



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA



CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

**Evaluación de la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados en
quesos frescos de consumo masivo en la Provincia de Tungurahua**

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

El estudio forma parte del Proyecto de Investigación “Determinación de la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados en alimentos de consumo masivo mediante el desarrollo e implementación del método analítico, como aporte a la información nutricional”, aprobado por el Honorable Consejo Universitario y financiado por el Centro de Investigación de la Universidad Técnica de Ambato. Resolución **1596-CU-P-2016**. Coordinado por Mg. Lander Pérez.

Autora: Pamela Estefanía Silva Vieira

Tutor: Mg. Lander Vinicio Pérez Aldas

Ambato – Ecuador

Agosto – 2019

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. Lander Vinicio Pérez Aldas

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 27 de junio de 2019



Mg. Lander Vinicio Pérez Aldas
C.I: 1802706596
TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Pamela Estefanía Silva Vieira, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica son absolutamente originales, auténticos y personales; exceptuando las citas bibliográficas.



Pamela Estefanía Silva Vieira

C.I. 180441937-0

AUTORA


APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

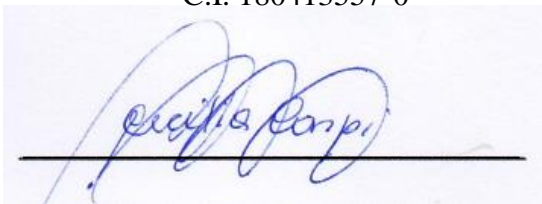
A handwritten signature in blue ink, appearing to be "A. ...", written over a horizontal line.

Presidente del Tribunal

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Dayana Morales Acosta", written over a horizontal line.

PhD. Dayana Cristina Morales Acosta

C.I. 180413557-0

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Cecilia Carpio", written over a horizontal line.

Mg. Cecilia Mercedes Carpio

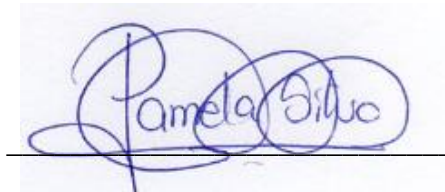
C.I. 170462765-0

Ambato, 05 de agosto de 2019

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto de Investigación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Pamela Estefanía Silva Vieira

C.I. 180441937-0

AUTORA

DEDICATORIA

A las personas más importantes en mi vida, mis padres, Luis y Giova, quienes han sido mi apoyo incondicional y mis fuerzas para luchar por conseguir mis metas; sin ellos no sería la mujer que ahora soy. Gracias por enseñarme el valor de la vida, por forjar mi camino y por guiarme en cada paso. Gracias por su esfuerzo y sacrificio continuo, para formarme como persona y como profesional.

A mi hermano Sebas, por ser mi ejemplo a seguir, por sus consejos y por ser mi base de responsabilidad y superación.

A Lucía, que desde su llegada ha llenado mi vida de sonrisas y momentos hermosos; y a toda mi familia, sin excepción alguna por sus deseos y su apoyo a lo largo de mi vida.

A Jean, mi amigo, confidente y apoyo incondicional, por su cariño y comprensión durante nuestro camino universitario.

Ustedes son mi mayor motivación

Pamela Silva Vieira

AGRADECIMIENTOS

Primero a Dios por su infinito amor y por todas las bendiciones que me ha dado, sin Él nada sería posible.

A la Universidad Técnica de Ambato y la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos por prepararnos y formarnos como profesionales de éxito. A mi tutor Quím. Lander Pérez, mis calificadoras PhD. Dayana Morales y Mg. Cecilia Carpio, Mg. Diego Salazar, PhD. Jorge Briceño y Mg. Mario Álvarez por su gran ayuda en el desarrollo de mi Trabajo de Titulación.

A todos mis profesores por sus enseñanzas, y a mis compañeros y amigos que forman parte del Laboratorio de Canje de Deuda, un eterno agradecimiento.

Al Proyecto de Canje de Deuda Ecuador-España “Fortalecimiento de la unidad operativa de investigación en tecnología de alimentos (UOITA) para la investigación tecnología e innovación en el área de alimentos, con el fin de promover la generación y el desarrollo de empresas agroindustriales en la Zona 3 del país; y monitorear el contenido de metales pesados en los cultivos afectados por las cenizas provenientes de las erupciones volcánicas del Tungurahua. (FITA-UOITA)”.

A mis amigos y amigas incondicionales y a mis compañeros de clase, por tantos momentos de alegría compartida, me quedo con muchos recuerdos inolvidables.

Pamela Silva Vieira

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1	Antecedentes Investigativos	1
1.2	Objetivos	4
1.2.1.	Objetivo General	4
1.2.2.	Objetivos Específicos	4
1.3	Hipótesis	4
1.3.1.	Hipótesis Nula	4
1.3.2.	Hipótesis Alternativa	4

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1.	Materiales	5
2.1.1	Materia Prima	5
2.1.2	Materiales de Laboratorio.....	6
2.1.3	Equipos	7
2.1.4	Reactivos.....	7
2.2.	Métodos	8
2.2.1	Toma de muestra	8
2.2.2	Preparación de las muestras de quesos frescos	8
2.2.3	Análisis fisicoquímico.....	9
2.2.4	Análisis proximal	11
2.2.5	Determinación de ácidos grasos saturados e insaturados.....	16
2.2.6	Determinación de la calidad nutricional de quesos frescos	20
2.3	Procesamiento y análisis	20

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.	Análisis fisicoquímico	21
3.2.	Análisis proximal	23
3.3.	Determinación de ácidos grasos saturados e insaturados	27

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1.	Conclusiones	40
4.2.	Recomendaciones	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localización de los sitios de muestreo en la Provincia de Tungurahua	6
Figura 2. Preparación de muestras y almacenamiento	9
Figura 3. Determinación de pH.....	9
Figura 4. Titulación automática para determinación de acidez	10
Figura 5. Determinador de actividad de agua	11
Figura 6. Determinación de humedad	12
Figura 7. Determinación de cenizas	13
Figura 8. Determinación de proteína Método Kjeldahl	14
Figura 9. Extracción de grasa.....	15
Figura 10. Extracción de grasa Método Folch modificado	16
Figura 11. Transesterificación de ácidos grasos	17
Figura 12. Cromatografo de gases acoplado a espectrómetro de masas	19
Figura 13. Cromatograma de metil ésteres de ácidos grasos Supelco 37 component FAME mix	31
Figura 14. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 1	69
Figura 15. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 2	69
Figura 16. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 3	70
Figura 17. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 4	70
Figura 18. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 5	70
Figura 19. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 6	71
Figura 20. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 7	71
Figura 21. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 8	71
Figura 22. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 9	71
Figura 23. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 10	72
Figura 24. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 11	72
Figura 25. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 12	72
Figura 26. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 13	73
Figura 27. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 14	73
Figura 28. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 15	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sitios de recolección y coordenadas geográficas del muestreo	5
Tabla 2. Condiciones cromatográficas	18
Tabla 3. Resultados del análisis fisicoquímico	21
Tabla 4. Resultados del análisis proximal de muestras de queso fresco	24
Tabla 5. Análisis cromatográfico del estándar de referencia	29
Tabla 6. Perfil de ácidos grasos de quesos frescos.....	32
Tabla 7. Índices de calidad nutricional	36
Tabla 8. Datos para la determinación de pH	54
Tabla 9. Datos para la determinación de acidez.....	55
Tabla 10. Datos para la determinación de a_w	56
Tabla 11. Datos para la determinación de humedad	57
Tabla 12. Datos para la determinación de cenizas	59
Tabla 13. Datos para la determinación de proteína.....	61
Tabla 14. Datos para la determinación de grasa total	62
Tabla 15. Datos para la determinación de ácidos grasos	64
Tabla 16. Porcentaje de Ácidos grasos saturados, insaturados, trans y conjugado e indicadores	67

RESUMEN

Gran cantidad de los alimentos que se consumen a diario como los derivados lácteos, poseen un contenido nutricional rico en proteínas, carbohidratos, fibra, vitaminas y también lípidos, siendo estos últimos un aporte importante de energía al cuerpo. No obstante, un exceso de aceites y grasas, en especial las grasas saturadas, puede provocar enfermedades cardiovasculares y afecciones graves a la salud. Por tal motivo, la presente investigación tuvo como finalidad evaluar la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados y realizar un análisis de la composición proximal en quesos frescos producidos en la Provincia de Tungurahua, con el objetivo de identificar la calidad nutricional de estos alimentos y así garantizar una alimentación sana y saludable. La cuantificación de ácidos grasos se llevó a cabo mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas, identificando los principales ácidos grasos: ácido mirístico (6-15%), ácido palmítico (20-39%), ácido esteárico (6-16%), ácido oleico (1-59%) y con una proporción promedio de ácido linoleico conjugado CLA de 0,852%. Además, se realizó un análisis proximal determinando los siguientes valores promedio para los quesos frescos: humedad (\bar{X} =58,517%), cenizas (\bar{X} =3,074%), proteínas (\bar{X} =17,776%) y grasas (\bar{X} =26,718%).

Palabras clave: derivados lácteos, perfil lipídico, ácidos grasos saturados e insaturados, composición proximal, cromatografía de gases.

ABSTRACT

Great amount of the foods that are consumed daily as dairy products, are rich in proteins, carbohydrates, fiber, vitamins and also lipids, the latter being an important contribution of energy to the body. However, an excess of oils and fats, especially saturated fats, can cause cardiovascular diseases and serious health conditions. For this reason, the purpose of the present investigation was to evaluate the relationship between saturated and unsaturated fatty acids and to perform an analysis of the proximal composition in fresh cheeses produced in Tungurahua Province, with the objective of identifying as the nutritional quality of these foods and thus ensure a healthy diet along. The quantification of fatty acids was carried out by gas chromatography coupled to mass spectrophotometry, identifying the main fatty acids: myristic acid (6-15%), palmitic acid (20-39%), stearic acid (6-16%), oleic acid (1-59%) and with an average proportion of CLA conjugated linoleic acid of 0.852%. In addition, a proximal analysis was performed determining the following average values for the fresh cheeses: moisture (\bar{X} =58,517%), ash (\bar{X} =3,074%), proteins (\bar{X} =17,776%) and fat (\bar{X} =26,718%).

Key words: dairy derivatives, fatty acids, proximal composition, gas chromatography, nutritional indicators

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

La leche representa un aporte nutricional importante para la alimentación de toda la población, debido a que posee distintos nutrientes como proteínas, minerales, agua y en una proporción considerable, lípidos, con un porcentaje de 3,75%, dependiendo de la especie animal de la que se obtiene. Por ello, es utilizada como materia prima para la elaboración de procesados lácteos (**García, Montiel & Borderas, 2014**). Sin embargo, el contenido de grasa puede ser mayor en este tipo de productos, por lo que es necesario identificar los ácidos grasos que están presentes y verificar su concentración, a fin de determinar si el producto es apto para el consumo de la población (**Villegas, Díaz & Hernández, 2017**).

Durá, (2008), realizó un estudio descriptivo relacionado con la ingesta de lácteos y sus derivados en una población universitaria, y se determinó que después de la leche, el derivado lácteo más consumido es el queso (32,6%), que aprovecha los nutrientes esenciales de la leche, incluido el contenido de grasa, con un 25,5%, en especial grasas saturadas y colesterol. **González & Visentín, (2016)**, señalan que los lípidos son moléculas biológicas, que poseen funciones específicas en los seres vivos y mantienen en su estructura carbono, nitrógeno, oxígeno, e incluso fósforo y azufre. Son insolubles en agua, pero solubles en los solventes orgánicos más comunes, como cloroformo, etanol, etc. Gran cantidad de organismos vivos, usan los lípidos en forma de aceites y grasas, como reservorios de moléculas para producir energía (**Meneses & Gil, 2015**).

En los aceites y grasas que se consume a menudo, se identifican ácidos grasos ya sea de forma libre o combinada con distintos compuestos, como es el caso de los triglicéridos. Estos ácidos grasos pueden ser saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, además de una clasificación extra en donde se encuentran los ácidos grasos trans, conocidos como los más dañinos para la población (**Ros et al., 2015**).

En todos los alimentos se encuentran distintos tipos de ácidos grasos, sin embargo, las proporciones o porcentajes son diferentes en cada uno. Un ejemplo de ello, son los ácidos grasos saturados contenidos en mayor concentración en mantequillas, leche, cremas o quesos, además de los ácidos grasos trans, que pueden estar asociados a distintas alteraciones en la salud, como diabetes, obesidad o cambios y modificaciones a nivel cardiovascular, debido a que no se combinan con otras moléculas y se acumulan en el organismo (**García & Rodríguez, 2016**).

En relación a lo expuesto, la investigación realizada por **Ballesteros, Valenzuela, Artalejo & Robles, (2012)** acerca del efecto en la salud humana de la ingesta de ácidos grasos saturados y trans, señala que existe gran cantidad de evidencias epidemiológicas y clínicas, que demuestran que este tipo de grasas son un riesgo significativo para la salud, aumentando un 23% el riesgo cardiovascular, a partir de un incremento del 2% en el consumo diario de ácidos grasos.

De manera contraria, se encuentran las grasas que aportan beneficios a la salud, conformadas por ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, cuyo principal objetivo es la prevención de enfermedades al ser ingeridos a través de la dieta diaria (**Hernández, Morales, Valenzuela, Morales & Valenzuela, 2016**). El primer estudio realizado por Sabate & Cols en 1993, en cuanto al perfil lipídico de una población específica, fue en una dieta con frutos secos, determinando un porcentaje de aumento de los niveles de colesterol HDL o colesterol bueno al consumir los alimentos ricos en ácidos grasos insaturados (**Gil & Ruíz, 2010**). Así, se ha señalado que los ácidos grasos pueden ser una alternativa de cuidado para la salud, sin embargo, al no mantener las proporciones adecuadas de grasas buenas, se puede correr el riesgo de contraer distintas enfermedades (**García et al., 2015**).

Este es un aspecto relevante a nivel nutricional por el consumo excesivo de grasas que se ha dado a través de la alimentación diaria. Sin embargo, según la normativa alimentaria, además de la evaluación del contenido de grasa, se debe realizar un análisis proximal de los alimentos, para identificar los porcentajes y conservar los niveles adecuados de los nutrientes esenciales, dependiendo del producto que se quiera obtener, con las especificaciones requeridas por el mercado (**FAO/OMS, 2011**). Una modificación en el punto de vista de productores y consumidores acerca de los efectos

y consecuencias del consumo de grasas y aceites a través de su análisis, podría influir en una producción agrícola más limpia y la implementación de tecnologías o métodos que mejoren los aspectos nutricionales de los alimentos, buscando un beneficio para la salud de la población (**Lara et al., 2014**). El objetivo del análisis nutricional es establecer atributos de los alimentos para poder generar nuevas ideas tecnológicas a los sistemas de producción.

El derivado lácteo a estudiarse es el queso fresco, que se caracteriza por ser una de las bases alimentarias en la población ecuatoriana. Según la encuesta ENSANUT-ECU 2012 realizada por el Instituto Nacional de Estadística y Censos INEC, el queso constituye el único derivado lácteo de mayor consumo a nivel nacional, con un 7% de contribución al consumo diario de grasas totales y grasas saturadas con un 8,8%, por lo que su estudio es de relevancia a nivel nutricional.

Para determinar las propiedades fisicoquímicas y la composición proximal, se toman en cuenta distintos parámetros: humedad, grasa, proteína, cenizas, actividad de agua, acidez y pH (**Ramírez & Vélez, 2012**), que señalan parámetros específicos para garantizar la calidad y aceptabilidad de los productos lácteos procesados.

Un método empleado para la identificación y cuantificación de ácidos grasos es por la cromatografía de gases cuyo principio se basa en la separación de compuestos volátiles por sus puntos de ebullición y sus diferencias de partición entre la fase móvil (gas) y la fase estacionaria (columna) (**Olguín & Rodríguez, 2004**). Estos ácidos grasos son transformados en componentes más volátiles denominados ésteres metílicos, separados por columnas capilares e identificados a través de señales cromatográficas (**López, Arrubla, & Guerrero, 2009**).

Sin embargo, esta técnica de tamizaje o screening requiere comprobar de manera estructural los componentes de una mezcla, cuyo resultado se logra a través del acoplamiento de cromatografía de gases a espectrometría de masas (**Stashenko, 2009**). La confirmación de la presencia de compuestos de una muestra, se lleva a cabo mediante un proceso de ionización de las moléculas orgánicas, fragmentación, separación en función de su relación masa/carga y su detección bajo condiciones operacionales óptimas de temperatura, polaridad presión, etc. (**Francia, 2015**).

1.2 Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Determinar la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados en quesos frescos de consumo masivo en la Provincia de Tungurahua.

1.2.2. Objetivos Específicos

Cuantificar ácidos grasos en extractos lipídicos obtenidos de muestras de quesos frescos mediante cromatografía de gases.

Identificar la proporción de ácidos grasos saturados e insaturados a través del perfil lipídico de los quesos frescos y la relación entre ellos.

Establecer la calidad nutricional de los quesos frescos de mayor consumo en cuanto al contenido de ácidos grasos

1.3 Hipótesis

1.3.1. Hipótesis Nula

La relación entre ácidos grasos saturados e insaturados y la calidad nutricional no varía en los quesos frescos producidos en distintos lugares de la Provincia de Tungurahua.

1.3.2. Hipótesis Alternativa

La relación entre ácidos grasos saturados e insaturados y la calidad nutricional varía en los quesos frescos producidos en distintos lugares de la Provincia de Tungurahua.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Materiales

2.1.1 Materia Prima

Para la ejecución del trabajo de investigación se realizó un muestreo aleatorio simple y se consideraron 15 empresas legalmente constituidas, ubicadas en distintos cantones de la Provincia de Tungurahua dedicadas a la fabricación de derivados lácteos (Tabla 1). Se recolectó una muestra de cada queso fresco durante tres lotes de producción, en los sectores de Ambato, Píllaro, Patate, Pelileo, Tisaleo y Quero (Fig. 1).

Tabla 1. Sitios de recolección y coordenadas geográficas del muestreo

Código de muestra	Sitio de recolección	Coordenadas geográficas*
FCIAL-DL-E1	Ambato	1°13'6.1''S 78°36'40.0''W
FCIAL-DL-E2	Patate	1°18'22.61''S 78°29'31.8''W
FCIAL-DL-E3	Ambato	1°17'26.14''S 78°45'34.46''W
FCIAL-DL-E4	Píllaro	1°10'29''S 78°33'39''W
FCIAL-DL-E5	Pelileo	1°20'15.2''S 78°32'50.5''W
FCIAL-DL-E6	Tisaleo	1°20'57''S 78°41'38''W
FCIAL-DL-E7	Ambato	1°19'12.0''S 78°46'03.8''W
FCIAL-DL-E8	Píllaro	1°10'06.8''S 78°31'24.8''W
FCIAL-DL-E9	Ambato	1°10'49.7''S 78°31'28.4''W
FCIAL-DL-E10	Tisaleo	1°23'16.2''S 78°39'07.0''W
FCIAL-DL-E11	Píllaro	1°10'30.2''S 78°33'33.3''W
FCIAL-DL-E12	Píllaro	1°10'05.4''S 78°31'08.1''W
FCIAL-DL-E13	Píllaro	1°10'06.8''S 78°31'20.1''W
FCIAL-DL-E14	Píllaro	1°10'34.4''S 78°30'59.7''W
FCIAL-DL-E15	Quero	1°22'34.8''S 78°36'29.8''W

* El sistema de coordenadas corresponde al Sistema Geodésico Mundial 1984 (WGS 84), expresadas en grados, minutos y segundos GMS

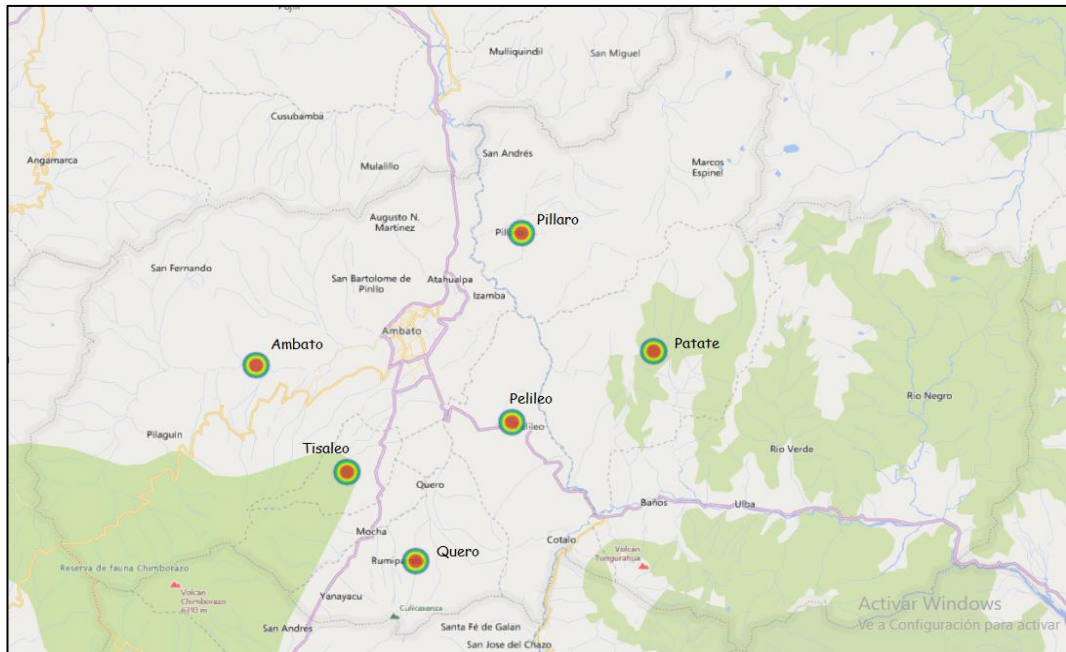


Figura 1. Mapa de localización de los sitios de muestreo en la Provincia de Tungurahua

