

IDENTIFICACIÓN DE GRASAS Y ACEITES EN EL AGUA POTABLE DEL  
MUNICIPIO DE PASTO POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y  
CROMATOGRAFIA DE GASES/ESPECTROMETRIA DE MASAS

DAVID EDUARDO ARTURO PERDOMO  
OSCAR ALEXANDER DELGADO ARCOS  
WILLIAM GERMAN DIAZ ORDOÑEZ

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICAS  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA  
SAN JUAN DE PASTO  
2006

IDENTIFICACION DE GRASAS Y ACEITES EN EL AGUA POTABLE DEL  
MUNICIPIO DE PASTO POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y  
CROMATOGRAFIA DE GASES/ESPECTROMETRIA DE MASAS

DAVID EDUARDO ARTURO PERDOMO  
OSCAR ALEXANDER DELGADO ARCOS  
WILLIAM GERMAN DIAZ ORDOÑEZ

Trabajo de grado para optar el titulo de Químico

Director  
M.Sc. JUAN JOSE LOZADA CASTRO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICAS  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA  
SAN JUAN DE PASTO  
2006

Nota de Aceptación

---

---

---

---

---

---

---

Director

---

Jurado

---

Jurado

San Juan de Pasto, Marzo de 2006

“Las ideas y conclusiones aportados en la tesis de grado, son responsabilidad Exclusiva de los autores”

“Artículo 1 del acuerdo No 234 de Octubre 11 de 1966, emanada por el honorable consejo directivo de la Universidad de Nariño”.

## AGRADECIMIENTOS

Vicerrectoria de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales "VIPRI", por la cofinanciación de este trabajo.

Magíster Juan José Lozada Castro, por la asesoría, apoyo, paciencia y colaboración en todo el transcurso de la investigación.

Empresa de obras públicas y sanitarias EMPOPASTO S.A, por la cofinanciación y apoyo para este trabajo.

A la memoria de mi madre, quien fuera  
Mi fuerza, mi fuerza, mi guía y mi viento  
Favorable. A la misericordia de Dios y a  
Toda mi familia.

WILLIAM GERMAN DIAZ ORDOÑEZ

Agradezco a Dios, Mi padre por enseñarme  
El camino de la vida. A mis padres  
Luis Eduardo y Mariana por su amor y apoyo  
A mis hermanos, familiares y amigos.

DAVID EDUARDO ARTURO PERDOMO

Dedico esta investigación, a quien  
Me da la vida, y todo lo que soy.....  
Dios.

OSCAR ALEXANDER DELGADO ARCOS

## CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCION	20
1.ANTECEDENTES	22
2.MARCO TEORICO	23
2.1. DESCRIPCION DE LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO DE LA CIUDAD DE PASTO	23
2.1.1. Tratamiento del Agua	27
2.2. GRASAS Y ACEITES	35
2.2.1 Acidos Grasos	36
2.2.1.1. Acidos grasos saturados	38
2.2.1.2. Acidos grasos monoinsaturados	38
2.2.1.3. Acidos grasos poliinsaturados	39
2.3. EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO	39
2.4 ANALISIS DE ACIDOS GRASOS	40
2.4.1. Metilación de ácidos grasos	41
2.4.2. Técnicas para preparar ésteres metílicos de ácidos grasos	42
2.4.2.1. Derivatización catalizada por ácidos	42
2.4.2.2. Derivatización catalizada por bases	43
2.4.3. Cuantificación de ácidos grasos	43
2.5. VALIDACIÓN DE MÉTODOS	44
2.5.1. Procedimiento de Validación	44

3. METODOLOGIA	47
3.1 ESTANDARIZACION DEL METODO	47
3.1.1. Estandarización de las condiciones cromatográficas	47
3.1.1.1. Tiempo Muerto	47
3.1.1.2. Flujo Optimo	48
3.1.1.3. Optimización de la eficiencia de la columna	48
3.2. VALIDACION DE LAS CONDICIONES CROMATOGRAFICAS	48
3.2.1. Limite de Detección	48
3.2.2. Repetibilidad	49
3.3. ESTANDARIZACION DE LAS CONDICIONES DE PREPARACION DE LA MUESTRA	49
3.3.1. Extracción liquido- liquido	49
3.3.2. Procedimiento de la extracción liquido- liquido	49
3.3.3. Estandarización del proceso de derivatización de grasas y aceites	49
3.3.4. Identificación de las grasas y aceites en el agua cruda y tratada	50
3.3.4.1. Muestreo	50
3.3.4.2. Análisis	50
3.3.4.3. cuantificación de los ácidos grasos	51
4. RESULTADOS Y DISCUSION	52
4.1 Estandarización de las condiciones cromatográficas	52
4.1.1. Tiempo Muerto	52
4.1.1.2. Flujo optimo	52
4.1.1.3. Optimización de la eficiencia de la columna	53

4.1.1.4. Validación de las condiciones cromatográficas	55
4.1.1.5. Curvas de Calibración	57
4.1.1.6. Rango Lineal	57
4.1.1.7. Limite de detección	58
4.1.2. Estandarización de las condiciones de preparación de la muestra	60
4.1.2.1. Extracción líquido- líquido	60
4.1.2.2. Derivatización con ácido clorhídrico en metanol	61
4.2. IDENTIFICACION DE LAS GRASAS Y LOS ACEITES EN EL AGUA CRUDA Y TRATADA DEL MUNICIPIO DE PASTO	63
4.2.1. Identificación y cuantificación de los ácidos grasos en las Muestras analizadas	63
4.2.2. Determinación de los Triglicéridos	67
5. CONCLUSIONES	73
6. RECOMENDACIONES	75
7. BIBLIOGRAFIA	76
8. ANEXOS	79

## LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Acidos Grasos saturados e insaturados de las principales grasas Y aceites	37
Tabla 2. Tiempo Muerto	52
Tabla 3. Datos para la curva de Van Deemter	52
Tabla 4. Resolución de la mezcla de 11 estándares	55
Tabla 5. Parámetros estadísticos de la mezcla de 11 componentes	56
Tabla 6. Ecuaciones para las curvas de calibración y factores de linealidad	58
Tabla 7. Limites de Detección	59
Tabla 8. Reproducibilidad del proceso de extraccion con Hexano-diclorometano (80:20)	60
Tabla 9. Reproducibilidad y Repetibilidad del proceso de derivatización	62
Tabla 10. Porcentaje en proporcion de los acidos oleico, palmitico y linoleico En el aceite de oliva empleado	62
Tabla 11. Factor de respuesta para los 10 componentes	64
Tabla 12. Acidos grasos presentes en las muestras analizadas	65
Tabla 13. Porcentaje en moles de cada ácido graso en las posiciones 1-3 y 2 de los triglicéridos	68
Tabla 14. Posición de los ácidos grasos individuales en los triglicéridos de Algunas grasas y aceites naturales	69

## LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Planta de Tratamiento Centenario	24
Figura 2. Planta Tratamiento Mijitayo	25
Figura 3. Planta de Tratamiento San Felipe	26
Figura 4. Estructura general de los triglicéridos	35
Figura 5. Acido Palmitico	38
Figura 6. Esquema General de la configuración de ácidos grasos <i>Cis y trans</i>	38
Figura 7. Configuración de un ácido graso poliinsaturado	39
Figura 8. Derivados de ácidos grasos	41
Figura 9. Esterificación de ácidos grasos	42
Figura 10. Diagrama de flujo del proceso de análisis de grasas y aceites	47
Figura 11. Toma de Muestras	50
Figura 12. Curva de Van Deemter	53
Figura 13. cromatograma de la mezcla de estándares de 11 componentes	54
Figura 14. Curvas de calibración para los 11 componentes	57
Figura 15. Señal ruido y limite de detección para la mezcla de estándares	59
Figura 16. Cromatograma de la derivatización del aceite de oliva	61
Figura 17. Cultivos y actividades agrícolas a la orilla de la quebrada Mijitayo	70

## LISTA DE ANEXOS

	Pág
Anexo A. cromatograma de la mezcla de n- parafinas (C5-C15) a un Flujo de 1mL/min	79
Anexo B. Composición de la muestra de referencia	80
Anexo C. Cromatogramas con los tiempos de retención de los compuestos identificados en las muestras analizadas	81
Anexo D. Cálculos de las concentraciones de los ácidos grasos para las muestras analizadas	83
Anexo E. Tablas de los datos para la cuantificación de las muestras de agua cruda y agua tratada	87
Anexo F. Determinación de los triglicéridos con numero de carbonos equivalente a 42 (ECN 42)	101
Anexo G. Espectros de masas de los cinco ácidos encontrados en el agua Tratada en la planta de tratamiento de Centenario	105
Anexo H. Fragmentaciones de los metil ésteres saturados e insaturados	110

## LISTA DE ABREVIATURAS

GC: Cromatografía de Gases  
GC/MS: Cromatografía de Gases acoplado a espectrometría de masas  
FAME,s: Fatty acids metil ester  
EMPOPASTO: Empresa de Obras sanitarias de Pasto  
NTC: Norma Técnica colombiana  
FID: Detector de ionización de llama  
USP: United states pharmacopeal  
AG: Acido graso  
AGI: Acido graso insaturado  
AGS: Acido graso saturado  
ECN: Numero equivalente de carbono

## RESUMEN

Se realizó la identificación de grasas y aceites en el agua potable del municipio de Pasto empleando como técnica de análisis la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). Para la estandarización y validación del método primeramente se evaluaron las condiciones cromatográficas empleando como patrones ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES), gas butano y n-parafinas C<sub>5</sub> – C<sub>15</sub>. Entre los parámetros evaluados están: programación de temperatura, tiempo muerto, flujo óptimo y resolución de la columna. Después de estandarizadas las condiciones cromatográficas se procedió a evaluar la extracción líquido-líquido, para la cual se empleó aceite de oliva comercial como patrón y una mezcla de hexano-diclorometano (80:20) como solvente. Los porcentajes de recuperación, utilizando el método de partición-gravimetría, fueron en promedio del 94.2%, esto indica que el método es apropiado para extraer este tipo de sustancias. Para el paso siguiente, la evaluación del proceso de derivatización, se utilizó ácido clorhídrico en metanol al 5% v/v como agente derivatizante y aceite de oliva como patrón; los ésteres metílicos formados se analizaron por GC/MS. La precisión en los tiempos de retención fue buena al igual que la recuperación de los ácidos grasos del aceite.

Con las condiciones estandarizadas se procedió a la toma de muestras en las plantas de tratamiento de Centenario, Mijitayo y San Felipe y en la red de distribución del barrio Navarrete. Después de realizados los procesos de extracción y derivatización de las grasas y los aceites, se procedió al análisis por GC/MS y se identificaron los siguientes ácidos grasos: esteárico, palmítico, palmitoleico, oleico y linoleico, los cuales son comunes en las grasas de vaca, leche, cerdo, cabra y grasas de semillas; y en los aceites de palma, oliva, linaza, raíz de valeriana y cilantro. Estas grasas y aceites son los posibles compuestos que están presentes en el agua del municipio de Pasto.

## ABSTRACT

It was carried out the identification of fats and oils in the drinkable water of the Pasto city using as analysis technique the gases chromatography coupled to masses spectrometry (GC/MS). For the standardization and validation of the method, firstly the chromatography conditions were evaluated using as patrons fatty acids methylic esters (FAMEs), butane gas and n-paraffins C5 - C15. Among the evaluated parameters it be had: programming of temperature, time out, optimum flow and resolution of the column. After having standardized the chromatographic conditions it was proceeded to evaluate the liquid-liquid extraction, for which commercial olive oil was used as pattern and a hexane-dichloromethane mixture (80:20) as solvent. The recovery percentages, using the method of gravimetry-partition, were on the average of 94.2%, this indicates that the method is appropriate to extract this type of substances. For the following step, the evaluation of the derivatization process, hydrochloric acid in methanol 5% v/v was used as derivatizant agent and olive oil as pattern; the produced methylic esters were analyzed by GC/MS. The precision in the times of retention was good, as too the recovery of the fatty acids of the oil.

With the standardized conditions it was proceeded to the taking of samples in the treatment plants of Centenario, Mijitayo and San Felipe and in the net of distribution of the Navarrete neighborhood. After having carried out the extraction and derivatización processes of the fats and the oils, it was proceeded to the analysis by GC/MS and it was identified the following fatty acids: stearic, palmitic, palmitoleic, oleic and linoleic, which are common in fats of cow, milk, pig, goat and fat of seeds; and in oils of palm, olive, linseed, valerian's root and cilantro. These fats and oils are the possible compounds that are contaminating the water of Pasto city.

## INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso natural vital e indispensable, pues desempeña un papel primordial para el desarrollo de los seres vivos y el medio ambiente. Su naturaleza fisicoquímica, así como su abundancia y distribución hacen que este recurso sea la base de la vida; y que este ligada a todas las actividades que el ser humano realiza<sup>1</sup>.

A pesar de la enorme importancia de este recurso para el desarrollo del hombre, ha sido él su principal causante de contaminación. Muchos de los contaminantes del agua son compuestos orgánicos que se encuentran disueltos o dispersos en ella, entre los que se encuentran diversos productos químicos tales como aceites, grasas, breas, tinturas, fenoles, pinturas, herbicidas, insecticidas, entre otros. Estos contaminantes provienen especialmente de desechos domésticos, agrícolas, industriales y de la erosión del suelo. Solo en las últimas décadas se ha tomado conciencia de la conservación de este preciado líquido, debido a la disminución de los recursos hídricos en todo el planeta<sup>2</sup>.

En los análisis que se han realizado en el agua que abastece el sistema de acueducto de la ciudad de Pasto, por parte de la Empresa de Obras Sanitarias del municipio de Pasto (EMPOPASTO E.S.P) se han encontrado grasas y aceites. Este tipo de compuestos, de acuerdo al decreto 475 de 1998 del ministerio de salud, que rige las normas de calidad del agua potable deben estar ausentes. Es por ello que EMPOPASTO E.S.P en convenio con la universidad de Nariño en su esfuerzo por mejorar la calidad del agua potable han realizado este trabajo con el fin de determinar el origen de este tipo de sustancias y definir las alternativas de solución tendientes a su remoción o eliminación.

Las grasas y los aceites son compuestos orgánicos constituidos principalmente por ácidos grasos de origen animal y vegetal. Algunas de sus características mas representativas son baja densidad, poca solubilidad en agua, baja o nula biodegradabilidad. Si no son controladas se acumulan en el agua formando natas en la superficie del liquido. Su efecto en los sistemas de aguas residuales o en las aguas naturales se debe a que interfieren con el intercambio de gases entre el agua y la atmósfera. No permiten el libre paso del oxígeno hacia el agua, ni la salida de dióxido de carbono del agua hacia la atmósfera, en casos extremos pueden llegar a producir la acidificación del agua junto con bajos niveles de oxígeno disuelto, además de interferir con la penetración de la luz solar<sup>3,4</sup>.

---

<sup>1</sup> CATALAN J. Química del Agua.1990

<sup>2</sup> CEPIS 2004

<sup>3</sup> ARCE A. Serie autodidactica de la medición de la calidad del agua.1998

<sup>4</sup> ROMERO J. Acuiquímica. 1996

De no controlarse estos compuestos, este fenómeno se podría presentar en el agua potable del municipio lo cual conlleva a un tratamiento especial para eliminar estos contaminantes, lo que aumentaría el costo de potabilización del agua.

Para esta investigación inicialmente se realizó la toma de muestras a la entrada y salida de agua en las plantas de tratamiento de Centenario, Mijitayo y San Felipe, esto con el fin de evidenciar si las grasas y aceites provienen de las quebradas o ríos o si las plantas de tratamiento están aportando con este tipo de contaminantes. Así mismo se tomaron muestras en la red de distribución del barrio Navarrete. Se realizó la extracción de los contaminantes con una mezcla de hexano-diclorometano (80:20); seguido de una derivatización con ácido clorhídrico en metanol al 5% v/v; para la identificación y cuantificación de los ésteres metílicos formados se empleó la técnica de GC y GC/MS. El método descrito corresponde a un análisis indirecto, en el cual se analizan los ésteres provenientes de los ácidos grasos formados en la hidrólisis de las grasas y los aceites.

Con este trabajo se logró estandarizar y validar un método para analizar y cuantificar ácidos grasos en aguas naturales. Como resultado de la investigación se identificaron las posibles grasas y aceites que están presentes en el agua del Municipio de Pasto.

## 1. ANTECEDENTES

En la ciudad de Pasto desde el año 2003, se han encontrado concentraciones de grasas y aceites en el agua cruda y tratada. La Empresa de Obras Sanitarias de Pasto EMPOPASTO E.S.P, quien es la responsable de la producción del agua potable en el municipio, ha reportado hasta la fecha cantidades que oscilan en un rango de 0.05 a 5.6 mg/L de grasas y aceites.

La determinación de este parámetro fisicoquímico de control de calidad para el agua de abastecimiento público se realiza con la técnica de partición gravimetría empleando como solvente hexano-diclorometano, con este método no se mide una cantidad absoluta de una sustancia específica y lo que se hace es determinar cuantitativamente grupos de sustancias con características físicas similares sobre la base de su solubilidad común en hexano-diclorometano.<sup>5</sup>

No se encontraron reportes de agua para abastecimiento público que esté contaminada con grasas y/o aceites ya que este tipo de contaminantes generalmente se presentan en aguas residuales<sup>6</sup>.

Para el análisis de grasas y aceites se realiza una hidrólisis ácida, generalmente se emplea ácido sulfúrico<sup>7</sup> o ácido clorhídrico para obtener los ácidos grasos libres. Se realiza luego una derivatización con metanol en medio ácido<sup>8</sup> o metanol en medio básico<sup>9</sup> y se analizan los ésteres metílicos por cromatografía de gases, cromatografía líquida o una de estas técnicas acopladas a espectrometría de masas<sup>10</sup>.

---

5. APHA, AWWA. WPCF. Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales.1992.

6.ECKENFELDER Jr. *et al.* Wastewater, Chem Eng. Vol 92. 1985.

7. MONDELLO L. Fast GC for the analysis of fats and oils. Journal Sci. 2003.

8. HARTMAN L. Oil Chem Soc. 1965.

9. GLASS R. Lipids 6. 1971.

10. PITTS J, THOMPSON I. J Forensic Sci.2003.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO DE LA CIUDAD DE PASTO.\*

Para el abastecimiento de agua a la ciudad de Pasto, se cuenta con tres sistemas de tratamiento denominados Centenario, Mijitayo y San Felipe, cuyas capacidades instaladas son de 1.100 L/s., 210 l/s., y 50 L/s respectivamente. En la actualidad la Planta Centenario abastece al 79.93% de la población del sector urbano, en tanto que Mijitayo surte al 15,85% y el 4.22% es cubierto por la Planta San Felipe.

Planta Centenario. Fue construida en el año 1939 con ampliaciones posteriores en los años 1957, 1969, 1972, 1975, 1985 y 1990 con cobertura a cinco zonas de presión denominadas Zona Alta, Zona Baja, Zona Media, Cujacal Alto y Cujacal Bajo. Tanto la zona alta como los Cujacales son alimentados por bombeo desde la Planta Centenario y las demás zonas se abastecen por gravedad.

