2017).

A diferencia de los ácidos grasos saturados que tienen una estructura lineal, los insaturados tienen una unión flexible en los dobles enlaces. Esta característica de su configuración, más la presencia de dobles enlaces, contribuye a que sean más líquidos a temperatura ambiente.

Los ácidos grasos insaturados comprenden:

Ácidos grasos cis-monoin saturados: contienen un solo doble enlace, su denominación cis significa que tiene los dos hidrógenos al mismo lado de los

carbonos del doble enlace. Los monoinsaturados también tienen una unión flexible en su único doble enlace (Ver figura No. 2) del total de ácidos grasos *cis-monoinsaturados* que se encuentran en los alimentos, cerca del 92 % es ácido oleico. Este se halla en los aceites de oliva y canola, que contienen el mayor porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados. Velásquez, G. (2006).

Ácidos grasos *cis*-poliinsaturados: denominados PUFA (polyunsaturated fatty acids) tienen más de un doble enlace. En este grupo pertenecen los ácidos grasos linoleico (dos dobles enlaces) y el alfa-linolénico (tres dobles enlaces). Estos ácidos hacen parte de dos familias importantes los ácidos grasos *omega-3* y *omega-6*, también se pueden utilizar las letras griega o latina ω o n respectivamente. El nombre de cada familia se denomina según la posición del primer doble enlace de la cadena de los ácidos grasos, contado a partir del grupo metilo. Si este está localizado entre el carbono tres y cuatro pertenecen a la familia *omega-3*, si se encuentran entre el carbono sexto y séptimo pertenece a la familia *omega-6* y si se encuentra entre el carbono nueve y diez pertenece a la familia *omega-9*. Velásquez, G. (2006).

En los alimentos el ácido graso alfa-linolénico es el principal ácido graso de la familia *omega-3*, el ácido linoleico del grupo de los *omega-6* y el oleico de los *omega-9*. El alfa-linolénico y el linoleico son ácidos grasos esenciales que el organismo no sintetiza y por tanto los debe recibir de la dieta, pues las células del organismo solo producen dobles enlaces en los ácidos grasos, después del carbono 9 y no entre el grupo metilo y el carbono-9. El organismo sintetiza los ácidos grasos de la familia *omega-9* dado que el doble enlace está después del carbono 9. Velásquez, G. (2006).

Origen de los aceites comestibles.

Las principales fuentes son los tejidos animales y semillas oleaginosas, ya que las frutas y hortalizas presentan muy bajas concentraciones, solo con excepción del aguacate y algunos tipos o variedades de nueces. Vega Turizo, A. (2004).

Los aceites forman parte importante de la dieta de los seres humanos y más del 90% de la producción de los mismos a nivel mundial, que proceden de fuentes vegetales, animales y marinas, se emplean como alimentos o ingredientes de productos alimenticios. Vega Turizo, A. (2004).

La creciente demanda de aceites de origen vegetal (los que se obtienen de frutos o semillas oleaginosos), no obstante la existencia de materias primas tradicionales, centran la atención en las denominadas especies promisoras, hasta hoy muy poco explotadas. Los criterios y perspectivas de la seguridad alimentaria, a nivel mundial, nacional, regional y local, vierten sus miradas y derivan grandes esperanzas de los esfuerzos técnicos y científicos que los países en vía de desarrollo realicen para generar una economía sustentable ver (Tabla No. 2). Vega Turizo, A. (2004).

Tabla No. 2. Las especies poco explotadas, que contienen cantidades apreciables de ácidos grasos.

Nombre común	Nombre científico
Inchi o cacay	<i>Caryodendro orinocense</i>
Palma de seje	<i>Oenocarpus bataua</i>
Coyol	<i>Acrocomia aculeata</i>
Marañón (nuez de la India)	<i>Anacardium excelsum</i>
Camajon	<i>Sterculia apetala</i>
Castaño	<i>Pachira aquatica</i>
Zarzamora	<i>Rubus spp.</i>

Vega Turizo, A. (2004).

Análisis de la calidad del aceite comestible

Los avances modernos en la tecnología de los aceites y grasas y la ciencia de la nutrición han hecho necesaria una mayor conciencia acerca de la composición y estructura de los lípidos en la dieta y se han introducido diversos métodos de prueba y procedimientos analíticos.

En el análisis rutinario, hasta hace poco, la determinación del valor de yodo, el de saponificación, la materia no saponificable, el valor ácido y el de peróxidos, junto con las pruebas cualitativas para detectar adulterantes, se consideraban suficientes para confirmar la identidad de la mayoría de los aceites y determinar si son comestibles.

Los métodos modernos de procesamiento industrial y la preocupación por los aspectos de salud y seguridad de los nuevos aceites y productos grasos que se utilizan en la dieta han concluido en el desarrollo de técnicas y procedimientos analíticos para obtener información detallada acerca de la naturaleza, carácter, tratamiento y composición. Los nuevos procedimientos también son de utilidad para identificar el origen biológico del aceite o grasas y la presencia de grasas extrañas o contaminantes.

Pruebas de Laboratorio sobre la calidad de los aceites comestibles.

Análisis físico

El análisis físico es primordial para determinar el origen de un aceite o grasa y su pureza. De igual manera, la determinación de acidez, peróxidos y la prueba de rancidez son esenciales para dictaminar el grado de conservación de un alimento en su fracción grasa o de un aceite o bien de una grasa aislada.

a) Densidad

Siendo los aceites compuestos orgánicos relativamente puros, la determinación de sus constantes físicas como la densidad nos ayuda a caracterizarlos. Así, la densidad es un indicativo de calidad, ya que el aceite en el comercio mayorista se comercializa por unidades de masa. (NMX-F-075-SCFI-2012) (s/f).

b) Índice de refracción

El índice de refracción de un aceite se define como la razón de la velocidad de la luz en el vacío con respecto a la velocidad de la luz en el aceite evaluado. Por razones prácticas, normalmente los instrumentos comparan con la velocidad de la luz en el aire en lugar del vacío. El índice de refracción es característico dentro de ciertos límites para cada aceite por lo que es un indicador de pureza del aceite. Este valor está relacionado con el grado de saturación, con la razón *cis* / *trans* de los dobles enlaces y puede estar influenciado por el daño que sufre el aceite tras la oxidación. (“NMX-F-075-SCFI-2012.pdf”, s/f).

c) Punto de fusión (por deformación de gota)

El punto de fusión por deslizamiento de gota se define como la temperatura a la cual la muestra llega a ser lo suficientemente fluida como para que esta se deslice por el bulbo del termómetro usado en la determinación. Este método cubre la determinación del punto de fusión por deslizamiento en mantecas vegetales parcialmente hidrogenadas, así como para grasas naturales, tanto animales como vegetales. (NMX-F-114-SCFI-2011)

d) Propiedades organolépticas

1) Olor

El aceite que ha sido bien refinado no tiene más que un olor suave característico. Pero si ha sido sobrecalentado en presencia de aire puede ser rancio, determinándose subjetivamente. (“NMX-F-473-SCFI-2012.pdf”, s/f).

2) Color

El color es uno de los atributos que caracterizan a los aceites y grasas ya sea en su estado natural o cuando han sido sometidos a procesos de refinación. Este proyecto de norma aplica el método Lovibond para la determinación de color en aceites y grasas, se establecen las condiciones y métodos de prueba y se fijan los alcances y limitaciones. Este método es aplicable para la determinación de color en grasas y aceites en su estado líquido y asegurando que la muestra no presente

turbidez al momento de la medición de color. DOF - Diario Oficial de la Federación”, (2012) .

Podrán utilizarse los colores en los aceites que se indica a continuación para establecer el color natural perdido durante la elaboración o para normalizar el color, siempre y cuando el color añadido no induzca a error o engaño al consumidor ocultando un estado de deterioro o una calidad inferior o haciendo que el producto parezca tener un valor superior al valor real. Ver la siguiente tabla No.3.

