

CUADRO No. 3.8
METODO TAGUCHI, METODO No. 1

CONDICIONES DE LOS EXPERIMENTOS
CAMPEON DE PAPEL Y ECONOMICO

FACTOR	CAMPEON DE PAPEL	ECONOMICO
TEMPERATURA DE REACCION (oC)	25	25
TEMPERATURA DE TRATAMIENTO (oC)	30	25
CANTIDAD DE NaHCO ₃ (g)	10	10
CANTIDAD DE H ₂ O ₂ (g)	7.2	4.8

CUADRO No. 3.9
METODO TAGUCHI, METODO No. 2

CONDICIONES DE LOS EXPERIMENTOS
CAMPEON DE PAPEL Y ECONOMICO

FACTOR	CAMPEON DE PAPEL	ECONOMICO
RELACION EN PESO ACEITE/BROMO	1.4	1.5
TEMPERATURA DE REACCION (oC)	35	25
ETANOL (mL)	200	200
PEROXIDO DE HIDROGENO (g)	6	3

CAPITULO IV

ESTUDIO MUTAGENICO DE ACEITES BROMADOS

I.- INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

La aplicación en el área de alimentos de los ABs condujo a incluir en este trabajo el estudio de aspectos toxicológicos de éstos, por lo que se seleccionó la prueba "Ames" para llevar a cabo tal objetivo. La metodología de este ensayo fue descrita por Ames y asociados¹.

Han sido publicados una extensa serie de estudios toxicológicos de ABs^{2,3,4,5,6} realizados con animales, los resultados no han sido muy concluyentes y existen dudas acerca del grado de toxicidad de este producto. Por otra parte, se ha reportado⁷ que la influencia que pueda tener un producto en un animal no necesariamente se puede transferir a un ser humano, por esa razón se seleccionó la prueba "Ames", cuyas bases son distintas a los estudios toxicológicos tradicionales. Esta prueba no ha sido aplicada en ningún estudio previo de ABs.

Las bacterias constituyen uno de los mejores sistemas para probar nuevos compuestos por su simplicidad, sensibilidad, economía y por la gran variedad de compuestos en los que se puede detectar su mutagenicidad.

Las bacterias son particularmente útiles para probar el potencial mutágeno de las sustancias químicas, debido a que las células crecen rápidamente, las poblaciones de las células tratadas son muy grandes y los datos positivos indican los valores de concentración máximos permitidos, además el ensayo es técnicamente muy simple.

En las pruebas normales con drogas no se pueden extrapolar los resultados obtenidos de bacterias a humanos, pero en las pruebas con mutágenos si es posible debido a su reacción con el ADN de ambos organismos. Las sustancias mutágenas son aquellas que alteran el ácido desoxiribonucleico (ADN) tanto de organismos superiores como de microorganismos.

Una gran proporción de los mutágenos conocidos son carcinógenos y una alta proporción de los carcinógenos conocidos son mutágenos, aunque esta correlación no es absoluta, es muy probable que una sustancia que causa mutaciones en bacterias pueda ser carcinógena para humanos.

En las últimas décadas varios sistemas han sido desarrollados. En particular, la metodología descrita por Ames y asociados ha recibido un amplio reconocimiento para evaluar sustancias que se sospecha

pueden causar daños genéticos. Esta prueba usa bacterias *Salmonella typhimurium* mutantes que requieren histidina y mide la reversión inducida por sustancias químicas a mutantes que no la requieren.

Las bacterias crecen en un medio con trazas de histidina y se dividen hasta que esta se consume. En ausencia de mutágenos siempre ocurren mutaciones espontáneas durante la división de estas pocas células produciendo las llamadas revertantes. Cuando las bacterias se exponen a la acción de mutágenos hay un aumento de revertantes con respecto a las espontáneas.

II.- PARTE EXPERIMENTAL

Las pruebas de mutagenicidad de tres muestras de ABs se efectuaron en los laboratorios King & Hamasch GmbH. Las tres muestras de ABs provienen de los experimentos M1, M2 y M3. El experimento M1 se llevó a cabo en presencia de solvente (éter etílico). Los experimentos M2 y M3 se llevaron a cabo con aceite de algodón y maíz respectivamente, en ambos casos se usó el método sin solvente para prepararlos, los productos se trataron con peróxido de hidrógeno. Para las pruebas, las muestras se aplicaron en concentraciones de 50 a 5000 $\mu\text{g/placa}$, se disolvieron en acetona; la concentración del solvente en la muestra M1 fue 50 $\mu\text{L/placa}$ y las muestras M2 y M3 100 $\mu\text{L/placa}$.

La mutagenicidad de los ABs se estudió con 5 cepas mutantes de la bacteria *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA1538, TA98 y TA100) y se usaron como sustancias de control los siguientes compuestos: azida sódica (Sigma), 2-nitrofluoreno (Aldrich), 9-aminoacridina (Merck) y 2-aminoantraceno (Aldrich), estas sustancias son controles positivos para confirmar las propiedades de reversión y la especificidad de las especies de bacterias así como la eficiencia del sistema metabolizante. Las muestras fueron estudiadas con y sin sistema metabolizante el cual fué un homogenizado de hígado de rata.

III.- RESULTADOS

En las tablas No. 4.1, 4.2 y 4.3 se presentan los datos del número de colonias revertantes producidas por las muestras de AB de los experimentos M1, M2 y M3 respectivamente. Las tablas muestran el número promedio de revertantes, el cual se obtuvo a partir del conteo de 3 placas individuales en cada uno de 2 experimentos independientes. El número de revertantes espontáneas coincide con el reportado⁸.

TABLA No. 4.1

NUMERO DE REVERTANTES PRODUCIDAS POR LA MUESTRA M1

MUESTRA		NUMERO DE REVERTANTES PROMEDIO/PLACA									
TIPO	CONC. µg/placa	TA1535		TA1537		TA1538		TA98		TA100	
		(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)
CONTROL	0	5	6	2	7	6	13	23	33	129	168
SOLVENTE CONTROL	0	7	6	3	4	3	8	16	23	129	156
M1	50	7	8	6	4	6	12	14	20	115	157
M1	150	7	8	4	6	10	9	17	26	129	160
M1	500	5	8	4	5	7	15	18	23	111	162
M1	1500 ^(c)	6	9	4	5	7	11	15	24	120	175
M1	5000 ^(c)	5	8	5	8	7	13	10	19	113	146
NaN ₃	0.5	162	—	—	—	—	—	—	—	357	—
2-NF	2.5	—	—	—	—	420	—	333	—	—	—
9-AA	50	—	—	308	—	—	—	—	—	—	—
2-AA	1.0	—	—	—	—	—	141	—	246	—	2587
2-AA	2.0	—	432	—	117	—	—	—	—	—	—

(a) EN AUSENCIA DE UN SISTEMA METABOLIZANTE, (b) EN PRESENCIA DEL SISTEMA METABOLIZANTE

(c) LA MUESTRA M1 PRECIPITO

TABLA No. 4.2

NUMERO DE REVERTANTES PRODUCIDAS POR LA MUESTRA M2

MUESTRA		NUMERO DE REVERTANTES PROMEDIO/PLACA									
TIPO	CONC. µg/placa	TA1535		TA1537		TA1538		TA98		TA100	
		(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)
CONTROL	0	6	5	10	13	7	18	8	19	65	82
SOLVENTE CONTROL	0	5	8	11	10	11	17	13	21	70	81
M2	50	9	8	6	8	11	18	10	22	68	76
M2	150	8	7	5	10	13	19	13	22	70	91
M2	500 ^(e)	16	16	7	11	11	15	11	21	80	79
M2	1500 ^(e)	17	9	9	9	9	16	9	18	102	89
M2	5000 ^(e)	36 ^(c)	21	8	14	25	12	23	20	147 ^(c)	92
NaN ₃	1.0	811	—	—	—	—	—	—	—	150 ^(d)	—
2-NF	2.5	—	—	—	—	514	—	545	—	—	—
9-AA	50	—	—	393	—	—	—	—	—	—	—
2-AA	3.0	—	834	—	524	—	—	—	—	—	—
2-AA	1.0	—	—	—	—	—	446	—	877	—	665

(a) EN AUSENCIA DE UN SISTEMA METABOLIZANTE, (b) EN PRESENCIA DEL SISTEMA METABOLIZANTE

(c) SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE AL CONTROL (d) CONCENTRACION DE NaN₃ 0.5 µg/placa

(e) LA MUESTRA M2 PRECIPITO

TABLA No. 4.3

NUMERO DE REVERTANTES PRODUCIDAS POR LA MUESTRA M3

MUESTRA		NUMERO DE REVERTANTES PROMEDIO/PLACA									
TIPO	CONC. µg/placa	TA1535		TA1537		TA1538		TA98		TA100	
		(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)
CONTROL	0	6	10	10	12	10	15	14	19	159	164
SOLVENTE CONTROL	0	4	7	11	9	7	16	8	21	167	166
M3	50	8	10	6	10	9	15	15	23	170	181
M3	150	13	9	5	11	5	12	11	17	204	198
M3	500 ^(e)	16	19	7	12	5	9	13	13	216	186
M3	1500 ^(e)	43 ^(c)	11	9	12	8	12	21	18	298 ^(c)	185
M3	5000 ^(e)	122 ^(c)	29 ^(c)	8	14	9	16	27 ^(c)	21	571 ^(c)	213
NaN ₃	0.5	191	—	—	—	—	—	—	—	701 ^(d)	—
2-NF	2.5	—	—	—	—	651	—	561	—	—	—
9-AA	50	—	—	535	—	—	—	—	—	—	—
2-AA	3.0	—	318	—	161	—	—	—	—	—	—
2-AA	1.0	—	—	—	—	—	943	—	1637	—	1472

(a) EN AUSENCIA DE UN SISTEMA METABOLIZANTE, (b) EN PRESENCIA DEL SISTEMA METABOLIZANTE

(c) SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTE AL CONTROL (d) CONCENTRACION DE NaN₃ 1.0 µg/placa

(e) LA MUESTRA M3 PRECIPITO

IV.- DISCUSION DE RESULTADOS

La muestra M1 produjo un ligero aumento de la frecuencia de la mutación espontánea en algunas de las cepas probadas y en algunas dosis usadas, sin embargo, la estimación de la significancia estadística de la diferencia entre el número promedio de revertantes en los controles negativos y las placas de cada nivel de dosis, usando la prueba- χ^2 , reveló una diferencia significativa en solo un punto de un solo experimento.

Para determinar si la diferencia es significativa entre 2 resultados se calcula χ^2 experimental de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\chi^2 = (\text{No. R. de la muestra} - \text{No. R. del control})^2 / \text{No. R. control}$$

Donde: R - revertantes promedio

Posteriormente a esto se compara este valor con el reportado en tablas para χ^2 con N - 1 grados de libertad, que en los experimentos llevados a cabo es 5, ya que los valores de R son el promedio de 6 valores. Así, para 5 grados de libertad la χ^2 es 23.2. Si χ^2 experimental es mayor que χ^2 crítica entonces la diferencia entre el número de revertantes de las muestras y el control es significativa y por lo tanto la prueba de mutagenicidad en ese punto es positiva.

La muestra M2 aumentó la frecuencia de la mutación espontánea en las cepas TA1535 y TA100 en ausencia del sistema de activación metabólico, la prueba- χ^2 reveló diferencias significativas en algunos de los puntos de prueba. Los valores de χ^2 de la muestra M2 (conc.. 5000 mg/placa) para la cepas TA1535 y TA100 fueron 150.0 y 103.4 respectivamente, los cuales son mayores que la χ^2 crítica, lo que representa una diferencia significativa. El sistema de activación metabólica reduce fuertemente el efecto mutágeno de la muestra M2.

Como se muestra en la **tabla No. 4.3** la muestra M3, dependiendo de su concentración, provoca un aumento del número de revertantes en las cepas TA1535, TA1537, TA98 y TA100 en presencia y ausencia del sistema de activación metabólico. La prueba- χ^2 reveló un efecto significativo en presencia y ausencia del sistema metabolizante en la especie TA1535 y en ausencia del sistema metabolizante en las especies TA1537, TA98 y TA100. Los valores de χ^2 de la muestra M3 (conc.. 1500 y 5000 mg/placa) para la cepa TA1535 fueron 228.0, 2242.7 y para la cepa TA100 y 121.5 y 1067.6, para la cepa TA98 (conc. 5000 mg/placa) el valor de χ^2 fue 36.1 todos estos valores son mayores que la χ^2 crítica, lo que representa una diferencia significativa. Sin embargo, un efecto importante en las cepas

TA1537 y TA98 fue observado únicamente en uno de los puntos de prueba y solo en un experimento. El sistema metabolizante obviamente reduce el efecto mutágeno de la muestra M3.

V.- CONCLUSIONES

En el intervalo de concentraciones investigado, la muestra proveniente del experimento M1 no mostró actividad mutágena con o sin un sistema de activación metabólica. En cambio la muestra M2 bajo las condiciones experimentales descritas, fue mutágena a la *Salmonella typhimurium* cepas TA1535 y TA100 en ausencia del sistema metabolizante. Finalmente, los resultados del estudio Ames de la M3 indican que presenta actividad mutágena con la *Salmonella typhimurium* cepa TA1535 en presencia y ausencia del sistema metabolizante y con la TA100 en ausencia del sistema metabolizante.

El resultado negativo de esta prueba "Ames" en una de las muestras analizadas indica que controlando ciertas características en el AB, éste no será mutágeno. Por otra parte los resultados positivos de las otras dos muestras revelan que ciertas impurezas o subproductos del AB pudieran ser los que provocan la actividad mutágena.

CAPITULO V

ESTUDIO DE ESTABILIZACION DE LOS ACEITES BROMADOS

I.- INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

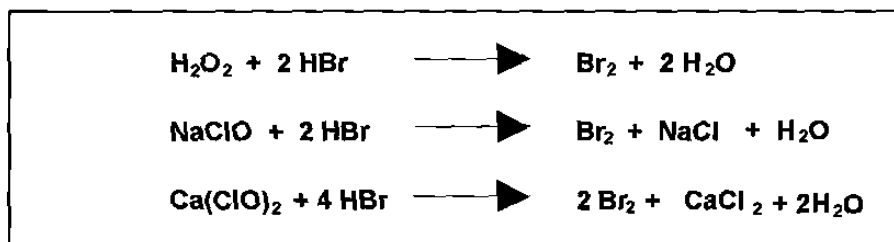
En este capítulo se tratarán aspectos relacionados con la estabilidad de algunas de las propiedades características de los ABs y se describirán los métodos propuestos para que los ABs tengan una estabilidad adecuada en todas sus propiedades.

Para productos que tienen aplicación en el área de alimentos, es importante tener un control estricto no solamente de las propiedades iniciales de estos, sino de la estabilidad de dichas propiedades con el tiempo, por esta razón se efectuó un estudio en el cual se analizaron las propiedades características de los ABs como: color, VP, AGL, índice de yodo y humedad después de diferentes períodos de tiempo. Para determinar el efecto de diversas condiciones de almacenamiento de los ABs sobre estas propiedades se aplicó una metodología similar a la reportada¹ en un estudio de estabilidad de ésteres de ácidos grasos metílicos y etílicos. En dicho estudio, almacenando los ésteres grasos en recipientes de acero (libres de óxidos), bien sellados (ausencia de aire), a temperaturas menores de 30 °C y usando pequeñas cantidades de terbutilhidroquinona (TBHQ) se logra una buena estabilidad ante la oxidación.

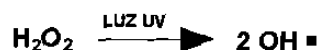
Una de las propiedades determinantes en el AB es el color y como se ha demostrado en otros capítulos de esta tesis, esta propiedad tiene una variación muy drástica con el tiempo, hasta antes que se oscurece. Se investigaron métodos para estabilizar el color claro del AB, el mayor tiempo posible; se ha reportado² que incorporando derivados grasos conteniendo uno o más grupos oxiranos se logra retardar el oscurecimiento de los ABs y además permite que el sabor, olor y color de los mismos pueda mejorarse a través de los procedimientos normales que generalmente involucran calentamiento, sin provocar alteración en las propiedades características del AB. Los derivados epoxidados que han sido usados provienen de los siguientes aceites: soya, algodón, linaza, cerdo, cártamo, cacahuate, colza y sábalo. También se han usado ésteres epoxidados tales como: estearato de metilo y etilo y estearina.

Con base a los buenos resultados obtenidos con el uso del peróxido de hidrógeno (ver capítulos II y III) se estudió el efecto de otros agentes oxidantes como hipoclorito de sodio y calcio para decolorar ABs. No existen referencias sobre trabajos de decoloración de ABs donde se mencione el uso de estas sustancias, se seleccionaron debido a que son agentes oxidantes que pueden ser usados en alimentos y que además son agentes blanqueadores³; otra razón para usarlos es que reaccionan con bromuro de hidrógeno, que es un subproducto de la reacción de bromación y que se requiere eliminar al final de la

misma. El inconveniente con el uso de hipoclorito de calcio y sodio es que generan cloruro de calcio y sodio los cuales hacen necesario filtrar el AB al final del tratamiento, esa es la ventaja del uso del peróxido de hidrógeno que no genera sustancias sólidas. Por lo que se llevó a cabo un estudio comparativo con el peróxido de hidrógeno, en cuanto a la acción de decoloración del AB, para así evaluar el paso extra de la filtración.



Al efectuar pruebas de envejecimiento para provocar el oscurecimiento de muestras de AB usando radiación UV, se observó una variación notable del color de algunas de las muestras irradiadas. Investigando en la literatura se encontró que es un hecho demostrado que la combinación de peróxido de hidrógeno-luz UV genera radicales hidroxilo⁴, los cuales tienen un potencial de oxidación alto. Los radicales hidroxilo son altamente reactivos y por lo mismo poco selectivos.



Los radicales hidroxilo pueden participar en una gran variedad de reacciones, las cuales provocan que los compuestos orgánicos se conviertan (mineralización) en dióxido de carbono, agua, nitratos (si los compuestos contienen nitrógeno) y halenuros (si los compuestos contienen halógenos). Ha sido demostrado que una gran variedad de compuestos orgánicos pueden ser mineralizados^{5,6,7}, bajo irradiación con luz UV de 254 nm y temperaturas alrededor de 25 a 35 °C.

La variación del color oscuro a amarillo de los ABs se podría explicar entonces, si aquellos compuestos orgánicos, que deben encontrarse en baja concentración y que provocan el color oscuro de los AB, se mineralizan por la acción luz UV-peróxido de hidrógeno. Las reacciones de los radicales hidroxilo con sustancias orgánicas dependen de la concentración del peróxido de hidrógeno y de la frecuencia e intensidad de la radiación UV.

Los objetivos de esta etapa de trabajo fueron: (c) determinar la influencia de la luz, temperatura y concentración de ionol (2,5-diterbutil-4-metilfenol) sobre las propiedades características de los ABs, (b) estudiar el efecto sobre los ABs de la adición de diversas sustancias estabilizantes como: hipoclorito de sodio, hipoclorito de calcio y aceite epoxidado de soya y (c) estudiar la acción de la irradiación UV en ABs.

II.- PARTE EXPERIMENTAL

II. 1. ESTUDIO DE PROPIEDADES DE ABs DURANTE SU ALMACENAMIENTO

Se llevaron a cabo 3 experimentos (1 A, 2 A y 3 A) de preparación de AB, usando las condiciones del experimento 92 OP (ver capítulo III, tabla No. 3.17). Los factores considerados para esta parte del estudio fueron: presencia y ausencia de luz, temperatura de almacenamiento 15 y 28 °C y cantidad de antioxidante (2,6-diterbutil-4-metilfenol). Las propiedades que se evaluaron durante el transcurso del tiempo fueron: VP, color, índice de yodo y AGL.

El procedimiento para la preparación de los ABs se describe a continuación: En un matraz bola de 3 bocas, acoplado a una unión Claisen, un termómetro, un condensador, un agitador mecánico y un embudo de adición, se le agregan, 400 g de AV de algodón y 300 mL de etanol, la mezcla se enfría a una temperatura menor de 20 °C y se agita vigorosamente (450 RPM) para formar una dispersión de AV y etanol, se añaden lentamente 286 g de bromo a través del embudo de adición, la temperatura es mantenida constante a 45 °C, después de adicionar el bromo se continúa agitando por espacio de 30 min. La mezcla se transfiere a un embudo de separación donde se separan las 2 fases, el AB se lava con 5 porciones de 50 mL de etanol. Al producto se le agrega 6 g de peróxido de hidrógeno al 30 % (1.5 % en peso base AV) y se agita durante 30 minutos. Finalmente, se somete la mezcla a calentamiento (50 °C) con vacío (10 mbars) hasta eliminar la turbidez del producto.

Cada producto obtenido a partir de los experimentos 1 A y 2 A se separó en 3 partes y el del experimento 3 A en 6 partes iguales. A las 3 muestras provenientes de los experimentos 1A y 2 A se les agregó 0.005, 0.01 y 0.02 % de ionol (4-metil-2,6-diterbutil fenol) respectivamente, a dichas muestras se les identificó como: 1 A - 0.005, 1 A - 0.01, 1 A - 0.02, 2 A - 0.005, 2 A - 0.01 y 2A - 0.02, a dos muestras del experimento 3 A se les agregó 0.005 % de ionol, a otras dos muestras 0.01% y a las últimas dos, 0.02 %; dichas muestras se identificaron como: 3 A - 0.005(20), 3 A - 0.01(20), 3 A - 0.02(20), 3 A - 0.005(28), 3 A - 0.01(28) y 3 A - 0.02(28) respectivamente. El valor de 20 y 28 indican las temperaturas a las que se almacenaron las muestras.

Las doce muestras preparadas fueron analizadas inicialmente y después de 5, 15, 30, 45 y 60 días, almacenándose bajo diferentes condiciones de temperatura (20 y 28 °C) y luz (envases claros y en contacto con la luz y envases oscuros, cubiertos con papel aluminio, almacenados en un lugar oscuro).

II. 2. USO DE SUSTANCIAS DECOLORANTES

II. 2. 1. TRATAMIENTO DE ABs CON HIPOCLORITO DE SODIO E HIPOCLORITO DE CALCIO

Se eligieron muestras provenientes de los experimentos 22 PA y 49 PA. para efectuar tratamientos con hipoclorito de sodio y calcio.

Los procedimientos seguidos en los experimentos 22 PA y 49 PA están descritos en el capítulo II de esta tesis, en ambos se usó aceite de algodón. El experimento 22 PA se llevó a cabo en presencia de metanol y el experimento 49 PA, en ausencia de solvente.

Tratamiento con hipoclorito de sodio al 20% (experimento 49 PA).- El hipoclorito de sodio se encuentra comercialmente en solución acuosa al 20 %. El procedimiento del tratamiento es el siguiente: A 63.87 g de AB se le añadieron lentamente y con agitación 1.61 g (cantidad necesaria para que la muestra adquiriera un color amarillo) de solución de hipoclorito de sodio al 20 %. El color del AB fue cambiando desde el color original, ámbar muy oscuro hasta adquirir un color amarillo, el aspecto del AB fue muy turbio y con olor a cloro.

Luego de filtrar y aplicar 4 horas de vacío y aereación a 40 °C el AB quedó transparente con un color amarillo y ligero olor a cloro.

Tratamiento con hipoclorito de calcio (experimento 49 PA).- A 63.87 g de AB se le agregó 1 g de hipoclorito de calcio, se agitó con una varilla de agitación durante 10 minutos, debido a que no hubo decoloración alguna se agregaron 5 mL de agua y se agitó 10 minutos, con esto se obtuvo un AB de color crema amarillento, lechoso con olor intenso a cloro. Luego de filtrar y aplicar 4 horas de vacío y aereación a 40 °C el AB quedó con un color amarillo claro y olor a cloro.

El resultado de la evaluación organoléptica de ambas muestras fue que tenían olor diferente al estándar, con una nota muy grasosa, áspera, picosa y olor a cloro, siendo más intenso el olor a cloro en la muestra tratada con hipoclorito de calcio.

Tratamiento con hipoclorito de sodio (experimento 22 PA).- A 67.94 g de AB se le añadieron 1.24 g de hipoclorito de sodio al 20 %, se agitó y se presentó un cambio de color del AB de ámbar rojizo a amarillo. Después de filtrar para separar el cloruro de sodio formado y aplicar 3 horas de vacío a 50 °C, el aspecto del AB fue transparente de color amarillo y con ligero olor a cloro.

Tratamiento con hipoclorito de calcio (experimento 22 PA).- A 74.36 g de AB se le agregaron 4.23 g de hipoclorito de calcio al 20%; se agitó durante 20 minutos y el AB cambió de un color ámbar rojizo a amarillo claro.

La evaluación organoléptica de las muestras del experimento 22 PA, al igual que las muestras de AB del experimento 49 PA, fue no conforme a las especificaciones.

Tratamientos de ABs recientemente preparados.- Tomando en cuenta las condiciones y resultados preliminares anteriormente descritos, en muestras tratadas con hipoclorito, se diseñaron los experimentos de preparación de AB 1 PD y 2 PD usando condiciones de reacción similares al experimento 13 OP (ver capítulo III), estas se presentan en la **tabla No. 5.1**. Los productos de estos experimentos fueron analizados en forma completa.

TABLA No. 5.1
CONDICIONES DE REACCION DE LOS EXPERIMENTOS 1 PD Y 2 PD

CONDICIONES EXPERIMENTALES	EXPERIMENTO No.	
	1 PD	2 PD
	NaClO	Ca(ClO) ₂
RELACION EN PESO AV/BROMO	1.53	1.53
TEMPERATURA DE REACCION (°C)	18	18
TIEMPO DE ADICION DE BROMO (h)	1.7	1.7
CANTIDAD DE HIPOCLORITO AL 20 % (g)	11.7	11.7
TEMPERATURA DE TRATAMIENTO (°C)	30	30
TIEMPO DE TRATAMIENTO CON HIPOCLORITO (h)	3	3

II. 2. 2. TRATAMIENTO DE ABs CON ACEITE EPOXIDADO DE SOYA

Se prepararon 19 muestras de diferentes ABs, se identificaron como 1 AE a 19 AE, a estas muestras se les agregó aceite epoxidado de soya (Wittco S.A.) en tres diferentes concentraciones: 0.5 %, 1.0 % y 5 % a las muestras se les determinó su color en el momento de agregarles el aceite epoxidado y después de diferentes períodos de tiempo.

II. 3. ESTUDIO DEL EFECTO SOBRE EL VP DE ABs AL APLICAR CALENTAMIENTO Y VACIO.

Con el fin de determinar la variación del VP al someter a calentamiento con vacío una muestra de AB, se llevó a cabo el experimento 1 VP bajo las siguientes condiciones de reacción: relación en peso AV/bromo, 1.66; temperatura de reacción, 30 °C; tiempo de adición de bromo, 2 h; tiempo de agitación después de adición de bromo, 5 min; cantidad de peróxido de hidrógeno añadida, 5.4 g (1.8 % base cantidad de AV); temperatura de vacío, 50 °C, presión, 1 mbar.

II. 4. IRRADIACION DE ACEITES BROMADOS CON LUZ ULTRAVIOLETA

Se sometieron a irradiación ultravioleta algunas muestras de AB de color amarillo para determinar el tiempo en que se tomaban oscuras. La irradiación con luz UV se efectuó en un equipo utilizado para revelar placas cromatograficas el cual contenía una lámpara que emitía luz UV (200 - 400 nm), no se determinó la intensidad de la luz emitida por la lámpara a ninguna longitud de onda.

Para la realización de las pruebas con luz UV, se llevaron a cabo 4 experimentos (1 I, 2 I, 3 I y 4 I) de preparación de ABs, los correspondientes productos se analizaron y muestras de estos, fueron sometidas a irradiación con luz UV. También se efectuaron estudios de irradiación con luz UV sobre muestras, preparadas en otras etapas de trabajo y provenientes de lotes de producción.

III.- RESULTADOS Y DISCUSION

III. 1. ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES DE LOS ABs DURANTE SU ALMACENAMIENTO

Los resultados de este estudio se presentan en las tablas No. 5.2 a 5.13. La muestra control no contiene ionol

TABLA No. 5.2

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 1 A - 0.02 ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 28 °C EN PRESENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	23.3	22.2	18.5	16.5	14.8	10
INDICE DE YODO	1.76	1.61	1.27	1.14	1.15	1.17
AGL (%)	0.24	0.15	0.13	0.12	0.12	0.14
COLOR	74.1	73.1	72.6	64.4	62.3	52.8
HUMEDAD (%)	0.04	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05

El color del producto del experimento 1A (sin ionol) a los 60 días fue 55.3

TABLA No. 5.3

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 1 A - 0.01 ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 28 °C EN PRESENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	23.3	21.5	18.5	16.5	15.2	10.9
INDICE DE YODO	1.76	1.68	1.19	1.11	1.14	1.16
AGL (%)	0.24	0.15	0.13	0.12	0.17	0.16
COLOR	74.1	73.2	73.3	65.8	61.1	58.6
HUMEDAD (%)	0.04	0.06	0.05	0.04	0.05	0.04

TABLA No. 5.4

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 1 A - 0.005 ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 28 °C EN PRESENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	23.3	20.8	18.5	18.1	16.3	12.4
INDICE DE YODO	1.76	1.8	1.23	1.08	1.08	1.09
AGL (%)	0.24	0.2	0.14	0.12	0.23	0.15
COLOR	74.1	73.5	67.1	64.8	63.5	63
HUMEDAD (%)	0.04	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05

TABLA No. 5.5

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 2 A - 0.02 ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 20 °C EN PRESENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	20	18.7	14.5	7.26	7.1	5.33
INDICE DE YODO	2.29	2.21	2.34	1.23	1.21	1.89
AGL (%)	0.16	0.11	0.14	0.09	0.23	0.17
COLOR	71.1	69.8	67.3	65.4	59.1	47.9
HUMEDAD (%)	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05

El color del producto del experimento 2 A (sin ionol) a los 60 dias fue 48.1

TABLA No. 5.6

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 2 A - 0.01 ALMACENADA A UNA TEMPERATURA
ALREDEDOR DE 20 °C EN PRESENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	20	17.8	15.3	8.3	7.9	7.7
INDICE DE YODO	2.29	2.1	2.31	1.31	1.3	2.72
AGL (%)	0.16	0.12	0.15	0.09	0.1	0.18
COLOR	71.1	70.8	66.6	66	57.3	53.7
HUMEDAD (%)	0.04	0.05	0.04	0.04	0.05	0.04

TABLA No. 5.7

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 2 A - 0.005 ALMACENADA A UNA TEMPERATURA
ALREDEDOR DE 20 °C EN PRESENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	20	17.1	15.3	13.3	12	9.5
INDICE DE YODO	2.29	2.87	2.1	1.27	1.25	2.76
AGL (%)	0.16	0.12	0.05	0.09	0.11	0.2
COLOR	71.1	69.3	67.9	62.8	56.8	53.5
HUMEDAD (%)	0.04	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04

TABLA No. 5.8

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 3 A - 0.02(28) ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 28 °C EN AUSENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	10.1	10	9.2	8	5	3.3
INDICE DE YODO	3.1	2.06	2.29	2.33	1.92	1.74
AGL (%)	0.09	0.14	0.18	0.21	0.27	0.23
COLOR	60.2	34.9	13.2	1.61	-27.1	-27.3
HUMEDAD (%)	0.05	0.03	0.04	0.04	0.05	0.05

El color del producto del experimento 3 A (sin ionol) a los 60 días fue - 26.2

TABLA No. 5.9

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 3 A - 0.01(28) ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 28 °C EN AUSENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	10.1	9	7.8	5.5	5	3.6
INDICE DE YODO	3.1	2.6	2.19	1.81	1.94	1.81
AGL (%)	0.09	0.14	0.15	0.19	0.22	0.21
COLOR	60.2	34.6	19.14	5.1	-23.4	-24.5
HUMEDAD (%)	0.05	0.03	0.03	0.05	0.05	0.05

TABLA No. 5.10

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 3 A - 0.005(28) ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 28 °C EN AUSENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	10.1	9.7	8.1	6.5	5	2.7
INDICE DE YODO	3.1	2.84	2.2	1.81	1.92	1.77
AGL (%)	0.09	0.14	0.14	0.19	0.22	0.21
COLOR	60.2	32.9	22.5	1.51	-17.8	-22.9
HUMEDAD (%)	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04	0.03

TABLA No. 5.11

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 3 A - 0.02(20) ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 20 °C EN AUSENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	10.1	9.3	8.6	8	7	3.8
INDICE DE YODO	3.1	2.23	2.72	2.23	0.88	1.77
AGL (%)	0.09	0.1	0.15	0.16	0.18	0.22
COLOR	60.2	52.1	41.9	16.8	7.1	-11.2
HUMEDAD (%)	0.05	0.03	0.03	0.05	0.05	0.05

TABLA No. 5.12

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 3 A - 0.01(20) ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 20 °C EN AUSENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	10.1	10	8.8	8	7	4.6
INDICE DE YODO	3.1	2.11	2.4	2.44	0.65	1.68
AGL (%)	0.09	0.11	0.14	0.16	0.18	0.2
COLOR	60.2	54	36.6	9.9	4.5	-13.6
HUMEDAD (%)	0.05	0.04	0.04	0.03	0.04	0.04

TABLA No. 5.13

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MUESTRA 3 A - 0.005(20) ALMACENADA A UNA TEMPERATURA ALREDEDOR DE 20 °C EN AUSENCIA DE LUZ

PARAMETRO	CONTROL	5 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
VP	10.1	10.3	7.6	10	8	4.6
INDICE DE YODO	3.1	2.1	2.32	2.31	1.42	1.71
AGL (%)	0.09	0.12	0.13	0.14	0.14	0.23
COLOR	60.2	54.5	34.5	11.2	-19.5	-17.7
HUMEDAD (%)	0.05	0.03	0.04	0.04	0.05	0.31

Es claro, a partir de los datos presentados en las tablas No. 5.2 a 5.13, que los parámetros que presentan mayor variación con el tiempo son el VP y el color. En todos los casos el valor peróxido de los ABs disminuye con el transcurso del tiempo. El color de los ABs tiene tendencia a oscurecerse con el tiempo, pero en el caso de que el valor inicial de VP sea alto, como en el caso de las muestras

provenientes de los experimentos 1 A y 2 A, la velocidad de oscurecimiento es menor. En todos los casos donde se usaron muestras 1 A ó 2 A, después de 3 meses el color los ABs permaneció amarillo.

Es evidente que la relación entre el valor peróxido y el color del AB es directamente proporcional, es decir, a mayor VP mayor valor numérico del color y en consecuencia más claro es el producto. Esto indica que obteniendo ABs con VP altos (alrededor de 20), lo cual se logra usando mayor concentración de peróxido de hidrógeno en el tratamiento de los mismos, el color del AB se mantendría amarillo por más tiempo, suficiente para que el producto fuese usado por los consumidores. Si el VP es más alto de 20 el producto se debe envasar en recipientes adecuados, ya que se genera oxígeno⁸ por la descomposición del peróxido y eso si el envase no posee un sistema de sellado o no es del material adecuado causaría problemas.

La disminución del VP es consecuencia de la disminución de concentración del peróxido de hidrógeno usado en la etapa de tratamiento del AB, existiendo tres posibilidades para esto: (a) descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (lo cual requiere calor y esto no se suministró), (b) reacción del peróxido de hidrógeno con el bromuro de hidrógeno desprendido durante el almacenamiento del AB, para formar agua y bromo y (c) reacción del peróxido de hidrógeno con el bromo residual que queda sin reaccionar o eventualmente que se desprende del AB, para formar oxígeno y bromuro de hidrógeno. La segunda opción parece ser la más viable, con base a los resultados del estudio de desprendimiento de bromuro de hidrógeno, mencionado anteriormente y que también fue descrito en el capítulo II de esta tesis. Si el bromo estuviera generándose a partir de la reacción de bromuro de hidrógeno y peróxido y este se adicionaría a los dobles enlaces que quedaron presentes en el AB, esto explicaría la ligera disminución del número de yodo que se observa en la mayoría de las muestras analizadas.

No se encontraron ventajas usando el antioxidante ionol en cuanto a retardar el oscurecimiento del AB.

La explicación del ligero aumento observado en los valores de porcentaje de ácidos grasos puede ser debida a la acumulación de bromuro de hidrógeno en el AB. El método que se aplica para esta determinación es una valoración con hidróxido de sodio de la muestra disuelta en etanol caliente que cuantificaría tanto los AGL como el bromuro de hidrógeno. Se han efectuado determinaciones del contenido de bromuro en ABs, mediante el método argentométrico expuesto en el capítulo I, y siempre se ha detectado bromuro, en cantidades que oscilan entre 0.04 y 0.001 %.

El uso de bajas temperaturas, aunque no en forma muy significativa, solo presentó ventaja durante el almacenamiento en ausencia de luz; para detectar la influencia en presencia de luz; debido a que se partió de muestras con alto VP inicial, era necesario dejar pasar más tiempo para evaluar este efecto.

Desafortunadamente, no fue posible deducir información válida del efecto de la luz durante el almacenamiento, ya que se partió de muestras de ABs con muy diferentes VP inicial. Las muestras almacenadas en presencia de luz (derivadas de los experimentos 1 A y 2 A) presentaban valores de VP inicial de 23.3 y 20.0 respectivamente, en cambio las muestras almacenadas (derivadas del experimento 3 A) en ausencia de luz presentaban un VP de 10.1.

Se observó en la mayoría de las muestras almacenadas una ligera disminución del índice de yodo. La humedad en la mayoría de las muestras presentó una variación muy irregular. La disminución de humedad se podría explicar si ésta reaccionará con alguna especie del medio, como los ésteres los cuales se hidrolizarían mediante catálisis ácida (por el ácido bromhídrico presente en las muestras) para generar mayor contenido de AGL, lo cual también fue observado.

III. 2. ANALISIS DE LA VARIACION DE LAS PROPIEDADES CARACTERISTICAS DE LOS ABs CONTRA EL TIEMPO.

Al transcurrir más de un año de haber preparado bajo diferentes condiciones de reacción, alrededor de 200 tipos de ABs, se seleccionaron aquellos que todavía conservaban un buen aspecto en cuanto al color y se les determinó de nuevo esta propiedad junto con el índice de yodo y el VP. En la **tabla No. 5.14** se presentan los resultados obtenidos. Las muestras analizadas se colocaron en la primer columna de la **tabla No. 5.14** de acuerdo a su color final, o sea, la muestra 39 PA es la que presentó el valor de color más elevado y la 19 PA el más bajo.

Los experimentos identificados como PA (ver capítulo II) se llevaron a cabo sin tratamiento con peróxido de hidrógeno, por lo tanto, no se les determinó se VP inicial, por esa razón en la **tabla No. 5.3** no aparecen esos datos.

Se conservó una muestra del experimento 46 PA y 7 meses después de las determinaciones mostradas en la **tabla No. 5.14** el color de la muestra fue (565 días después de haber sido preparado) 28.5 y su VP 0.3.

Como ya se ha descrito anteriormente el valor numérico del parámetro color es convencional y significa que cuando el valor es alrededor de 70, el AB correspondiente tiene un color amarillo; conforme disminuye este valor, el AB va adquiriendo una tonalidad más oscura, cuando el valor es alrededor de 10 el color del AB es rojizo.

Las características en común de las reacciones que produjeron los productos mostrados en la **tabla No. 5.14** son las siguientes: (a) todas se efectuaron en presencia de solvente y a baja temperatura (inferior

a 25 °C), excepto en el caso de las reacciones 71 OP, 19 PA y 20 PA que se llevaron a cabo a 35 °C, 40 °C y 41 °C respectivamente; (b) la mayoría se llevaron a cabo en presencia de alcohol (metanol o etanol), excepto las reacciones de los experimentos 28 PA y 40 PA que se realizaron en presencia de éter etílico y (c) todos los productos presentan bajas densidades en comparación a las que se obtendrían si se hubiera usado más bromo en la preparación del AB.

TABLA No. 5.14

**VARIACION DE ALGUNAS PROPIEDADES DE ABs CON EL TIEMPO
(VARIOS EXPERIMENTOS)**

EXPERIMENTO No.	COLOR		INDICE DE YODO		VALOR PEROXIDO		TIEMPO (DIAS) TRANSCURRIDO
	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL	
39 PA	71	74.7	0.13	0.3	--	1	287
40 PA	67	71.3	0.2	0.3	--	1	287
87 OP	68.8	66.3	6.4	6.4	26	16	365
62 OP	56.6	64.7	3.0	3.3	55	10	394
43 PA	72.0	62.3	3.0	0.4	--	4	296
71 OP	59.9	52.2	5.1	5.3	29	8	382
20 PA	62.0	50.4	2.0	2.5	--	1	367
46 PA	42.0	46.9	2.0	1.0	--	1	355
36 PA	45.0	41.2	6.0	6.8	--	1	490
28 PA	36.0	39.8	8.0	13.3	--	3	495
22 PA	30.0	27.5	3.0	3.4	--	3	505
19 PA	19.0	15.9	12.0	12.6	--	2	506

Se observó en la mayoría de las muestras almacenadas un ligero aumento del índice de yodo. Esto se contrapone a lo observado en los datos presentados en las tablas No. 5.2 y 5.13 en donde la tendencia del índice de yodo con el tiempo es a disminuir. Lo más probable es que dependiendo del período de tiempo que se evalúa este parámetro, sea el comportamiento del mismo. Al principio, la disminución es debida a que los compuestos insaturados siguen reaccionando, por adición con el bromo o bromuro de hidrógeno generados en el medio, pero después de períodos largos de tiempo, las reacciones de eliminación pasan a ser las predominantes, con lo cual el número de insaturaciones se incrementa y por lo tanto el correspondiente índice de yodo.

III. 3. ESTUDIO DEL EFECTO SOBRE EL VP DE ABs AL APLICAR CALENTAMIENTO Y VACIO.

En la tabla No. 5.15 se presentan los resultados del experimento 1 VP. La densidad del AB obtenido fue 1.3321 y el índice de yodo 7.67. La muestra No. 2 permaneció con la misma coloración a los 20

días, el VP bajo a 18.7. El VP disminuyó casi lo mismo en 1 h calentando a 50 °C que a temperatura ambiente en 20 días.

TABLA No. 5.15
VARIACION DE VP, COLOR, HUMEDAD Y ASPECTO DE AB
POR EL CALENTAMIENTO CON VACIO (EXPERIMENTO 1 VP)

MTA. No.	TIEMPO (H) DE CALENTAMIENTO Y VACIO	VP	COLOR	AGUA (%)	ASPECTO
1	1	80.7	70.2	0.1	AMARILLO CLARO TURBIO
2	1.5	32.7	67.3	0.05	AMARILLO CLARO TRANSPARENTE
3	2.5	16	62.7	0.02	AMARILLO TRANSPARENTE
4	3.5	13.3	53.8	0.006	AMBAR MUY CLARO TRANSPARENTE

Los resultados presentados en la **tabla No. 5.15** muestran que valores altos de VP en una muestra de AB pueden disminuir fácilmente, mediante calentamiento (en el capítulo VIII se mostrará que el vacío no contribuye a la disminución del VP ni a mantener el color del mismo). En este experimento se confirma que valores de porcentaje de humedad mayores de 0.5 confieren al AB turbidez.

III. 4. USO DE SUSTANCIAS DECOLORANTES

III. 4. 1. TRATAMIENTO DE ABs CON HIPOCLORITO DE SODIO E HIPOCLORITO DE CALCIO

Los resultados de los resultados 1 PD y 2 PD se presentan en la **tabla No. 5.16**.

Los resultados obtenidos de los análisis efectuados en los ABs tratados con hipoclorito de calcio y sodio fueron similares a los del AB proveniente del experimento 13 OP como se muestra en la **tabla No. 5.16**. El valor arbitrario del color de los tres ABs tratados corresponde a un color ámbar claro en los 3 casos. Cabe mencionar que en el experimento 2 PD la filtración del producto fué muy lenta requiriéndose 8 h para filtrar a 45 °C 50 mL de AB. La desventaja de usar estas dos sustancias con respecto al peróxido de hidrógeno, es la necesidad de la filtración para eliminar el cloruro de sodio o de calcio que se generan por la acción del hipoclorito con el bromuro de hidrógeno.

TABLA No. 5.16
RESULTADOS DE LOS ANALISIS DE LOS EXPERIMENTOS 1 PD Y 2 PD

TIPO DE ANALISIS	EXPERIMENTO No.		
	1 PD	2 PD	13 OP
	NaClO	Ca(ClO) ₂	H ₂ O ₂
DENSIDAD (25/25)	1.337	1.332	1.330
VALOR PEROXIDO	9	8	4
HUMEDAD (%)	0.05	0.004	0.04
COLOR (L* - a* - b*)	33.1	20.4	40.5
TURBIDEZ	PASA PRUEBA	PASA PRUEBA	PASA PRUEBA
EVALUACION ORGANOLEPTICA	6	6	4
ACIDOS GRASOS LIBRES (%)	0.12	0.07	0.08

III. 4. 2. TRATAMIENTO DE ABs CON ACEITE EPOXIDADO DE SOYA

Los resultados de color de varias muestras preparadas de AB, al adicionarles diferentes concentraciones de aceite epoxidado de soya se muestra en la **tabla No. 5.17**. El color fue medido en diferentes períodos de tiempo.

Las muestras 4 AE y 5 AE provienen del mismo experimento, solo que a la segunda se le agregó peróxido de hidrógeno (0.8 % base peso de AV), la muestra 4 AE no contiene peróxido, esa misma diferencia existe con las muestras 11 AE y 12 AE, a la primera no se le agregó peróxido de hidrógeno y a la 12 AE sí se le agregó. Los resultados mostrados en la **tabla No. 5.17** indican que la diferencia de color no es muy significativa, sin embargo, el color del AB es ligeramente mejor en el caso de muestras tratadas con ambas sustancias, aceite epoxidado y peróxido de hidrógeno, que cuando se estabilizan solamente con aceite epoxidado.

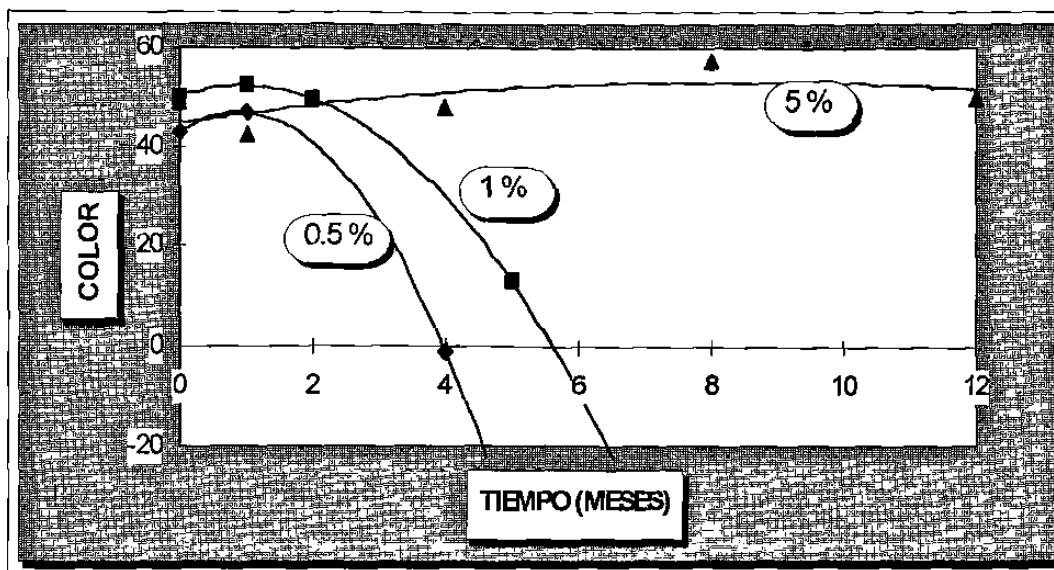
Otra observación de los datos presentados en la **tabla No. 5.17** es que algunas muestras completamente oscuras después que son tratadas con aceite epoxidado presentan una recuperación

del color claro significativa, como es el caso de las muestras 2 AE y 16 AE; sin embargo otras muestras ya oscuras no se aclaran, como es el caso de la muestra 1 AE.

TABLA No. 5.17
VARIACION DE COLOR DE VARIAS MUESTRAS ESTABILIZADAS CON DIFERENTES
CANTIDADES DE ACEITE EPOXIDADO DE SOYA

MTA. No.	(%) ACEITE EPOXIDADO	COLOR INICIAL	TIEMPO TRANSCURRIDO (MESES)	COLOR	TIEMPO TRANSCURRIDO (MESES)	COLOR	TIEMPO TRANSCURRIDO (MESES)	COLOR
1 AE	0.5	-13.3	1	-4	2	-0.1	3	-8.7
2 AE	0.5	-19.8	1	0	2	1.2	5	20
4 AE	0.5	29.2	1	39	2	17.2	4	-11
5 AE	0.5	43.2	1	46.9	2	20.1	4	-1.2
7 AE	0.5	12.2	3	35.2	4	35.3	5	5.2
8 AE	0.5	36.8	1	42.3	2	36.3	3	15.3
9 AE	0.5	53.5	2	41	3	3	4	-10.8
10 AE	1	39.3	1	45	2	50.5	3	48.6
11 AE	1	50.2	1	52.5	2	49.4	5	13
12 AE	1	34.4	1	39	2	47.8	5	28
13 AE	1	35.6	1	37.7	3	44.3	8	7
14 AE	1	48.5	1	49.5	2	46.7	4	44.2
15 AE	1	12.2	4	35.3	9	42	12	18.6
16 AE	1	-22.9	3	-10	4	5.7	5	10.4
17 AE	5	48.2	5	58	7	57	12	55
18 AE	5	49	1	42.7	4	48.2	8	57.3
19 AE	5	48.5	47.8	47.8	8	57.7	12	50.2

La figura No. 5.1 muestra el tiempo que se mantiene el color amarillo del AB dependiendo de la concentración del aceite epoxidado de soya que contiene (valores menores de 10 indican el inicio del oscurecimiento del AB). El uso de una concentración del 5 % mantiene el color amarillo del AB durante más de 1 año, una concentración del 1 % mantiene el color amarillo alrededor de 4 meses y finalmente usando una concentración de 0.5 % el color amarillo permanece alrededor de 3 meses. Las muestras que se analizaron contenían además 0.4% de peróxido de hidrógeno al 50 %.