2.1.2 Materiales de Laboratorio

- Cápsulas y crisoles de porcelana 30 mL
- Desecadores de vidrio
- Recipientes porta muestra AQUALAB 4TE
- Morteros y pistilos
- Vasos estándar de polipropileno de 100 ml para valoración automática
- Licuadora
- Matraces Erlenmeyer
- Dedales de celulosa Whatman 10 μ m (33x80mm)
- Vasos de extracción VELP SER 148/6
- Tubos de centrifuga Falcon (15 y 50 mL)
- Pipetas
- Micropipetas de volumen fijo y volumen variable
- Tubos eppendorf 1,5 mL
- Vasos de precipitación (50 y 100 mL)
- Pastillas Kjeldahl para detección de nitrógeno MERCK
- Microfiltros ECONOFILTER 13mm; 0,45 μ m

- Tubos bacteriológicos 20 mL
- Jeringas
- Viales de desecho/lavado
- Viales ámbar con zona de escritura, tapa rosca con septa PTFE/silicona
- Filtro de purificación de gases GC/MS
- Columna HP-88, 60m x 0.25mm ID, 0.2µm

2.1.3 Equipos

- Estufa HASUC HSZK6050
- Balanza analítica METTLER TOLEDO XPE204
- Balanza infrarroja para humedad METTLER TOLEDO-HX204
- Campana de extracción de gases NOVATECH-CE120BA
- Mufla NABER THERM 30-3000 °C
- Analizador de Actividad de Agua AQUALAB DEW POINT 4TE
- Titulador automático G10S COMPACT
- Potenciómetro THERMO SCIENTIFIC ORION VERSASTAR
- Digestor Turbotherm GERHARDT
- Destilador de Nitrógeno Vapodest GERHARDT
- Extractor de Grasa VELP SCIENTIFICA SER 148
- Bomba de vacío
- Agitador horizontal
- Vórtex VWR
- Centrífuga para tubos Falcon
- Rotavapor EYELA
- Baño recirculador ISOTEMP
- Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B GC System acoplado a un detector de masas 5977A GC/MSD

2.1.4 Reactivos

- n-Hexano ACS FISHER SCIENTIFIC
- n-Hexano grado HPLC FISHER SCIENTIFIC

- Cloroformo AR LOBACHEMIE
- Metanol Extra Puro 99,5% LOBACHEMIE
- Agua ultra pura Milli-Q THERMO SCIENTIFIC
- Sulfato de sodio anhidro MERCK
- Hidróxido de potasio NOVACHEM
- Ácido clorhídrico 37% ACS FISHER SCIENTIFIC
- Ácido bórico ACS, ISO MERCK
- Ácido sulfúrico concentrado 96% EMSURE
- Hidróxido de sodio EMSURE

2.2. Métodos

2.2.1 Toma de muestra

Antes de la toma de muestras se realizó una prospección acerca del derivado lácteo de mayor consumo en la Provincia de Tungurahua, dada con encuestas a consumidores y productores de procesados lácteos. La toma de muestras de queso fresco se realizó con el procedimiento descrito en la norma NTE-INEN-ISO 707 acerca de las directrices para el muestreo de lácteos y derivados (INEN, 2014).

La identificación de muestras se realizó con un código de muestreo (FCIAL-DL-E1-M1), el sitio de toma de muestras, fecha, condiciones de temperatura, estado de muestra y número de unidades de muestreo, presentados en formatos de cadenas de custodia de recolección de muestras. La cantidad necesaria de muestra fue de 200 g, recogidos asépticamente con instrumentos esterilizados y depositados en frascos adecuados ya sean de vidrio o de plástico, que se colocaron en contenedores provistos de hielo hasta la llegada al laboratorio de análisis.

2.2.2 Preparación de las muestras de quesos frescos

Para la preparación de muestras para alimentos semisólidos como el queso, se realizaron cortes de manera radial en quesos de base circular y en paralelo en quesos de base cuadrada, de 10 a 20 cm aproximadamente del borde (Gastalver, 2015). Se retiró la corteza que recubre los quesos y se molió hasta obtener muestras homogéneas (Fig. 2). Para su conservación se refrigeraron y mantuvieron a una temperatura de 4-

6°C para procedimientos posteriores (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA, 2015).



Figura 2. Preparación de muestras y almacenamiento

2.2.3 Análisis fisicoquímico

2.2.3.1 Potencial de hidrógeno, pH

Se determinó el pH según la metodología descrita en la Norma Mexicana (NMX-F-317-S-1978, 1978) para productos semisólidos con algunas modificaciones. Se pesaron 10 g de queso fresco molido, se incorporó 25 ml de agua destilada hervida y se realizó un licuado hasta obtener una pasta homogénea. La mezcla se filtró para descartar la capa grasa y se midió el pH con un potenciómetro (THERMO SCIENTIFIC, modelo ORION VERSASTAR V03704), calibrado con soluciones reguladoras de pH 4, 7 y 10.



Figura 3. Determinación de pH

2.2.3.2 Acidez titulable

La acidez titulable se determinó como describe la Norma Técnica Ecuatoriana 013 (INEN, 1984) y se expresa en porcentaje de ácido láctico, ácido presente en los quesos. Se pesaron 10 g de muestra y se incorporó 20 ml de agua destilada. Se calentó la mezcla hasta 35°C, para la homogeneización completa y se colocó 0,5 ml de solución indicadora de fenolftaleína. Usando el titulador automático (G10S COMPACT), se agregó lentamente y con agitación una solución de hidróxido de sodio 0,01M (Fig. 4). El porcentaje de ácido láctico se calculó a través de la Ecuación 1.

$$\% \text{Ácido láctico} = 0,09 \left[\frac{(V_{\text{NaOH}} * N_{\text{NaOH}})}{m} \right] * 100$$

(Ecuación 1)

Donde:

Factor 0,09: Peso equivalente del ácido láctico

V_{NaOH}: Volumen de hidróxido de sodio gastado (ml)

N_{NaOH}: Concentración del hidróxido de sodio (N)

m: Peso de la muestra (g)

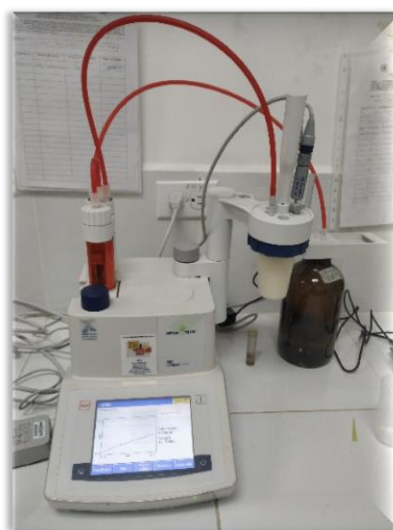


Figura 4. Titulación automática para determinación de acidez.

2.2.3.3 Actividad de Agua (a_w)

Para la medición se utilizó el analizador de actividad de agua (AQUALAB DEW POINT 4TE), que posee sensores de punto de rocío en espejo enfriado, lo que permite la detección de condensación, indicando al final la actividad de agua presente en los alimentos (Dupas, Benali, Pezron, Saleh, & Metlas, 2015).

Antes del análisis de cada muestra se calibró el equipo con agua destilada. Se homogeneizó la muestra con porciones representativas de los quesos frescos y se colocó aproximadamente 3 g en recipientes porta muestra hasta cubrirlos completamente (Fig.5). Se introdujo el recipiente en la cámara del equipo y se cerró la tapa, para que se desarrolle el análisis.

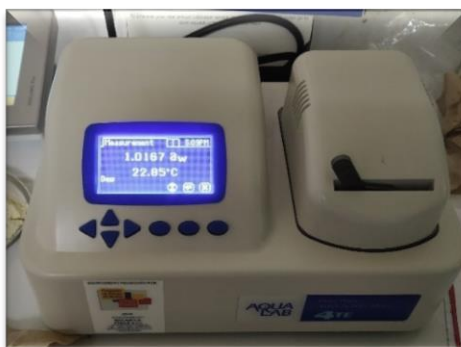


Figura 5. Determinador de actividad de agua

2.2.4 Análisis proximal

2.2.4.1 Humedad

Para la determinación de la humedad de los derivados lácteos, se empleó una modificación del método oficial 934.01 (AOAC, 2000), que calcula el porcentaje en agua por la pérdida en peso debida a su eliminación por calentamiento bajo diversas condiciones específicas. Para ello, se colocaron aproximadamente 5 g de la muestra en un crisol previamente tarado y pesado y se sometió a una temperatura de 100-105°C, en una estufa de secado (HASUC, HSZK6050) por 24 horas, hasta obtener un peso constante (Fig. 6).

El secado se realizó usando arena de mar, para evitar la formación de una costra superficial en alimentos como el queso, que impida la evaporación del agua (García

& Fernández, 2012). El porcentaje de humedad se calculó por diferencia en peso y se expresa en g de H₂O/100 g de muestra como lo indica la Ecuación 2.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Cantidad de agua en la muestra}}{\text{Peso de la muestra húmeda}} * 100$$

(Ecuación 2)



Figura 6. Determinación de humedad

2.2.4.2 Cenizas

Para la determinación de cenizas, se empleó una modificación del método oficial AOAC 923.03, descrito por **IDAL, (2011)**. Se tomó una muestra del centro del alimento con una espátula y se colocaron 3 g en un crisol previamente tarado y pesado, comprimiéndola al máximo. Se precalentó el crisol en la mufla (NABER THERM 30-3000 °C) a 200°C durante 1 hora y después se mantuvo durante 3 horas a 550°C hasta obtener cenizas blancas o grisáceas (Fig. 7). Se colocaron los crisoles en un desecador y se pesaron a temperatura ambiente. El contenido de cenizas se expresa como porcentaje como se muestra en la Ecuación 3.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{C_3 - C_1}{C_2 - C_1} * 100$$

(Ecuación 3)

Donde:

C₁: Peso del crisol vacío (g)

C₂: Peso del crisol con muestra (g)

C₃: Peso del crisol con cenizas (g)



Figura 7. Determinación de cenizas

2.2.4.3 Proteína

Para la cuantificación de proteína total se utilizó el método oficial AOAC 991.2 Proteína, Kjeldahl que consiste en la digestión de distintos componentes orgánicos y proteínas con catalizadores como el ácido sulfúrico, determinando el nitrógeno orgánico multiplicado por un factor de conversión como aproximación al contenido de proteínas (Lanza, Churión, & Gómez, 2016).

Para el proceso de digestión, se pesó en papel libre de nitrógeno, entre 0,5 y 0,8 g de las muestras a analizar y se colocó en tubos Kjeldahl. Se añadió una pastilla de Kjeldahl y 12 ml aproximadamente de ácido sulfúrico 96%. Los tubos con la muestra se colocaron en las celdas del digestor (Turbotherm, GERHARDT) con una flauta de recolección de gases.

Se llevó a cabo el proceso de digestión a 420°C por 40 minutos. Se dejó enfriar y se adicionó 50 ml de agua desionizada y se alcalinizó con hidróxido de sodio NaOH al 40%. Se sometió los tubos a un destilador de proteína (Vapodest, GERHARDT). Se destiló y el amoniaco liberado se recolectó en ácido bórico al 4% (Fig. 8). Finalmente, se tituló la muestra con ácido clorhídrico $\approx 0,1N$ (García & Fernández, 2012). El porcentaje de proteína total se calculó a través de la Ecuación 4.

$$\% \text{ Proteína} = \left[\frac{(V_S - V_B) * N * 14,01}{m * 10} \right] * F$$

(Ecuación 4)

Donde:

V_S: Volumen de valorante HCl ≈ 0,1N (ml)

V_B: Volumen de valorante HCl utilizado para titular el blanco (ml)

N: Normalidad del valorante HCl

m: Peso de la muestra (g)

F: Factor de conversión de nitrógeno a proteína (6,38)



Figura 8. Determinación de proteína Método Kjeldahl

2.2.4.4 Materia Grasa Total

Para la determinación de la materia grasa total en quesos frescos se realizó una modificación de la Norma Técnica Ecuatoriana 064 (**Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN, 1973**). Previo a la extracción de grasa se realizó una hidrólisis ácida. Se pesó aproximadamente 5 g de la muestra en un matraz y se adicionó 10 ml de ácido clorhídrico al 25%, se agitó suavemente hasta dispersar completamente la muestra. Se colocó el matraz en una plancha de calentamiento a 30°C por 20 minutos, se enfrió en un chorro de agua y se filtró la muestra.

Posterior al procedimiento, se sometió el filtrado a una temperatura de 105°C en una estufa de secado (HASUC, HSZK6050) durante 2 horas hasta obtener un peso constante. Se incorporó el filtrado en dedales de extracción de celulosa y se tapó con algodón desengrasado.

Para la extracción de grasa, se utilizó el equipo extractor de grasa (VELP SCIENTIFICA, SER 148, Fig. 9). Se colocó hexano como solvente en los vasos VELP SCIENTIFICA y se mantuvo la extracción durante 6 horas y media, con tiempos específicos de calentamiento de 120 minutos, recirculación de 120 minutos y recuperación de solvente de 30 minutos.

Una vez finalizado el proceso, se secaron los vasos de extracción en una estufa a 105°C por 3 horas, hasta la completa eliminación del solvente. Se enfrió en el desecador y se registraron los pesos. El contenido de grasa se expresó en porcentaje en masa (%m/m) y se calculó a partir la ecuación 5.

$$\% \text{ Grasa} = \frac{p_2 - p_1}{p} * 100$$

(Ecuación 5)

Donde:

p: Peso de la muestra (g)

p₁: Peso del vaso de extracción vacío (g)

p₂: Peso del vaso de extracción con grasa (g)



Figura 9. Extracción de grasa

2.2.5 Determinación de ácidos grasos saturados e insaturados

2.2.5.1 Extracción de grasas con mezcla de solventes

La extracción en frío por mezcla de solventes permite obtener extractos que se pueden usar en la determinación de ácidos grasos. El método usado en la extracción de grasa para cualquier tipo de alimento sin modificar la composición de ácidos grasos es la metodología de Folch con ciertas modificaciones (**Aripovsky, Kolesnik, Kulagina, & Titov, 2018**), en la que se usa una mezcla de cloroformo/metanol/agua (Fig. 10).

Se pesó 3 g de muestra en tubos de centrífuga de 15 ml con peso conocido. En la campana de extracción de gases (NOVATECH, CE120BA), se agregó a la muestra, una mezcla de solventes cloroformo:metanol:agua con una relación de 4:1:0,8. Se colocaron los tubos en un agitador horizontal a 280 rpm por 1 hora, se retiraron los tubos, se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos y se agregó 5 mL de KCl al 0,88% para separar el componente proteico.

Se cubrieron los tubos de la luz y se dejó separar las fases, orgánica y acuosa. Por último, se desechó la fase acuosa y la fase orgánica se trató con sulfato de sodio anhidro para la eliminación de agua. Se filtró la fase clorofórmica y se evaporó el solvente en un rotavapor (EYELA). Se guardó la grasa recuperada con hexano como solvente, hasta su uso posterior.

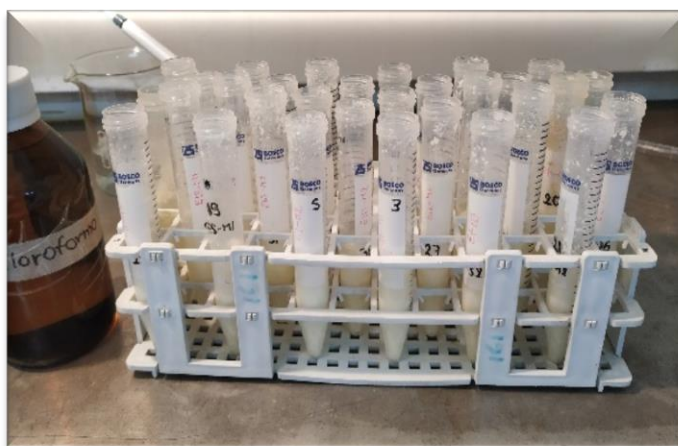


Figura 10. Extracción de grasa Método Folch modificado

2.2.5.2 Preparación de Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos

Los ácidos grasos obtenidos después de una extracción no son lo suficientemente volátiles para ser usados en una cromatografía de gases, por lo que es necesario realizar una reacción de transesterificación (Fig. 11). Esta consiste en la reacción de un triglicérido con un alcohol, que desplaza el equilibrio hacia la formación de productos y forma alquil ésteres y glicerol (Castellar, Angulo, & Cardozo, 2014).

Para la obtención de ésteres metílicos se pesó 0,023 g de la grasa extraída del alimento y se adicionó 2 ml de solución metanólica de hidróxido de potasio (0,5M), en un baño maría a ebullición durante 10 minutos. Se añadió 1 ml de solución metanólica de ácido clorhídrico (1:4 v/v) en un baño maría a 50°C por 25 minutos, se enfrió a temperatura ambiente y se incorporó 3 ml de agua destilada ultra pura. Para extraer los ésteres metílicos se colocó 10 ml de hexano grado cromatográfico, y se extrajo 1,5 ml de la fase orgánica. Se trasvasó con jeringas a través de microfiltros (ECONOFILTER) a un vial cromatográfico para el análisis en el cromatógrafo de gases.



Figura 11. Transesterificación de ácidos grasos

2.2.5.3 Análisis de ácidos grasos por Cromatografía de Gases

La cromatografía de gases es un método efectivo de separación de varios componentes de mezclas complejas o moléculas volátiles con puntos de ebullición distintos. Este método es el más usado para la determinación y cuantificación de ácidos grasos, debido a la complejidad de su análisis y a la estructura de cada uno de ellos (Pino,

2017). Bajo determinadas condiciones permite volatilizar compuestos e inyectarlos en la cabeza de una columna cromatográfica, dando como resultado un cromatograma con picos de identificación de dichos componentes.

Para la determinación de ácidos grasos mediante cromatografía de gases se empleó como referencia el método oficial 996.06. Grasa (Total, Saturada e Insaturada) en alimentos (**Association of Official Analytical Chemists AOAC, 2002**). El equipo usado fue el cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B GC System acoplado a un detector de masas 5977A GC/MSD, con un autosampler 7693 (Fig. 12). Las condiciones para desarrollar el análisis cromatográfico se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones cromatográficas

Parámetros	Condiciones
<i>Inyector</i>	
<i>Volumen de inyección</i>	0.5µL
<i>Lavados con solvente (Hexano)</i>	Preinyección: 3 veces Post inyección: 3 veces
<i>Lavados con muestra</i>	3 veces
<i>Bombeo de muestra</i>	6 veces
<i>Inyección</i>	
<i>Liner</i>	Agilent 5190-3983: 800µL
<i>Calentamiento</i>	250°C
<i>Presión</i>	13.771 psi
<i>Flujo total</i>	18.7 mL/min
<i>Flujo de purga de septum</i>	3 mL/min
<i>Modo</i>	Splitless
<i>Flujo de purga Split</i>	15 mL/min
<i>Columna</i>	
<i>Modelo</i>	Agilent HP-88
<i>Dimensiones</i>	60m x 250µm x 0.2µm
<i>Flujo</i>	0.7 mL/min
<i>Velocidad lineal promedio</i>	21.869 cm/s
<i>Gas portador</i>	Helio 99.999%
<i>Horno de columna (Rampas)</i>	
<i>Tiempo de equilibrio</i>	3 min
<i>Temperatura inicial</i>	80°C
<i>Rampa de Temperatura 1</i>	10°C/min hasta 120°C; 4 min
<i>Rampa de Temperatura 2</i>	20°C/min hasta 140°C; 5 min
<i>Rampa de Temperatura 3</i>	2°C/min hasta 200°C; 45 min
<i>Rampa de Temperatura 4</i>	5°C/min hasta 240°C
<i>Tiempo total de corrida</i>	53 min

Los espectros se compararon con la biblioteca NIST14.L y se determinó la proporción de ácidos grasos con el estándar de metil ésteres de ácidos grasos Supelco FAME mix C4-C24 usado para productos lácteos. La intensidad de la señal detectada en un cromatograma depende de la cantidad del tipo de compuesto.

Por tanto, el cálculo de la composición de ácidos grasos se puede realizar usando factores de calibración, para convertir el área del pico en porcentaje en masa a partir de la composición conocida de un estándar de referencia. En este sentido, **Gomis, (2008)**, señala que existen distintos métodos para el análisis o determinación cuantitativa en cromatografía, que permiten identificar los analitos de interés, a través de la detección de señales analógicas.

El método usado en la investigación fue normalización de área con factor de corrección o respuesta, cuyo procedimiento se basa en comparaciones de alturas o áreas de los picos definidos por el cromatograma con la de un patrón inyectado bajo condiciones cromatográficas idénticas (**Legaz et al., 2011**). El factor de calibración se calculó mediante la ecuación 6 (**Campinas, 1991**).

$$f_i = \frac{C_{iM}}{A_{iM}}$$

(Ecuación 6)

Donde:

f_i : Factor de calibración para cada compuesto

C_{iM} : Concentración del compuesto i en la mezcla de referencia (% m/m)

A_{iM} : Porcentaje en área del compuesto i (%)



Figura 12. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas

2.2.6 Determinación de la calidad nutricional de quesos frescos

En la actualidad, existen diversos problemas de salud relacionados principalmente con la nutrición y la alimentación de la población, debido a un grado considerable de desconocimiento de los componentes nutricionales de alimentos de consumo diario (**Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación FAO, 2008**).