Tabla No. 3. Colorantes

INS N.º	Aditivo	Dosis máxima
100(I)	Curcumina o cúrcuma	5 mg/kg
160a(II)	Beta carotenos (vegetales)	25 mg/kg
160a(I)	Beta carotenos (sintético)	25 mg/kg (solos o mezclados)
160ª(III)	Beta carotenos (Blakeslea trispora)	
160e	Beta-Apo-8´Carotenal	
160f	Acido beta apo 8´caroténico, esteres de metilo etilo	
160(I)	Extractos de annato, base de bixina	10 mg/kg (as bixin)

(“NORMA PARA GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES NO REGULADOS POR NORMAS INDIVIDUALES CODEX STAN 19-2015”, s/f)

Análisis químico

- a) Humedad y material volátil (Método de la parrilla, método oficial AOCS Ca 2b-38)

Este método determina la humedad y cualquier otro material volátil bajo las condiciones de la prueba. Aplicable a todas las grasas y aceites ordinarios, incluyendo emulsiones, tales como mantequilla y oleomargarina, y aceite de coco de alto ácido. No es aplicable para ciertas muestras tales como los aceites extraídos con solventes los cuales pueden contener residuos de los solventes de alto punto de ebullición. (NMX-F-211-SCFI-2012)

- a) Índice de yodo

Se define como los gramos de yodo necesarios para halogenar 100 gramos de aceite. El valor o índice de yodo de un aceite es la medida de su instauración puesto que mide el contenido de dobles enlaces capaces de reaccionar con el halógeno. Expresa concentraciones de ácidos grasos insaturados junto con el grado de instauración, en un solo número por lo que es un parámetro de calidad muy sencillo y útil. (NMX-F-152-SCFI-2011)

- b) Índice de saponificación

Es el número de mg de (hidróxido de potasio) KOH requeridos para saponificar 1 g de aceite. La cantidad de KOH requerida para una muestra, va a estar dada en proporción directa con el número de enlaces éster por unidad de masa. Saponificación, es la reacción entre un éster de glicerol e hidróxido de potasio para formar glicerol y la sal del ácido, llamado comúnmente jabón. (NMX-F-174-S-1981).

- c) Acidez

La acidez (contenido de ácidos grasos libres) del aceite es una medida del grado en el que la hidrolisis ha liberado a los ácidos grasos de su enlace éster con la molécula de glicérido original. En parte es por esto que la acidez se conoce comúnmente como el porcentaje de contenido de ácidos grasos libre.

Desafortunadamente el cálculo implica asumir el peso molecular del ácido graso libre. Cuando hay mezclas de aceites involucrados se prefiere usar el valor ácido que se define como el número de mg de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar ácidos libres en un gramo de muestra (“NMX-F-211-SCFI-2012”, s/f).

d) Índice de peróxidos

Los aceites ya sea puros o bien como componentes de un alimento, tienen altas tendencias a sufrir oxidaciones en sus moléculas de ácidos grasos insaturados, tales oxidaciones son promovidas tanto por enzimas (lipooxidasas), como por simple contacto del oxígeno y en este caso de la oxidación de la luz, el calor y metales como el cobre; y no dependen de la actividad acuosa del alimento. Si bien el fenómeno de la autooxidación es minimizada con el uso de antioxidantes combinados con agentes quelantes (EDTA) y eliminando el contacto con el oxígeno, los productos iniciales de reacción, los peróxidos, aparecen rápidamente y son valorables antes de que se conviertan a productos más estables como derivados aldehídicos y cetonas que le imparten a los alimentos grasos el típico sabor a rancio. La determinación de peróxidos es de gran valor para conocer la propensión de un alimento con una determinada cantidad de grasa a enranciarse en el almacén (“NMX-F-154-SCFI-2010.pdf”, s/f).

e) Prueba de rancidez

Las grasas pueden deteriorarse debido a que se hace rancia. La rancidez en las grasas se debe a hidrólisis o a oxidación. En la rancidez hidrolítica, el triglicérido reacciona con agua y por cada molécula de agua, se libera una molécula de ácido graso. Cuando una molécula de grasa reacciona con tres moléculas de agua, se forma glicerina y tres ácidos grasos. Las de grasa que contienen radicales de ácidos grasos insaturados, están sujetos a la rancidez oxidativa. El olor desagradable de dichas grasas rancias, se atribuye a la formación y rompimiento subsiguiente de los hidroperóxidos. De acuerdo con la teoría aceptada hoy en día un hidrogeno en un carbón adyacente a uno que porta un doble enlace se desplaza por un cuanto de energía para dar un radical libre. Tanto el calor como la luz son fuentes comunes de energía las cuales permiten liberar los radicales. Un radical es particularmente

problemático, debido a que es el principio de una reacción auto perpetuante, mientras se cataliza la oxidación de muchos radicales de ácidos grasos insaturados. Un hidroperóxido es muy inestable, descomponiéndose en compuestos con cadenas de carbono más cortas. Estos incluyen ácidos grasos, aldehídos y cetonas, los cuales son volátiles y contribuyen al olor desagradable de las grasas rancia. Ramírez (2007).

f) Índice de estabilidad Oxidativa (OSI)

Todos los aceites y grasas tienen una resistencia a la oxidación la cual depende del grado de saturación, antioxidantes naturales o añadidos, pro-oxidantes o abuso anterior. La oxidación es lenta hasta que se vence la resistencia, momento en el cual se acelera la oxidación y se lleva a cabo rápidamente. La duración del periodo antes de que se dé esta oxidación acelerada es la medida de la resistencia a la oxidación y se conoce comúnmente como “periodo de inducción”. (“NMX-F-012-SCFI-2010.pdf”, s/f).

Esta norma mexicana establece el procedimiento para determinar el índice de estabilidad OSI y es aplicable en general a todas las grasas y aceites. Pero puede usarse para analizar aceites crudos u otro tipo de aceites que tienen la tendencia a formar espuma, si a estos se le añade una gota de antiespumante de silicón antes de su análisis. Este análisis es un reemplazo del Método de oxígeno Activo (AOM) para estabilidad de grasas (“NMX-F-012-SCFI-2010.pdf”, s/f).

g) Determinación de la composición de ácidos grasos por cromatografía

Tiene como objetivo el determinar la composición de ácidos grasos de un aceite o grasa para su identificación con fines de investigación y comerciales o industriales. El método es aplicable a los ésteres metílicos de ácidos grasos que tengan de 8 a 24 átomos de carbono y que provengan de aceites vegetales y grasas animales en cualquier etapa de su refinación. El método permite la separación cuantitativa de mezclas que contienen ésteres metílicos saturados o insaturados. Este método no es aplicable a ácidos grasos oxidados, polimerizados o epoxidados. (“NMX-F-017-SCFI-2011.pdf”, s/f).

Este método se basa en los principios de la cromatografía de gases, y consiste en la introducción al puerto de inyección de un cromatógrafo de gases, de los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentes en los aceites y grasas. Estos se vaporizan y transportan por un gas inerte a través de una columna empacada o capilar, con un líquido de reparto que presenta solubilidad selectiva con los componentes de la muestra ocasionando su separación. Los componentes que fluyen de la columna pasan uno a uno por el detector, el cual genera una señal eléctrica proporcional, la que es transformada por el integrador en una gráfica de la señal obtenida contra tiempo llamada cromatograma. (“NMX-F-017-SCFI-2011.pdf”, s/f).

h) Análisis de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La espectrofotometría de RMN fue desarrollada a finales de los años cuarenta para estudiar los núcleos atómicos. En 1951, los químicos descubrieron que la espectroscopia de resonancia magnética nuclear podía ser utilizada para determinar las estructuras de los compuestos orgánicos. Esta técnica puede utilizarse solo para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos). Esta situación se da en los átomos de ^1H ^{13}C ^{19}F y ^{31}P . Este tipo de núcleos son magnéticos activos, es decir poseen un movimiento de rotación sobre un eje que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes. En ausencia de campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar. Sin embargo cuando una muestra se coloca en un campo magnético, los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín α , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en la dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía denominado estado de espín β . Cuando una muestra que contiene un compuesto orgánico es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín α son promovidos al estado de espín β . Esta radiación se encuentra en la región de las radiofrecuencias (rf) del espectro electromagnético por eso se le denomina radiación rf. Cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de

energía (ΔE) entre los estados de espín α y β . El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a intensidad, que es el llamado espectro de RMN. El término resonancia magnética nuclear procede del hecho de que los núcleos están en resonancia con la radiofrecuencia o la radiación rf. Es decir, los núcleos pasan de un estado de espín a otro como respuesta a la radiación rf a la que son sometidos. (“ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR”, s/f)

Parámetros de calidad nutrimental de los aceites comestibles

Tabla No. 4. Especificaciones físicas y químicas.