VARIACION DE COLOR DE VARIAS MUESTRAS CON DIFERENTES CANTIDADES DE ACEITE
EPOXIDADO DE SOYA

FIGURA No. 5.1

En la **tabla No. 5.18** se muestran los resultados de los análisis característicos que se efectúan a los ABs, todos fueron conformes a las especificaciones y muy similares entre sí, lo cual demuestra que el aceite epoxidado de soya, al estabilizar los ABs en cuanto al color, no afecta las otras propiedades características de los ABs.

La razón de la estabilización de color al usar el aceite epoxidado de soya es que este reacciona con el bromuro de hidrógeno que se genera durante el almacenamiento de los ABs y generando la bromohidrina correspondiente, una explicación más amplia del mecanismo de acción de aceite epoxidado de soya se encuentra en el capítulo VII. A continuación se presenta la reacción involucrada:

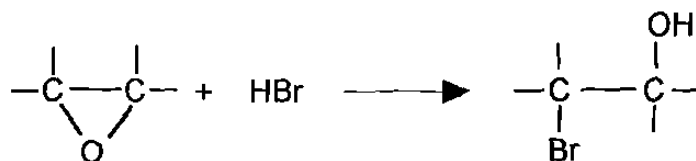


TABLA No. 5.18

RESULTADOS DEL ANALISIS DE ABs CONTENIENDO DIFERENTES
CANTIDADES DE ACEITE EPOXIDADO DE SOYA

TIPO DE ANALISIS	MUESTRA No.			
	9 AE	13 AE	18 AE	MUESTRA
	0.6 % AC. EPOX.	1.0 % AC. EPOX.	5.0 % AC. EPOX.	SIN AC. EPOX.
DENSIDAD (25/26)	1.335	1.333	1.330	1.331
VALOR PEROXIDO	3.8	4.0	4.2	4.2
HUMEDAD (%)	0.04	0.04	0.04	0.04
COLOR (L* - a* - b*)	36.8	35.6	49.0	32.0
INDICE DE YODO	12.0	12.0	11.3	11.8
EVALUACION ORGANOLEPTICA	10	10	10	10
ACIDOS GRASOS LIBRES	0.50	0.59	0.61	0.50

IV. IRRADIACION DE ACEITES BROMADOS CON LUZ ULTRAVIOLETA

Al iniciar las pruebas e ir monitoreando el color de muestras de AB, se observó un oscurecimiento de las mismas, pero sorprendentemente en algunas muestras, al contrario de lo esperado, se detectó que los ABs adquirirían una coloración cada vez más amarilla y así permanecían durante un tiempo considerable, tanto continuando o no con la irradiación con luz UV.

Las condiciones usadas para preparar los ABs bajo estudio, así como sus propiedades se presentan en la tabla No. 5.19.

En las tablas No. 5.20 a 5.24 se muestran las variaciones de color de las muestras irradiadas y no irradiadas con luz UV.

TABLA No. 5.19
CONDICIONES DE REACCION Y RESULTADOS DE LOS ANALISIS DE LOS ABs QUE SE
PREPARARON PARA EL ESTUDIO CON LUZ UV

CONDICIONES EXPERIMENTALES	EXPERIMENTO No.			
	1*	2	3	4
RELACION EN PESO ACEITE DE ALGODON/BROMO	1.58	1.55	1.55	1.55
TEMPERATURA DE REACCION (°C)	30	35	25	25
TIEMPO DE ADICION DEL BROMO (h)	0.84	1.5	1.5	1.5
H ₂ O ₂ AL 30 % (% BASE PESO DE AV)	1	3.6	0.9	1.8
TEMPERATURA DE TRATAMIENTO (°C)	50	45	40	45
TIPO DE ANALISIS	* SE USO ACEITE DE MAIZ			
DENSIDAD (25/25)	1.317	1.342	1.350	1.350
VALOR PEROXIDO	25	15	12	7
HUMEDAD (%)	0.05	0.03	0.01	0.01
COLOR (L* - a* - b*)	50.5	58.1	59.8	56.8
TURBIDEZ	PASA PRUEBA	PASA PRUEBA	PASA PRUEBA	PASA PRUEBA
INDICE DE YODO	8.9	6.0	10	10
ACIDOS GRASOS LIBRES (% COMO ACIDO OLEICO)	0.44	0.26	0.21	0.19

TABLA No. 5.20
VARIACION DE COLOR DE AB (EXPERIMENTO 1 I)
POR EFECTO DE LA IRRADIACION DE LUZ UV

DIA	TIEMPO (H) DE TRATAMIENTO	COLOR
1	7	33.4
2	31	-6.4
3	55	-0.2
8	55	25.8
14	55	45.5
21	55	51.9
24	55	52.4
25	55	54.9
35	55	60.4
38	55	61.4
42	55	60.7
43	55	62.5
45	55	60.8

TABLA No. 5.21
VARIACION DE COLOR DE AB (EXPERIMENTO 1 I)
(SIN IRRADIAR)

DIA	COLOR
1	50.5
3	37.8
4	15.3
25	-40.2

TABLA No. 5.22
VARIACION DE COLOR DE AB (EXPERIMENTO 1 I)
POR EFECTO DE LA IRRADIACION CON LUZ UV

DIA	TIEMPO (H) DE TRATAMIENTO	COLOR
1	24	-41.98
13	55	-37
14	79	-0.28
18	79	5.7
19	79	17.8
21	79	22.6
25	79	29.4
27	79	33.5
29	79	32.1
33	79	37.2
36	79	42.5

EL DIA QUE SE INICIO LA IRRADIACION EL COLOR DEL AB ERA -40.2

A partir de los datos de las **tablas No. 5.20 y 5.22**, se observa que muestras del mismo experimento 1 I sometidas a irradiación con luz UV, desde que el color original es amarillo (**ver tabla No. 5.20**) y después que ya se ha oscurecido (**ver tabla No. 5.22**), presentan el mismo comportamiento, en ambas se recupera ó mejora el color amarillo que tenía inicialmente el AB. En ausencia de la irradiación el color del AB se oscureció alrededor de 15 días después de haber sido preparado.

En el caso de las muestras de los experimentos 2 I y 4 I se observa lo mismo que en la muestra del experimento 1 I, sin embargo, la muestra 3 I no se comportó de la misma manera, aunque esta muestra fue expuesta a irradiación cuando ya estaba oscura y había pasado más tiempo en esas condiciones que la muestra 4 I que también se empezó a irradiar ya estando oscura.

TABLA No. 5.23

VARIACION DE COLOR DE AB (EXPERIMENTO 2 I)
 POR EFECTO DE LA IRRADIACION CON LUZ UV

DIA	TIEMPO (H) DE IRRADIACION	COLOR
1	0	58.1
2	4	39
2	8	37.7
3	24	-12.9
4	32	-14.1
5	48	-44.1
8	56	-49.7
11	104	-48.1
16	114	-49.6
18	134	-38.1
25	184	15.3
27	222	23.4
31	222	26.5
35	222	47.8
41	222	51.1
47	222	56.3
53	222	62.5
56	222	60.8

TABLA No. 5.24
VARIACION DE COLOR DE AB (EXPERIMENTOS 3 I Y 4 I)
POR EFECTO DE LA IRRADIACION CON LUZ UV

EXP. No.	DIAS	TIEMPO (h) DE TRATAMIENTO	COLOR
3 I	0	0	-12
3 I	1	24	-26.4
3 I	2	48	-27.4
3 I	7	48	-29.4
3 I	9	48	-24.4
3 I	11	48	-28.4
3 I	15	128	-11.8
3 I	18	128	-14.2
3 I	24	128	-15.7
3 I	30	128	-22.3
4 I	1	0	-0.3
4 I	1	24	-24.2
4 I	2	48	-15.4
4 I	6	48	-10.9
4 I	8	48	-7.3
4 I	10	48	-3.9
4 I	14	128	42.8
4 I	17	128	47.5
4 I	23	128	58.6

En las tablas No. 5.25 a 5.27 se muestran las variación de algunas propiedades de los ABs irradiados, las muestras identificadas como LI son de ABs de maíz provenientes de los primeros lotes de producción (H&R), fabricados con el nuevo método en el que se aplica el uso del peróxido de hidrógeno, el cual se describirá en el capítulo VIII. Las muestras 1 M y 12 M provienen de los productos obtenidos en la etapa de optimación (ver capítulo III).

Los datos presentados en las tablas No. 5.25, 5.26 y 5.27 muestran en general que todas las propiedades evaluadas: AGL, VP, humedad, índice de yodo y porcentaje de bromo orgánico,

prácticamente permanecen constantes durante la irradiación a la que fueron sometidas las muestras analizadas.

Debido a que todas las muestras sometidas a irradiación UV se colocaban en celdas de vidrio abiertas, se llevo a cabo la irradiación de la misma muestra tanto en una celda abierta como en un envase tapado, los datos mostrados en la **tabla No. 5.28** indican que no existe diferencia significativa entre los valores obtenidos cuando la muestra es irradiada, la mayor diferencia se observó entre las muestras no irradiadas, la que estaba en la celda abierta se oscureció ligeramente con respecto a la que se encontraba en el frasco tapado. La presencia de dobles enlaces en los ABs (siempre tienen un valor determinado de índice de yodo) les confiere a estos susceptibilidad para ser oxidados, en este caso por la acción del oxígeno.

En general, las muestras irradiadas con luz UV mantienen un color amarillo por más tiempo que las muestras no sometidas a irradiación, esto se muestra en la **tabla No. 5.29**.

TABLA No. 5.25

EVALUACION DE ALGUNAS PROPIEDADES DE MUESTRAS IRRADIADAS

EXPERIMENTO No.	% H₂O	% AGL	VP	INDICE DE YODO	TIEMPO (h) DE IRRADIACION
1 I (IRRADIADO)	0.16	0.48	2.6	7.2	79
1 I (NO IRRADIADO)	0.14	0.44	3.6	8.8	
2 I (IRRADIADO)	0.015	0.7	8	5.2	184
2 I (NO IRRADIADO)	0.024	0.48	10	6	
3 I (IRRADIADO)	0.005	0.2	6.9	5.1	128
3 I (NO IRRADIADO)	0.006	0.16	1.7	6	
1 LI (IRRADIADO)	0.058	0.88	2.6	8.5	50
1 LI (NO IRRADIADO)	0.068	0.81	3.6	9.3	

TABLA No. 5.26
VARIACION DE COLOR DE AB (EXPERIMENTOS 1 M Y 6 M)
POR EFECTO DE LA IRRADIACION CON LUZ UV (TIEMPO DE IRRADIACION 14 DIAS)

TIEMPO (DIAS)	EXPERIMENTO No. 1M			EXPERIMENTO No. 6M		
	COLOR	INDICE DE YODO	VP	COLOR	INDICE DE YODO	VP
0	15.3	7.7	2	55.7	5.1	4.7
1	-39.6	7.5	3.2	-18.4	5	4
2	-24.7	7.9	4.4	-24.8	5.3	3.8
5	-45.2	7.5	2	-45.9	5	2.4
6	-48.5	7.8	3.6	-47.2	5.1	3.3
7	-47	7.6	4.3	-47.7	4.9	3.4
14	-45.7	7.7	3.9	-46.5	5.1	2.6
21	-47.8	7.6	4.1	-8.7	5	3.3
33	-31.9	7.7	4	-36.7	5.1	2.6

TABLA No. 5.27
VARIACION DE ALGUNAS PROPIEDADES DE ABs POR EFECTO DE LA IRRADIACION CON LUZ
UV (TIEMPO DE IRRADIACION 72 HORAS)

EXPERIMENTO No.	% BROMO* ORGANICO	% AGL	INDICE DE YODO
2 LI (IRRADIADO)	38.3	0.3	15.1
2 LI (NO IRRADIADO)	38.7	0.32	14.9
3 LI (IRRADIADO)	37.9	0.49	12.8
3 LI (NO IRRADIADO)	38.7	0.49	12.4
3 LI** (IRRADIADO)	37.7	0.58	12.5
* DETERMINACION EFECTUADA EN EL CORRESPONDIENTE ESTER METILICO			
** EN CELDA ABIERTA			

TABLA No. 5.28
VARIACION DEL COLOR DE MUESTRAS IRRADIADAS
DE UN LOTE DE PRODUCCION (3 LI)

TIEMPO (DIAS)	CELDA ABIERTA		FRASCO TAPADO	
	IRRADIADA	SIN IRRADIAR	IRRADIADA	SIN IRRADIAR
0	60	60	60	60
1	58.7	60	59	60
2	36.1	58.9	58.1	58
3	34.4	59.4	57.9	56.8
6	32.9	50.3	56.9	54.7
7	30.1	41.8	56	57.6
9	35.8	37.5	49.8	56.2
10	40.2	36.3	44.4	56
13	58.5	35	38.6	55.4
15	41.1	34.4	29.3	55

TABLA No. 5.29
RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE COLOR DE MUESTRAS IRRADIADAS
COMPARANDOLAS CON LAS MISMAS SIN IRRADIAR

EXP. No.	COLOR SIN IRRADIACION	COLOR CON IRRADIACION	TIEMPO (DIAS)
1 I	-40.2	54.9	25
2 I	-38.5	47.8	35

La explicación de la variación notable de color de algunas de las muestras irradiadas se basa en lo mencionado en la introducción de este capítulo, de que la combinación de peróxido de hidrógeno-luz UV genera radicales hidroxilo, los cuales reaccionan con aquellos compuestos orgánicos, que deben encontrarse en baja concentración y que provocan el color oscuro de los AB, mineralizándolos. Por la poca selectividad que presentan los radicales hidroxilo, no solo reaccionan con las impurezas del ABs sino con los componentes normales del AB, sin embargo esto no afecta, obviamente por ser los

componentes principales del mismo, la escasa descomposición de alguno de sus componentes no altera significativamente las propiedades generales de los ABs.

Las muestras que no se decoloraron, es posible que la concentración de las sustancias oscuras sea mayor y requieran condiciones de fotooxidación más drásticas que las usadas en las pruebas experimentales realizadas. No se hicieron pruebas posteriores para demostrar esta afirmación, la cual se basa en lo reportado en la literatura que establece que la velocidad de la reacción de los radicales hidroxilo depende de su concentración y de la frecuencia e intensidad de la luz UV empleada.

La razón por la que los parámetros analizados en ciertas muestras no hayan variado de manera significativa, indica que los cambios de concentración (AGL, VP, humedad) involucrados por las reacciones fotoquímicas que se llevaron a cabo, no son lo suficientemente considerables para ser detectados mediante los métodos analíticos empleados en este trabajo. Lo mismo sucede con aquellos compuestos coloreados (oscuros), no se determinó por CG-EM que estuvieran presentes en una concentración apreciable, ya que no se detectaron picos que desaparecieran en el CG de las muestras después de irradiar.

En el caso del color es una propiedad que resulta evidente su variación visualmente y además el método de medición es lo suficiente sensible para detectar cambios mínimos, así la desaparición de una sustancia oscura, aunque se encuentre en muy baja concentración es fácil de ser detectada.

V.- CONCLUSIONES

Se confirmó que preparando los ABs en presencia de solvente, se obtienen productos relativamente estables. En general, al usar el método en presencia de solvente es recomendable usar temperaturas de reacción inferiores a 25 °C.

El color de los ABs tiene tendencia a oscurecerse con el tiempo, pero en el caso de que el valor inicial de valor peróxido sea alto, la velocidad de oscurecimiento es menor.

Se descartó el uso del antioxidante ionol como posible estabilizante de los ABs.

Los resultados de las pruebas efectuadas con hipoclorito de sodio y calcio indican que estas 2 sustancias constituyen otra alternativa de tratamiento de ABs además de aquel con peróxido de hidrógeno. A pesar que el olor (6 en la escala arbitraria de 0 a 10, donde 10 corresponde al estándar) que impartieron al AB es diferente al estándar, esto pudiera resolverse con más tiempo de vacío y no debe ser problema ya que con el experimento con el que se compararon los resultados, el que se trató con peróxido de hidrógeno, tuvo una evaluación organoléptica peor (4 en la escala arbitraria), sin embargo, con la aplicación de mayores tiempos de vacío, ABs tratados con peróxido se han obtenido conforme a especificaciones en cuanto a su olor.

El uso de aceite epoxidado de soya fue excelente para estabilizar el color de los ABs, usando una concentración de 5 % se logra mantener el color amarillo claro de un AB por más de 1 año; usando una concentración de 1 % la estabilización es de alrededor de 4 meses.

En las muestras sometidas a irradiación con luz UV, cuyos datos de color se midieron durante largos períodos de tiempo se encontró lo siguiente:

(a) Durante las primeras horas de irradiación las muestras se oscurecían o en algunos casos no producían efecto sobre el color.

(b) Después de ciertas horas de irradiación las muestras de AB empezaban a aclararse hasta alcanzar un color amarillo claro, que luego permanecía así durante un período largo de tiempo (algunas más de seis meses).

(c) Algunas muestras ya oscuras sometidas a la irradiación recuperaban su color amarillo original (muestra del experimento 1 I) y algunas no (muestra del experimento 3 I).

(d) La variación en las propiedades generales de las muestras irradiadas no fue significativa.

(e) Todas las muestras que mejoraron su color por la acción de la luz UV contenían peróxido de hidrógeno.

Es posible que la acción del peróxido de hidrógeno en combinación con la luz UV convierta fotoquímicamente las sustancias que provocan el oscurecimiento del AB en sustancias incoloras o amarillas, sin embargo esto no se demostró. Efectuando un análisis profundo mediante CG-EM sería factible demostrar si alguno de los componentes detectados antes de irradiar las muestras se elimina por la acción de la radiación UV.

CAPITULO VI

ANALISIS DE ACEITES BROMADOS MEDIANTE CG-EM, CLAR Y RMN

I.- INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

El objetivo de la mayoría de los trabajos analíticos realizados a la fecha sobre los ABs, ha sido determinar el contenido de bromo en bebidas cítricas, para lo cual se han usado una variedad de técnicas^{1,2,3,4,5,6} como: espectrometría de fluorescencia de rayos X, yodometría, fotometría, colorimetría y cromatografía de gases. La razón por la cual se han llevado a cabo estos trabajos es disponer de métodos analíticos confiables de cuantificación de ABs para el control de la cantidad de los mismos en bebidas; de acuerdo a la FDA (Food and Drugs Administration) el límite máximo permitido es de 15 ppm.

El análisis cualitativo de ABs no ha sido profundamente investigado. La técnica más usada para determinar el tipo de componentes en los ABs ha sido CG; mediante esta técnica los únicos compuestos que han sido identificados son: DBEM, TBEM y HBEM. En algunas referencias se ha sugerido la presencia de derivados bromo vinílicos entre los componentes del AB, pero esto no ha sido comprobado. A continuación se describen algunos de los trabajos donde se han efectuado este tipo de estudios sobre ABs.

Landowne y Lipsky⁷ analizaron por CG una mezcla de 33 % de estearato de metilo (ESM) y 66 % de OM, posteriormente esa misma mezcla fue bromada e inyectada bajo las mismas condiciones; el cromatograma reveló la presencia de 4 picos además del correspondiente al ESM, se indica que el componente principal podría ser el DBEM. En otro experimento al inyectar el LMB, al contrario de lo sucedido con el OMB, no se encontraron componentes distintos a los esperados. La naturaleza de los componentes encontrados no se reportó, a pesar de esto, argumentan que aunque los compuestos inyectados son saturados, es posible que al pasar los componentes a través de la columna pudiera ocurrir una deshidrobromación para producir compuestos monobromados con una o dos insaturaciones.

Conacher, Chadha y Sahasrabudhe⁸ determinaron ABs por CG usando 3 aparatos diferentes, en uno de estos obtuvieron 3 picos cuando inyectaban el DBEM, esto es parecido a lo que señalaban Landowne y Lipsky⁷. El TBEM produjo dos picos en forma de amplios montículos. Con otro aparato los picos obtenidos fueron muy definidos al inyectar DBEM y TBEM aunque la línea base no era recta, sin embargo, después de repetidas inyecciones (en un período de 2 días), aquellos picos definidos fueron gradualmente reemplazados por 2 picos deformes, la descomposición fue más evidente en el TBEM. Estos resultados, mencionan los autores, sugieren una acumulación de las sustancias bromadas en la

columna o en la cámara de inyección, la cual produce problemas en las posteriores inyecciones. En el tercer aparato los cromatogramas obtenidos presentaban picos definidos cuando inyectaban los ABs en presencia de metóxido de sodio.

Los autores mencionaron, en ese entonces, que estaban estudiando la estructura de los derivados bromados detectados; supusieron, sin presentar evidencia, lo mismo que Landowne y Lipsky⁷ que el derivado del OMB correspondía a un octadecenoato de metilo con un bromo vinílico y que el LMB producía ésteres con grupos bromo vinílicos, dobles enlaces conjugados y uno o dos grupos metoxi. En otro trabajo Conacher y colaboradores⁹ encontraron un método reproducible para determinar el tipo de AB en bebidas cítricas y su concentración, detectaron DBEM, TBEM y HBEM los autores obtienen cromatogramas con picos definidos y simples usando inyección directa en columnas de vidrio y la reproducibilidad de los resultados se mantenía durante 3 meses.

James y Kestell¹⁰ analizaron extractos de tejidos de ratas previamente alimentados con AB de soya o ácido 9,10-dibromoesteárico, por CG, EM y CG-EM; detectaron DBEM, TBEM y un metabolito que resultó ser el ácido 5,6-dibromosebáico.

Chadha, Conacher y Lawrence¹¹ usaron por primera vez CG con columna capilar para detectar componentes bromados de siete ABs. En este trabajo se identificaron DBEM, TBEM y HEBM; en los cromatogramas aparecen alrededor de 20 picos, cuyos componentes no se identificaron.

En un estudio de análisis de AB por CLAR¹², se detectó en siete preparaciones de AB, previamente sometidos a metanólisis ácida, la presencia de DBEM, TBEM y HBEM; se usaron fases normal e inversa (octadecil silano) y detector UV a 220 nm. Estos componentes se detectaron y cuantificaron en los ABs estudiados (oliva, ajonjolí, algodón, maíz, soya y una marca comercial de AB llamada Akwilox 133).

El orden en que aparecen los componentes bromados y sin bromar, de una mezcla de estándares bromados en la fase reversa fue: 3 picos no identificados, LNM, HBEM (2 isómeros), LM y TBEM, un isómero de TBEM, DBEM, OM y finalmente el heptadecanoato de metilo. En la fase normal también se observan dos picos de baja intensidad de componentes no identificados. Los eluentes fueron acetonitrilo-agua (95 - 5) para la fase inversa y hexano - isopropanol (500 - 1) para la fase normal, la columna fue de 25 cm x 4.5 mm x 5 μ , los solventes usados para la muestra fueron acetonitrilo - tetrahidrofurano (8:2 v:v).

Colección Digital UANL

Tesis: Maestría, Doctorado y Especialidad

Bibliotecario: Ornela Karim Gómez Hd

Fecha: 20 02 / 2007

Facultad: Agricultura

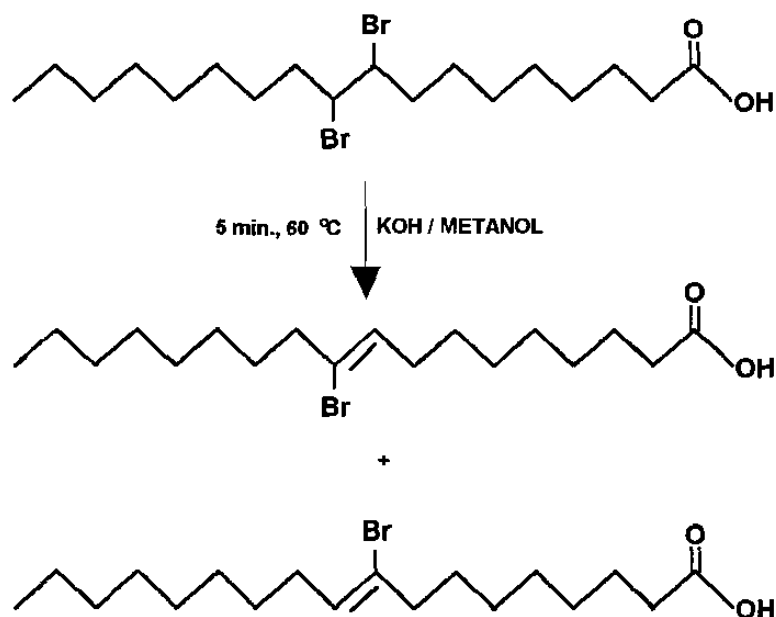
Registro de Código de Barras

	Maestría	Maestría	Maestría	Doctorado	Doctorado	Doctorado
1	020 6780			1020145420		
2	020 6782			0-0634		
3	020122929 A			1020150640		
4	1020 26729			1020145342		
5	020145982			2050 1		
6	020 42 21			1020148800		
7	020 45 3			20090208		
8	020 45373			0-0146419		
9	020 48 0			1020147953		
10	1020 4x 69			1020150286		
11	1020149305			1020148421		
12	1020 49759			- 1020148575		
13	1020150309			+ 102007 59		
14	102 09 70			1020150704		
15	1020 49760			02014 8937		
16	1020 5 0v1			10201313 4		
17				1020150250		
18				1020135235		
19				1020145852		
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
32						
33						
34						
35						
36						
37						
38						

La conclusión de este trabajo fue que mediante CLAR los resultados de composición, para los compuestos identificados son similares a los obtenidos por CG, excepto en el caso del HBEM el cual es detectado fácilmente por CLAR no así por CG.

En 1976 Umarov y Gusakova¹³ estudiando la composición del aceite de semillas de *Erremostachys Moluccelloides*, detectaron la presencia de los ácidos 9,10-dibromoesteárico y 9,10,12,13-tetrabromoesteárico en pequeñas concentraciones (5 %); ambos compuestos fueron identificados en la forma de sus ésteres metílicos por RMN ¹H y EM, el siguiente año Tyshchenko y colaboradores¹⁴ obtuvieron los espectros de RMN ¹³C de los 9,10-DBEM y 9,10,12,13-TBEM naturales.

Se encontró¹⁵ que usando hidróxido de potasio en metanol, la formación del derivado bromado vinílico a partir del ADBE es cuantitativa calentando a reflujo 5 minutos a 60 °C. No se reportó la proporción en que son obtenidos los dos isómeros del ácido 9-(10)-bromo-9-octadecenoico.



Gosselin y de Graeve¹⁶ obtuvieron EMs del palmitato de etilo, AL y linoleato de etilo (LE) tratados con bromo. Los EM del LEB y ALB son diferentes si se obtienen en forma directa o a través del CG; el EM del ALB obtenido directamente presenta señales más intensas en la región de iones moleculares pesados y la señal del pico base aparece a 305, lo que indica la pérdida de 4 átomos de bromo. El otro EM reportado (CG-EM) muestra señales características de fragmentos bromados solamente a 306 - 308.

Los objetivos del presente estudio fueron: (a) emplear CG-EM para un análisis profundo de los ésteres metílicos de los ABS, (b) determinar si los componentes bromados que se detectan en CG-EM aparecen

entre los compuestos eluidos mediante CLAR, (c) determinar la presencia de componentes con dobles enlaces C - C en varias muestras de AB y sus correspondientes ésteres metílicos, así como, en OMB y LMB, mediante resonancia magnética nuclear ^{13}C y ^1H .

Mediante CG-EM se identificaron los componentes bromados principales de los ABs, algunos ya reportados (DBSM y TBSM) y algunos que no se han reportado hasta el momento. En el trabajo de James y Kestell¹⁰ sólo identificaron por CG-EM los compuestos DBEM y TBEM.

En este capítulo se incluyen algunas tablas y esquemas con las estructuras de los componentes identificados. En la mayoría de los casos no se considera la estereoquímica; la isomería de los derivados de ácidos grasos naturales AO, AL y ALN es cis.

II.- PARTE EXPERIMENTAL

II. 1. ANALISIS MEDIANTE CG-EM

Los ABs, LMB, OMB y LNMB fueron preparados siguiendo el procedimiento oficial reportado en el AOAC¹⁷. El procedimiento de bromación del LM se describió en el apartado II. 2 del capítulo I, en el caso de la bromación del OM y LNM la diferencia es que se usan 0.15 mL y 0.45 mL de bromo respectivamente, en lugar de los 0.30 mL empleados con el LM. En la preparación de los ABs se usó la misma relación en peso AV/bromo que la de LM/bromo solo que se partió de 32.6 g de los AVs en lugar de los 500 mg de LM, todas las demás cantidades de reactivos usadas se ajustaron a la cantidad inicial de AV.

El OM, LM y LNM son productos comerciales adquiridos en Aldrich con 99% de pureza, se usaron sin posterior purificación. La procedencia del resto de reactivos y AVs usados se menciona en el apartado II. 1 del capítulo I. Los ésteres metílicos de los ABs fueron preparados usando la técnica reportada en el AOAC¹⁸ la cual fue descrita en el apartado II. 2 del capítulo I de esta tesis. Adicionalmente se analizaron 10 lotes de AB de maíz, obtenidos a través de la empresa H&R S.A.

Las muestras de los diferentes ésteres metílicos fueron diluidas en acetato de etilo (Quimicompuestos S.A.), 1:10 y se inyectaron al cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Los equipos y las condiciones usadas fueron las mismas ya reportadas en el capítulo I (apartado II. 2).

II. 1. 1 PREPARACION DE 9(10)-BROMO-9-OCTADECENOATO DE METILO

Para confirmar la identificación del compuesto II detectado por CG-EM se preparó el correspondiente derivado bromovinílico [9(10)-bromo-9-octadecenoato de metilo, la posición del bromo puede ser el carbón 9 o 10] a partir del DBEM, a continuación se describe el procedimiento seguido para su preparación, basado en la preparación reportada por Silbert¹⁵, solo que en ese reporte el reactivo de partida es el ácido dibromo esteárico.

En un matraz bola de 3 bocas de 100 mL se colocan 35 mL de una solución conteniendo 3.4 g de hidróxido de potasio y 35 mL de metanol, esta mezcla se somete a reflujo hasta alcanzar una temperatura de 60 °C, en ese momento se añade al matraz una suspensión de 4.5 g de DBEM en 10 mL de metanol. La solución se calentó 3 minutos y la temperatura subió a 64 °C, después de sacar la primer muestra (14 mL) a los 5 minutos, la temperatura bajo a 52 °C, se sacó una segunda muestra (14 mL) a los 30 minutos, esta muestra presentó un olor muy desagradable, finalmente se sacó una última muestra después de una hora de calentamiento.

Todas las muestras fueron tratadas con 25 mL de ácido clorhídrico 6 M, lavadas hasta pH neutro y extraídas con éter etílico. Posteriormente cada una de las muestras se trató durante 3 minutos con 12 mL de una solución de trifloruro de boro en metanol (12.5 g en 100 g de metanol, la cual da un porcentaje de acidez de 9.53 calculada como trifloruro de boro).

La muestra del producto obtenido se disolvió en acetona (0.25 mL en 1.5 mL de acetona) y se inyectó en el CG, columna capilar, DB-1, 30 m; temperatura programada, 100 °C, 10 °C por minuto hasta 280 °C. También se inyectó en el CG-EM pero bajo diferentes condiciones a las usadas para los demás ésteres metílicos, las cuales son: columna 25 m, temperatura inicial de la columna 100 °C, incremento 4 °C/min hasta 280 °C, las demás condiciones son las mismas establecidas en el apartado II. 2 del capítulo I. Para correlacionar los tiempos de retención con estas nuevas condiciones se inyectó de nuevo el DBEM usando tales condiciones

II. 1. 2. TRATAMIENTO DEL LMB CON HIDROXIDO DE POTASIO EN METANOL

Se pesaron 100 mg de LMB, se le agregaron 5 mL de metanol y 3 mL de hidróxido de potasio en metanol (3.4 g en 35 mL de metanol). Se calentó a reflujo durante 15 min. y se neutralizó con ácido clorhídrico 6 N, se extrajo con cloroformo. Se lavó la fase orgánica con agua hasta pH neutro, se evaporó el cloroformo, enseguida se agregaron 5 mL de trifloruro de boro en metanol y se calentó durante 3 minutos a ebullición. La muestra así como el LMB de partida fueron inyectados al CG-EM bajo las mismas condiciones que el producto de la deshidrohalogenación del DBEM.

II. 2. ANALISIS POR CLAR

Se usaron dos cromatógrafos de líquidos, marca Varian 5000 y Beckman, equipados con arreglo de diodos (Varian 9065 Polychrome). Las condiciones usadas en el CLAR marca Varian fueron: columna, 30 cm x 3.9 mm x 10 µ de octadecil silano; eluente, 100 % acetonitrilo; velocidad de flujo, 1 mL/min; volumen de inyección, 10 µL; longitud de onda del detector UV, 205 nm. Las muestras fueron disueltas en acetonitrilo (0.01156 mg/mL). Las muestras inyectadas fueron OM, LM, LNM bromados y sin bromar y 2 muestras de ésteres metílicos de AB de maíz, 1 CL y 2 CL. El primero de estos fue preparado usando el método de preparación en presencia de metanol, no se usó peróxido de hidrógeno ni aceite epoxidado de soya para estabilizar este producto; el segundo se preparó por reacción directa en ausencia de solvente y el producto fue estabilizado con aceite epoxidado de soya.

Las condiciones usadas en el CLAR marca Beckman fueron: columna, de 15 cm x 4.6 mm x 5 µ de octadecil silano; eluente: metanol - agua (99 - 1); velocidad de flujo, 1 mL/min; volumen de inyección,

10 μ L; longitud de onda del detector UV, 220 nm. Las muestras fueron disueltas en tetrahidrofurano (6 mg de muestra por 5 mL de THF). Las muestras inyectadas fueron OM, LM, LNM, oleato de metilo bromado, linoleato de metilo bromado y linolenato de metilo bromado.

II. 3. ANALISIS POR RMN

El equipo de RMN ^{13}C y ^1H usado fue marca Varian modelo 5200 MHz, se usó cloroformo deuterado como solvente y como estándar interno, tetrametil silano. Las condiciones de operación para obtener los espectros de las diferentes muestras analizadas se presentan en las **figuras No. 6.42 a 6.53**. En el laboratorio de investigación de H&R Alemania se obtuvieron los espectros de RMN ^{13}C y ^1H de los OM, LM y LNM bromados.

II. 3. 1. DESCRIPCION DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS

A continuación se menciona que características presentaban las muestras analizadas por RMN.

(1) 1 RM - AB muestra comercial con 1 % de aceite epoxidado de soya, preparado recientemente, color amarillo. **Figura No. 6.44** espectro RMN ^{13}C y **figura No. 6.45** espectro RMN ^1H .

(2) 2 RM - AB con 1 % de aceite epoxidado de soya, con 5 meses de almacenamiento, color amarillo . **Figura No. 6.46** espectro RMN ^{13}C , **figura No. 6.47** espectro RMN ^1H .

(3) 3 RM - muestra comercial de AB (lote 31250) sin aceite epoxidado de soya, preparado recientemente, color oscuro. **Figura No. 6.48** espectro RMN ^{13}C y **figura No. 6.49** espectro RMN ^1H .

(4) 4 RM - Esteres metílicos de la muestra comercial de AB (lote 31250). **Figura No. 6.50** espectro RMN ^{13}C y **figura No. 6.51** espectro RMN ^1H .

(5) 5 RM - Esteres metílicos de un AB, preparados hace 3 años usando éter etílico-agua como solvente y tratado con peróxido de hidrógeno. **Figura No. 6.52** espectro RMN ^{13}C y **figura No. 6.53** espectro RMN ^1H .

II. 4. DETERMINACION DE INDICE DE YODO

A dos muestras de ABs (1 Y y 2 Y) y sus correspondientes ésteres metílicos (1 EMY y 2 EMY) se les determinó su índice de yodo y enseguida se les sometió a calentamiento a 220 $^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos. Posteriormente, a las 4 muestras se les determinó el índice de yodo.

III.- RESULTADOS

III. 1. ANALISIS MEDIANTE CG-EM

En las **figuras No. 6.1 a 6.7** se presentan los cromatogramas del OMB, LMB, OMB deshidrohalogenado, LMB deshidrohalogenado y ésteres metílicos de los AB de maíz (ABM), soya (ABS) y algodón (ABA). En las **figuras 6.8 a 6.22** se muestran los EM de los 15 compuestos bromados identificados. Los EM incluidos corresponden a cada uno de los componentes bromados detectados en alguna de las muestras analizadas, ABM, ABS, ABA, LMB o OMB, sin embargo se obtuvieron EM de los mismos componentes en todas las muestras y además de los componentes más importantes de los AVs empleados y del OM y LM.

En la **figura No. 6.23** se muestra el EM del producto principal de la deshidrobromación del DBEM el cual corresponde al 9(10)-bromo-9-octadecenoato de metilo. En la **figura No. 6.24** se muestran los EMs de 3 componentes de la mezcla de productos de la deshidrobromación del LMB.

En las **tablas No. 6.1 a 6.13** (estas tablas se encuentran al final de este capítulo, después de las referencias bibliográficas) se presentan datos de CG-EM de cada uno de los compuestos identificados en los diferentes tipos de AB analizados. Los datos de porcentaje de composición de los diferentes compuestos en los ABM se obtuvieron de la muestra preparada siguiendo la técnica del AOAC¹⁷ y de los 10 lotes de AB (ésteres metílicos) obtenidos de la empresa H&R. Es importante aclarar que en estas tablas solo se reportan estructuras probables.

III. 2. ANALISIS MEDIANTE CLAR

En la **tabla No. 6.14** se presentan los tiempos de retención de los componentes detectados usando el CLAR Beckman. Utilizando el sistema de arreglo de diodos se compararon los espectros UV de los componentes más importantes detectados en el cromatograma.

En las **figuras No. 6.25 a 6.31** se presentan los cromatogramas de líquidos y los espectros UV obtenidos mediante el CLAR Varian, en las **figuras No. 6.32 a 6.42** se presentan los cromatogramas y espectros obtenidos del CLAR Beckman.

III. 3. ANALISIS MEDIANTE RMN

En las figuras No. 6.43 y 6.44 se muestran los espectros ^{13}C y ^1H del LM bromado y en las figuras No. 6.45 a 6.54 se presentan los espectros de diferentes muestras tanto de ABs como de ésteres metílicos de ABs.

En la tabla No. 6.16 se presentan los datos del espectro de RMN ^{13}C del LMB, así como a que carbón de la molécula del 9,10,12,13-TBEM corresponde cada señal.

TABLA No. 6.14
TIEMPOS DE RETENCION DE LOS COMPONENTES DETECTADOS
EN MUESTRAS INYECTADAS EN EL CLAR BECKMAN

PICOS	OM	LM	DBEM	TBEM	HBEM
1	1.1	1.1	1.1		1.1
2				1.3	
3					1.5
4	1.55				
5	1.61	1.6	1.65	1.68	
6	1.73	1.75	1.76		1.75
7	1.8	1.9			
8	2.1	2	2	2.1	2.1
9	2.2		2.2	2.2	2.13
10		2.31			
11	2.6	2.5	2.5	2.5	
12		2.7	2.8	2.8	2.7
13	2.9				2.87
14		3.04		3.09	
15		3.16			
16	3.29				
17			3.48		3.46
18	3.7				
19			3.95	3.97	3.94

Los resultados del análisis por CLAR en el aparato Varian se encuentran en la **tabla No. 6.15**.

TABLA No. 6.15
TIEMPOS DE RETENCION DE LOS COMPONENTES
DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS EN EL CLAR VARIAN

MUESTRA	tr (min)
OM	4.5
LM	4.01
DBEM	10.4
TBEM	9
1 CL	8.9, 11.2

TABLA No. 6.16
SEÑALES DEL ESPECTRO DE RMN ¹³C DEL LMB

FRECUENCIA (ppm)	CARBON No.
174.023	1
30.9332	2
24.875	3
28.9958	4
28.5652	5
27.5812	6
27.4582	7
35.4537	8
58.8562	9
57.2571	10
42.7728	11
57.1648	12
58.7639	13
36.5608	14
27.3352	15
27.2121	16
22.4148	17
13.9579	18
51.4141	OCH3

III. 4. DETERMINACION DEL INDICE DE YODO

Los resultados obtenidos en la determinación de índice de yodo, antes y después de someter a calentamiento muestras tanto de ABs como de sus correspondientes ésteres metílicos, se muestran en la **tabla No. 6.17**. Durante estas pruebas se observó desprendimiento de bromo durante el calentamiento al llegar la temperatura a 200 °C.

TABLA No. 6.17

RESULTADOS DE LA DETERMINACION DEL INDICE DE YODO

MUESTRA	INDICE DE YODO INICIAL	INDICE DE YODO FINAL
1 Y	9	26
2 Y	7	25
1 EMY	11	47
2 EMY	13	46

*

IV.- DISCUSION DE RESULTADOS

IV. 1. ANALISIS MEDIANTE CG-EM

La detección de los 15 componentes bromados presentados aquí, se basó en el patrón de fragmentación de cada uno de estos, excepto en los casos del 9,10-dibromooctadecanoato y del 9,10,12,13-tetrabromoestearato de metilo, los cuales se identificaron por comparación con los EM de los estándares preparados.

Los compuestos monobromados presentan una señal a $M + 2$ con casi la misma intensidad que el ion molecular M ; para el caso de un compuesto dibromado se presentan los iones $M + 2$ y $M + 4$; para el compuesto tribromado, los iones $M + 2$, $M + 4$ y $M + 6$; en el compuesto tetrabromado, $M + 2$, $M + 4$, $M + 6$ y $M + 8$. Sin embargo en el caso de compuestos bromados de alto peso molecular, todos estos picos son muy difíciles de detectar¹⁹. A pesar de esto, aumentando la sensibilidad del EM en esta región de iones de alto peso molecular se logró detectar alguno de éstos, como se muestra en las **tablas No. 6.1 a 6.13**, lo que se utilizó para la caracterización del componente bromado en el AB.

Para efectuar la interpretación, se tomó en cuenta el tiempo de retención del compuesto y algunas señales características de la fragmentación de compuestos bromados¹⁹, con esto se determinó el número de átomos de bromo y con base a las señales del EM con m/e en el intervalo de 291 a 295, se asignó el número de dobles enlaces del compuesto.

Así pues, dependiendo del número de átomos de bromo y de las señales en la región de 291 a 295, se cumple lo indicado en la **tabla No. 6.18**.

Cabe aclarar en la **tabla No. 6.18** que la señal producida por la combinación que involucra 2 dobles enlaces podría también ser originada por 1 triple enlace.

La explicación de lo indicado en la **tabla No. 6.18** se encuentra en los mecanismos de fragmentación mostrados en los **esquemas 6.1 a 6.13** (estos esquemas se encuentran al final de este capítulo).

Se observó que en los tres tipos de ABs analizados se encuentran los mismos componentes bromados. La composición reportada en las **tablas No. 6.1 a 6.13**, se determinó con base al porcentaje de área relativa de cada componente.

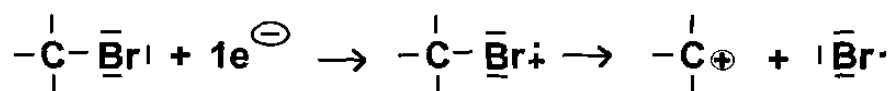
TABLA No. 6.18
CORRELACION DE NUMERO DE ATOMOS DE BROMO Y DOBLES
ENLACES C - C CON IONES ENTRE 291 A 295

ACIDOS GRASOS DE 18 C ESTER METILICO		ION PRINCIPAL EN LA REGION 291 - 295
# Br	# C = C	
1	2	293
1	1	295-294
2	2	291
2	1	293
2	0	295
3	1	291
4	0	291

Algo muy interesante que se encontró, fue que en el oleato y linoleato de metilo bromados se presentaron algunos de los compuestos identificados en los ABs, lo cual no ha sido reportado, como se mencionó en la sección de antecedentes de este capítulo, se ha reportado que a partir de la bromación del OM y LM sólo se obtienen el derivado 9,10-dibromooctadecanoato de metilo y el 9,10,12,13-tetrabromooctadecanoato de metilo, respectivamente; aunque en algunas referencias^{7,8} si mencionan la posibilidad de otros componentes, esto no se comprobó.

Un propósito más ambicioso que se pretendió en este trabajo, fue el de estimar la posición más probable de los átomos de bromo y de los dobles enlaces C - C (o triples enlaces), en los compuestos bromados I a XV, con base únicamente al patrón de fragmentación de cada uno de estos. Los únicos compuestos en los que se sabe la posición exacta de los bromos son el IX y el XIV, que se identificaron con base a su tiempo de retención y EM, estos últimos coinciden con los de los componentes que se obtienen en mayor concentración a partir de la bromación del OM y LM y que corresponden al 9,10-DBEM y 9,10,12,13-tetrabromooctadecanoato de metilo.

Así, para los otros 13 componentes del AB, en la asignación de la posición de dobles enlaces y bromo se consideraron los siguientes posibilidades de fragmentación (a) rompimiento del enlace C - Br lo cual produce un carbocatión y un átomo de bromo:



y (b) rompimiento del enlace C - C adyacente al bromo como esta reportado¹⁹:



Considerando estas fragmentaciones se encontró que las estructuras más probables, para los compuestos detectados son las presentadas en las **tablas No. 6.1 a 6.13**.

La asignación de estructuras probables se basó en la consideración de que los átomo de bromo solo podían localizarse en 4 posiciones posibles en la cadena de éster metílico, como es de esperarse, de acuerdo a la posición de los dobles enlaces del OM y LM, esas posiciones obviamente son: los átomos de carbón 9, 10, 12 y 13.

Como se señala en los CG de los ésteres metílicos de los ABs analizados, los compuestos VI y VII fueron detectados en el mismo pico del cromatograma. Con el apoyo de la técnica de barrido del pico por EM, se determinó que en realidad dicho pico correspondía a dos compuestos cuyos EMs presentaban la señal característica de 291 (compuesto VI) y 293 (compuesto VII). Con base a la pequeña diferencia en tiempos de retención de los compuestos que poseen en su estructura 2 bromos y 2 dobles enlaces (III, IV y V), comparada con la del compuesto VI se supuso que este último compuesto debería presentar una estructura diferente pero que produjera la misma señal (291) por lo que se asignó a este compuesto un triple enlace además de los 2 bromos, estructura que se explica de acuerdo al patrón de fragmentación mostrado en el **esquema 6.6**.

Para confirmar la estructura del compuesto II, se preparó dicho compuesto mediante la deshidrobromación del 9,10-DBEM y como se puede observar al comparar los EMs de ambos compuestos, tanto el componente llamado compuesto II (presente en todos los ABs analizados y en el OMB) como el producto de la deshidrobromación del 9,10-DBEM, que esta reportado que es 9(10)-9-octadecenoato de metilo (el bromo puede estar en cualquiera de los 2 carbonos 9 ó 10, no se reporta la proporción en la que se obtienen estos 2 productos), son iguales, por lo tanto quedó confirmada la estructura del compuesto II.

La confirmación de la estructura del compuesto II que es un derivado bromo vinílico, apoya la propuesta de estructura para los otros compuestos que también presentan en su estructura bromos en posiciones vinílicas.

Se encontró que 3 de los componentes obtenidos entre los productos de la deshidrobromación del LMB corresponden a los compuestos III, IV y VI, estos productos no se encontraban originalmente en el LMB sometido a la reacción con hidróxido de potasio en metanol, pero sí en todos los ABs analizados; además en el CG del LMB sometido a deshidrobromación ya no aparecen los componentes identificados inicialmente, como son los compuestos: I, VII, VIII, IX, XI, XII, XIII y el TBEM. Lo anterior confirma el hecho de que al menos los componentes III, IV y VI presentes en los ABs son productos de deshidrobromación. En el capítulo VII se tratarán las reacciones y mecanismos involucrados.

Los resultados de las determinaciones de índice de yodo, muestran que el calentamiento a altas temperaturas de ABs o sus ésteres metílicos provocan su descomposición generando bromuro de hidrógeno y bromo y como consecuencia formando derivados bromados con mayor grado de insaturaciones, lo cual indica la posibilidad de que eso mismo ocurra cuando los ésteres metílicos son inyectados en la columna cromatográfica.

Lo aquí reportado muestra claramente que en los trabajos analíticos realizados anteriormente por la mayoría de los autores no fueron llevados a cabo con la profundidad con que se efectuó el presente estudio, ya que en ninguno de los reportes usados como referencia identifican en los ABs la presencia de 13 compuestos detectados como en la presente investigación.

IV. 2. ANALISIS POR CLAR

Con respecto al análisis por CLAR, debido a que el detector no es sensible a la concentración de los componentes detectados sino a la intensidad de su absorbancia en la región UV no necesariamente el pico de mayor intensidad es el correspondiente al componente en mayor concentración. Sin embargo, tomando en cuenta que la pureza tanto del OM como del LM es 99%, es probable por las diferencias relativamente marcadas en las intensidades de los picos, que exista una cierta correlación entre concentración e intensidad de los picos. Haciendo esta consideración a partir de los cromatogramas obtenidos en el CLAR Beckman se deduce lo indicado en la **tabla No. 6.14**.