El sistema Centenario aprovecha los caudales aportados por el Río Buesaquillo denominado también Río Pasto, fuente que recibe los aportes de las quebradas el Barbero, Las Tiendas, Dolores, Purgatorio, La Chorrera, Tejar y las Minas, aguas arriba de la obra de captación ubicada en el sector de Buesaquillo a la altura del barrio Popular. Igualmente recibe los aportes de la quebrada Lope. La siguiente figura ilustra la planta Centenario.

---

\* . Fuente: Empresa de Obras Sanitarias de Pasto, EMPOPASTO E.S.P. 2005

Figura 1. Planta de tratamiento Centenario



Planta Mijitayo. Se construyó en el año 1952 con intervenciones en los años 1965, 1969 y 1985 para su optimización y ampliación. El sistema es alimentado por las quebradas Mijitayo y Chapal.

Los sistemas anteriormente mencionados Centenario y Mijitayo son adicionalmente alimentados por el sistema de trasvase de Río Bobo que aporta los caudales complementarios necesarios para suplir el déficit de agua que presentan en época de verano las fuentes tradicionales. Río Bobo se construyó en el año de 1994 y entró en operación a partir de 1995 con una capacidad instalada de 616 L/s. El sistema de Río Bobo toma el caudal requerido desde el embalse del mismo nombre y por medio de bombeo lo impulsa hasta el tanque de control de Cruz de Amarillo de donde es conducido a las Plantas de Tratamiento por gravedad. En la figura 2 se muestra la planta Mijitayo.

Figura 2. Planta de tratamiento Mijitayo



Planta San Felipe. Se construyó entre los años 2000 y 2001 entrando en operación a finales del mes de diciembre de 2001 con una capacidad instalada de 50 L/s captando las aguas de la quebrada Mijitayo a una cota de 2915 msnm. El objetivo de la Planta San Felipe es el de suministrar agua por gravedad a los sectores alimentados por bombeo desde la Planta Mijitayo, entre los que se mencionan: Zona Alta Mijitayo, Altamira, Villa de los Ríos, La Cruz, La Palma y Frigovito. La siguiente figura ilustra la planta San Felipe.

Figura 3. Planta de tratamiento San Felipe



### 2.1.1 Tratamiento del Agua.<sup>11</sup>

#### Calidad del agua tratada

El agua para consumo humano no debe contener microorganismos patógenos, ni sustancias tóxicas o nocivas para la salud. Por tanto, el agua para consumo debe cumplir los requisitos de calidad microbiológicos y fisicoquímicos exigidos en el Decreto 475 de marzo 10 de 1998, expedido por el Ministerio de Salud o en su defecto, el que lo reemplace. La calidad del agua no debe deteriorarse ni caer por debajo de los límites establecidos durante el periodo de tiempo para el cual se diseñó el sistema de abastecimiento.

Estudios de tratabilidad. Para la selección de los procesos de tratamiento previos o paralelos al diseño de una planta, deben realizarse ensayos en el laboratorio siendo obligatorio entre estos, el Ensayo de Jarras; y posteriormente, si se justifica, realizar ensayos en planta piloto para determinar el tratamiento al que debe ser sometida el agua. Para los niveles bajo y medio de complejidad no se recomienda la realización de los ensayos de planta piloto, a menos que se estudie un nuevo proceso o variables desconocidas que no pueden ser analizadas en el laboratorio. La prueba de jarras es obligatoria para cualquier nivel de complejidad, no solamente para los estudios de tratabilidad en el proceso de diseño, sino también diariamente, durante la operación de la planta, y cada vez que se presenten cambios en la calidad del agua. Los ensayos de laboratorio y planta piloto deben emplearse para determinar:

1. El grado de comportamiento de ciertos procesos de tratamiento.
2. Los criterios básicos de diseño para la planta a escala real (dosificaciones de los productos químicos, necesidad de mezcla y floculación, velocidad de filtración, tiempos de contacto, entre otros aspectos).

Estos ensayos deben realizarse con todas las muestras tomadas por lo menos un ciclo hidrológico anual, con el fin de analizar todas las posibles calidades de agua cruda que se puedan presentar; es decir, cambios en la turbiedad, color o demanda de cloro, temperatura, pH, alcalinidad, contenido de algas, hierro y manganeso, cambios en el sabor y olor, entre otros.

#### Ensayos de laboratorio

Prueba de Jarras. Estas pruebas consisten en simular en vasos de precipitado o jarras, el proceso de coagulación-floculación que se producirá en la planta de tratamiento y evaluar distintos parámetros durante o al final de los ensayos para caracterizar su funcionamiento. Este procedimiento debe realizarse de acuerdo a

---

<sup>11</sup> NORMAS RAS 2000. <http://www.cra.gov.co/gc/www/resources/tituloc.pdf>

la Norma Técnica Colombiana NTC 3903, su objetivo básico es la determinación de los coagulantes y auxiliares de coagulación (metálicos o prepolimerizados), sus dosis óptimas, secuencia de adición de los mismos para una turbiedad, un color, un pH, una temperatura, una alcalinidad y una dureza dados. Estas pruebas deben repetirse no menos de 10 veces para distintas condiciones del agua cruda. Los coagulantes que pueden emplearse para estos ensayos son los coagulantes metálicos, como sales de aluminio, sales de hierro y compuestos varios, como el carbonato de magnesio, los coagulantes con sales de aluminio son el sulfato de aluminio, sulfato de aluminio amoniacal y aluminato de sodio, los coagulantes con sales de hierro son el cloruro férrico, el sulfato férrico y el sulfato ferroso; y los polímeros orgánicos e inorgánicos, como los polímeros de hierro (III) y aluminio, policloruro de aluminio y derivados del almidón y la celulosa.

### Pretratamiento

Generalmente es necesario realizar uno o varios pretratamientos al agua cruda con el objetivo de dejarla en condiciones óptimas para el tratamiento subsecuente. Entre los pretratamientos que pueden emplearse están los siguientes:

Remoción del material flotante. Debe emplearse cuando se requiere retirar del agua el material sobrenadante, para que posteriormente pueda ser tratada por los procesos convencionales. Para estos procesos preparatorios pueden utilizarse: rejillas, mallas, y trampas de grasa y aceite. Deben usarse cuando exista un exceso de material suspendido en el agua, en especial arcillas y algas que pueden interferir en los subsiguientes procesos de tratamiento. Entre los procesos preliminares que pueden emplearse, se tienen: desarenadores, presedimentadores con o sin aplicación de químicos, prefiltros y microtamices.

Procesos de oxidación. Esta oxidación puede ser por aeración u oxidación química. Para la aeración pueden emplearse: las bandejas de coque y la aeración forzada; Esta última a su vez se divide en inyección de aire comprimido y aeración mecánica.

Coagulación – floculación. Cuando el agua a tratar contiene partículas muy finas ó en estado coloidal se recurre al agregado de un producto químico, dando lugar a un proceso que se llama coagulación-floculación por el cual las partículas coloidales se aglutinan en pequeños flocs, de mayor peso que puedan sedimentar con mayor facilidad. Este proceso se usa para:

- Remoción de turbiedad orgánica o inorgánica que no puede sedimentar con rapidez
- Remoción de color

- Eliminación de bacterias, virus y organismos patógenos susceptibles de ser separados por coagulación
- Eliminación de sustancias productoras de sabor y olor

Las aguas superficiales al escurrir por el terreno disuelven sales las cuales se ionizan. Las partículas coloidales tiene un gran poder de absorción absorbiendo iones del medio circundante (es una propiedad características de los coloides) dando como consecuencia partículas cargadas eléctricamente. Las partículas coloidales que producen la turbidez y color de las agua superficiales están cargadas negativamente, pudiéndose representar dicha partícula como una esfera con cargas negativas rodeadas por una capa constituida por iones positivos que se mueven solidariamente con la partícula.

El proceso de coagulación-floculación se realiza en la planta de potabilización entre procesos separados:

1. Adición de los coagulantes
2. Dispersión de los coagulantes
3. Aglutinación o aglomeración de partículas

l) Los coagulantes metálicos sulfato de aluminio o sulfato ferroso deben aplicarse en solución. La solución puede prepararse en dos formas:

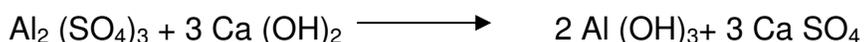
- a) Dosificando el polvo en forma continua en un tanque de hidratación desde donde la solución se lleva al punto de aplicación, se denomina dosificación en seco.
- b) Preparando la solución previamente y dosificándola por gravedad o por bombeo en su punto de aplicación, lo que se suele llamar dosificación húmeda.

Las reacciones que se producen con el agregado del sulfato de aluminio son (reacciona con las sustancias alcalinas):

a. Reacción entre el sulfato de aluminio y el bicarbonato de calcio.



b. Reacción entre el sulfato de aluminio y la cal.



El principal componente de la reacción es el hidróxido de aluminio. El hidróxido de aluminio se disuelve, dando para valores de pH mayores de 7 aluminatos solubles  $\text{AlO}^{3--}$  y para valores menores de 7  $\text{Al}^{+++}$ . El hidróxido de aluminio insoluble se

produce cuando son iguales las concentraciones de iones negativos y positivos, neutralizándose. El valor del pH en ese momento se llama punto isoeléctrico.

Los hidróxidos de aluminio insolubles precipitan, formando una masa esponjosa, Floc de barrido que atrapa en su caída a los coloides o partículas suspendidas, las cuales se ven forzadas a decantar, incorporadas dentro del precipitado que desciende. Esta forma de remoción de la turbiedad, llamada coagulación por barrido, es la que más frecuente se presenta en la planta, ya que en la práctica las dosis que se usan están por encima del límite de solubilidad de los hidróxidos de aluminio.

## II) Dispersión del coagulante

Básicamente existen dos tipos de coagulación, la de absorción-neutralización, en la cual los iones de  $Al^{+++}$  neutralizan las cargas de partículas (reducción de potencial z) y la de barrido, que se produce cuando hay precipitación de los hidróxidos de aluminio por sobresaturación de coagulante que atrapa e incorpora a los coloides en esta precipitación. La primera dura como máximo 1 segundo y la segunda se completa de 1 a 10 segundos.

Para estos tiempos resulta necesario dispersar el coagulante en la masa de agua en el menor tiempo posible, para lo cual es necesario efectuar una agitación violenta con dispersores de acción hidráulica o de acción mecánica.

## III) Aglomeración de partículas – Floculación

Una vez dispersados los coagulantes hay que producir una lenta agitación en el agua para permitir el crecimiento del floc. Este crecimiento es producido por el contacto entre partículas debido al gradiente de velocidad. Tres características esenciales definen la floculación.

- a) La forma de producir la agitación
- b) El gradiente de velocidad
- c) El tiempo de detención o permanencia "P".

Los objetivos que se persiguen con estas características son:

- 1º) Reunir los microflóculos para formar partículas mayores con peso específico superior al agua.
- 2º) Compactar el floc, disminuyendo su grado de hidratación para aumentar su peso y facilitar la sedimentación.

La velocidad con que se unen las partículas para formar el floc está determinada por el número de contacto entre las mismas en la unidad de tiempo. Este número de contactos en un punto determinado del fluido en movimiento es directamente

proporcional al gradiente de velocidad, a la concentración de partículas y al tamaño de las mismas. Por otra parte, según experiencias realizadas por Camp, la concentración del floc es inversamente proporcional al gradiente de velocidad y a la permanencia  $P$ , esto quiere decir que es posible variar el volumen del floc cambiando la energía que se le comunique a la masa líquida o la permanencia en el floculador. Al aumentar el gradiente de velocidad el floc se hace más pequeño pero a la vez más compacto, teniendo una mayor velocidad de sedimentación. Al contrario, el floc producido con baja velocidad de agitación o gradiente es grande y esponjoso y sedimenta con dificultad.

Clasificación de los floculadores. Según el tipo de energía usada para producir la agitación, los floculadores pueden clasificarse en hidráulicos y mecánicos. Los primeros, según el sentido del flujo se clasifican en: flujo horizontal y de flujo vertical. Los mecánicos son generalmente rotatorios de paletas, tanto en el eje horizontal como de eje vertical.

Floculadores hidráulicos: derivan su energía para la agitación de la masa líquida, de la carga de velocidad que el flujo adquiere al escurrir por un conducto. Consisten en tanques provistos de pantallas entre los cuales el agua circula con una velocidad fija, produciendo cierta turbulencia en cada cambio de dirección del flujo. En los primeros el flujo va y viene alrededor de los tabiques haciendo un giro de  $180^\circ$  al final de cada uno. En los segundos el flujo sube y baja en condiciones similares.

Floculadores mecánicos: Se entiende por floculadores mecánicos aquellos que requieren una fuente de energía externa que mueva un agitador en el tanque o serie de tanques. Los agitadores están constituidos por paletas que giran a baja velocidad y pueden ser de eje vertical o de eje horizontal. A mayor velocidad de giro, mayor energía entregada. Los agitadores pueden tener 2 o 3 paletas o travesaños unidos por una pieza central al eje. Cuando se usan agitadores de eje horizontal se requiere por lo general un pozo seco al lado del tanque de floculación para acomodar los motores que impulsan el sistema.

El defecto de los floculadores mecánicos es la facilidad con que se producen cortocircuitos. Por ésta causa, la permanencia en éste tipo oscila entre 15 y 45 minutos. Se diseñan siempre 2 o más cámaras, con gradientes de velocidad decrecientes.

Sedimentación . Una vez floculada el agua el problema radica en reparar los sólidos del líquido o sea las partículas coaguladas del medio en el cual están suspendidas. Esto se puede conseguir dejando sedimentar el agua, filtrándola o ejecutando ambos procesos a la vez. La sedimentación y la filtración, por lo tanto, deben considerarse como procesos complementarios. La sedimentación realiza la separación de los sólidos más densos que el agua y que tienen una velocidad de caída tal que pueden llegar al fondo del tanque sedimentador en el tiempo

económicamente aceptable. La filtración en cambio separa aquellos sólidos que tienen una densidad muy cercana a la del agua, o que han sido resuspendidos por cualquier causa y que por lo tanto no quedan removidos en el proceso anterior.

Clasificación de los procesos: Los procesos que deben llevarse a cabo en esta etapa del tratamiento del agua potable son la dosificación y la mezcla rápida. Una vez adicionados los coagulantes y auxiliares de la coagulación deben dispersarse rápida y homogéneamente en el cuerpo de agua, para lo cual deben emplearse las unidades de mezcla rápida. Estos equipos pueden ser hidráulicos o mecánicos. Entre las unidades hidráulicas de mezcla rápida que pueden usarse se encuentran el resalto hidráulico, los vertederos, los mezcladores estáticos y los difusores; entre las unidades mecánicas de mezcla rápida que pueden emplearse se encuentran los mezcladores mecánicos.

Desinfección. Es obligatorio en todos los niveles de confiabilidad, desinfectar el agua sin importar el tipo de tratamiento previo que se haya realizado para su potabilización.

Entre los procesos de desinfección que pueden realizarse esta la cloración, ozonación, desinfección con dióxido de cloro, con rayos ultravioleta. Para la desinfección por cloración, deben emplearse tanques de contacto. El tanque debe proporcionar el tiempo necesario que garantice la desinfección del agua. No se recomienda el uso de cloro gaseoso en plantas de tratamiento pequeñas. Para estas se recomienda el empleo de compuestos en estado sólido o líquido, como: cal clorada, hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio.

Aplicación de los desinfectantes

Cloración. La cloración puede ser empleada en los siguientes casos:

- Desinfección de las aguas.
- Control de olores y sabores
- Prevención del crecimiento de algas y microorganismos.

Ozonación. Se recomienda el uso del ozono ( $O_3$ ) en los siguientes casos:

- Para mejorar la calidad organoléptica (color, sabor, etc).
- Por su acción bactericida y virulicida.
- Para la oxidación de la materia orgánica.
- Para la oxidación de micro-contaminantes.
- Para el mejoramiento de la biodegradabilidad antes de un proceso de adsorción sobre el carbón activado granulado (CAG). No puede emplearse el ozono en aguas que contienen hierro o amoníaco.

Dióxido de cloro. Se recomienda su empleo para controlar el sabor y el olor y para destruir sustancias orgánicas.

Rayos ultravioleta. Se recomienda este tipo de desinfección cuando el contenido de materia orgánica y la turbiedad del agua son muy bajas.

### Ensayos previos

Debe realizarse ensayos a nivel de laboratorio para determinar la dosis óptima de desinfectante y las condiciones adecuadas de operación. Para la cloración la dosis óptima de cloro debe determinarse controlando la producción de trihalometanos (THMs). La cantidad de cloro depende del grado de contaminación del agua.

### Estabilización - ablandamiento

El agua tratada a la salida de la planta no debe presentar propiedades corrosivas con respecto a las tuberías del sistema de distribución y abastecimiento a la entrada de las casas. El pH del agua debe acercarse al pH de saturación, si es necesario hacer uso de inhibidores que a la vez pueden ayudar a proteger la red, éstos pueden utilizarse si son económicamente factibles. Para proteger las tuberías de los agentes corrosivos presentes puede ajustarse la composición del agua, pH, concentración en iones de calcio y la alcalinidad al valor del equilibrio de saturación del carbonato de calcio para una temperatura del agua dada. El agua ideal debe tener una dureza total entre 40 mg/L y 60 mg/L de equivalente de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), a un pH y alcalinidad que alcance las condiciones de saturación y una dureza de magnesio de no más que 36 mg/L para minimizar la formación de hidróxido de magnesio a temperaturas elevadas. Por medio del ablandamiento del agua debe reducirse el contenido de minerales disueltos, particularmente calcio y magnesio que son los mayores impulsores de la dureza del agua, otros iones que pueden producir dureza son el hierro, manganeso, estroncio, bario, zinc y aluminio, de cualquier modo, estos iones no están presentes en cantidades significantes. Los beneficios que deben obtenerse con el ablandamiento del agua son los siguientes:

- Control del crecimiento biológico.
- Un ligero grado de remoción de trazas orgánicas.
- Economía de jabón y detergentes.
- Mejor lavado de ropa y utensilios domésticos.
- Disminución de incrustaciones en artefactos domésticos.
- Mejor cocción y preparación de alimentos.
- Si se opera en forma correcta, puede prevenir la corrosión.
- Incremento en la eficacia de la filtración.

Control de Sabor y Olor. Una combinación de control de la fuente, monitoreo y tratamiento debe realizarse para minimizar el contenido de trazas orgánicas y actividad biológica que ofrecen deficiencia en la calidad del agua del efluente de la planta. Los compuestos químicos que contienen el elemento carbón o trazas orgánicas, a excepción de cianuros y carbonatos deben clasificarse en los siguientes grupos para poder tomar medidas correctivas:

1. Compuestos orgánicos que causan problemas de olor.
2. Compuestos químicos orgánicos sintéticos.
3. Precursores que reaccionan con desinfectantes para producir subproductos de desinfección, como acetona, resorcinol y ácidos húmicos y fúlvicos. Estos deben ser medidos indirectamente por medio de análisis de potencial de formación de trihalometanos.
4. Compuestos orgánicos naturales, a los cuales no se les da importancia de los problemas toxicológicos que puedan producir.