El aceite vegetal comestible debe de cumplir con las especificaciones físicas y químicas de la siguiente tabla.

Parámetros	Mínimo	Máximos	Método de prueba
Ácidos grasos libres como ácido oleico	-	0.05	NMX-F-101-SCFI-2006
Humedad y material volátil %	-	0.05	NMX-F-211-SCFI-2006
Color (escala Lovibond)	-	30A-3.5R	NMX-F-116-SCFI-2006
Índice de peróxido meq/Kg	-	2.0	NMX-F-154-SCFI-2005
Prueba fría a 273°K (0°C) horas	5.5	-	NMX-F-225-SCFI-2006
*Estabilidad (horas OSI a 110 °C)	5	-	NMX-F-017-SCFI-2005
Impurezas insolubles %	-	0.02	NMX-F-215-SCFI-2006
Ácidos grasos <i>trans</i> %	-	3.5	NMX-F-089-SCFI-2008

*Al momento del envasado.

Nota: la determinación de densidad relativa, índice de refracción, índice de yodo, índice de saponificación composición de ácidos grasos, no se fijan sus límites en virtud de tratarse en este caso de una mezcla variable de diferentes aceites. (“NORMA PARA GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES NO REGULADOS POR NORMAS INDIVIDUALES CODEX STAN 19-2015”, s/f)

Tabla No. 5. Parámetros de calidad del aceite (oliva extra virgen)

	Máximos permitidos CE	Moli de la Vall Major
Grado de acidez (%)	< 0,8	<0,3
Índice de peróxidos mEq O ₂ /Kg	< 20	< 15
Espectrometría UV K270	< 0,20	< 0,20
Espectrometría UV Deltak	< 0,01	< 0,01
Espectrometría UV K232	< 2,50	< 2,50
CERAS MG/kg	< 250	< 250

(“Parámetros fisicoquímicos de calidad determinan la calidad del aceite de oliva virgen – Molí de la Vall Major”, s/f).

Clasificación

Existen dos grandes tipos de aceites:

Vírgenes: son obtenidos mediante el método denominado prensado en frío (menos de 27°C). Su ventaja radica que mantiene sus propiedades y sabor original. Refinados: requieren de un proceso de extracción a temperaturas muy elevadas mediante la utilización de solventes químicos. Como resultado se obtiene aceites desprovistos de las cualidades propias de sus fuentes. Su clasificación por su origen: a) Vegetales se obtiene a partir de frutos y semillas oleaginosos. Aportan vitaminas A, D, E y K y aceites esenciales para el organismo humano. b) Animales: proceso de los tejidos adipocitos del reino de que les da nombre. Lo más comunes son los obtenidos de animales marítimos (“Tipos de aceites”, s/f).

Contaminantes químicos

El producto objeto de esta norma no debe contener ningún contaminante químico en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud. Los límites máximos para estos contaminantes quedan sujetos a lo que establezca la Secretaría de Salud (NMX-F-009-SCFI-2005.DOC - ALIMENTOS .USO INDUSTRIAL.MANTECAS VEGETALES Y GRASAS O MANTECAS MIXTAS O COMPUESTAS.pdf”, s/f).

Aditivos para alimentos

En los aceites vírgenes o prensados en frío no se permite el uso de aditivos.

NORMA PARA GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES NO REGULADOS POR NORMAS INDIVIDUALES. CODEX STAN 19-1981 Anteriormente CAC/RS 19-1969 Adoptado en 1981. Revisión: 1987 y 1999. Enmienda: 2009, 2013 y 2015.

Tabla No. 6. Aditivos para alimentos

Los permitidos por la secretaria de salud, en las cantidades que se señalan:

- Antioxidantes

Antioxidantes	% Máximo
Tocoferoles	0.03
Galato de propilo	0.01
Galato de octilo	0.01
Ácido tiodipropionico y sus esteres	0.01
Butilato de hidroxianisol	0.02
Butilato de hidroxitolueno	0.02
Resina de guayaco	0.01

("Microsoft Word - NMX-F-009-SCFI-2005.DOC - ALIMENTOS .USO INDUSTRIAL.MANTECAS VEGETALES Y GRASAS O MANTECAS MIXTAS O COMPUESTAS.pdf", s/f)

Tabla No. 7. Moléculas Antioxidantes.

Substancia	% máximo
Tocoferoles	0,03
Galato de propilo (GP)	0,01
Butirato de hidroxianisol (BHA)	0,01
Butirato de hidroxitolueno (BHT)	0,02
Terbutil hidroquinona	0,02
Combinación de los anteriores, sin exceder límites individuales permitidos	0,02
Palmitato de ascorbilo	0,02
Antioxidantes sinérgicos	
Ácido cítrico	0,005
Ácido fosfórico	0,005

("Microsoft Word - NMX-F-009-SCFI-2005.DOC - ALIMENTOS .USO INDUSTRIAL.MANTECAS VEGETALES Y GRASAS O MANTECAS MIXTAS O COMPUESTAS.pdf", s/f)

NMX-F-223-2005: ALIMENTOS-ACEITE VEGETAL COMESTIBLE-ESPECIFICACIONES (CANCELA A LA NMX-F-223-1985). Esta norma mexicana establece las especificaciones mínimas de calidad que debe cumplir el producto denominado Aceite vegetal comestible utilizado para consumo humano o para la elaboración de otros alimentos que se comercializan en los Estados Unidos Mexicanos. (NMX-F-223-2005).

Concordancia con normas internacionales, esta Norma Mexicana es parcialmente equivalente a la Norma Internacional CODEX STAN 210, excepto en los siguientes puntos:

La norma internacional no hace referencia a la determinación del color ni a las determinaciones de prueba fría y estabilidad que se incluyen en esta norma mexicana. La norma internacional establece como aditivos alimentarios a los aromas naturales, así como incluye como antioxidantes al estearato de ascórbilo y tiodipropionato de dilaurilo, los cuales no están permitidos en esta Norma Mexicana.

Los valores establecidos en la Norma Mexicana NMX-F-223-2005, referente a las especificaciones de Materia volátil, Impurezas insolubles, Índice de peróxido e Índice de ácido (ácidos grasos libres) son más estrictos, de acuerdo a lo necesidades del país

Emulsionantes

Una emulsión consiste en la dispersión de una fase, dividida en gotitas extremadamente pequeñas, en otra con la que no es mezclable. Las emulsiones son en principio inestable, y con el tiempo las gotitas de la fase dispersa tienden a reagruparse, separándose de la otra fase. Para que este fenómeno de separación no tenga lugar, y la emulsión se mantenga estable durante un periodo muy largo de tiempo se utiliza un aserie de sustancias conocidas como emulsionantes, que se sitúan entre la capa límite entre las gotitas y la fase homogénea. Las propiedades de cada agente emulsionante son diferentes, y en general las mezclas se comportan mejor que los componentes individuales. (Felipe Durán Ramírez, 2007).

Lecitina

Aunque su número de código corresponde a un antioxidante, su principal función en los alimentos es como emulsionante. La lecitina se obtiene como un subproducto del refinado del aceite de soya y de otros aceites; se encuentra también en la yema de huevo, y es un componente importante de las células de todos los organismos vivos, incluido el hombre. La lecitina comercial está formada por una mezcla de diferentes sustancias, la mayor parte de las cuales (fosfolípidos) tienen una acción emulsionante, muy importante en tecnología de alimentos. (Felipe Durán Ramírez, 2007).

Fosfáticos de amonio, emulsionante YN, lecitina YN

Este emulsionante se obtiene sintéticamente mediante tratamiento con glicerol y posteriormente fosforilación y neutralización con amoniaco del aceite de colza hidrogenado. El resultado es una mezcla de varias sustancias, principalmente fosfáticos de amonio (alrededor del 40%) y grasa que no ha reaccionado. Sus propiedades son semejantes a las de las lecitinas naturales. (Felipe Durán Ramírez, 2007).

Ésteres poliglicéridos de ácidos grasos alimentarios no polimerizados

Se utilizan en confitería, repostería, bollería y fabricación de galletas para mejorar la retención de aire en la masa, en margarina y otras grasas comestibles, especialmente en las grasas utilizadas para elaborar adornos de pastelería y para evitar el enturbiamiento de algunos aceites utilizados para ensaladas. (Felipe Durán Ramírez, 2007).