Con respecto a los resultados obtenidos en el CLAR Beckman se observa lo siguiente:

(1) En el cromatograma del DBEM el componente con t_r 3.48 min. (pico 17, **tabla No. 6.14**), presenta un espectro UV normalizado distinto al del componente con t_r 3.95 (pico 19, **tabla No. 6.14**), el índice de correlación de los dos espectros UV es 0.869311. Lo anterior puede significar que no son de la misma familia de compuestos o que si son bromados uno presenta otro grupo funcional en su estructura.

(2) El pico que sale a t_r 3.48 min. (pico 17, **tabla No. 6.14**), en el DBEM presenta el mismo espectro UV en tres diferentes puntos, los índices de correlación entre dichos 3 puntos son: 1,2 - 0.999626; 1,3 - 0.999771; 2,3 - 0.999676, lo cual indica que corresponden al mismo compuesto o que si son dos o más componentes estos deben ser isómeros. Los mismos resultados se obtienen para el TBEM.

(3) Los componentes que presentan t_r 2.13 (pico 9, **tabla No. 6.14**), 3.09 (pico 14, **tabla No. 6.14**), y 3.48 min. (pico 17, **tabla No. 6.14**), en el HBEM, TBEM y DBEM respectivamente presentan espectros UV normalizados muy similares, los índices de correlación son: picos 9 y 14 - 0.997729; picos 9 y 17 - 0.994241; picos 14 y 17 - 0.999138, esto significa que pertenecen a la misma familia de compuestos, esto es, corresponden a derivados bromados saturados.

(4) La correlación entre los componentes del DBEM correspondientes a los picos 14 y 19 y los picos 16 del OM y 8 del LM es muy pobre como se muestra enseguida: picos 14 y 19 - 0.869311; picos 14 y 16 - 0.681154; picos 14 y 8 - 0.653948; picos 19 y 16 - 0.612328; picos 19 y 8 - 0.686835; picos 16 y 8 - 0.164965. Los datos anteriores muestran claramente que los compuestos comparados pertenecen a familias diferentes.

(5) El pico 19 que se presenta en las muestras de DBEM, TBEM y HBEM debe corresponder, en el caso de los 2 primeros, a un solo compuesto o a compuestos pertenecientes al mismo tipo de familia ya que todos poseen un espectro UV similar, el componente del HBEM presenta menos semejanza, lo cual podría indicar que es un isómero de los otros 2 componentes. Los valores obtenidos de índices de correlación son: pico 19 en DBEM y TBEM - 0.997586; pico 19 en DBEM y HBEM - 0.943019; pico 19 en TBEM y HBEM - 0.938263.

Algo interesante es determinar a que compuesto o tipo de compuesto corresponde el pico 19 de la **tabla No. 6.14**, no debe contener un bromo sin insaturaciones porque entonces su espectro UV no sería tan diferente a los de los picos 13, 14 y 17 correspondientes al DBEM, TBEM y HBEM respectivamente; tampoco es un componente que ya exista en OM o en el LM.

De acuerdo a los datos anteriores se puede deducir que en los derivados bromados del OM, LM y LNM (este compuesto no fue inyectado en el CLAR) no presentan componentes diferentes a los esperados DBEM, TBEM y HBEM, si hubiera componentes con 3 átomos de bromo con o sin insaturaciones, o con 2 átomos de bromo con insaturaciones es de esperarse por la posición de los picos identificados, que estos deberían salir entre los picos 14 y 17 y ahí no se detectó ningún componente en las muestras bromadas (DBEM, TBEM y HBEM) o si acaso la combinación en un componente de 2 o 3 átomos de bromo y una o varias insaturaciones hiciera muy polar a dicho componente, no resulta factible que tuviera una polaridad mayor a la del HBEM.

La posibilidad de la existencia de un componente con un átomo de bromo y uno o varios dobles enlaces también se descarta ya que tomando en cuenta los t_r del DBEM (3.48 min.) y OM (3.29 min.), 2 bromos sin insaturaciones (DBEM) hace que el componente sea más retenido en la fase estacionaria que un compuesto con un doble enlace (OM). Puesto que no aparecen picos en DBEM, TBEM y HBEM entre los t_r 3.48 min. y 3.29 min. es una prueba de la ausencia de este tipo de productos monobromo insaturados.

IV. 3. ANALISIS POR RMN

En el caso del LMB es evidente a partir de la información que revelan sus correspondientes espectros de RMN que no contiene enlaces dobles C - C, ni hidrógenos vinílicos, lo mismo sucede para el oleato de metilo que aunque no se presenta entre las figuras mostradas presenta las mismas características que el linoleato de metilo bromado. Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C del OMB y LMB coinciden con los reportados por Umarov y Gusakova¹³ y Tyshchenko y colaboradores¹⁴.

A diferencia de lo anterior, en el caso tanto de los ABs como de los ésteres metílicos de los mismos, si se presentan señales en los espectros de RMN correspondientes a dobles enlaces C - C (ppm - 120 - 140) y a hidrógenos vinílicos (5.2 - 5.8 ppm) que podrían deberse a los componentes detectados por CG-EM.

Al comparar los espectros RMN ^1H y ^{13}C de las muestras de un AB (3 RM) y sus correspondientes ésteres metílicos (4 RM), se confirma que el método empleado de transesterificación no afecta los grupos funcionales presentes en el AB original. La única diferencia en ambos espectros como es de esperarse, es la presencia del grupo metoxi en los ésteres metílicos en el espectro RMN ^1H , los hidrógenos del grupo metoxi proporcionan la señal a 3.6 ppm y en el de ^{13}C el C de grupo metoxi provoca la señal alrededor de 51 ppm.

V.- CONCLUSIONES

Mediante el estudio por CG-EM se encontró que en los ésteres metílicos de ácidos grasos de 18 carbonos se puede determinar fácilmente el número de insaturaciones (dobles o triples enlaces C - C) y el número de átomos de bromo, dependiendo de los tiempos de retención y de la señal (ϵ/m) en la región entre 291 a 295.

Se detectaron 15 componentes bromados en los ésteres metílicos derivados de tres tipos diferentes de AB. Con base al patrón de fragmentación se asignaron las estructuras más probables a dichos compuestos, los nombres de los compuestos son: 10-bromo-9,12-octadecadienoato de metilo (I), 10-bromo-9-octadecenoato de metilo (II), 9,13-dibromo-10,12-octadecadienoato de metilo (III), 12,13-dibromo-8,10-octadecadienoato de metilo (IV) 9,10-dibromo-11,13-octadecadienoato de metilo (V), 12,13-dibromo-9-octadecenoato de metilo (VI), 9,10-dibromo-11-octadecenoato de metilo (VII), trans-9,10-dibromo-12-octadecenoato de metilo (VIII), cis-9,10-dibromo-12-octadecenoato de metilo (IX), 9,10-dibromooctadecanoato de metilo (X), 9,10,12-tribromo-12-octadecenoato de metilo (XI), trans-9,10,12-tribromo-13-octadecenoato de metilo (XII), cis-9,10,12-tribromo-12-octadecenoato de metilo (XIII), 9,10,12,13-tetrabromooctadecanoato de metilo (XIV) y 10-bromo-8,12-octadecadienoato de metilo (XV).

Se detectó mediante CG-EM en el OMB el compuesto II y el 9,10-DBEM (X); por otra parte en el LMB se detectaron los compuestos, I, VII, VIII, IX, XI, XII, XIII y el 9,10,12,13-TBEM.

Mediante los estándares preparados de 9,10-DBEM, 9,10,12,13-TBEM y 9(10)-bromo-9-octadecenoato de metilo se confirmó la identificación de los compuestos II, X y XIV, al coincidir los EMs de estos estándares con aquellos obtenidos para los componentes de los ABs.

Se encontró que los componentes III, IV y VI que solo se habían detectado en los ABs son productos de deshidrohalogenación del 9,10,12,13-TBEM; este compuesto no se encontró entre los componentes de la mezcla de deshidrobromación.

Mediante el estudio de CLAR del OMB y LMB, no se encontraron evidencias de otros componentes bromados además de los esperados 9,10-DBEM y 9,10,12,13-TBEM. Esos mismos resultados se obtuvieron al analizar muestras de ABs. Sin embargo, al menos en el caso del pico del OMB del AB de maíz analizado, el tiempo de retención y los espectros de UV en diferentes puntos del pico no son idénticos, lo que quiere decir que es posible que bajo las condiciones empleadas de trabajo algunos componentes bromados presenten similares tiempos de retención. Mediante el CLAR Beckman se detectan componentes de baja absorbancia en el UV o baja concentración que podrían corresponder a

los derivados bromados detectados por CG, sin embargo, se requiere de un estudio más profundo mediante el cual se logre separar dichos componentes menores para identificarlos por algún método instrumental.

Se determinó que en los OM y LM bromados no hay componentes que presenten dobles enlaces C - C que sean detectados por RMN ^{13}C y ^1H .

Los espectros de RMN de los ABs y de sus correspondientes ésteres metílicos revelan la presencia de dobles enlaces C - C y de hidrógenos vinílicos, esto indica que los ABs si contienen los compuestos detectados por CG-EM. El contenido inicial de los componentes bromados debe ser significativo si se considera la cantidad de bromuro de hidrógeno que se desprende durante la reacción de bromación (ver capítulo II).

La conclusión general del estudio realizado en esta etapa es que los componentes bromados del OMB y del LMB detectados en CG-EM son productos de descomposición durante su paso a través de la columna. Los componentes de los ABs detectados por CG-EM se encuentran presentes desde que se prepara el AB y además, de acuerdo a los datos obtenidos para el OMB y LMB, cierta proporción de dichos componentes se generan a través del paso por la columna del CG de los ésteres metílicos.

Con base a la identificación de los componentes bromados principales de los ABs, apoyada con la identificación de los productos de deshidrobromación del OMB y del LMB, se determinó que la reacción competitiva de la adición de bromo a triglicéridos es la deshidrohalogenación y no la sustitución.

Por lo tanto, el bromuro de hidrógeno que se desprende de la reacción proviene de reacciones de deshidrohalogenación, las cuales generan dobles enlaces C - C que son los que aparecen en los espectros de RMN de las muestras analizadas de ABs y sus ésteres metílicos.

TABLA No. 6.1

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO I

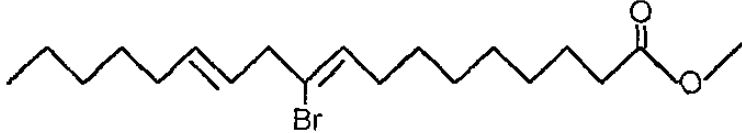




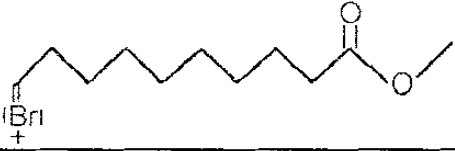

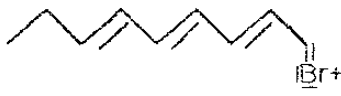
COMPUESTO I: MONOBROMOOCTADECADIENOATO DE METILO		
TIEMPO DE RETENCION: 27.9 MIN		
% COMPOSICION: 0.9-2.02 EN ABM, 0.6 EN ABS, 3.2 EN ABA, 0.3 EN LMB		
ESTRUCTURA POSIBLE: 		
m/e	% ABUNDANCIA EN ABM	POSIBLE ION O ION RADICAL
343	0	
341	1.3	
293	31.3	
261	13.5	
265	0.7	
263	0.3	
264	3.0	
262	2.7	
201	3.9	
199	3.9	

TABLA No. 6.2

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO II

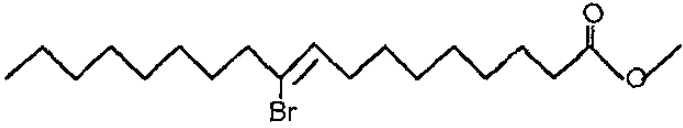
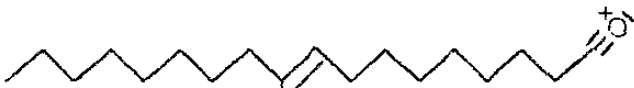


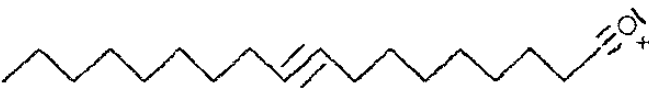
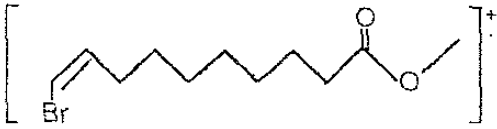

COMPUESTO II: MONOBROMO OCTADECENOATO DE METILO				
TIEMPO DE RETENCION: 28.1 MIN				
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 8.3-13.5 EN ABM, 19.2 EN ABS, 11.2 EN ABA, 0.13 EN OMB				
ESTRUCTURA POSIBLE: 				
m/e	% ABUNDANCIA			POSIBLE ION O ION RADICAL
	ABM	ABS	ABA	
345	1.5	0.9	0.7	
343	1.5	0.9	0.7	
295	27.1	23.6	20.7	
294	23.9	19.4	17.6	
263	65.8	58.6	54.0	
264	13.2	11.1	9.8	
262	3.9	5.9	5.4	
203	1.4	1.5	1.6	
201	1.0	0.9	0.8	

TABLA 6.3

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO III

COMPUESTO III: DIBROMOOCTADECADIENOATO DE METILO			
TIEMPO DE RETENCION: 32.4			
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 0.60 - 1.2 EN ABM, 0.7 EN ABS, 0.8 EN ABA			
ESTRUCTURA POSIBLE:			
m/e	% ABUNDANCIA		POSIBLE ION O ION RADICAL
	BCO	BSO	
372	5.6	7.8	
370	5.6	7.2	
316	7.3	9.8	
314	8.1	10.0	
291	87.0	86.6	
230	17.8	28.9	
228	19.5	29.6	
149	54.8	66.4	

TABLA No. 6.4

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO IV

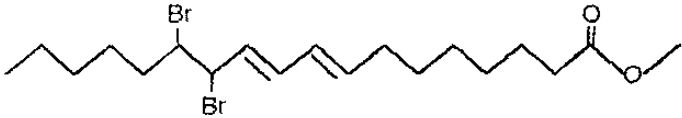

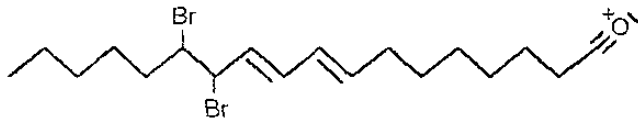
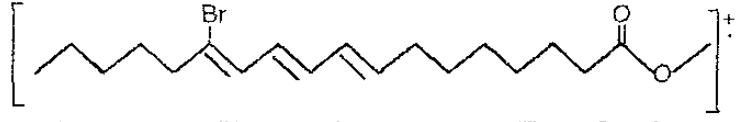
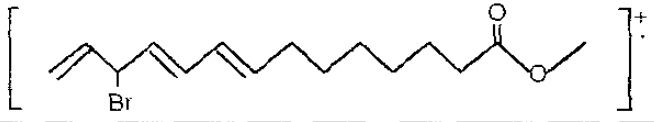
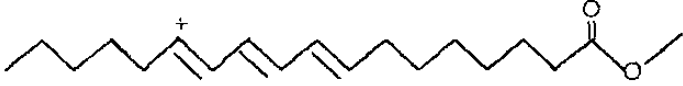
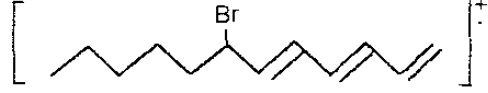
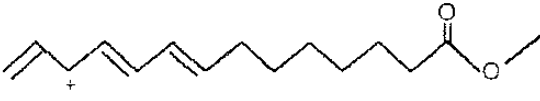
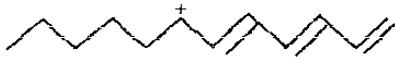
COMPUESTO IV: DIBROMOOCTADECADIENOATO DE METILO			
TIEMPO DE RETENCION: 32.6			
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 0.86 - 4.2 EN ABM, 1.3 EN ABS, 3.5 EN ABA			
ESTRUCTURA POSIBLE:			
m/e	% ABUNDANCIA		POSIBLE ION O ION RADICAL
	ABM	ABS	
454	0	0.6	
452	0	1.3	
450	0	0.3	
423	0.4	0.6	
421	0.8	1.2	
419	0	0.7	
372	8.9	6.4	
370	8.1	6.3	
316	17.7	13.2	
314	19.4	13.4	
291	71.7	53.3	
244	22.6	20.2	
242	27.4	22.1	
235	46.8	3.8	
163	54.8	47.9	

TABLE No. 6.5
 RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO V

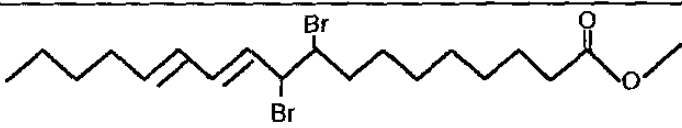
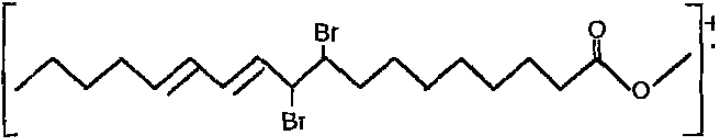
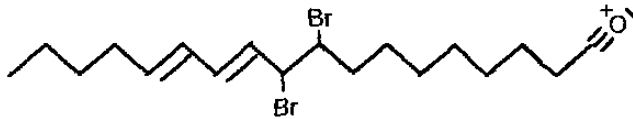
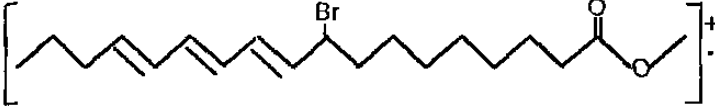
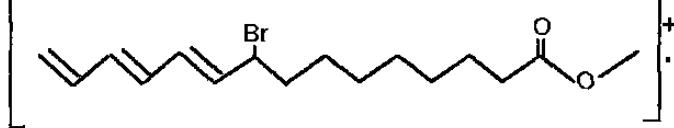
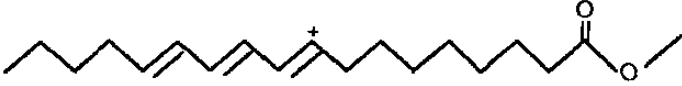



COMPUESTO V: DIBROMOOCTADECADIENOATO DE METILO				
TIEMPO DE RETENCION: 32.7 MIN				
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 0.8 - 4.0 EN ABM, 8.2 EN ABS, 5.3 EN ABA				
ESTRUCTURA POSIBLE:				
				
m/e	% ABUNDANCIA			POSIBLE ION O ION RADICAL
	ABM	ABS	ABA	
452	0	1.0	0.4	
423	1.1	0.9	0.7	
421	1.6	2.3	2.0	
419	1.1	0.9	0.7	
372	8.1	9.5	7.5	
370	4.0	8.9	7.5	
330	11.3	8.9	6.7	
328	11.3	9.2	5.9	
291	85.5	91.1	72.1	
228	29.2	23.9	17.8	
230	30.8	23.9	18.2	
249	30.6	20.7	21.4	
149	100	80.7	68.2	

TABLA No. 6.6

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO VI






COMPUESTO VI: DIBROMOOCTADECINOATO DE METILO		
TIEMPO DE RETENCION: 33.1 MIN		
ESTE COMPUESTO TIENE EL MISMO TIEMPO DE RETENCION DEL COMPUESTO VII		
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS DE COMPUESTOS VI Y VII): 1.8 - 4.6 EN ABM, 6.6 EN ABS, 5.6 EN ABA		
ESTRUCTURA POSIBLE:		
		
m/e	% ABUNDANCIA	POSIBLE ION O ION RADICAL
373	ABM	
	4.7	
371	3.8	
291	45.6	
177	8.8	
175	7.6	
259	7.6	

TABLA No. 6.7

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO VII

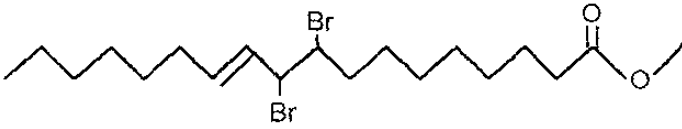
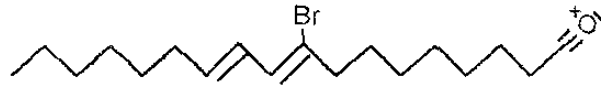
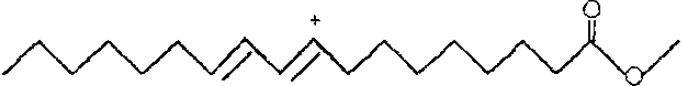
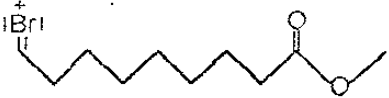


COMPUESTO VII: DIBROMOOCTADECENOATO DE METILO			
TIEMPO DE RETENCION: 33.5 MIN			
ESTE COMPUESTO TIENE EL MISMO TIEMPO DE RETENCION QUE EL COMPUESTO VI % COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 1.8 - 4.6 EN ABM, 6.6 EN ABS, 5.6 EN ABA, 2.2 EN LMB			
ESTRUCTURA POSIBLE: 			
m/e	% ABUNDANCIA		POSIBLE ION O ION RADICAL
	ABM	LMB	
343	0	1.3	
341	0	2.0	
293	49.1	70.4	
251	0	0.5	
249	0	0	
217	1.7	2.0	
215	0.6	1.0	
205	3.5	3.7	
203	0.6	1.0	

TABLA No. 6.8

RESULTADOS DE CG-EM DE LOS COMPUESTO VIII Y IX

COMPUESTO VIII: DIBROMOOCTADECENOATO DE METILO								
TIEMPO DE RETENCION: 33.9 MIN								
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 1.2 - 4.2 EN ABM, 4.0 EN ABS, 4.0 EN ABA, 2.7 EN LMB								
COMPUESTO IX: DIBROMOOCTADECENOATO DE METILO								
TIEMPO DE RETENCION: 34.1 MIN								
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 1.1 - 4.0 EN ABM, 2.3 EN ABS, 4.2 EN ABA, 2.0 EN LMB								
ESTRUCTURA POSIBLE: COMPUESTO VIII								
ESTRUCTURA POSIBLE: COMPUESTO IX								
% ABUNDANCIA								
m/e	COMPUESTO VIII				COMPUESTO IX			
	ABM	ABS	ABA	LMB	ABM	ABS	ABA	LMB
343	1.3	0.7	1.0	0.7	1.8	0.7	1.6	1.6
341	1.6	1.2	1.3	1.0	1.8	0.7	1.6	1.6
293	95.1	96.4	85.8	87.9	83.9	81.2	80.3	92.8
251	2.0	1.8	2.0	1.6	1.6	1.4	1.3	0
249	1.3	0.7	1.3	0	1.6	1.3	1.0	0
205	5.2	4.3	4.3	4.3	4.9	4.5	4.1	3.9
203	2.6	2.0	1.3	1.2	5.6	4.2	0.7	0.7
219	2.0	2.0	1.3	1.4	2.1	2.0	2.0	1.9
217	1.6	0.9	0.7	0.7	1.2	1.3	0.9	1.1

TABLA No. 6.9

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO X

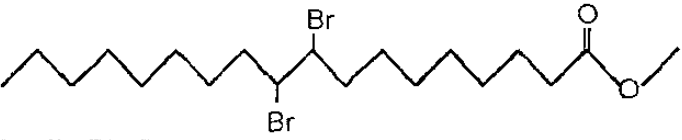
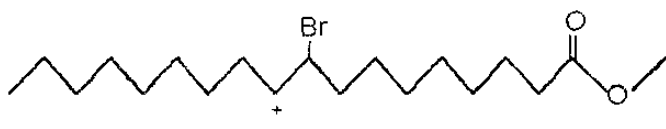
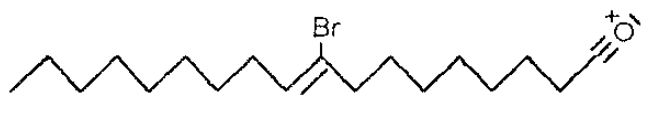
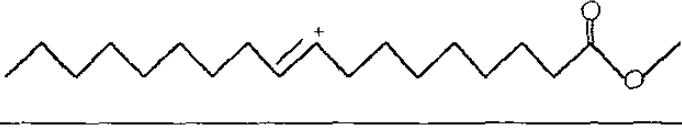

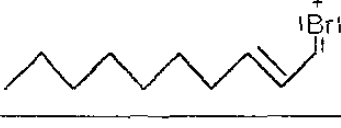

COMPUESTO X: 9,10-DIBROMOOCTADECANOATO					
TIEMPO DE RETENCION: 34.51 MIN					
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 8.3 EN ABM, 7.3 EN ABS, 7.3 EN ABA, 91.4 EN OMB					
ESTRUCTURA: 					
m/e	% ABUNDANCIA				ION O ION RADICAL POSIBLE
	ABM	ABS	ABA	OMB	
377	6.0	5.4	2.3	2.2	
375	5.4	5.3	2.4	2.2	
345	4.4	3.9	1.8	2.5	
343	4.8	9.1	1.8	2.5	
295	41.1	43.0	22.0	25.9	
263	87.1	92.1	47.2	62.2	
219	2.3	2.3	2.6	2.6	
217	1.6	1.3	1.3	2.0	
207	5.7	5.8	9.8	4.5	
205	1.4	1.3	1.5	2.0	

TABLA No. 6.10

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO XI

COMPUESTO XI: TRIBROMOCTADECENOATO DE METILO			
TIEMPO DE RETENCION: 37.3 MIN			
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 3.2 - 4.6 EN ABM, 1.9 EN ABS, 1.6 EN ABA, 11.7 - 12.9 EN LMB			
ESTRUCTURA POSIBLE:			
m/e	% ABUNDANCIA		POSIBLE ION O ION RADICAL
	ABM	LMB	
372	0.3	4.8	
370	0.7	1.1	
291	100	100	
259	12.8	13.3	
191	6.5	2.6	
189	6.5	4.6	

TABLA No. 6.11

RESULTADOS DE CG-EM DE LOS COMPUESTO XII Y XIII

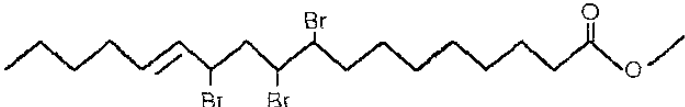
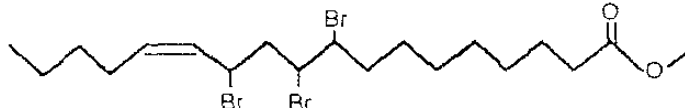
COMPUESTO XII: TRIBROMOOCTADECENOATO DE METILO								
TIEMPO DE RETENCION: 37.8 MIN								
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 0.8 EN ABM, 0.7 EN ABS, 1.5 EN ABA, 2.7 EN LMB								
COMPUESTO XIII: TRIBROMOOCTADECENOATO DE METILO								
TIEMPO DE RETENCION: 37.9 MIN								
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 0.8 EN ABM, 1.4 EN ABS, 1.3 EN ABA, 2.6 EN LMB								
ESTRUCTURA POSIBLE: COMPUESTO XII								
ESTRUCTURA POSIBLE: COMPUESTO XIII O ALGUN OTRO DIASTEREISOMERO DE XII								
% ABUNDANCIA								
m/e	COMPUESTO XII				COMPUESTO XIII			
	ABM	ABS	ABA	LMB	ABM	ABS	ABA	LMB
373	1.3	0.7	1.0	0.7	1.8	0.7	1.6	1.6
371	1.3	0.7	1.0	0.7	1.8	0.7	1.6	1.6
372	1.3	0.7	1.3	0	1.8	0.7	1.6	2.6
370	1.0	0.5	1.0	1.0	1.6	0.5	0.9	0
341	0.3	0.5	0.3	0.7	0.2	0.5	0.3	0
339	0.3	0.5	0.3	2.6	0.2	0.5	0.3	0
291	100	100	100	100	100	100	100	100
259	14.5	15.2	15.3	15.6	14.8	15.1	15.3	13.7
177	10.5	5.7	10.4	6.2	7.4	5.9	7.8	7.4
175	11.3	5.7	11.1	8.5	13.7	9.4	13.0	10.4

TABLA No. 6.12

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO XIV

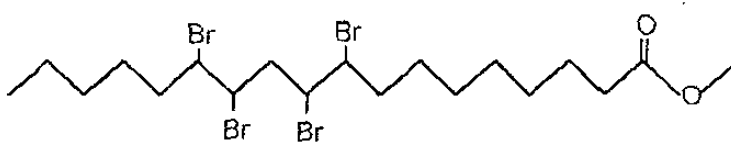
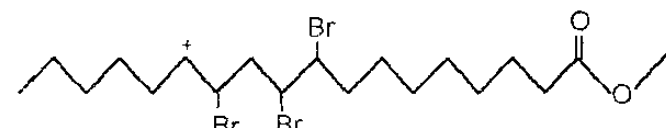
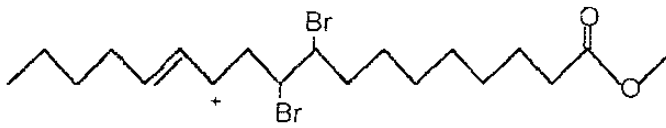
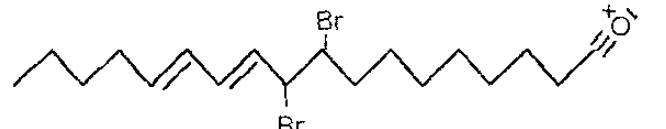
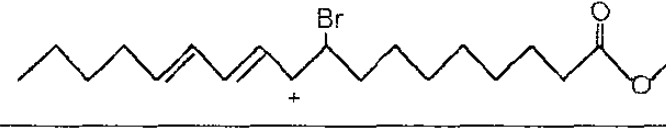
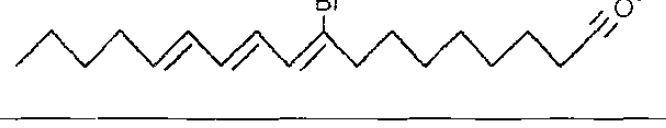
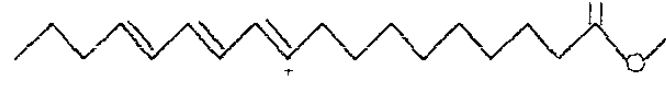
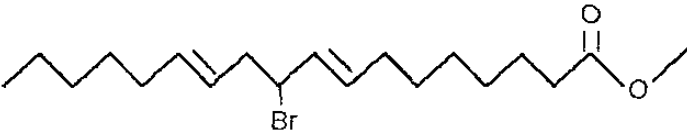
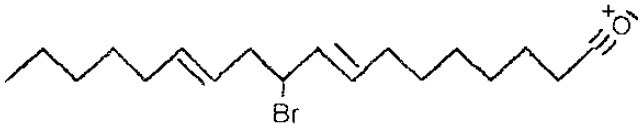
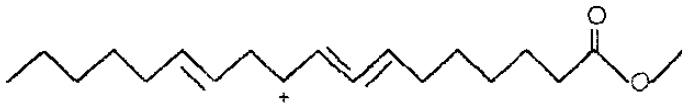
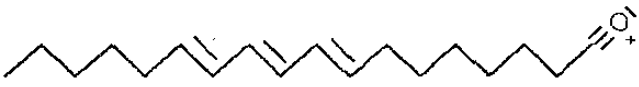
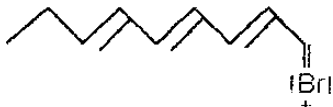
COMPUESTO XIV:9,10,12,13-TETRABROMOCTADECANOATO DE METILO				
TIEMPO DE RETENCION: 42.7 MIN				
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 1.1 - 4.2 EN ABM, 9.0 EN ABS, 10.8 EN ABA, 80.0 EN LMB				
ESTRUCTURA: 				
m/e	% ABUNDANCIA			POSIBLE ION O ION RADICAL
	ABM	ABS	LMB	
537	0	0	0.1	
535	0	0	0.6	
533	0	0	0.6	
531	0	0	0.1	
455	0	0	0.7	
453	0	0.7	1.3	
451	0	0	0.6	
423	0	0.3	0.7	
421	0	0.3	1.3	
419	0	0	0.7	
373	2.4	1.3	2.6	
371	4.7	2.7	2.6	
341	0	2.4	2.3	
339	0	2.3	2.3	
291	100	100	100	

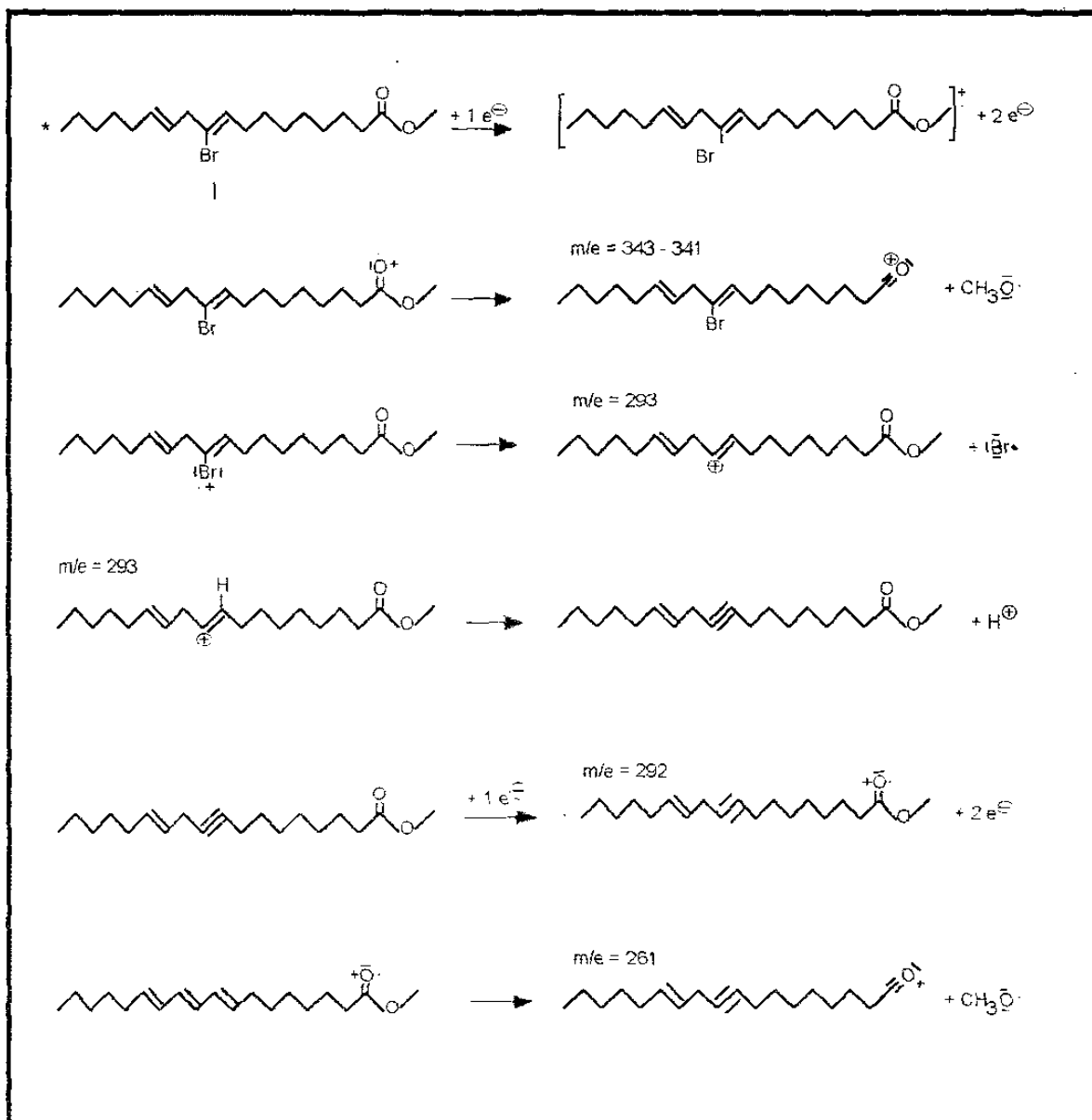
TABLA No. 6.13

RESULTADOS DE CG-EM DEL COMPUESTO XV

COMPUESTO XV: MONOBROMOOCTADECADIENOATO DE METILO		
TIEMPO DE RETENCION: 27.8 MIN		
% COMPOSICION (ESTERES METILICOS): 0.4 - 1.6 EN ABM, 3.9 EN ABS, 1.9 EN ABA, 0.1 EN LMB		
ESTRUCTURA POSIBLE: 		
m/e	% ABUNDANCIA	POSIBLE ION O ION RADICAL
343	ABS 1.4	
341	1.4	
293	67.6	
261	26.2	
201	4.8	
199	9.1	

ESQUEMA 6.1

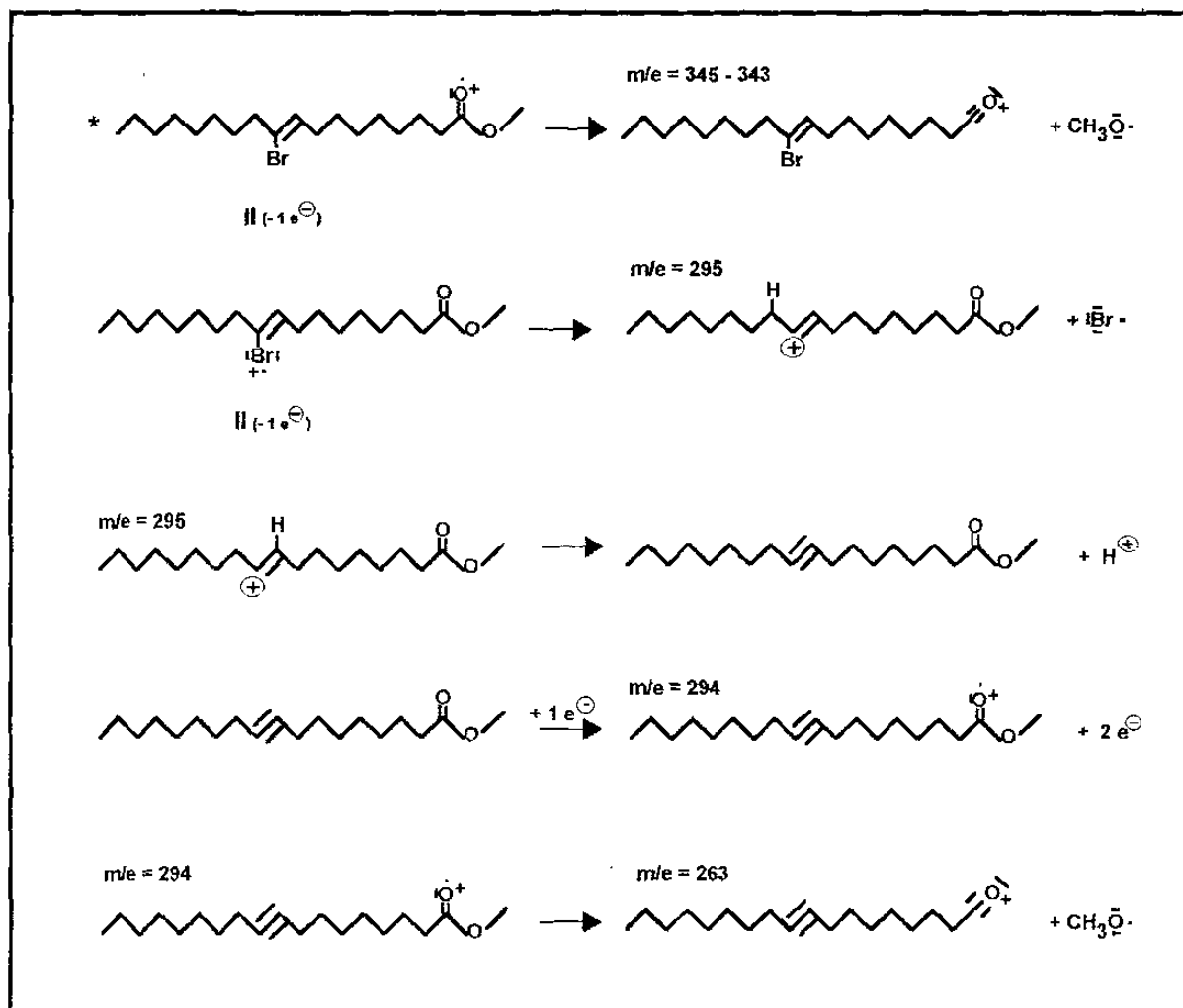
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO I



* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DEL ATOMO DE BROMO Y DE LOS DOBLES ENLACES C - C

ESQUEMA 6.2

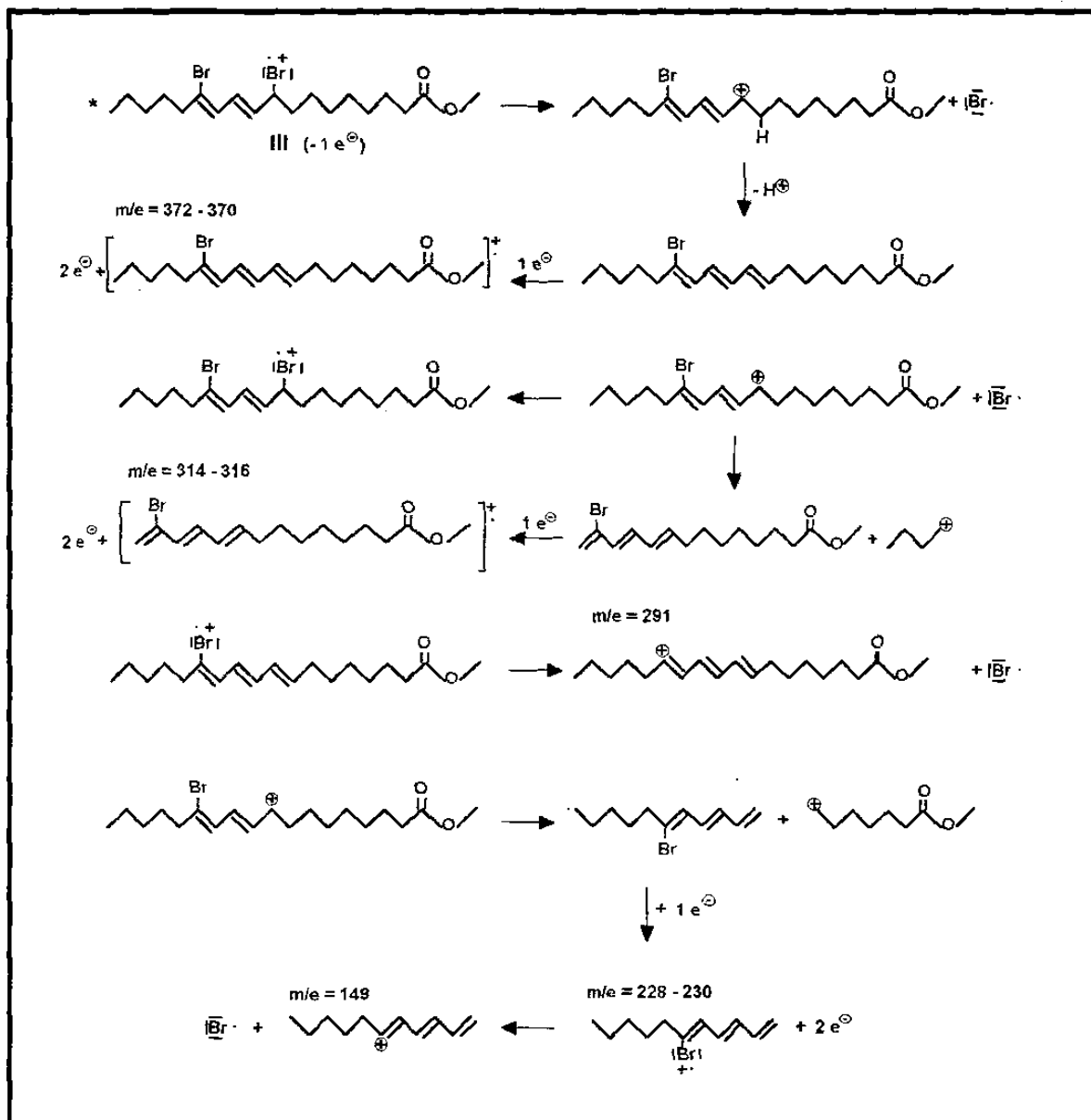
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO II



* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DEL ATOMO DE BROMO Y DEL DOBLE ENLACE C - C

ESQUEMA 6.3

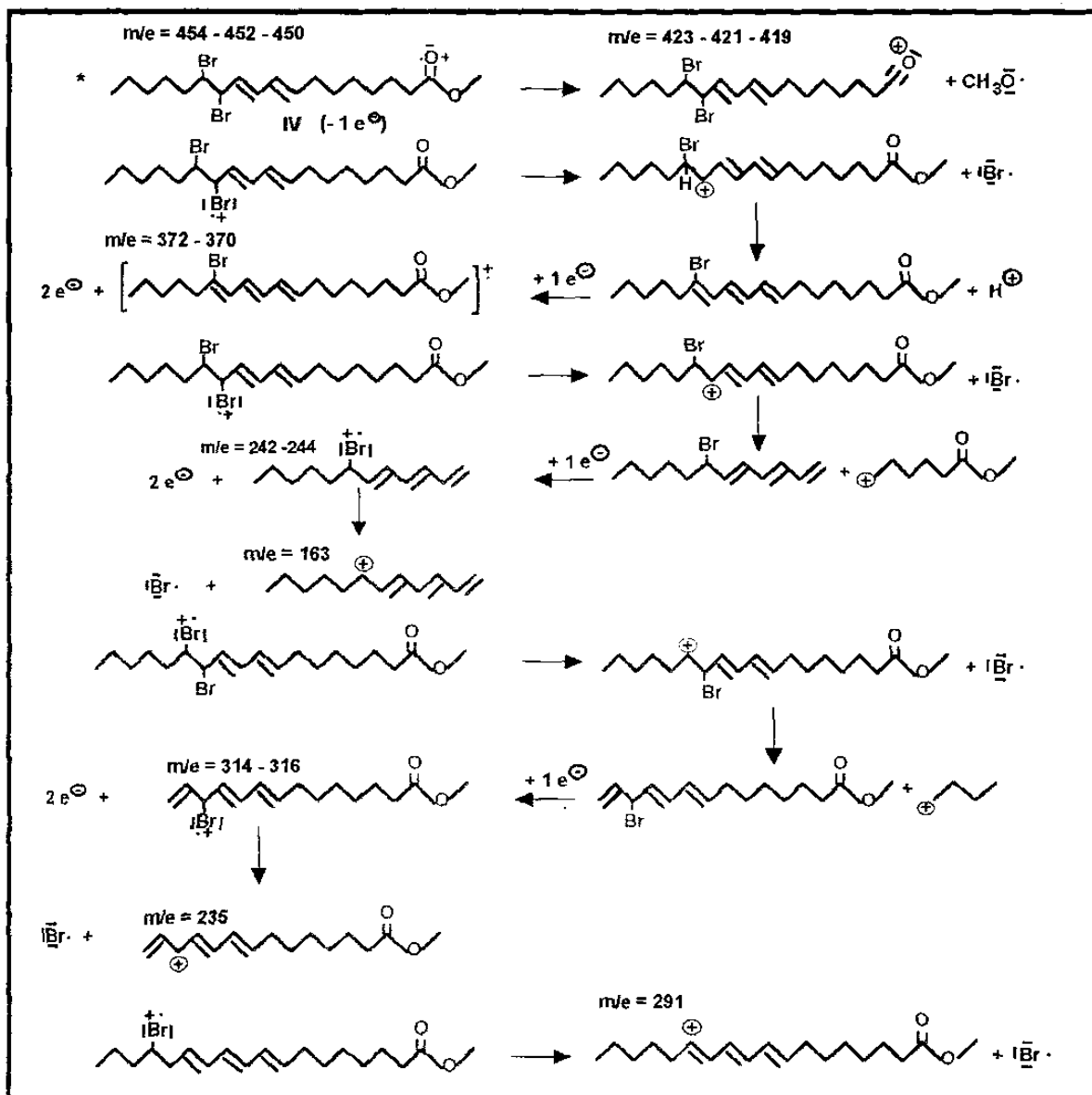
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO III



*ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DE LOS ATOMOS DE BROMO Y DE LOS DOBLES ENLACES C - C

ESQUEMA 6.4

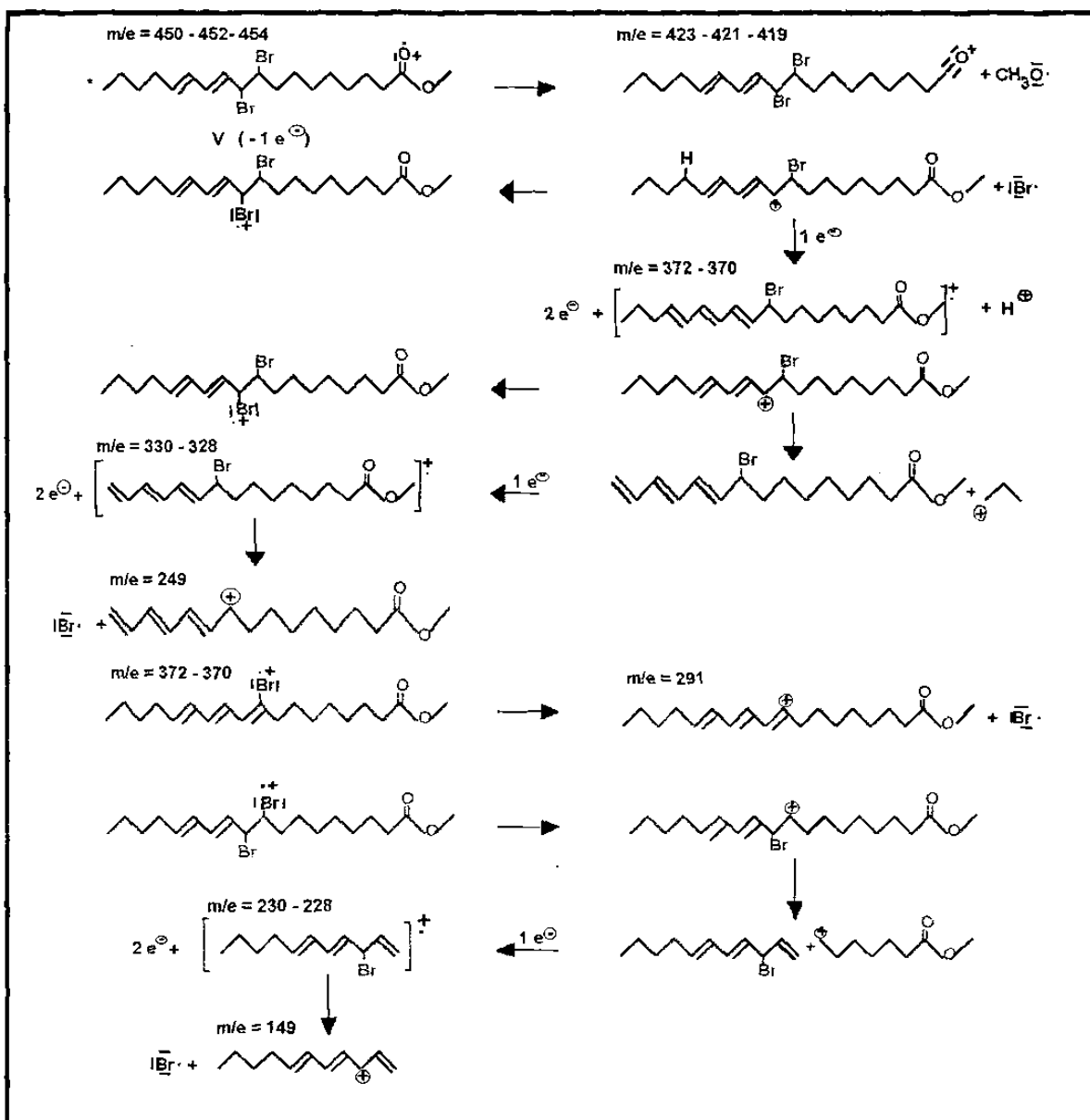
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO IV



* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DE LOS ATOMOS DE BROMO Y DE LOS DOBLES ENLACES C=C

ESQUEMA 6.5

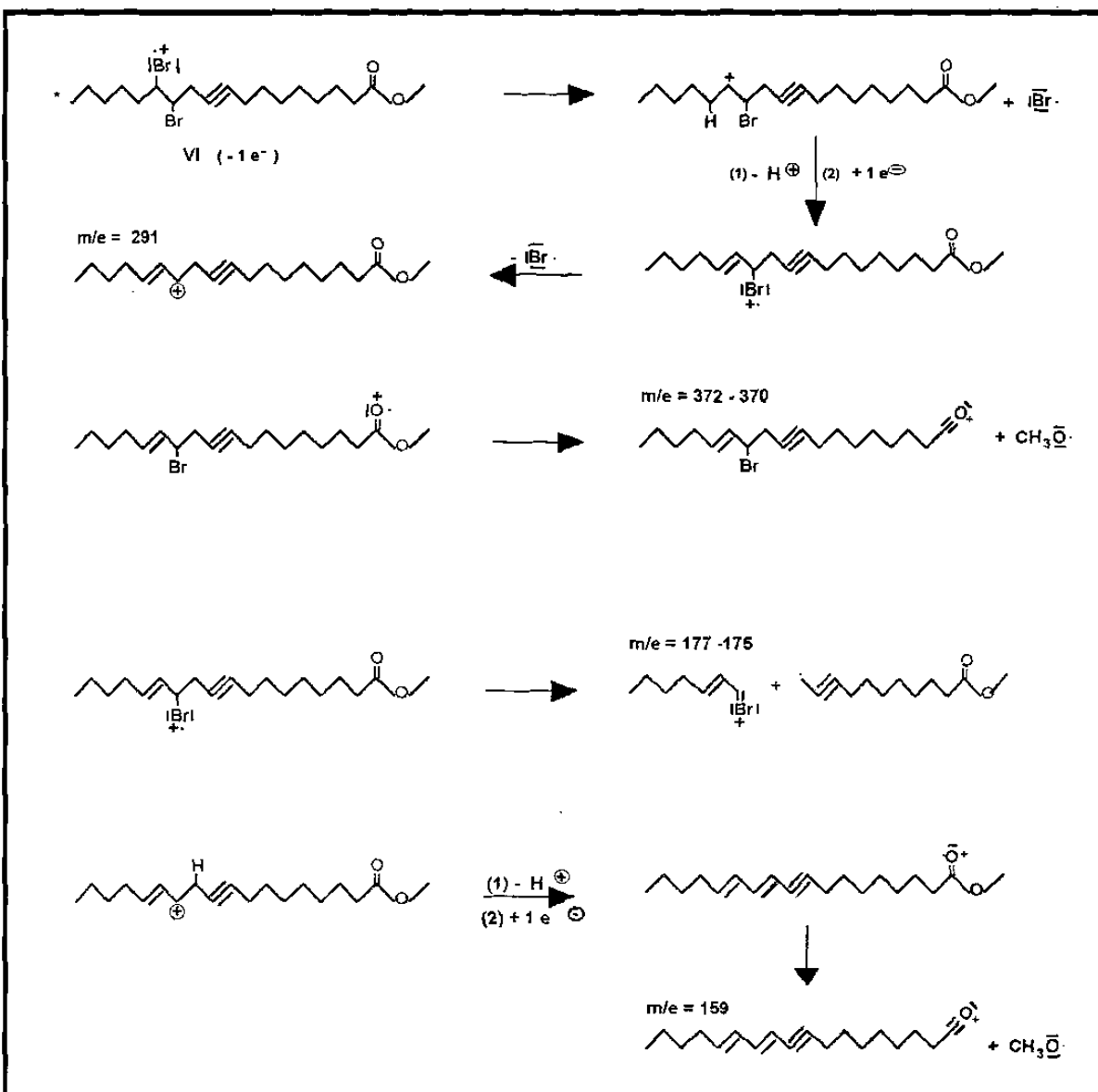
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO V



* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DE LOS ATOMOS DE BROMO Y DE LOS DOBLES ENLACES C - C

ESQUEMA 6.6

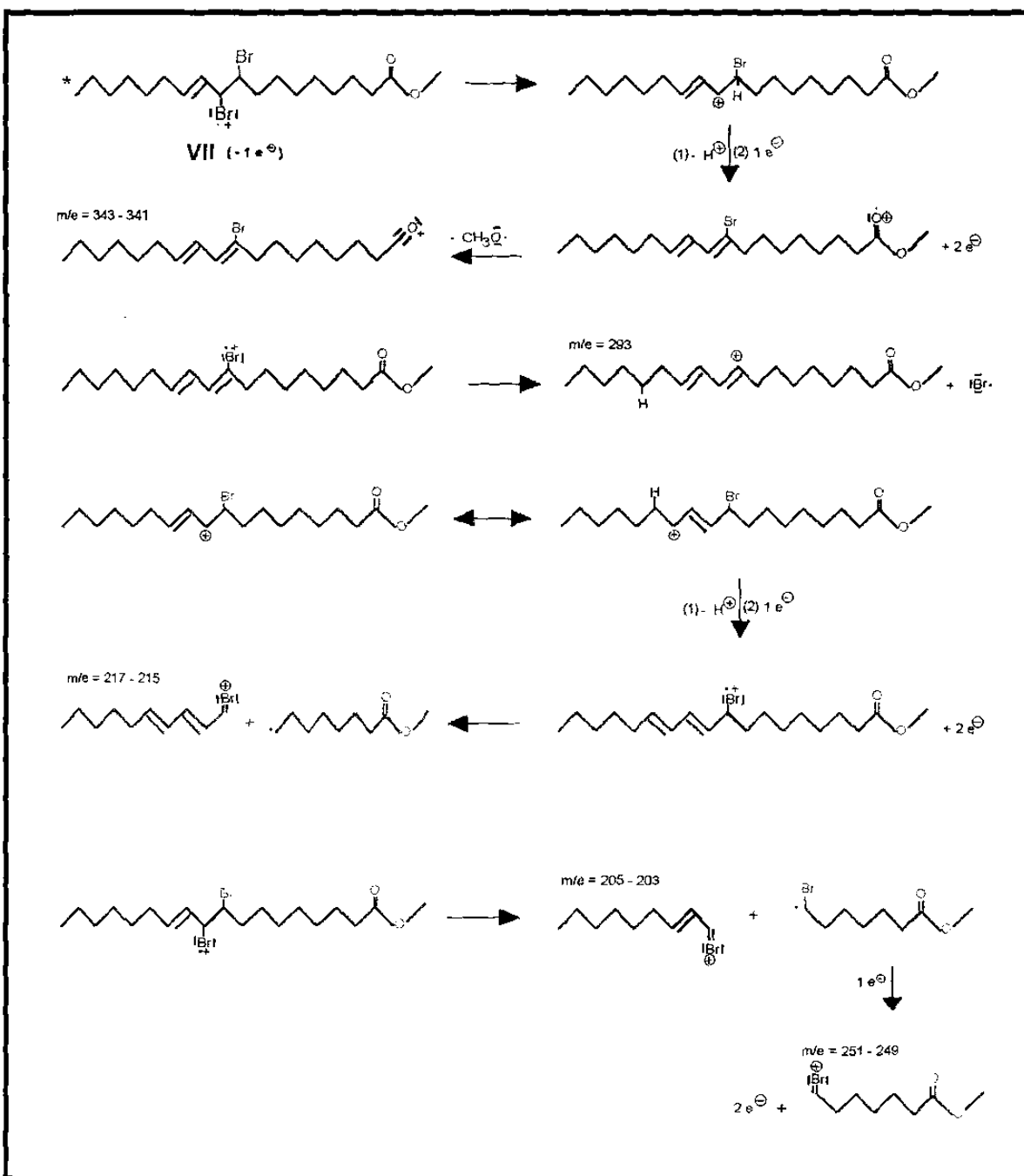
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO VI



* ÉSTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DE LOS ATOMOS DE BROMO Y DEL TRIPLE ENLACE C - C

ESQUEMA 6.7

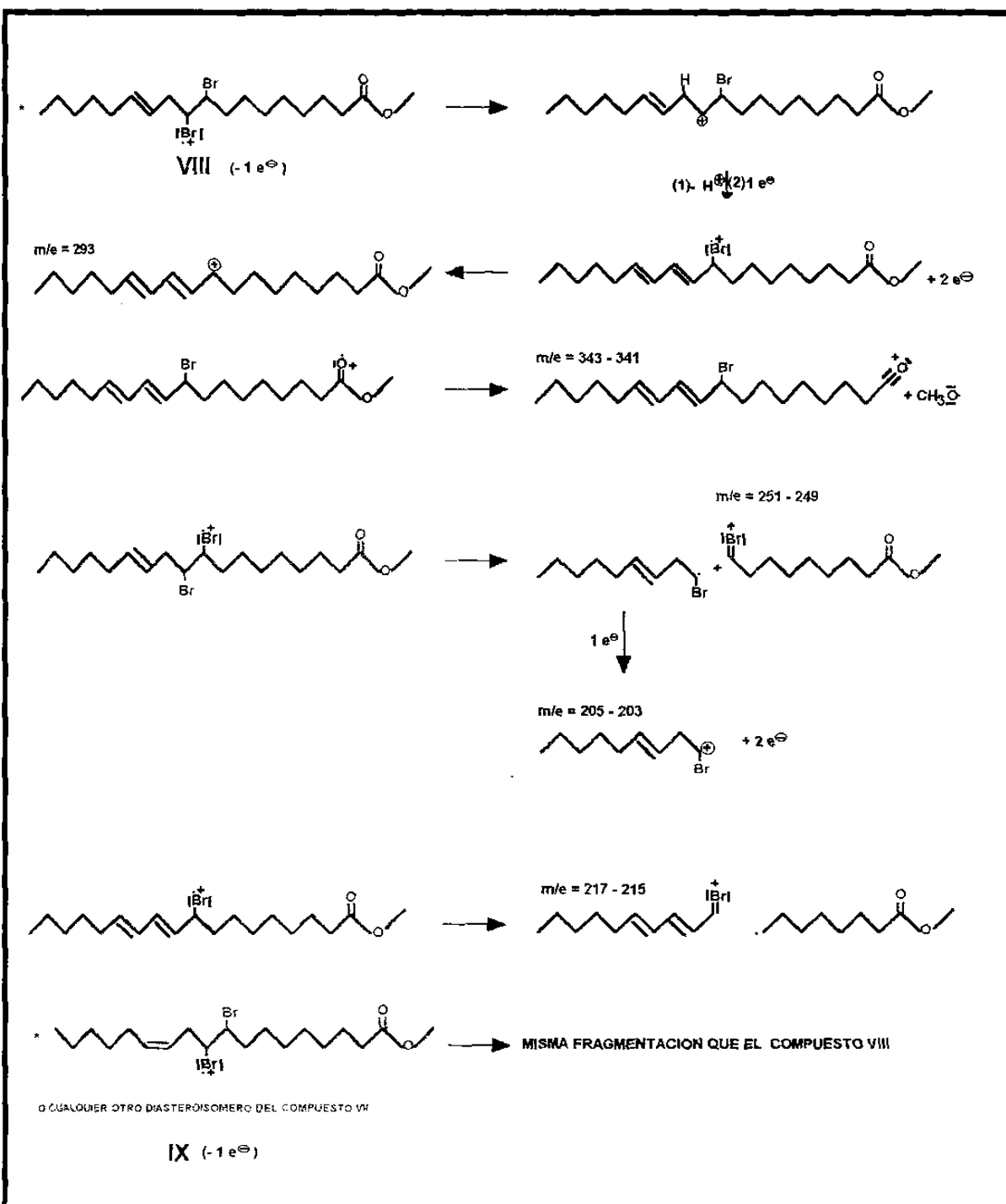
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO VII



* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DEL ATOMO DE BROMO Y DE LOS DOBLES ENLACES C - C

ESQUEMA 6.8

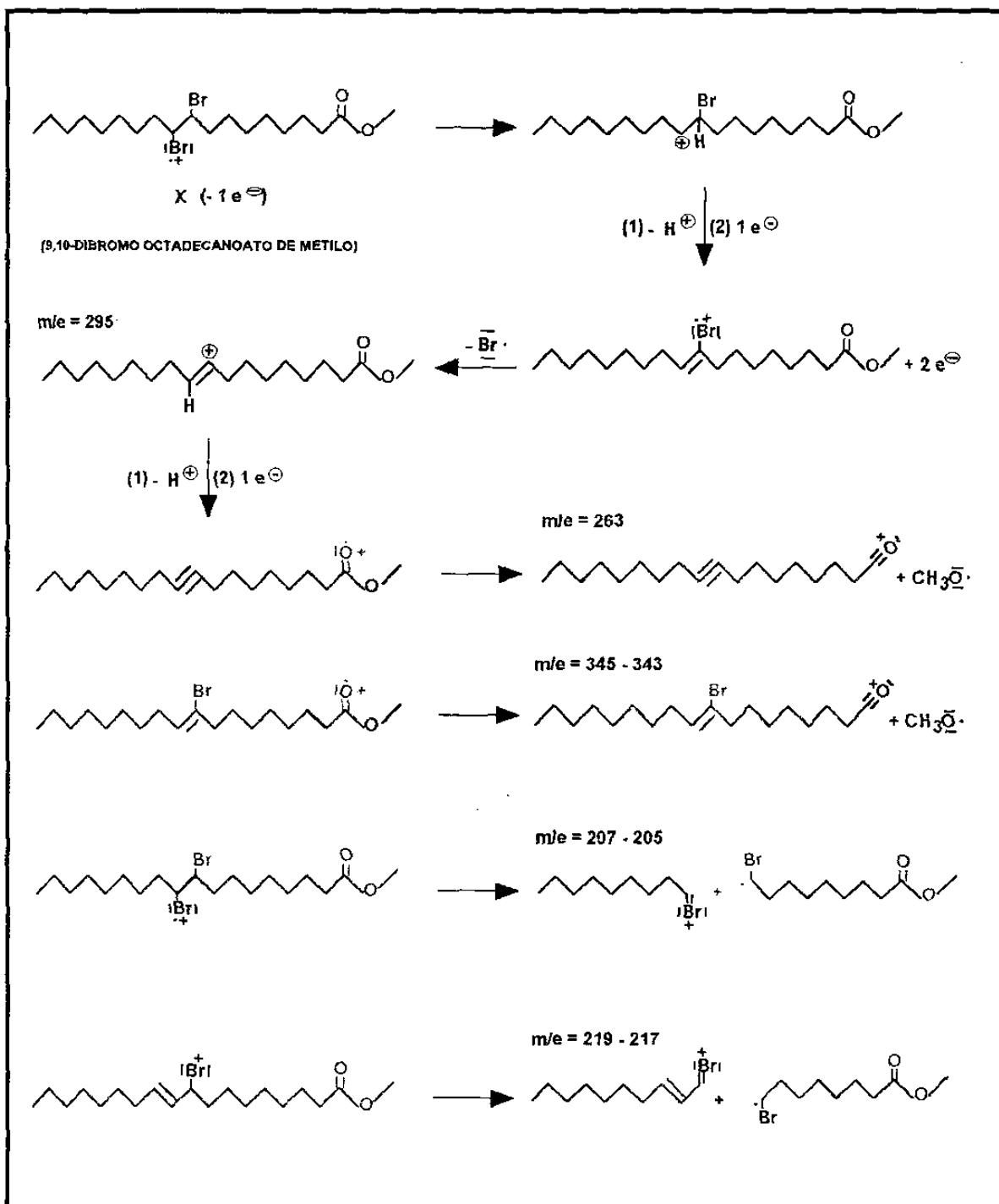
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA LOS COMPUESTOS VIII Y IX



* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DE LOS ATOMOS DE BROMO Y DEL DOBLE ENLACE C - C

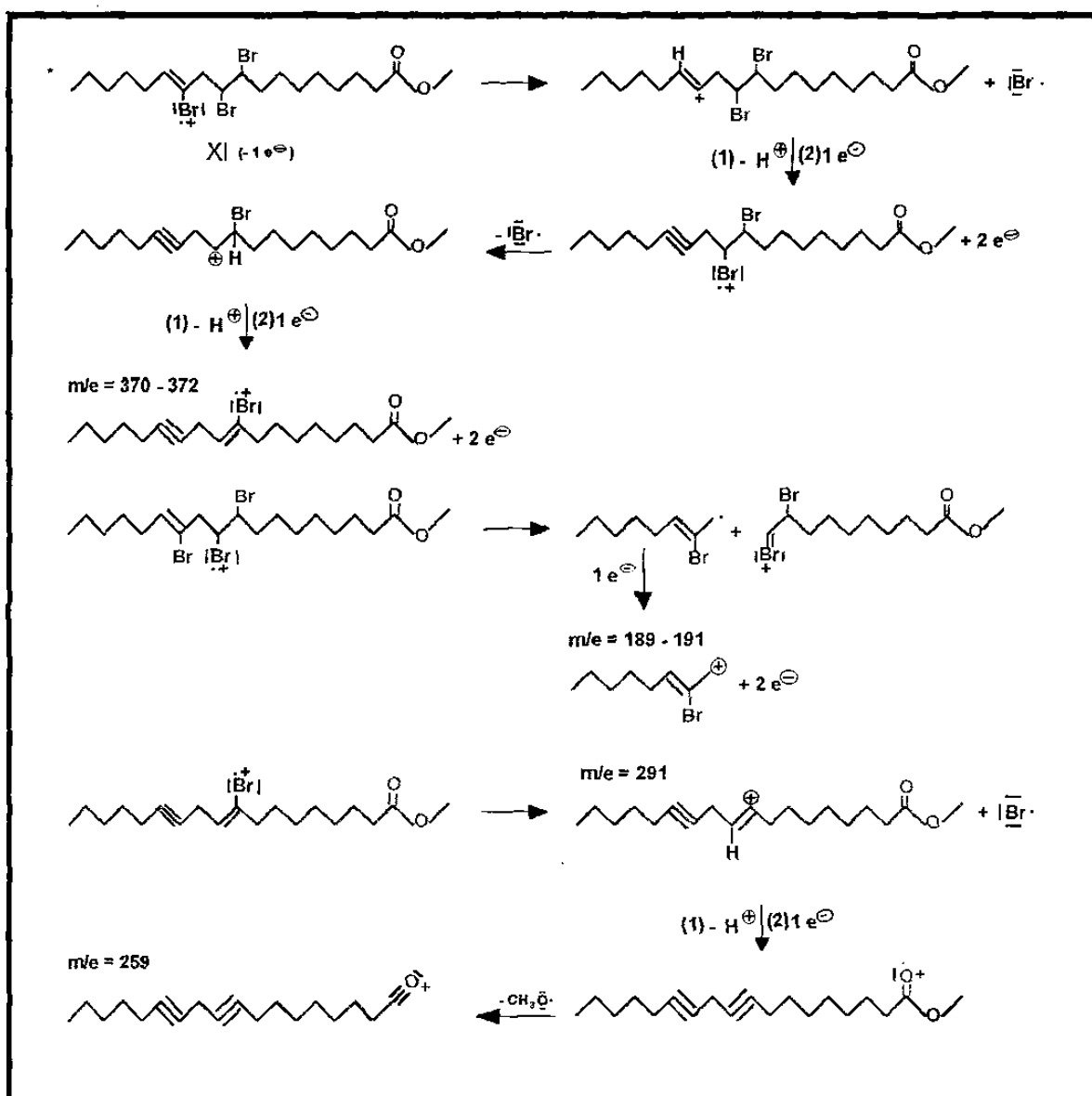
ESQUEMA 6.9

MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO X



ESQUEMA 6.10

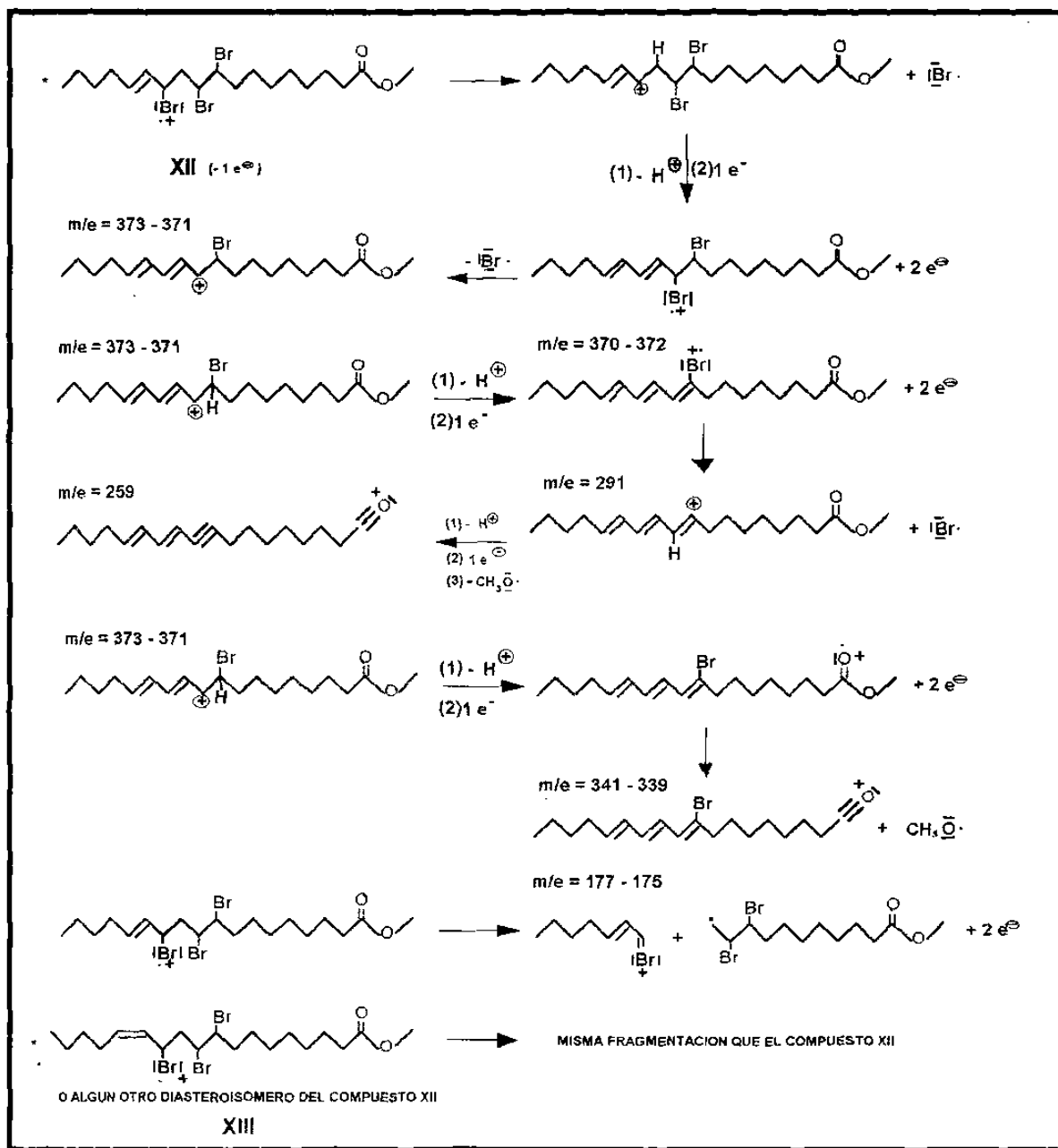
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO XI



* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DE LOS ATOMOS DE BROMO Y DEL DOBLE ENLACE C - C

ESQUEMA 6.11

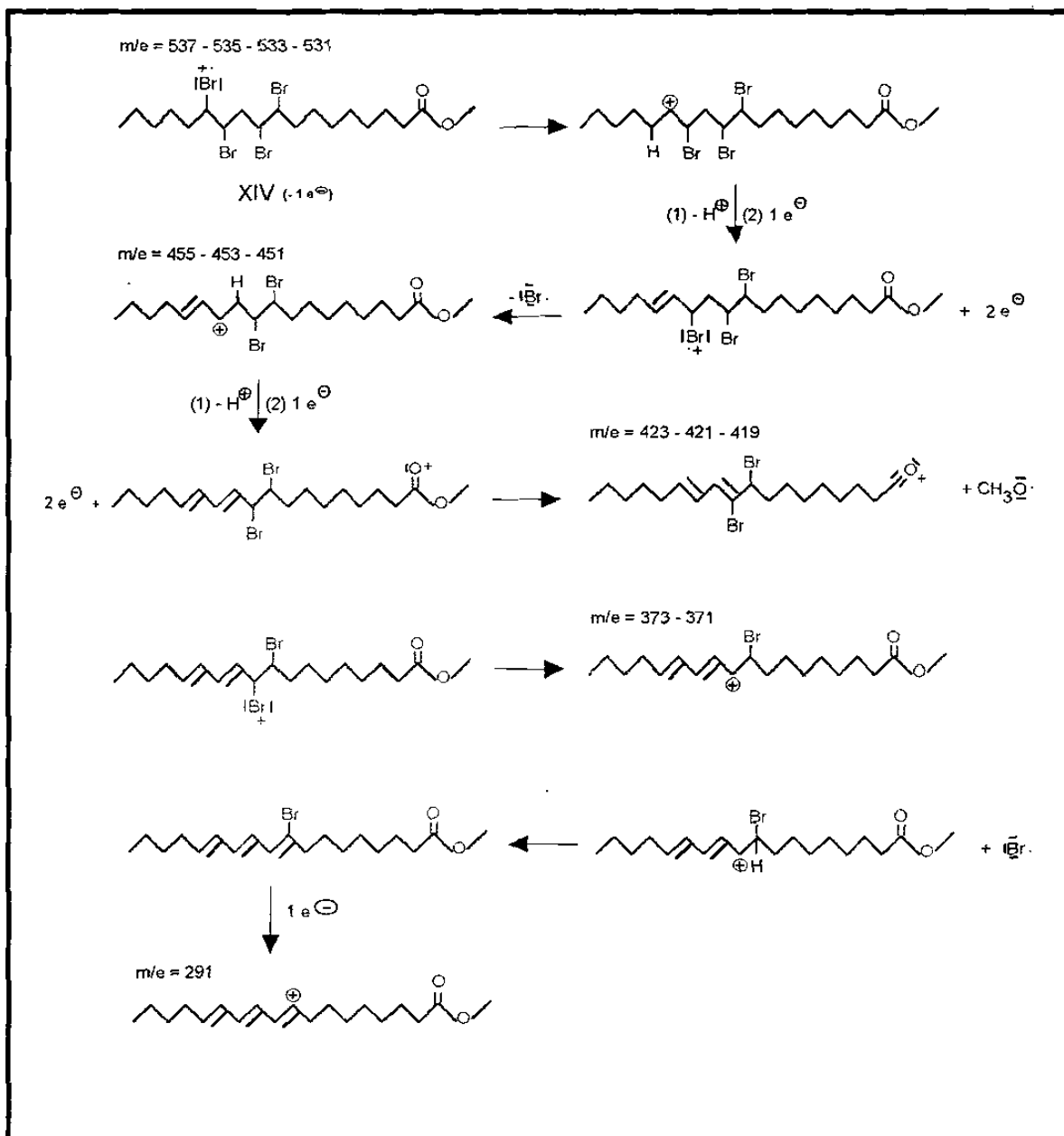
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA LOS COMPUESTOS XII Y XIII



* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DE LOS ATOMOS DE BROMO Y DEL DOBLE ENLACE C - C

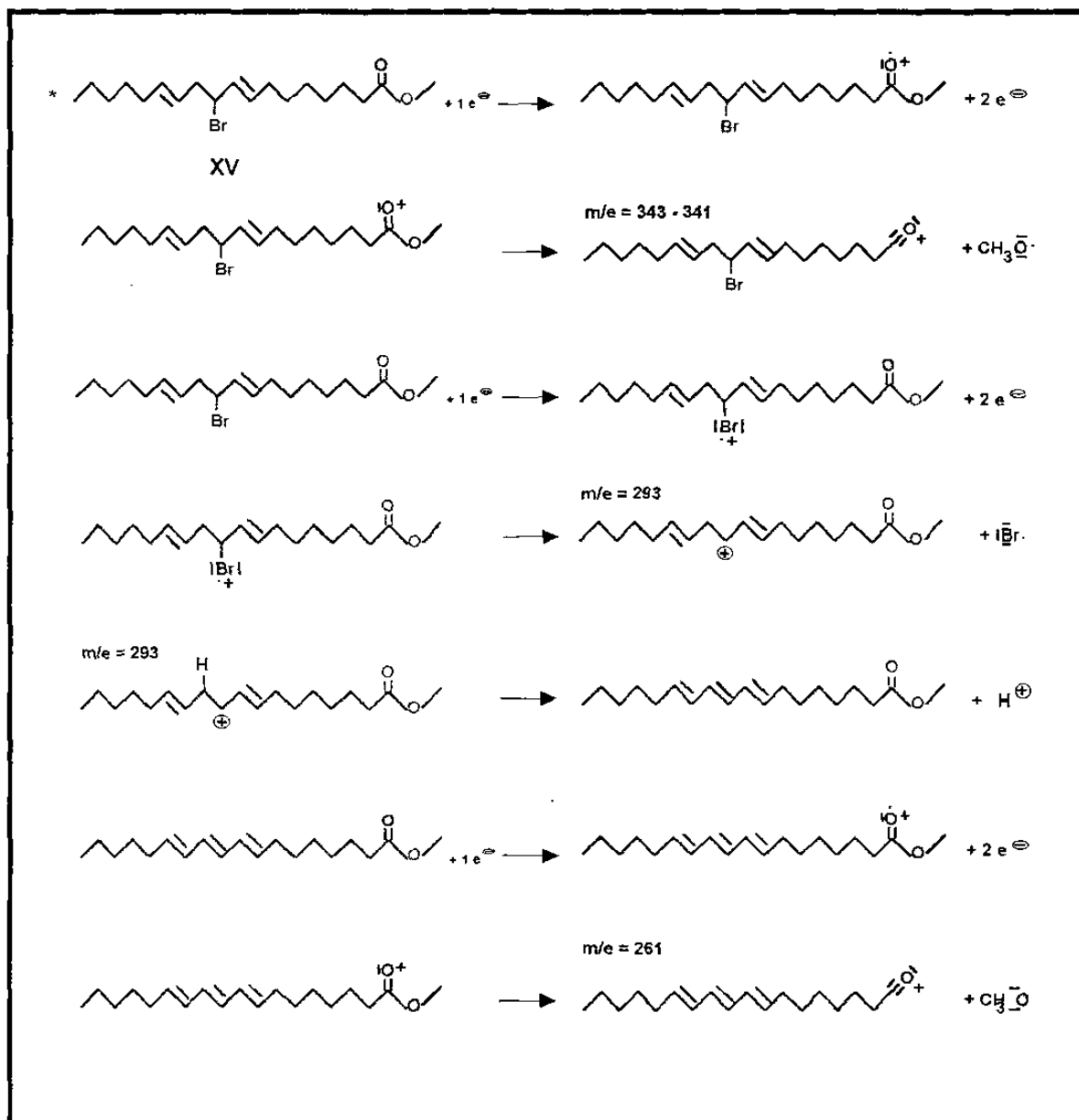
ESQUEMA 6.12

MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO XIV

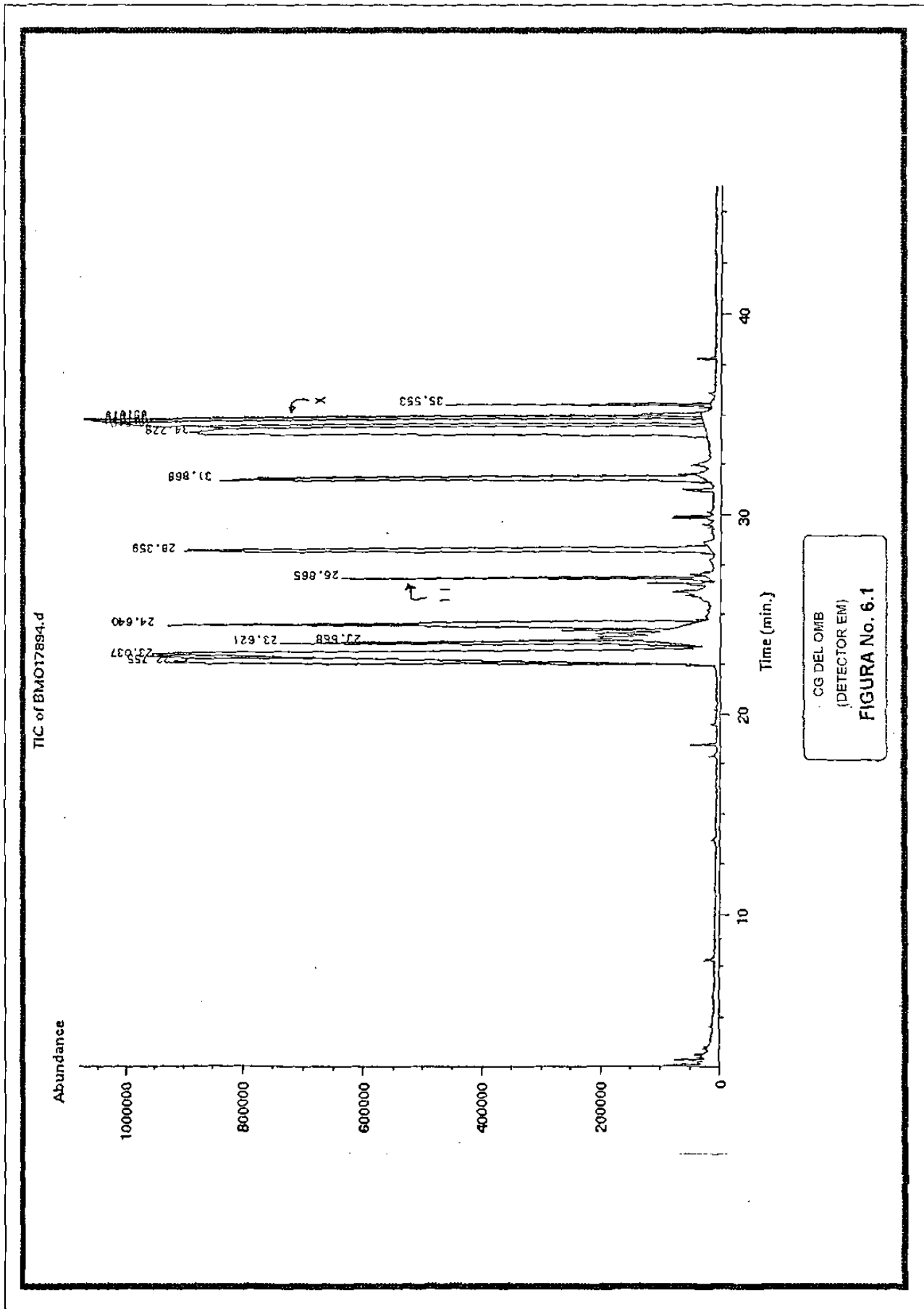


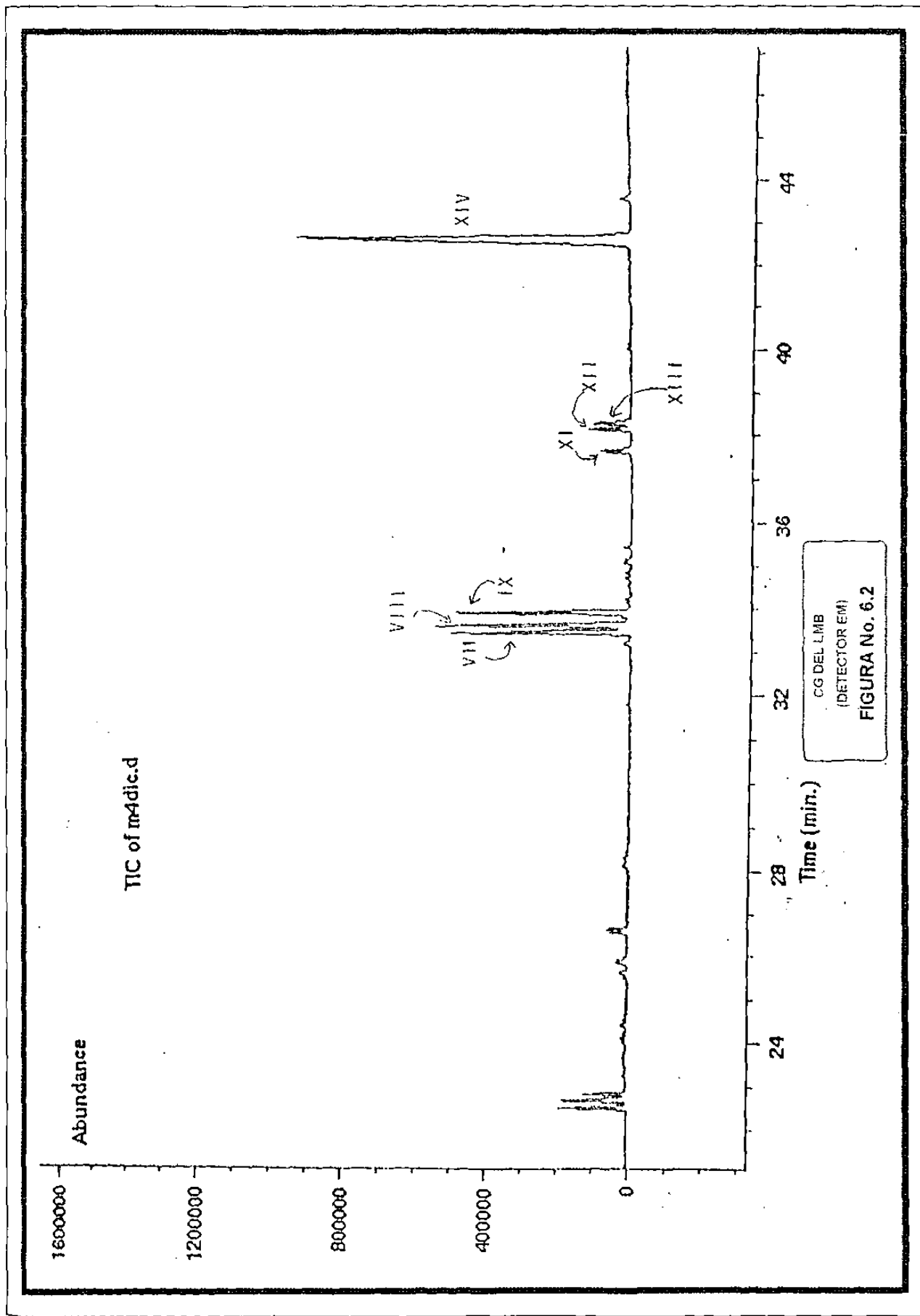
ESQUEMA 6.13

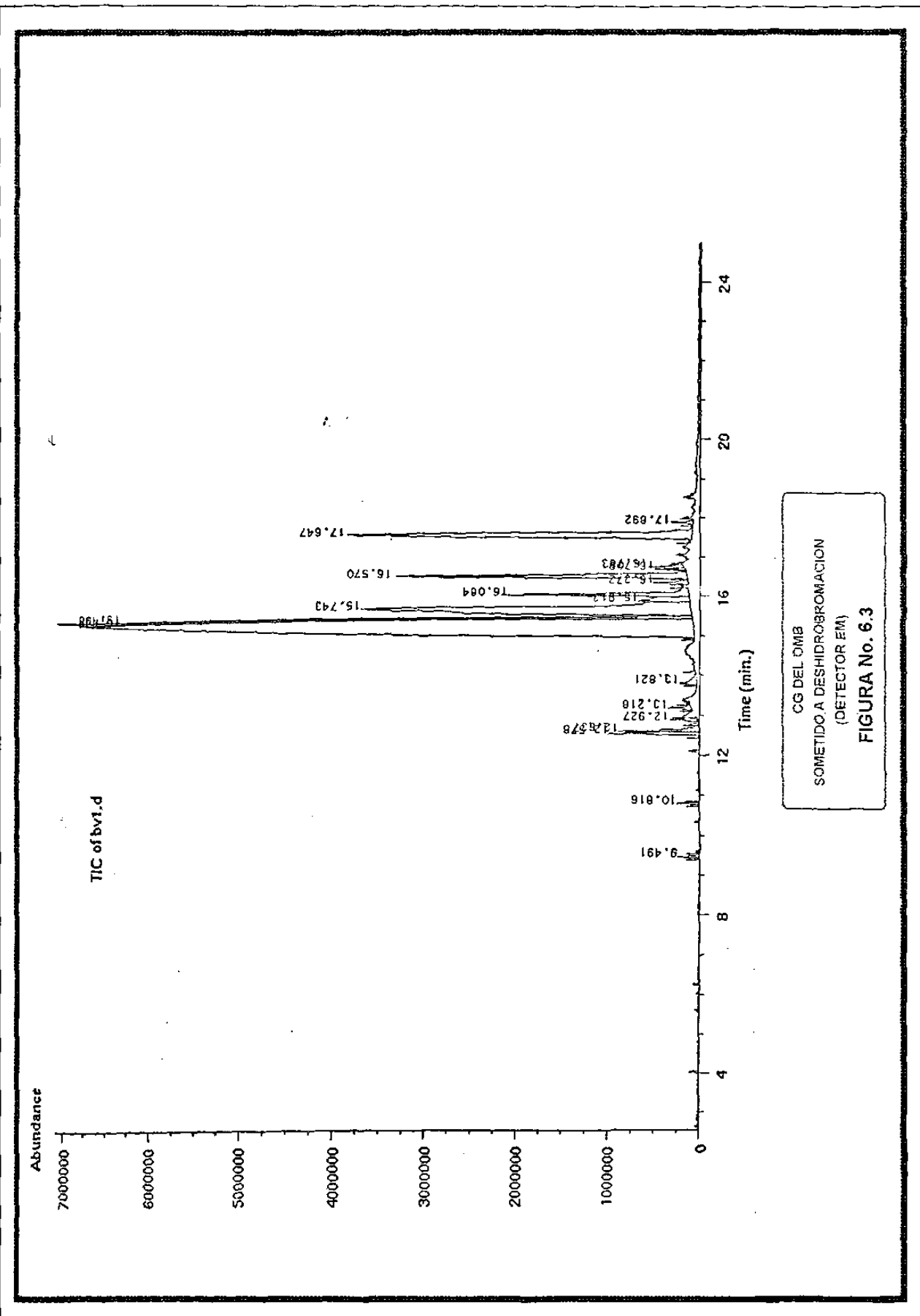
MECANISMO DE FRAGMENTACION PROPUESTO PARA EL COMPUESTO XV



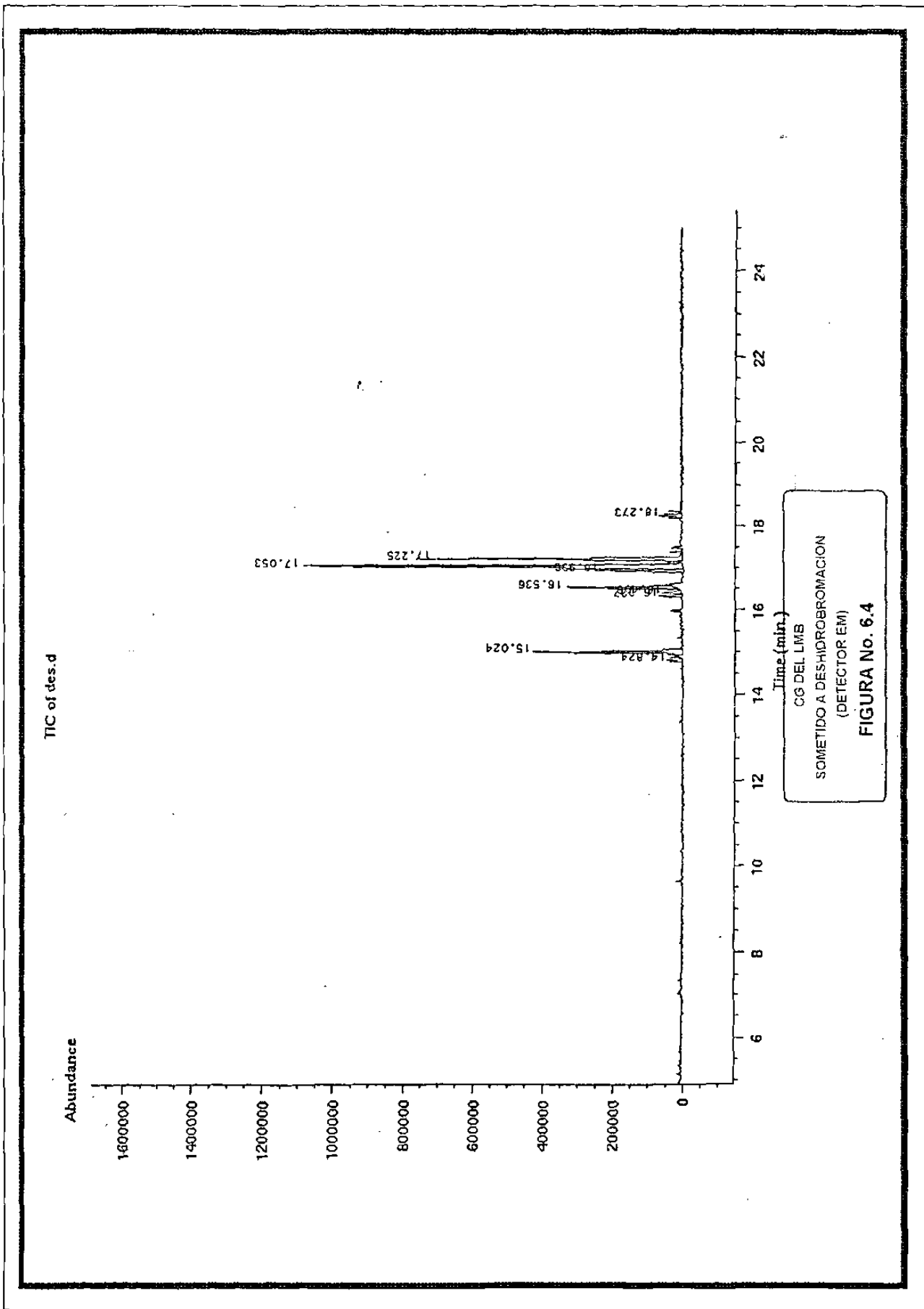
* ESTA ESTRUCTURA MUESTRA LA POSICION MAS PROBABLE DEL ATOMO DE BROMO Y DE LOS DOBLES ENLACES C - C