El agua debe tratarse por medio del proceso más adecuado de acuerdo a las características del afluente, el nivel de complejidad del sistema y los costos que implica para alcanzar los niveles de calidad exigidos. Los procesos que deben analizarse para el control organoléptico son la Aeración, adsorción sobre carbón activado granular, adsorción sobre carbón activado pulverizado y oxidación química. Los oxidantes que pueden utilizarse como medida de tratamiento del sabor y el olor pueden ser el cloro, el ozono, el permanganato de potasio, el dióxido de cloro, el peróxido de hidrógeno, el sulfato de cobre y el carbón activado extrusado.

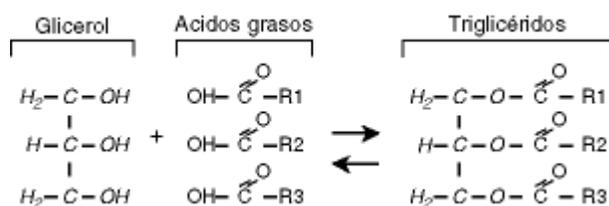
Desferrización y Desmanganetización. El agua que contiene hierro y causa problemas de color, favoreciendo el crecimiento de bacterias autotróficas en los sistemas de distribución por lo cual debe llevarse un control sobre estos elementos, ya que pueden presentar pérdidas por fricción, producir malos olores y obstruir boquillas, líneas y válvulas. Los valores admisibles de hierro total presente en el agua es 0.3 mg/L y para el manganeso es 0.1 mg/L, respectivamente se recomiendan valores inferiores a 0.2 mg/L y preferiblemente 0.05 mg/L. Con ayuda del contenido de dióxido de carbono en el agua debe producirse dióxido de manganeso adicional para favorecer la absorción del manganeso que pueda estar en ésta. El manganeso también es absorbido en hidróxido férrico o los hidróxidos hidratados, en los cuales es expresada como hidróxido férrico y es dependiente del pH, aumentando con el incremento de éste y marcadamente luego de que se alcanza un valor de 8.2.

El rango de pH más apropiado para la precipitación de hidróxido férrico u óxidos férricos por oxigenación debe encontrarse en el rango más favorable de pH para la absorción de manganeso o a la vez hidróxidos férricos u óxidos férricos y dióxido de manganeso.

## 2.2 GRASAS Y ACEITES

Las grasas y los aceites son ésteres de ácidos grasos superiores con glicerol, comúnmente llamados triglicéridos. Una de las principales diferencias entre grasas y aceites es que las grasas son sólidas o semisólidas a temperatura ambiente mientras los aceites son líquidos. En la figura 4 se indica la estructura general de los triglicéridos.

Figura 4. Estructura general de los triglicéridos



Los radicales (R1, R2, y R3) consisten de una cadena de carbonos de longitud y saturación variable.

Puesto que los aceites y las grasas son ésteres del glicerol, sus diferencias pueden deberse a los ácidos con los cuales esta esterificado. Estos ácidos son saturados, de los cuales los más importantes son los ácidos láurico, palmítico y esteárico. Los ácidos grasos no saturados mas importantes tienen 18 átomos de carbono y generalmente un doble enlace en la mitad de la cadena, si hay otros dobles enlaces, estos quedan mas alejados del grupo carbonilo; entre los de mayor interés están el oleico, linoleico, linolénico y oleoesteárico.

Las grasas y los aceites no son una mezcla de glicéridos simples que tienen los tres grupos hidroxilos esterificados con el mismo ácido graso. Son principalmente una mezcla de glicéridos mixtos, en que cada molécula de glicerol se esterifica con más de un ácido graso. En las grasas vegetales los diferentes ácidos grasos no están totalmente distribuidos al azar. La hidrólisis enzimática parcial ha demostrado que los grupos hidroxilos secundarios de las moléculas de glicerol están esterificadas con ácidos C<sub>18</sub> no saturados en la medida en que están disponibles, los grupos hidroxilos primarios se esterifican con los ácidos grasos restantes, y la distribución es estadística. Los glicéridos simples ocurren en cantidad solo si más de dos tercios de los grupos acilos son de más de una clase.

En las grasas de los mamíferos, los ácidos grasos parecen estar distribuidos al azar, salvo en que la cantidad de glicéridos que son sólidos a temperatura corporal no exceden de la cantidad que hiciera que la mezcla de grasas fuera sólida.<sup>12</sup>

2.2.1 Ácidos grasos. Los ácidos grasos más comunes en tejidos de plantas son compuestos C<sub>16</sub> y C<sub>18</sub> de cadena lineal que tienen de cero a tres enlaces dobles en una configuración cis (o Z). Los ácidos grasos también son abundantes en los tejidos animales, estos tienen una longitud de cadena mas larga y van desde seis enlaces dobles cis separados por grupos metileno. En la siguiente tabla se muestran los principales ácidos grasos constituyentes de la mayoría de grasas y aceites.

---

<sup>12</sup> FINAR I. Química Orgánica I. Madrid. 1974

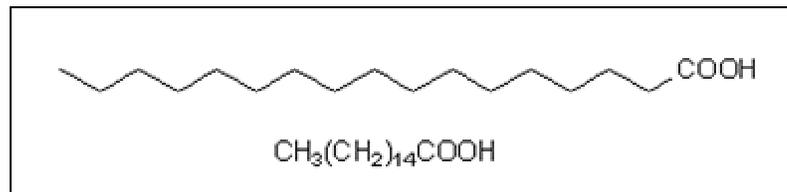
Tabla 1. Ácidos grasos saturados e insaturados de las principales grasas y aceites.<sup>13</sup>

Nombre Común	Nombre sistemático	Formula	Procedencia
Butírico	n-Butanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	Manteca de vaca
Caproico	n-Hexanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH	Manteca de vaca, aceite de coco, grasa de babassú, aceite de palma
Caprílico	n-Octanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH	Manteca de vaca, aceite de coco, aceite de palma, aceite de semillas
Cáprico	n-Decanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH	Manteca de vaca, aceite de ballena, aceite de coco
Láurico	n-Dodecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH	Aceite de semilla de laurel, grasas de leche, aceite de coco
Mirístico	n-Tetradecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH	Grasa de nuez moscada, grasa vegetal y en la mayor parte de los animales
Palmítico	n-Hexadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH	Manteca de cerdo, prácticamente en todas las grasas animales y vegetales
Esteárico	n-Octadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH	Sebo de carnero, generalmente siempre que esté presente el ácido palmítico
Araquídico	n-Eicosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH	Aceite de cacahuete, aceite de pescado
Behénico	n-Docosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> COOH	Aceite de cacahuete, colza y mostaza
Lignocérico	n-Tetracosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> COOH	Parafina de alquitrán de hulla, aceite de cacahuete, en la mayor parte de las grasas naturales,
Cerótico	n-Hexacosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>24</sub> COOH	Cera de abejas, cera de lino, cera de lana
Montánico	n-Octacosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>26</sub> COOH	Cera de abejas, la mayor parte de las ceras
Melísico	n-Triacontanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>28</sub> COOH	Cera de abejas, diversos vegetales, insectos y ceras minerales
Laceroico	n-Dotriacontanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>30</sub> COOH	Cera de goma, ceras naturales
Caproleico	9-Decenoico	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	Manteca de vaca, grasas de leche humana, de cabra, aceite de ballena
Miristoléico	9-Tetradecenoico	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de ballena, aceite de tiburón, grasa de leche
Palmitoleico	9-Hexadecenoico	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Grasa de leche, aceites de semilla y marinos
Petroselinico	6-Octadecenoico	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de semillas de perejil, cilantro
Oleico	9-Octadecenoico	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de oliva, grasa de cerdo, la mayoría de las grasas y aceites
Vaccénico	11-Octadecenoico	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Mantequilla, grasas de buey, grasa de carnero, manteca de cerdo
Gadoleico	9-Eicosenoico	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de hígado de bacalao, muchos aceites marinos y de pescados
Erúxico	13-Docosenoico	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de mostaza y de colza
Linoleico	9,12-Octadecadienoico	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de linaza, la mayor parte de las grasas de semillas
Hiragónico	6,10,14-Hexadecatrienoico	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de sardina
Linoléico	9,12,15-Octadecatrienoico	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de lino, de nueces, de soja y de semillas
Eleosteárico	9,11,13-Octadecatrienoico	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Aceite de tung, aceite de semillas
Araquidónico	5,8,11,14-Eicosatetraenoico 4,8,12,16-Eicosatetraenoico	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Hígado, lecitina de huevos, órganos glandulares

<sup>13</sup>.MEHLENBACHER V.C. Análisis de grasas y aceites. Enciclopedia de la Química Industrial. 1960

2.2.1.1 Ácidos grasos saturados. Los ácidos grasos saturados constituyen del 10-40% de los ácidos grasos totales en la mayoría de los lípidos naturales. Los ácidos grasos saturados más abundantes en animales y plantas son los compuestos de cadena lineal con 14, 16 y 18 átomos de carbono. En la figura 5 se muestra la estructura del ácido palmítico, principal constituyente del aceite de palma y de la mayoría de aceites y grasas.

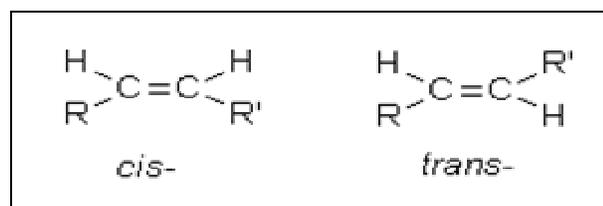
Figura 5. Ácido Palmítico



Estos ácidos grasos (mas de 12:0) tienen puntos de fusión relativamente altos. En las grasas animales y aceites vegetales, tales como el aceite de palma estos componentes son especialmente abundantes y tienden a ser sólidos a temperatura ambiente.

2.2.1.2 Ácidos grasos monoinsaturados. Estos ácidos grasos contienen un doble enlace, constituyen una proporción alta de los ácidos grasos totales en la mayoría de los lípidos naturales. Normalmente el enlace doble es de configuración *cis* - o *Z*, aunque algunos de estos ácidos tienen configuración *trans*. La figura 6 muestra la configuración *cis* y *trans* de los ácidos grasos monoenoicos.

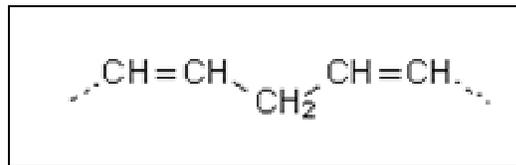
Figura 6. Esquema general de la configuración de ácidos grasos *cis* y *trans*



Los ácidos grasos monoenoicos más abundantes en animales y plantas son de cadena lineal con 16 o 18 átomos del carbono, pero se han encontrado ácidos de 10 a 36 átomos de carbono.

2.2.1.3 Ácidos grasos poliinsaturados. Los lípidos de organismos superiores contienen cantidades apreciables de ácidos grasos poliinsaturados con dos o más dobles enlaces de configuración *cis* separados por un solo grupo metileno tal como se muestra en la figura 7.

Figura 7. Configuración de un ácido graso poliinsaturado



En las plantas superiores, el número de enlaces dobles en los ácidos grasos raramente excede de tres, pero en algas y animales pueden haber seis. En la naturaleza se encuentran dos familias principales de ácidos grasos poliinsaturados, las cuales se derivan de la biosíntesis de los ácidos linoleico (9-*cis*,12-*cis*-octadecadienoico) y alfa-linolénico (9-*cis*,12-*cis*,15-*cis*-octadecatrienoico)<sup>14</sup>.

### 2.3 EXTRACCIÓN LIQUIDO – LIQUIDO

Para extracciones líquido-líquido, donde una fase es orgánica (Org ) y otra es acuosa (aq) se pueden utilizar las siguientes ecuaciones:

La fracción de soluto presente en la fase acuosa  $q_{aq1}$  en la extracción número 1 es:

$$q_{aq1} = V_{ag} / (D_{vorg} + V_{ag}) \quad \text{Ecuación 1}$$

$$q_{org1} = 1 - (q_{aq})_1 = D_{vorg} / (D_{vorg} + V_{ag}) \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde D es una relación de distribución más simple que se puede describir como:  
 $S_{aq} \square S_{org}$

$$D = (S_{org})_{tot} / (S_{aq})_{tot} \quad \text{Ecuación 3}$$

$S_{aq}$  soluto en la fase acuosa en concentración molar y  $S_{org}$  soluto en la fase orgánica en concentración molar.

<sup>14</sup> CHRISTIE W.W. Gas Chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acids.1998

Se pueden observar algunas desviaciones de la ley de distribución, cuando se producen otro tipo de equilibrios como de disociación, dimerización o formación de complejos con alguno de los solventes o con otro componente.

Las extracciones líquido-líquido suelen hacerse con un embudo de decantación o separación; los dos líquidos inmiscibles se colocan en el embudo y se agita para aumentar la superficie de contacto entre las dos fases, luego se deja que los líquidos se separen y el de mayor densidad queda en la parte inferior del embudo<sup>15</sup>.

## 2.2. ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS

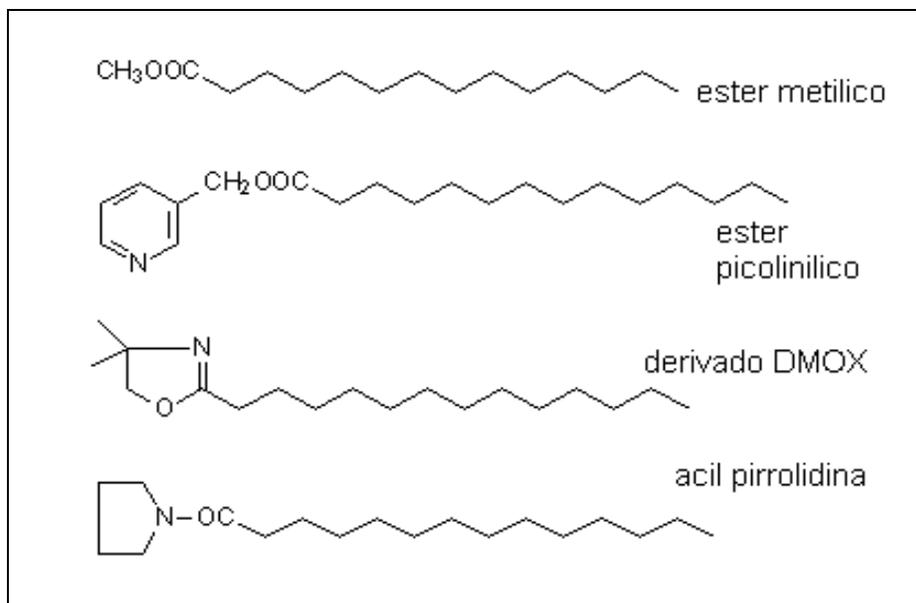
Es esencial tener métodos rápidos y simples para la determinación de las estructuras de ácidos grasos, en particular, los nuevos métodos que implican la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). En esta técnica se requieren procedimientos simples de derivatización que utilizan reactivos fácilmente disponibles. Es de particular importancia que en GC/MS no es necesario aislar los componentes en una forma pura, como puede ser requerido por otros métodos espectroscópicos o por procedimientos que utilizar agentes químicos degradantes. Los ácidos grasos son analizados generalmente por GC como derivados de ésteres metílicos.

En el procedimiento más útil para la determinación de la estructura, se derivatiza el grupo carboxilo con un reactivo que contiene un átomo de nitrógeno, de tal manera que cuando la molécula se ioniza en el espectrómetro de masas, el átomo de nitrógeno lleva la carga, y así se reduce al mínimo la ionización y la migración del enlace doble; la división del radical-inducido ocurre uniformemente a lo largo de la cadena y se originan una serie de iones relativamente abundantes de alta masa en cada rompimiento del enlace C-C. Cuando el enlace doble u otro grupo funcional es alcanzado pueden también generarse otros iones. Los principales derivados útiles de nitrógeno son las pirrolidinas, y los derivados éster 4,4-dimetiloxazolina (DMOX). En la figura 9 se indican los principales derivados de ácidos grasos.

---

<sup>15</sup> SKOOG D. *et al.* Principios de análisis instrumental. 1992.

Figura 8. Derivados de ácidos grasos



2.4.1. Metilación de ácidos grasos. La técnica de cromatografía de gases revolucionó el estudio de lípidos permitiendo determinar la composición completa de ácidos grasos en un tiempo muy corto. Para este propósito, los componentes de los lípidos se convierten convenientemente en el derivado volátil más simple, generalmente ésteres metílicos, aunque otros ésteres se pueden preferir para propósitos específicos.

Los ésteres metílicos se utilizan casi universalmente para el análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases. Son químicamente el derivado más simple del éster que se puede preparar, con el peso molecular más bajo, así que eluyen en columnas para cromatografía de gases a temperaturas más bajas que otros derivados, además, su polaridad es baja y pueden ser separados por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) u otros métodos cromatográficos<sup>16</sup>. Para el análisis de estos compuestos se utiliza el detector FID (detector de ionización de llama) ya que es el detector universal, de alta sensibilidad porque permite detectar los iones de carbono que se forman durante la combustión a alta temperatura. Este detector también presenta la característica de poseer un factor de respuesta en masa casi idéntico para todos los hidrocarburos. La misma masa de distintos componentes produce la misma intensidad de señal en el detector. Esta característica transforma al FID en un detector de gran utilidad porque no es necesario conocer la fórmula de un

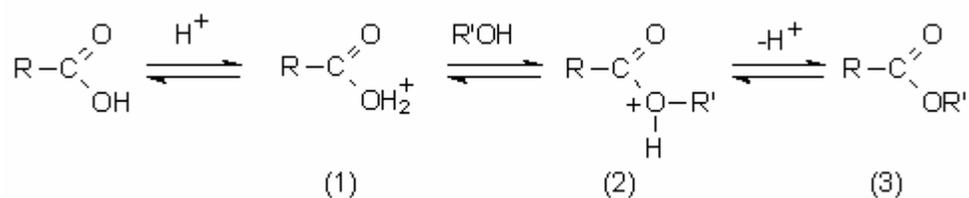
<sup>16</sup> MOLNAR P. *et al.* J Chromatogr. 365. 1986

componente para conocer si son óptimos y para realizar análisis aproximados en cuanto a la masa total del sistema<sup>17</sup>.

## 2.4.2 Técnicas para preparar ésteres metílicos de ácidos grasos.

2.4.2.1 Derivatización catalizada por ácidos. Los ácidos carboxílicos pueden ser esterificados por los alcoholes en presencia de un catalizador ácido conveniente según lo ilustrado en la figura 9.

Figura 9. Esterificación de ácidos grasos.



Las condiciones preferidas para la esterificación catalizada por ácidos de ácidos carboxílicos o la transesterificación de ésteres existentes requieren de un exceso del alcohol apropiado y de ausencia de agua<sup>18</sup>. Los catalizadores ácidos mas usados son los siguientes:

Cloruro de hidrógeno metanólico. Frecuentemente el reactivo más citado para la preparación de ésteres metílicos es el cloruro de hidrógeno anhidro al 5% (v/v) en metanol.