Importancia económica de los aceites

Se conocen alrededor de 3000 tipos de aceites esenciales, aunque solo 300 tienen importancia comercial. Además, se pueden afirmar que a escala mundial, los 18 aceites esenciales más importantes representan casi el 50% del total del valor. Casi el 90% del consumo mundial de aceites esenciales y absolutos, se producen en solo 13 países, liderados por EEUU y china, que acaparan juntos el 44% del consumo mundial. (FAO 20011).

Precios por litro de diferentes tipos de aceites comestibles en la tercera semana de enero del 2017 (16 al 20 de Enero del 2017) los cuales son del estado de Michoacán ver la tabla N0. 8.

Tabla No. 8. Precios de diferente aceites comestibles

Aceite	Presentación	Precio mínimo	Precio máximo	Precio frecuente
1 2 3 Vegetal Mixto	Caja con 12 botellas de 1 litro	20.83	21.25	21.25
Ave Vegetal Mixto	Caja con 12 botellas de 1 litro	16.67	16.95	16.95
Capullo Maíz	Caja con 12 botellas de 1 litro	23.75	24.17	24.00
Capullo Vegetal Mixto	Caja con 12 botellas de 1 litro	21.83	23.75	22.92
Cristal Maíz	Caja con 12 botellas de 1 litro	22.08	22.83	22.83
Cristal Vegetal Mixto	Caja con 12 botellas de 1 litro	19.17	20.00	20.00
Hogar Vegetal Mixto	Caja con 12 botellas de 1 litro	17.33	17.83	17.50
Imperial Soya	Caja con 12 botellas de 1 litro	17.33	21.50	21.25
Kartamin Cártamo	Caja con 12 botellas de 1 litro	18.17	18.75	18.33
La Gloria Maíz	Caja con 12 botellas de 1 litro	26.67	27.50	27.50
Mazola Maíz	Caja con 12 botellas de 1 litro	30.83	31.50	31.50
Pirámide Soya	Caja con 12 botellas de 1 litro	24.33	24.83	24.83
Sarita Vegetal Mixto	Caja con 12 botellas de 1 litro	18.17	18.75	18.33
Sin especificar Soya	Caja con 12 botellas de 1 litro	23.75	24.53	24.53
Sin especificar Vegetal Mixto	Caja con 12 botellas de 1 litro	20.42	20.90	20.90

((SNIIM), 2017)

5. Justificación

La demanda a nivel mundial de alimentos, crea una fuerte presión sobre diferentes sectores, entre ellos el agroalimentario y la industria alimentaria, las cuales discurren por caminos diferentes en la producción de alimentos, por un lado la agroindustria persigue producir alimentos en fresco con los estándares de calidad, como son los tamaños, colores y formas de los productos, lo cual genera una cantidad significativa de productos frescos que son descartados y una sectorización por valor del tipo de producto de exportación o mercado nacional, de la cadena de consumo; por otro lado la industria alimentaria necesita diversificar la obtención de materias primas que se convertirán en alimentos procesados, en donde la necesidad se encuentra en franco crecimiento. De esta forma el actual sistema producto de los denominados frutillos rojos en particular la zarzamora (*R. fruticosus*) se producen en varias latitudes del estado, tienen una dinámica económica ceñida a estos parámetros internacionales, de esta manera solo se distribuyen y comercializan productos que cumplen con los requerimientos que marca el mercado, dejando frutos (productos) que no logran posicionarse ni aun dentro de la industria del procesamiento de alimentos tradicional, generando cantidades de alimentos desperdiciados. Así uno de estos residuos que se generan son los residuos sólidos (semillas), de las cuales se obtienen ácidos grasos, con un rendimiento en peso, sólido de aproximadamente el 15%, resta establecer si este tipo de aceite podrá cumplir con los requerimientos alimenticios correspondientes, generando una oferta diversa de aceites para la industria alimenticia, mundial, posicionando a los frutillos rojos no solamente como un producto fresco final sino, también como una materia prima para productos agroalimentarios con valor agregado.

6. Hipótesis

El aceite proveniente de la semilla de zarzamora (*Rubus fruticosus*) tiene viabilidad nutrimental y es apto para su consumo como aceite comestible.

7. Objetivos

- **Objetivo general:**

Determinar el valor nutrimental del aceite de la semilla del sistema producto *Rubus fruticosus*.

- **Objetivo específico:**

A) Determinar el perfil de ácidos grasos del aceite proveniente de *Rubus fruticosus*.

B) Determinar la relación de ácidos grasos saturados e insaturados del aceite de *R. fruticosus*, como un alimento funcional.

8. Material y Métodos.

Se obtuvieron 10 kilogramos de zarzamoras de la variedad *Tuppi* provenientes de la tenencia de Patúan del Municipio de Ziracuaretiro, Michoacán, de campos de cultivo de la Sociedad Productora Zarzamich, S.P.R.L.,. Se transportaron los frutos en cajas con aislamiento térmico, a la ciudad Morelia, y se almacenaron a una temperatura promedio de 8°C, toda la noche. Al día siguiente se procesaron los frutos en centrifuga de canasta, por un espacio de 10 minutos a 2000 g, a temperatura ambiente. Se recuperó el sobrenadante y se guardó a -80°C.

Sólidos (semilla de zarzamora *R. fruticosus*).

El residuo sólido se recuperó y se sometió por un espacio de 18 horas a un tratamiento térmico, por luz directa, de una lámpara incandescente de 500 watts de potencia, sobre una superficie de convección, acero grado alimenticio de 3mm de espesor. Al término se obtuvo un residuo sólido el cual fue tamizado, liberando las semillas del fruto de zarzamora y se llevaron a secado en un horno de laboratorio, a una temperatura de 47°C hasta peso constante, lo cual se logró después de 36 hrs. de secado. Las semillas de zarzamora se sometieron a un molido en mortero, para la extracción por solventes en equipo Soxhlet ver figura No. 5.

Figura No. 5. Molido de la semilla de zarzamora (*Rubus fruticosus tupi*).



Pérez Herrera J. T. (2017).

Extracción Soxhlet:

Las semillas molidas, en peso seco, se sometieron a extracción por solventes no polares, en equipo Soxhlet, realizando tres extracciones con éter etílico (Meyer), y tres extracciones con pentano, utilizando 3 gramos de semilla molida en cada extracción ver figura No.6.

Figura No. 6. Extracción del aceite por el método de soxhlet.



Pérez Herrera J. T. (2017).

Extracción por microondas

Las semillas molidas, en peso seco, se sometieron a un tratamiento térmico por inducción, en horno de microondas bajo el siguiente protocolo: en cada extracción se utilizaron 3 gramos de material molido al cual se le agrego 20 mL de agua bidestilada, y se dejó en reposo por una noche a una temperatura de 8°C, a la mañana siguiente, el vaso de precipitados conteniendo el material molido con el agua se dejó en reposo por un hora a una temperatura ambiente y se llevó a cabo el tratamiento térmico, en horno de microondas, con una potencia de 0.25-0.33 Kwatts/hrs por un espacio de 20 minutos, obteniendo una temperatura de la mezcla de 88-90°C $\pm$ 1°C.

Centrifugación.

El residuo se colecto y se transfirió a tubos de polipropileno de 1.5 mL de capacidad (Eppendorf) y sometieron a centrifugación por espacio de 15 minutos a 7500g a una temperatura de 4°C. Se recuperó el sobrenadante y se transfirió a tubos limpios de polipropileno de 1.5 mL de capacidad. El sobrenadante se sometió a refrigeración durante 18 horas a una temperatura de 4 a 8°C, los tubos se sometieron a centrifugación a temperatura ambiente por un espacio de 10 minutos y 3000g. El contenido oleoso se colecto por aspiración con punta con filtro y se guardó en viales de rosca de 2 mL, Figura No. 7.