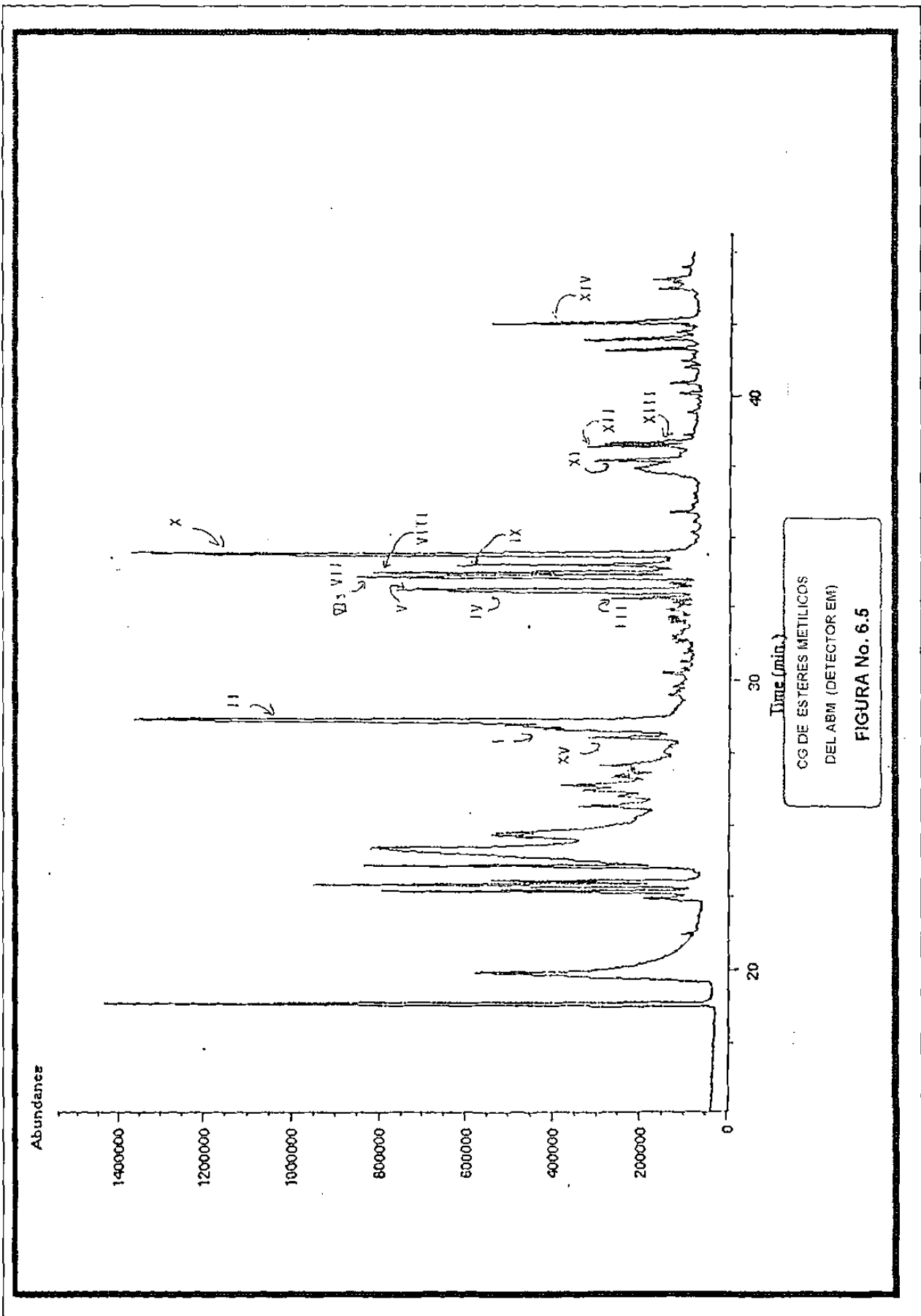


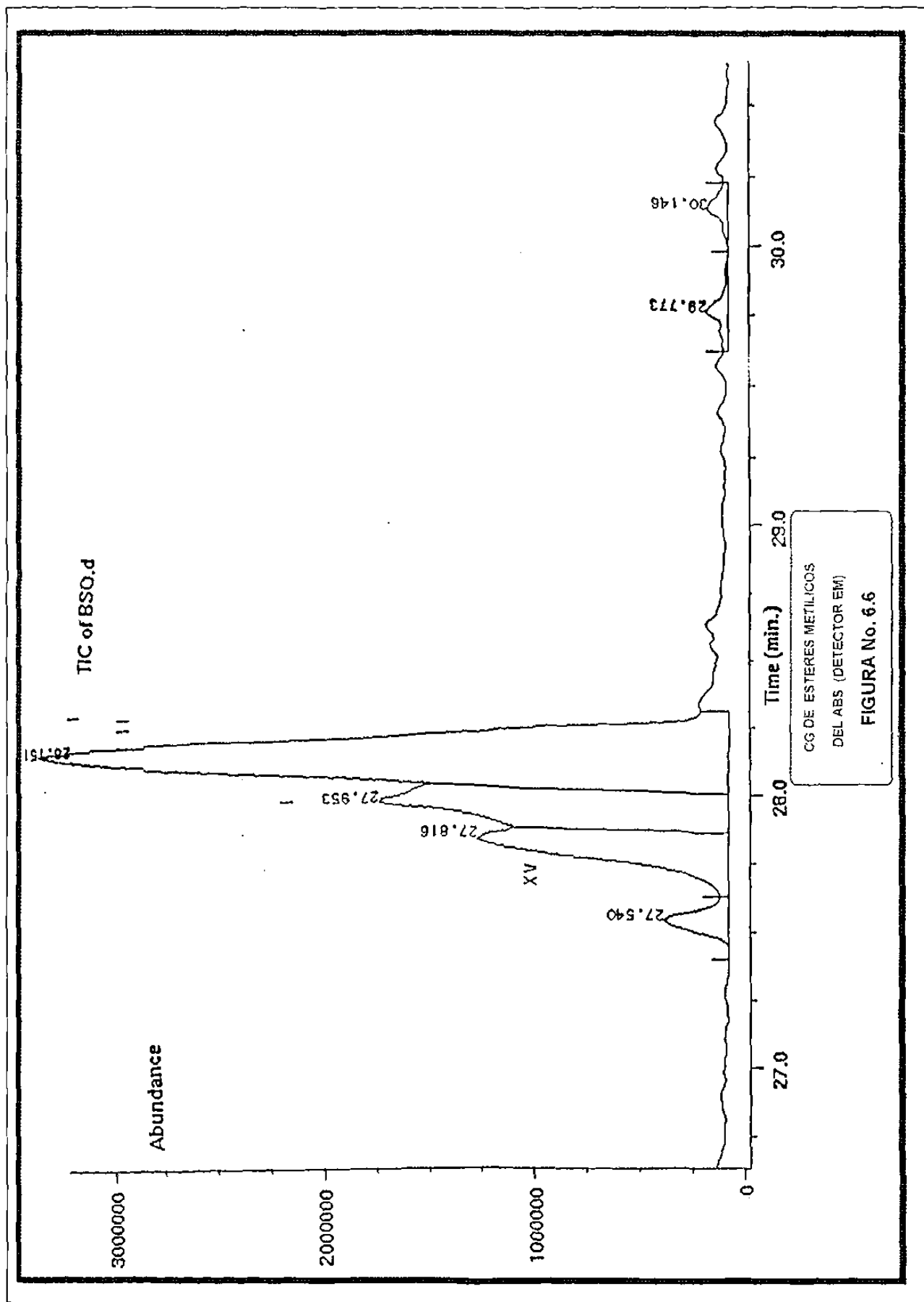


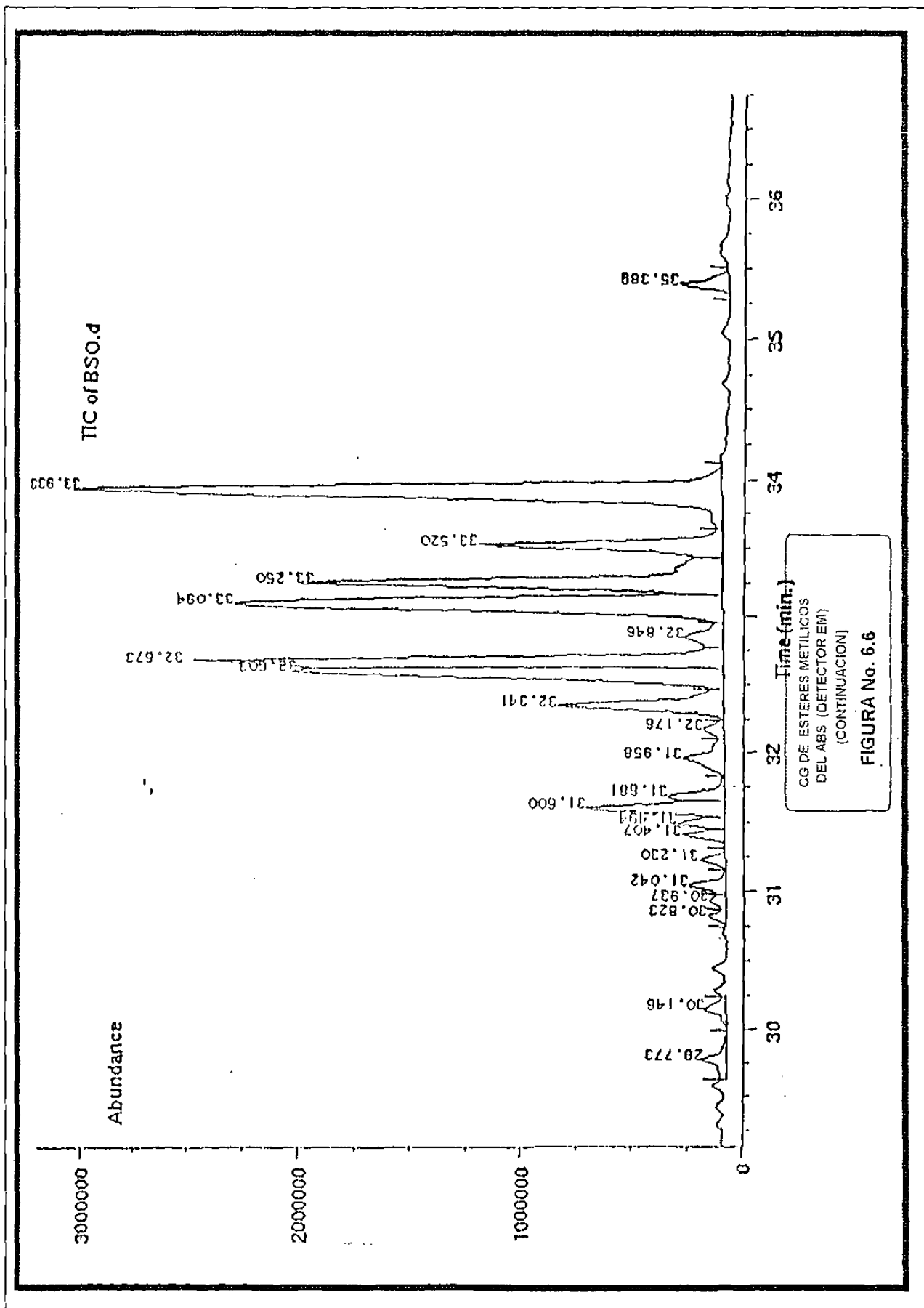


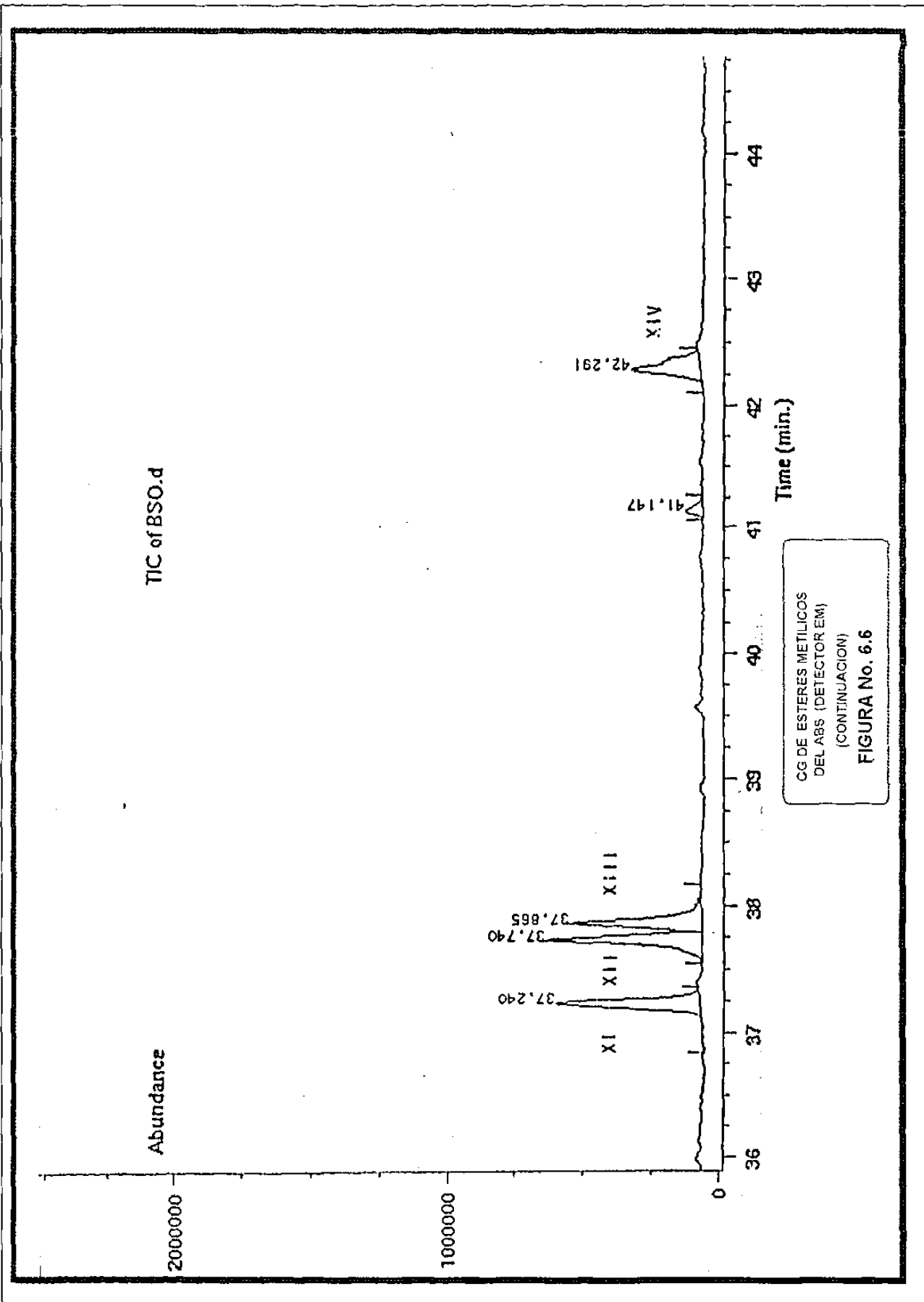
CG DEL OMB
SOMETIDO A DESHIDROBROMACION
(DETECTOR EM)
FIGURA No. 6.3

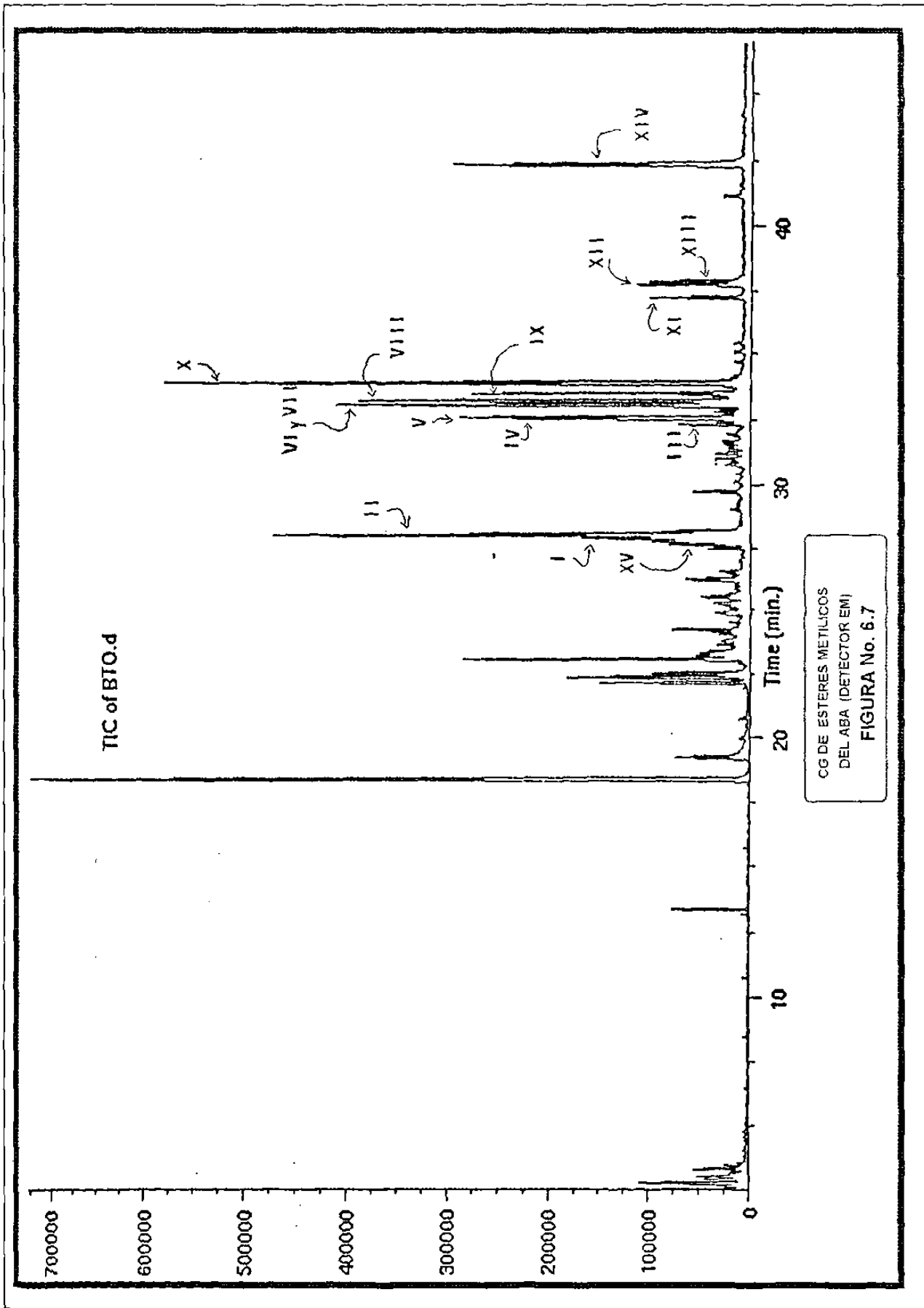




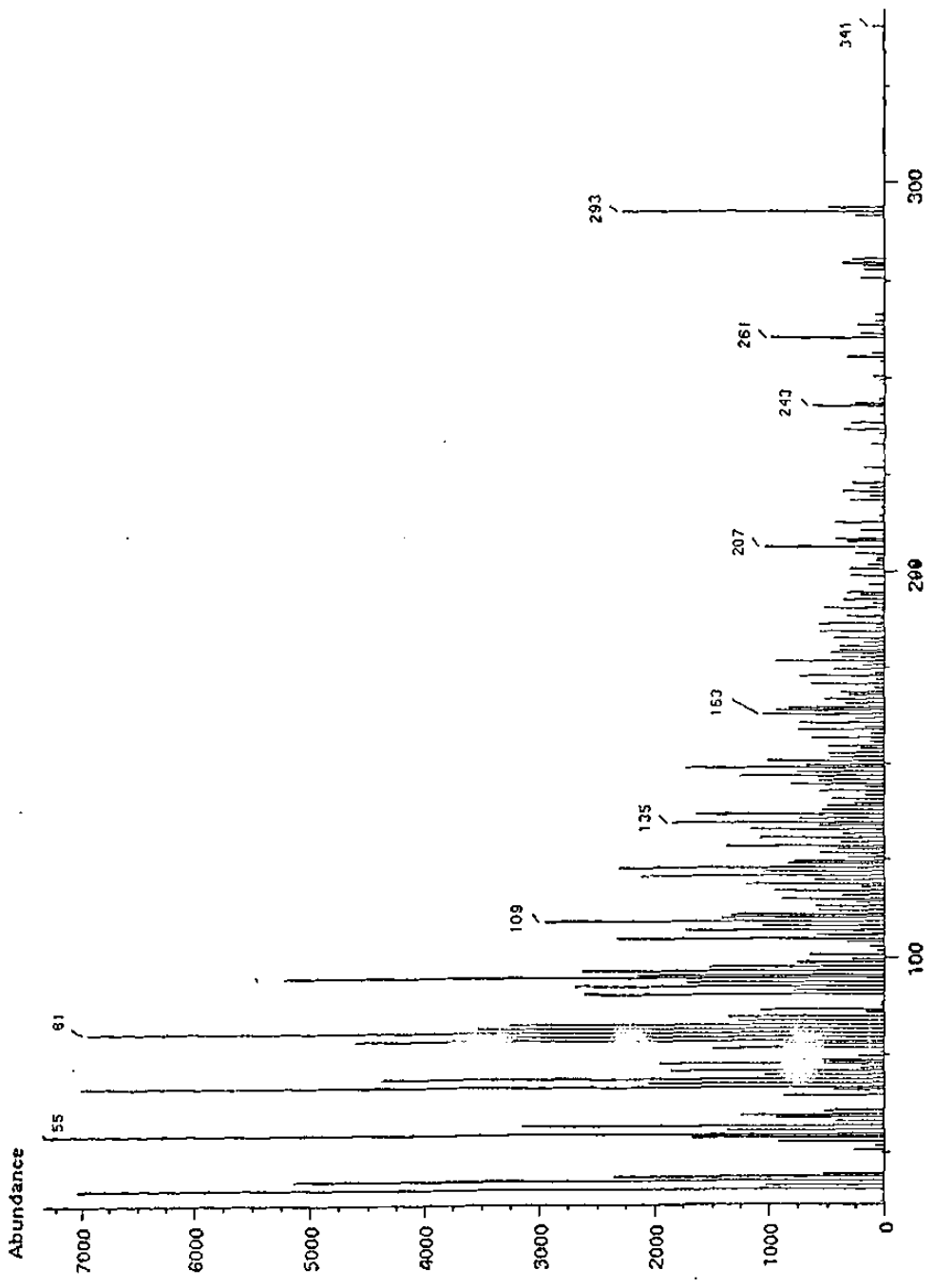






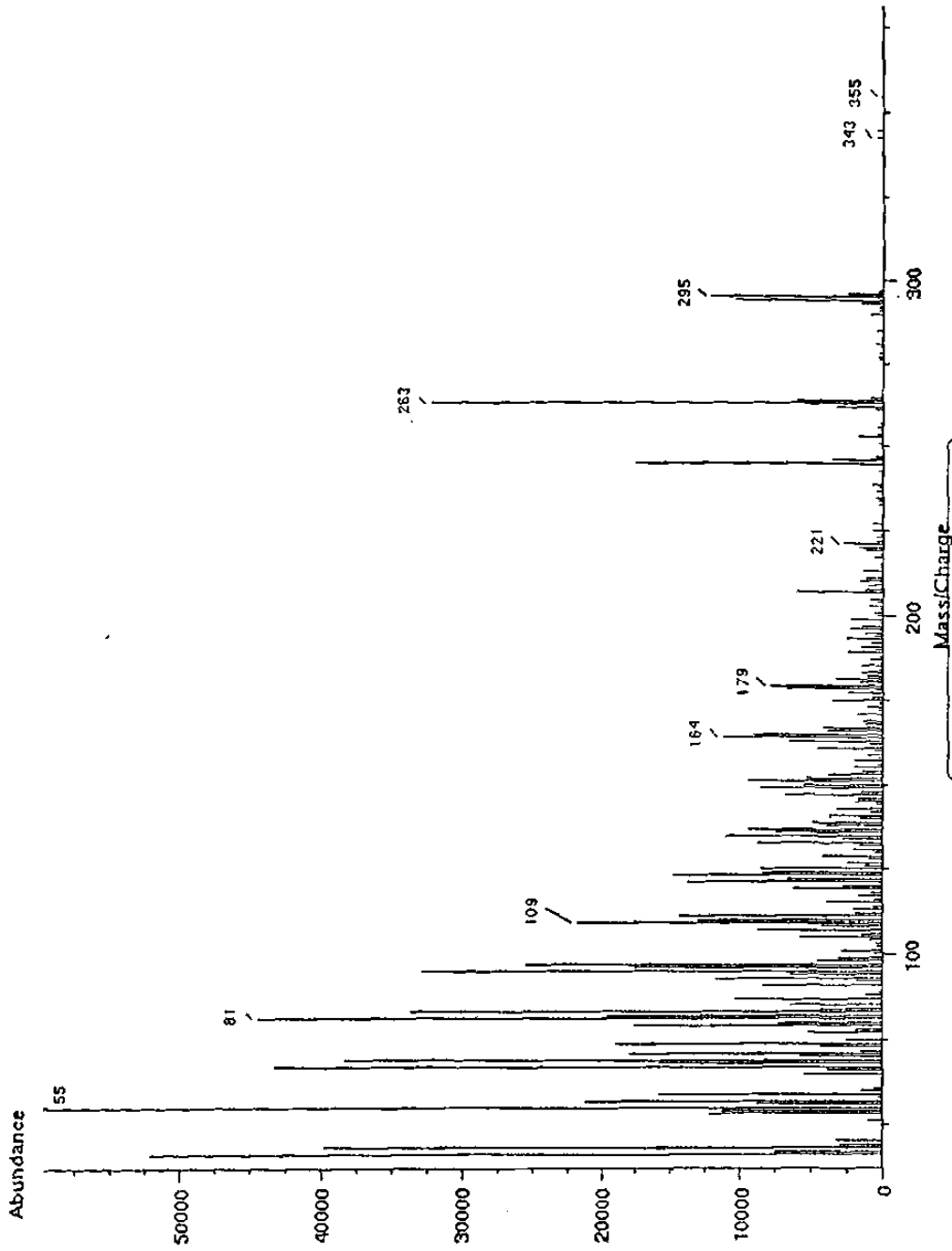


Average of 28.394 to 28.458 min. from mFNN.d



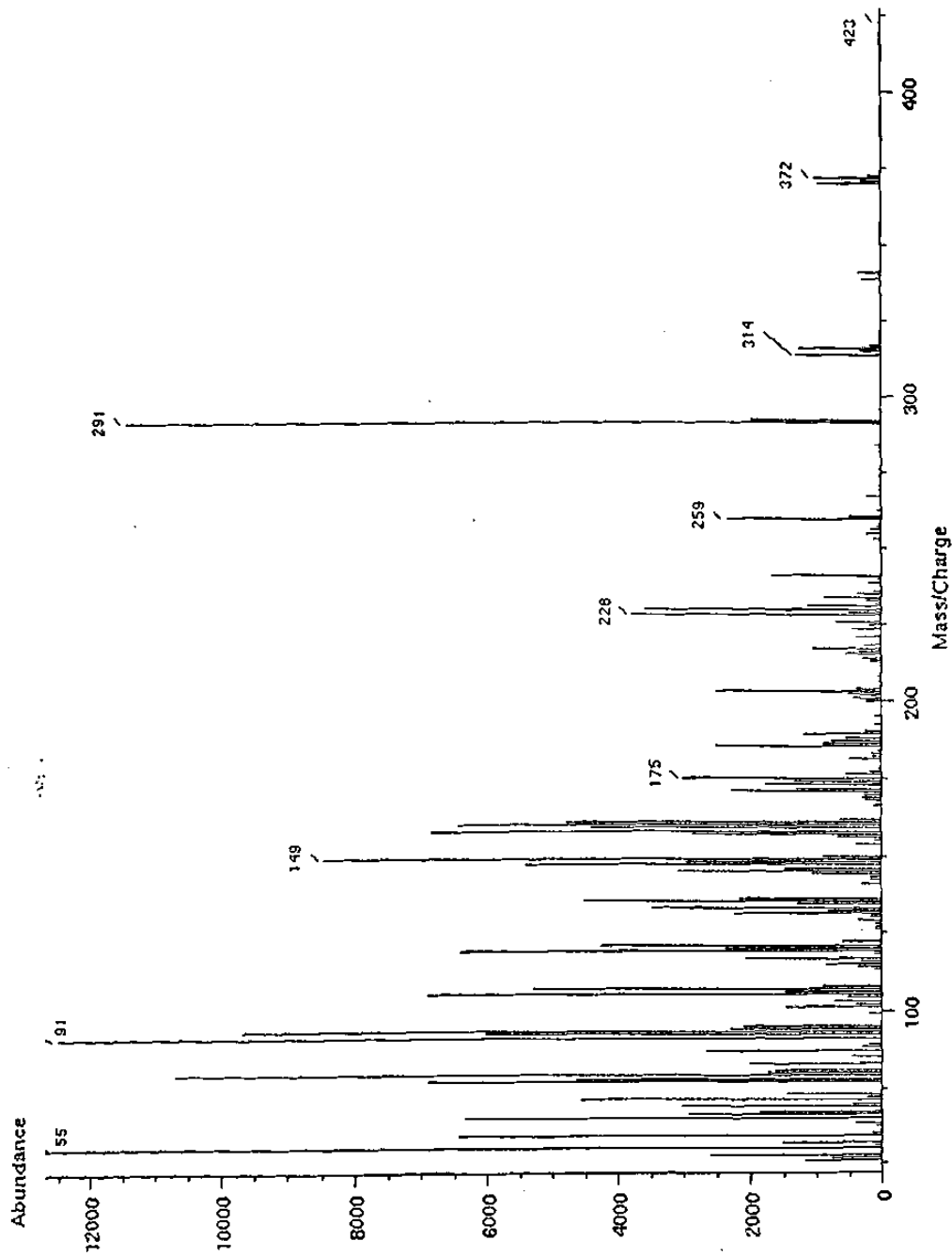
Mass/Charge
EM DEL COMPUESTO I
(ABM)
FIGURA No. 6.8

Average of 34.490 to 34.545 min. from m2NNNov.d



EM DEL COMPUESTO II
(ABA)
FIGURA No. 6.9

Average of 32.324 to 32.355 min. from BSO.d SUBTRACTED

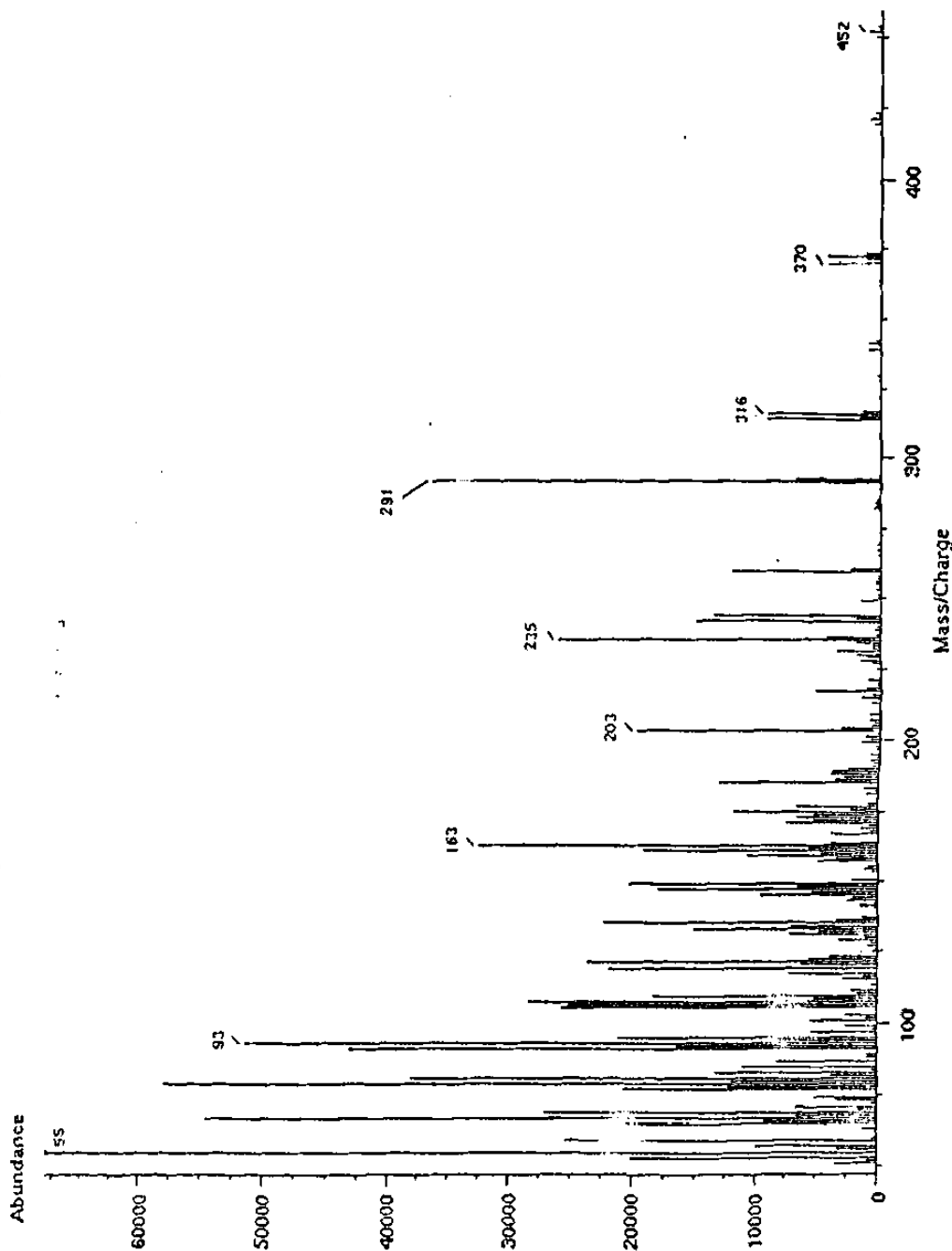


EM DEL COMPUESTO III

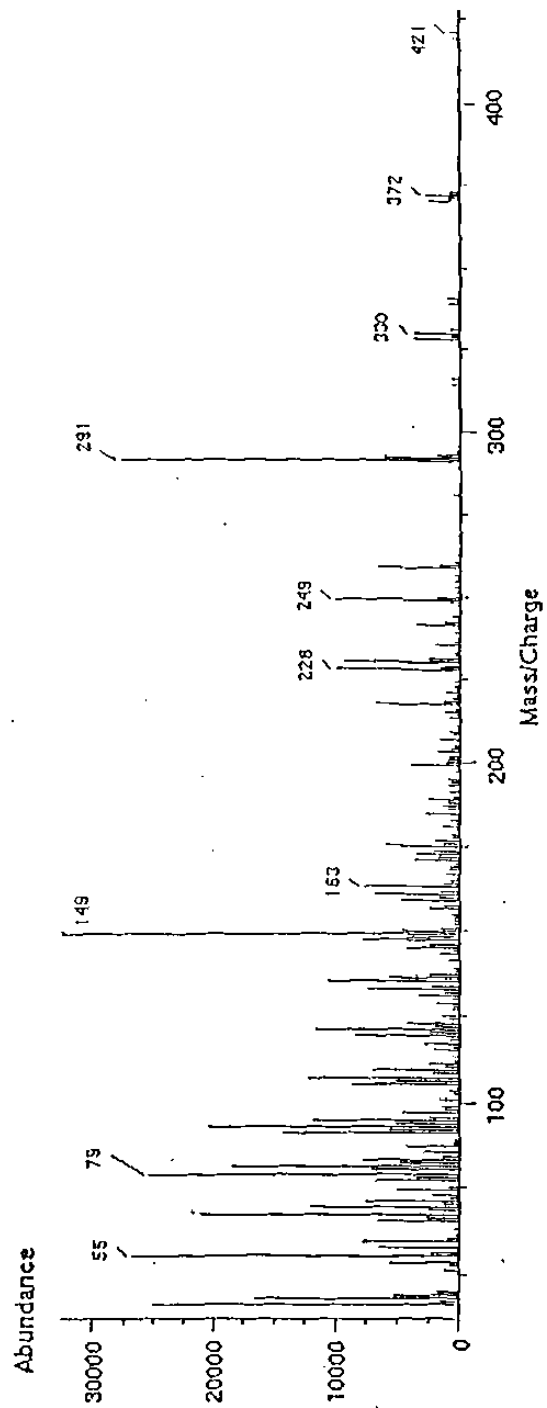
(ABS)

FIGURA No. 6.10

Average of 32.563 to 32.605 min. from BSO.d SUBTRACTED



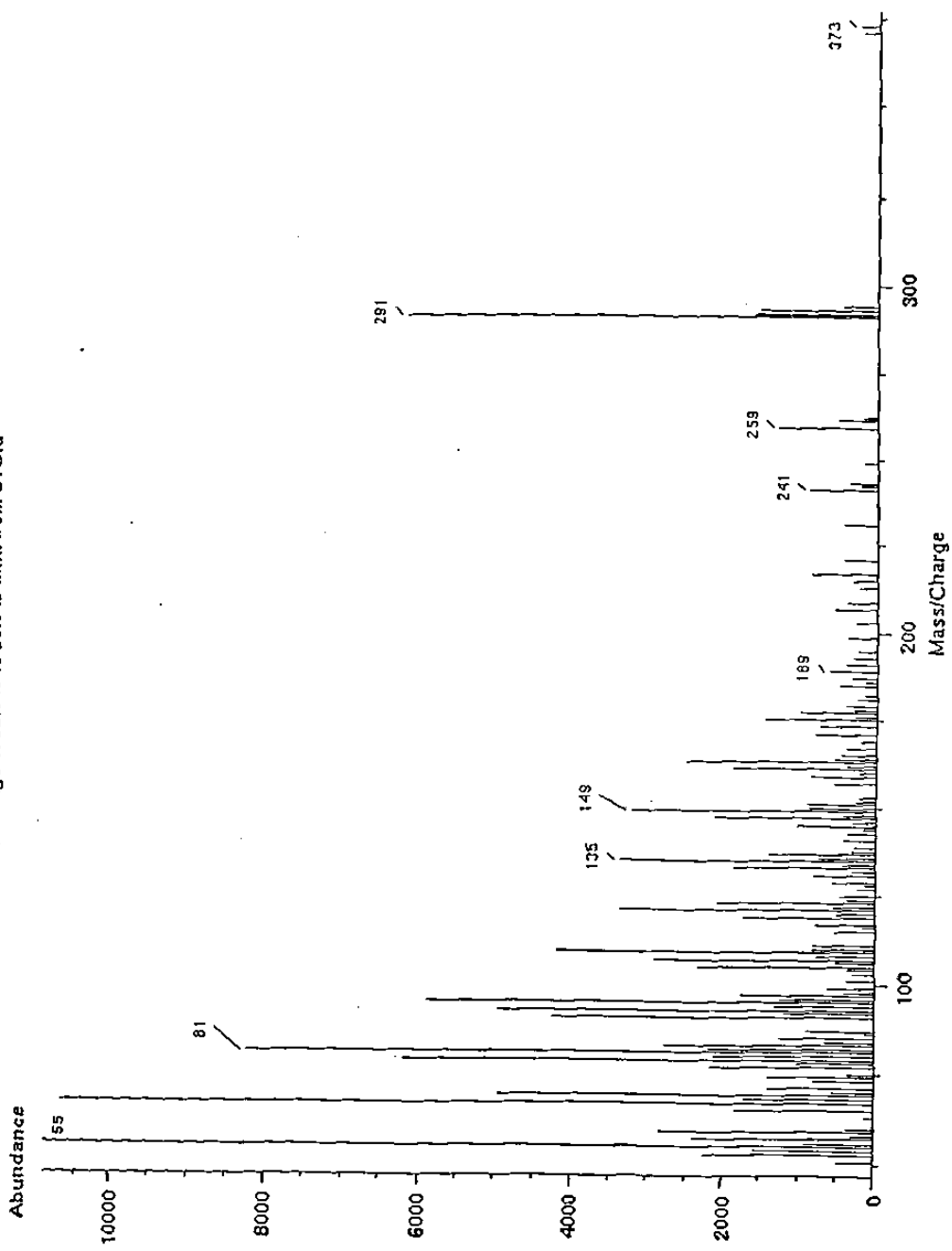
EM DEL COMPUESTO IV
(ABS)
FIGURA No. 6.11



EM DEL COMPUESTO V
(ABM)

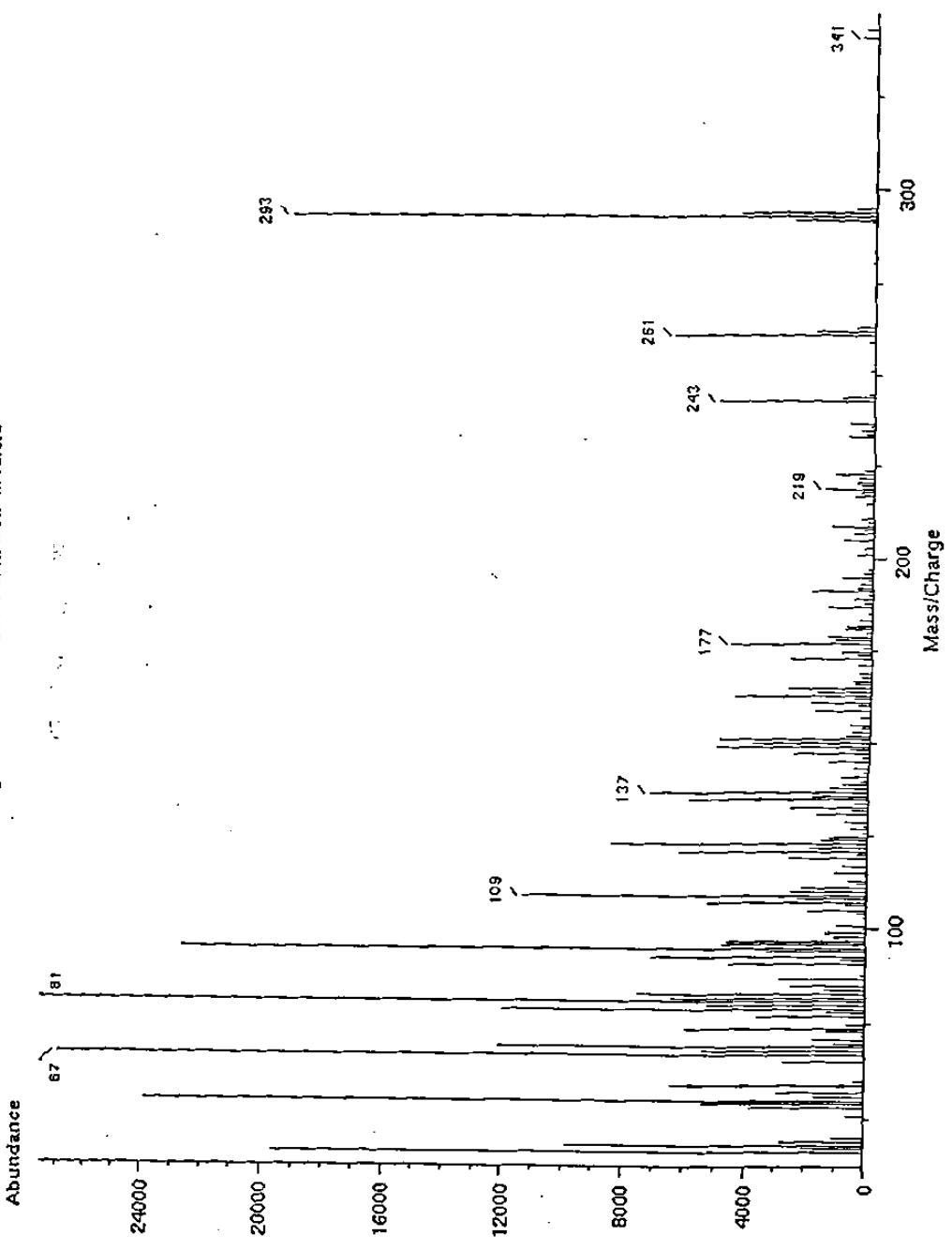
FIGURA No. 6.12

Average of 33.040 to 33.048 min. from BTO.d



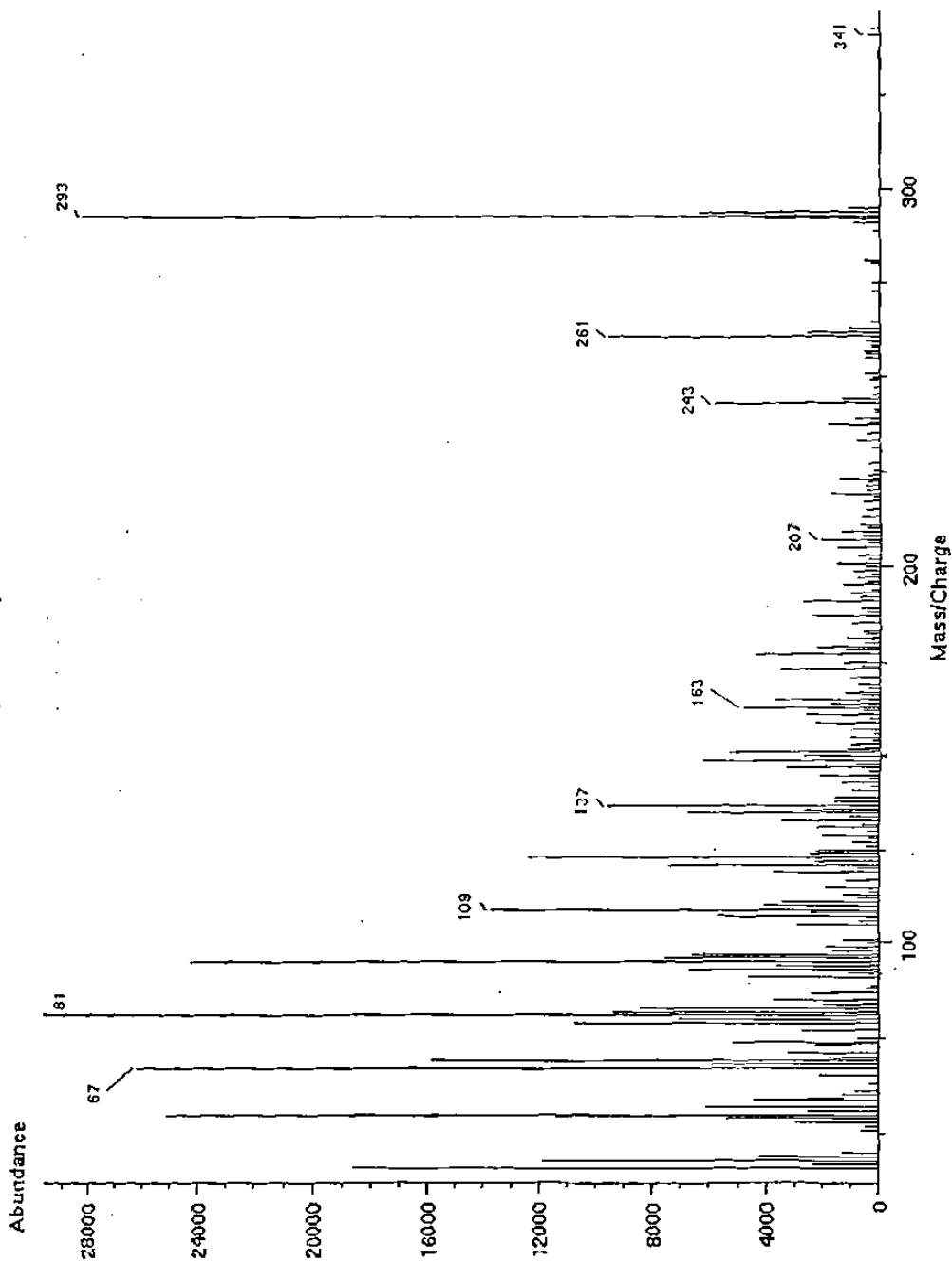
EM DEL COMPUESTO VI
(ABA)
FIGURA No. 6.13

Average of 33.441 to 39.459 min. from m4dic.d



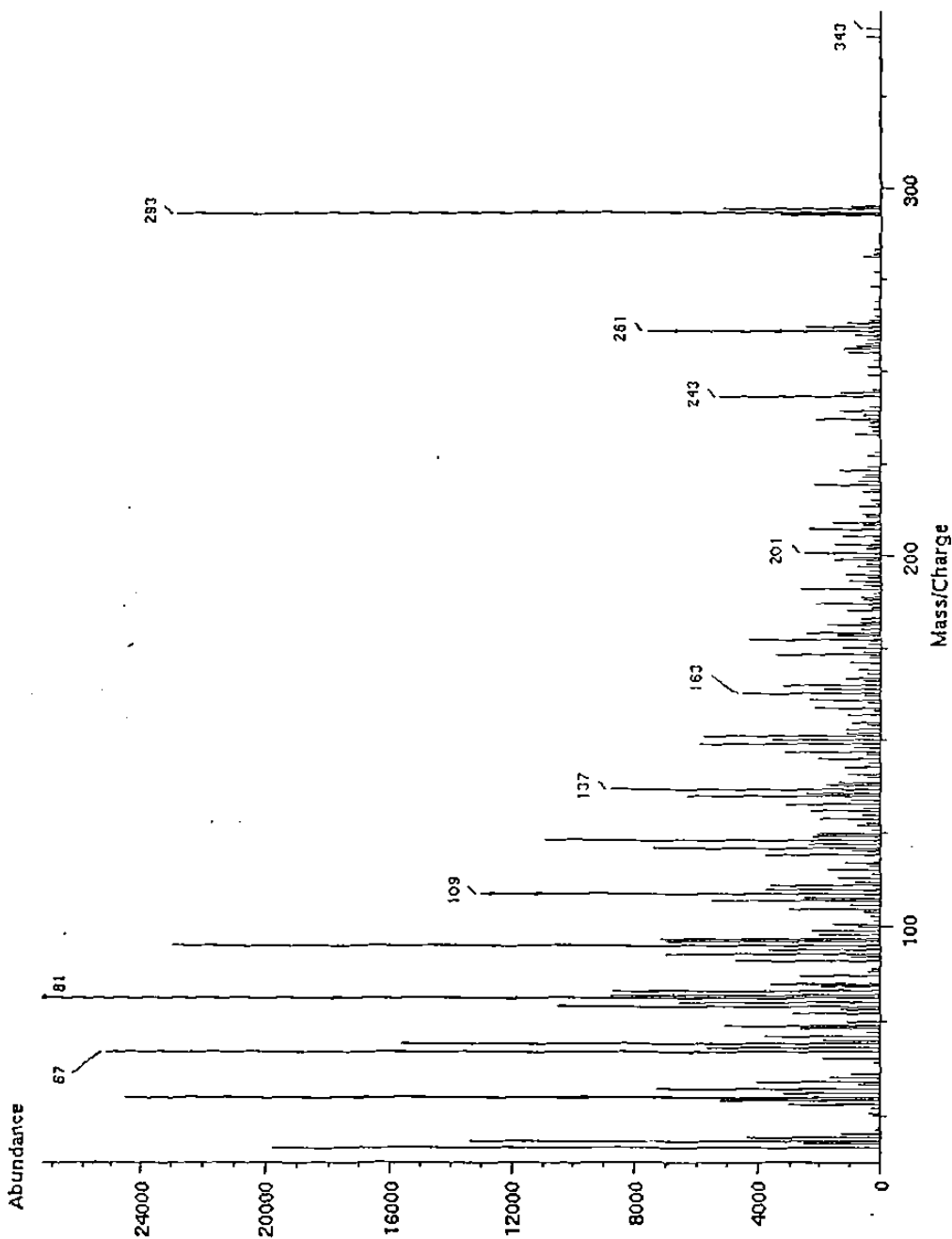
EM DEL COMPUESTO VII
(LBM)
FIGURA No. 6.14