En un procedimiento típico de esterificación usando el cloruro de hidrógeno metanólico, la muestra del lípido se disuelve en por lo menos un exceso de cien veces del reactivo y la solución se coloca en reflujo por cerca de dos horas o se lleva a 50°C durante la noche (30 minutos en 50°C serán suficientes para los ácidos grasos libres). Al cabo de este tiempo, se agrega agua y los ésteres se extraen con un solvente apropiado como éter dietílico o hexano. Posteriormente la capa del solvente se lava con una solución diluida de bicarbonato de potasio para quitar el exceso de ácido y se agrega sulfato de sodio anhidro en exceso para eliminar el agua. Los ésteres son recuperados por evaporación del solvente. Todos los ácidos grasos son esterificados por el cloruro de hidrógeno metanólico en aproximadamente la misma proporción<sup>19</sup>.

<sup>17</sup> SKOOG D. Op. Cit., p. 40

<sup>18</sup> CIUCANU I. KENEK F. J Chromatogr. 257.1983

<sup>19</sup> PEAUCHANT E. *et al.* Analitical Biochem. 2003.

Ácido sulfúrico metanólico. Como alternativa al cloruro de hidrógeno metanólico, se puede usar una solución del 1-2% (v/v) de ácido sulfúrico concentrado en metanol para transesterificar los lípidos de manera semejante y en mucho en la misma proporción. Es de fácil obtención, y muy adecuado para la esterificación de ácidos grasos libres. Es recomendable realizar la reacción durante la noche a 50°C, y no someter a reflujo la mezcla, puesto que una cierta descomposición de ácidos grasos poliinsaturados puede ocurrir si el solvente se evapora<sup>20</sup>.

Trifluoruro de boro en metanol. Anteriormente, uno de los métodos más usados para la transesterificación era el trifluoruro de boro en metanol (12-14 % w/v). Actualmente es poco utilizado debido a que se producen reacciones colaterales que interfieren en el análisis; de la misma manera si se utilizan soluciones viejas o muy concentradas da lugar a menudo a la producción de interferencias y pérdidas de cantidades apreciables de ácidos grasos poliinsaturados<sup>21</sup>.

Otros catalizadores ácidos. El tricloruro de aluminio parece ser tan eficaz como el trifluoruro de boro como un catalizador para la transesterificación pero no se ha probado con una amplia gama de muestras<sup>22</sup>. Los ésteres de fenilo de ácidos grasos se han preparado por esterificación con ácido p-toluensulfónico como catalizador<sup>23</sup>. Similarmente, se ha usado una resina fuerte de intercambio catiónico en un soporte fijo como parte de un sistema de HPLC para la transesterificación post-columna de lípidos.

2.4.2.2 Derivatización catalizada por bases. Los catalizadores básicos más utilizados son los metóxidos de sodio o potasio, hidróxidos de amonio cuaternario como el hidróxido de tetrametilamonio o el hidróxido de trimetilsulfonio, entre otros<sup>24</sup>.

2.4.3 Cuantificación de Ácidos Grasos. Método del estándar interno. En cromatografía cuantitativa la mayor precisión se consigue por el uso de patrones internos debido a que se evitan las incertidumbres asociadas a la inyección de la muestra. En este procedimiento, se introduce en cada estándar y en la muestra una cantidad exactamente medida del patrón interno, y la relación de las áreas del analito y del patrón interno sirve como parámetro analítico. Para poder aplicar este método satisfactoriamente, es necesario que el pico del patrón interno este bien separado de los picos de los demás componentes de la muestra. Con un patrón interno adecuado, se pueden conseguir, normalmente, precisiones relativas mejores que el 1%<sup>25</sup>.

---

<sup>20</sup> MORRISON WR. J Lipids Res. Vol 5. 1964

<sup>21</sup> SEGURA R. Journal Chromatogr. 441. 1988

<sup>22</sup> ISALAH N.H. *et al.* Journal Chromatogr. 43. 1969.

<sup>23</sup> CHRISTIE W.W. Topics in Lipid Chemistry. Vol 3. 1972.

<sup>24</sup> *Ibid.*, p 39

<sup>25</sup> SKOOG D. *Op.cit.*, p 40

## 2.5 VALIDACIÓN DE MÉTODOS

Para asegurar confiabilidad, los métodos analíticos se someten a un proceso de validación<sup>26</sup>. Mediante un proceso de validación, ya sea de carácter prospectivo, retrospectivo o de revalidación, se comprueba si el método es lo suficientemente confiable y si los resultados previstos se obtienen dentro de las condiciones prefijadas<sup>27</sup>. La validación de los métodos analíticos se fundamenta en la determinación de diversos parámetros, que se aplican de acuerdo con la categoría a la que pertenezcan.<sup>28</sup>

Para el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio la validación es un requisito imprescindible que está establecido por agencias regulatorias<sup>29, 30</sup>.

2.5.1 Procedimiento de validación. El Protocolo<sup>31</sup>: consiste en un plan experimental que debe contener las siguientes especificaciones:

a. Control de materias primas. Se refiere al control de las materias primas procedentes de casas comerciales reconocidas que se utilicen en el proceso de validación. Deberán aparecer de forma detallada las especificaciones de la muestra de ensayo, la preparación y estabilidad de las disoluciones, diluciones, pH y temperatura.

b. Material de referencia. Se utilizarán para la calibración del sistema de medición (por ejemplo disoluciones tampones para la calibración de potenciómetros o pHmetros) o como patrón de comparación en las determinaciones del analito. Durante la validación se utilizarán materiales de referencia secundarios o de trabajo contrastados contra un material de referencia primario<sup>32</sup>.

c. Verificación, calibración y control del equipamiento. En la actualidad la mayoría de los productores desarrollan la validación de los equipos analíticos para satisfacer los requisitos internacionales que permitan su utilización en el control de calidad en diferentes industrias. Aun cuando en los manuales del usuario aparezcan especificaciones de precisión y exactitud del equipo, por lo general el usuario debe desarrollar su propio procedimiento para la comprobación del buen funcionamiento del instrumento o seguir las recomendaciones del fabricante. Cuando el equipo está verificado se realiza un simple control de rutina. *DeSain*<sup>33</sup>

---

<sup>26</sup> CALPENA AC. *et al.* Validación de los métodos analíticos. 1991

<sup>27</sup> RAMPAZOO P. Standardisation and Validation of analytical methods in the pharmaceutical industry. 1990

<sup>28</sup> USP Convention XXII. 1990

<sup>29</sup> FDA. Center for drugs and biologics. Guideline for submitting samples and analytical data for validation methods. 1987

<sup>30</sup> ANALITICAL VALIDATION. Vol 3<sup>a</sup>. 1990

<sup>31</sup> MARTIN Smith. Acta Pharmaceutical. 40. 1990

<sup>32</sup> CAMACHO MA. *et al.* ATP Pharma Practique. 1993

<sup>33</sup> DE SAIN C. Master method validation protocols. Biopharm. 1992

recomienda un procedimiento especial para las columnas que se utilizan frecuentemente en muestras diferentes para análisis por cromatografía.

d. Entrenamiento del personal. El personal encargado de realizar los ensayos analíticos estará entrenando específicamente en este tipo de trabajo y su entrenamiento estará rigurosamente documentado.

e. Procedimiento normalizado de operación del método. Refleja el procedimiento exacto de ejecución del método analítico<sup>34</sup>.

## Validación

a. Linealidad. Es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido. Se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis del analito a diferentes cantidades o concentraciones. La selección del rango y del número de puntos experimentales está estrictamente relacionado con la aplicación del método<sup>35</sup>.

La curva de regresión se determina sobre los puntos individuales sin promediar por el método de los mínimos cuadrados. En el eje de las "x" aparecerá la cantidad o la concentración del analito y en el eje "y", la respuesta analítica. Los estimadores de regresión para un nivel de significación dado son:

*Coefficiente de correlación (r)*. Muchos autores plantean<sup>36, 37, 38</sup> que para que el método se considere lineal, el coeficiente de correlación debe ser mayor que 0,999. Sin embargo, hay quienes consideran que la mejor forma de indicar la linealidad del método estudiado será realizar una prueba estadística de t (t de Student), en la cual se calculará la correlación lineal significativa ( $t_r$ ) a partir de la hipótesis nula de no correlación entre las magnitudes estudiadas ("x" y "y"). Para ello se empleará la ecuación siguiente:

$$t_r = \frac{r\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}} \quad \text{Ecuación 4}$$

donde:  $r$  es el coeficiente de correlación,  $r^2$  es el coeficiente de determinación y  $n$  es el número de réplicas. El valor de  $t_r$  obtenido se compara con el valor tabulado de  $t$  para el nivel de significación utilizado y con  $n-2$  grados de libertad (donde  $n$  corresponde al número total de determinaciones de "y")<sup>39</sup>.

<sup>34</sup> RAMPAZOO P. Op. Cit., p 44.

<sup>35</sup> USP . Op. Cit., p 44

<sup>36</sup> CAMACHO MA. Op. Cit., p 44

<sup>37</sup> BRITISH STANDARD No BS 5497. Precision of the test methods. 1979

<sup>38</sup> NORMA CUBANA NC Evaluacion de características y validacion de metodos de ensayo. 1992

<sup>39</sup> CALPENA AC. *et al.* Op. Cit., p 44

b. Precisión. Refleja la medida en que los valores de una serie repetida de ensayos analíticos que se realizan sobre una muestra homogénea son semejantes entre sí<sup>40</sup>. Aunque la USP XXII expresa que la precisión es la expresión del grado de la reproducibilidad, *Calpena* incluye dentro de este acápite la repetibilidad, la reproducibilidad y la robustez del método analítico, mientras que la Norma Británica incluye sólo la repetibilidad y la reproducibilidad.

*Repetibilidad.* Refleja la precisión de un método, cuando se desarrolla bajo las mismas condiciones, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y durante una misma sesión de trabajo en un período corto<sup>41</sup>.

El parámetro estadístico que caracteriza a este estudio es la desviación estándar<sup>42</sup> o preferiblemente el coeficiente de variación (desviación estándar relativa)<sup>43</sup>. Este parámetro permite evaluar la incertidumbre en la estimación de la media, es decir, el error aleatorio que se corresponde con la dispersión de los datos alrededor de la media.

*Exactitud.* Indica la capacidad del método analítico para obtener resultados lo más próximos posibles al valor verdadero<sup>44</sup>. A diferencia de la precisión, que refleja el error aleatorio, la exactitud refleja el error sistemático o la tendencia a él. Cuando existen interferencias en el método por falta de selectividad (desviación por exceso en los resultados), o cuando se trata de métodos analíticos muy laboriosos, con varias etapas, como extracciones, purificaciones, etcétera (desviación por defecto en los resultados), el método se considera no exacto o sesgado<sup>45</sup>. Para asegurar una buena exactitud, según *Martin-Smith* y *Rudd*,<sup>46</sup> es necesario eliminar los errores que no están sujetos a tratamiento estadístico (calibración o control incorrectos de equipos), los errores inherentes a blancos (errores constantes) y los que dependen de la cantidad del analito presente (errores proporcionales). Ellos opinan que la mejor manera de identificar estos errores será realizando una prueba interlaboratorio.

---

<sup>40</sup> Ibid., p 44

<sup>41</sup> Ibid. P 44

<sup>42</sup> CAMACHO MA. Op cit., p 44

<sup>43</sup> USP. Op cit., p 44

<sup>44</sup> CALPENA AC. *et al.* Op. Cit., p 44

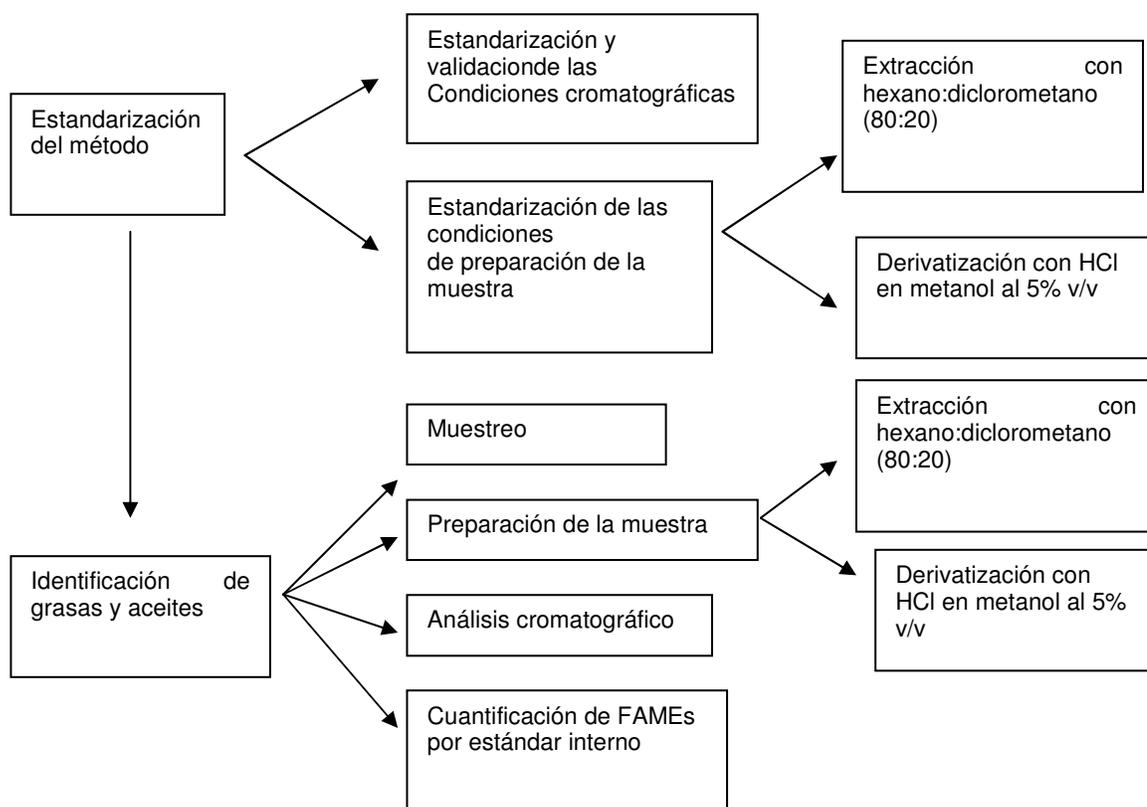
<sup>45</sup> CHRISTIE W.W. Op Cit, p 39

<sup>46</sup> MARTIN Smith. Op cit., p 44

### 3.METODOLOGIA

En la siguiente figura se ilustra el diagrama de flujo para el análisis de grasas y aceites.

Figura 10. Diagrama de flujo del proceso de análisis de grasas y aceites



#### 3.1 ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO

##### 3.1.1 Estándarización de las condiciones cromatográficas

3.1.1.1 Tiempo muerto: se utilizó el cromatógrafo de gases G-17A SHIMADZU con puerto de inyección split/splitless, detector FID y una columna cromatográfica capilar SupelcoWax 10, con una longitud de 30m, diámetro interno 0.25mm y espesor de película 0.25µm. Se utilizó gas butano, proveniente de un encendedor comercial para la determinación del tiempo muerto.

3.1.1.2 Flujo óptimo. Se realizaron análisis por triplicado de una mezcla de estándar de n-parafinas de C<sub>5</sub> a C<sub>15</sub> a una temperatura de columna 140°C isotérmicamente durante 35 minutos y un flujo total de 25mL/min, y a diferentes flujos internos de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0mL/min con el fin de obtener el flujo óptimo con la curva de Van Deemter. Se identificó el pico 8 correspondiente a la parafina C<sub>14</sub>. Con los tiempos de retención y ancho del pico para cada valor del flujo interno se determinó las alturas de los platos teóricos (ecuación 5) y se graficó flujo Vs altura de plato teórico.

$$HEPT = LW^2 / 16t_R^2 \quad \begin{array}{l} W = \text{Ancho de pico} \\ L = \text{Longitud de la columna} \\ T_R = \text{Tiempo de retención} \end{array} \quad \text{Ecuación 5}$$

3.1.1.3 Optimización de la eficiencia de la columna. Se prepararon soluciones de los estándares individuales de ésteres metílicos de ácidos grasos FAMEs (Alltech State College, PA) con diferentes concentraciones. También se preparó una mezcla de los estándares. Se inyectó varias veces la mezcla de estándares variando las condiciones de temperatura del inyector, horno y detector, así como también la relación split, con el fin de encontrar las condiciones óptimas para la separación de los componentes de la mezcla de estándares en el menor tiempo posible y que presentara la mejor resolución de los picos.

### 3.2 VALIDACIÓN DE LAS CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Se preparó una solución de 500ppm de los FAMEs y a partir de esta se prepararon soluciones de 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5.0, 3.0 y 1.0ppm. Con estas concentraciones se graficó las curvas de calibración con el fin de calcular el rango lineal.

3.2.1 Limite de detección. El limite de detección corresponde a la concentración donde la altura del pico es tres veces la señal del ruido. Se calculó este parámetro con las concentraciones más bajas de la mezcla de FAMEs 5.0, 3.0, 1.0 y 0.5 ppm. Como señal del blanco se utilizó el ruido de fondo de los cromatogramas se determinando la magnitud promedio de la señal (Microvoltios). Se utilizó la siguiente formula para encontrar el limite de detección.

$$LD = \bar{S}_{bl} + K \times \sigma_{Sbl} \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

S<sub>bl</sub> = Magnitud promedio de la señal del blanco  
 $\sigma_{Sbl}$  = Desviación estandar de la señal del blanco  
 K = 3 constante con un 89% de confianza

3.2.2 Repetibilidad. Se preparó una mezcla de 70 ppm de los FAME,s y se la inyectó cinco veces durante un solo día.

Se determinó la precisión del método, calculando la reproducibilidad y repetibilidad los cuales se expresan estadísticamente con la desviación estándar, coeficiente de variación y límites de confianza.

### 3.3 Estandarización de las condiciones de preparación de la muestra

3.3.1 Extracción Líquido - Líquido. Se preparó una muestra de referencia de agua potable libre de grasas y aceites tomando como parámetros los análisis realizados por la empresa EMPOPASTO E.S.P como hierro, sulfatos, cloruros, fosfatos, alcalinidad, dureza, pH entre otros (ver anexo B). Luego se agregó una cantidad conocida de aceite de oliva comercial que es un aceite que contiene los ácidos grasos mas comunes (oleico, palmitico, linoleico) y tiene un alto grado de refinación. Se realizó todo el procedimiento como si fuera la muestra problema con el fin de determinar la exactitud del método calculando los porcentajes de recuperación.

3.3.2 Procedimiento de la extracción Líquido-Líquido. Se midió 500mL de la muestra de referencia y se le adicionó 0.1mL de aceite de oliva comercial. La extracción se realizó con 60mL de la mezcla de hexano-diclorometano (80:20) en un embudo de separación de 500mL con agitación vigorosa durante 5 minutos Luego se dejó en reposo y se extrajo la fase orgánica. La extracción se realizó tres veces con porciones de 20mL del solvente.

Se evaporó el solvente hasta sequedad utilizando un destilador convencional (previamente se pesó el balón de destilación) se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se pesó el balón con el fin de encontrar el porcentaje de recuperación.