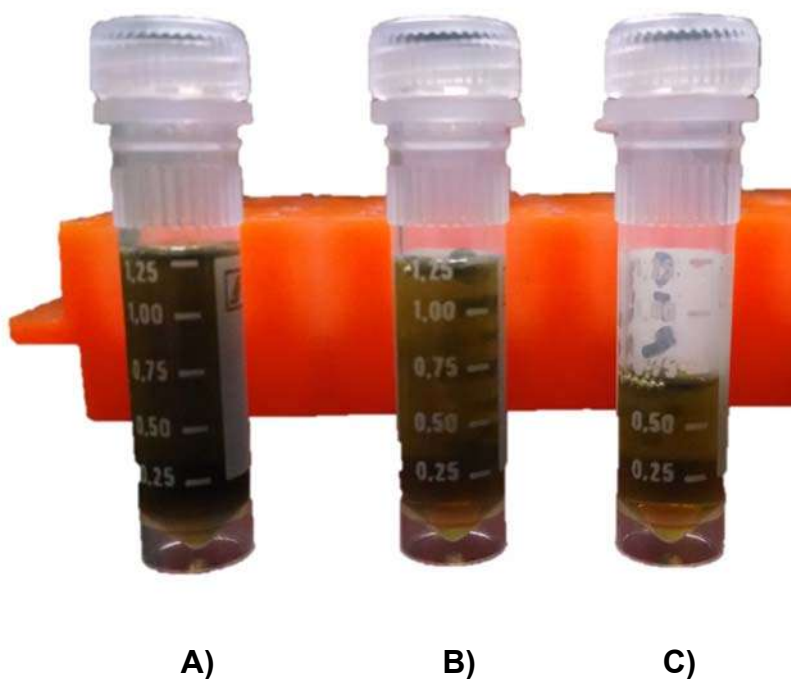


Figura No. 7.- Extractos oleosos provenientes de la Semilla de Zarzamora variedad *Tupi* (*Rubus fruticosus*). A) Por tratamiento extractivos por microondas B), éter etílico y C) pentano. Pérez Herrera J. T. (2017).

Análisis de RMN.

Los espectros de RMN se registraron a 23 °C en un aparato Bruker Avance 400 Ultrashield y Bruker Avance 500 Ultrashield. La cromatografía en capa fina se llevó a cabo usando láminas de aluminio TLC con 0,2 mm de gel de sílice (Merck Gf234). Las purificaciones cromatográficas se llevaron a cabo usando gel de sílice de grado flash (SDS Chromatogel 60 ACC, 40-60 μm). La reacción de hidrólisis del extracto de semilla de zarzamora se llevó sin atmósfera de argón, no fue necesario disolvente anhidro. Se compraron muestras comerciales de Linoleico (C18: 2n6c) y ácido linolénico (C18: 3n3) y se usaron tal como se recibieron.

Análisis GC-FID

La determinación de ácidos grasos vegetales que contienen 4 a 24 átomos de carbono se llevó a cabo por saponificación y esterificación de los ácidos grasos usando trifluoruro de boro como catalizador, seguido de separación y cuantificación por cromatografía de gases. El análisis se llevó a cabo en un equipo de cromatografía de gases con detector de ionización de llama (Perkin Elmer, número de serie 610N8072701 MODEL AUTO-SYSTEM XL). La columna capilar utilizada fue SP TM -2560 (100 m de longitud, 0,25 mm DI y 0,2 μ m de espesor de película, 100% de bis-cianopropilo, clave: E3CG-112). El volumen de inyección fue de 1 μ l. Las condiciones de funcionamiento fueron las siguientes: separación 100: 1, temperatura de entrada: 260°C, gas portador era hidrógeno (grado cromatográfico 4,5 T Praxair) 16 psi. Gradiente de temperatura: 140 °C 2,5 minutos; 240 °C 25 minutos de rampa (4 °C minutos⁻¹); 240 °C 25 minutos, el tiempo total de ejecución fue de 52,5 minutos. La temperatura del detector se fijó a 260°C usando XXXXX como gas detector. No aplicable curva de calibración pero comparado con 37 componentes FAMES estándar que contiene ésteres metílicos de ácidos C4-C24 (Aldrich referencia CRM47885). La identificación de ácidos grasos en el extracto de semilla de Blackberry se basó en sus tiempos de retención 100% del perfil de estandarización informado.

9. Resultados

Las semillas de los frutos de zarzamora provenientes de residuos sólidos, son una fuente de ácidos grasos de tipo, C:18 poliinsaturados, como son el ácido linoleico y linolenico, utilizando tratamiento por microondas en cinco diferentes extracciones, se obtiene un rendimiento del 16.83% y una desviación estándar de ± 1.58 , de cinco extracciones diferentes por éter etílico se obtiene un rendimiento promedio del 15.18% y una desviación estándar de ± 1.44 y con pentano en cinco extracciones diferentes 12.40% con una desviación estándar de ± 1.08 , ver tabla No. 9; por lo que el tratamiento por microondas, es una alternativa metodológica para la obtención de ácidos grasos de alto valor comercial, sin la implicación del uso de solventes químicos de tipo no polar, adicionalmente abre la posibilidad de poder obtener ácidos grasos de tipo poliinsaturados de tipo virgen, con el uso de tecnologías emergentes o alternativas, como la aquí mostrada en la Figura No 7.

Tabla No. 9.- Porcentaje de rendimiento en la extracción de aceite de la semilla de *Rubus fruticosus*.

Tratamiento de extracción	Microondas	Éter etílico	Pentano
Rendimiento en Porcentaje en Peso Seco	16.83	15.18%	12.40%
Desviación Estándar	± 1.58	± 1.44	± 1.08

Pérez Herrera J. T. (2017).

Análisis de RMN

Nuestro estudio de caracterización comenzó con los espectros de RMN ^1H del aceite obtenido por extracción con pentano, éter y utilizando agua con la extracción asistida por microondas (figura 8).

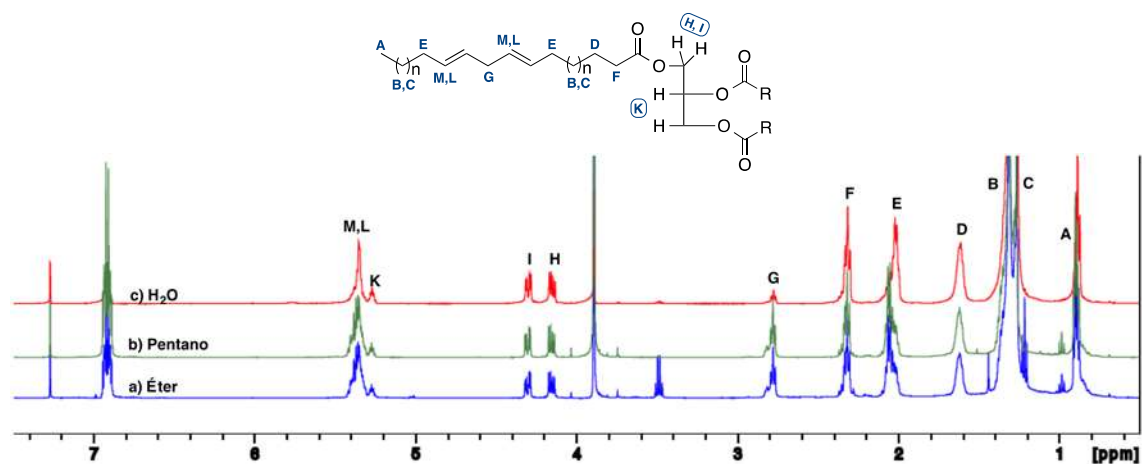


Figura No. 8. ^1H Espectros obtenidos a partir de muestras de semillas de mora utilizando como disolvente a) Éter etílico b) Pentano y c) H_2O (extracción asistida por microondas). Pérez Herrera J. T. (2017).

La Figura No. 8 muestra que el extracto de las tres muestras (1a -1c) corresponde exactamente al mismo contenido de lípidos, sin cambios significativos. Esta es una observación importante, que demuestra que el uso de un solvente orgánico, que potencialmente contamina la muestra y el medio ambiente, no es necesario para la extracción, haciendo el proceso más barato y más limpio. Los espectros de ^1H muestran señales representativas de triacilgliceroles mixtos previamente caracterizados. De hecho, se observa un espectro idéntico al descrito y caracterizado por Zancanaro, por lo que cada señal de espectro se identifica completamente. Además, se describen precedentes importantes sobre la caracterización de ácidos grasos por ^1H y ^{13}C . De esta manera podemos señalar algunas señales típicas (Figura No. 8), tales como un multiplete que varía de 5,28-5,26 ppm correspondiente al hidrógeno de metina K. Dos multipletes cuyos desplazamientos químicos son 4,31-4,20 ppm y 4,17-4,13 ppm, correspondientes a los hidrógenos de metileno I y H en glicerol, respectivamente. Esto muestra la presencia de ácidos grasos esterificados como triacilgliceroles. Este resultado es consistente con estudios fitoquímicos previos del almacenamiento de lípidos en las plantas. Además, el ^{13}C (Figura No. 9) denota dos patrones de señal principal. El primero contiene desplazamientos químicos de 130,4 ppm, 130,2 ppm, 128,3 ppm y 128,1 ppm característicos para el ácido linoleico (C18: 2n6c) el [(9Z, 12Z) -octadeca-9,12-dienoico]. El segundo patrón con desplazamientos químicos de 132,2 ppm, 130,4 pm, 128,53 ppm, 128,47 ppm, 127,99 ppm y 127,36 ppm características para el ácido linolénico (C18: 3n3) el [ácido (9Z, 12Z, 15Z) -octadeca-9,12, 15 -trienoico]. A pesar de la presencia de señales adicionales, es posible identificar estos dos ácidos como los principales componentes del extracto de lípidos de las semillas (Figura No. 9).