Scan 2760 (33.671 min) of mCNN.d



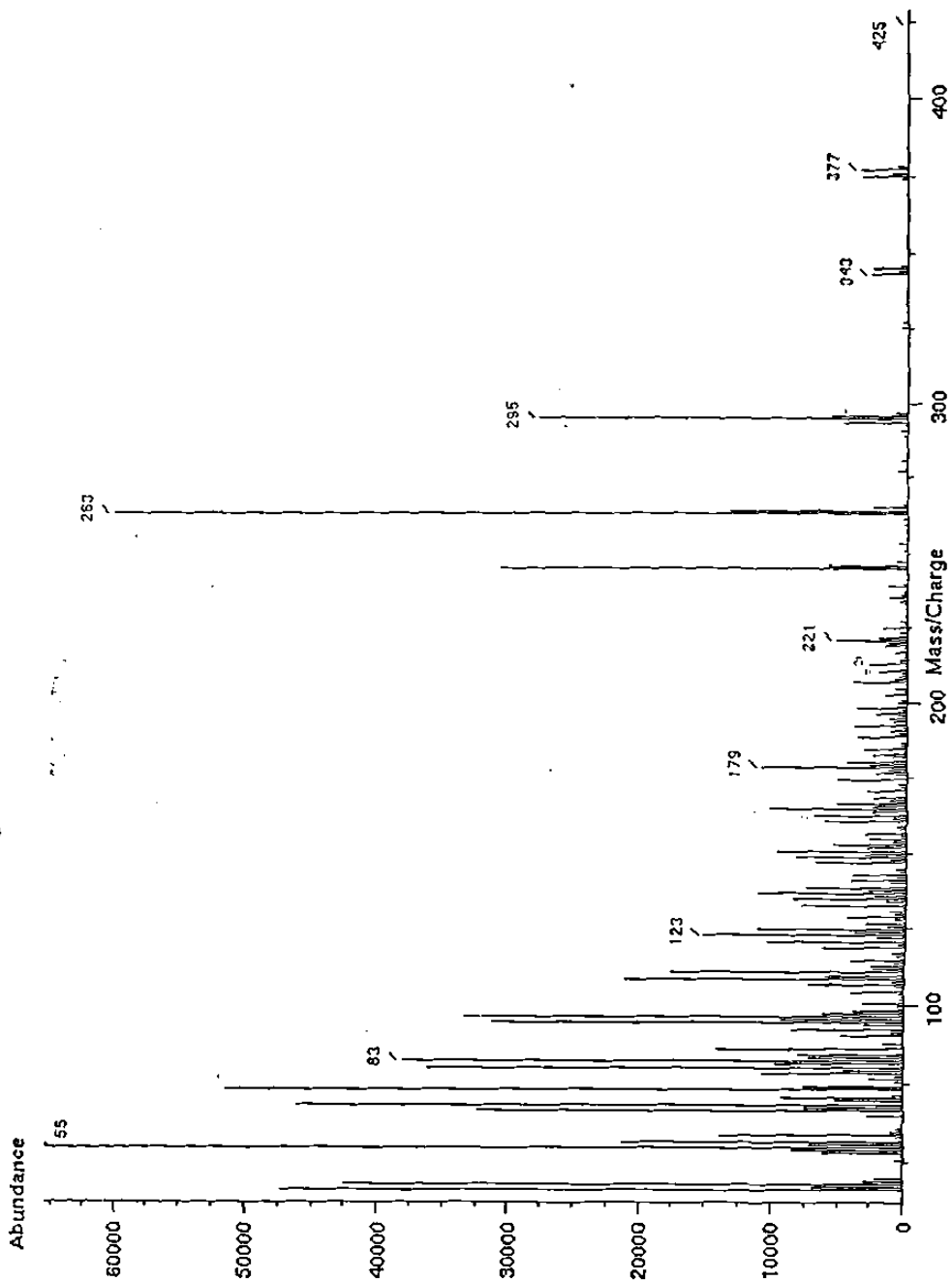
EM DEL COMPUESTO VIII
(ABM)
FIGURA No. 6.15

Scan 2778 (34.146 min) of mCNN.d



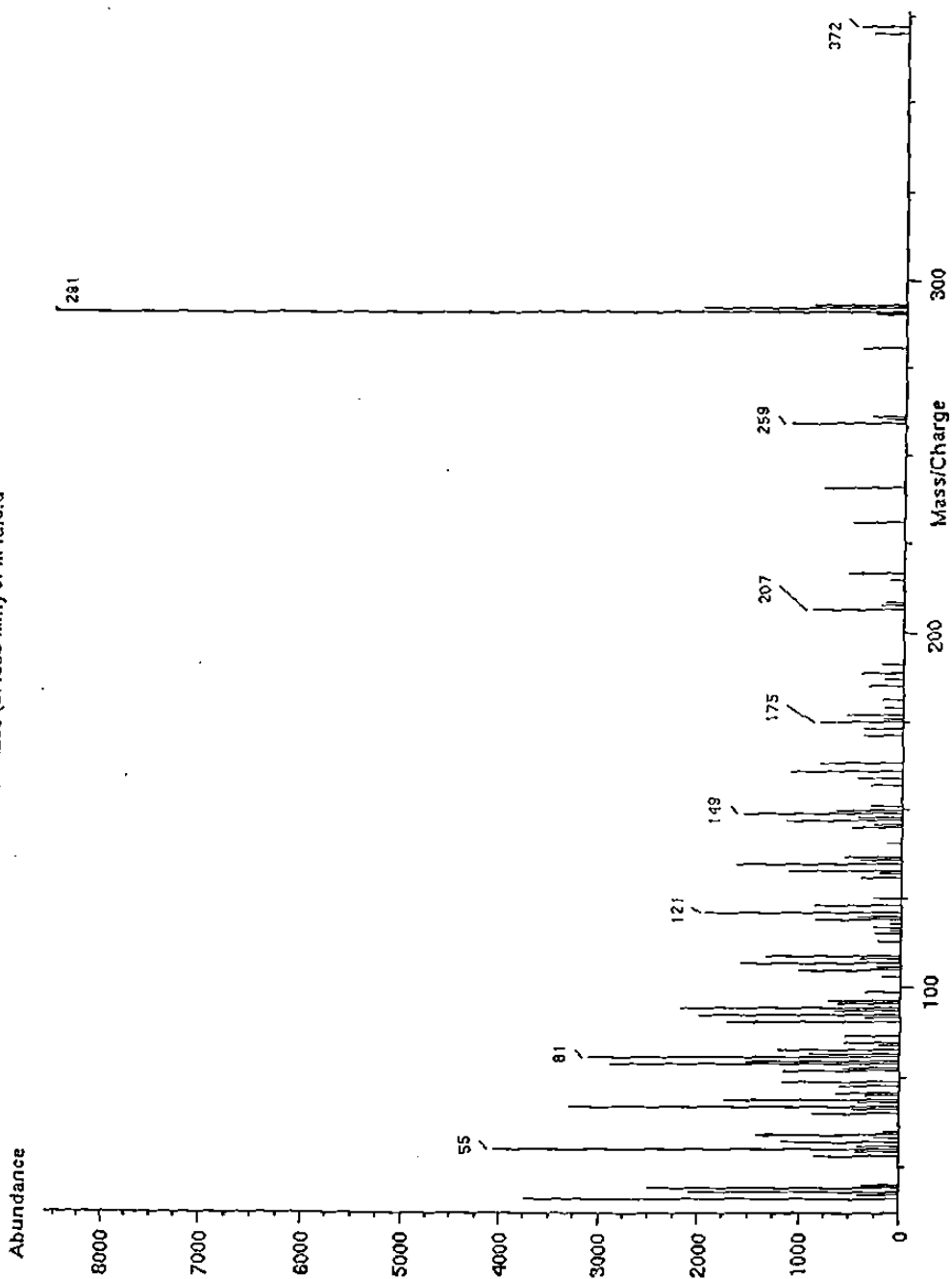
EM DEL COMPUESTO IX
(ABM)
FIGURA No. 6.16

Average of 40.345 to 40.411 min. from m1NNhov.d

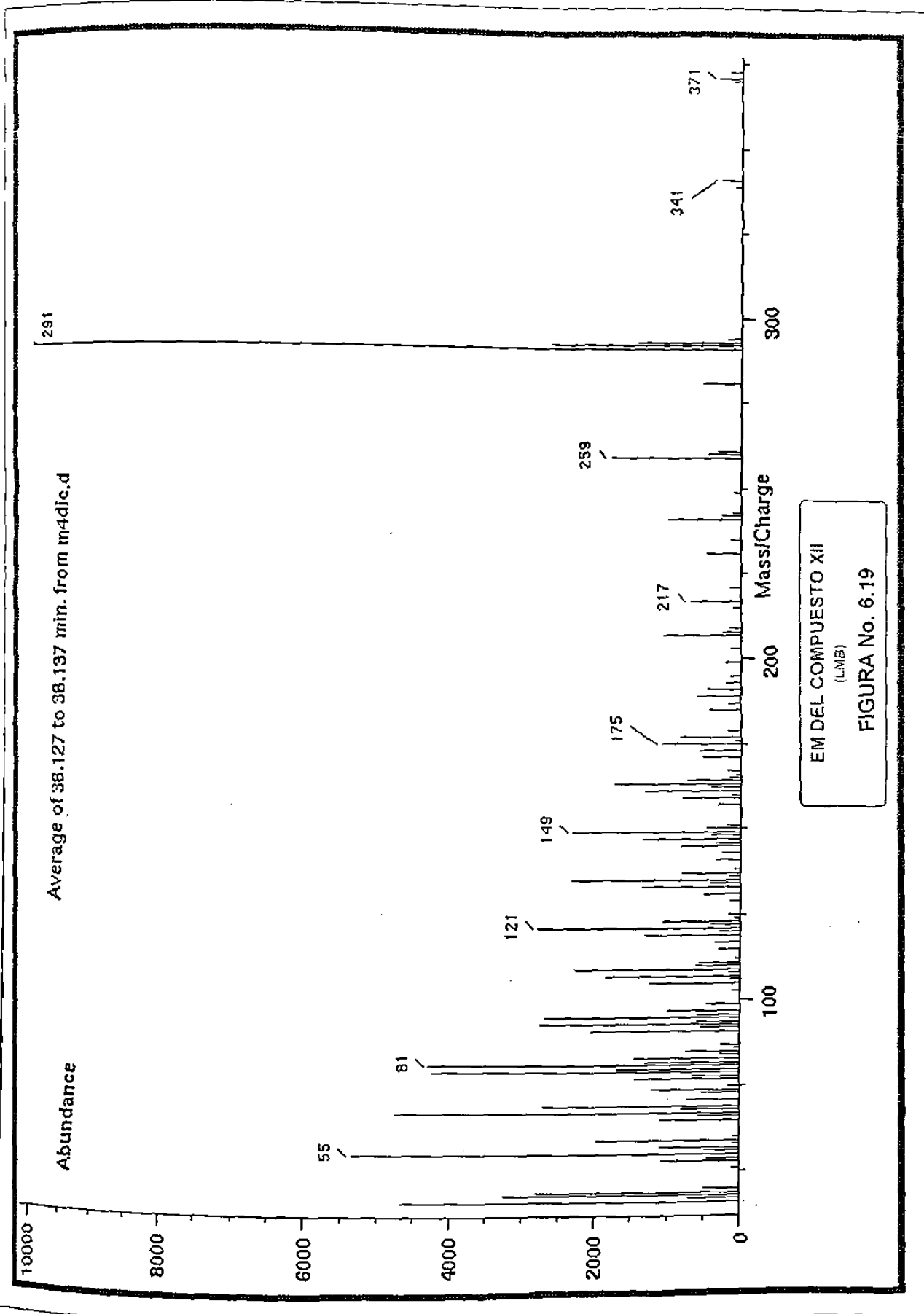


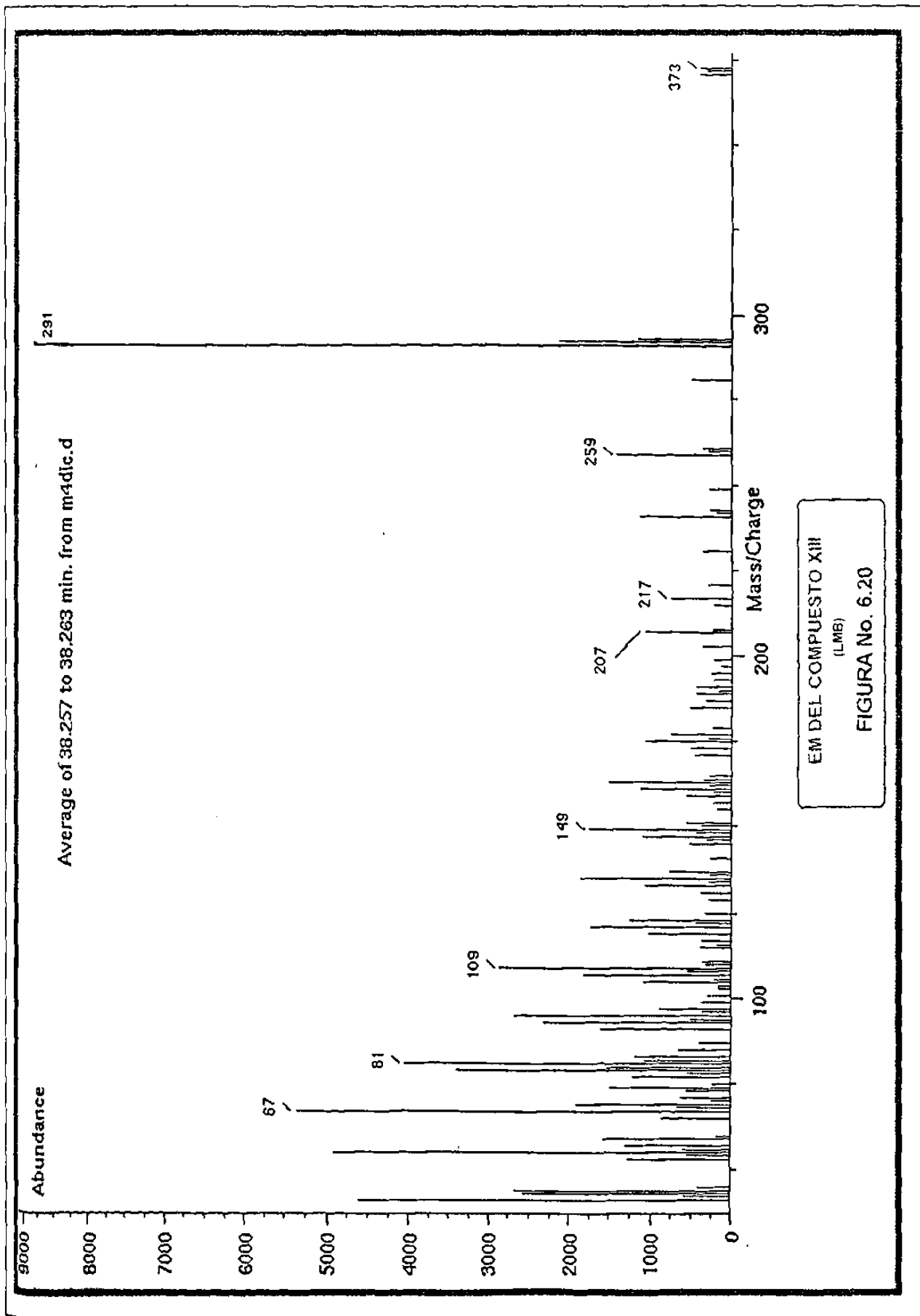
EM DEL COMPUESTO X
9,10-DIBROMOOCTADECANOATO DE METILO
(ABS)
FIGURA No. 6.17

Scan 4298 (37.638 min) of m4dic.d

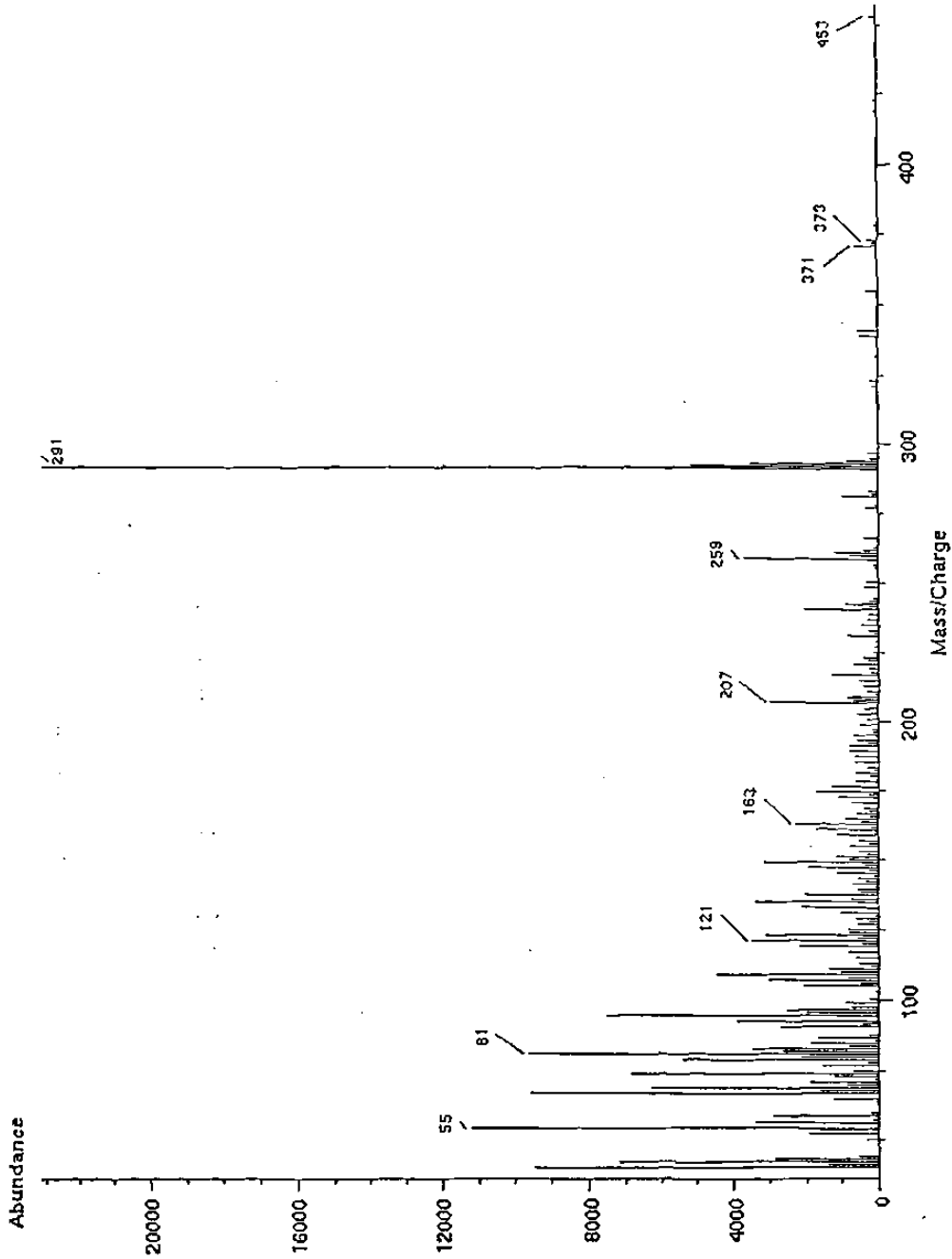


EM DEL COMPUESTO XI
(LMB)
FIGURA No. 6.18



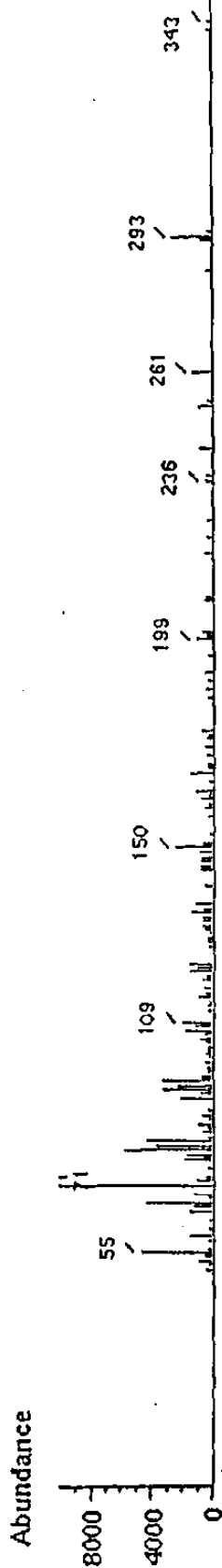


Average of 48.439 to 48.461 min. from m1NNnov.d



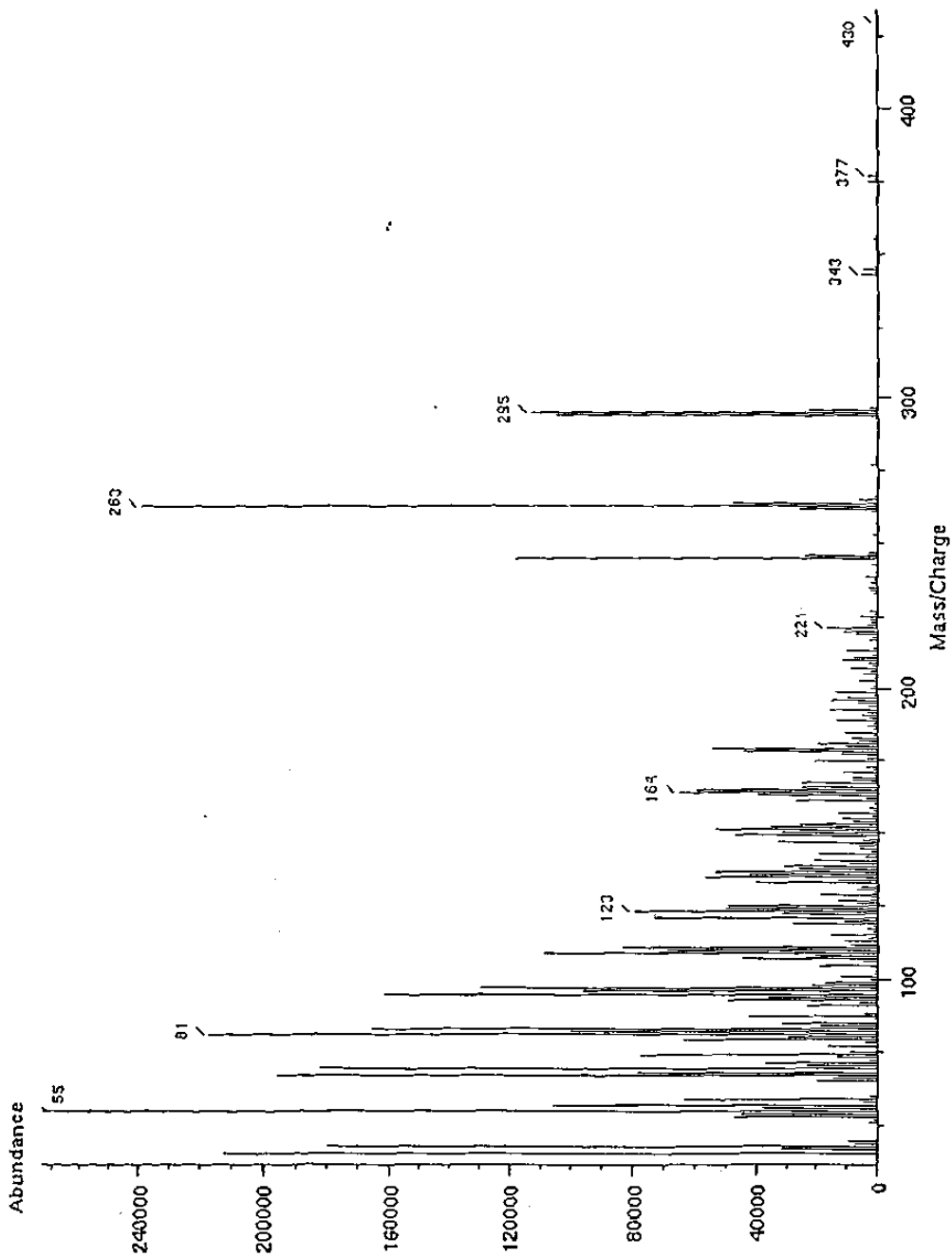
EM DEL COMPUESTO XIV
(ABS)
FIGURA No. 6.21

Average of 27.936 to 27.960 min. from BTO.d SUBTRACTED SCALED

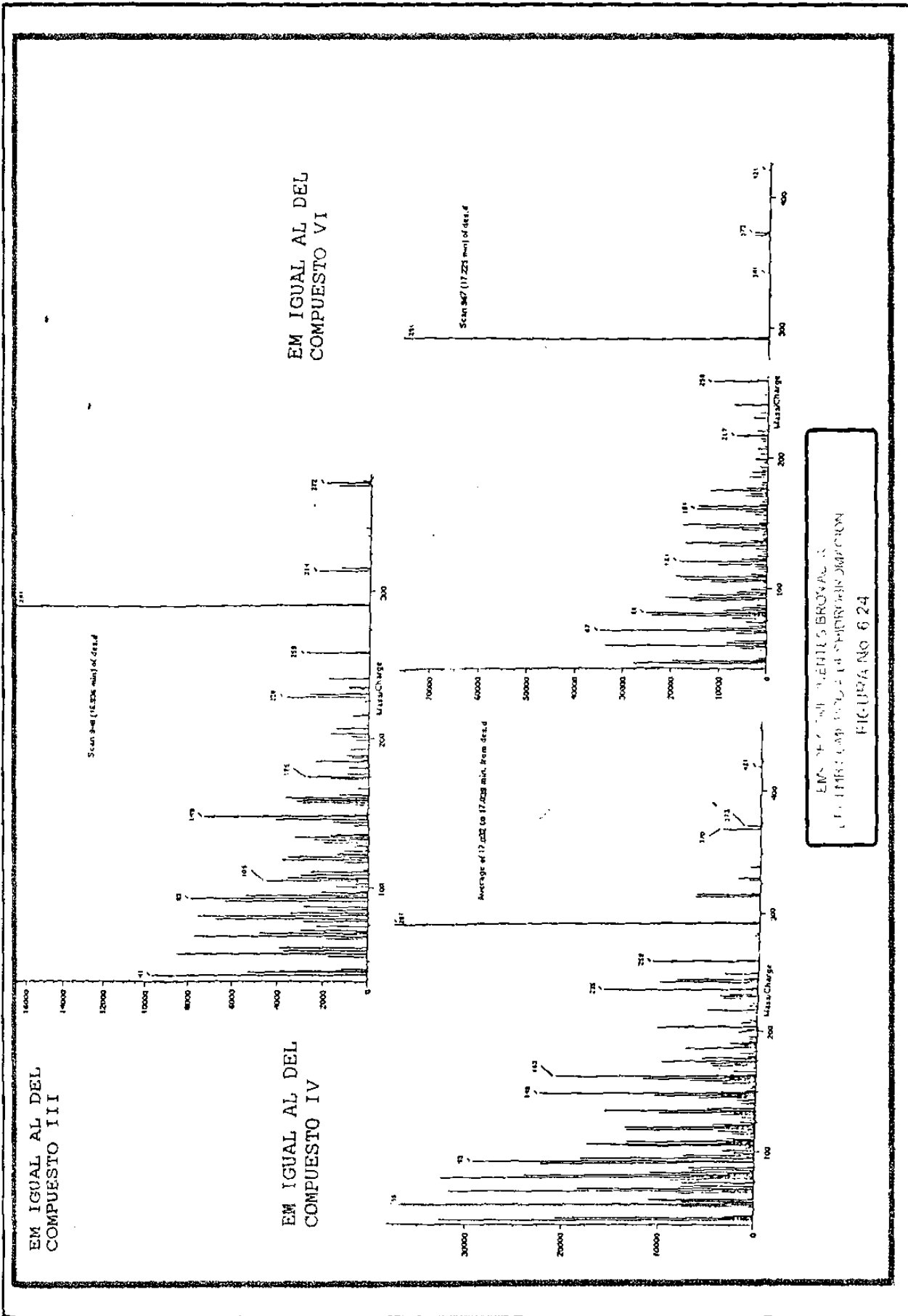


EM DEL COMPUESTO XV
(ABS)
FIGURA No. 6.22

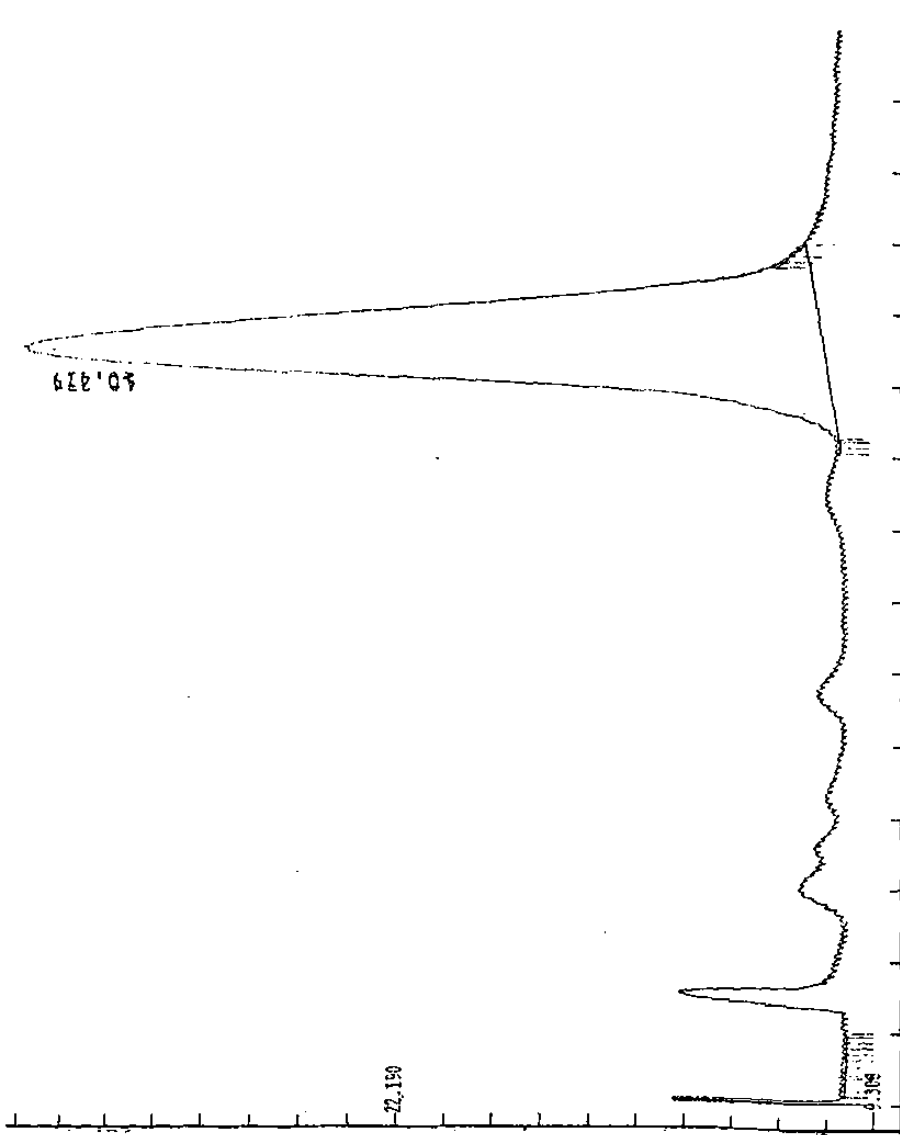
Average of 15.261 to 15.326 min. from bv1.d



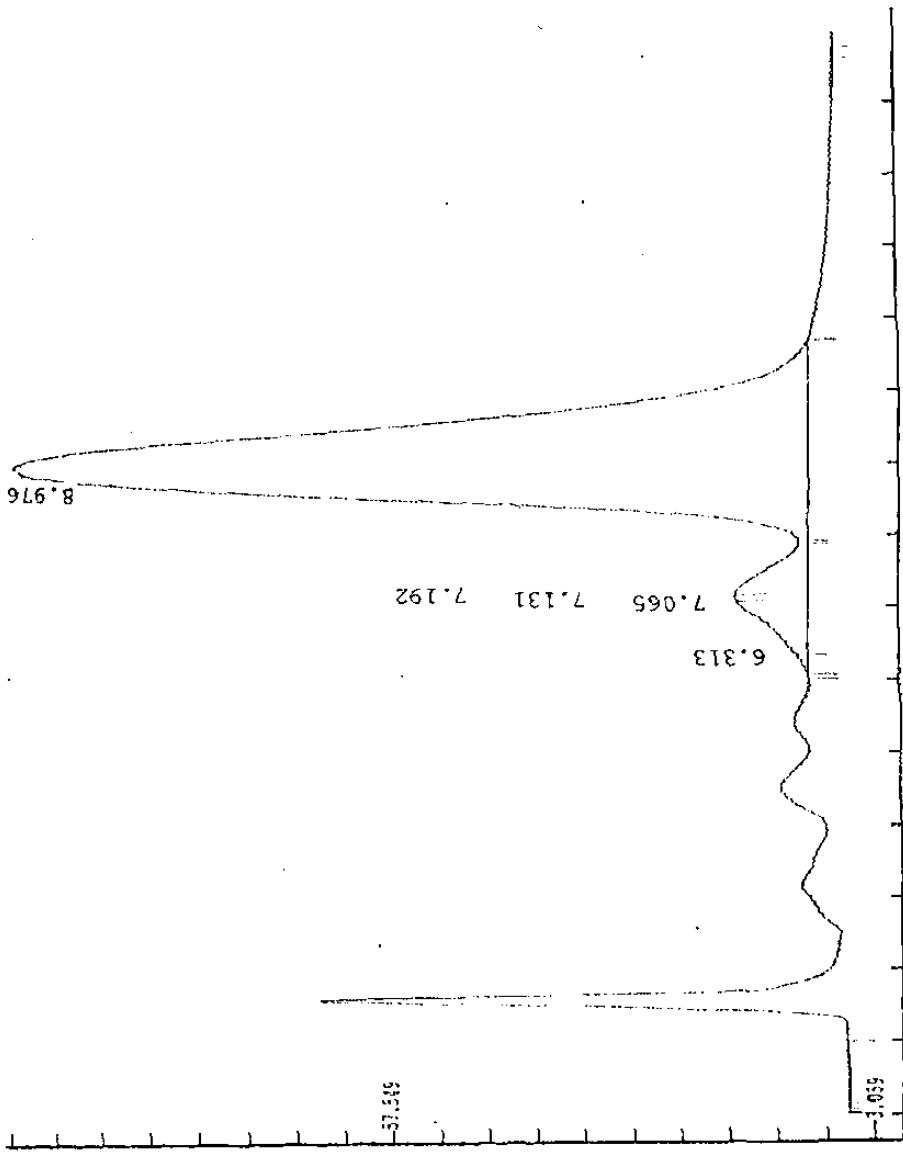
EM DELCOMPONENTE PRINCIPAL DEL OMB SOMETIDO A DESHIDROBROMACION
9(10)-BROMO-9-OCTADECENOATO DE METILO
FIGURA No. 6.23



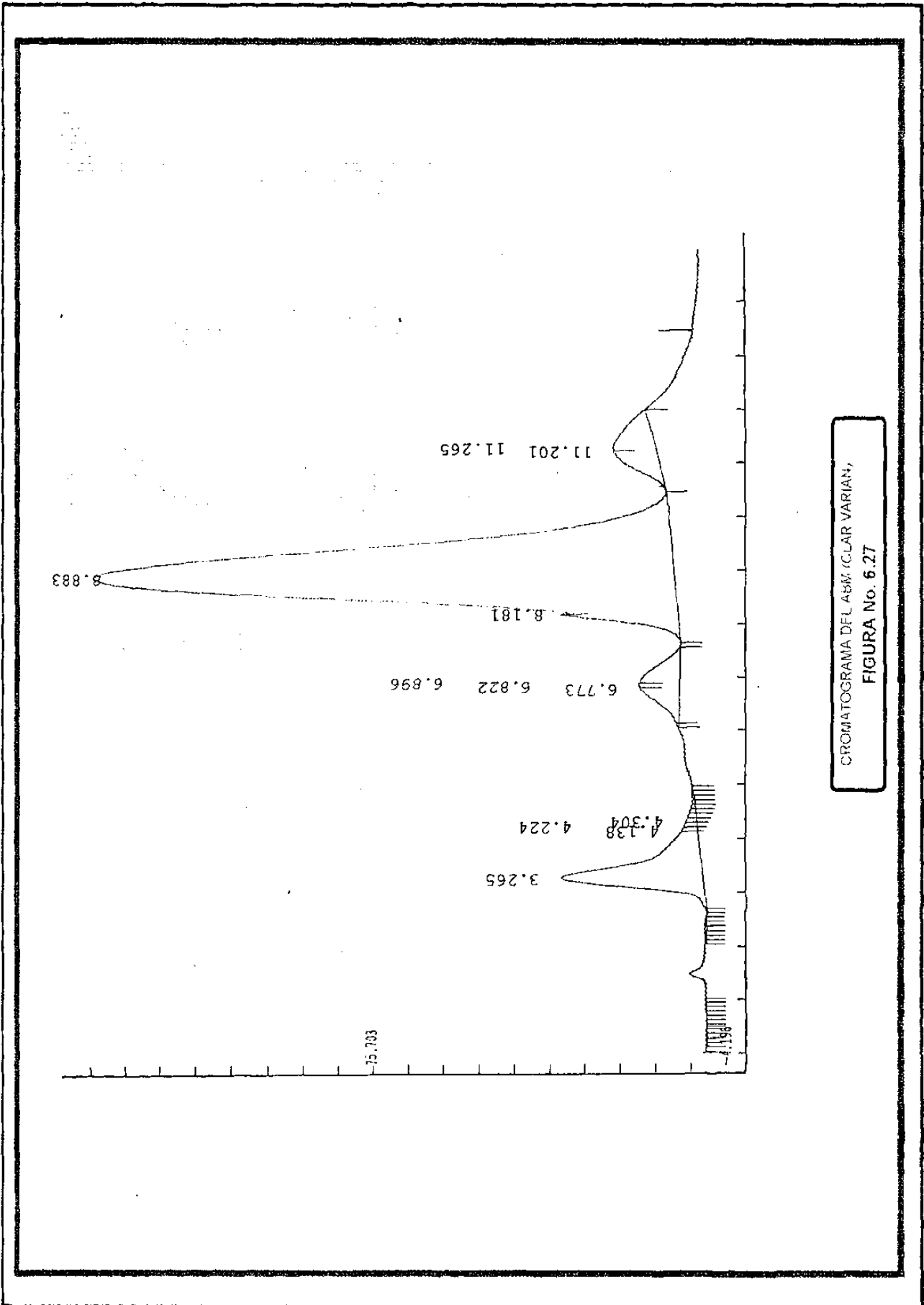
EM IGUAL AL DEL COMPUESTO III
EM IGUAL AL DEL COMPUESTO VI
EM IGUAL AL DEL COMPUESTO IV
EM IGUAL AL DEL COMPUESTO V
FIGURA No 6.24



CROMATOGRAMA DEL COMPLEJO VARIAN.
FIGURA No. 6.25



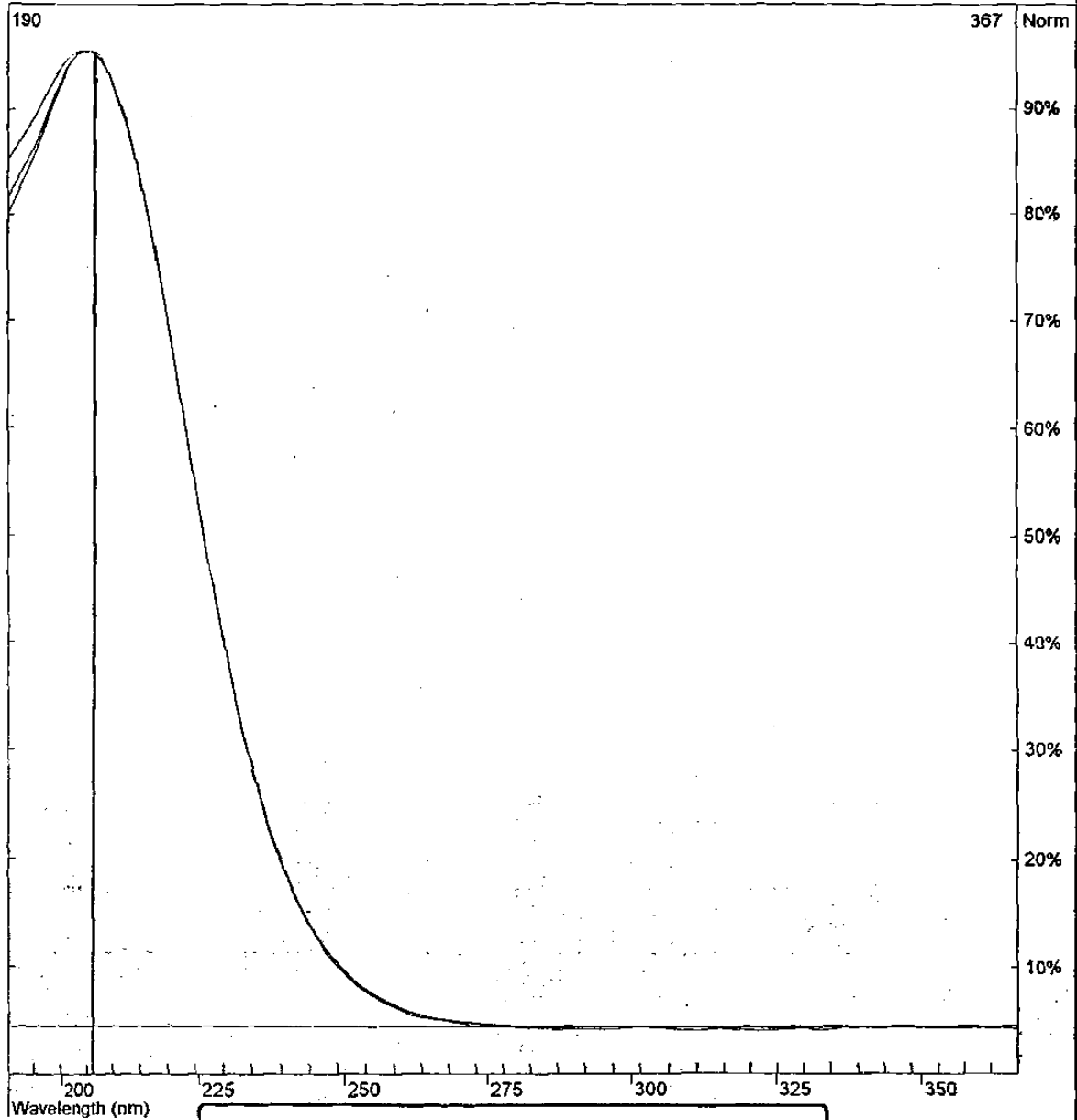
CHROMATOGRAM OF THE SAMPLE
FIGURA No. 6.26



CROMATOGRAMA DEL ABW (CLAR VARIAN),
FIGURA No. 6.27

Spectral Overlay Report

No.	Name	PuP (nm)	tR (min)	Spectrum Type	Correction	Filename
1	OLEATO BROMADO	206.107	10.014	Upslope		AVB060.RUN
2	OLEATO BROMADO	206.292	10.414	Peak Apex		AVB060.RUN
3	OLEATO BROMADO	205.855	10.930	Downslope		AVB060.RUN



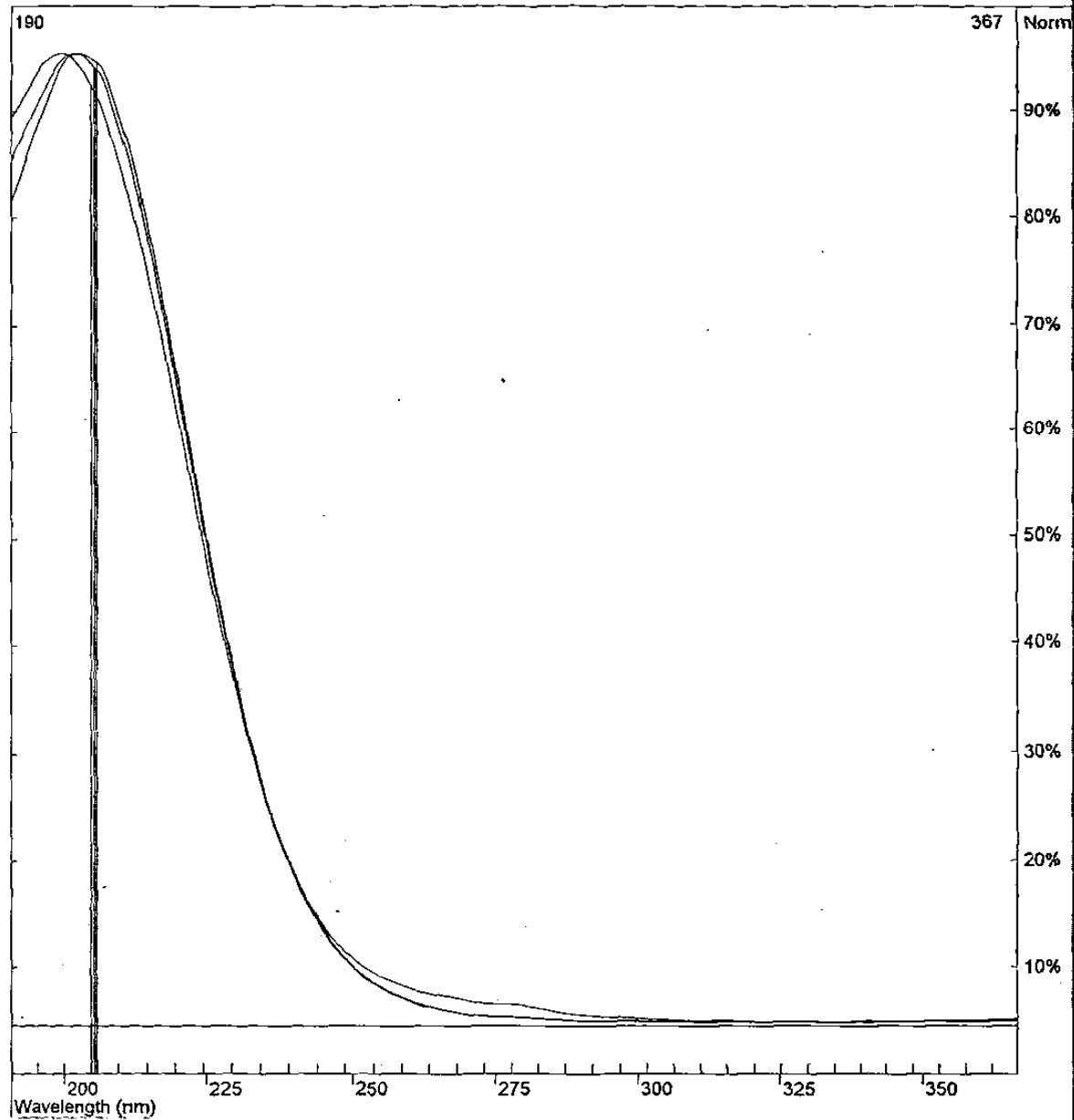
ESPECTROS UV DEL OMB (EN TRES PUNTOS)

(CLAR VARIAN)

FIGURA No. 6.28

Spectral Overlay Report

No.	Name	PuP (nm)	tR (min)	Spectrum Type	Correction	Filename
1	LINOLEATO BROMA	204.991	8.491	Upslope		AVB072.RUN
2	LINOLEATO BROMA	205.536	8.988	Peak Apex		AVB072.RUN
3	LINOLEATO BROMA	205.977	9.425	Downslope		AVB072.RUN