El procedimiento anterior se realizó por triplicado con el fin de aplicar los parámetros estadísticos apropiados, que permitan determinar la precisión del método y garantizar la validez de los resultados.

3.3.3. Estandarización del proceso de derivatización de las grasas y aceites. Se tomaron cuatro muestras de referencia de agua potable de 500 mL (una de ellas se utilizó como blanco) y se les agregó 20µL de aceite de oliva comercial. Se realizó el proceso de extracción con la mezcla de hexano-diclorometano (80:20) descrito anteriormente. La capa orgánica se concentró utilizando un sistema de destilación a 70°C hasta un volumen final entre 1 y 4 mL. Posteriormente se adiciona 5mL de agente derivatizante (solución al 5% v/v de HCl en metanol) y 1g de sulfato de sodio anhidro. Se dejó en baño de agua a 50°C durante toda la noche (12 horas). La fase orgánica donde están los ésteres metílicos se separa de

la fase acuosa, el exceso de ácido en la fase orgánica se eliminó con una solución bicarbonato de potasio al 5% w/v; se determina el volumen final del extracto y se adicione sulfato de sodio anhidro con el fin de eliminar cualquier rastro de agua. Las muestras se inyectaron al cromatógrafo de gases con las condiciones ya estandarizadas<sup>47</sup>. El procedimiento anterior se realizó por triplicado.

### 3.3.4 Identificación de las grasas y los aceites en el agua potable del Municipio de Pasto.

3.3.4.1 Muestreo. Se hizo un muestreo simple completamente al azar. Se tomaron cuatro muestras a la entrada (agua cruda o sin tratamiento) y salida de agua (tratada) en las plantas de tratamiento de Centenario, Mijitayo y San Felipe. El agua cruda se tomó de los canales que llegan a las plantas de tratamiento; y el agua tratada de los tanques principales de almacenamiento. La toma de muestras a la entrada y salida de las plantas de tratamiento se efectuó con el propósito de verificar si las grasas y aceites que entran a dichas plantas son removidas por el tratamiento. Las muestras en la red de distribución se tomaron en el barrio Navarrete.

Se tomaron muestras de un litro en frascos de borosilicato y se almacenaron en nevera de icopor con hielo a una temperatura de 4°C hasta el momento del análisis para preservar las muestras.<sup>48</sup>

Figura 11. Toma de Muestras



3.3.4.2 Análisis. Se realizó la extracción con tres porciones de 20 mL de la mezcla de hexano-diclorometano (80:20), luego se concentro la muestra a un volumen entre 1 y 4 mL utilizando un destilador convencional, posteriormente se realizo la derivatización de las grasas y aceites en las muestras con el procedimiento descrito anteriormente para las muestras de referencia (ver sección 3.3.3), y se realizó el análisis cromatográfico con la inyección de 0.4µL de muestra en el equipo de GC con las condiciones óptimas ya estandarizadas.

<sup>47</sup> CHRISTIE W.W. Gas Chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acid.1998

<sup>48</sup> APHA, AWWA, WPCF. Metodos normalizados para el analisis de aguas potables y residuales. 1992

3.3.4.3 Cuantificación de los ácidos grasos. Los ácidos grasos se cuantificaron empleando el método del estándar interno (metil caprilato). Se utilizó este estándar por ser un compuesto de características similares a los analitos y por no estar presente en ninguna de las muestras analizadas<sup>49</sup>. Para el factor de respuesta, teniendo en cuenta la intensidad de las señales, se preparó una solución de 12.5ppm para el metil caprilato y 6.0ppm para los demás estándares. La mezcla se inyectó al Cromatógrafo de gases por triplicado con las condiciones ya estandarizadas.

---

<sup>49</sup> GREENLIEF. Fatty acid determination using Gas Chromatography. 2004

## 1. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO

#### 4.1.1 Estandarización de las condiciones cromatográficas

4.1.1.1 Tiempo muerto. Se utilizó gas butano ya que este compuesto no es retenido por la columna, permitiendo determinar el tiempo muerto que a su vez permite corregir el tiempo de retención y se calculó la reproducibilidad con la desviación estándar, coeficiente de variación y limite de confianza como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Tiempo muerto

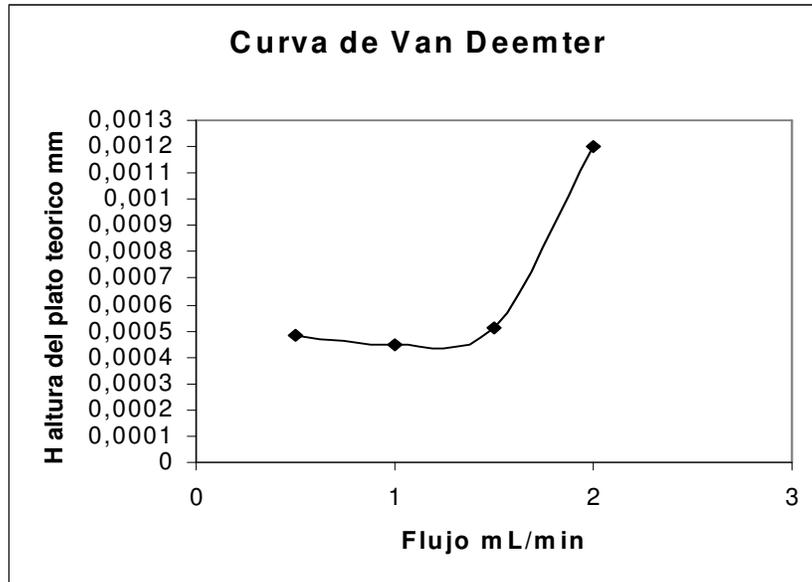
<i>Flujo interno (mL/min)</i>	<i>Datos del tiempo muerto <math>t_M</math></i>	$\bar{X} t_M$	$\sigma$	<i>CV</i>	<i>LC (95 %)</i>
0.5	2.89, 2.90, 2.89	2,89	0.0060	0.20	$\pm 0.07$
1.0	1,40, 1,39, 1,40	1,40	0.006	0,41	$\pm 0.07$
1.5	1,68, 1,70, 1,67	1,68	0.015	0,91	$\pm 0.017$
2.0	1,97, 1,98, 2,0	1,98	0.015	0,77	$\pm 0.017$

4.1.1.2 Flujo óptimo. En la tabla 3 se indican los flujos internos utilizados de los cuales el flujo óptimo fue de 1mL/min, lo cual implica que la columna presenta la mejor eficiencia a este flujo. En la figura 12 se muestra la curva de Van Deemter.

Tabla 3. Datos para la curva de Van Deemter

<i>Flujo Interno (mL/min)</i>	$\bar{X} t_R$ (min)	<i>Ancho del Pico (min)</i>	<i>Altura de plato teórico (mm)</i>
0.5	8.03	0.208	$4.8 \times 10^{-4}$
1.0	20.66	0.283	$4.5 \times 10^{-4}$
1.5	15.66	0.258	$5.1 \times 10^{-4}$
2.0	23.65	0.167	$1.2 \times 10^{-3}$

Figura 12. Curva de Van Deemter

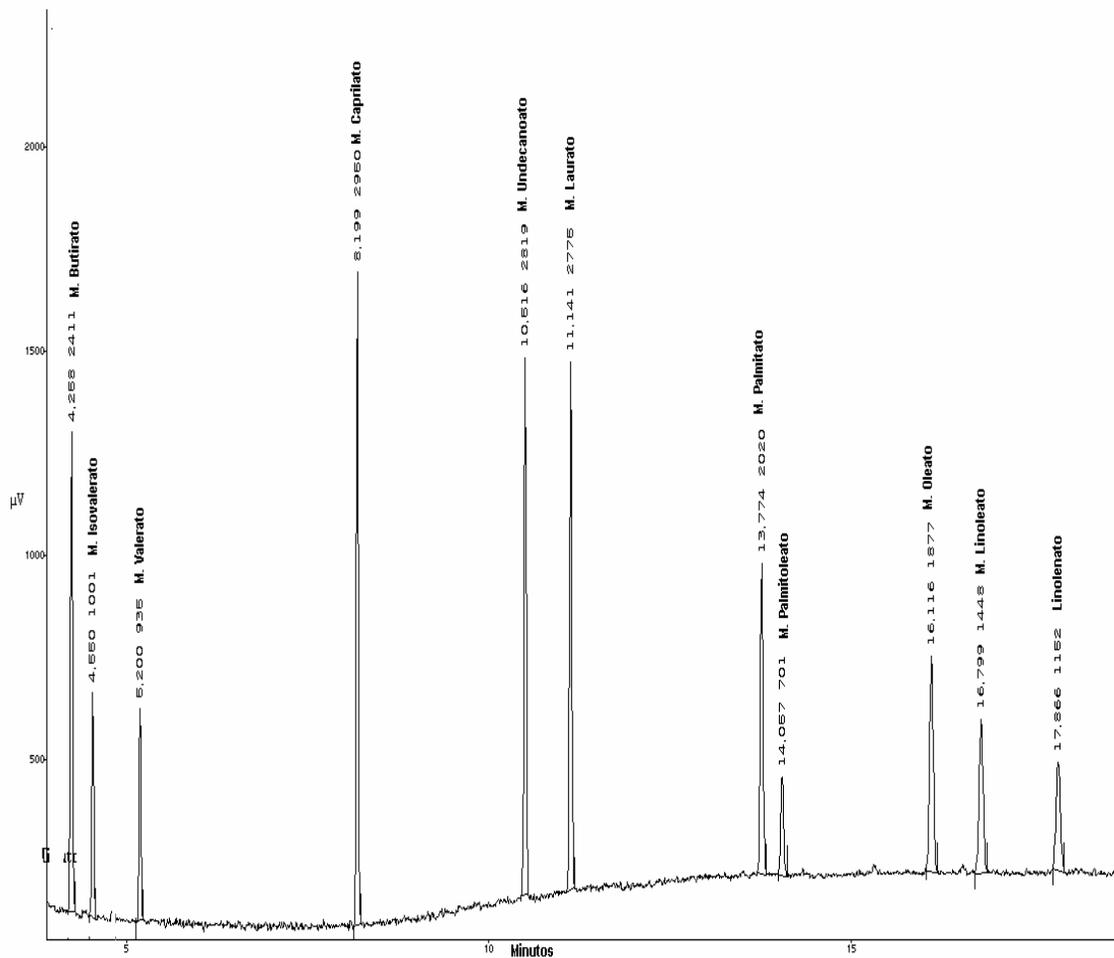


Como se puede ver en esta curva la menor altura de plato teórico se obtuvo con el flujo de 1.0mL/min. En el anexo A se indica el cromatograma para el flujo de 1 mL/min.

4.1.1.3 Optimización de la eficiencia de la columna. Teniendo en cuenta la resolución y forma de los picos se obtuvo la mejor separación cromatográfica de la mezcla de 11 estándares a las siguientes condiciones: 40°C hasta 130°C a 15 °C/min., 130°C hasta 240°C 30°C /min (10 min) para un tiempo total de análisis de 20 min. Como gas portador se utilizó helio con un flujo de 1mL/min, la temperatura del puerto de inyección fue de 250°C y en el detector de 280°C. Se utilizó el modo de inyección split (20:1) con un tiempo de purga de 0.5 min, el volumen de inyección fue de 0.4µL.

En la figura 13 muestra el cromatograma de la mezcla de 11 componentes con la temperatura del horno seleccionada.

Figura 13. cromatograma de la mezcla de estándares de 11 componentes



El orden de elusión de los FAMES fue: 1. metil butirato, 2. metil isovalerato, 3. metil valerato, 4. metil caprilato, 5. metil undecanoato, 6. metil laurato, 7. metil palmitato, 8. metil palmitoleato, 9. metil oleato, 10. metil linoleato y 11. metil linolenato. La resolución de los picos se la calculo mediante la ecuación

$$R = 2 (t_{RB} - t_{RA}) / (W_A + W_B)$$

Ecuación 7

Donde:  $t_{RB}$  = Tiempo de retención del compuesto B

$t_{RA}$  = Tiempo de retención del compuesto A

$W_A$  = Ancho del pico A

$W_B$  = Ancho del pico B

Tabla No 4. Resolución (Rs) de la mezcla de 11 estándares.

Estándar Pico No	$t_r$	Ancho	Resolución
1	4,266	0,083	
2	4,558	0,083	3,510
3	5,208	0,067	8,664
4	8,208	0,092	37,730
5	10,524	0,083	26,460
6	11,158	0,108	6,634
7	13,790	0,108	24,376
8	14,074	0,125	2,42
9	16,141	0,150	15,030
10	16,818	0,183	4,050
11	17,887	0,167	6,090
Promedio			13,496

La resolución de la columna cromatográfica fue buena, ya que su valor promedio es de 13,496 lo que demuestra la buena separación de los picos ya que como se reporta en la literatura<sup>50</sup>, valores de resolución superiores a 1.0 indican que no hay una sobreposición de las áreas de los picos, representando una resolución completa como se observa en el cromatograma de la figura 13.

4.1.1.4 Validación de las condiciones cromatográficas. Para la validación de las condiciones cromatográficas se determinaron parámetros estadísticos como la desviación estándar (ecuación 8) el coeficiente de variación (ecuación 9) del tiempo de retención y de las áreas de las soluciones estándar, además se calcularon los límites de confianza del tiempo de retención al 95 % (ecuación 10), esto con el fin de establecer criterios estadísticos que permitan hacer la identificación de los compuestos por comparación de los tiempos de retención.

$$\delta = \sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 / n-1} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde  $X_i$  = medición de una cantidad

$\bar{X}$  = promedio

N = número de mediciones

$$CV = (\delta/\bar{X}) \times 100\% \quad \text{Ecuación 9}$$

$$LC = \bar{X} \pm Z\delta/\sqrt{n} \quad \text{Ecuación 10}$$

Z= depende del nivel de confiabilidad (95%)

Z= 1,96

La validación se realizó para la mezcla de 11 componentes con una solución de 70 ppm, realizando cinco determinaciones. En la tabla 5 se muestran los parámetros estadísticos tanto para tiempos de retención como para las áreas.

<sup>50</sup> WILLARD H. Métodos instrumentales de análisis.1991

Tabla 5. Parámetros estadísticos de la mezcla de 11 componentes

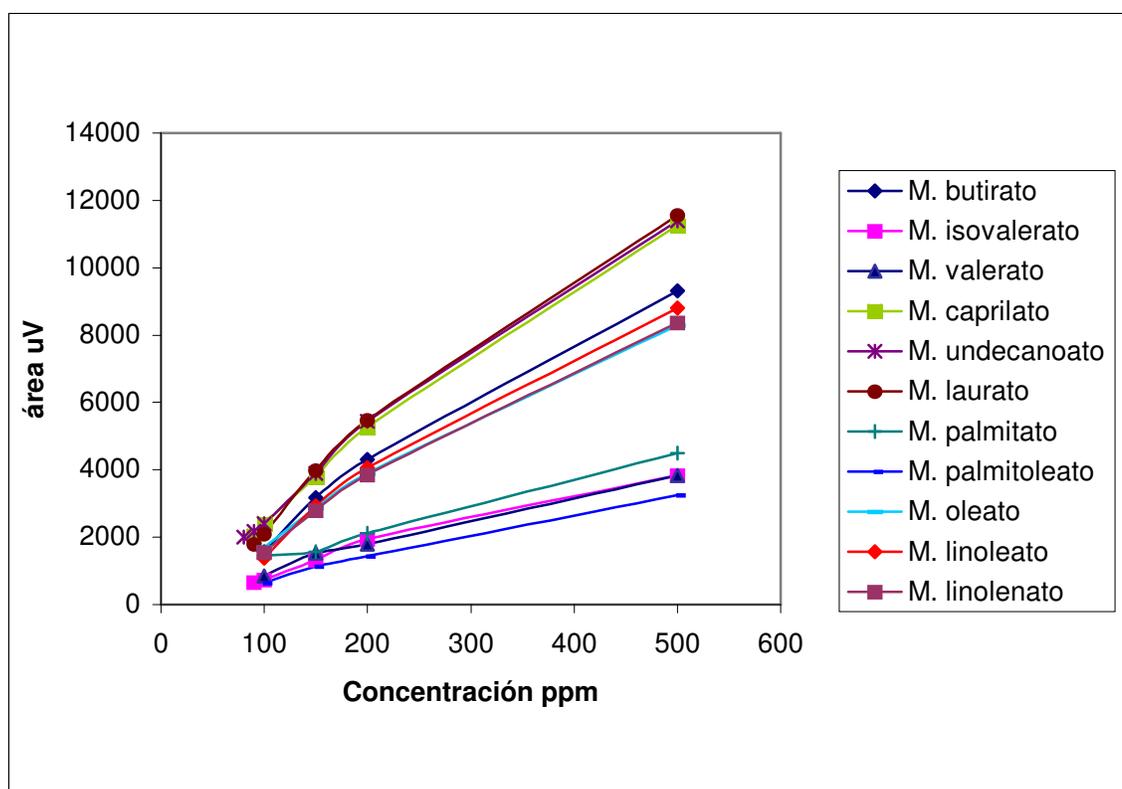
Solución de 70ppm TIEMPOS DE RETENCION											
PICO No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	M. butanoato	M. isovalerato	M. valerato	M. caprilato	M. undecanoato	M. laurato	M. palmitato	M. palmitoleato	M. oleato	M. linoleato	M. linolenato
	4,266	4,558	5,216	8,216	10,524	11,158	13,774	14,074	16,141	16,824	17,882
	4,266	4,566	5,208	8,216	10,524	11,158	13,774	14,074	16,116	16,824	17,891
	4,266	4,558	5,208	8,208	10,533	11,158	13,782	14,057	16,116	16,824	17,891
	4,266	4,558	5,216	8,208	10,533	11,158	13,791	14,074	16,124	16,824	17,891
	4,266	4,558	5,216	8,216	10,524	11,158	13,791	14,057	16,124	16,816	17,882
<b>Promedio</b>	4.266	4.560	5.213	8.213	10.528	11.158	13,782	14.067	16.124	16.822	17.887
<b>D. Estándar</b>	5.961E-8	0.0036	0.0044	0.0044	0.0049	0	0.0085	0,0093	0,0102	0.0036	0.0049
<b>% CV</b>	1.397E-6	0.0785	0.0841	0.0534	0.0468	0	0,0062	0,0066	0,0633	0.0216	0.0276
<b>LC 95%</b>	5.225E-8	0.0031	0.0038	0.0038	0.0043	0	0.0074	0,0081	0,0090	0.0031	0.0043

Solución de 70ppm AREAS (Cuentas)											
PICO No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	M. butanoato	M. isovalerato	M. valerato	M. caprilato	M. undecanoato	M. laurato	M. palmitato	M. palmitoleato	M. oleato	M. linoleato	M. linolenato
	1043	576	634	1818	1845	1428	632	457	1225	1013	998
	1171	546	592	1753	1866	1602	598	429	1131	1023	1160
	1136	563	634	1774	1753	1602	603	481	1148	943	1119
	1208	508	624	1586	1832	1504	684	455	1150	904	1040
	1142	554	654	1764	1663	1571	609	527	1232	911	1015
<b>Promedio</b>	1140	549.4	627.6	1739	1791.8	1541.4	625.2	469.8	1177.2	958.8	1066.4
<b>D. Estándar</b>	61.3	25.7	22.7	89.0	83.7	75.0	35.4	36.9	47.5	56.1	69.9
<b>% CV</b>	5.374	4.6754	3.6152	5.1189	4.6733	4.8635	5.6544	7.8532	4.0327	5.8529	6.5549

Los coeficientes de variación para los tiempos de retención se encuentran en un rango de  $1.397 \times 10^{-6}$  a 0.0841, y para las áreas de 3.615 a 7.853, esto demuestra que el método es confiable dado que la precisión en los tiempos de retención como para las áreas es reproducible y repetitiva.