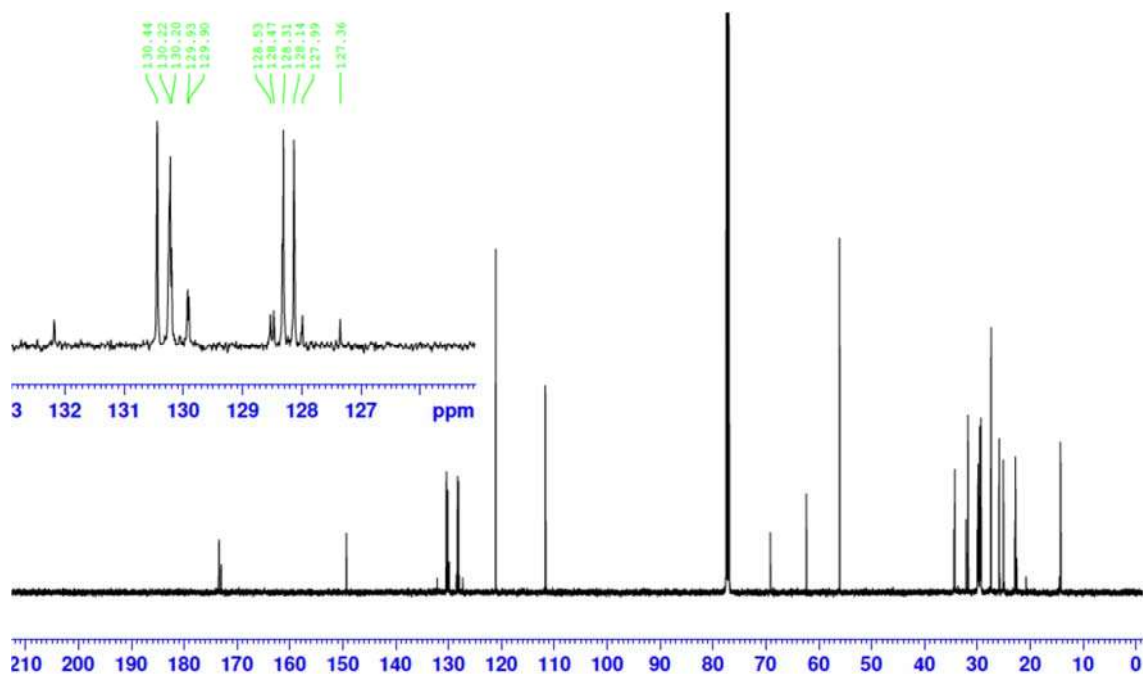


Figura No. 9. Espectros ^{13}C de la muestra obtenidos por extracción asistida por microondas. La ampliación muestra los patrones característicos de los ácidos linoleico y linolénico. Pérez Herrera J. T. (2017).

Para demostrar la presencia de ácido linoleico y linolénico, se llevó a cabo la hidrólisis básica del extracto. Después de la acidificación se obtuvo una muestra que confirma la presencia de estos aceites en relación 1:9 (ver SI). Esto se demostró comparando los espectros de la muestra ^{13}C hidrolizada con muestras químicamente puras de los compuestos, que se adquirieron comercialmente (Figura No. 10).

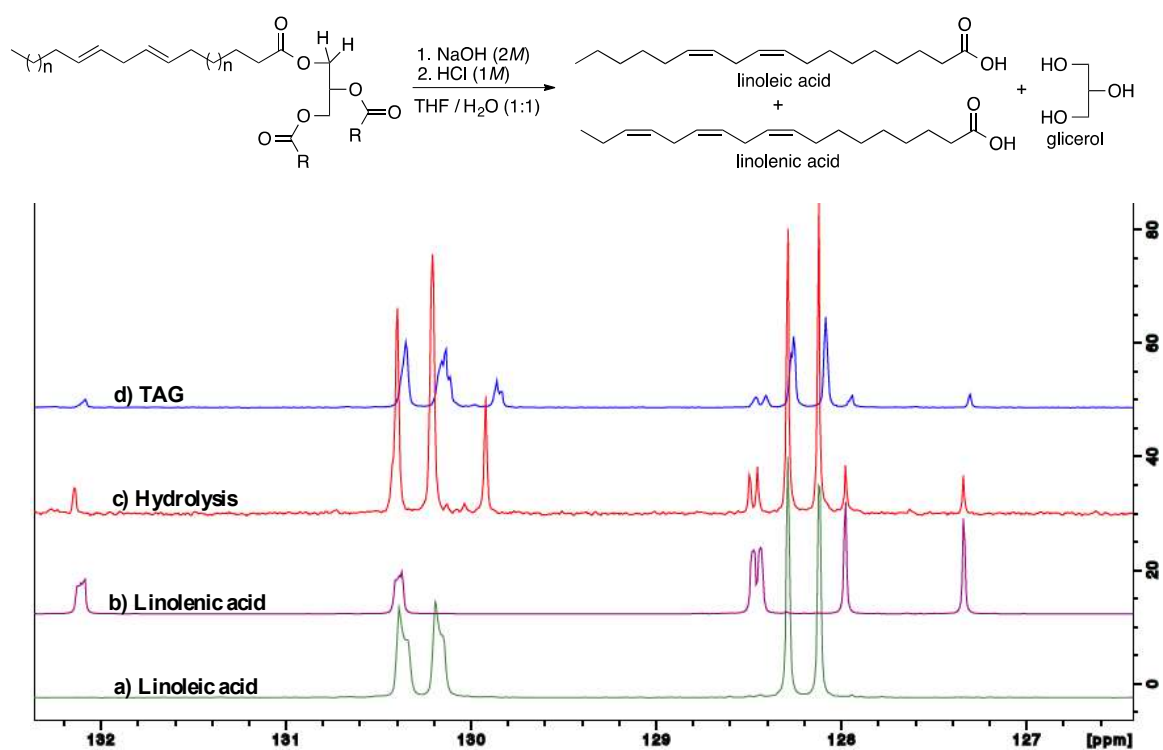


Figura No. 10. Una ampliación del espectro ^{13}C donde se muestra una comparación entre: a) ácido linoleico, B) ácido linolénico, c) una mezcla de ácidos linoleicos y linolénicos obtenida de la hidrólisis de la muestra de semillas de zarzamora, d) un extracto de semillas de zarzamora Antes de la hidrólisis que contiene triacilgliceroles (TAG). Pérez Herrera J. T. (2017).

Podemos observar que tanto las señales de patrón del ácido linoleico ^{13}C (3a) como del ácido linolénico (3b) se superponen perfectamente con el espectro de hidrólisis (3c). Así confirmamos su presencia en la semilla de zarzamora. En este punto, el estudio de RMN no sólo confirmó la presencia de ácidos linoleicos y linolénicos, sino que también demuestra los corolarios fitoquímicos básicos descritos sobre el almacenamiento de ácidos grasos en las semillas de plantas en forma de triacilgliceroles (TAG). Por último, este estudio demostró la viabilidad de la extracción asistida por microondas utilizando agua como disolvente, resultando en un producto físicamente y químicamente idéntico pero más limpio y verde, como se ilustra Figura 10 (1a - 1c). Para estudiar más a fondo el contenido de las semillas de zarzamora, se realizó un análisis y cuantificación de cromatografía de gases (GC-FID).

Análisis GC.