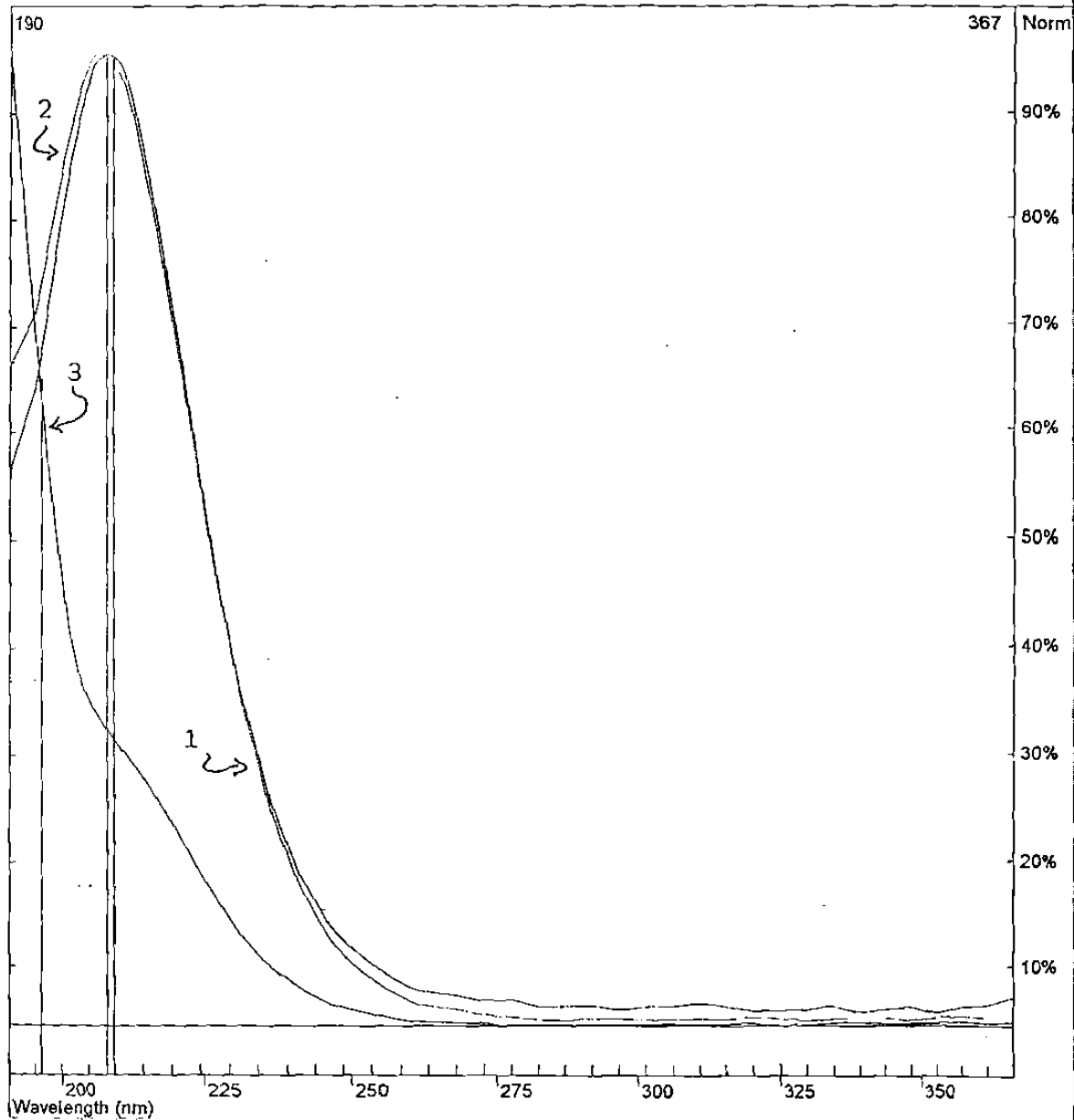
ESPECTROS UV DEL LMB (EN TRES PUNTOS)

(CLAR VARIAN)

FIGURA No. 6.29

Spectral Overlay Report

No.	Name	PuP (nm)	tR (min)	Spectrum Type	Correction	Filename
1	ACEITE MAIZ BROM	209.446	10.807	Upslope		AVB071.RUN
2	ACEITE MAIZ BROM	208.194	11.255	Peak Apex		AVB071.RUN
3	ACEITE MAIZ BROM	196.171	11.993	Downslope		AVB071.RUN

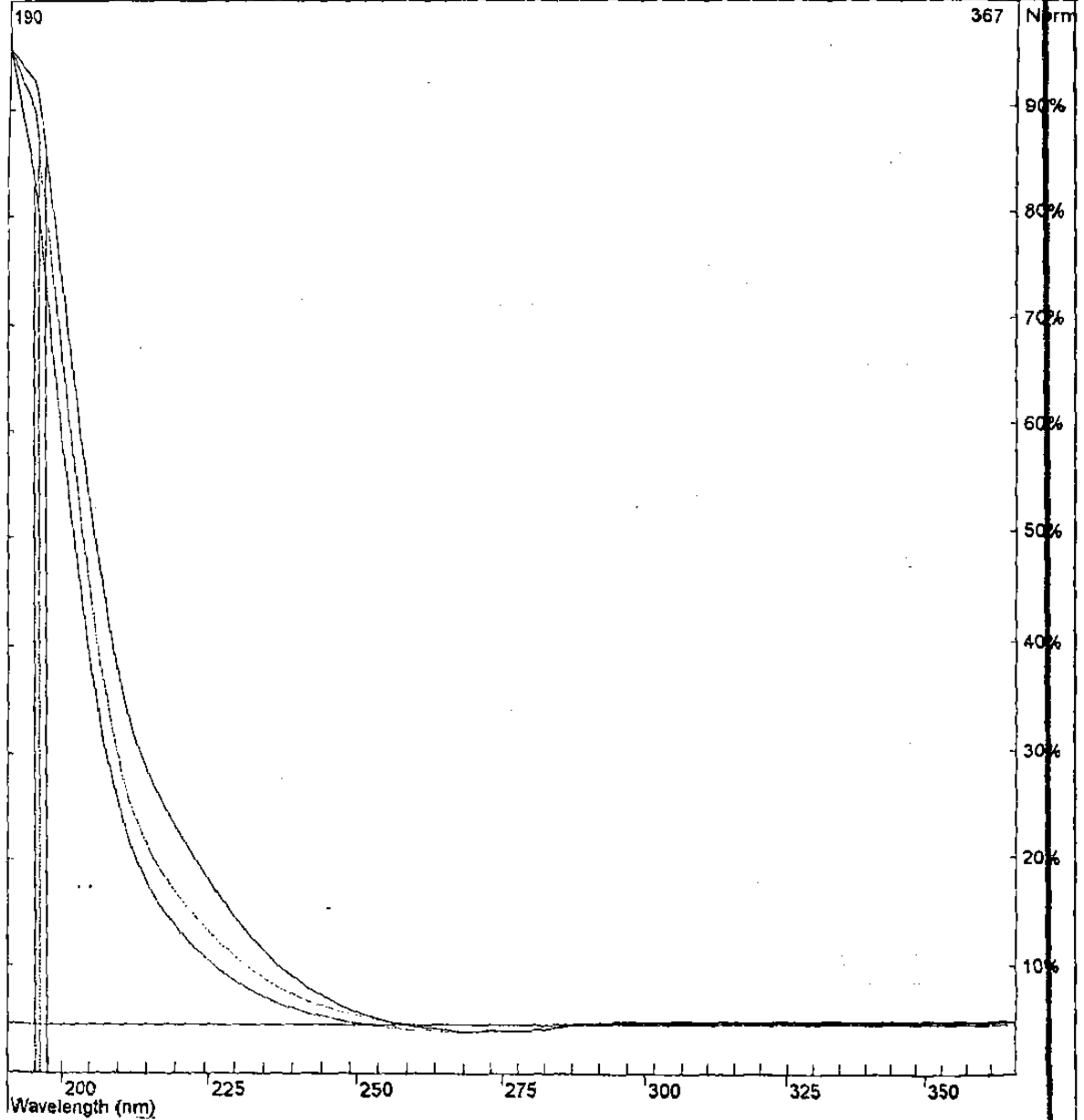


ESPECTROS UV EN TRES PUNTOS DEL PICO DE LOS ÉSTERES METÍlicos DEL ABM
CON SIMILAR TIEMPO DE RETENCIÓN QUE EL PICO PRINCIPAL DEL OMB. C/AR VARIANTE

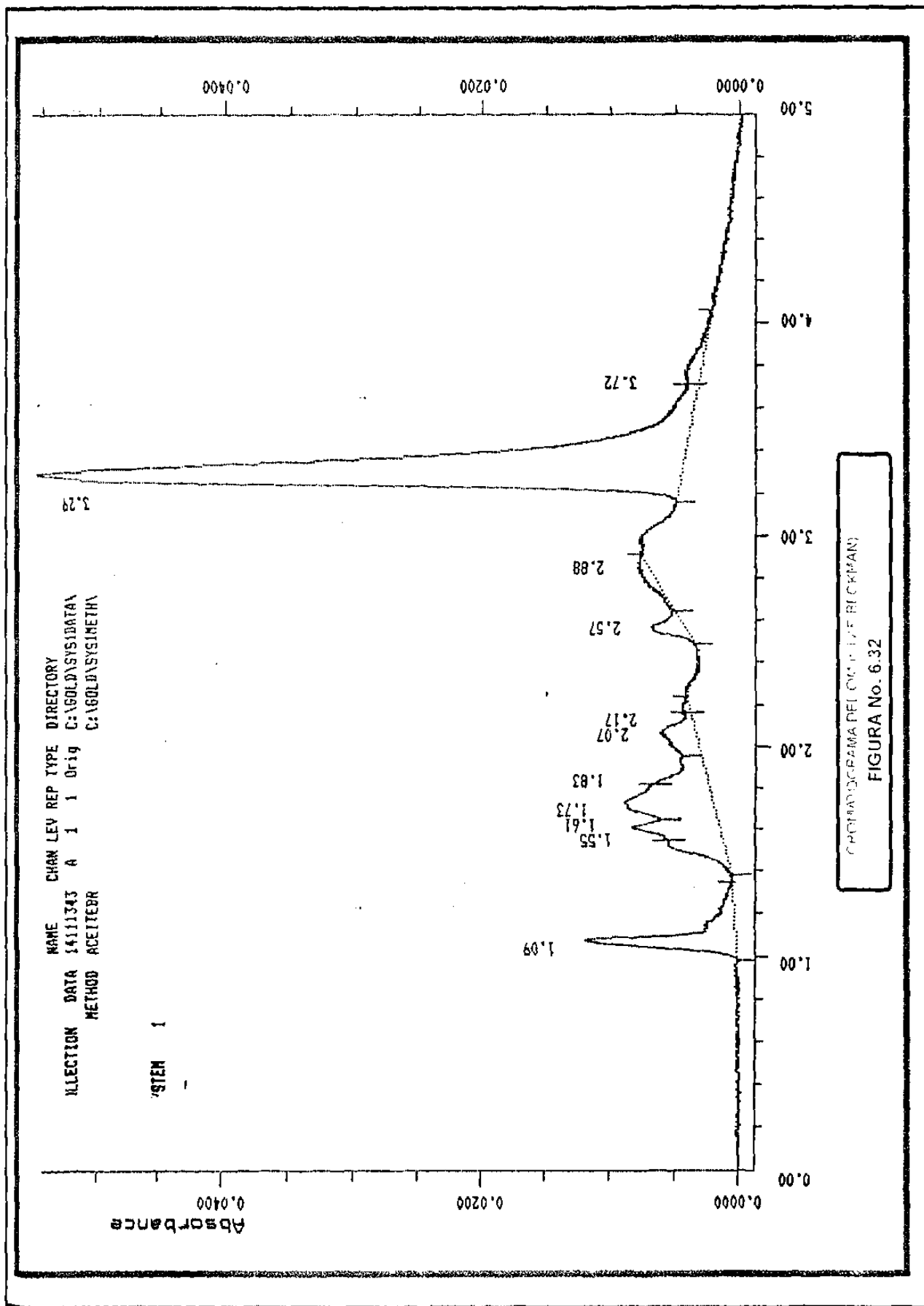
FIGURA No. 6.30

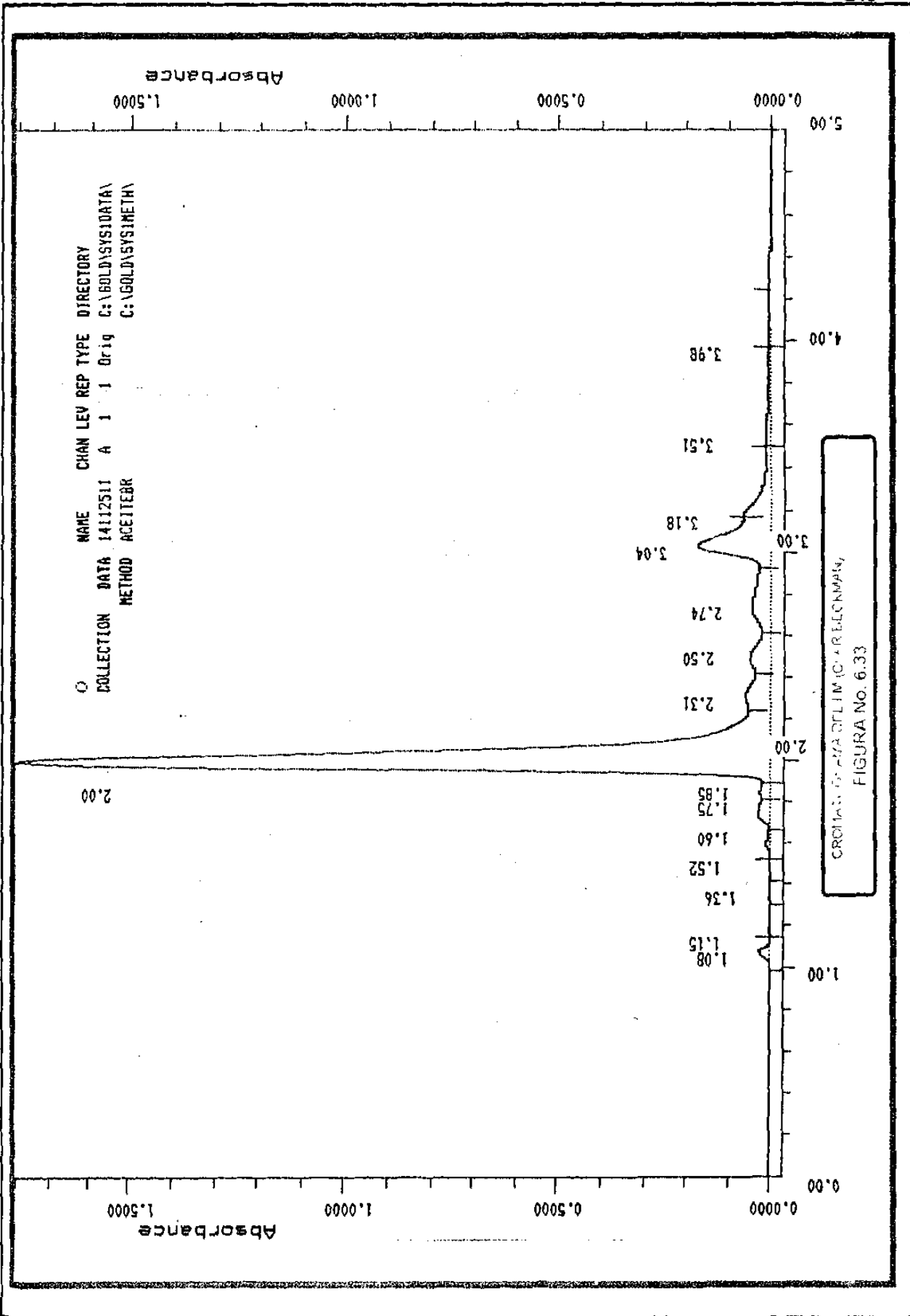
Spectral Overlay Report

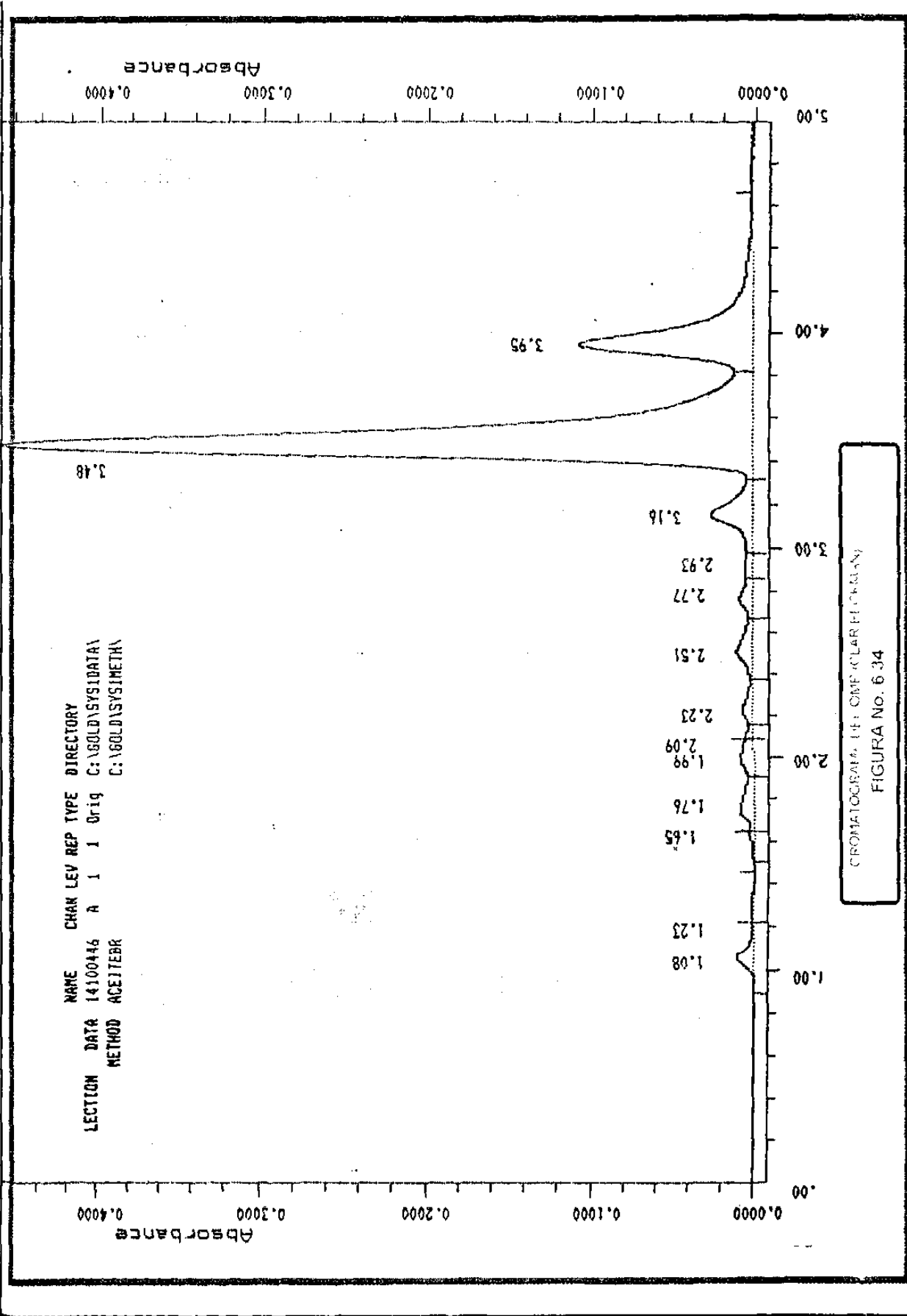
No.	Name	PuP (nm)	tR (min)	Spectrum Type	Correction	Filename
1	ACEITE MAIZ BROM	195.169	8.460	Upslope		AVB071.RUN
2	ACEITE MAIZ BROM	196.049	8.884	Peak Apex		AVB071.RUN
3	ACEITE MAIZ BROM	197.378	9.382	Downslope		AVB071.RUN

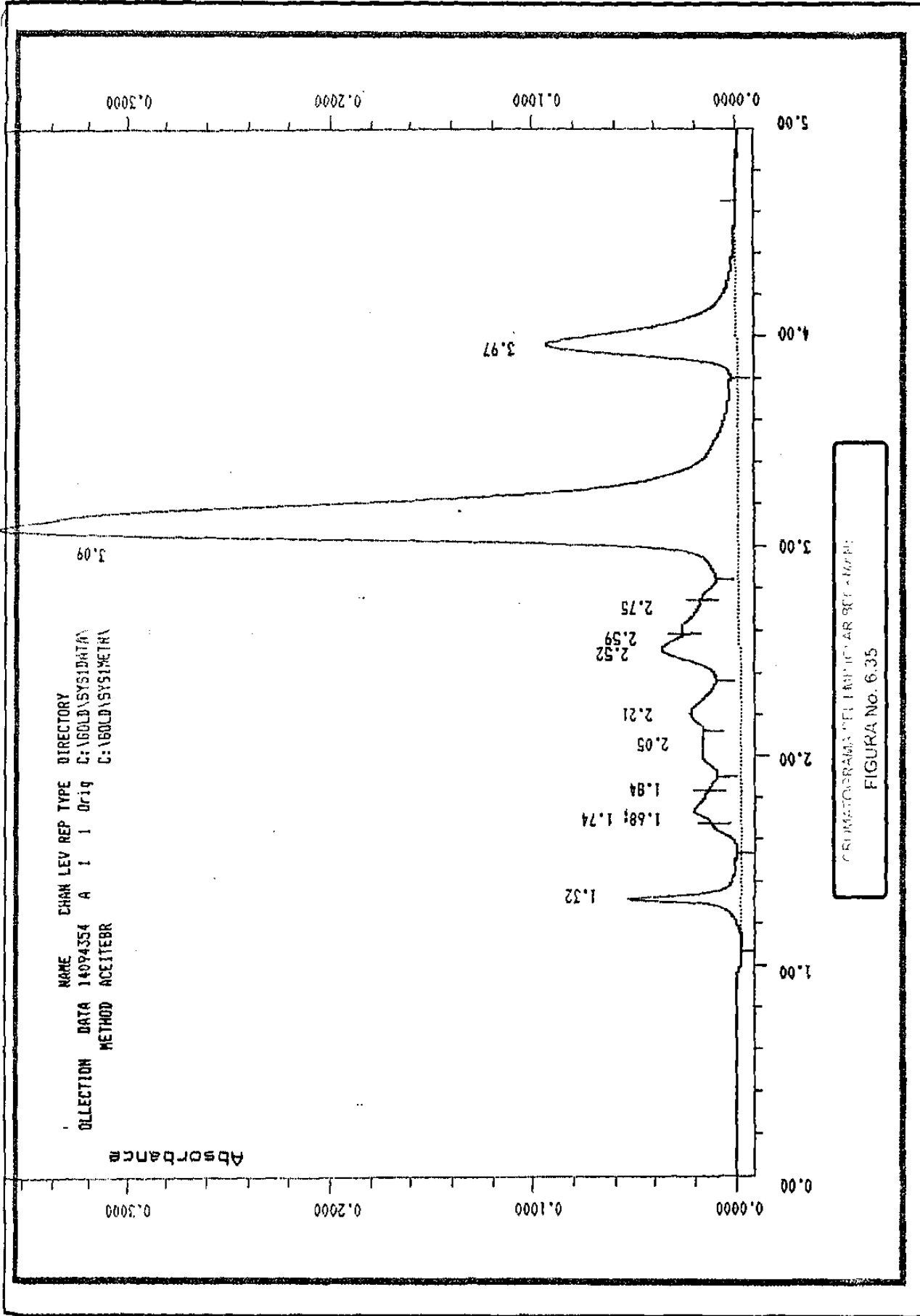


ESPECTROS UV (EN TRES PUNTOS) DEL PICO DE LOS ESTERES METILICOS DEL ABM
CON SIMILAR TIEMPO DE RETENCION QUE EL PICO PRINCIPAL DEL LMB (CLAR VARIAN)
FIGURA No. 6.31





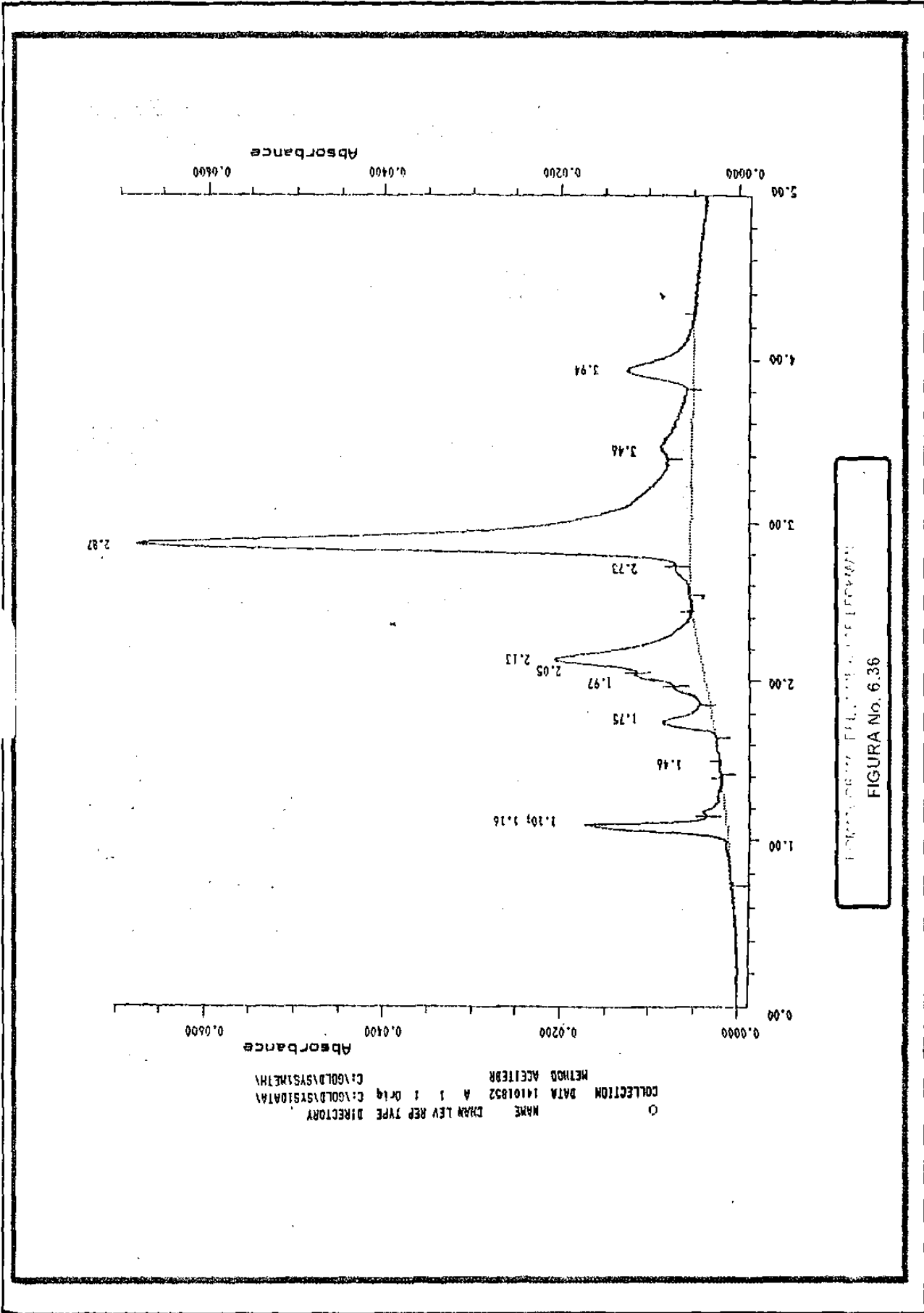




NAME CHAN LEV REP TYPE DIRECTORY
COLLECTION DATA 14094354 A 1 1 0r19 C:\60LD\SYSTEM\DATA\
METHOD ACET1E8R C:\60LD\SYSTEM\

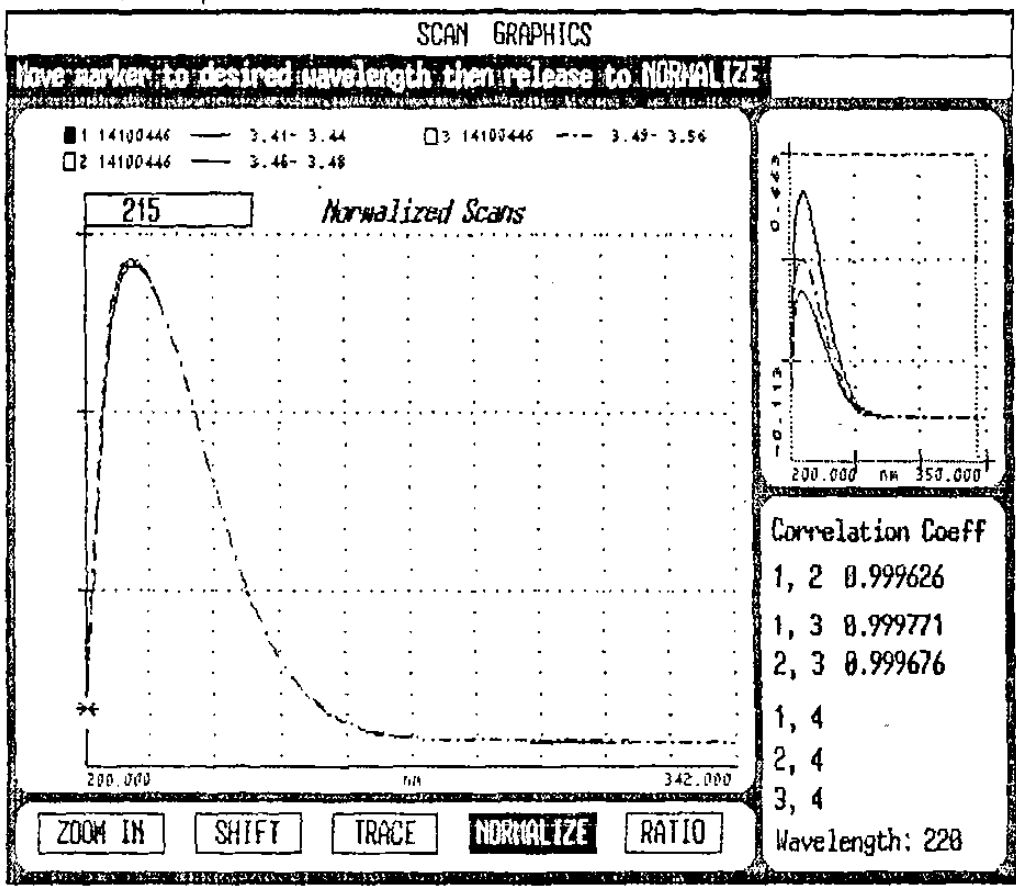
Absorbance

CRIMATOGRAMA DEL TIPO DE ARBOL
FIGURA No. 6.35



Utilities Operations

GOLDV510

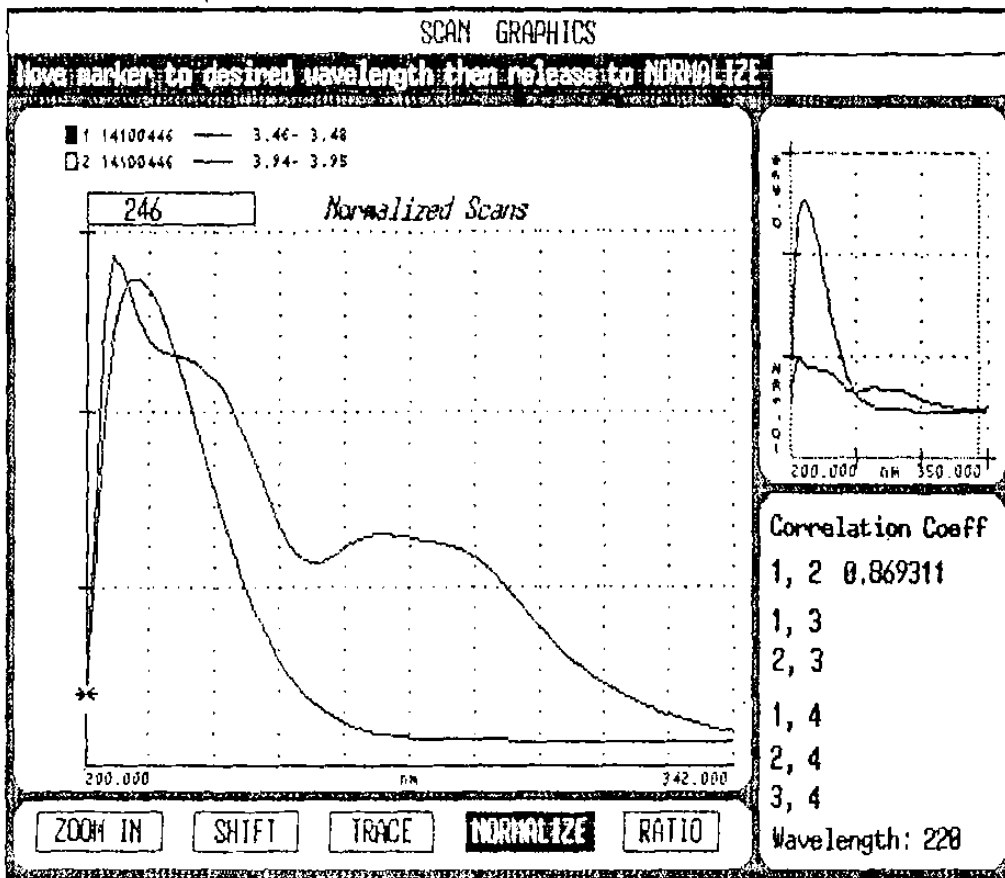


ESPECTROS UV DEL OMB (EN TRES PUNTOS DEL PICO CON t_r - 3.48 min) (CLAR BECKMAN)

FIGURA No. 6.37

Utilities Operations

GOLDV510



ESPECTROS UV DE DOS COMPONENTES

DEL OMB (CLAR BECKMAN)

FIGURA No. 6.38

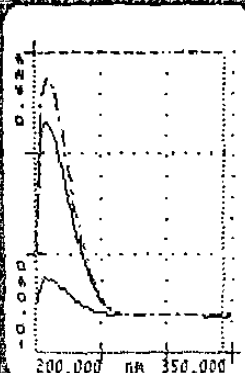
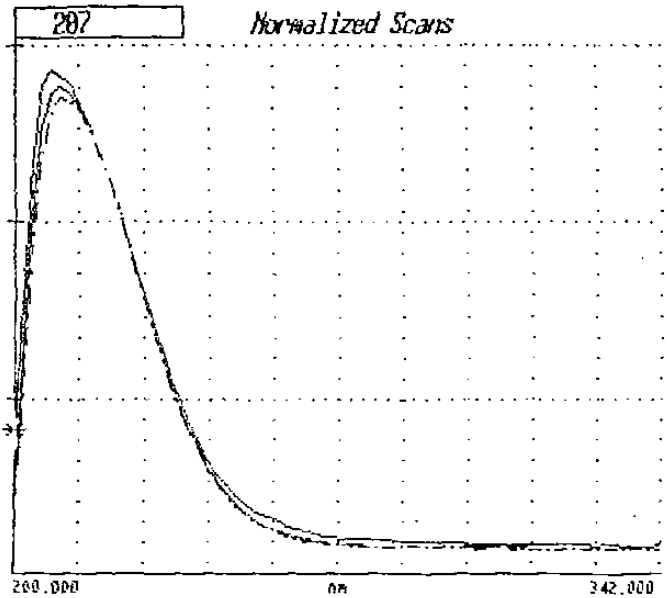
Utilities Operations

60LDV510

SCAN GRAPHICS

Normalized to 220 nm

- 1 14101852 — 2.36- 2.89
- 2 14094354 — 3.08- 3.10
- 3 14100446 --- 3.46- 3.48



Correlation Coeff

- 1, 2 0.997729
- 1, 3 0.994241
- 2, 3 0.999138
- 1, 4
- 2, 4
- 3, 4

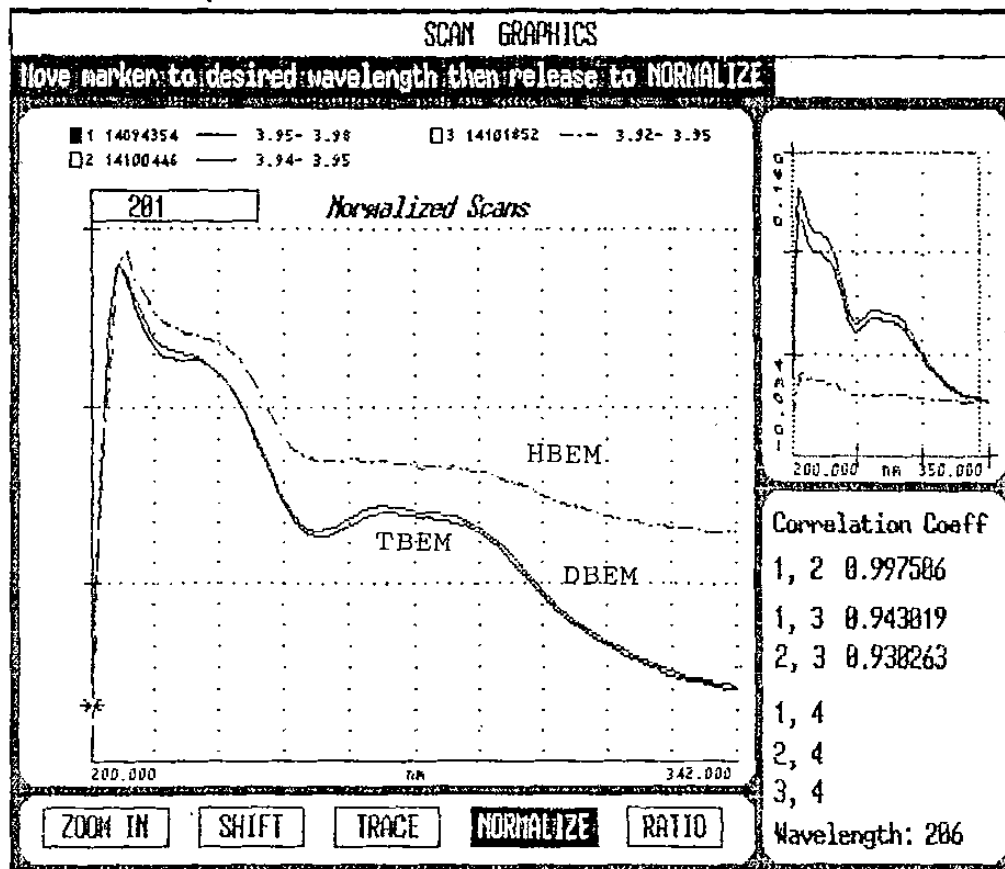
Wavelength: 220

- ZOOM IN
- SHIFT
- TRACE
- NORMALIZE
- RATIO

ESPECTROS UV DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES
 DEL OMB LMB Y LNMB (CLAR BECKMAN)
 FIGURA No. 6.39

Utilities Operations

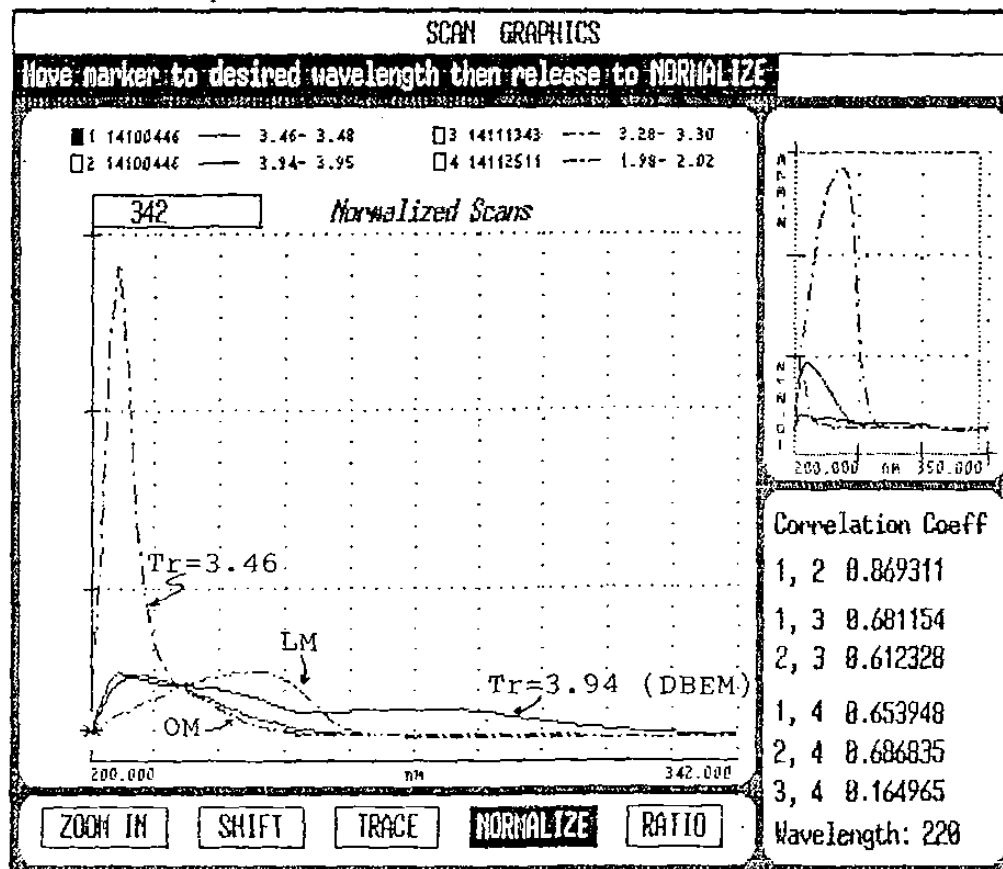
GOLDV518



ESPECTROS UV DEL COMPONENTE
 CON t = 3.95 min DEL OMB LMB Y LNMB
 (CLAR BECKMAN)
 FIGURA No. 6.40

Utilities Operations

GOLDW510



ESPECTROS UV DE DOS COMPONENTES DEL OMB Y
DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES DEL OM Y LM

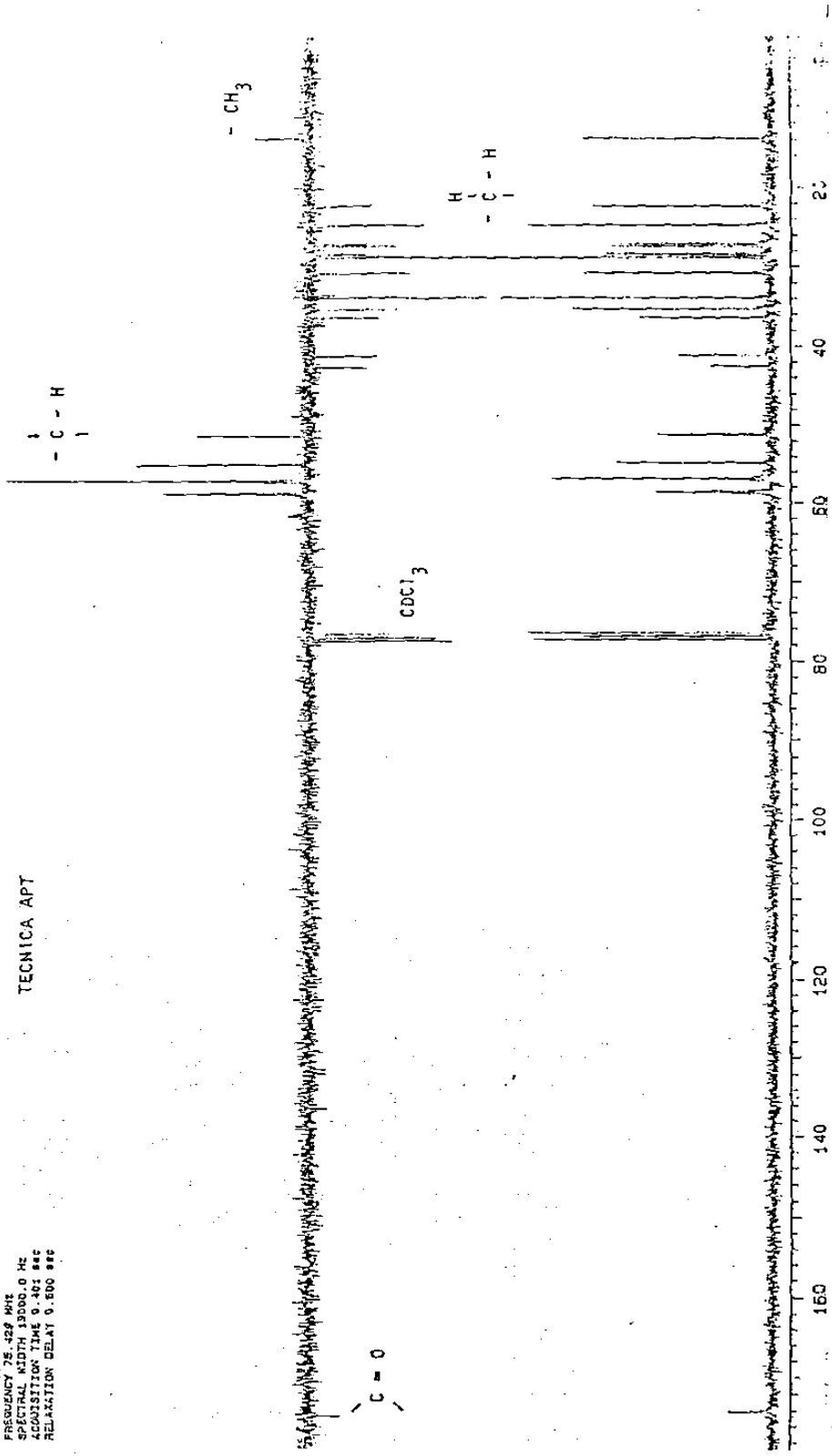
(CLAR BECKMAN)

FIGURA No. 6.41

1) Instituto de Matéria
OBSERVE C13
FREQUENCY 75.429 MHz
SPECTRAL WIDTH 19000.0 Hz
ACQUISITION TIME 0.401 sec
RELAXATION DELAY 0.600 sec

Instituto de Física

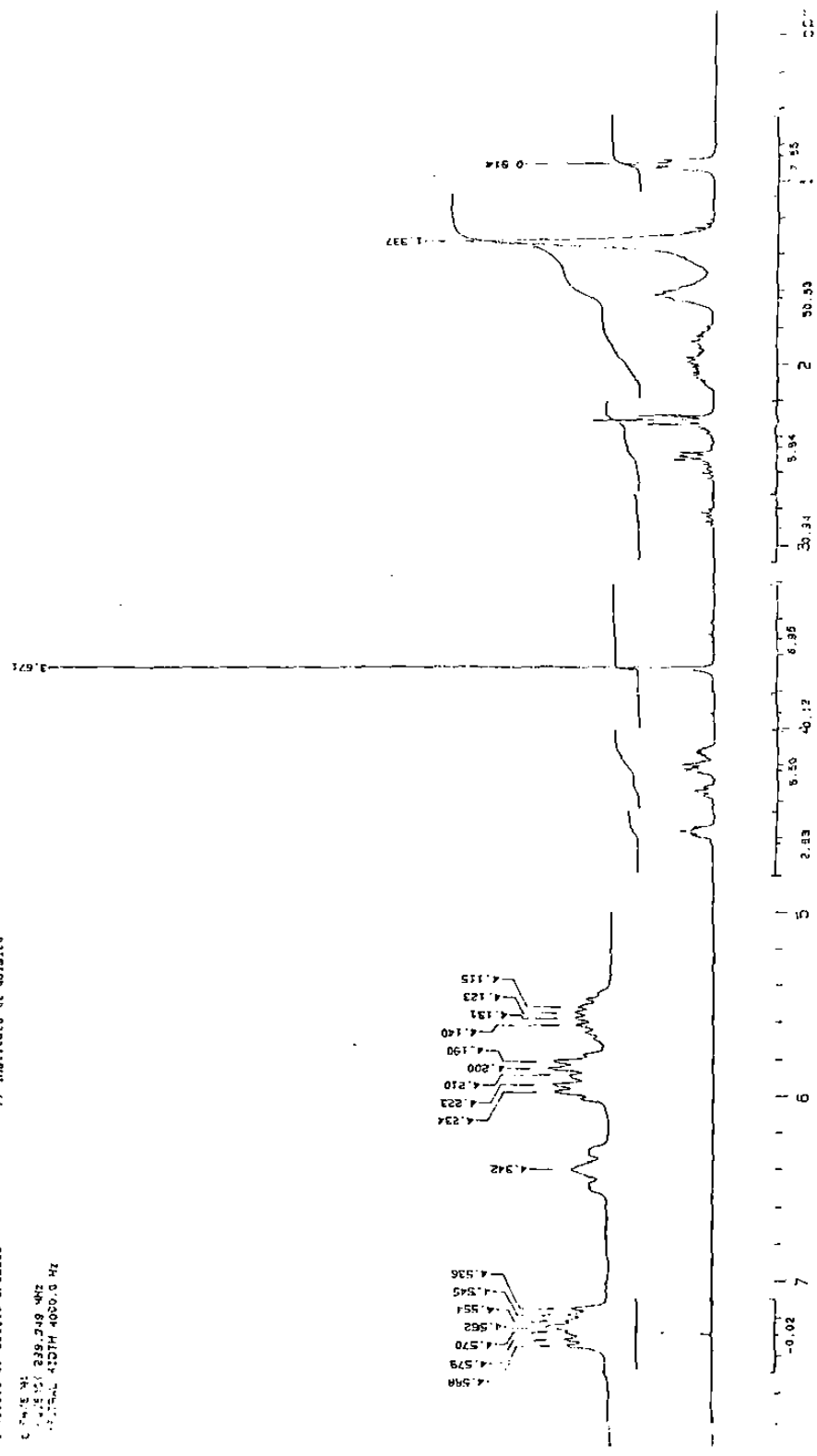
TECNICA APT



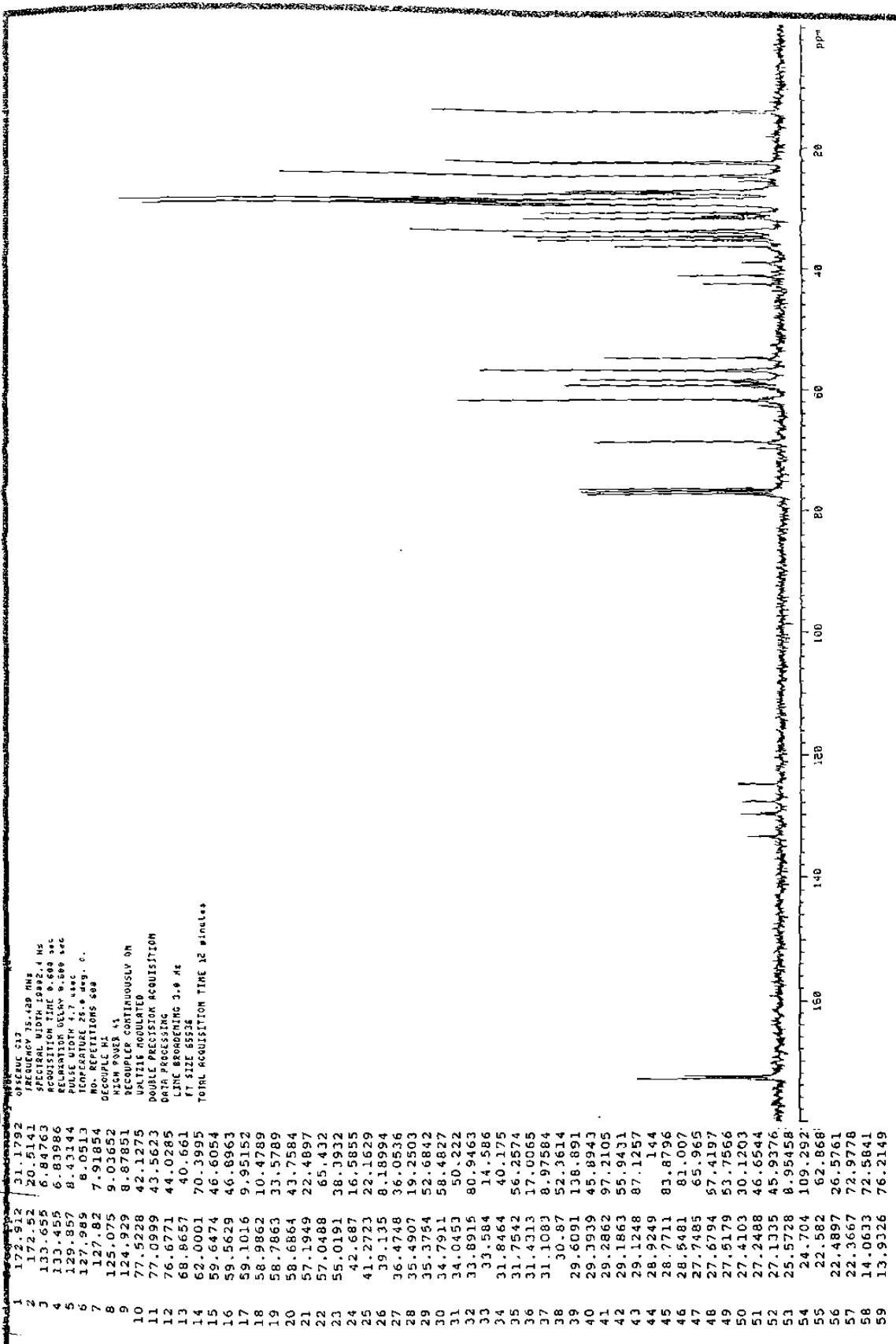
ESPECTRO RMN ¹³C DEL LMB
FIGURA No. 6.42