4.1.1.5. Curvas de calibración. Con los datos obtenidos en las corridas cromatográficas de las diferentes concentraciones realizadas con las mezclas de estándares se graficó las curvas de calibración con el fin de calcular el rango lineal. En la figura 14 se muestran las curvas de calibración para las diferentes concentraciones de los 11 componentes.

Figura 14. Curvas de calibración para los 11 componentes



4.1.1.6 Rango lineal. El rango lineal para cada estándar corresponde al intervalo donde la concentración respecto al área es directamente proporcional. De esta manera se toman los intervalos que cumplen esta propiedad. Según la figura 14, el rango lineal fue de 80 – 500ppm para metil linoleato y metil undecanoato, de 90 – 500ppm para el metil isovalerato, metil caprilato y metil laurato. Para el resto de compuestos el rango lineal fue de 100 – 500ppm. En la tabla 6 se presentan las ecuaciones de la recta de las curvas de calibración para los FAMEs junto con los factores de linealidad.

Tabla 6. Ecuaciones para las curvas de calibración y factores de linealidad

<i>Componente</i>	<i>Ecuación de la recta</i>	<i>r</i>	<i>r<sup>2</sup></i>	<i>t<sub>exp</sub></i>	<i>t<sub>teor</sub> (95%)</i>
M. butirato	y = 18.4800X + 196	0.993	0.986	11.87	4.30
M. isovalerato	y = 7,6046X + 115,25	0.989	0.979	11.82	3.18
M. valerato	y = 7.1101X + 317.11	0.994	0.988	12.83	4.30
M. caprilato	y = 22,0960X + 366,14	0.996	0.993	20.62	3.18
M. undecanoato	y = 22.4250X + 366.17	0.996	0.992	22.27	2.78
M. laurato	y = 23,2600X + 149,85	0.992	0.985	14.03	3.18
M. palmitato	y = 7.8681X + 543.82	0.996	0.993	16.84	4.30
M. palmitoleato	y = 6,3070X + 114,85	0.997	0.995	19.94	4.30
M. oleato	y = 15.9870X + 395.19	0.996	0.992	15.75	4.30
M. linoleato	y = 17.6950X + 95.323	0.992	0.985	11.45	4.30
M. linolenato	y = 16.4940X + 224.13	0.995	0.991	14.83	4.30

Los valores calculados de  $t$  se realizaron mediante la ecuación 4, donde  $r$  es el factor de correlación y  $n$  el número de puntos en la línea de calibración. Los factores de correlación encontrados son cercanos a 1 y los valores de  $t$  teórico para la prueba  $t$  de student son menores al valor experimental lo que indica que hay linealidad de cada componente en la mezcla de estándares por lo tanto es posible cuantificar los ácidos grasos en la muestra problema. Igualmente se comprobó que hay una correlación significativa al calcular el del valor de  $t$ <sup>51</sup>.

4.1.1.7 Límite de detección. La magnitud promedio de la señal de ruido para el metil oleato fue de 170  $\mu\text{V}$  la desviación estándar de esta magnitud de 6,3  $\mu\text{V}$ ; según la ecuación 6 de la sección 3.2.1 la altura de los picos debe estar por encima de los 189  $\mu\text{V}$  para que estos puedan ser detectados. Para los demás estándares se utilizó el mismo procedimiento. Los valores del límite de detección para todos los metil ésteres están consignados en la tabla 7.

<sup>51</sup> MILLER J. Estadística y Quimiometría para Química analítica. 2002

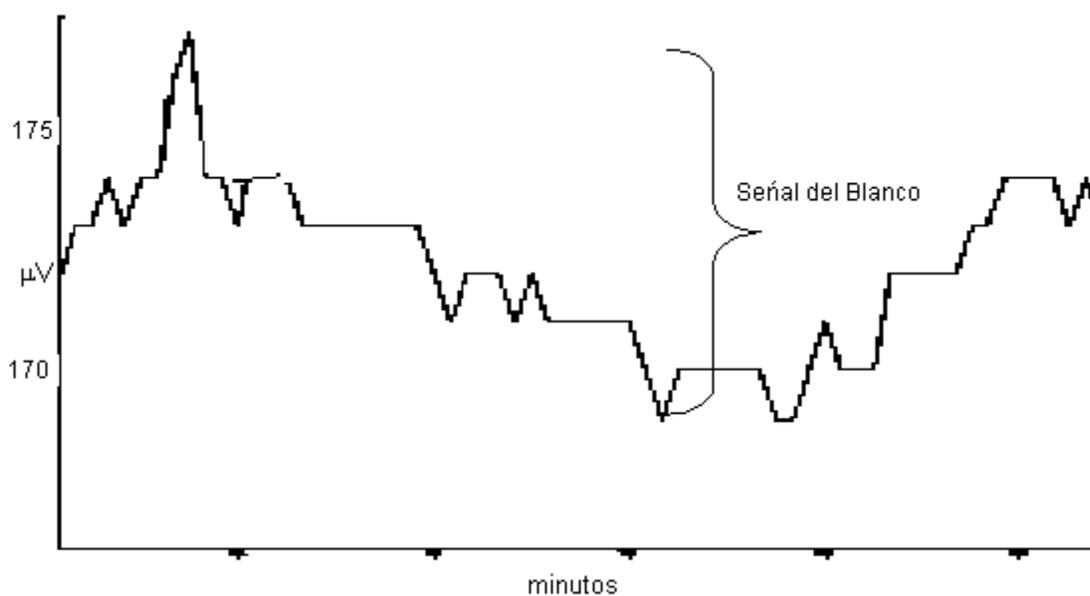
Tabla 7. Límites de Detección de los Metil Esteres de ácidos grasos

Metil Ester	Magnitud Señal ( $\mu\text{V}$ )	Desviación Estándar ( $\mu\text{V}$ )	Límite de Detección ppm
M. Butirato	41	2,40	3
M. Isovalerato	41	2,40	3
M. Valerato	41	2,40	3
M. Caprilato	170	6,3	1
M. Undecanoato	170	6,3	1
M. Laurato	186	5	3
M. Palmitato	235	7	1
M. Palmitoleato	248	2	5
M. Oleato	170	6,2	1
M. Linoleato	235	7	3
M. Linolenato	248	2	5

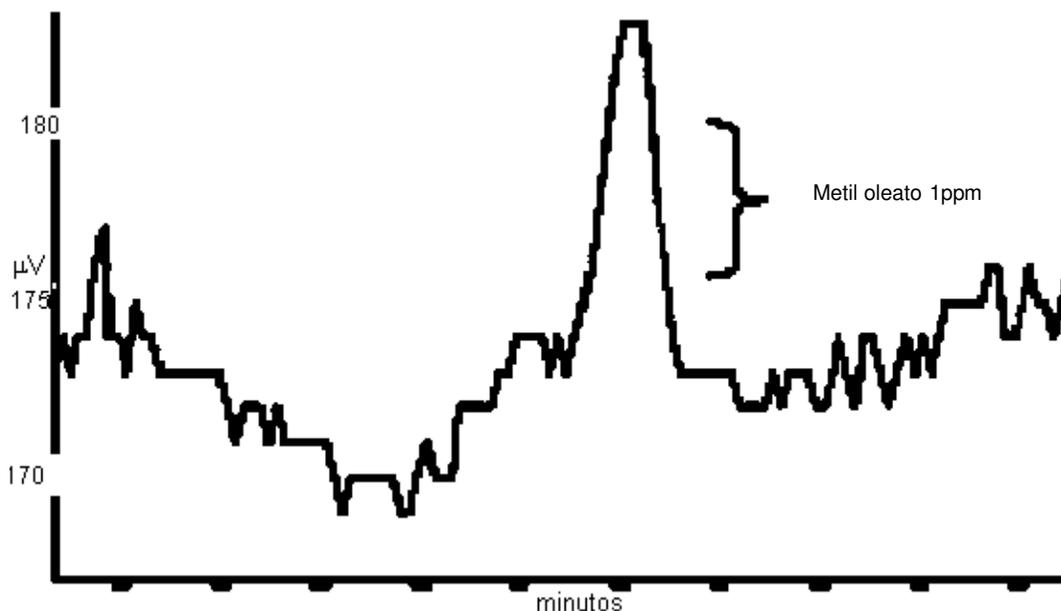
En la figura 15 se muestra la señal del blanco y el límite de detección para el metil oleato con una concentración de 1ppm.

Figura 15. Señal – ruido y límite de detección para la mezcla de estándares.

a) Señal del blanco



b) Señal del estándar 1ppm



4.1.2 Estandarización de las condiciones de preparación de la muestra

4.1.2.1 Extracción líquido – líquido. Se obtuvieron porcentajes de recuperación altos al utilizar como patrón aceite de oliva comercial con el proceso de extracción descrito en la metodología.

La tabla 8 muestra los porcentajes de recuperación, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Tabla 8. Reproducibilidad del proceso de extracción con hexano – diclorometano (80:20)

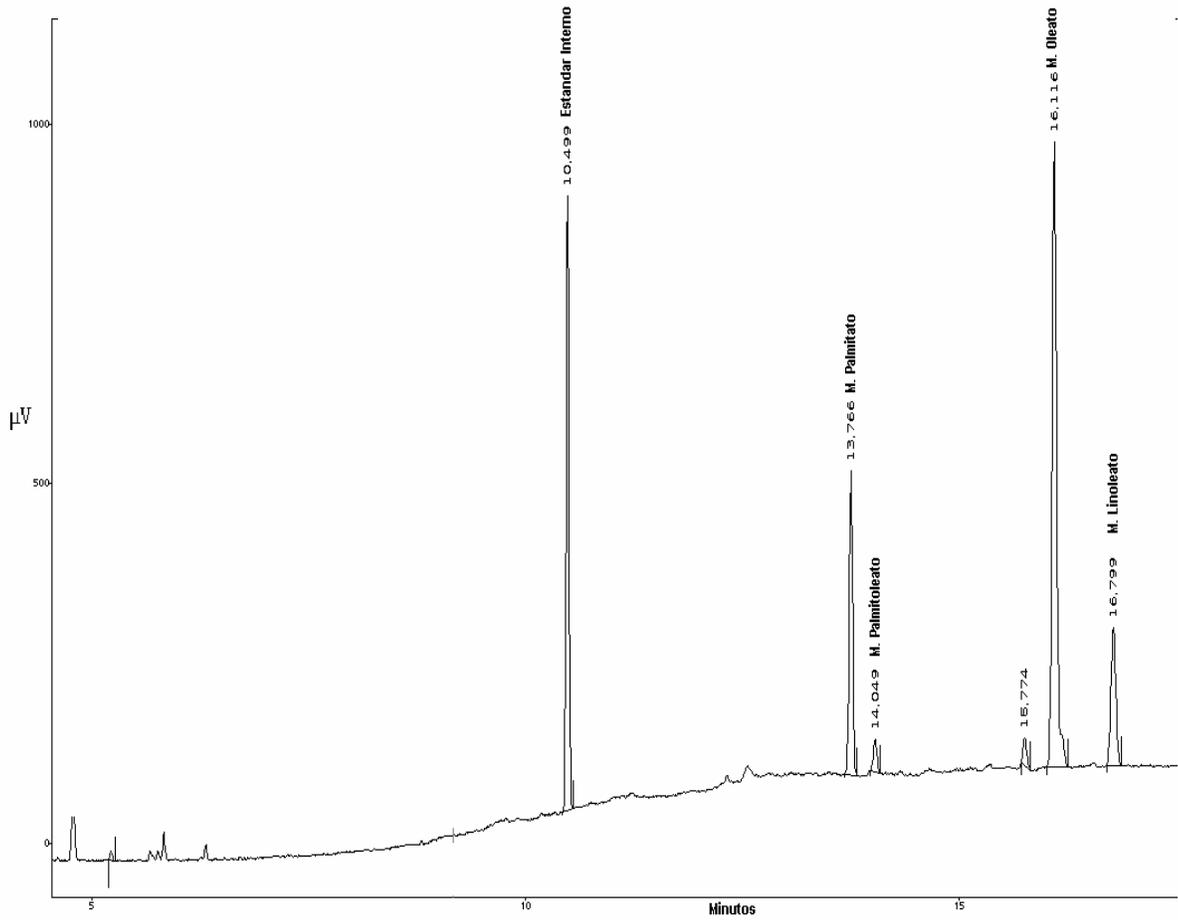
<i>% de recuperación</i>	<i>Promedio</i>	<i>s</i>	<i>CV</i>
93.4	94.1	0.61	0.65
94.2			
94.6			

Se evaluó la reproducibilidad y repetibilidad con los coeficientes de variación y se encontraron valores menores al 5%, lo que indica que el método de extracción líquido-líquido empleando hexano:diclorometano (80:20) como solvente es reproducible y repetitivo, garantizándose así que en las muestras a analizar se podrán recuperar mas del 90% de las grasas y aceites.

4.1.2.2 Derivatización con HCl en metanol (5% v/v). Se utilizó una muestra de aceite de oliva comercial en la muestra para el proceso de derivatización el cual esta compuesto por los ácidos grasos oleico, palmítico, linoleico, palmitoleico y esteárico. La concentración de aceite de oliva en la muestra de referencia fue de 0,04% v/v.

La reproducibilidad y repetibilidad se evaluó con la desviación estándar y el coeficiente de variación de los datos obtenidos para los tiempos de retención y de las áreas en las tres derivatizaciones que se realizaron. Los picos correspondientes a los ésteres metílicos de los ácidos grasos derivatizados del aceite de oliva se muestran en la siguiente figura.

Figura 16. cromatograma de la derivatización del aceite de oliva



La tabla 9 muestra la reproducibilidad y repetibilidad de los tiempos de retención y de las áreas para el proceso de derivatización del aceite de oliva.

Tabla 9. Reproducibilidad y repetibilidad del proceso de derivatización

Pico No	<i>Tiempos de retención</i>			
	1	2	3	4
	<b>M. palmitato</b>	<b>M. palmitoleico</b>	<b>M. oleato</b>	<b>M. linoleato</b>
X	13.789	14.050	16.128	16.817
S	0.0085	0	0.0344	0.0217
CV	0.061	0	0.0211	0.128

Pico No	<i>Áreas</i>			
	1	2	3	4
	<b>M. palmitato</b>	<b>M. palmitoleico</b>	<b>M. oleato</b>	<b>M. linoleato</b>
X	77675.333	10375.667	332763	81631
S	47862.764	6918.479	209844.425	50775.777
CV	61.618	66.670	63.061	62.200

Se tomó como referencia los ácidos grasos oleico, palmítico y linoleico presentes en el aceite de oliva a los cuales se les conoce la composición en porcentaje (reportado por el fabricante), con lo que se calcula los porcentajes en proporción de los tres ácidos grasos del aceite.

La tabla 10 muestra los porcentajes en proporción para los tres ácidos grasos cuantificados en el aceite de oliva.

Tabla 10. Porcentaje en proporción de los ácidos oleico, palmítico y linoleico en el aceite de oliva empleado

<i>Ácido Graso</i>	<i>Proporción Teórica %</i>	<i>Proporción Experimental %</i>	<i>Relación de proporción %</i>
Oleico	69,5	50.4	72.5
Palmítico	13.8	12.2	88.4
Linoleico	12,3	11.1	90.2

El método de análisis de ácidos grasos fue eficiente ya que al evaluar conjuntamente la extracción, derivatización y análisis cromatográfico con el aceite de oliva comercial, se obtuvieron porcentajes de proporción cercanos al valor teórico para los tres ácidos grasos cuantificados. La precisión en los tiempos de retención es alta por lo tanto el método es reproducible.

## 4.2. IDENTIFICACIÓN DE LAS GRASAS Y LOS ACEITES EN EL AGUA CRUDA Y TRATADA

4.2.1 Identificación y cuantificación de los ácidos grasos en las muestras analizadas. Después de realizados los procesos de extracción y derivatización de las grasas y aceites, se procedió al análisis por GC y CG/MS. Los tiempos de retención de los FAME,s se compararon con los tiempos de retención de las muestras analizadas con un intervalo de confianza del 95% (Ver tabla 5). Así mismo se compararon los espectros de masas de las mismas con los espectros de masas de los estándares y con la biblioteca del GC/MS SHIMADZU QP5000 PMW-TOX2.LIB. La cuantificación de los ácidos grasos se realizó mediante el método del estándar interno (metil Caprilato); el factor de respuesta del estándar interno con respecto a los demás estándares se calculó empleando la siguiente formula:

$$Fr = Ais \times Csc / Cis \times Asc$$

Ecuación 11

Donde:

Fr = Factor de respuesta

Ais = Área del estándar interno

Csc = Concentración del compuesto de interés

Cis = Concentración del estándar interno

Asc = Área compuesto de interés

$$Csc = Cis \times Asc \times Fr / Ais$$

Ecuación 12

Csc = Concentración del compuesto de interés

La determinación del factor de respuesta se realizo por triplicado.

Tabla 11. Factor de Respuesta para los 10 componentes

Compuesto	Conc ppm	Area (Cuentas)	Promedio	Desviación Estándar	% CV	<i>Factor de respuesta</i>
M. butirato	6,0	324		17,388	5,355	1.7304
M. isovalerato	6,0	150		6,557	4,370	3.7370
M. valerato	6,0	197		14,930	7,580	2.8459
M. undecanoato	6,0	560		41,200	7,350	1.0011
M. laurato	6,0	540		39,345	7,280	1.0380
M. palmitato	6,0	336		19,655	5,740	1.6686
M. palmitoleato	6,0	176		7,638	4,320	3.1854
M. oleato	6,0	519		42,930	7,400	1.0802
M. linoleato	6,0	557		32,930	5,556	1.0065
M. linolenato	6,0	402		31,320	7,184	1.3946
Estándar Interno	12,5	1168		90,941	7,120	

A continuación se presentan los ácidos grasos encontrados en el agua cruda y tratada en los tres sistemas de tratamiento y en la red de distribución.