Una vez realizado el examen inicial por RMN, se decidió analizar cualitativa y cuantitativamente el total de los compuestos de extracto obtenidos mediante microondas. Para ser analizado por GC-FID, el extracto se hidrolizó y se esterificó para convertir el TAG in situ en los ácidos carboxílicos correspondientes ésteres metílicos. El análisis muestra la presencia de doce ácidos carboxílicos. Principalmente linoleico (C18: 2n6c) y cis-oleico (C18: 1n9c) que representa más del 80% del contenido de la muestra. A concentraciones más bajas se encuentran el ácido linolénico (C18: 3n3), esteárico (C18: 0) y los ácidos palmíticos (C16: 0) que corresponden a más del 15% del extracto.

Tabla No. 10. Perfil de ácidos grasos de la zarzamora *Rubus fruticosus tuppi* obtenido por la extracción asistida por microondas.

Entrada	Ácido Graso	TR (min)	%
1	Linoleico (C18:2n6c)	33.428	57.94
2	<i>cis</i> -oleico (C18:1n9c)	31.413	23.71
3	Linolenico (C18:3n3)	35.643	7.73
4	Palmitico (C16:0)	26.410	5.15
5	Estearico (C18:0)	29.995	3.04
6	Arachidonico (C20:0)	33.636	1.23
7	<i>Cis</i> -11-Eicosenoico (C:20:1)	35.061	0.58
8	Miristico (C14:0)	22.727	0.22
9	Behenico (C22:0)	37.456	0.14
10	Palmitoleico (C16:1)	27.812	0.10
11	Laurico (C12:0)	19.507	0.07
12	Heptadecanoico (C17:0)	28.149	0.07

Pérez Herrera J. T. (2017).

El contenido de perfil lipídico mencionado anteriormente representa un contenido neto muy atractivo en términos de aceites poliinsaturados (entradas 1-3). Los aceites saturados representan una porción menor del contenido total, que es un aspecto positivo desde el punto de vista nutricional. El extracto del aceite de semilla de zarzamora es una fuente potencial de aceites poliinsaturados con alto valor nutricional.

10. Conclusión

Se desarrollado un nuevo método para la extracción asistida por microondas para ácidos grasos, utilizando sólo agua como disolvente. Las materias primas son la zarzamora *Rubus fruticosus tupi* semillas generadas en gran cantidad como residuos en esta producción de frutas. Actualmente. El procedimiento es libre de solventes orgánicos, lo que implica menos contaminación ambiental y menos contaminación del producto, reduciendo el costo y haciendo el proceso más respetuoso con el medio ambiente. También se describió por primera vez el contenido exacto del extracto de estas semillas en particular, usando ^1H RMN, ^{13}C y GC-FID. Se ha demostrado un alto contenido de ácidos grasos insaturados (> 80%) y un bajo nivel de grasas saturadas (<16%). Esto posiciona el extracto de las semillas como una fuente potencial de ácidos grasos con alto valor nutricional y ofrece una solución y aplicaciones en la industria alimentaria y / o farmacéutica al agro residuos.

De acuerdo a los objetivos planteados en el presente trabajo se concluye que la semilla del fruto *Rubus fruticosus* es una materia prima de importancia nutrimental mayor para la obtención potencial de ácidos grasos poliinsaturados de tipo C:18 como son los ácidos grasos (ácido linoleico, ácido cis-oleico, ácido linolenico y ácido esteárico) los cuales representan >92.42% del total de ácidos grasos, en conclusión el aceite obtenido de la semilla de zarzamora contiene cantidades importantes de ácidos grasos de interés nutrimental, lo que podría dar una alternativa de comercialización a los productores de este sistema producto ver tabla 12.

Tabla No. 11. Perfil de ácidos grasos de la zarzamora *Rubus fruticosus tupi* obtenido por la extracción asistida por microondas.

Entrada	Ácido Graso	TR (min)	%
1	Linoleico (C18:2n6c)	33.428	57.94
2	<i>cis</i> -oleico (C18:1n9c)	31.413	23.71
3	Linolenico (C18:3n3)	35.643	7.73
4	Palmitico (C16:0)	26.410	5.15
5	Estearico (C18:0)	29.995	3.04
6	Arachidonico (C20:0)	33.636	1.23
7	<i>Cis</i> -11-Eicosenoico (C:20:1)	35.061	0.58
8	Miristico (C14:0)	22.727	0.22
9	Behenico (C22:0)	37.456	0.14
10	Palmitoleico (C16:1)	27.812	0.10
11	Laurico (C12:0)	19.507	0.07
12	Heptadecanoico (C17:0)	28.149	0.07

Pérez Herrera J. T. (2017).

Tabla No. 12. Valor nutrimental de los ácidos grasos del aceite de *Rubus fruticosus*

Tipo de ácido graso	Concentración %
Ácidos grasos saturados	15.648
Ácidos grasos monoinsaturados	28.026
Ácidos grasos poliinsaturados	56.089
*Ácidos grasos de tipo trans	0.3121
**Ácidos grasos saturados + Ácidos grasos trans	15.892

Pérez Herrera J. T. (2017).

Nota: *máximos permitidos 1.6%

****máximos permitidos de ácidos grasos saturados + ácidos grasos trans 17%**

11. Discusión

La propuesta de la nueva tecnología del aceite de zarzamora está fundamentada en dos efectos de las ondas electromagnéticas sobre el residuo agroalimentario del fruto zarzamora: 1) Rompimiento de membranas y paredes de las células que contienen el aceite. 2) La inactivación de enzimas que catalizan el oscurecimiento y otras reacciones oxidativas. Al ser el aceite transparente a las microondas conservan las propiedades nutraceuticas de estos productos, al no contener restos de solventes químicos (Moreno, et al., 2003, Reddy et al., 2012, Zia et al., 2014). Esto es un efecto específico que se determinó en la aplicación de microondas, que minimiza el deterioro de los nutraceuticos y ácidos grasos esenciales de la semilla de zarzamora, obteniendo dos productos: el aceite extra virgen y una pasta reducida en calorías que puede utilizarse para composteo (Schott, et al., 2013).

De esta forma, esta tecnología tiene tres ventajas: 1) Es menos contaminante al utilizar la pasta de alta calidad y no emplear disolventes orgánicos o soluciones acuosas que producen aguas residuales, 2) Conserva las propiedades nutraceuticas en productos de alta calidad, como son los ácidos grasos poliinsaturados, linoleico y linolenico, (Reddy et al., 2012) y 3) el uso de microondas y centrifugación permite obtener un rendimiento superior a los métodos de extracción por solventes orgánicos, como se aprecia y se compara respecto al porcentaje de aceite obtenido por el método por microondas respecto a los otros métodos químicos observado en la Tabla No.11.

12. Terminología

%= El porcentaje es un símbolo matemático, que representa una cantidad dada como una fracción en 100 partes iguales.

°C= El grado Celsius (históricamente conocido como centígrado; símbolo °C) es la unidad termométrica cuyo 0 se ubica 0,01 grados por debajo del punto triple del agua.

Kcal= kilocalorías es la unidad térmica que equivale a 1000 calorías.

mg= El miligramo es una unidad de masa del SI. Es el tercer submúltiplo del gramo y el sexto del kilogramo,

Kg= El kilogramo es la unidad básica de masa del Sistema Internacional de Unidades (SI), y su patrón se define como la masa que tiene el prototipo internacional,

KOH= hidróxido de potasio

g= El gramo es la unidad principal de masa del Sistema Cegesimal de Unidades, y la unidad de masa del Sistema Métrico Decimal.

EDTA= El ácido etilendiaminotetraacético,¹ también denominado EDTA o con menor frecuencia AEDT, es una sustancia utilizada como agente quelante.

OSI= índice de estabilidad oxidativa.

meq= miliequivalentes.

mm= El milímetro es una unidad de longitud. Es el tercer submúltiplo del metro y equivale a la milésima parte de él.

ml= El mililitro es una unidad de volumen equivalente a la milésima parte de un litro

µm= El micrómetro, micrón o micra es una unidad de longitud equivalente a una milésima parte de un milímetro.

Rf= radiofrecuencias.

13. Glosario

Ácidos grasos: son ácidos carboxílicos con grupos laterales hidrocarbonados de cadena larga, generalmente se encuentra en forma esterificada como componentes principales de los diversos lípidos.

Ácidos grasos saturados: es una cadena lineal de átomos de carbono unidos por enlaces sencillos (sin dobles enlaces).