En este aspecto, el papel de la calidad nutricional de los alimentos es de gran relevancia y su determinación se basa en el perfil de nutrientes, así como en índices definidos de calidad nutricional (**Gil, Martínez & Olza, 2015**). En cuanto al contenido de ácidos grasos saturados e insaturados y la materia grasa total presente en los quesos frescos, se analizaron tres indicadores nutricionales: la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados, la relación de ácidos grasos ω -6/ ω -3 y el índice de aterogeneidad.

2.3 Procesamiento y análisis

Se aplicó un análisis de varianza ANOVA simple, evaluando los parámetros fisicoquímicos y proximales y aplicando la prueba de Tukey para determinar las diferencias significativas entre los distintos quesos frescos de cada sector de la Provincia de Tungurahua. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics® Centurion y la significancia estadística se estableció en $p < 0.05$. Los datos se expresaron como medias de tres réplicas y una desviación estándar.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis fisicoquímico

Los parámetros fisicoquímicos más importantes relacionados con la estabilidad, vida útil y conservación de los quesos son, el pH, la acidez y la actividad de agua A_w . En la tabla 3, se muestran los resultados del análisis fisicoquímico de los quesos frescos con los parámetros establecidos.

Tabla 3. Resultados del análisis fisicoquímico

Muestra	Parámetros fisicoquímicos		
	pH	Acidez titulable (% ácido láctico)	Actividad de agua a_w
FCIAL-DL-E1	6,769 ± 0,081	0,356 ± 0,025	0,982 ± 0,008
FCIAL-DL-E2	5,734 ± 0,086	0,235 ± 0,019	0,957 ± 0,004
FCIAL-DL-E3	5,676 ± 0,271	0,375 ± 0,018	0,967 ± 0,005
FCIAL-DL-E4	5,894 ± 0,086	0,295 ± 0,058	0,975 ± 0,004
FCIAL-DL-E5	5,354 ± 0,039	0,369 ± 0,001	0,978 ± 0,001
FCIAL-DL-E6	5,465 ± 0,016	0,277 ± 0,009	0,993 ± 0,001
FCIAL-DL-E7	5,747 ± 0,163	0,230 ± 0,031	0,978 ± 0,007
FCIAL-DL-E8	5,681 ± 0,033	0,384 ± 0,009	0,966 ± 0,009
FCIAL-DL-E9	5,534 ± 0,134	0,378 ± 0,041	0,993 ± 0,003
FCIAL-DL-E10	5,418 ± 0,187	0,561 ± 0,056	0,997 ± 0,001
FCIAL-DL-E11	5,579 ± 0,008	0,616 ± 0,032	0,986 ± 0,001
FCIAL-DL-E12	5,543 ± 0,051	0,464 ± 0,014	0,979 ± 0,002
FCIAL-DL-E13	5,632 ± 0,084	0,237 ± 0,031	0,996 ± 0,002
FCIAL-DL-E14	5,720 ± 0,240	0,314 ± 0,044	0,976 ± 0,006
FCIAL-DL-E15	5,613 ± 0,115	0,291 ± 0,048	0,983 ± 0,002

Los valores se expresan en promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

El queso fresco es el derivado lácteo de mayor consumo a nivel poblacional por sus propiedades nutricionales, sin embargo, algunas de sus características fisicoquímicas acortan la vida útil del producto, como es el caso del pH, que se encuentra con valores

cercanos a la neutralidad (**Gadotti, Nelson, & Diez, 2014**). Al evaluar el parámetro de pH de los quesos frescos se identificó que los valores se encuentran en un rango de 5,35 a 6,77 y no se evidencian diferencias entre cada muestra de queso fresco. **Ramírez & Vélez, (2012)**, señalan que este tipo de queso obtenido por coagulación con cuajo, mantiene valores de $\text{pH} > 6$, lo que favorece el deterioro de este derivado lácteo y, por tanto, el crecimiento de microorganismos.

En otro estudio realizado por (**Díaz et al., 2017**), relacionado con una caracterización de queso fresco comercializado en distintos mercados, se observó resultados de pH en un intervalo de 4,84 a 6,07, cuyo rango abarca los valores obtenidos en la investigación. **Peláez, Fresno, Díaz, & Darías, (2003)**, indican que este parámetro fisicoquímico puede verse afectado por distintos factores, entre ellos el contenido de grasa, debido a que las grasas están compuestas por ácidos grasos, y así, mientras el pH disminuye, el porcentaje de grasa también lo hace (**Portilla & Caballero, 2009**).

Díaz, García, Jiménez, & Villanueva, (2016), señalan que el parámetro de acidez, es indispensable en el reconocimiento del control sanitario de los quesos, debido a que evidencia las condiciones de elaboración de los productos, así como de sus materias primas, principalmente la leche. Los valores de acidez resultantes se encuentran en un rango de 0,23 a 0,62 y presentan diferencias estadísticas con respecto a varias muestras.

Esto se puede presentar debido a la acidificación de la cuajada durante el proceso de elaboración, y a la maduración, aún después de elaborado el producto. Según **González, (2010)**, los valores de acidez del queso se encuentran entre 0,1 y 0,8 corroborando los resultados obtenidos.

En un estudio realizado por **Jiménez, Magaña, González, Vásquez, & Acosta, (2008)**, se evaluaron distintos quesos frescos, cuya acidez se encontraba entre 0,41 y 1,30 % de ácido láctico, cuyo resultado señala que los bajos niveles de acidez generan la presencia de microorganismos en gran cantidad, como las bacterias lácticas y las levaduras. Al comparar los niveles de acidez y pH, se identifica que un medio ácido y un alto grado de acidez, permiten disminuir la aparición de microorganismos patógenos, que tienen pocas probabilidades de sobrevivir en tales condiciones, por

tanto, aumentan a la microflora ácido tolerante beneficiosa para la salud y seguridad alimentaria, como las bacterias ácido lácticas (**Gauthier, 2002**).

En relación a los valores de actividad de agua para las muestras, los resultados se encuentran en un intervalo de 0,95 a 0,99 y el análisis no señala diferencias estadísticamente significativas entre medias. Según **Castro, Porras, Bermúdez, Velasco, & Osorio, (2016)**, el parámetro de actividad de agua está relacionado con la cantidad de agua disponible o libre en un alimento que puede dar paso a una posible proliferación de microorganismos como bacterias, mohos y levaduras, causando el deterioro del mismo.

El rango del valor de actividad de agua a_w considerado para quesos frescos varía de 0,7 a 1,0, sin embargo, el valor habitual para este tipo de quesos es cercano a 0,99, por lo cual influye en el crecimiento de microorganismos, así como en el desarrollo de sus actividades enzimáticas (**Fox, McSweeney, Cogan, & Guinee, 2004**).

Los resultados de a_w obtenidos durante la investigación son similares a los presentados por **Torres, (2016)**, cuyos valores se encuentran entre 0,97 y 0,99. En este estudio se identificó que el aumento de la actividad de agua genera la multiplicación de microorganismos como *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella*, *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens sp*, mohos, levaduras, modificando el tiempo de duración del queso fresco.

3.2. Análisis proximal

Para la determinación de la calidad nutricional de los quesos frescos elaborados en la Provincia de Tungurahua, se consideran distintos indicadores, evaluados a través de una caracterización proximal, donde se establecen los valores de humedad, cenizas, proteínas y grasas.

En la Tabla 4, se presenta la composición proximal de los quesos frescos. Los valores de humedad ($\bar{X} = 58,517\%$), cenizas ($\bar{X} = 3,074\%$), proteínas ($\bar{X} = 17,776\%$) y grasas ($\bar{X} = 26,718\%$), presentados como los parámetros esenciales analizados en las tablas de composición de alimentos (**Instituto Nacional de Nutrición, 1975**).

Tabla 4. Resultados del análisis proximal de muestras de queso fresco

Muestras	Parámetros			
	Humedad (%)	Cenizas (%)	Proteína % (Nx6,38)	Grasa (%)
FCIAL-DL-E1	46,829 ± 0,670	3,570 ± 0,126	22,209	44,394 ± 1,177
FCIAL-DL-E2	59,226 ± 1,267	4,652 ± 0,089	21,068	22,876 ± 0,665
FCIAL-DL-E3	53,349 ± 0,356	3,423 ± 0,383	16,778	26,524 ± 0,417
FCIAL-DL-E4	46,759 ± 1,753	3,785 ± 0,444	15,900	13,619 ± 0,458
FCIAL-DL-E5	52,744 ± 0,912	3,623 ± 0,283	16,264	21,429 ± 0,781
FCIAL-DL-E6	61,322 ± 0,227	2,517 ± 0,361	13,898	32,525 ± 0,556
FCIAL-DL-E7	57,693 ± 2,604	3,215 ± 0,453	16,563	25,370 ± 0,286
FCIAL-DL-E8	55,461 ± 0,195	3,353 ± 0,036	13,753	21,281 ± 1,863
FCIAL-DL-E9	52,221 ± 1,293	2,228 ± 0,303	28,113	32,830 ± 0,822
FCIAL-DL-E10	55,834 ± 0,750	2,200 ± 0,138	14,520	23,258 ± 0,172
FCIAL-DL-E11	54,898 ± 1,347	2,269 ± 0,228	15,392	49,217 ± 1,462
FCIAL-DL-E12	49,942 ± 0,783	2,952 ± 0,232	25,599	20,110 ± 0,302
FCIAL-DL-E13	57,186 ± 1,882	2,088 ± 0,809	15,834	24,782 ± 0,525
FCIAL-DL-E14	52,936 ± 0,793	3,519 ± 0,465	15,901	29,612 ± 0,538
FCIAL-DL-E15	58,517 ± 1,998	2,722 ± 0,440	14,840	12,946 ± 0,916

Los valores se expresan en promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

Uno de los parámetros más importantes en el análisis de alimentos es la humedad, que tiene una clasificación específica dentro de las normas alimentarias. Existen diversas denominaciones para los quesos de acuerdo con el contenido de humedad (**Battro, 2010**). Este parámetro da un indicio de que los procesados lácteos tienden a poseer una vida de anaquel más corta y un tiempo limitado de almacenamiento.

Los resultados del análisis proximal señalan que las muestras de queso fresco presentan porcentajes de humedad entre 46% y 61%, siendo estadísticamente diferentes entre muestras (($P < 0,05$), por tanto, son considerados como quesos semiduros (54-69% de humedad) según la Norma Ecuatoriana NTE INEN 1528 (**INEN, 2012**).

Estos resultados tienen similitud con lo presentado en una investigación realizada por **Perdomo et al., (2016)**, relacionada con la caracterización fisicoquímica y

bacteriológica de quesos artesanales, quienes obtuvieron valores de humedad entre 43 y 52%. De igual manera, **Martínez, Villoche, Ribot, & Ponce, (2013)**, en su estudio de evaluación de la calidad e inocuidad de quesos frescos artesanales, reportaron valores por encima del 36%, correspondiente a humedad.

En relación a los resultados obtenidos del contenido de cenizas, los datos oscilaron entre 2,09 y 4,65, siendo diferentes ($P < 0,05$) entre muestras de queso fresco. Estos valores son cercanos a los reportados por **Rosado, Corzo, Morales, Velázquez, & Wong, (2013)**, con un rango de 2,45 a 4,49% de los quesos analizados. En otro estudio realizado por **García, (2006)**, se evaluaron distintos quesos, entre ellos el queso fresco mexicano que presentó valores de cenizas entre 2,6-3,9%.

La variación de resultados entre distintos estudios puede deberse al origen y calidad de la leche, además de a la alimentación diaria del ganado de donde se obtiene la materia prima. Según **Marquéz, (2014)**, el análisis de cenizas permite la detección de posibles contaminaciones de metales pesados en el producto terminado, así como su calidad nutricional.

Por otra parte, se analizó el contenido de proteínas de los quesos frescos, y se obtuvieron resultados entre 13,75 y 28,11%, con diferencias estadísticamente significativas entre muestras. Estos resultados son cercanos a los valores entre 17–21% reportados en la norma 370-97 (**Fondonorma, 1997**) de quesos blancos y similares a los reportados en la investigación.

Sin embargo, se determinaron resultados por debajo de este rango, lo que podría deberse a variaciones de temperatura, pH y tiempo en el proceso de elaboración de los quesos frescos, cuyas condiciones impulsan la precipitación de las proteínas y la disminución del contenido proteico (**Alava, Gómez, & Maya, 2014**).

Según **Acevedo, Jaimes, & Espitia, (2015)**, el contenido de proteína en rangos superiores a los reportados por normativas alimentarias, podría deberse a una adición de lactosuero a los quesos frescos, para aprovechar el concentrado de proteínas en el lactosuero y así incrementar estos nutrientes en este derivado lácteo.

En relación con una publicación científica acerca de la evaluación de quesos con adición de suero realizada por **Guerrero, Salas, & Baldeón, (2015)**, el queso fresco presenta un contenido de proteínas promedio de 18,82%, similar a los obtenidos en la presente investigación.

Finalmente, con respecto al contenido de grasa total, se realizó primero una hidrólisis ácida para extraer el componente graso de la muestra que se encuentra encapsulada en otras biomoléculas como las proteínas y carbohidratos (**Díez, 2014**). Esto se da debido a que, en el proceso de coagulación para la elaboración del queso fresco, la proteína coagulada capta distintos componentes de la materia prima (leche), tales como carbohidratos, minerales, agua e incluso grasa, formando complejos que se separan gracias a la acción de procesos de hidrólisis (**Ramírez, Aguirre, Aristizabal, & Castro, 2017**).

Los valores de grasa total oscilaron entre 12,95 y 49,22%, mostrando diferencias estadísticas significativas entre los quesos frescos de los distintos cantones de la Provincia de Tungurahua ($P < 0,05$). Según la norma CODEX STAN 283-1978 (**FAO/OMS, 2013**) para quesos, si el contenido de grasa es superior o igual al 25% e inferior al 45% (expresado en porcentaje por masa), se considera como semigraso.

Los porcentajes de grasa por debajo del rango descrito por la norma CODEX, podrían deberse a que muchas industrias lácteas, extraen la grasa de la leche, para ser usada en otros productos como helados, yogurt, postres de cremas, y al elaborar los quesos frescos, la cantidad de grasa es mucho menor a la esperada según el tipo de queso (**Ramírez, 2015**). Mientras que los valores altos pueden ser resultado del completo aprovechamiento de grasa de la leche en el proceso de elaboración del queso (**Villegas, Díaz, & Hernández, 2017**).

Los resultados presentan una similitud con los reportados por **Villegas, Hernández, & Díaz, (2019)**, en su estudio de “Optimización y pasteurización de leche para la elaboración de queso fresco artesanal”, en donde se determinaron valores del contenido de grasa de un 36,08%, encontrándose dentro del rango obtenido de manera experimental. Por otra parte, en una investigación realizada por **Duran et al., (2010)**,

se obtuvieron resultados del contenido de grasa en un intervalo de 18,10 a 24,55% de grasa en extracto seco corroborando los resultados de la investigación realizada.

3.3. Determinación de ácidos grasos saturados e insaturados

En los productos lácteos y sus derivados, la importancia de la determinación de la composición de ácidos grasos radica en la función que estos poseen dentro de las propiedades nutricionales de este tipo de alimentos (**Cabezas, Hernández, & Vargas, 2016**).

Para la obtención de lípidos existen diversos métodos, sin embargo, no todos son útiles para obtener la composición natural de ácidos grasos, como aquellos en los que se tratan las muestras con calor durante períodos prolongados, debido a que pueden provocar la descomposición de lípidos, la volatilización de ácidos grasos esenciales e incluso la formación de moléculas oxidadas como peróxidos, cetonas, etc. (**Esquivel, Castañeda, & Ramírez, 2014**).

Para la determinación de ácidos grasos en los quesos frescos se aplicó una extracción en frío con una mezcla de solventes, que según **Masson, (2016)**, es aplicable a cualquier tipo de alimento y el extracto puede ser empleado para la determinación de ácidos grasos, esteroides, etc. **Massa, Yeannes, & Manca, (2007)**, señalan que los métodos de extracción con solvente como Folch y Bligh&Dyer, han reportado mayor rendimiento en cuanto al contenido de ácidos grasos. Los solventes orgánicos empleados comúnmente son cloroformo, hexano, éter etílico y éter de petróleo en condiciones específicas (**García, Ramos, & Mora, 1999**).

En un trabajo de investigación desarrollado por **Gómez, (2011)**, acerca de la optimización del análisis de ácidos grasos mediante la elección de distintos métodos de extracción, se evaluaron tres metodologías de extracción: el método de Folch, Bligh & Dyer y un método asistido por microondas, donde se determinó que la concentración más alta de ácidos grasos fue obtenida a través del método de Folch con una diferencia del 50% con respecto a los métodos restantes. **Ariza et al., (2011)**, evaluaron diferentes métodos de extracción para verificar su efecto sobre el perfil de ácidos grasos en aceites, se establecieron que el uso de solventes orgánicos en la extracción

en frío presenta el mayor rendimiento (78%) en comparación a los métodos de extracción con calor (58%) y centrifugación (38,3%).

Antes del análisis cromatográfico, es necesario llevar a cabo una transformación de los lípidos en ácidos grasos libres AGL, que pueden ser reconocidos mediante un cromatógrafo de gases. Para ello, se llevó a cabo el proceso de hidrólisis alcalina con la adición de un alcohol de cadena corta y un catalizador alcalino, seguida de una derivatización por metilación, usando un ácido fuerte con un alcohol, formando los nuevos compuestos denominados metil ésteres de ácido grasos (**Tacias, Rosales, & Torrestiana, 2016**).

Para el proceso de extracción de los ésteres metílicos es necesario el uso de un disolvente orgánico. Según **Haro, (2018)** cuando se requiera seleccionar un tipo de solvente es necesario tener en cuenta la solubilidad de los ácidos grasos en este, así como distintos factores como su grado de toxicidad y su eficiencia atómica en los procesos de conversión química. En esta investigación se utilizó hexano por ser menos perjudicial a la salud humana, a diferencia de otros solventes orgánicos.

Análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

La determinación del perfil completo de ácidos grasos se realiza con un patrón de referencia que contiene concentraciones conocidas de una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos, que sirve para la cuantificación en muestras definidas (**García, Molina, García, Sánchez, & Giménez, 1993**). En esta investigación se utilizó el patrón para identificación de ácidos grasos Supelco 37 Component FAME mix C4-C24, aplicado para derivados lácteos.

Las condiciones del certificado de análisis detalladas para el estándar de referencia fueron modificadas, así como la columna y el detector, por lo que es necesario establecer los picos comparando los espectros de masas de cada compuesto con su peso molecular (**López et al., 2009**). Los picos fueron identificados con la base de datos NILTS14.L de acuerdo con su estructura y tiempos de retención; y la cuantificación de ácidos grasos fue realizada usando el área obtenida de los picos.

En la tabla 5, se presentan los metil ésteres de ácidos grasos obtenidos con el análisis del cromatograma a partir del estándar de referencia a una concentración de 500 mg/ml.

Tabla 5. Análisis cromatográfico del estándar de referencia

Analito	Ácido Graso	Tiempo de Retención (min)	% Área
Methyl Hexanoate	Ácido hexanoico	5,908	2,02
Methyl Octanoate	Ácido octanoico	7,105	3,89
Methyl Decanoate (Caprate)	Ácido decanoico	8,755	4,82
Methyl Undecanoate	Ácido undecanoico	9,807	2,5
Methyl Laurate	Ácido dodecanoico	11,032	5,51
Methyl Tridecanoate	Ácido tridecanoico	12,485	2,75
Methyl Myristate	Ácido tetradecanoico	14,157	5,74
Myristoleic Acid Methyl Ester	Ácido 9-tetradecenoico	15,516	2,44
Methyl Pentadecanoate	Ácido pentadecanoico	16,076	2,74
Cis-10-Pentadecenoic Acid Methyl Ester	Ácido cis-10-pentadecenoico	17,593	2,44
Methyl Palmitate	Ácido hexadecanoico	18,187	9,06
Methyl Palmitoleate (Methyl Cis 9-Hexadecenoate)	Ácido palmitoleico	19,542	2,3
Methyl Heptadecanoate	Ácido heptadecanoico	20,508	1,19
CIS-10-HEPTADECENOIC ACID METHYL ESTER (Methyl Cis-10-Heptad)	Ácido cis-10-heptadecenoico	21,933	2,29
Methyl Stearate	Ácido octadecanoico	22,929	5,43
CIS-9-OLEIC ACID METHYL ESTER(Methyl Oleate)	Ácido cis-9-octadecenoico	23,797	2,24
TRANS-9-ELAIDIC ACID METHYL ESTER (Methyl Elaidate)	Ácido trans-9-elaidico	24,203	5,37
Methyl Linoleate	Ácido 9,12-octadecadienoico	25,349	1,97
LINOLELAIDIC ACID METHYL ESTER(Methyl Linolelaidate)	Ácido linolelaidico (ácido graso trans omega-6)	26,312	2,05
GAMMA-LINOLENIC ACID METHYL ESTER (Methyl Gamma-Linolenate)	Ácido cis-6,9,12-octadecatrienoico	27,828	1,94
Methyl Arachidate	Ácido eicosanoico	28,023	5,07
Methyl Linolenate	Ácido cis,cis,cis-9,12,15-octadecatrienoico	28,826	1,92
Methyl Cis-11 Eicosenoate	Ácido cis-11-eicosenoico	29,335	2,13
Methyl Heneicosanoate	Ácido heneicosanoico	30,610	1,83
Cis-11,14-Eicosadienoic Acid Methyl Ester	Ácido cis-11,14-eicosadienoico	31,505	1,72
Cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester	Ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico	33,017	0,78
Methyl Behenate	Ácido docosanoico	33,167	3,81
Cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester	Ácido cis-11,14,17-eicosatrienoico	34,015	1,43
METHYL CIS-5,8,11,14-EICOSATETRAENOIC (Methyl Arachidonate)	Ácido all cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	34,114	1,89

METHYL ERUCATE (CIS-13- DOCOSENOATE) (Methyl Cis-13- Docosenoa)	Ácido cis-13-docosenoico	34,484	1,68
Methyl Tricosanoate	Ácido tricosanoico	35,715	1,23
Cis-13,16-Docosadienoic Acid Methyl Ester	Ácido cis-13,16- docosadienoico	36,711	1,98
Methyl Cis-5,8,11,14,17- Eicosapentaenoate	Ácido eicosapentaenoico	36,820	1,98
METHYL LIGNOCERATE (Methyl Tetracosanoate)	Ácido tetracosanoico	38,550	2
METHYL NERVONATE (Methyl Cis- 15-Tetracosenoate)	Ácido cis-15- tetracosenoico	40,227	0,97
All Cis-4,7,10,13,16,19- Docosaheptaenoate	Ácidos cis- 4,7,10,13,16,19- docosaheptaenoico	45,570	0,91

En la figura 12, se presenta el cromatograma de la mezcla de 37 metil ésteres de ácidos grasos SUPELCO (Component FAME Mix). Para la identificación y cuantificación de los ácidos grasos del patrón de referencia, se compararon los compuestos a través del espectro de masas y el porcentaje de área con el certificado de análisis.