Tabla 12. Ácidos grasos presentes en las muestras analizadas

<i>Planta de tratamiento</i>	<i>Tipo de agua</i>	<i>Ácido graso</i>	<i>Concentración Promedio en ppm</i>	<i>Número de moles Promedio</i>
Centenario	Cruda	Palmítico	0.0882	$1.72 \times 10^{-7}$
		Palmitoleico	0.0237	$4.66 \times 10^{-8}$
		Oleico	0.0722	$1.28 \times 10^{-7}$
		Linoleico	0.0153	$2.73 \times 10^{-8}$
	Tratada	Palmítico	0.0385	$7.51 \times 10^{-8}$
		Palmitoleico	0.0378	$7.44 \times 10^{-8}$
		Oleico	0.1130	$2.00 \times 10^{-7}$
		Linoleico	0.0356	$6.35 \times 10^{-8}$
Mijitayo	Cruda	Palmítico	0.0601	$1.17 \times 10^{-7}$
		Palmitoleico	0.1007	$1.98 \times 10^{-7}$
		Oleico	0.0219	$3.89 \times 10^{-8}$
		Linoleico	0.0146	$2.60 \times 10^{-8}$
	Tratada	Palmítico	0.0428	$8.63 \times 10^{-8}$
		Palmitoleico	0.0791	$1.55 \times 10^{-7}$
		Oleico	0.0297	$5.25 \times 10^{-8}$
		Linoleico	0.0112	$2.0 \times 10^{-8}$
San Felipe	Cruda	Palmítico	0.0152	$2.95 \times 10^{-8}$
		Palmitoleico	0.0250	$4.92 \times 10^{-8}$
		Oleico	$6.05 \times 10^{-3}$	$1.07 \times 10^{-8}$
		Linoleico	$4.37 \times 10^{-3}$	$7.80 \times 10^{-9}$
	Tratada	Palmítico	0.0255	$4.97 \times 10^{-8}$
		Palmitoleico	0.0183	$3.60 \times 10^{-8}$
		Oleico	$7.60 \times 10^{-3}$	$1.35 \times 10^{-8}$
		Linoleico	0.0095	$1.69 \times 10^{-8}$
Red (barrio Navarrete)	Tratada	Palmítico	$5.26 \times 10^{-3}$	$1.03 \times 10^{-8}$
		Palmitoleico	0.0549	$1.08 \times 10^{-7}$
		Oleico	$5.13 \times 10^{-3}$	$9.06 \times 10^{-9}$
		Linoleico	$5.80 \times 10^{-3}$	$1.03 \times 10^{-8}$

Los cromatogramas junto con los tiempos de retención de algunas de las muestras analizadas se muestran en el anexo C. En el anexo D y E se encuentran los cálculos y los datos de la cuantificación de los ácidos grasos presentes en las muestras.

Con la biblioteca PMW-TOX2.LIB del CG/MS SHIMADZU QP 5000 y con los espectros de masas de los estándares reportados por el fabricante (Alltech State College, PA) se logró identificar con un porcentaje de confiabilidad del 90% los ácidos grasos mencionados anteriormente e igualmente se identificó el ácido esteárico en tres muestras de agua tratada de Centenario y en cuatro muestras de agua cruda de Mijitayo.

Generalmente los ácidos esteárico y palmítico se encuentran juntos en la mayoría de las grasas y aceites naturales, es decir, el ácido esteárico puede estar presente en las muestras analizadas ya que en ellas se encuentra también el ácido palmítico.

Los espectros de masas de los cinco FAMEs identificados en las muestras de agua cruda y tratada se indican en el anexo G. Aquí se comparan los espectros de masas de las muestras analizadas con los espectros de masas de los estándares y de la biblioteca PMW-TOX2.LIB del CG/MS SHIMADZU QP 5000.

En la tabla No 12 se puede observar que los ácidos grasos palmítico, palmitoleico, oleico y linoleico están presentes en el agua cruda y tratada de las tres plantas de tratamiento. En la red se identificó los mismos ácidos grasos, ya que las grasas y aceites son transportados por el sistema de distribución sin sufrir ningún tipo de retención o degradación química o biológica. De estos ácidos grasos el palmítico y oleico son los que se encuentran en mayor proporción.

Los cinco ácidos grasos encontrados en las muestras analizadas son comunes en grasas como: manteca de vaca, de cerdo, grasa de leche, cera de abejas, grasa de semillas oleaginosas. Los aceites más comunes en los cuales se encuentran estos ácidos grasos son los aceites de palma, girasol, maíz, oliva, linaza, soja, también en la raíz de valeriana y en semillas de cilantro.

Aunque en la mayoría de las muestras la concentración de ácidos grasos encontrados es más alta en el agua cruda que en la tratada, se puede observar en la tabla 12 que el agua cruda en algunas muestras tiene una menor concentración de ácidos grasos que en agua tratada; esto posiblemente se debe a que la matriz de agua cruda para el análisis tiene un mayor número de interferencias, como lo son los sólidos, la materia orgánica, que ocasionan emulsiones en las muestras. En el agua tratada este tipo de interferencias no son tan altas.

El agua cruda y tratada que del sistema de tratamiento de centenario es la que presenta mayor concentración de grasas y aceites; esto debido a que la fuente de abastecimiento de agua cruda (Río pasto) para esta planta tiene una mayor influencia de actividades agrícolas y domésticas; así mismo la población que se encuentran en las riberas de las fuentes de agua para esta planta es más significativa con respecto a Mijitayo y San Felipe.

4.2.2 Determinación de los triglicéridos. La determinación de los triglicéridos de número de carbonos equivalente a 42 (ECN42) se realizó según el método presentado por el Consejo Oleícola Internacional<sup>52</sup>. Este método es aplicable para determinar la diferencia entre el contenido teórico y el contenido real de triglicéridos en aceites de oliva. El método se utilizó para determinar los posibles triglicéridos presentes en el agua cruda y tratada. Este método se compone en dos fases: 1) determinación de la composición de ácidos grasos mediante cromatografía de gases y 2) cálculo de la composición teórica de triglicéridos con ECN 42. Ver anexo F

Con este método se obtienen los porcentajes en moles de cada ácido graso en las posiciones 1-3 y 2 de los correspondientes triglicéridos. A continuación se presentan dichos porcentajes para los ácidos grasos encontrados.

---

<sup>52</sup> CONSEJO OLIECOLA INTERNACIONAL. 2005

Tabla 13. Porcentaje en moles de cada ácido graso en las posiciones 1-3 y 2 de los triglicéridos.

Planta de tratamiento	Tipo de agua	Ácido graso	% en moles en las pos.1-3	% en moles en la pos. 2
Centenario	Cruda	Palmítico	67.643	2.760
		Palmitoleico	7.476	21.896
		Oleico	21.238	60.040
		Linoleico	4.370	13.155
	Tratada	Palmítico	26.714	1.092
		Palmitoleico	16.115	21.750
		Oleico	43.411	58.590
		Linoleico	13.760	18.570
Mijitayo	Cruda	Palmítico	45.364	1.854
		Palmitoleico	41.150	73.916
		Oleico	8.090	14.525
		Linoleico	5.400	9.705
	Tratada	Palmítico	40.400	1.650
		Palmitoleico	40.644	67.070
		Oleico	13.823	22.301
		Linoleico	5.230	8.630
San Felipe	Cruda	Palmítico	43.980	1.795
		Palmitoleico	40.645	71.335
		Oleico	8.670	15.210
		Linoleico	6.443	11.310
	Tratada	Palmítico	62.894	2.570
		Palmitoleico	20.127	52.850
		Oleico	7.465	19.670
		Linoleico	9.490	24.914
Red (barrio Navarrete)	Tratada	Palmítico	10.993	0.441
		Palmitoleico	75.417	84.351
		Oleico	6.370	7.123
		Linoleico	7.221	8.076

Al comparar estos valores con los reportados por la literatura<sup>53</sup> (ver tabla 14) los porcentajes en moles de cada ácido graso en las posiciones 1-3 y 2 no tienen ninguna correlación, es decir, los ácidos grasos encontrados provienen de mezclas de grasas, aceites, ácidos grasos libres o alguna de las posibles combinaciones de estas tres sustancias.

<sup>53</sup> FENNEMA O. Química de los alimentos. 1993

Tabla 14. Posición de los ácidos grasos individuales en los triglicéridos de algunas grasas y aceites naturales

Fuente	Posición	Ácido graso (% en moles)						
		6:0	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2
Leche de vaca	1-3	14	6	18	46	19	36	1.5
	2	5	6	20	33	6	14	3
Coco	1-3	4	77	37	17	3.5	7	—
	2	0.3	78	8	1	0.5	3	2
Manteca de cacao	1-3				71	103	21	—
	2				2	2	87	9
Maíz	1-3				32	34	80	51
	2				2	—	27	70
Oliva	1-3				30	7	146	15
	2				1	—	83	14
Vaca (depósito)	1-3			5	63	41	57	9
	2			9	17	9	41	5
Cerdo (tocino)	1-3					37	124	24
	2			—	—	2	13	3

6:0 Caproico, 12:0 Láurico, 14:0 Mirístico, 16:0 Palmítico, 18:0 Esteárico, 18:1 Oleico, 18:2 Linoleico

Como se dijo anteriormente, los ácidos grasos encontrados permiten establecer una relación con la fuente o procedencia de los mismos, es decir, las posibles grasas y/o aceites se pueden identificar con los ácidos grasos que las constituyen. Basándose en esto se puede inferir que entre los principales factores que influyen para que el agua de abastecimiento del municipio de Pasto este contaminada con dichos compuestos están las actividades agrícolas, como siembra de hortalizas, verduras, y demás productos alimenticios a las orillas tanto del Río Pasto, como de las quebradas Chapal y Mijitayo y Río bobo. El ganado vacuno, porcino y los desechos sólidos que origina esta actividad puede ser otro foco que genera la concentración de grasas y aceites en el agua cruda y tratada.

Igualmente el vertimiento de aguas residuales de origen domestico origina este tipo de contaminantes, sobre todo de las viviendas ubicadas en las orillas de las fuentes de agua (Río Pasto, quebrada Chapal). Otras fuentes de contaminación son las actividades que realizan las personas, como el lavado de ropa en las fuentes y la contaminación por desperdicios y residuos sólidos que se arrojan en los ríos y las quebradas. Teniendo en cuenta que para la planta de Centenario

desde la bocatoma de Buesaquillo, hasta la entrada del agua a la planta, el canal que la conduce es un canal abierto, expuesto a cualquier tipo de contaminación antropogénica o natural. La presencia de grasas y aceites contraviene el decreto 475 de 1998 expedido por el ministerio de salud que regula las normas de calidad del agua potable, el cual dice que este tipo de sustancias deben estar ausentes

En la figura 17 a, b y c se pueden observar diferentes cultivos y actividades que pueden originar contaminación de grasas y aceites en el agua que alimenta el sistema de acueducto del municipio de Pasto.

Figura 17. Cultivos y actividades agrícolas encontrados a la orilla de la quebrada Mijitayo

a) Cultivo de Cilantro ubicados a orillas de la quebrada Mijitayo



Las actividades agrícolas originan residuos sólidos que son arrojados a las fuentes de agua

b) Ganado Vacuno



Aunque la actividad ganadera no es tan intensificada en la región, el ganado vacuno puede ser una causa de contaminación de grasas y aceites; sobretodo por el lavado de cantinas y recipientes donde se almacena la leche en las fuentes de agua cruda.

### c) Viviendas



La ubicación de viviendas, la mayoría sin un sistema de alcantarillado a orillas del las quebradas Mijitayo y Río Pasto, fuentes de abastecimiento de agua cruda del acueducto del municipio de Pasto son algunos de los posibles factores que causen la presencia de grasas y aceites en el agua, principalmente por el vertimiento de aguas residuales domesticas, residuos sólidos y actividades agrícolas.

En la actualidad no se esta cumpliendo con la norma del ministerio del medio ambiente la cual reglamenta guardar un margen de 30 metros a lado y lado de los recursos hídricos.

## 5. CONCLUSIONES

- En la validación de las condiciones cromatográficas, la reproducibilidad y la repetibilidad obtenidas tanto para los tiempos de retención como para las áreas cromatográficas son favorables ya se obtuvieron coeficientes de variación bajos ( $1,397 \times 10^{-6}$  a 0,0841 para los tiempos de retención y 3,615 a 7,853 para las áreas), por lo tanto los resultados son satisfactorios, lo que demuestra la buena precisión del análisis cromatográfico y la fiabilidad del método.
- La mezcla de hexano – diclorometano (80:20) utilizada para la extracción de las grasas y los aceites resultó adecuada ya que se obtuvieron porcentajes de recuperación altos con un promedio de 94.1%, una desviación estándar de 0.61 y un coeficiente de variación de 0.65.
- El proceso de derivatización con metanol-ácido clorhídrico fue eficiente, reproducible y repetitivo mostrando un rango de 0.0085 a 0.0344 para la desviación estándar de los tiempos de retención de los cuatro ácidos grasos encontrados y un coeficiente de variación menor a 1 para los mismos ácidos grasos.
- Los principales ácidos grasos encontrados en el agua que abastece al sistema de acueducto del Municipio de Pasto son los ácidos Palmítico, Palmitoleico, Oleico, Linoleico y Esteárico; los cuales son constituyentes de grasas como: manteca de vaca, cerdo, cabra, grasa de leche, cera de abejas, grasa de semillas. Los principales aceites en los cuales se encuentran estos ácidos grasos son los aceites de palma, girasol, maíz, oliva, linaza, soja, raíz de valeriana, de semilla de cilantro.
- Los causes de las cuencas que surten de agua las plantas de tratamiento del Municipio de Pasto están influenciadas por ganado vacuno, porcino, cultivos de hortalizas, actividades agrícolas y asentamiento humanos que generan residuos sólidos y aguas residuales domésticas. Estas pueden ser las posibles causas o focos de contaminación de grasas y aceites en el agua potable.

- Los ácidos grasos encontrados provienen de grasas, aceites y ácidos grasos libres o una de las posibles combinaciones de estas tres sustancias, ya que al comparar los valores de los porcentajes en moles de cada ácido graso en las posiciones 1-3 y 2 de los triglicéridos con los reportados en la literatura no se encontró ninguna relación en los porcentajes en moles que permitan identificar uno u otro triglicérido de una grasa o aceite en particular.
- Es necesario hacer una revisión completa de las actividades que se realizan en las cuencas de las fuentes que abastecen cada bocatoma para implementar planes de manejo que permitan hacer control y/o eliminación de estas sustancias antes de que sean recepcionadas en las plantas de tratamiento. Este proceso se debe realizar con la colaboración de las autoridades ambientales como CORPONARIÑO

## 6. RECOMENDACIONES

Se recomienda la implementación y aplicación de esta metodología estandarizada y validada en los laboratorios de la Universidad de Nariño para identificar y cuantificar ácidos grasos en agua tratada, aguas residuales y en otras matrices líquidas.

Tener como base esta investigación y continuar con la misma para llegar a la génesis del problema y así poder hacer un seguimiento a dichos contaminantes con el fin de obtener resultados que conduzcan a controlar las causas que contaminan las aguas objeto de estudio.

Usar metodologías estandarizadas para identificar otras sustancias (p.ej pesticidas) que puedan estar contaminando las aguas crudas que son utilizadas para el abastecimiento público.

Fortalecer los vínculos entre la universidad de Nariño y las empresas públicas y privadas con el propósito de continuar con las investigaciones en pro de la protección y recuperación del medio ambiente, en especial de los recursos hídricos de la región e implementar campañas educativas y formativas para la conservación y adecuado uso de los recursos hídricos.

Implementar un sistema o proceso que elimine o controle las grasas y los aceites como filtros especiales para estas sustancias

## 7. BIBLIOGRAFIA

ANALYTICAL VALIDATION, Volumen 3A of The Rules Governing Medicinal Products in the European Community. Washington D.C.: The Office Publications of the European Community Information Service, 1990;1-16.

APHA, AWWA. WPCF. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Ed. Díaz de Santos. Madrid, 1992.

ARCE, A. Serie autodidáctica de la medición de la calidad del agua. Coordinación de tecnología hidráulica. Ciudad de México. 1998, 27 pag.

BRITISH STANDARD NO. BS 5497. Precision of Test Methods. 1979; pte 1.

CALPENA AC, ESCRIBANO E, FERNÁNDEZ C. Validación de los métodos analíticos. *Farm Clin* 1991;7(9):749-58.

CAMACHO MA, TORRES AI, GIL ME, OBREGÓN MM, RUZ V. Validation protocol of analytical methods for finished pharmaceutical products. *ATP Pharma Practique* 1993;3(3):197-202.

CATALÁN, J. Química del Agua. Madrid, editorial Bellisco, 1990.

CEPIS. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencia del Ambiente. Cited 26 Sep,. 2004]. Available from internet: <http://www.cepis.ops-oms.org>.

CHRISTIE, W.W. Gas chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acids. *Lipids*, 33, 343-353 (1998).

CHRISTIE, W.W., in *Topics in Lipid Chemistry*. Vol. 3, pp. 171-197 (1972).

CIUCANU, I. AND KEREK, F., *J. Chromatogr.*, 257, 101-106 (1983). (1989).

CONSEJO OLEICOLA INTERNACIONAL. Método de análisis. Determinación de la diferencia entre el contenido real y el contenido teórico en triglicéridos con ECN. 42. [Cited Jul,. 2005]. Available from internet: [www.internationaloliveoil.org/downloads/testing8es.pdf](http://www.internationaloliveoil.org/downloads/testing8es.pdf)

DESAIN C. Master method validation protocols. *Biopharm* 1992;30-4

ECKENFELDER JR., W.W, PATOCZKA, J. Y A.T. WATKIN: "wastewater", *chem. Eng.*, Septiembre de 1985, vol. 92, No. 18, pp. 60-74.

FENNEMA, O. Química de los alimentos. Zaragoza, Ed. Acribia. 1993, pag. 169

FINAR, I. Química Orgánica I. Madrid, Ed. Alambra. 1974, pag. 581

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Drugs and Biologics, Department of Health and Human Service. Guideline for Submitting Samples and Analytical Data for Method Validation. February, 1987.

GLASS, R.L., Lipids, 6, (1971). 919 – 925

GREENLIEF. Fatty acid determination using gas chromatography. CH 4200. Fall.2004

HARTMAN,L., J. Am. Oil Chem. Soc., (1965).42, 664.

ISAIAH, N.H., SUBBARAO, R. AND AGGARWAL, J.S., J. Chromatogr., 43, 519-522 (1969).

MARTIN-SMITH M, RUDD DR. The importance of proper validation of the analytical methods employed in the quality control of pharmaceuticals. Acta Pharm Jugosl 1990;40:7-19.

MEHLENBACHER. V.C. Análisis de grasas y aceites. Enciclopedia de la Química industria, tomo VI. Ed Urmo. Bilbao, 1960.

MILLER, J. Estadística y quimiometría para química analítica. Madrid, Ed. Prentice may, 2002, p, 4-9l

MOLNAR-PERL,I. AND PINTER-SZAKACS,M., J. Chromatogr., 365, 171-182 (1986).

MONDELLO, L; TRANCHIDA, P; COSTA, R; CASILLI, A; DUGO, P; COTRONEO, A Y DUGO, G. Fast GC for the analysis of fats and oils. Journal Sci. 2003, 26, 1467 –1473.

MORRISON, W.R. AND SMITH,L.M., J. Lipid Res., 5, 600-608 (1964).

NORMA CUBANA NC: 26-212. Evaluación de características y validación de métodos de ensayo. Buenas prácticas de laboratorio. Comité Estatal de Normalización. La Habana: Ministerio de Salud Pública, Marzo, 1992:16.