// Instituto de Quimica

Estado de Matillo Bromado
C₁₂H₁₀Br
Fórmula: C₁₂H₁₀Br
Peso: 233.04 g/mol
Temperatura: 25°C
Frecuencia: 4000.0 Hz



ESPECTRO RMN 1H DE LMB
FIGURA No. 6.43

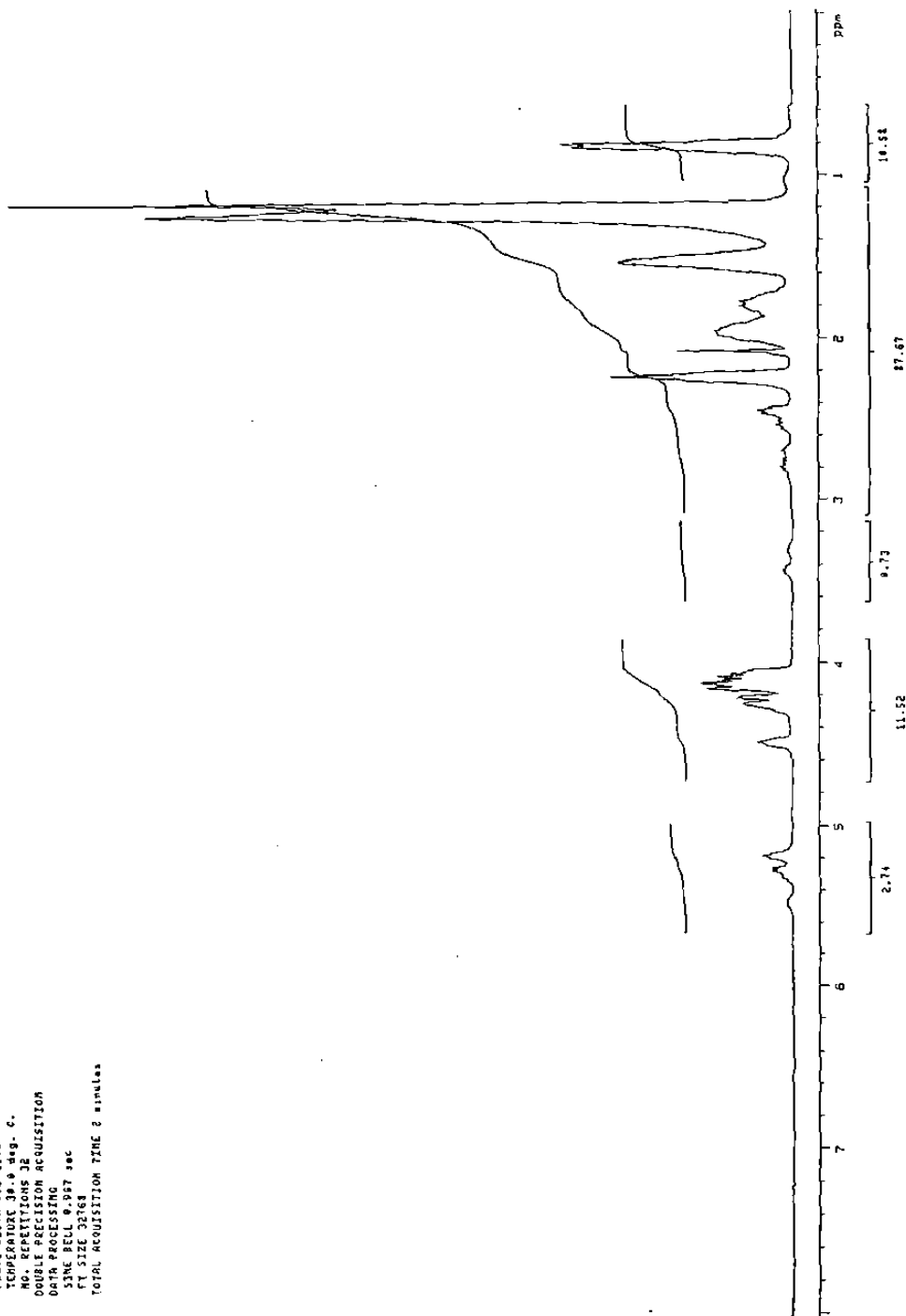


OBSERV. C17
 FREQUENCY 15.420 MHz
 SPECTRAL WIDTH 10992.4 Hz
 ACQUISITION TIME 9.589 sec
 PULSE PROGRAM "zgpg30" 9.589 sec
 PULSE WIDTH 17.000 sec
 TEMPERATURE 25.0 deg. C.
 NO. REPEATITIONS 600
 DECOUPLE H1
 HIGH POWER H1
 DECOUPLER CONTINUOUSLY ON
 PULSES MODULATED
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 LINE BROADENING 3.0 Hz
 FT SIZE 6528
 TOTAL ACQUISITION TIME 12 minutes

1	172.912	31.1792
2	172.52	20.5141
3	133.655	6.84763
4	133.455	6.83986
5	129.857	8.43144
6	127.989	8.05113
7	127.82	7.91854
8	125.075	9.03652
9	124.929	8.67851
10	77.5228	42.1275
11	77.0999	43.5623
12	76.6771	44.0285
13	68.8657	40.661
14	62.0001	70.3995
15	59.6474	46.6054
16	59.5629	46.8963
17	59.1016	9.95152
18	58.9862	10.4789
19	58.7863	33.5789
20	58.6864	43.7584
21	57.1949	22.4897
22	57.0488	65.432
23	55.0191	38.3832
24	42.687	16.5855
25	41.2723	22.1629
26	39.135	8.18994
27	36.4748	36.0536
28	35.4907	19.2503
29	35.3794	52.6842
30	34.7911	58.4827
31	34.0453	50.222
32	33.8915	80.9463
33	33.584	14.586
34	31.8464	40.175
35	31.7542	56.2574
36	31.4313	17.0065
37	31.1083	8.97584
38	30.87	52.3614
39	29.6091	138.891
40	29.3939	45.8943
41	29.2862	97.2105
42	29.1863	55.9431
43	29.1248	87.1257
44	28.9249	144
45	28.7711	83.8796
46	28.5481	81.007
47	27.7485	65.965
48	27.6794	67.4197
49	27.5179	53.7566
50	27.4103	30.1203
51	27.2488	46.6544
52	27.1335	45.9376
53	25.5728	8.95458
54	24.704	109.292
55	22.582	62.668
56	22.4897	26.5761
57	22.3667	72.9778
58	14.0633	72.5841
59	13.9326	76.2149

ESPECTRO RMN C DE LA MOLÉCULA 1 RM
FIGURA NO. 6.44

OBSERVE #1
 FREQUENCY 299.842 MHz
 SPECTRAL WIDTH 4000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 2.400 sec
 RELAXATION DELAY 2.500 sec
 PULS WIDTH 8.000 usec
 PULS PERIOD 0.000 usec
 TEMPERATURE deg. C.
 NUMBER OF SCANS 32
 DOUBLE ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 SINE BELL 0.057 sec
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 2 minutes



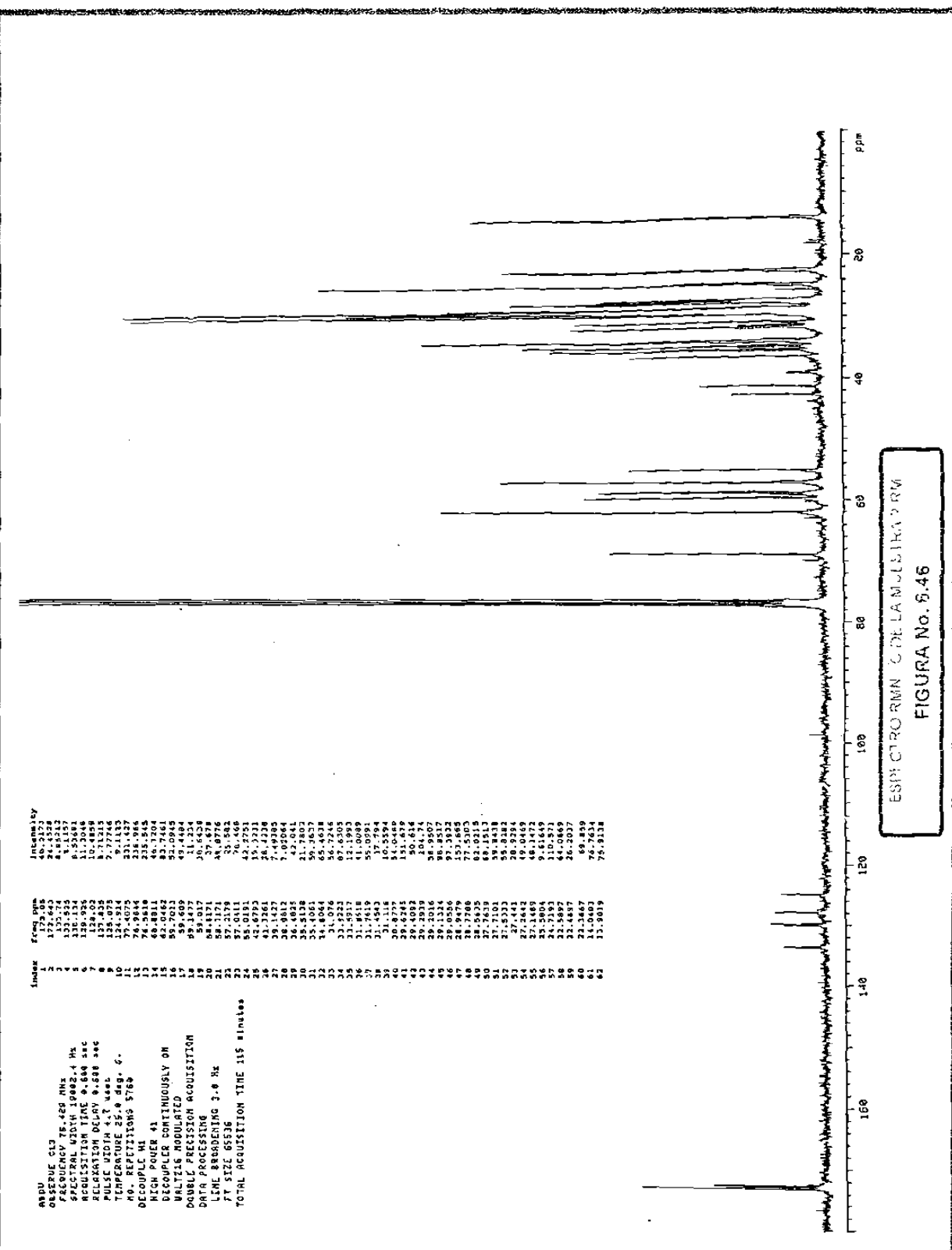
ESPECTRO RMN 1H DE LA MUESTRA RM
 FIGURA No. 6.45

```

ARDU
OBSERVE C13
FREQUENCY 76.425 MHz
PROBHD 5MM QNP 1H
ACQUISITION TIME 0.640 SEC
RELAXATION DELAY 0.600 SEC
PULSE WIDTH 4.7 usec
TEMPERATURE 25.0 deg. C.
NO. REPETITIONS 5760
DECOUPLE W1
HIGH POWER 41
DECOUPLER CONTINUOUSLY ON
VOLTAGE MODULATED
DOUBLE PRECISION ACQUISITION
DATA PROCESSING
LINE BROADENING 3.0 Hz
FT SIZE 65536
TOTAL ACQUISITION TIME 115 minutes

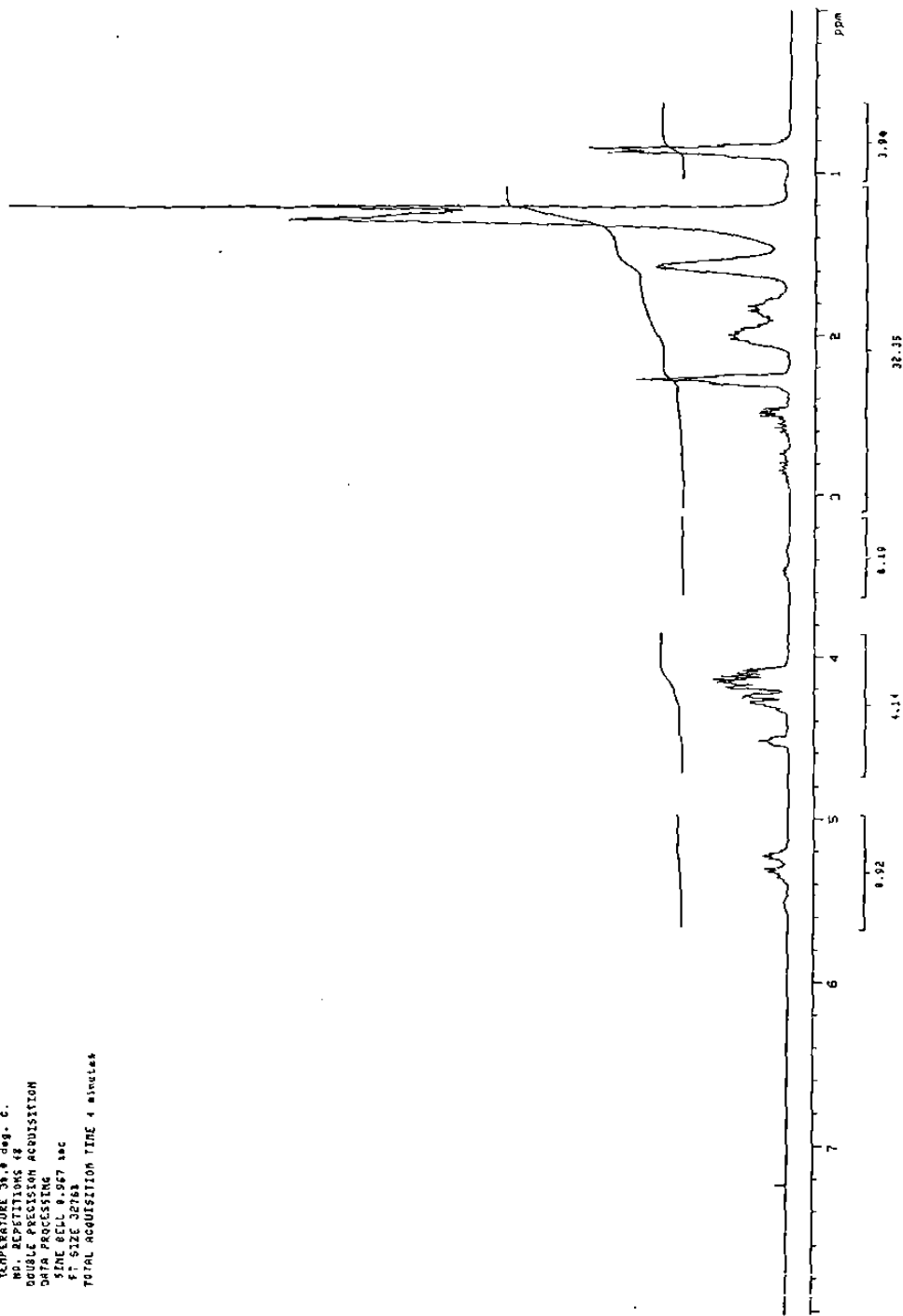
```

Line#	F1 (PPM)	Intensity
1	172.88	40.3173
2	172.693	4.64215
3	133.825	8.1157
4	133.575	1.00000
5	130.334	31.2046
6	128.02	10.4858
7	128.02	3.71213
8	137.435	9.1135
9	124.914	331.437
10	124.914	218.845
11	77.4075	46.1204
12	77.4075	43.7461
13	77.4075	49.4484
14	68.4811	30.6458
15	62.0462	49.4484
16	59.669	11.224
17	59.669	30.6458
18	59.1477	35.562
19	59.017	42.768
20	58.1171	35.562
21	58.1171	35.562
22	57.0111	26.4228
23	57.0111	7.49285
24	42.6795	15.3211
25	41.7261	26.4228
26	38.1427	7.49285
27	38.1427	7.49285
28	38.1427	7.49285
29	36.0835	42.041
30	35.8128	21.7802
31	35.061	59.3637
32	34.976	66.174
33	33.2223	67.6303
34	33.2223	67.6303
35	33.0917	12.3993
36	31.7619	55.0991
37	31.7619	55.0991
38	31.4543	17.7584
39	31.1775	16.0486
40	29.6245	131.679
41	29.6245	131.679
42	29.2016	58.9507
43	29.0982	80.634
44	29.1324	98.8517
45	29.0556	97.3822
46	29.0556	97.3822
47	28.7780	77.5305
48	28.7780	77.5305
49	28.2625	82.0219
50	27.7639	58.1511
51	27.7639	58.1511
52	27.5333	55.8182
53	27.441	20.8284
54	27.3482	49.0493
55	27.3482	49.0493
56	25.9894	9.61649
57	24.7193	310.573
58	23.9897	54.0807
59	23.9897	54.0807
60	23.9667	69.810
61	14.0403	76.7634
62	13.9019	75.8128



ESTRUCTORRM C DE LA MUESTRA P RM
FIGURA No. 6.46

0820
 082002 HZ
 FREQUENCY 209.048 MHZ
 SPECTRAL WIDTH 4000.0 HZ
 ACQUISITION TIME 3.000 SEC
 RELAXATION DELAY 2.000 SEC
 PULSE WIDTH 4.3 USEC
 TEMPERATURE 30.0 DEG. C.
 NO. ACQUISITIONS 18
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FID 11 0.267 SEC
 F2 SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 4 minutes

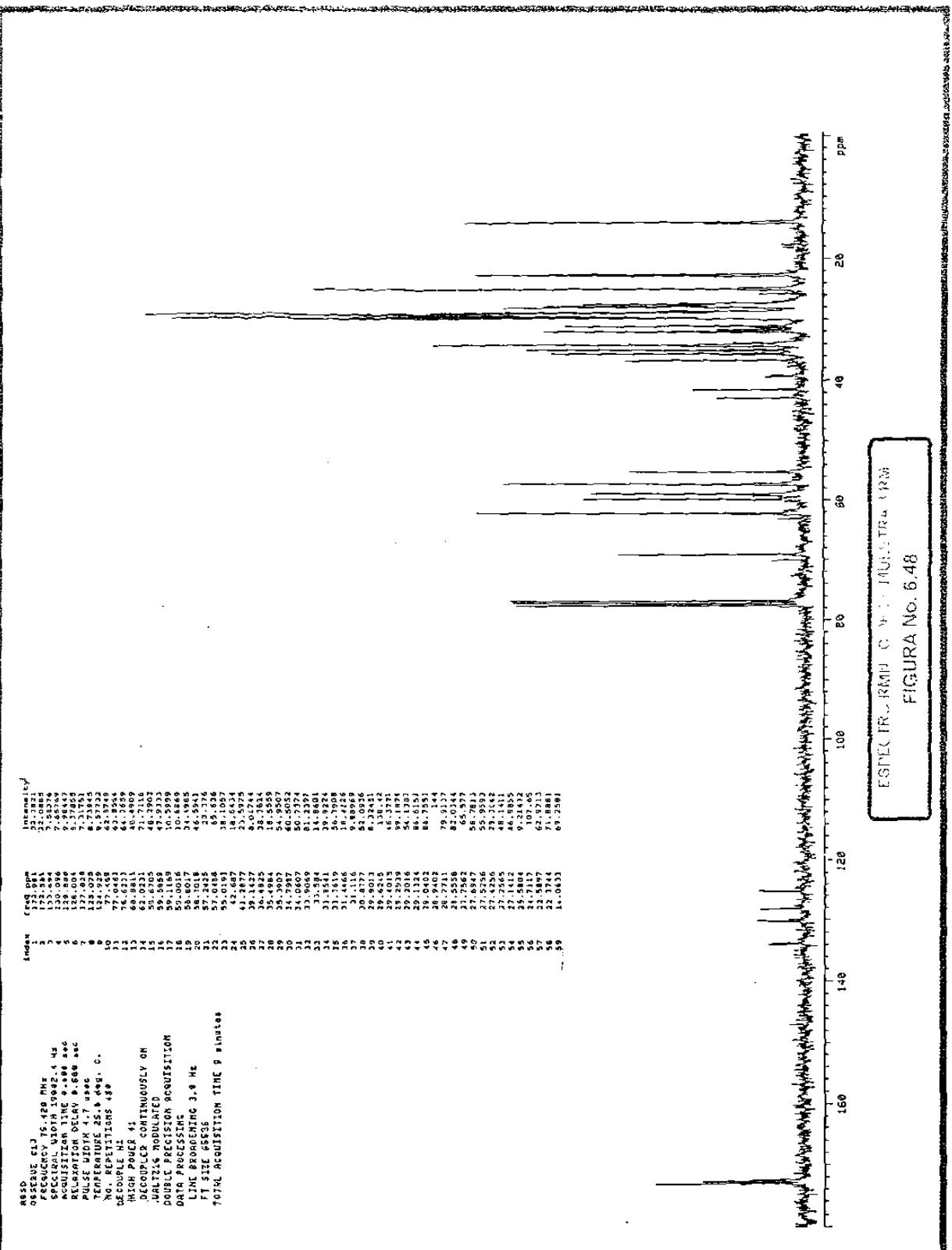


ESPECTRO RMN ¹H DE LA MUESTRA 2 RM

FIGURA No. 6.47

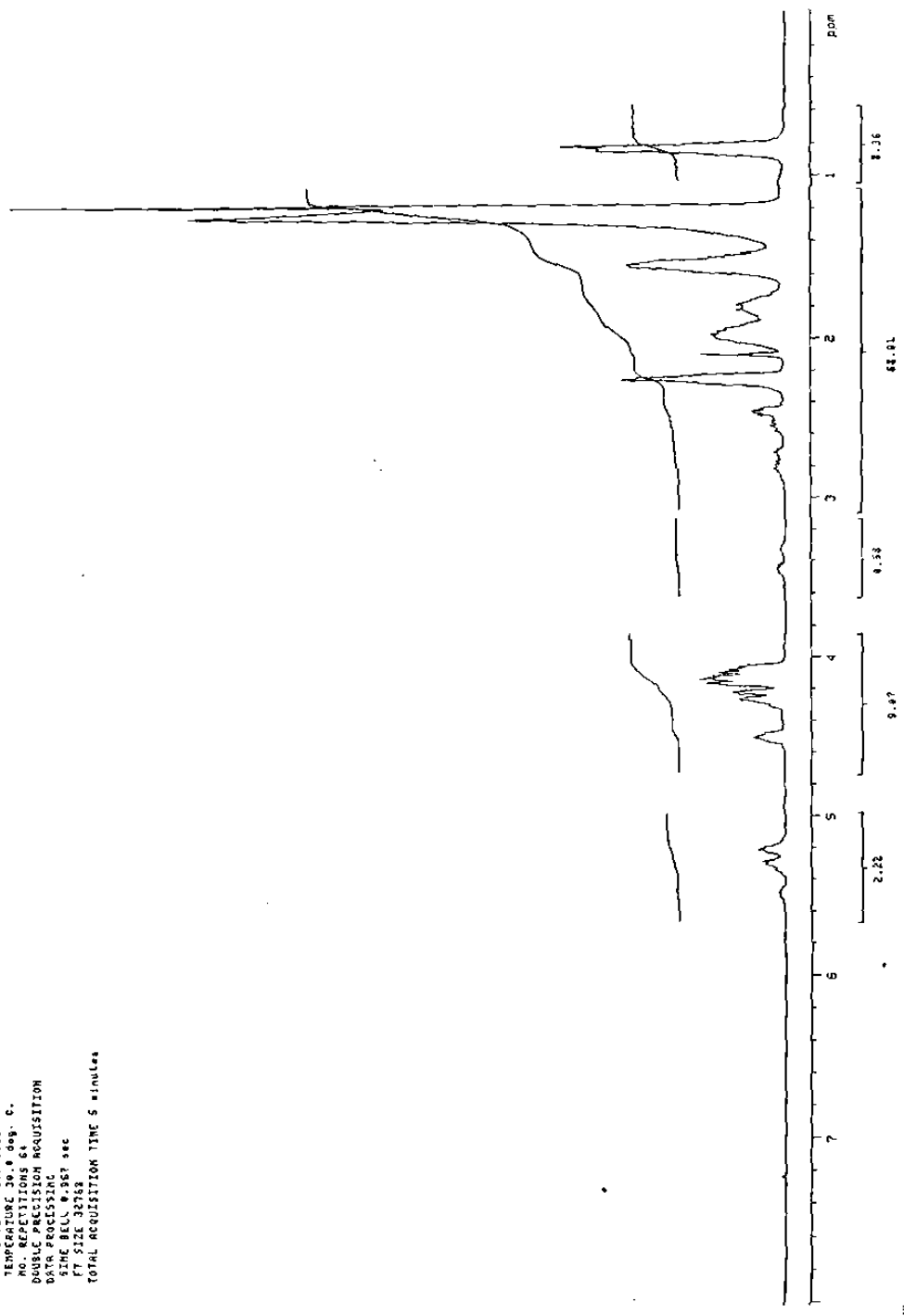
0050
 00500000 013
 FREQUENCY 16.420 MHz
 SPECTRAL WIDTH 10002.4 Hz
 ACQUISITION TIME 0.000 sec
 RELAXATION DELAY 0.000 sec
 PULSE WIDTH 2.7 usec
 T1 RHO 0.000 sec
 NO. REPEATS 400
 DECOUPLE NI
 HIGH POWER 41
 DECOUPLES CONTINUOUSLY ON
 JAZZ'S MODULATED
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 LINE BROADENING 3.0 Hz
 FT SIZE 65036
 TOTAL ACQUISITION TIME 9 minutes

Index	FREQ ppm	Intensity
1	172.541	12.0888
2	130.086	7.85768
3	129.880	9.26457
4	127.008	7.11791
5	125.029	8.23843
6	121.548	42.5748
7	121.548	42.5748
8	121.548	42.5748
9	121.548	42.5748
10	121.548	42.5748
11	121.548	42.5748
12	121.548	42.5748
13	121.548	42.5748
14	121.548	42.5748
15	121.548	42.5748
16	121.548	42.5748
17	121.548	42.5748
18	121.548	42.5748
19	121.548	42.5748
20	121.548	42.5748
21	121.548	42.5748
22	121.548	42.5748
23	121.548	42.5748
24	121.548	42.5748
25	121.548	42.5748
26	121.548	42.5748
27	121.548	42.5748
28	121.548	42.5748
29	121.548	42.5748
30	121.548	42.5748
31	121.548	42.5748
32	121.548	42.5748
33	121.548	42.5748
34	121.548	42.5748
35	121.548	42.5748
36	121.548	42.5748
37	121.548	42.5748
38	121.548	42.5748
39	121.548	42.5748
40	121.548	42.5748
41	121.548	42.5748
42	121.548	42.5748
43	121.548	42.5748
44	121.548	42.5748
45	121.548	42.5748
46	121.548	42.5748
47	121.548	42.5748
48	121.548	42.5748
49	121.548	42.5748
50	121.548	42.5748
51	121.548	42.5748
52	121.548	42.5748
53	121.548	42.5748
54	121.548	42.5748
55	121.548	42.5748
56	121.548	42.5748
57	121.548	42.5748
58	121.548	42.5748
59	121.548	42.5748



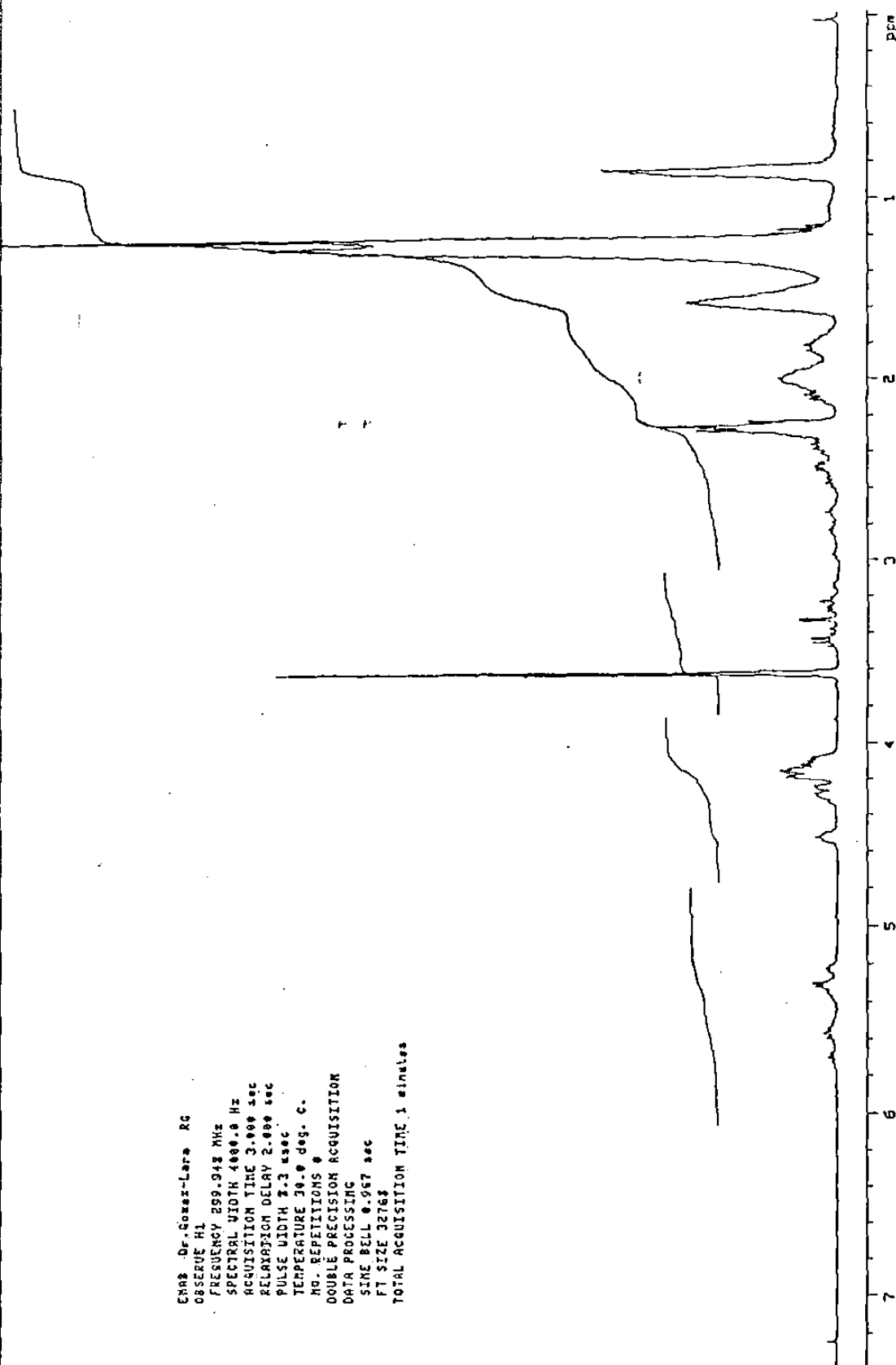
ESPECTRO RMN C N 13 - INDUSTRIA CR30
 FIGURA No. 6.48

OBSERVE HI
 FREQUENCY 200.545 MHz
 SPECTRAL WIDTH 1800.0 Hz
 ACQUISITION TIME 3.088 sec
 RELAXATION DELAY 2.008 sec
 PULSE PROGRAM 1
 TEMPERATURE 27.000 C.
 NO. REPEATITIONS 64
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 TIME BELL 0.087 sec
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 5 minutes



ESPECTROGRAMA DE TAMA LORAX (M)
 FIGURA No. 6.49

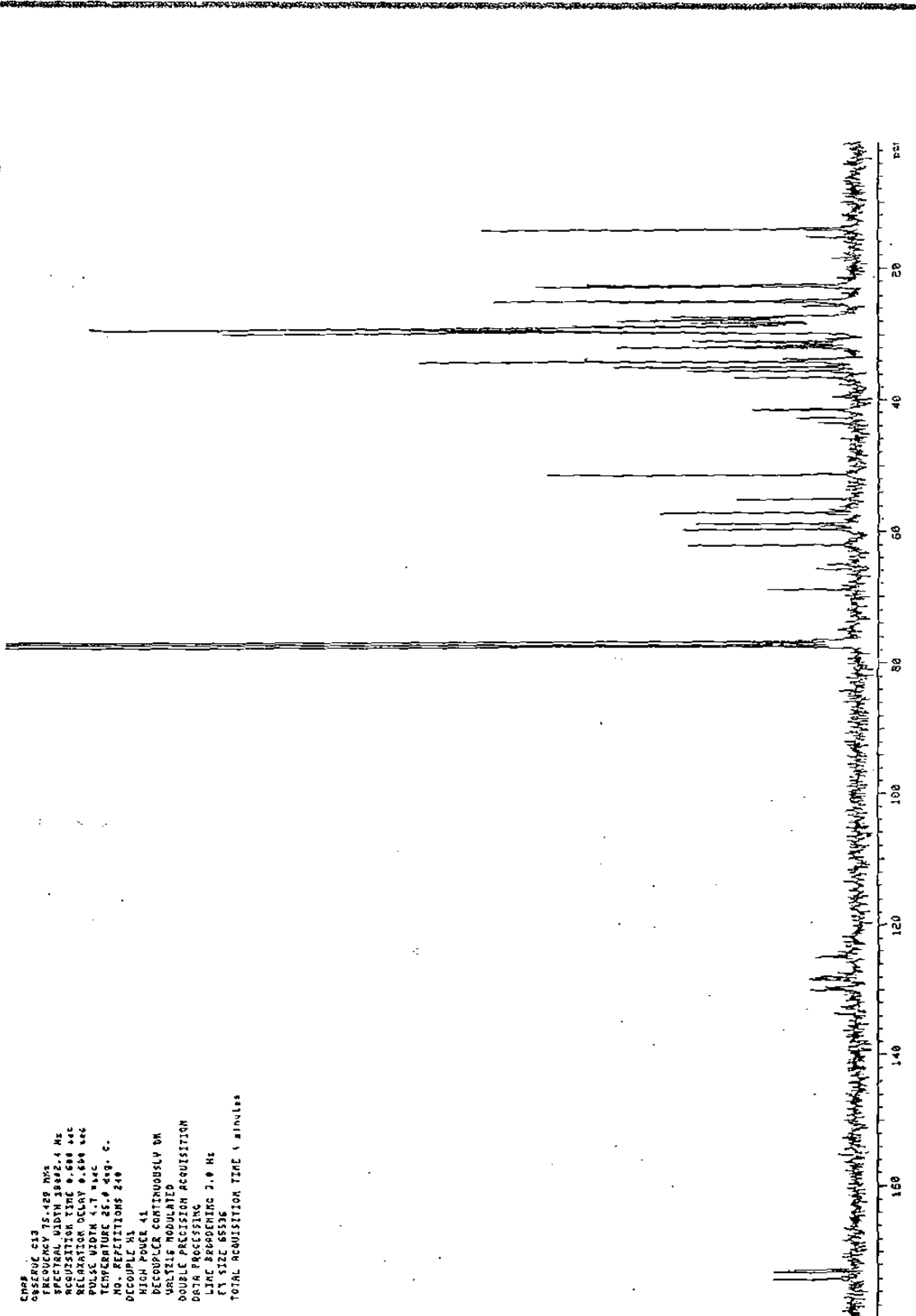
CNAB Dr. Gomez-Lera RC
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 299.948 MHz
 SPECTRAL WIDTH 4000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 2.000 sec
 RELAXATION DELAY 2.000 sec
 PULSE WIDTH 2.3 msec
 TEMPERATURE 30.0 deg. C.
 NO. REPEITIONS 0
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 SINE BELL 0.987 sec
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 1 minutes



ESPECTRO NMR DEL AVALUADO R1*

FIGURA No. 6.50

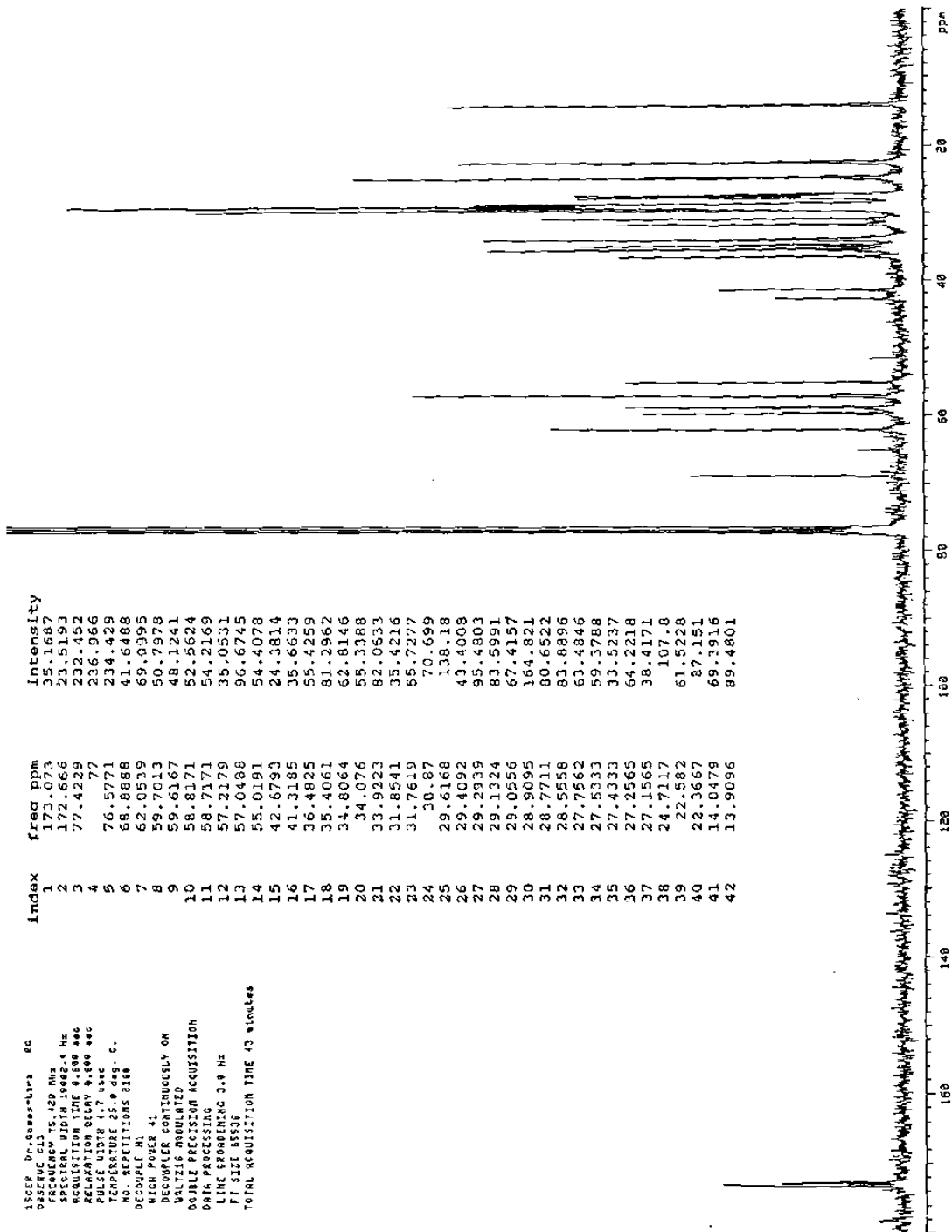
CHRF
CBSZRC C13
FREQUENCY 15.429 MHz
ACQUISITION TIME 0.664 SEC
RELAXATION DELAY 0.664 SEC
PULSE WIDTH 5.7 msec
TEMPERATURE 25.0 45.0 C.
NO. REPEATITIONS 240
DECUPLE M1
HIGH POWER 41
DECOUPLER CONTINUOUSLY ON
WALTZ MODULATED
DOUBLE PRECISION ACQUISITION
DATA PROCESSING
LINE BRANDING 3.0 Hz
FY SIZE 65536
TOTAL ACQUISITION TIME 4 minutes



ESPECTRO RMN H2O DE 4-MOLESTRON - RU
FIGURA No. 6.51

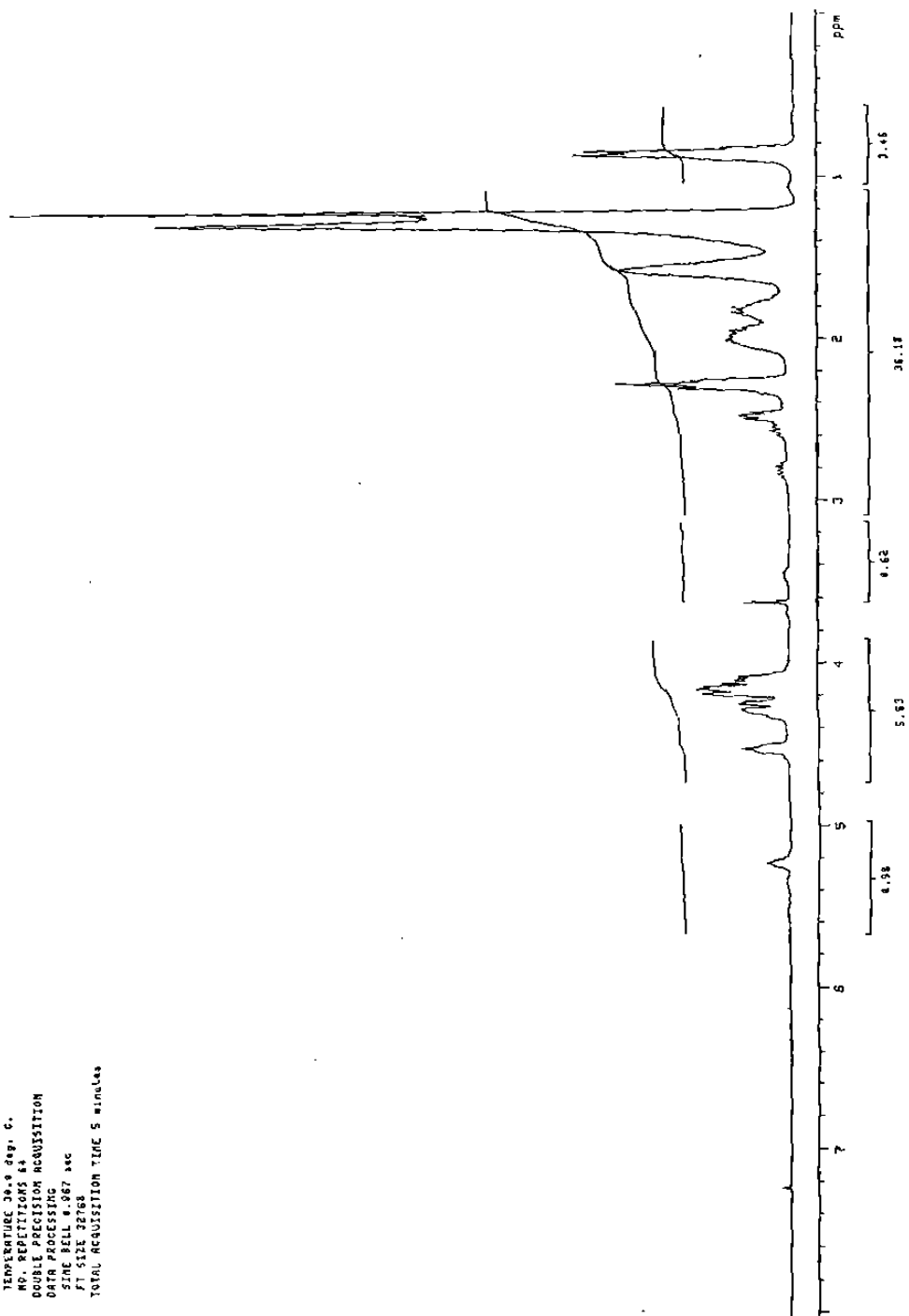
Index	Freq ppm	Intensity
1	173.073	35.1687
2	172.666	23.5193
3	77.4229	232.452
4	77.4229	236.966
5	76.5771	234.429
6	68.8888	41.6488
7	62.0539	69.0395
8	59.7013	50.7978
9	59.6167	48.1241
10	58.8171	52.5624
11	58.7171	54.2169
12	57.2179	35.0531
13	57.0488	96.6745
14	55.0191	54.4078
15	42.6793	24.3814
16	41.3185	35.6633
17	36.4825	55.4259
18	35.4061	81.2962
19	34.8064	62.8146
20	34.076	55.3388
21	33.9223	82.0633
22	31.8541	35.4216
23	31.7619	55.7277
24	30.67	70.699
25	29.6168	138.18
26	29.4092	43.4008
27	29.2939	95.4803
28	29.1324	83.5991
29	28.0556	67.4157
30	28.9095	164.821
31	28.7711	80.6522
32	28.5558	83.8896
33	27.7562	63.4846
34	27.5333	59.3788
35	27.4333	33.5237
36	27.2565	64.2218
37	27.1565	38.4171
38	24.7117	107.8
39	22.582	61.5228
40	22.3667	87.151
41	14.0479	69.3916
42	13.9096	89.4801

130CM P1. Guss-lys R2
 FREQ 15.420 MHz
 SPECTRAL WIDTH 19002.4 Hz
 ACQUISITION TIME 4.500 sec
 RELAXATION DELAY 4.500 sec
 PULSE WIDTH 4.7 usec
 TEMPERATURE 25.0 deg. C.
 NO. REPEATITIONS 2168
 DECOUPLE H1
 HIGH POWER 41
 RECORDER CONTINUOUSLY ON
 DATA ACQUIRED
 ORBITAL POSITION ACQUISITION
 ON IN PROCESSING
 F1 SIZE 8536
 F2 SIZE 8536
 TOTAL ACQUISITION TIME 43 minutes



EXPERIMENTAL DATA ESTIMATED
 FIGURA No 6.52

NAME NI
 FREQUENCY 200.248 MHz
 SPECTRAL WIDTH 4000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 3.000 sec
 RELAXATION DELAY 2.000 sec
 PULSE WIDTH 6.3 msec
 TEMPERATURE 29.9 Deg. C.
 NO. REPLICATIONS 14
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 SINE BELL 0.267 sec
 F1 SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 5 minutes



ESPECTRO RMN ¹H DE LA MUF-STRACHRM
 FIGURA No. 6.53