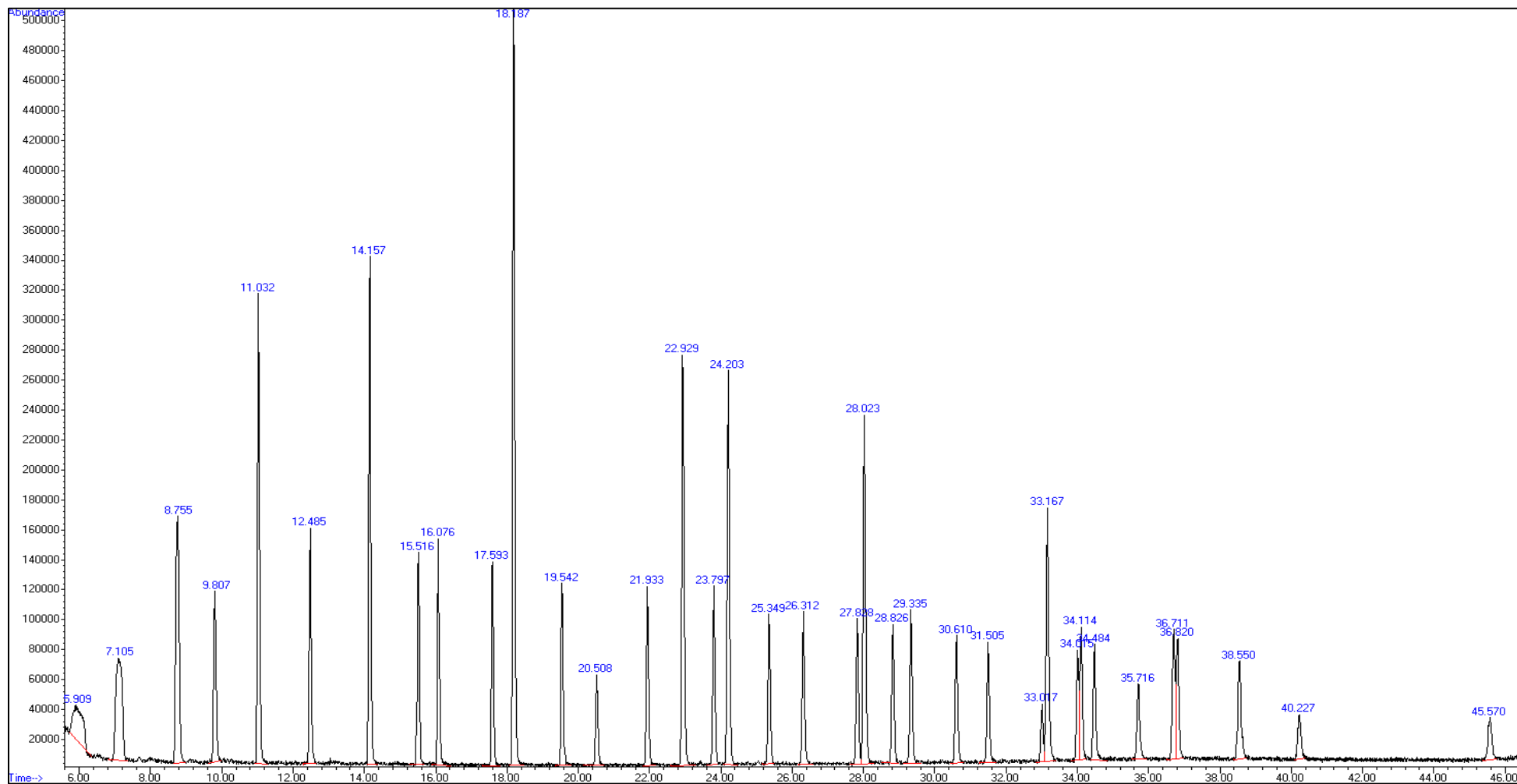


Figura 13. Cromatograma de metil ésteres de ácidos grasos Supelco 37 component FAME mix

En la tabla 6 se presenta el contenido de ácidos grasos (%p/p) en los quesos frescos analizados de los distintos lugares de la provincia de Tungurahua. El perfil de ácidos grasos definido por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas bajo las condiciones del patrón de referencia, fue similar en las muestras estudiadas. Los principales ácidos grasos encontrados en mayor cantidad fueron: ácido mirístico (6-15%), ácido palmítico (20-39%), ácido esteárico (6-16%) y ácido oleico (1-59%).

Tabla 6. Perfil de ácidos grasos de quesos frescos

Ácidos grasos	Perfil de ácidos grasos en muestras de queso fresco (%)														
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15
Ácido caproico	0,985	2,512	0,000	1,074	2,689	1,328	5,047	1,562	1,544	2,908	0,000	0,000	1,145	1,003	2,180
Ácido caprílico	0,392	1,226	1,321	0,926	1,256	1,026	1,587	1,209	0,983	1,352	0,000	0,000	0,557	0,813	0,964
Ácido cáprico	1,572	2,330	2,745	1,733	2,551	2,434	2,927	2,469	1,752	2,550	1,348	3,740	1,769	1,652	1,852
Ácido láurico	1,783	2,586	3,143	1,974	2,951	3,072	3,331	2,854	1,863	2,765	1,511	3,210	1,982	1,976	2,085
Ácido mirístico	7,435	11,007	12,896	7,839	11,500	11,718	13,106	12,059	6,974	14,548	7,361	13,490	7,782	7,832	8,277
Ácido pentadecanoico	0,940	1,427	1,641	0,914	1,255	1,286	1,369	1,464	0,915	1,449	0,000	0,330	0,945	0,938	0,993
Ácido palmítico	20,598	31,126	36,546	21,893	35,114	34,904	34,391	35,742	18,260	31,319	24,439	39,560	21,248	22,015	22,764
Ácido margárico	0,687	1,065	0,000	0,655	1,060	0,986	1,031	1,049	0,727	1,034	0,000	0,000	0,620	0,726	0,663
Ácido esteárico	10,563	16,783	16,090	9,564	14,863	14,103	15,455	16,333	8,801	14,989	6,652	7,311	9,425	9,563	9,186
Ácido miristoleico	1,134	1,683	2,080	1,206	1,660	1,577	2,020	1,951	1,373	1,803	0,000	0,310	1,287	1,240	1,311
Ácido palmitoleico	0,937	1,438	1,728	1,190	1,854	1,899	1,579	1,996	1,288	1,499	0,000	0,000	1,182	1,333	1,240
Ácido oleico	50,481	8,051	1,918	48,734	5,374	6,284	0,000	0,000	52,641	5,093	58,683	41,630	49,780	48,006	47,408
Ácido linoleico	0,819	1,171	0,000	0,924	0,000	1,944	1,356	0,000	1,094	1,425	0,000	0,000	0,832	0,942	0,659
Ácido α -Linolénico	0,564	0,673	0,908	0,527	0,000	0,940	0,882	0,912	0,785	1,135	0,000	0,000	0,463	0,531	0,419
Ácido trans-9-elaidico	0,244	15,445	16,183	0,000	15,347	14,597	14,566	17,625	0,000	15,162	0,000	0,000	0,234	0,775	0,000
Ácido linoleilaidico	0,000	0,000	1,375	0,000	1,644	0,000	0,000	1,445	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Ácido linoleico conjugado 9-cis,11-trans	0,868	1,477	1,426	0,848	0,882	1,230	1,352	1,330	0,999	0,970	0,000	0,000	0,749	0,653	0,000

Según el análisis del perfil de ácidos grasos se presentaron diferencias significativas con los distintos quesos frescos en cuanto a los porcentajes de ácidos grasos saturados e insaturados. **Schettino et al., (2018)**, señala que el contenido de ácidos grasos en los derivados lácteos como los quesos frescos varía debido a distintos factores: la materia prima (leche), la raza del animal, la alimentación, entre otros. En un estudio realizado por **Ortega et al., (2013)**, se identificó el perfil de ácidos grasos de leche de vaca, encontrándose en mayor proporción los ácidos grasos saturados (>50%), similar a los resultados obtenidos en el análisis de quesos frescos, cuyos valores se presentaron entre 41-78% (Anexo H).

Estos valores tienen relación a los presentados por **Haro, (2018)** cuyo resultado de ácidos grasos saturados en quesos con grasa láctea es de 60-70%. Los principales AG saturados identificados en abundancia fueron: mirístico, palmítico y esteárico (14:0, 16:0, 18:0) con un porcentaje promedio de 10,255%, 28,661% y 11,979% respectivamente.

Según **Arias, Keim, Velásquez, & Vargas, (2016)**, los ácidos grasos saturados en especial mirístico, laúrico y palmítico están asociados al desarrollo de enfermedades cardiovasculares, más aún a ataques del corazón. Este tipo de ácidos grasos son reconocidos como dañinos debido a que incrementan el colesterol malo, bajando los niveles del colesterol bueno, al no ser soluble en el torrente sanguíneo, por lo que se impide la unión o fusión con otras moléculas. En un estudio realizado por **Alayón et al., (2017)**, se identifica el impacto negativo generado por las grasas saturadas de los alimentos, ya que estas provocan cambios en los niveles de glucosa, insulina, etc., incrementando las enfermedades cardiovasculares y siendo parte del incremento de la obesidad abdominal. De esta manera la dieta, tiene un rol importante ya sea en la disminución de enfermedades o en la contribución a los problemas de salud (**Granados, Quiles, Gil, & Ramírez, 2006**).

En la dieta, el principal componente del aporte nutricional relacionado con un aumento de los casos de enfermedades cancerígenas son las grasas, esencialmente grasas saturadas. Con respecto a lo mencionado, en una investigación realizada por **Martínez, (2016)**, relacionada con la mortalidad por cáncer en la Provincia de Tungurahua, se

determinaron índices elevados de mortalidad por cáncer de estómago, provocado por la ingesta de alcohol, tabaco y a una mala alimentación, incluyendo el consumo excesivo de grasas malas causantes de este tipo de enfermedades.

Por otra parte, el ácido esteárico es otro ácido graso saturado contenido en los quesos frescos, con un porcentaje superior al 10%, sin embargo, desde la visión de la salud es considerado un componente neutro en comparación a los demás ácidos grasos saturados y trans; e incluso tiene distintas propiedades que permiten reducir el colesterol plasmático (**Arias et al., 2016**).

En cuanto al contenido de ácidos grasos insaturados, los quesos presentaron diferencias significativas entre cada uno y se determinó porcentajes aproximados entre 4 y 53%. Esta variabilidad en el contenido de AG según **Gutiérrez et al., (2014)**, se debe a distintos factores como la calidad del suelo de donde se alimentan las especies bovinas, la leche extraída usada como materia prima en cada sector de la Provincia de Tungurahua e incluso las condiciones climáticas.

El ácido oleico fue el ácido graso de mayor abundancia en los quesos frescos, con una proporción promedio entre muestras de aproximadamente 32,252%. Estos resultados son similares a los obtenidos por **Pulido, Pinzón, & Tarazona, (2018)**, cuyos resultados de la determinación del perfil lipídico en queso fresco, señalan que el ácido oleico mantiene un porcentaje del 30,485%. En otro estudio desarrollado por **Calvo, García, Rodríguez, Juárez, & Fontecha, (2014)**, se muestra que el ácido oleico se mantiene en una proporción aproximada de 20,5%, siendo mayor con respecto a los demás ácidos grasos insaturados.

El ácido oleico es considerado un ácido del grupo omega 9, cuyas propiedades terapéuticas han demostrado beneficios en el tratamiento de pacientes con cáncer gástrico u otras enfermedades gástricas (**Ordoubadi, Somei, & Norazariyan, 2014**) e incluso en el tratamiento de neuropatías actuando como moléculas neuroactivas (**Galán et al., 2017**).

Por otro lado, se encuentran los ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico y linolénico en proporciones relativamente bajas (0,4-1%) pero con un rol importante en la salud y nutrición. Según **Mataix & Gil, (2004)**, estos tipos de ácidos grasos brindan efectos anticancerígenos en los tipos de cáncer asociados con problemas

nutricionales e incluso poseen propiedades antiinflamatorias en enfermedades crónicas (**Donald, 2018**). Otra clasificación determinada fueron los ácidos grasos trans (ácido trans-9-elaidico y ácido linolelaidico) cuya proporción se encontró entre 0,2% y 17%, cuyos resultados son similares a los reportados por **Guzman, (2011)**, en su investigación de ácidos grasos trans, donde señala que diversos lácteos y derivados poseen concentraciones de 1,50% y 4,20% de grasas trans, variando en los procesados lácteos dependiendo de la alimentación del animal del que proviene la materia prima y los tratamientos durante su elaboración artesanal.

En otro estudio desarrollado por **Moreno, Ruiz, Pérez, & Belmonte, (2014)** se analizaron 33 alimentos de distintas clases para identificar la presencia de ácidos grasos trans principalmente el ácido trans9-elaidico, y se obtuvieron los valores más altos en derivados lácteos a diferencia de los alimentos restantes. De acuerdo a lo anterior, varios estudios epidemiológicos señalan que estos ácidos grasos generan un incremento de probabilidades de contraer una enfermedad cardiovascular y además están asociados a efectos negativos como la pérdida de propiedades funcionales de los ácidos grasos esenciales (**Griguol, León, & Vicario, 2007**).

Finalmente, al analizar el perfil lipídico de los quesos frescos, en varias muestras se identificó un ácido graso extra de las diferentes clasificaciones: el ácido linoleico conjugado CLA en un porcentaje promedio entre muestras de 0,852%. A este ácido graso se le ha atribuido propiedades benéficas para la salud, como la disminución del colesterol plasmático, la inhibición del progreso de enfermedades cancerígenas, reducción de lipoproteína de alta densidad LDL y una posible actividad antioxidante celular (**Renes et al., 2019**).

El CLA es una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico y de acuerdo a varios estudios ha sido considerado un factor biológicamente activo, capaz de actuar como anticarcinógeno en contra de melanomas malignos desarrollados en la población (**Parodi, 1994**). El CLA se encuentra comúnmente en derivados lácteos, cuya fuente es la más representativa. En una investigación relacionada con la elaboración de queso fresco y el análisis del CLA, identifica un porcentaje de 0,57% del ácido graso conjugado similar a los datos obtenidos en este análisis cromatográfico (**Castillo, García, López, Solís, & Gonzalez, 2010**).

3.4. Determinación de la calidad nutricional de quesos frescos

Existen distintos factores asociados a la variación en el perfil de ácidos grasos con los que se puede identificar la calidad nutricional de los quesos frescos y de su grasa que son: la proporción $\omega 6/\omega 3$, el índice de saturación (AGsaturados/AGinsaturados) y el índice de aterogeneidad (IA).

Tabla 7. Índices de calidad nutricional

Perfil de ácidos grasos	Perfil de ácidos grasos en muestras de queso fresco (%)														
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15
Ácidos grasos saturados	44,954	70,062	74,382	46,571	73,239	70,856	78,245	74,740	41,820	72,914	41,311	67,641	45,473	46,520	48,963
Ácidos grasos monoinsaturados	52,551	11,172	5,726	51,130	8,888	9,760	3,599	3,947	55,302	8,395	58,683	41,940	52,249	50,579	49,959
Ácidos grasos poliinsaturados	1,383	1,844	0,908	1,451	0,000	2,884	2,238	0,912	1,879	2,559	0,000	0,000	1,295	1,473	1,078
Ácidos grasos insaturados	53,934	13,016	6,634	52,581	8,888	12,644	5,837	4,859	57,181	10,954	58,683	41,940	53,544	52,052	51,037
Relación AGsaturados/AGinsaturados	0,834	5,383	11,211	0,886	8,240	5,604	13,405	15,383	0,731	6,656	0,704	1,613	0,849	0,894	0,959
Relación $\omega 6/\omega 3$	1,453	1,741	0,000	1,751	0,000	2,068	1,537	0,000	1,393	1,255	0,000	0,000	1,795	1,774	1,575
Índice de aterogeneidad	0,966	5,973	13,757	1,050	9,458	6,710	15,443	17,871	0,840	8,424	0,944	2,306	1,015	1,063	1,136

En la tabla 7 se muestran los índices de calidad nutricional, determinados a partir de la sumatoria de los ácidos grasos saturados e insaturados obtenidos del perfil lipídico de cada muestra (Anexo H). Los ácidos grasos saturados (C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0) e insaturados (C14:1 n-5, C16:1 n-7, C18:1 n-9, C18:2 n-6, C18:3 n-3) comprenden los compuestos mayoritarios de los quesos frescos analizados.

Los ácidos grasos AG saturados e insaturados han sido analizados para determinar la calidad nutricional de los quesos frescos, identificando sus propiedades ya sea en beneficio de la salud o como causantes de enfermedades crónicas. Sin embargo, el análisis de la concentración de los AG no es suficiente para analizar sus efectos fisiológicos, por lo que es necesario tomar en cuenta la relación entre ellos (**Ortega et al., 2013**).

El primer indicador analizado es la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados, que se refiere al cociente entre ambos ácidos grasos. Los valores de la relación entre AG saturados e insaturados oscilaron entre 0,704 y 15,383, presentando diferencias significativas entre muestras de quesos frescos. **Riaño et al., (2016)** señalan que un perfil lipídico saludable es aquel que contiene mayor cantidad de ácidos grasos insaturados en relación a los ácidos grasos saturados y que desde el punto de vista de la salud y nutrición, la prevalencia de ácidos grasos saturados significa un riesgo potencial para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

En las muestras de quesos frescos 3, 7 y 8 recolectadas en Mulanleo y Serafin Montesdeoca en Pilahuín y en Marcos Espinel en Píllaro, respectivamente, se determinaron valores altos del índice de AG saturados e insaturados. Las dos primeras empresas pertenecen a un mismo sector por lo que los valores elevados de esta relación de ácidos grasos pueden deberse a la leche obtenida del ganado bovino, cuyos valores de ácidos grasos saturados exceden a diferencia de las muestras restantes.

Con respecto a lo mencionado, en un estudio realizado por **Morales et al., (2018)** relacionado con el efecto del tipo de alimentación en la composición de ácidos grasos en leche de vaca, se indica que una de las fuentes de ácidos grasos saturados es la leche porque las bacterias que metabolizan los alimentos en los rumiantes, alteran los lípidos de la dieta, a través de los procesos de lipólisis y biohidrogenación, transformando los

ácidos grasos insaturados en saturados, lo que conlleva a un aumento de este tipo de ácidos grasos en los derivados lácteos como el queso fresco. Según **Franco, Iglesias, Prieto, & Carballo, (2004)** esta relación no sólo determina la calidad nutricional del alimento si no también, la calidad y consistencia de la grasa expuesta a un enranciamiento autooxidativo, en cuanto a la cantidad de insaturación.

Por otra parte, se determinó la relación entre $\omega 6/\omega 3$, definiendo valores entre 0,000 y 1,795 según la proporción de ácidos grasos omega 6 y omega 3. De acuerdo con **Auqui, (2014)** un desbalance en la relación de ácidos grasos $\omega 6/\omega 3$ y un índice alto de proporción (>2) puede ser considerado uno de los mayores riesgos de generar enfermedades cardiovasculares. Con respecto a los valores cercanos a 1 o una relación 1:1, indica que valores bajos de esta relación de ácidos grasos son beneficiosos para la salud debido a sus efectos bioactivos en la población y sus propiedades para la protección cardíaca.

Estudios clínicos han demostrado que un índice elevado de la relación $\omega 6/\omega 3$, puede ser el causante de distintos trastornos de la salud. Como caso típico, se desarrolló un estudio de la evaluación de la causa o efecto del índice de ácidos grasos $\omega 6/\omega 3$ en neuropatías en niños, identificando que un índice alto de este parámetro si produce alteraciones neurológicas (**Cortés, Hidalgo, Rizo, Aguilar, & Gil, 2013**). Así mismo, se definió que este índice puede incluso ser usado como biomarcador de estados autistas.