Ácidos grasos insaturados: son ácidos grasos que contienen dobles enlaces, se clasifican en dos tipos monoinsaturados (un solo doble enlace) y los poliinsaturados (contienen dos dobles enlaces o más).

Agentes quelantes: secuestrante o antagonista de metales pesados, es una sustancia que forma complejos con iones de metales pesados.

Adipocitos: tiene una función de almacenamiento de sustratos energéticos (triglicéridos) y de ser un aislante corporal para evitar la difusión exagerada del calor generado por los procesos metabólicos tiene una función endocrina.

Carbohidratos: son las moléculas más abundantes, es la fuente de energía primaria en muchos alimentos (p. ej., glucosa y almidón).

Especies promisoras: aquellas especies de la fauna y flora silvestres, actualmente no utilizadas o usadas en forma incipiente, y que son potencialmente susceptibles de un aprovechamiento ambientalmente sostenible.

Inuit: Nombre con el que los esquimales de Groenlandia y el nordeste de Canadá se designan a sí mismos.

Olea europea: es un árbol pequeño perennifolio, longevo, que puede alcanzar hasta 15 m de altura, con copa ancha y tronco grueso, retorcido formando por ramas entrelazadas. Su fruto, la aceituna es una drupa succulenta y muy oleosa de la cual se extrae aceite.

Peróxidos: son sustancias que presentan un enlace oxígeno-oxígeno y que contienen el oxígeno en estado de oxidación. Generalmente se comportan como sustancias oxidantes.

Isomería cis: es donde los sustituyentes están en el mismo lado del doble enlace.

Isomería trans: en el que están en el lado opuesto del doble enlace.

Septentrional: del norte o relacionado con él.

14. Referencias.

- 1) Akanda M.J., Sarker M.Z., Ferdosh S., Manap M.Y., Ab Rahman N.N., Ab Kadir M.O.(2012). Applications of supercritical fluid extraction (SFE) of palm oil and oil from natural sources. *Molecules*. 10;17(2):1764-94.
- 2) Alberto Vega Turizo. (2004). *Guía para la elaboración de aceites comestibles, caracterización y procesamiento de nueces*. Convenio Andrés Bello. Recuperado a partir de https://books.google.com.mx/books?id=jwdNCAT1VE8C&pg=PA5&lpg=PA5&dq=La+creciente+demand+de+aceites+de+origen+vegetal,+no+obstante+la+existencia+de+materias+primas+tradicionales,+centran+la+atenci%C3%B3n+en+las+denominadas+especies+promisoras,+hasta+hoy+muy+poco+explotadas&source=bl&ots=VBPuy313B6&sig=9WjK5ZbWglohIYelgDKEh8zK_jU&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiX5q2Ks8LSAhWKhFQKHWF7DDsQ6AEIGTAA#v=onepage&q&f=false
- 3) Balk, E. M., Adam, G. P., Langberg, V., Halladay, C., Chung, M., Lin, L., ... Trikalinos, T. A. (2016). *Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease*. Agency for Healthcare Research and Quality (US).
- 4) Christian Turégano Roldán. (s/f). DOF - Diario Oficial de la Federación. Recuperado el 2 de marzo de 2017, a partir de http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5247873&fecha=10/05/2012
- 5) CXS_019s.doc - Codex Stan 19 Grasas y aceites.pdf. (s/f). Recuperado a partir de

<http://www.uclm.es/profesorado/mdsalvador/58119/practicas/Codex%20Stan%2019%20Grasas%20y%20aceites.pdf>

- 6) DOF - Diario Oficial de la Federación. (s/f). Recuperado el 8 de marzo de 2017, a partir de http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5231148&fecha=26/01/2012
- 7) ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR. (s/f). Recuperado a partir de <http://www.sinorg.uji.es/Docencia/FUNDQO/TEMA10FQO.pdf>
- 8) Gladys Velasquez. (2006). *Fundamentos de alimentación saludable*. Colombia: Universidad de Antioquia. Recuperado a partir de https://books.google.com.mx/books?id=8eFgywpXq8EC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- 9) Koolman, J., & Röhm, K.-H. (2005). *Bioquímica: texto y atlas*. Ed. Médica Panamericana.
- 10) LIMENTOS-ACEITES Y GRASAS VEGETALES O ANIMALES- DETERMINACION DE HUMEDAD Y MATERIA VOLATIL POR EL METODO DE PLACA CALIENTE-METODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-F-211-SCFI-2006). (s/f). Recuperado el 8 de marzo de 2017, a partir de http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5247873&fecha=10/05/2012
- 11) Mah, E., Schulz, J. A., Kaden, V. N., Lawless, A. L., Rotor, J., Mantilla, L. B., & Liska, D. J. (2017). Cashew consumption reduces total and LDL

cholesterol: a randomized, crossover, controlled-feeding trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.116.150037>

12) Marangoni, F., Galli, C., Ghiselli, A., Lercker, G., La Vecchia, C., Maffei, C., ... Poli, A. (2017). Palm oil and human health. Meeting report of NFI: Nutrition Foundation of Italy symposium. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 1–13.
<https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1278431>

13) Microsoft Word - NMX-F-009-SCFI-2005.DOC - ALIMENTOS .USO INDUSTRIAL.MANTECAS VEGETALES Y GRASAS O MANTECAS MIXTAS O COMPUESTAS.pdf. (s/f). Recuperado a partir de <http://cide.uach.mx/pdf/NORMAS%20MEXICANAS%20NMX/PRODUCTOS%20ALIMENTICIOS/ALIMENTOS%20.USO%20INDUSTRIAL.MANTECAS%20VEGETALES%20Y%20GRASAS%20O%20MANTECAS%20MIXTAS%20O%20COMPUESTAS.pdf>

14) NMX-F-012-SCFI-2010.pdf. (s/f). Recuperado a partir de <http://aniame.com/mx/wp-content/uploads/Normatividad/CTNNIAGS/NMX-F-012-SCFI-2010.pdf>

15) NMX-F-017-SCFI-2011.pdf. (s/f). Recuperado a partir de <http://aniame.com/mx/wp-content/uploads/Normatividad/CTNNIAGS/NMX-F-017-SCFI-2011.pdf>

16) NMX-F-075-SCFI-2012.pdf. (s/f). Recuperado a partir de <http://aniame.com/mx/wp-content/uploads/Normatividad/CTNNIAGS/NMX-F-075-SCFI-2012.pdf>

- 17)NMX-F-154-SCFI-2010.pdf. (s/f). Recuperado a partir de <http://aniame.com/mx/wp-content/uploads/Normatividad/CTNNIAGS/NMX-F-154-SCFI-2010.pdf>
- 18)NMX-F-473-SCFI-2012.pdf. (s/f). Recuperado a partir de <http://aniame.com/mx/wp-content/uploads/Normatividad/CTNNIAGS/NMX-F-473-SCFI-2012.pdf>
- 19)NORMA PARA GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES NO REGULADOS POR NORMAS INDIVIDUALES CODEX STAN 19-2015. (s/f). Recuperado a partir de http://www.fao.org/input/download/standards/74/CXS_019s_2015.pdf
- 20)Parámetros fisicoquímicos de calidad determinan la calidad del aceite de oliva virgen – Molí de la Vall Major. (s/f). [PaginaEspecial]. Recuperado el 8 de marzo de 2017, a partir de <http://www.molidelavallmajor.es/es/aceite-de-oliva-virgen-extra/parametros-fisicoquimicos>
- 21)Rodríguez, M. H. (2001). *Alimentación infantil*. Ediciones Díaz de Santos.
- 22)Teijón, J. M. (2006). *Fundamentos de bioquímica estructural*. Editorial Tebar.
- 23)Tipos de aceites. (s/f). Recuperado a partir de <http://www.tipos.co/tipos-de-aceites/>.
- 24)Ullah, R., Nadeem, M., & Imran, M. (2017). Omega-3 fatty acids and oxidative stability of ice cream supplemented with olein fraction of chia (*Salvia hispanica* L.) oil. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 34. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0420-y>.

25)V, N. B., C, G. L., & R, C. H. H. (2003). *Química de Alimentos: Manual de laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica. Recuperado a partir de <https://books.google.com.mx/books?id=8VpJ8foyDilC&printsec=frontcover&dq=quimica+de+los+alimentos&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiL4LPC4cXSAhUGwGMKHfwAAyQQ6AEIHjAB#v=onepage&q=quimica%20de%20los%20alimentos&f=false>.