Finalmente se analizó al índice de aterogeneidad y las propiedades de los ácidos grasos, definiéndolos como no aterogénicos debido a su capacidad de transformarse en otros ácidos grasos mono o poliinsaturados y ácidos grasos aterogénicos que no tienen la capacidad de ser solubles en agua (**Prieto, Vargas, Angulo, & Mahecha, 2016**).

De acuerdo a los resultados obtenidos del índice de aterogeneidad, los valores oscilan entre 0,84 y 17,87; mostrando diferencias significativas entre muestras. Según (**Castro, Herrera & Lutz, 2005**), los ácidos considerados como aterogénicos interfieren en la función de varios receptores de lipoproteínas de baja densidad al enriquecer a los fosfolípidos de las membranas celulares, y por tanto, limitando la absorción del colesterol malo. Un ejemplo de estos ácidos son el ácido láurico,

mirístico y palmítico. Con respecto al ácido esteárico, este se metaboliza de manera instantánea a ácido oleico, por lo tanto, es considerado como no aterogénico.

En las muestras de quesos frescos 3, 7 y 8, se determinaron valores altos del índice de aterogenicidad, cuyos resultados presentan una mayor probabilidad de formación de ateromas por exceso de lipoproteínas de baja densidad en el torrente sanguíneo, lo que puede conllevar a problemas de aterogénesis (**Madonna & De Caterina, 2012**).

En el índice de aterogenicidad analizado en los quesos frescos, el ácido mirístico y palmítico poseen mayor influencia, debido a que son considerados como los promotores del incremento de colesterol sérico, causante de enfermedades cardiovasculares (**Mosquera, Sánchez, Moreno, & Moreno, 2018**).

3.5. Verificación de hipótesis

Una vez finalizados los análisis de los quesos frescos producidos en la Provincia de Tungurahua, se acepta la hipótesis alternativa, puesto que a pesar de que no existen variaciones significativas en cuanto al análisis fisicoquímico y proximal de los quesos frescos, si hay evidencia de diferencias en la relación de ácidos grasos saturados e insaturados, debido a que cada queso es elaborado a partir de leche de vaca obtenida de distintos sectores, y el tipo de alimentación puede variar, así como el metabolismo de los rumiantes.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

Se evaluó la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados en quesos frescos de consumo masivo en la Provincia de Tungurahua y su efecto sobre la salud, a través de la aplicación de la metodología basada en cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con el análisis de estándares de referencia y los porcentajes de ácidos grasos saturados e insaturados.

Se cuantificó los ácidos grasos en extractos lipídicos obtenidos mediante la extracción de grasas totales con metodologías que constan del uso de solventes orgánicos, para evitar la descomposición de lípidos y la volatilización de ácidos grasos relevantes para el estudio. El porcentaje promedio de grasa total de 26,718%, valor que está dentro de los límites establecidos (<45%). La siguiente etapa comprendió la aplicación de procedimientos de derivatización para la conversión de ácidos grasos en metil ésteres adecuados para el análisis cromatográfico.

Se determinó la proporción de ácidos grasos en las muestras de quesos frescos a través de la determinación del perfil lipídico, por cromatografía de gases, para identificar los ácidos grasos existentes en las muestras, observando la presencia de ácidos grasos saturados, insaturados e incluso ácidos grasos trans y conjugados. Con la aplicación del método de normalización por área con factores de corrección, se cuantificó el porcentaje de los ácidos grasos; así, los principales ácidos grasos obtenidos fueron: ácido mirístico (6-15%), ácido palmítico (20-39%), ácido esteárico (6-16%), ácido oleico (1-59%) y en una menor proporción el ácido linoleico conjugado CLA con 0,852%.

Se estableció la calidad nutricional de los quesos frescos mediante un análisis de los componentes nutricionales con determinaciones fisicoquímicas y proximales. Además, se evaluó tres indicadores nutricionales: relación de AG

saturados e insaturados, relación entre ácidos grasos $\omega 6/\omega 3$ y el índice de aterogeneidad; que dan un indicio de la calidad del alimento y sus beneficios en la salud. Los quesos frescos de las empresas 3, 7 y 8 de los sectores de Pilahuín y Píllaro, se encontraron fuera de los límites en cuanto a la relación de ácidos grasos, por lo tanto, requieren un control de materia prima y procesos tecnológicos.

Se dedujo que no existen razones para la eliminación de la dieta diaria de derivados lácteos como el queso fresco ni la exclusión del consumo de grasa láctea, al no existir una evidencia de los efectos y los riesgos de que la población padezca de enfermedades cardiovasculares (CVD), obesidad y diabetes tipo 2, sin embargo, las cantidades consumidas deben ser las recomendadas para aprovechar el beneficio para la salud que brindan algunos componentes nutricionales de los procesados lácteos.

Se ha identificado que la grasa láctea al contener ácidos grasos potencialmente beneficiosos para la salud humana, podría ser usada como una fuente de extracción de componentes bioactivos (Ej. ácido linoleico conjugado CLA), que pueden ser aprovechados por la industria para la elaboración de alimentos funcionales dirigidos al tratamiento y prevención de enfermedades relacionadas con la salud pública.

4.2. Recomendaciones

Identificar la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados en derivados lácteos con adición de aceites vegetales en reemplazo de grasa láctea.

Desarrollar una tabla de composición de alimentos actualizada de derivados lácteos con el respectivo análisis fisicoquímico, proximal y de ácidos grasos.

Realizar la intervención o aplicación de nuevas tecnologías en las empresas de producción de quesos en donde se encontró una relación de ácidos grasos que va en detrimento de la salud alimentaria de la población de Tungurahua.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, D., Jaimes, J. D. & Espitia, C. R. (2015). Efecto de la Adición de Lactosuero al Queso Costeño Amasado. *Información Tecnológica*, 26(2), 11–16. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000200003>
- Alava, C., Gómez, M. & Maya, J. (2014). Caracterización fisicoquímica del suero dulce obtenido de la producción de queso casero en el municipio de Pasto. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 1, 22. <https://doi.org/10.23850/24220582.110>
- Alayón, A., Rivadeneira, A., Herrera, C., Guzmán, H., Arellano, D. & Echeverri, I. (2017). Impacto metabólico e inflamatorio de una comida rica en grasas saturadas y su relación con la obesidad abdominal. *Biomédica*, 38(1), 93–100. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3911>
- Arias, R., Keim, J., Velásquez, A. & Vargas, E. (2016). ¿Son los ácidos grasos de la carne y la leche bovina nocivos para la salud de las personas? *Revista Chilena de Nutrición*, 43(4), 13–13. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000400013>
- Aripovsky, A., Kolesnik, P., Kulagina, T. & Titov, V. (2018). Preparation of samples for gas-chromatographic determination of fatty acids: direct transesterification of lipids of dry biological sample is preferred in comparison with the methods employing preliminary lipid extraction. *Klin Lab Diagn.*, 63(3), 141–147. <https://doi.org/doi: 10.18821/0869-2084-2018-63-3-141-147>
- Ariza, J., López, F., Coyotl, J., Ramos, M., Díaz, J. & Martínez, A. (2011). Efecto de diferentes métodos de extracción sobre el perfil de ácidos grasos en el aceite de aguacate (*Persea americana* Mill. var. Hass). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2(2), 263–276. Recuperado de <http://oaji.net/articles/2017/4924-1495372756.pdf>
- Association of Official Analytical Chemists AOAC. Official Method 996.06 Fat (Total Saturated and Unsaturated) in Foods Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method (2002).

- Auqui, S. (2014). *Estrategias Productivas y Alimentarias para Mejorar la Calidad de la Canal y de la Carne de Chato Murciano*. Recuperado de <https://tdx.cat/bitstream/handle/10803/277256/TSMAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ballesteros, M., Valenzuela, L., Artalejo, E. & Robles, A. (2012). Ácidos grasos trans: un análisis del efecto de su consumo en la salud humana, regulación del contenido en alimentos y alternativas para disminuirlos. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 54–64.
- Battro, P. (2010). *Quesos artesanales*. Editorial Albatros.
- Cabezas, C., Hernández, B. & Vargas, M. (2016). Aceites y grasas: efectos en la salud y regulación mundial. *Revista de La Facultad de Medicina*, 64(4), 761–768. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v64n4.53684>
- Calvo, M., García, A., Rodríguez, L., Juárez, M. & Fontecha, J. (2014). Grasa láctea: una fuente natural de compuestos bioactivos. *Alimentación, Nutrición y Salud*, 21(3), 57–63.
- Campinas, J. (1991). Cromatografía gás-líquido. In *Métodos Padrões DGF* (pp. 1–16). Brasil: FEA-UNICAMP.
- Castellar, G., Angulo, E. & Cardozo, B. (2014). Transesterificación de aceites vegetales empleando catalizadores heterogéneos Transesterification vegetable oils using heterogeneous catalysts. *Prospect*, 12(2), 90–104.
- Castillo, J., García, G., López, M., Solís, E. & Gonzalez, B. (2010). Elaboración, determinación y estabilidad de queso fresco funcional adicionado con ácido linoleico conjugado, 291–300.
- Castro, M., Herrera, C. & Lutz, G. (2005). Composición, caracterización y potencial aterogénico de aceites, grasas y otros derivados producidos o comercializados en Costa Rica. *Acta Médica Costarricense*, 47(1), 36–42.
- Castro, A., Porras, O., Bermúdez, S., Velasco, N. & Osorio, M. (2016). Detección de *Listeria spp* y *Salmonella spp* en queso y su relación con las características fisicoquímicas. *Revista Politécnica ISSN 1900-2351*, 12(23), 91–98.

- Cortés, E., Hidalgo, M., Rizo, M., Aguilar, M. & Gil, V. (2013). Índice elevado de ácidos grasos omega 6/omega 3 en niños con neuropatías causa o efecto. *Nutrición Hospitalaria*, 28(4), 1165–1170. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.4.6584>
- Díaz, E., Valladares, B., Gutiérrez, A., Arriaga, C., Quintero, B., Cervantes, P. & Velázquez, V. (2017). Caracterización de queso fresco comercializado en mercados fijos y populares de Toluca, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(2), 139–146. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i2.4419>
- Díaz, M., García, M., Jiménez, J. & Villanueva, A. (2016). Inocuidad en alimentos tradicionales: el queso de Poro de Balancán como un caso de estudio. *Journal of Clinical Microbiology*, 25(47), 2403–2406.
- Díez, P. (2014). *Efecto de la hidrólisis ácida en la medición de grasa cruda en leche y cocoa en polvo, chocolate instantáneo y alimento para camarón*. Honduras. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3348/1/AGI-2014-T012.pdf>
- Donald, C. (2018). Topically applied linoleic/linolenic acid for chronic migraine. *Journal of Clinical Neuroscience*, 58, 200–201. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2018.10.013>
- Dupas, M., Benali, M., Pezron, I., Saleh, K. & Metlas, L. (2015). The impact of deliquescence lowering on the caking of powder mixtures. *Powder Technology*, 270, 502–509. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.05.011>
- Durá, T. (2008). Ingesta de leche y derivados lácteos en la población universitaria. *Nutrición Hospitalaria ISSN 0212-1611*, 23(2), 89–94.
- Duran, L., Sánchez, C., Palmero, J., Chaparro, L., Garcia, T. & Sánchez, E. (2010). Caracterización fisicoquímica y microbiológica de quesos de cabra en Carora, estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 28(4), 467–476.
- Esquivel, A., Castañeda, A. & Ramírez, J. (2014). *Cambios químicos de los aceites comestibles durante el proceso de fritura. Riesgos en la salud*. México. Recuperado de <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icbi/n3/e3.html>

- FAO/OMS. (2011). *Leche y Productos Lácteos Leche y Productos Lácteos. CODEX Alimentarius*. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500010>
- FAO/OMS. (2013). Norma General Del Codex para el queso. *CODEX Alimentarius*, 1–4.
- Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T. & Guinee, T. (2004). *Cheese : chemistry, physics and microbiology* (Tercera). Elsevier Academic.
- Francia, R. (2015). *Identificación y cuantificación de isómeros posicionales del ácido palmitoleico (16:1n-7) en muestras biológicas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas*. Universidad de Valladolid. Recuperado de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/158288/1/TFGpalmitoleico.pdf>
- Franco, I., Iglesias, S., Prieto, B. & Carballo, J. (2004). Perfiles de ácidos grasos totales y libres en embutidos crudo-curados tradicionales de Galicia. *Grasas y Aceites*, 55(3), 273–281.
- Gadotti, C., Nelson, L. & Diez, F. (2014). Inhibitory effect of combinations of caprylic acid and nisin on *Listeria monocytogenes* in queso fresco. *Food Microbiology*, 39, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.10.007>
- Galán, I., Serrano, D., Gómez, J., Goicoechea, C., Taylor, J., Velasco, A. & Ávila, G. (2017). The role of Omega-3 and Omega-9 fatty acids for the treatment of neuropathic pain after neurotrauma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1859(9), 1629–1635. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.05.003>
- García, A. & Rodríguez, A. (2016). *Riesgo cardiovascular: Asociación con ingesta de lípidos, actividad física y conductas sedentarias en adultos de la provincia de Córdoba en el año 2015*. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Nutrición.
- García, C., Montiel, R. & Borderas, T. (2014). Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación. *Archivos de Zootecnia*, ISSN 0004-0592, 63(0), 85–105.
- García, B. (2006). *Caracterización Físico-química de diversos tipos de quesos*

elaborados en el valle de Tulancingo, Hidalgo con el fin de proponer normas de calidad. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

García, B., Latorre, J., Giménez, N., Martínez, M., Monteagudo, C., Olea, F. & Mariscal, M. (2015). Ingesta de colesterol y ácidos grasos en deportistas murcianos. *Revista Andaluza de Medicina Del Deporte*, 8(4), 181–182. <https://doi.org/10.1016/j.ramd.2015.01.019>

García, E. & Fernández, I. (2012). *Determinación de proteínas de un alimento por el método Kjeldahl. Valoración con un ácido fuerte.* Recuperado de [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinación de proteínas.pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinación%20de%20proteinas.pdf?sequence=1)

García, J., Molina, E., García, F., Sánchez, J. & Giménez, A. (1993). Cuantificación de ácidos grasos a partir de biomasa microalgal. *Grasas y Aceites*, 44(6), 348–353. <https://doi.org/10.3989/gya.1993.v44.i6.1069>

García, J., Ramos, R. & Mora, J. (1999). *Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas.* *Revista Chapingo Serie Horticultura* (Vol. 5).

Gastalver, M. (2015). *UF1181 - Maduración y envasado de quesos.* (Editorial ELEARNING S:L., Ed.) (Quinta). España.

Gil, Á. & Ruíz, M. (2010). *Tratado de nutrición.* Madrid, España: Médica-Panamericana.

Gómez, B. (2011). Efecto de las lombrices de tierra en la estructura y función de las comunidades microbianas en el proceso de descomposición de la materia orgánica. *Asociacion Española De Ecología Terrestres*, 20(1), 155–162.

Gomis, V. (2008). *Tema 2. Cromatografía: principios generales.* Recuperado de <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8246/7/T2cromagraf.pdf>

González, H. & Visentín, S. (2016). Nutrientes y neurodesarrollo: Lípidos. Actualización. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 114(5), 472–476. <https://doi.org/10.5546/aap.2016.472>

Granados, S., Quiles, J., Gil, A. & Ramírez, M. (2006). Lípidos de la dieta y cáncer.

Nutrición Hospitalaria, 21, 44–54.

- Griguol, V., León, M. & Vicario, I. (2007). Revisión de los niveles de ácidos grasos trans encontrados en distintos tipos de alimentos. *Grasas y Aceites*, 58(1), 87–98.
- Guerrero, C., Salas, W. & Baldeón, E. (2015). Evaluación instrumental de la textura del queso elaborado con suero concentrado por ultrafiltración. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 81(3), 273–282.
- Gutiérrez, R., Ramírez, L., Vega, S., Fontecha, J., Rodríguez, L. & Escobar, A. (2014). Contenido de ácidos grasos en semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) cultivadas en cuatro estados de México. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(3), 199–207.
- Guzman, A. (2011). *Perfil lipídico y contenido de ácidos grasos trans en productos ecuatorianos de mayor consumo*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador .
- Haro, L. (2018). *Comparación del contenido de macronutrientes en fórmulas lácteas infantiles de tipo II y tipo III expandidas en la Ciudad de Trujillo, 2018*. Universidad César Vallejo.
- Hernández, M., Morales, J., Valenzuela, R., Morales, G. & Valenzuela, A. (2016). Beneficios de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3 en la enfermedad por hígado graso no alcohólico. *Revista Chilena de Nutrición*, 43(2), 196–205. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182016000200013>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. NTE INEN 0064: Quesos. Determinación del contenido de grasas : Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) : Free Download, Borrow, and Streaming : Internet Archive (1973).
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. NTE INEN 13: Leche. Determinación de la acidez titulable, Pub. L. No. 13, 7 (1984).
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. (2014). NTE INEN-ISO 707: Leche y productos lácteos. directrices para la toma de muestras (ISO 707:2008, IDT)
- Instituto Nacional de Nutrición. (1975). *Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos*. Guayaquil.
- Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA. (2015).

Manual de toma de muestras de alimentos y bebidas para entidades territoriales de salud, 1, 1–20.

Jiménez, R., Magaña, A., González, N., Vásquez, M. & Acosta, H. (2008). *Microflora asociada al proceso de maduración del queso de poro*.

Lanza, J., Churión, P. & Gómez, N. (2016). Comparación entre el Método Kjeldahl tradicional y el método dumas automatizado (N CUBE) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos. *Saber*, 28(2), 245–249.

Lara, J., Bello, G., Terminiello, L., Lemoine, M., Darré, M., Ortíz, L. & Miceli, E. (2014). *Tecnología de la elaboración de quesos: experiencias de investigación aplicada y capacitación para estudiantes, técnicos, pequeños productores y la comunidad en general*. Universidad Nacional de La Plata.

Legaz, M., Sacristán, M., Díaz, E., Borja, A., Córdoba, C., Aguarales, B. & Córdoba, C. (2011). Curso de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Series, Técnicas y Métodos. *Reduca (Biología)*, 4(3), 33–47.

López, V., Arrubla, V. & Guerrero, G. (2009). Estandarización de análisis de metilésteres de ácidos grasos por la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Scientia Et Technica*, 3(43), 228–233.

Madonna, R. & De Caterina, R. (2012). Aterogénesis y diabetes: resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. *Revista Española de Cardiología*, 65(4), 309–313. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2011.11.010>

Marquéz, B. (2014). “*Cenizas y Grasas* .” Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

Martínez, A., Villoche, A., Ribot, A. & Ponce, P. (2013). Evaluación de la calidad e inocuidad de quesos frescos artesanales de tres regiones de una provincia de Cuba. *Revista de Salud Animal*, 35(3), 210–213.

Martínez, G. (2016). *Mortalidad por cáncer experiencia previa y referencia futura, Provincia De Tungurahua 2000 – 2013*. Universidad Técnica de Ambato.

Massa, A., Yeannes, M. & Manca, E. (2007). Ácidos grasos poliinsaturados de la serie Omega - 3 en ejemplares bonaerenses y patagónicos de anchoíta argentina. *A&G*

66, 1, 568–572.

Masson, L. (2016). *Métodos analíticos para la determinación de humedad, alcohol, energía, materia grasa y colesterol en alimentos*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/ah833s/AH833S16.htm>

Mataix, J. & Gil, A. (2004). *Libro blanco de los Omega-3: los ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud*. (Editorial Médica Panamericana S.A., Ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Meneses, J. & Gil, Á. (2015). *La obesidad. Mediterráneo Económico: Nutrición y Salud*. Recuperado de <http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>.

Morales, E., Domínguez, I., Mejía, L., Cruz, R., Jiménez, J. & Vieyra, R. (2018). Efecto del tipo de alimentación sobre la composición de ácidos grasos en leche de vaca. *AGROProductividad*, 11(11), 21–26.

Moreno, S., Ruiz, B., Pérez, L. & Belmonte, S. (2014). Contenido de ácidos grasos trans en alimentos comercializados en la Comunidad de Madrid (España). *Nutrición Hospitalaria*, 29(1), 180–186. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.1.6980>

Mosquera, A., Sánchez, S., Moreno, A. & Moreno, R. (2018). Estudio del perfil de ácidos grasos en platos tradicionales de la dieta de Ecuador Study of fatty acid profile in typical dishes of Ecuador. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 38(2), 118–121. <https://doi.org/10.12873/382neira>

NMX-F-317-S-1978 (1978). Recuperado de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-317-S-1978.PDF>

Olguín, L. & Rodríguez, H. (2004). *Cromatografía de gases*. México. Recuperado de http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_gases.pdf

Ordoubadi, B., Somei, M. & Norazariyan, M. (2014). The effects of omega 3, 6, 9 fatty acids on the caspase-3 in gastric cancer patients. *Advances in Environmental Biology*, 8(23), 57–63.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación FAO. (2008). *Educación*

Nutricional en el Salvador. Recuperado de <http://www.fao.org/ag/humannutrition/nutritioneducation/49739/es/slv/>

- Ortega, R., Espinoza, J., Palacios, E., Palacios, A., Arjona, O., Murillo, B. & Rivera, F. (2013). Perfil de ácidos grasos en leche de vacas Chinampas (*Bos taurus*) alimentadas con forraje fresco de matorral sarcocauléscente o heno de alfalfa. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 45(1), 45–51. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2013000100008>
- Parodi, P. (1994). *Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat.* *Australian Journal of Dairy Technology (Australia)*. FAO.
- Peláez, P., Fresno, M., Díaz, C. & Darias, J. (2003). Caracterización físico-química de quesos frescos elaborados con leche de cabra en la Isla de Tenerife. *Ciencia y Tecnología de Los Alimentos*, 4(2), 103–108. <https://doi.org/10.1080/11358120309487750>
- Perdomo, C., Gutiérrez, F., García, O., Acevedo, I., Bastidas, Z. & Kowalski, A. (2016). Caracterización Físicoquímica y Bacteriológica. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*, 20(2), 35–44.
- Pino, J. (2017). Revisión de las tendencias en las publicaciones relacionadas con la microextracción en fase sólida y el aroma y sabor de los alimentos durante 1992-2016. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 27(3), 32–36.
- Portilla, M. & Caballero, L. (2009). Influencia de la materia grasa y acidez de la leche sobre las características físico-químicas del queso pera tipo chitaga. *Bistua*, 1, 2–6.
- Prieto, E., Vargas, J., Angulo, J. & Mahecha, L. (2016). Grasa y ácidos grasos en leche de vacas pastoreando, en cuatro sistemas de producción. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 19–42. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.22816>
- Pulido, R., Pinzón, D. & Tarazona, M. (2018). Caracterización nutricional, microbiológica y sensorial de queso fresco. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 38(3), 74–79. <https://doi.org/10.12873/383tarazona>
- Ramírez, C. & Vélez, J. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de

- determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Selectos de Ingeniería En Alimentos*, 6(2), 131–148.
- Ramírez, J., Aguirre, J., Aristizabal, V. & Castro, S. (2017). La sal en el queso: diversas interacciones. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 303. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.21909>
- Ramírez, J. (2015). Diseño de procesos en Industria Láctea: Transformación de lactosuero. *Investigación Aplicada a La Ingeniería de Procesos*, 53–62.
- Renes, E., Gómez, P., Fuente, M., Linares, D., Tornadijo, M. & Fresno, J. (2019). CLA-producing adjunct cultures improve the nutritional value of sheep cheese fat. *Food Research International*, 116, 819–826. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.09.016>
- Riaño, H., Echeverri, G., Aguirre, M., Ortiz, A., Pineda, R. & Olarte, N. (2016). Contenido de grasa total, perfil de ácidos grasos y triglicéridos proveniente de cacaos finos de aroma: Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela. *Vitae*, 23(1), 226–230.
- Ros, E., López, J., Picó, C., Rubio, M., Babio, N., Sala, A., ... Salas, J. (2015). Consenso sobre las grasas y aceites en la alimentación de la población española adulta: postura de la Federación Española de Sociedades de Alimentación, Nutrición y Dietética (FESNAD). *Nutrición Hospitalaria*, 32(2), 435–477. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.2.9202>
- Rosado, T., Corzo, H., Morales, S., Velázquez, A. & Wong, A. (2013). Caracterización fisicoquímica de quesos étnicos del estado de Chiapas. In *División Agroalimentaria* (Vol. 8, pp. 06-10). Universidad Autónoma de Tamaulipas. /
- Schettino, B., Gutiérrez, R., Vega, S., Escobar, A., Pérez, J. & González, M. (2018). Composición láctea y perfil de ácidos grasos en leche de cabra de Guanajuato, México. *Revista de Salud Animal*, 40(2), 45–50.
- Stashenko, E. (2009). *Aceites esenciales* (Primera). Bucaramanga - Santander.
- Tacias, V., Rosales, A. & Torrestiana, B. (2016). Evaluación y caracterización de grasas y aceites residuales de cocina para la producción de biodiésel: un caso de

estudio. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32(3), 303–313.
<https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.03.05>

Villegas, N., Díaz, J., & Hernández, A. (2017). Evaluación de la eficiencia tecnológica en la elaboración artesanal de queso fresco de coagulación enzimática. *Tecnología Química*, 37(3), 380–391.

Villegas, N., Hernández, A., & Díaz, J. (2019). *Optimización de pasteurización de la leche y momento de corte de la cuajada para queso fresco enzimático artesanal*. Cuba. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v38n2/rtq16218.pdf>

ANEXOS

ANEXO A

Tabla 8. Datos para la determinación de pH

N°	Muestra	pH	Promedio pH	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación %
1	E1M1	6,863	6,769	0,081	1,202
	E1M2	6,729			
	E1M3	6,716			
2	E2M1	5,663	5,734	0,086	1,492
	E2M2	5,710			
	E2M3	5,829			
3	E3M1	5,989	5,676	0,271	4,774
	E3M2	5,509			
	E3M3	5,531			
4	E4M1	5,845	5,894	0,086	1,464
	E4M2	5,994			
	E4M3	5,844			
5	E5M1	5,310	5,354	0,039	0,722
	E5M2	5,372			
	E5M3	5,381			
6	E6M1	5,483	5,465	0,016	0,294
	E6M2	5,453			
	E6M3	5,458			
7	E7M1	5,563	5,747	0,163	2,835
	E7M2	5,807			
	E7M3	5,872			
8	E8M1	5,671	5,681	0,033	0,584
	E8M2	5,718			
	E8M3	5,654			
9	E9M1	5,434	5,534	0,134	2,414
	E9M2	5,483			
	E9M3	5,686			
10	E10M1	5,320	5,418	0,187	3,447
	E10M2	5,633			
	E10M3	5,300			
11	E11M1	5,572	5,579	0,008	0,149
	E11M2	5,588			
	E11M3	5,576			
12	E12M1	5,590	5,543	0,051	0,918
	E12M2	5,489			
	E12M3	5,550			
13	E13M1	5,703	5,632	0,084	1,497
	E13M2	5,655			
	E13M3	5,539			
14	E14M1	5,988	5,720	0,240	4,194
	E14M2	5,645			
	E14M3	5,526			
15	E15M1	5,497	5,613	0,115	2,040
	E15M2	5,616			
	E15M3	5,726			

ANEXO B

Tabla 9. Datos para la determinación de acidez

N°	Muestra	% acidez	Promedio acidez	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación %
1	E1M1	0,327	0,356	0,025	6,952
	E1M2	0,373			
	E1M3	0,367			
2	E2M1	0,228	0,235	0,019	7,952
	E2M2	0,222			
	E2M3	0,257			
3	E3M1	0,368	0,375	0,018	4,850
	E3M2	0,361			
	E3M3	0,395			
4	E4M1	0,331	0,295	0,058	19,578
	E4M2	0,326			
	E4M3	0,229			
5	E5M1	0,369	0,369	0,001	0,154
	E5M2	0,370			
	E5M3	0,368			
6	E6M1	0,283	0,277	0,009	3,347
	E6M2	0,266			
	E6M3	0,282			
7	E7M1	0,196	0,230	0,031	13,313
	E7M2	0,239			
	E7M3	0,256			
8	E8M1	0,386	0,394	0,009	2,365
	E8M2	0,404			
	E8M3	0,391			
9	E9M1	0,392	0,378	0,041	10,882
	E9M2	0,410			
	E9M3	0,332			
10	E10M1	0,566	0,561	0,056	9,945
	E10M2	0,614			
	E10M3	0,503			
11	E11M1	0,579	0,616	0,032	5,212
	E11M2	0,633			
	E11M3	0,637			
12	E12M1	0,471	0,464	0,014	3,035
	E12M2	0,474			
	E12M3	0,448			
13	E13M1	0,246	0,237	0,031	13,203
	E13M2	0,263			
	E13M3	0,203			
14	E14M1	0,338	0,314	0,044	13,994
	E14M2	0,264			
	E14M3	0,341			
15	E15M1	0,253	0,291	0,048	16,667
	E15M2	0,345			
	E15M3	0,274			

ANEXO C

Tabla 10. Datos para la determinación de a_w

N°	Muestra	a_w	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación %
1	E1M1	0,973	0,982	0,008	0,845
	E1M2	0,990			
	E1M3	0,983			
2	E2M1	0,962	0,957	0,004	0,462
	E2M2	0,956			
	E2M3	0,953			
3	E3M1	0,967	0,967	0,005	0,484
	E3M2	0,962			
	E3M3	0,971			
4	E4M1	0,971	0,975	0,004	0,400
	E4M2	0,979			
	E4M3	0,974			
5	E5M1	0,977	0,978	0,001	0,092
	E5M2	0,978			
	E5M3	0,979			
6	E6M1	0,992	0,993	0,001	0,114
	E6M2	0,995			
	E6M3	0,993			
7	E7M1	0,986	0,978	0,007	0,698
	E7M2	0,976			
	E7M3	0,972			
8	E8M1	0,977	0,966	0,009	0,962
	E8M2	0,960			
	E8M3	0,962			
9	E9M1	0,990	0,993	0,003	0,322
	E9M2	0,996			
	E9M3	0,993			
10	E10M1	0,998	0,997	0,001	0,145
	E10M2	0,995			
	E10M3	0,997			
11	E11M1	0,987	0,986	0,001	0,088
	E11M2	0,985			
	E11M3	0,985			
12	E12M1	0,981	0,979	0,002	0,179
	E12M2	0,979			
	E12M3	0,977			
13	E13M1	0,994	0,996	0,002	0,197
	E13M2	0,998			
	E13M3	0,996			
14	E14M1	0,982	0,976	0,006	0,601
	E14M2	0,972			
	E14M3	0,973			
15	E15M1	0,982	0,983	0,002	0,190
	E15M2	0,982			
	E15M3	0,274			

ANEXO C

Tabla 11. Datos para la determinación de humedad

N° Muestra	Réplicas	Peso Cápsula + Arena	Peso Muestra húmeda	Peso Inicial (Pi)	Peso final (Pf)	Cantidad de Agua (Pi-Pf)	%Humedad	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
1	E1M1	30,211	5,052	35,263	32,934	2,329	46,101	46,829	0,670	1,430
	E1M2	54,804	5,19	59,994	57,533	2,461	47,418			
	E1M3	41,258	5,261	46,519	44,048	2,471	46,968			
2	E2M1	28,193	5,503	33,696	30,398	3,298	59,931	59,226	1,267	2,140
	E2M2	29,562	5,018	34,58	31,57	3,01	59,984			
	E2M3	29,492	5,945	35,437	32,003	3,434	57,763			
3	E3M1	34,662	5,68	40,342	37,305	3,037	53,468	53,349	0,356	0,667
	E3M2	27,356	5,63	32,986	30,005	2,981	52,948			
	E3M3	37,963	5,07	43,033	40,314	2,719	53,629			
4	E4M1	29,817	6,692	36,509	33,505	3,004	44,889	46,759	1,753	3,750
	E4M2	29,666	5,372	35,038	32,512	2,526	47,022			
	E4M3	29,276	5,357	34,633	32,042	2,591	48,367			
5	E5M1	36,059	5,164	41,223	38,445	2,778	53,796	52,744	0,912	1,728
	E5M2	40,523	5,034	45,557	42,93	2,627	52,185			
	E5M3	36,547	5,022	41,569	38,945	2,624	52,250			
6	E6M1	37,6	5,044	42,644	39,551	3,093	61,320	61,322	0,227	0,369
	E6M2	27,307	5,123	32,43	29,3	3,13	61,097			
	E6M3	49,763	5,303	55,066	51,802	3,264	61,550			
7	E7M1	90,918	12,868	103,786	96,166	7,62	59,217	57,693	2,604	4,513
	E7M2	33,07	6,942	40,012	35,904	4,108	59,176			
	E7M3	27,378	5,142	32,52	29,708	2,812	54,687			

8	E8M1	30,532	5,08	35,612	32,806	2,806	55,236	55,461	0,195	0,352
	E8M2	36,059	5,08	41,139	38,315	2,824	55,591			
	E8M3	34,969	5,157	40,126	37,261	2,865	55,556			
9	E9M1	40,556	5,693	46,249	43,36	2,889	50,747	52,221	1,293	2,477
	E9M2	26,223	5,812	32,035	28,969	3,066	52,753			
	E9M3	36,343	5,784	42,127	39,052	3,075	53,164			
10	E10M1	32,222	6,284	38,506	35,023	3,483	55,426	55,834	0,750	1,343
	E10M2	27,106	5,096	32,202	29,38	2,822	55,377			
	E10M3	54,21	5,127	59,337	56,43	2,907	56,700			
11	E11M1	26,8	5,051	31,851	29,025	2,826	55,949	54,898	1,347	2,454
	E11M2	27,307	5,144	32,451	29,603	2,848	55,365			
	E11M3	50,357	5,045	55,402	52,709	2,693	53,380			
12	E12M1	27,633	5,184	32,817	30,186	2,631	50,752	49,942	0,783	1,567
	E12M2	24,43	5,146	29,576	27,009	2,567	49,883			
	E12M3	50,494	5,064	55,558	53,067	2,491	49,190			
13	E13M1	62,149	7,073	69,222	65,068	4,154	58,730	57,186	1,882	3,291
	E13M2	29,691	5,752	35,443	32,122	3,321	57,736			
	E13M3	30,509	5,678	36,187	33,059	3,128	55,090			
14	E14M1	34,83	6,078	40,908	37,635	3,273	53,850	52,936	0,793	1,497
	E14M2	50,361	5,319	55,68	52,891	2,789	52,435			
	E14M3	62,764	5,348	68,112	65,303	2,809	52,524			
15	E15M1	29,25	5,526	34,776	31,664	3,112	56,316	58,517	1,998	3,415
	E15M2	54,674	6,47	61,144	57,248	3,896	60,216			
	E15M3	29,069	5,461	34,53	31,307	3,223	59,018			

ANEXO D

Tabla 12. Datos para la determinación de cenizas

N° Muestra	Réplicas	Peso Crisol	Peso Muestra húmeda	Crisol+Muestra	Crisol+Cenizas	%Cenizas	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
1	E1M1	15,986	3,242	19,228	16,106	3,701	3,570	0,126	3,529
	E1M2	26,923	3,188	30,111	27,033	3,450			
	E1M3	15,238	3,177	18,415	15,351	3,557			
2	E2M1	34,967	3,785	38,752	35,146	4,729	4,652	0,089	1,913
	E2M2	24,474	4,046	28,520	24,663	4,671			
	E2M3	16,407	3,030	19,437	16,545	4,554			
3	E3M1	37,592	3,758	41,350	37,704	2,980	3,423	0,383	11,200
	E3M2	28,498	3,540	32,038	28,627	3,644			
	E3M3	26,798	3,512	30,310	26,926	3,645			
4	E4M1	25,762	3,492	29,254	25,897	3,866	3,785	0,444	11,717
	E4M2	15,441	3,825	19,266	15,601	4,183			
	E4M3	25,989	3,417	29,406	26,102	3,307			
5	E5M1	36,059	3,164	39,223	36,165	3,350	3,623	0,283	7,804
	E5M2	23,720	3,142	26,862	23,843	3,915			
	E5M3	27,633	3,052	30,685	27,743	3,604			
6	E6M1	37,600	3,044	40,644	37,678	2,562	2,517	0,361	14,327
	E6M2	39,597	3,085	42,682	39,685	2,853			
	E6M3	30,526	3,465	33,991	30,600	2,136			
7	E7M1	23,011	3,326	26,337	23,101	2,706	3,215	0,453	14,085
	E7M2	27,722	3,527	31,249	27,848	3,572			

	E7M3	15,784	3,682	19,466	15,908	3,368			
8	E8M1	30,532	3,080	33,612	30,636	3,377	3,353	0,036	1,073
	E8M2	27,666	3,412	31,078	27,781	3,370			
	E8M3	36,059	3,050	39,109	36,160	3,311			
9	E9M1	26,565	3,331	29,896	26,637	2,162	2,228	0,303	13,602
	E9M2	30,535	3,158	33,693	30,597	1,963			
	E9M3	21,955	3,557	25,512	22,046	2,558			
10	E10M1	15,662	3,426	19,088	15,732	2,043	2,200	0,138	6,260
	E10M2	27,719	3,824	31,543	27,807	2,301			
	E10M3	27,666	3,325	30,991	27,741	2,256			
11	E11M1	26,800	3,051	29,851	26,877	2,524	2,269	0,228	10,053
	E11M2	28,498	3,023	31,521	28,561	2,084			
	E11M3	16,407	3,502	19,909	16,484	2,199			
12	E12M1	27,633	3,184	30,817	27,721	2,764	2,952	0,232	7,870
	E12M2	25,622	3,145	28,767	25,723	3,211			
	E12M3	28,743	3,021	31,764	28,830	2,880			
13	E13M1	15,509	3,012	18,521	15,600	3,021	2,088	0,809	38,735
	E13M2	21,870	3,064	24,934	21,921	1,664			
	E13M3	27,305	3,482	30,787	27,360	1,580			
14	E14M1	36,059	4,408	40,467	36,198	3,153	3,519	0,465	13,221
	E14M2	24,428	3,391	27,819	24,542	3,362			
	E14M3	23,719	3,809	27,528	23,873	4,043			
15	E15M1	26,973	3,092	30,065	27,070	3,137	2,722	0,440	16,150
	E15M2	15,726	3,359	19,085	15,819	2,769			
	E15M3	15,619	3,228	18,847	15,692	2,261			

ANEXO E**Tabla 13. Datos para la determinación de proteína**

N°	Muestra	Peso Muestra (g)	Nitrógeno (%)	Proteína Total %(N*6,38)
1	E1M1	0,573	3,481	22,209
2	E2M1	0,714	3,302	21,068
3	E3M1	0,786	2,630	16,778
4	E4M1	0,707	2,492	15,900
5	E5M1	0,567	2,549	16,264
6	E6M1	0,529	2,178	13,898
7	E7M1	0,577	2,596	16,563
8	E8M1	0,510	2,156	13,753
9	E9M1	0,698	4,406	28,113
10	E10M1	0,571	2,276	14,520
11	E11M1	0,511	2,413	15,392
12	E12M1	0,529	4,012	25,599
13	E13M1	0,518	2,482	15,834
14	E14M1	0,529	2,492	15,901
15	E15M1	0,530	2,326	14,840

ANEXO F

Tabla 14. Datos para la determinación de grasa total

N° Muestra	Réplicas	Peso Recipiente (g)	Peso Muestra seca (g)	Peso final (Pf)	Peso grasa bruta (Pi-Pf)	% Grasa	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación %
1	E1M1	71,464	5,389	73,791	2,327	43,181	44,394	1,177	2,650
	E1M2	75,023	5,210	77,340	2,317	44,472			
	E1M3	74,506	5,324	76,930	2,424	45,530			
2	E2M1	73,953	5,816	75,253	1,300	22,352	22,876	0,665	2,906
	E2M2	73,930	5,050	75,123	1,193	23,624			
	E2M3	73,456	5,152	74,623	1,167	22,651			
3	E3M1	75,023	5,120	76,394	1,371	26,777	26,524	0,417	1,572
	E3M2	74,500	5,080	75,823	1,323	26,043			
	E3M3	74,152	5,263	75,560	1,408	26,753			
4	E4M1	72,315	5,014	73,012	0,697	13,901	13,619	0,458	3,365
	E4M2	70,893	5,236	71,619	0,726	13,866			
	E4M3	73,423	5,042	74,083	0,660	13,090			
5	E5M1	75,022	5,524	76,156	1,134	20,529	21,429	0,781	3,644
	E5M2	73,456	5,498	74,657	1,201	21,844			
	E5M3	70,900	5,503	72,106	1,206	21,915			
6	E6M1	74,510	5,326	76,226	1,716	32,219	32,515	0,556	1,711
	E6M2	75,022	5,302	76,780	1,758	33,157			
	E6M3	74,500	5,300	76,205	1,705	32,170			

7	E7M1	73,950	5,168	75,272	1,322	25,580	25,370	0,286	1,126
	E7M2	70,892	5,023	72,150	1,258	25,045			
	E7M3	73,952	5,152	75,265	1,313	25,485			
8	E8M1	70,900	5,785	72,035	1,135	19,620	21,281	1,863	8,754
	E8M2	71,465	5,645	72,780	1,315	23,295			
	E8M3	71,453	5,304	72,563	1,110	20,928			
9	E9M1	72,320	5,140	74,052	1,732	33,696	32,830	0,822	2,504
	E9M2	75,020	5,160	76,709	1,689	32,733			
	E9M3	72,335	5,240	74,015	1,680	32,061			
10	E10M1	75,020	5,160	76,210	1,190	23,062	23,258	0,172	0,739
	E10M2	70,890	5,230	72,110	1,220	23,327			
	E10M3	72,330	5,012	73,502	1,172	23,384			
11	E11M1	71,464	5,262	74,142	2,678	50,893	49,217	1,462	2,971
	E11M2	73,421	5,034	75,865	2,444	48,550			
	E11M3	74,500	5,325	77,067	2,567	48,207			
12	E12M1	73,950	5,713	75,087	1,137	19,902	20,110	0,302	1,502
	E12M2	74,510	5,035	75,540	1,030	20,457			
	E12M3	75,022	5,012	76,023	1,001	19,972			
13	E13M1	73,952	5,263	75,230	1,278	24,283	24,782	0,525	2,118
	E13M2	74,501	5,454	75,850	1,349	24,734			
	E13M3	70,896	5,010	72,165	1,269	25,329			
14	E14M1	72,341	5,098	73,842	1,501	29,443	29,612	0,538	1,818
	E14M2	70,891	5,240	72,420	1,529	29,179			
	E14M3	73,953	5,623	75,652	1,699	30,215			
15	E15M1	73,421	5,023	74,025	0,604	12,025	12,946	0,916	7,078
	E15M2	71,464	5,141	72,130	0,666	12,955			
	E15M3	71,453	5,102	72,160	0,707	13,857			

ANEXO G

Tabla 15. Datos para la determinación de ácidos grasos

Nombre IUPAC Ácido Graso	Nombre trivial	Número Lipídico	CAS	Tiempo de Retención (min)	% Área	Factor de Calibración fi	Peso molecular Ácido graso	Peso molecular Éster metílico
Ácido hexanoico	Ácido caproico	C6:0	106-70-7	5,908	2,02	1,980	116,160	130,180
Ácido octanoico	Ácido caprílico	C8:0	111-11-5	7,105	3,89	1,028	144,220	158,240
Ácido decanoico	Ácido cáprico	C10:0	110-42-9	8,755	4,82	0,830	172,270	186,280
Ácido undecanoico	-	C11:0	1731-86-8	9,807	2,5	0,800	186,280	200,320
Ácido dodecanoico	Ácido láurico	C12:0	111-82-0	11,032	5,51	0,726	200,320	214,350
Ácido tridecanoico	-	C13:0	1731-88-0	12,485	2,75	0,727	214,350	228,380
Ácido tetradecanoico	Ácido mirístico	C14:0	124-10-7	14,157	5,74	0,697	228,380	242,410
Ácido 9- tetradecenoico	Ácido miristoleico	C14:1 n-5	56219-06-8	15,516	2,44	0,820	226,360	240,390
Ácido pentadecanoico		C15:0	7132-64-1	16,076	2,74	0,730	242,410	256,430
Ácido cis-10- pentadecenoico		C15:1	90176-52-6	17,593	2,44	0,820	240,390	254,420
Ácido hexadecanoico	Ácido palmítico	C16:0	112-39-0	18,187	9,06	0,662	256,430	270,460
	Ácido palmitoleico	C16:1 n-7	1120-25-8	19,542	2,3	0,870	254,420	268,440

Ácido heptadecanoico	Ácido margárico	C17:0	1731-92-6	20,508	1,19	1,008	270,460	289,490
Ácido cis-10-heptadecenoico		C17:1	75190-82-8	21,933	2,29	0,873	268,440	282,470
Ácido octadecanoico	Ácido esteárico	C18:0	112-61-8	22,929	5,43	0,737	284,490	298,510
Ácido cis-9-octadecenoico	Ácido oleico cis	C18:1 n-9	112-62-9	23,797	2,24	1,786	282,470	296,500
Ácido trans-9-elaidico	Ácido elaídico trans- Δ^9	C18:1 n-9	1937-62-8	24,203	5,37	0,372	282,470	296,500
Ácido 9,12-octadecadienoico	Ácido linoleico cis,cis- Δ^9,Δ^{12}	C18:2 n-6	112-63-0	25,349	1,97	1,015	280,450	294,480
Ácido linolelaidico (ácido graso trans omega-6)	trans,trans- Δ^9,Δ^{12}	C18:2 n-6	2566-97-4	26,312	2,05	0,976	280,450	294,480
Ácido cis-6,9,12-octadecatrienoico	Ácido γ -Linolénico GLA	C18:3 n-6	16326-32-2	27,828	1,94	1,031	278,440	292,470
Ácido eicosanoico	Ácido araquídico	C20:0	1120-28-1	28,023	5,07	0,789	312,540	326,570
Ácido cis,cis,cis-9,12,15-octadecatrienoico	Ácido α -Linolénico ALA	C18:3 n-3	301-00-8	28,826	1,92	1,042	278,440	292,470
Ácido cis-11-eicosenoico	Ácido eicosenoico	C20:1 n-9	23900-9-2	29,335	2,13	0,939	310,530	324,560
Methyl 9-cis,11-trans-octadecadienoico		C18:2 n-6	336-44-0	29,363	0,65	1,000	280,450	294,480

	Ácido heneicosanoico	C21:0	6064-90-0	30,61	1,83	1,093	326,560	340,580
Ácido cis-11,14-eicosadienoico	Ácido eicosadienoico	20:2 (n-6)	24630-2-7	31,505	1,72	1,163	308,510	322,530
Ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico	dihomo- γ -linolénico	20:3 ω -6	21061-10-9	33,017	0,78	2,000	306,490	320,510
Ácido docosanoico	Ácido behénico	C22:0	929-77-1	33,167	3,81	1,050	340,600	354,620
Ácido cis-11,14,17-eicosatrienoico		20:3 ω -3	55682-88-7	34,015	1,43	1,049	306,490	320,510
Ácido all cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	Ácido araquidónico	20:4 ω -6	2566-89-4	34,114	1,89	1,058	304,480	318,500
Ácido cis-13-docosenoico	Ácido erúcico	C22:1 n-9	1120-34-9	34,484	1,68	1,190	338,580	352,610
-	Ácido tricosanoico	C23:0	2433-97-8	35,715	1,23	1,488	354,620	368,640
Ácido cis-13,16-docosadienoico		C22:2 n-6	61012-47-3	36,711	1,98	1,010	336,560	350,580
Ácido eicosapentaenoico	Ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	20:5 ω -3	2734-47-6	36,820	1,98	0,889	302,460	316,480
Ácido tetracosanoico	Ácido lignocérico	C24:0	2442-49-1	38,550	2	2,000	368,650	382,680
Ácido cis-15-tetracosenoico	Ácido nervónico	C24:1 n-9	2733-88-2	40,227	0,97	2,062	366,630	380,650
Ácidos cis-4,7,10,13,16,19-docosaheptaenoico	Ácido docosaheptaenoico	C24:5 n-3	2566-90-7	45,57	0,91	2,044	328,500	342,520

ANEXO H

Tabla 16. Porcentaje de Ácidos grasos saturados, insaturados, trans y conjugado e indicadores

ÁCIDOS GRASOS		E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15
N°	Nombre trivial	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
ÁCIDOS GRASOS SATURADOS																
1	Ácido caproico	0,985	2,512	0,000	1,074	2,689	1,328	5,047	1,562	1,544	2,908	0,000	0,000	1,145	1,003	2,180
2	Ácido caprílico	0,392	1,226	1,321	0,926	1,256	1,026	1,587	1,209	0,983	1,352	0,000	0,000	0,557	0,813	0,964
3	Ácido cáprico	1,572	2,330	2,745	1,733	2,551	2,434	2,927	2,469	1,752	2,550	1,348	3,740	1,769	1,652	1,852
5	Ácido láurico	1,783	2,586	3,143	1,974	2,951	3,072	3,331	2,854	1,863	2,765	1,511	3,210	1,982	1,976	2,085
7	Ácido mirístico	7,435	11,007	12,896	7,839	11,500	11,718	13,106	12,059	6,974	14,548	7,361	13,490	7,782	7,832	8,277
8	Ácido pentadecanoico	0,940	1,427	1,641	0,914	1,255	1,286	1,369	1,464	0,915	1,449	0,000	0,330	0,945	0,938	0,993
9	Ácido palmítico	20,598	31,126	36,546	21,893	35,114	34,904	34,391	35,742	18,260	31,319	24,439	39,560	21,248	22,015	22,764
10	Ácido margárico	0,687	1,065	0,000	0,655	1,060	0,986	1,031	1,049	0,727	1,034	0,000	0,000	0,620	0,726	0,663
11	Ácido estearico	10,563	16,783	16,090	9,564	14,863	14,103	15,455	16,333	8,801	14,989	6,652	7,311	9,425	9,563	9,186
SUMATORIA ÁCIDOS GRASOS SATURADOS		44,954	70,062	74,382	46,571	73,239	70,856	78,245	74,740	41,820	72,914	41,311	67,641	45,473	46,520	48,963
ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS																
1	Ácido miristoleico	1,134	1,683	2,080	1,206	1,660	1,577	2,020	1,951	1,373	1,803	0,000	0,310	1,287	1,240	1,311
3	Ácido palmitoleico	0,937	1,438	1,728	1,190	1,854	1,899	1,579	1,996	1,288	1,499	0,000	0,000	1,182	1,333	1,240
5	Ácido oleico cis	50,481	8,051	1,918	48,734	5,374	6,284	0,000	0,000	52,641	5,093	58,683	41,630	49,780	48,006	47,408
Sumatoria		52,551	11,172	5,726	51,130	8,888	9,760	3,599	3,947	55,302	8,395	58,683	41,940	52,249	50,579	49,959

ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS																
1	Ácido linoleico <i>cis,cis</i> - Δ^9,Δ^{12}	0,819	1,171	0,000	0,924	0,000	1,944	1,356	0,000	1,094	1,425	0,000	0,000	0,832	0,942	0,659
3	Ácido α -Linolénico ALA	0,564	0,673	0,908	0,527	0,000	0,940	0,882	0,912	0,785	1,135	0,000	0,000	0,463	0,531	0,419
Sumatoria		1,383	1,844	0,908	1,451	0,000	2,884	2,238	0,912	1,879	2,559	0,000	0,000	1,295	1,473	1,078
SUMATORIA ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS		53,934	13,016	6,634	52,581	8,888	12,644	5,837	4,859	57,181	10,954	58,683	41,940	53,544	52,052	51,037
RELACIÓN AGsaturados/AGinsaturados		0,834	5,383	11,211	0,886	8,240	5,604	13,405	15,383	0,731	6,656	0,704	1,613	0,849	0,894	0,959
RELACIÓN n6/n3		1,453	1,741	0,000	1,751	0,000	2,068	1,537	0,000	1,393	1,255	0,000	0,000	1,795	1,774	1,575
Índice de aterogeneidad		0,966	5,973	13,757	1,050	9,458	6,710	15,443	17,871	0,840	8,424	0,944	2,306	1,015	1,063	1,136
ÁCIDOS GRASOS TRANS																
1	Ácido elaídico trans- $\Delta 9$	0,244	15,445	16,183	0,000	15,347	14,597	14,566	17,625	0,000	15,162	0,000	0,000	0,234	0,775	0,000
2	Ácido linolelaídico	0,000	0,000	1,375	0,000	1,644	0,000	0,000	1,445	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Sumatoria		0,244	15,445	17,558	0,000	16,991	14,597	14,566	19,071	0,000	15,162	0,000	0,000	0,234	0,775	0,000
ÁCIDOS GRASOS CONJUGADOS																
1	9(Z),11(E)-Ácido linoleico conjugado	0,868	1,477	1,426	0,848	0,882	1,230	1,352	1,330	0,999	0,970	0,000	0,000	0,749	0,653	0,000

ANEXO I: Cromatogramas de quesos frescos

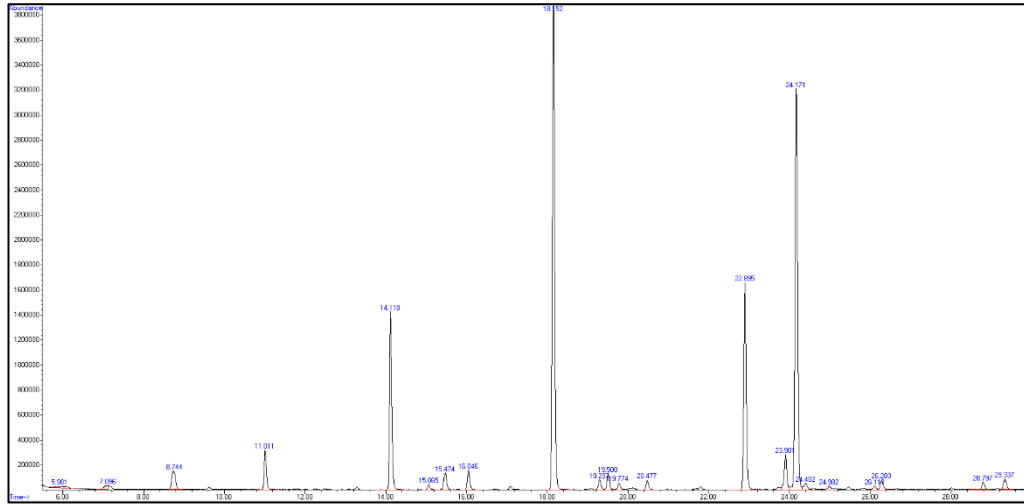


Figura 14. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 1

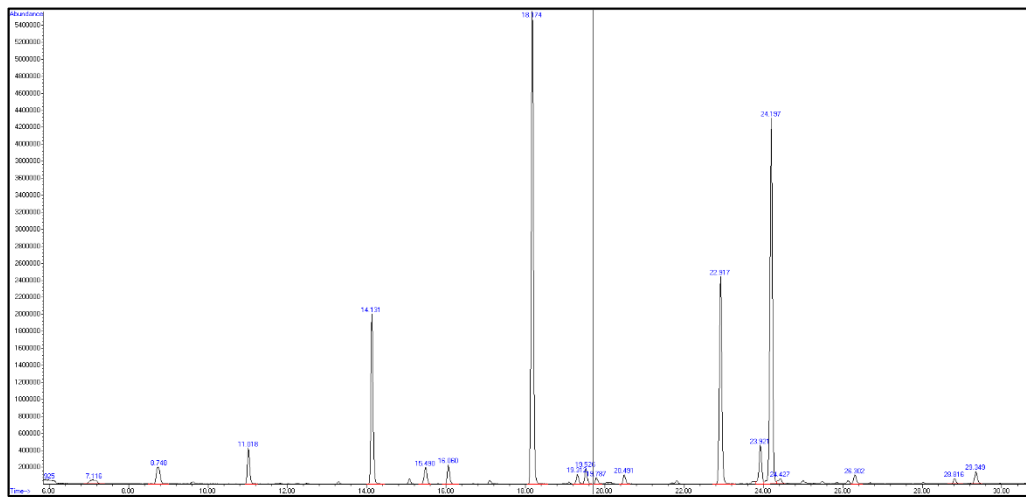


Figura 15. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 2

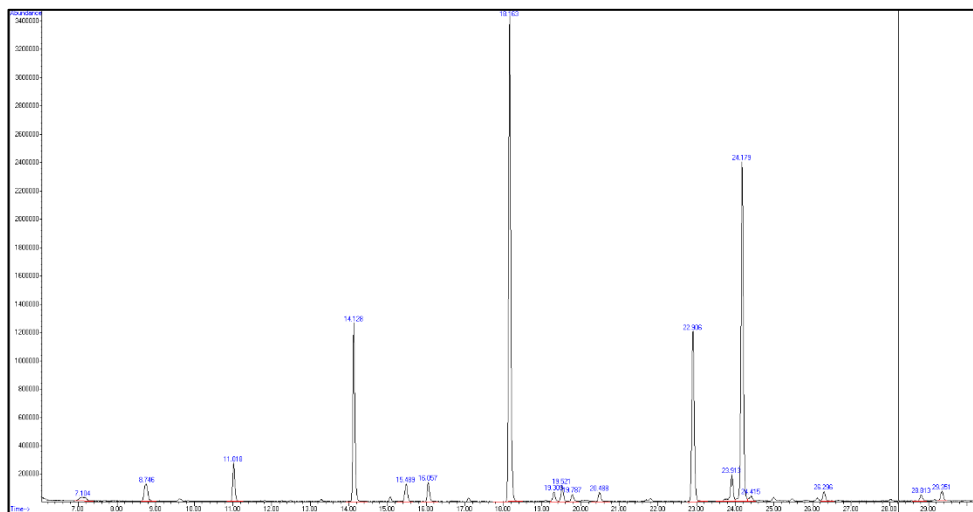


Figura 16. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 3

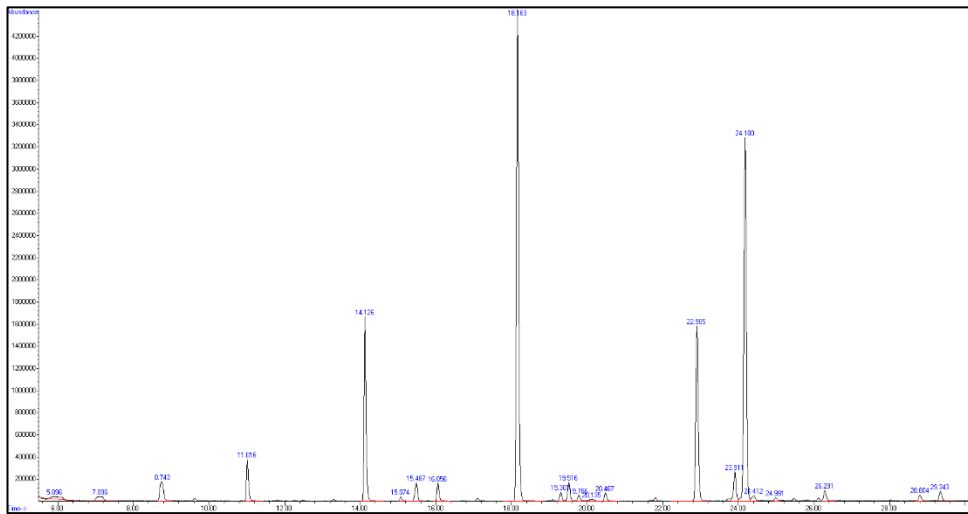


Figura 17. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 4

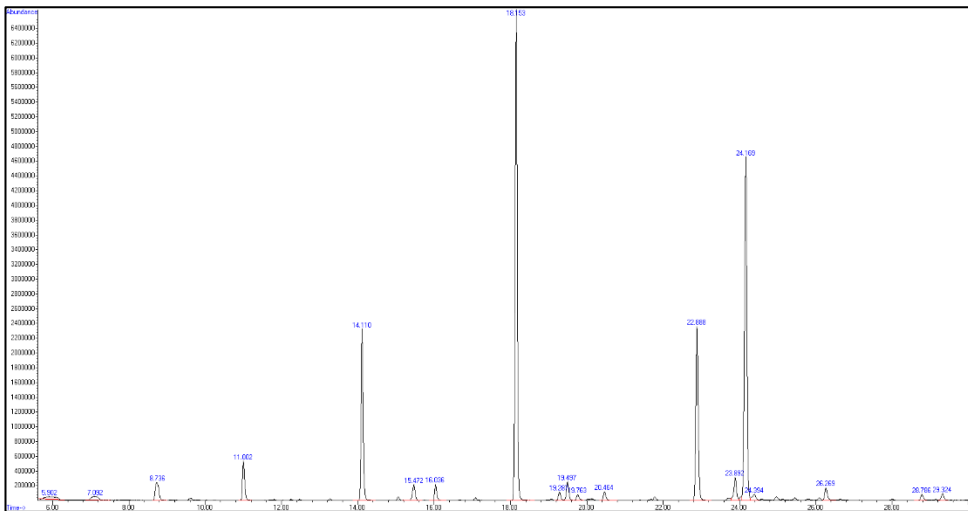


Figura 18. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 5

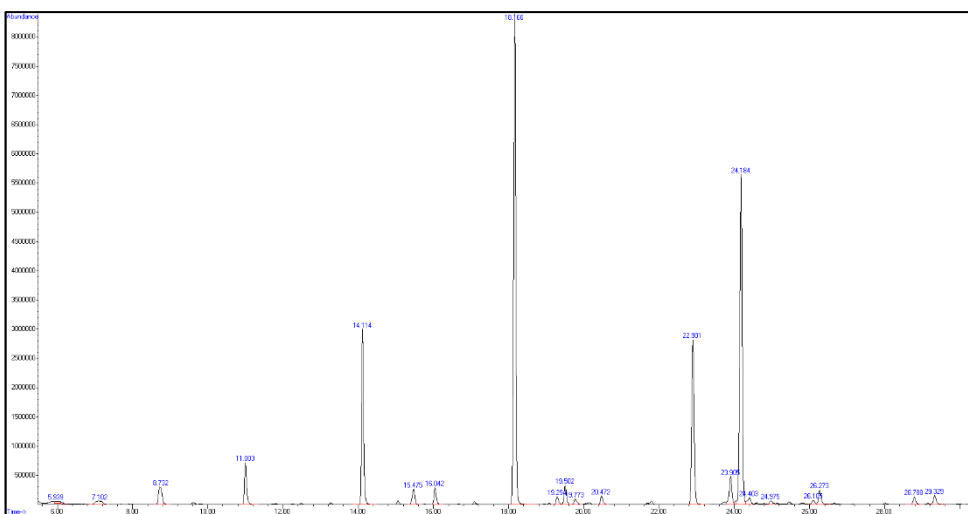


Figura 19. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 6

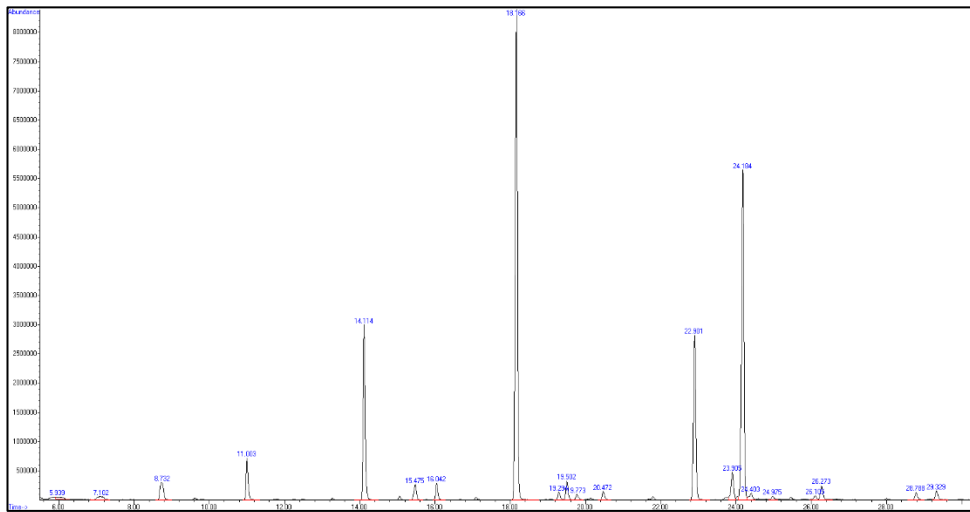


Figura 20. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 7

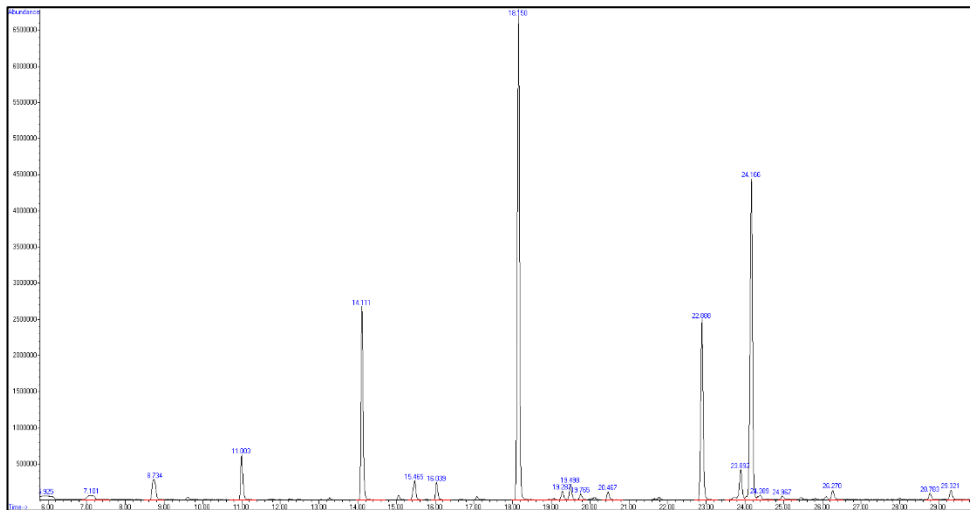


Figura 21. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 8

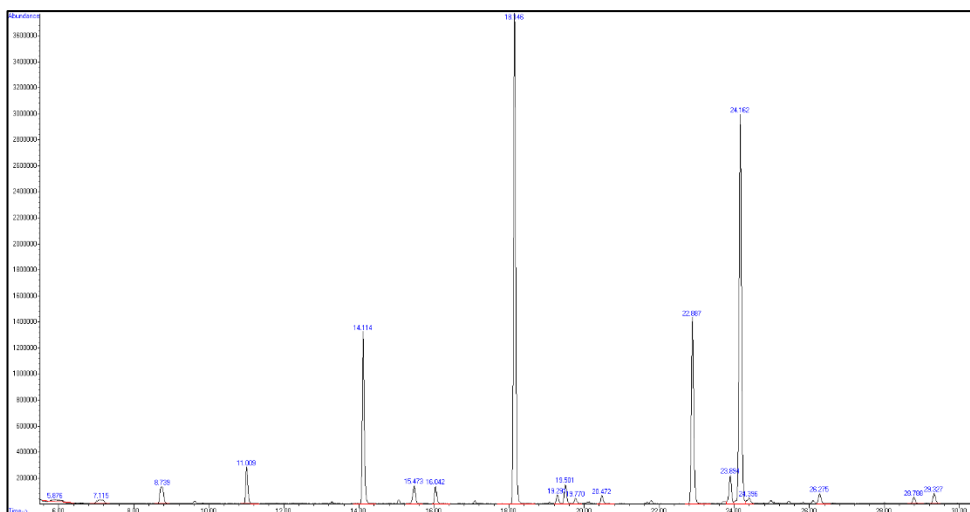


Figura 22. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 9

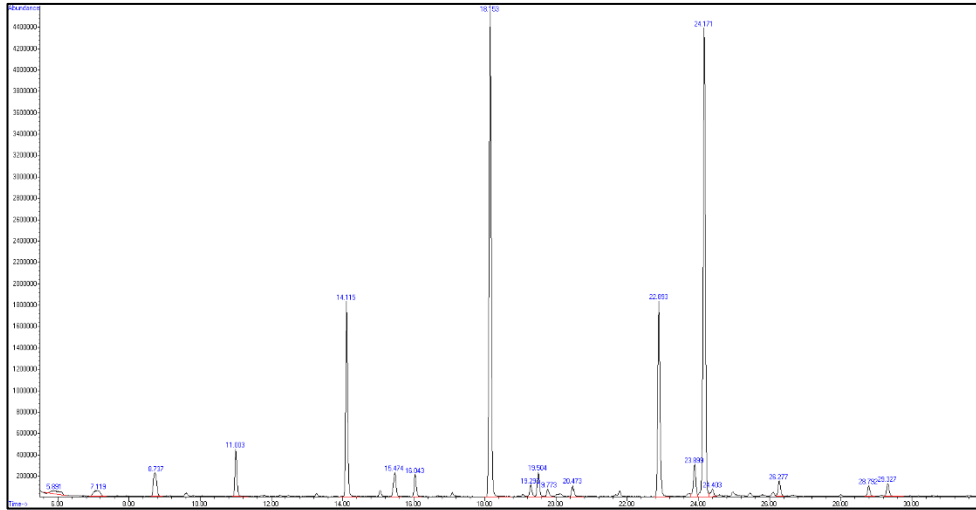


Figura 23. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 10

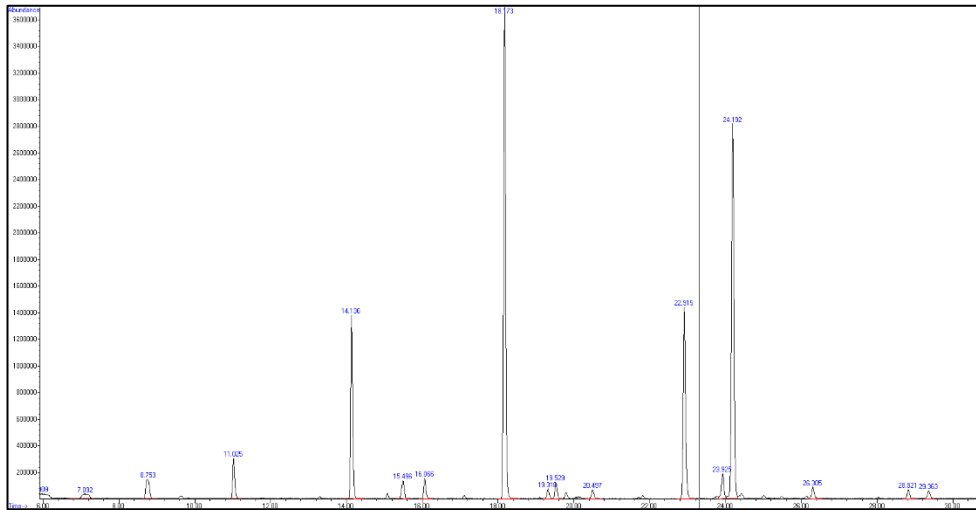


Figura 24. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 11

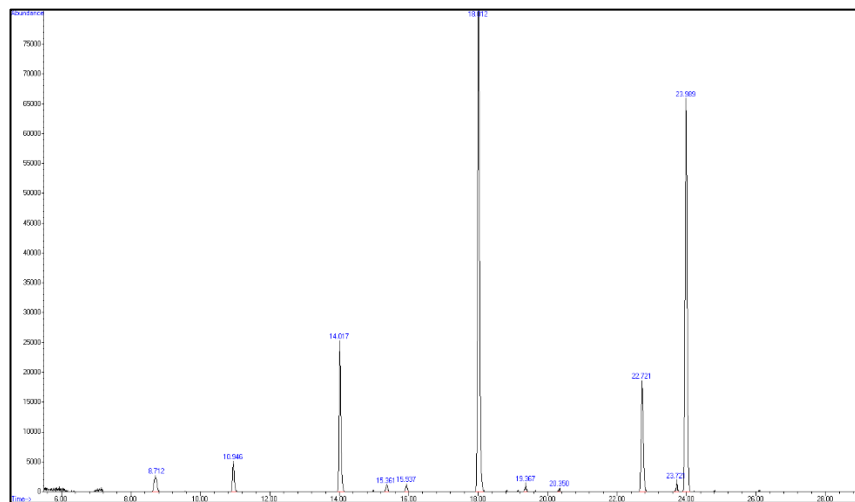


Figura 25. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 12

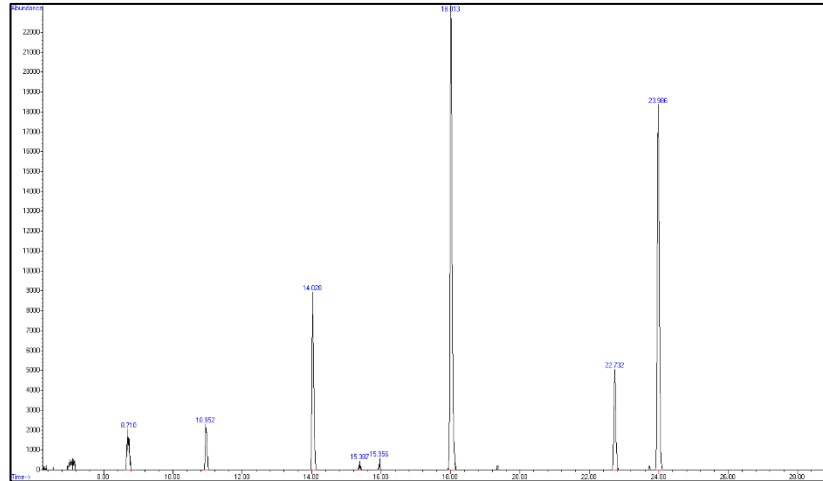


Figura 26. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 13

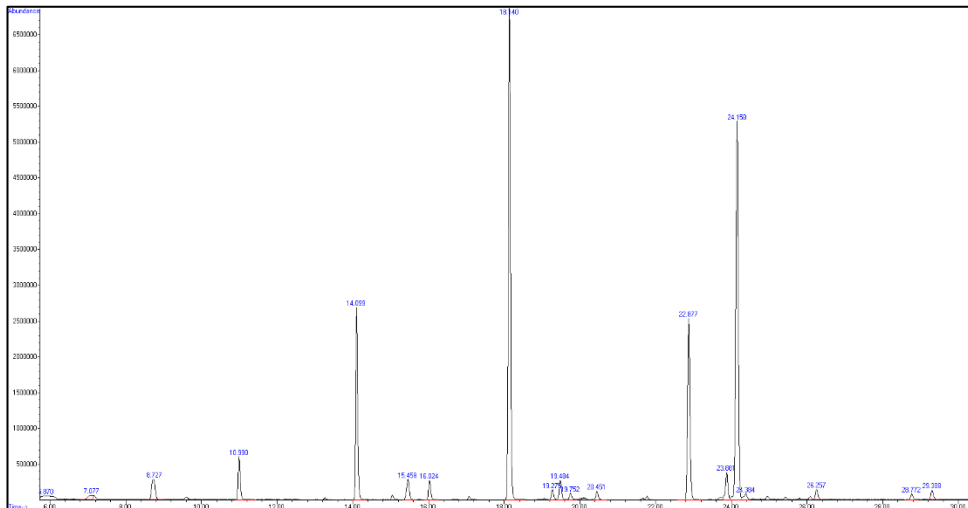


Figura 27. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 14

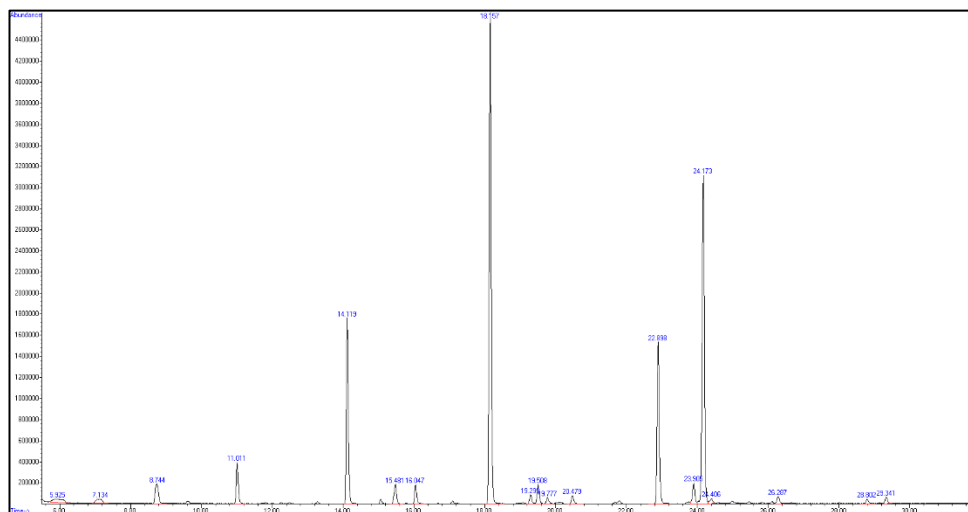


Figura 28. Cromatograma del Perfil lipídico Empresa 15

ANEXO J: Certificado de análisis Supelco 37 component FAME mix

Certificate of Analysis

F.A.M.E. MIX, C4-C24, 100MG NEAT

*Certified
Reference
Material*

Product ID 18919-1AMP
Lot LRAB6870
Expiration Date November 2019
Storage Conditions Freeze
Solvent/Matrix NEAT MIX

Analyte	Units	Certified ^{1,4} Value	Raw Material Purity, %	Raw Material Lot	CAS
METHYL BUTYRATE	WT %	4.00 ± 0.021	99.3	C5H10O2 BCBS7576V	623-42-7
METHYL HEXANOATE	WT %	4.00 ± 0.021	99.9	C7H14O2 MKBZ3038V	106-70-7
METHYL OCTANOATE	WT %	4.00 ± 0.021	99.9	C9H18O2 BKCB1249V	111-11-5
METHYL DECANOATE (CAPRATE)	WT %	4.00 ± 0.021	99.9	C11H22O2 LC04160	110-42-9
METHYL UNDECANOATE	WT %	2.00 ± 0.011	98.7	C12H24O2 BCBS9431V	1731-86-8
METHYL LAURATE	WT %	4.00 ± 0.021	99.9	C13H26O2 LB97659	111-82-0
METHYL TRIDECANOATE	WT %	2.00 ± 0.011	99.6	C14H28O2 BCBP8292V	1731-88-0
MYRISTOLEIC ACID METHYL ESTER (Methyl myristoleate)	WT %	2.00 ± 0.011	99.3	C15H28O2 LC24934V	56219-06-8
METHYL MYRISTATE	WT %	4.00 ± 0.021	100.0	C15H30O2 LC17239	124-10-7
CIS-10-PENTADECENOIC ACID METHYL ESTER	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C16H30O2 LC21251	90176-52-6
METHYL PENTADECANOATE	WT %	2.00 ± 0.011	99.9	C16H32O2 BCBP0333V	7132-64-1
METHYL PALMITOLEATE (METHYL CIS 9-HEXADECENOATE)	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C17H32O2 LC20929	1120-25-8
METHYL PALMITATE	WT %	6.00 ± 0.032	99.0	C17H34O2 LC17089	112-39-0
CIS-10-HEPTADECENOIC ACID METHYL ESTER (Methyl cis-10-heptad	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C18H34O2 LC26686	75190-82-8
METHYL HEPTADECANOATE	WT %	1.20 ± 0.06	59.9	C18H36O2 LC05285	1731-92-6
GAMMA-LINOLENIC ACID METHYL ESTER (Methyl gamma-linolenate)	WT %	2.00 ± 0.011	100.0	C19H32O2 LC17723	16326-32-2
METHYL LINOLENATE	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C19H32O2 LC03119	301-00-8
LINOLELAIDIC ACID METHYL ESTER (Methyl linolelaidate)	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C19H34O2 LC21969	2566-97-4
METHYL LINOLEATE	WT %	2.00 ± 0.011	99.7	C19H34O2 BCBS1588V	112-63-0
CIS-9-OLEIC ACID METHYL ESTER (Methyl oleate)	WT %	4.00 ± 0.021	99.3	C19H36O2 LC22386	112-62-9
TRANS-9-ELAIDIC ACID METHYL ESTER (Methyl elaidate)	WT %	2.00 ± 0.011	99.9	C19H36O2 LC15380	1937-62-8
METHYL STEARATE	WT %	4.00 ± 0.021	99.1	C19H38O2 LC13654	112-61-8



SIGMA-ALDRICH®
2931 Soldier Springs Rd. Laramie, Wyoming 82070 USA
307-742-5452
rtctechgroup@sial.com www.sigma-aldrich.com

Lot LRAB6870							
Expiration Date		November 2019					
Storage Conditions		Freeze					
Solvent/Matrix		NEAT MIX					
METHYL CIS-5,8,11,14,17-EICOSAPENTAE NOATE	WT %	1.76 ± 0.06	80.2	C21H32O2	SLBL9127V	2734-47-6	
METHYL CIS-5,8,11,14-EICOSATETRAENOI C (Methyl arachidonate)	WT %	2.00 ± 0.011	100.0	C21H34O2	LC15184	2566-89-4	
CIS-11,14,17-EICOSATRIENOIC ACID METHYL ESTER	WT %	1.50 ± 0.011	75.0	C21H36O2	LC20739	55682-88-7	
CIS-8,11,14-EICOSATRIENOIC ACID METHYL ESTER	WT %	1.56 ± 0.011	78.0	C21H36O2	U81MAU23B	21061-10-9	
CIS-11,14-EICOSADIENOIC ACID METHYL ESTER	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C21H38O2	LC23224	2463-02-7	
METHYL CIS-11 EICOSENOATE	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C21H40O2	MKCC5101	2390-09-2	
METHYL ARACHIDATE	WT %	4.00 ± 0.021	99.0	C21H42O2	000004248	1120-28-1	
METHYL HENEICOSANOATE	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C22H44O2	LC08970	6064-90-0	
ALL CIS-4,7,10,13,16,19-DOCOSAHEX AENOATE	WT %	1.86 ± 0.04	93.0	C23H34O2	LC18247	2566-90-7	
CIS-13,16-DOCOSADIENOIC ACID METHYL ESTER	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C23H42O2	U69MAU9B	61012-47-3	
METHYL ERUCATE (CIS-13-DOCOSENOATE) (Methyl cis-13-docosenoa	WT %	2.00 ± 0.011	99.4	C23H44O2	BCBR3848V	1120-34-9	
METHYL BEHENATE	WT %	4.00 ± 0.021	99.7	C23H46O2	LC03090	929-77-1	
METHYL TRICOSANOATE	WT %	1.83 ± 0.04	91.6	C24H48O2	LC06065	2433-97-8	
METHYL NERVONATE (Methyl cis-15-tetracosenoate)	WT %	2.00 ± 0.011	99.0	C25H48O2	U88MMA21B	2733-88-2	
METHYL LIGNOCERATE (Methyl tetracosanoate)	WT %	4.00 ± 0.021	99.0	C25H50O2	SLBQ6238V	2442-49-1	

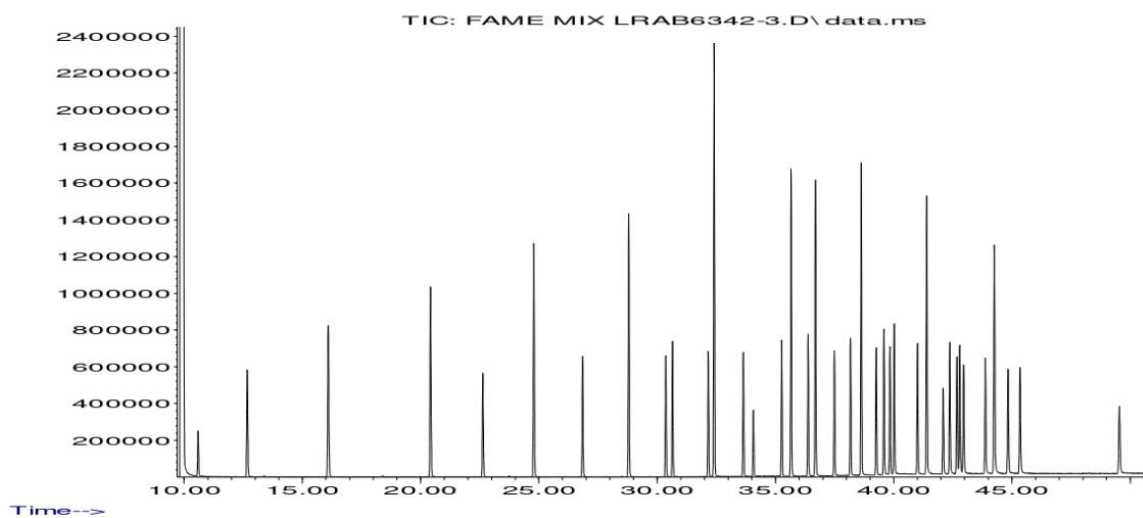
Certificate of Analysis

F.A.M.E. MIX, C4-C24, 100MG NEAT

*Certified
Reference
Material*

Product ID 18919-1AMP
Lot LRAB6870
Expiration Date November 2019
Storage Conditions Freeze
Solvent/Matrix NEAT MIX

Abundance



Additional Information:

Weight percent of analyte, calculated by using analyte weights. The total may not equal 100% due to rounding and purity of raw material. Weight concentrations may not remain stable after opening, even if resealed.
NIST-Traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot.

GCMS Parameters

Column: SP2560 – 100m x 0.25mm x 0.2µm

Injection Volume: 1µm

Split Ratio: 50:1

Flow Rate: 1.2 ml/min

Oven Conditions: 100°C hold for 5 min. 240°C @ 4°C/min. Hold 15 min



SIGMA-ALDRICH®

2931 Soldier Springs Rd. Laramie, Wyoming 82070 USA
307-742-5452
rttechgroup@sial.com www.sigma-aldrich.com