NORMAS RAS 2000. [Cited 12 Dic., 2005]. Available from internet:<<http://www.cra.gov.co/gc/www/resoures/tituloc.pdf>

PEAUCHANT, E., WOLFF., SALLES, C. AND JENSEN, R. Anal. Biochem., 181, 341-344

PITTS J.S, Y THOMPSON I.C. Analysis and Classification of common vegetable oils. Journal Forensic Sci. Nov 2003. Vol 48 No 6.

RAMPAZOO P. Standardisation and validation of analytical methods in the pharmaceutical industry. Il Farmaco 1990;45:807-15.

ROMERO J, Acuíquímica. Bogotá, editorial Escuela Colombiana de Ingeniería.1996. p 360.

SEGURA,R., J. Chromatogr., 441, 99-113 (1988).

SKOOG, D. HOLLER, J. NIEMAN, T. Principios de análisis instrumental. Madrid: Mc Graw-Hill, 1992.

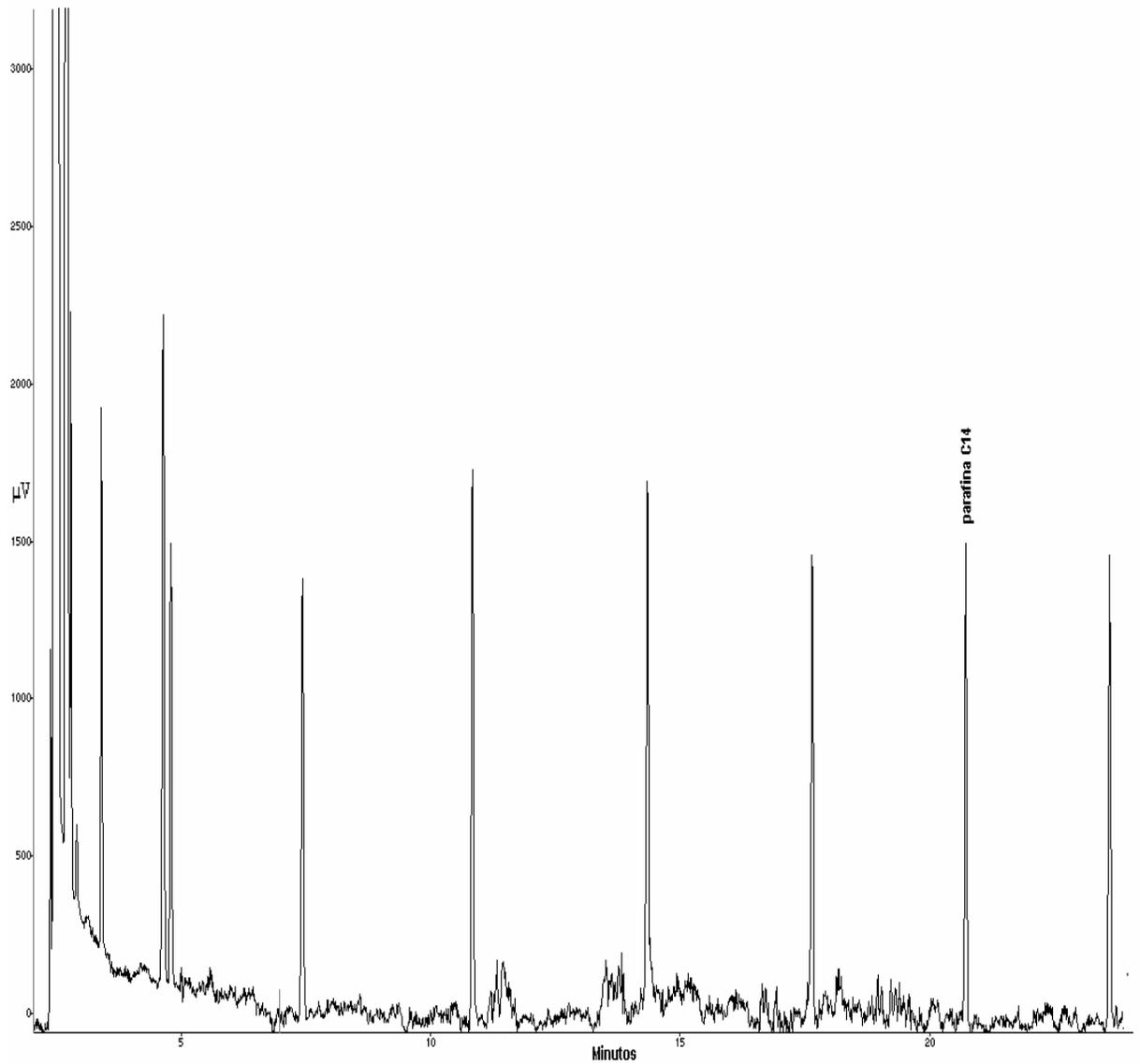
TORRES AI, CAMACHO MA. Validation of two analytical methods applied to two new cytostatic drugs. STP Pharma Practique 1992;2(2):93-9.

United States Pharmacopeial Convention USP XXII: United States Pharmacopeia. 22ed. Easton: Mack Printing, 1990:1225,1710.

WILLARD, HOBART. Métodos instrumentales de análisis. México: Iberoamericana, 1991. P, 30-60

## 8. ANEXOS

Anexo A. cromatograma de la mezcla de n – parafinas (C5-C15) a un flujo de 1 mL/min

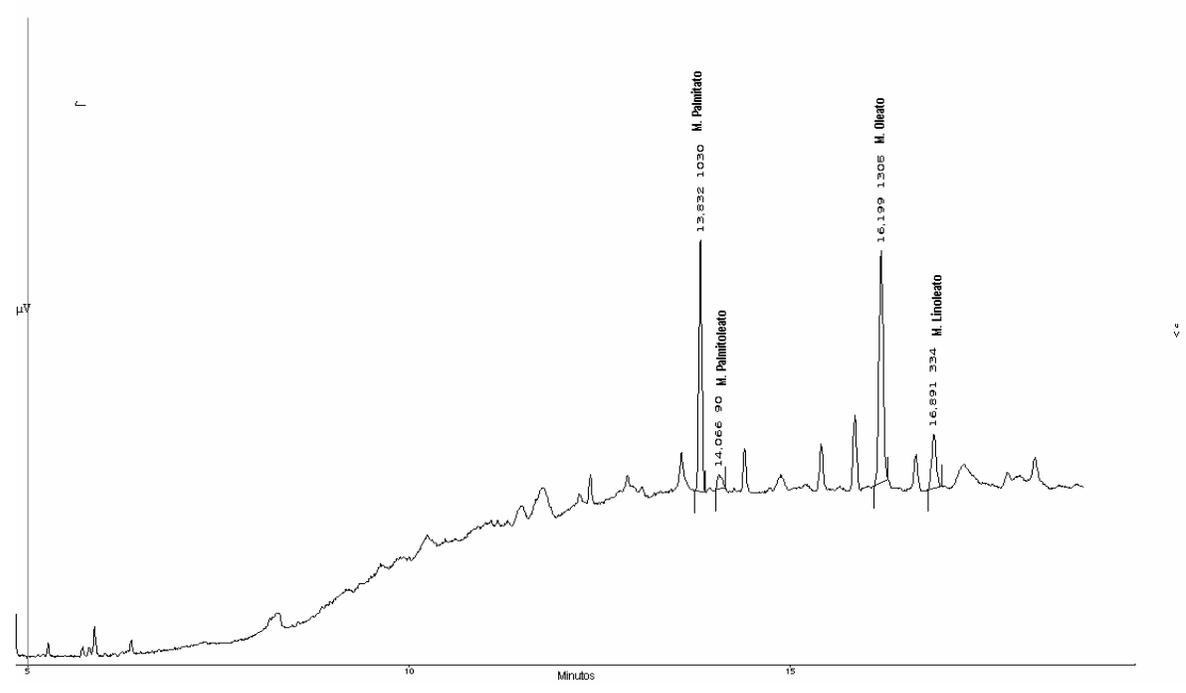


Anexo B. Composición de la muestra de referencia

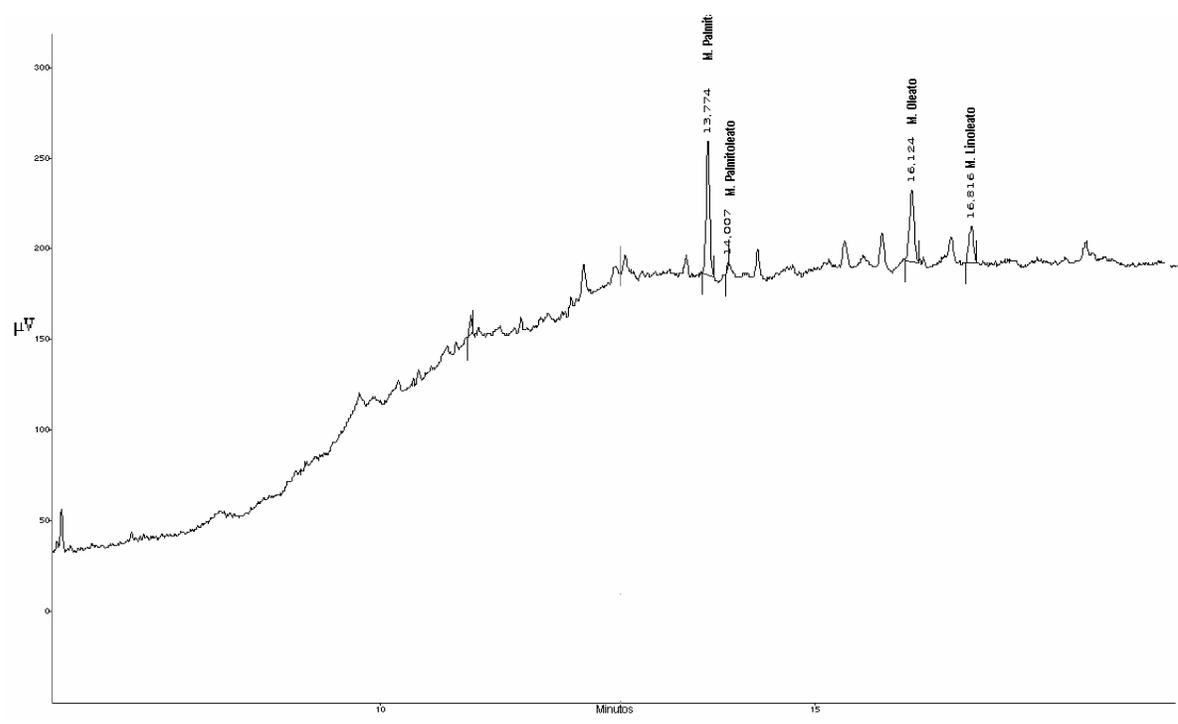
Composición	Concentración en ppm
CO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	34.2
SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	20.6
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4.3
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.1
Ca <sup>++</sup>	17.2
Mg <sup>++</sup>	22.5
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.1
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	2.0
pH	6.68

Anexo C. Cromatogramas con los tiempos de retención de los compuestos identificados en las muestras analizadas

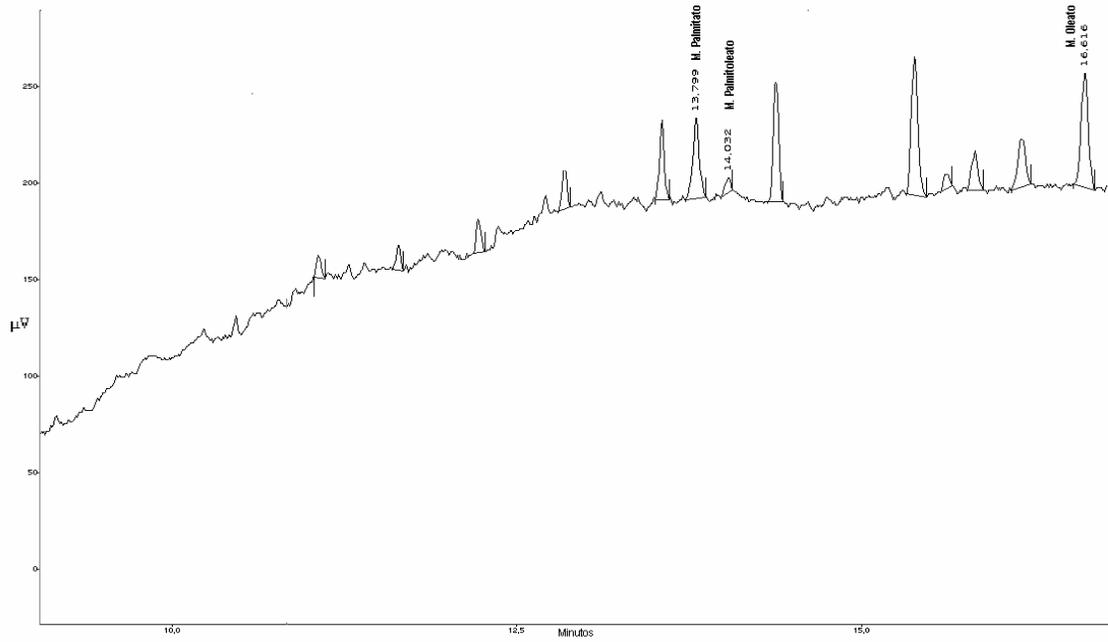
Planta Centenario: agua cruda  
¡Error!



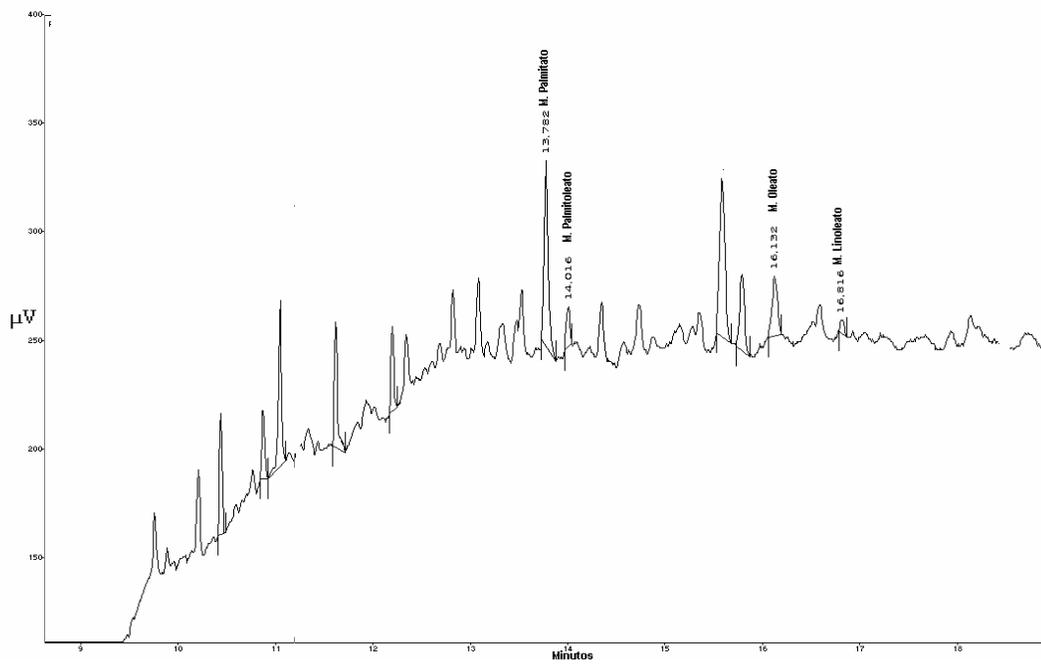
Planta Mijitayo: agua cruda  
¡Error!



### Planta San Felipe: Agua Cruda;Error!



### Red de distribución: Barrio Navarrete



## Anexo D. Cálculos de la concentración de los ácidos grasos para la muestras analizadas

### Acido Palmitico presente en el agua cruda planta Centenario

Utilizando la ecuación 11, sección 4.2.1 se encuentra la concentración de cada metil ester presente en las muestra analizadas para posterior conversión al ácido graso de la siguiente manera

$$C_{sc} = C_{is} \times A_{sc} \times Fr/A_{is}$$

Muestra 1.

Volumen de muestra total= 500 mL (0,5 L) <sup>1</sup>

Volumen final de la muestra concentrada=3,6 mL (0,0036 L)

Concentración estándar Interno 12,5 ppm

Area Estándar Interno = 963

Areas compuestos de interés: Metil palmitato 580

Factor de respuesta = 1,6686

Muestra	Area (Cuentas)
1	580
2	731
3	1261
4	355

$$\begin{aligned} \text{Concentración Metil Palmitato} &= C_{is} \times A_{sc} \times Fr/A_{is} \\ &= (12,5 \text{ ppm} \times 580 \times 1,6686 / 963) = 12,562 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$12,562 \text{ mg/L metil Palmitato} \times 0,0036 \text{ L} = 0,0452 \text{ mg Metil Palmitato}$$

$$0,0452 \text{ mg metil Palmitato} = 0,0000452 \text{ g metil palmitato}$$

$$0,0000452 \text{ g metil palmitato} \times (256,4 \text{ g ácido palmitico} / 270,4 \text{ g metil palmitato})$$

$$= 0,0000428 \text{ g ácido palmitico} = 0,0428 \text{ mg Acido palmitico}$$

$$0,0428 \text{ mg Acido palmitico} / 0,5 \text{ L} = 0,0857 \text{ ppm acido palmitico en la muestra total (500 mL)}$$

<sup>1</sup> Este volumen corresponde al volumen de muestra al cual se le realiza la extracción con hexano-diclorometano y corresponde a todas las muestras analizadas. Ver sección 3.3.4.2

Numero de moles =  
0,0000428 g ácido palmitico x ( 1 mol ácido palmitico / 256,4 g ácido palmitico)  
=1,672 x 10<sup>-7</sup> moles ácido palmitico

Muestra 2.

Volumen de muestra total= 500 mL (0,5 L)  
Volumen final de la muestra concentrada=2.0 mL (0,0020 L)  
Concentración estándar Interno 12,5 ppm  
Area Estándar Interno = 381  
Areas compuestos de interés: Metil palmitato: 731  
Factor de respuesta = 1,6686

Concentración Metil Palmitato =  $Cis \times Asc \times Fr/Ais$   
=(12,5 ppm x 731 x 1,6686/ 381) = 40,0180 ppm

40,018 mg/L metil Palmitato x 0,0020 L = 0,0800 mg Metil Palmitato

0,0452 mg metil Palmitato = 0,0000800 g metil palmitato

0,0000800 g metil palmitato x (256,4g ácido palmitico / 270,4 g metil palmitato)

=0,0000758 g ácido palmitico = 0,0759 mg Acido palmitico

0,0758 mg Acido palmitico / 0,5 L = 0,1520 ppm acido palmitico en la muestra total (500 mL)

Numero de moles =  
0,0000758 g ácido palmitico x ( 1 mol ácido palmitico / 256,4 g ácido palmitico)  
=2,960 x 10<sup>-7</sup> moles ácido palmitico

Muestra 3.

Volumen de muestra total= 500 mL (0,5 L)  
Volumen final de la muestra concentrada=1,9 mL (0,0020 L)  
Concentración estándar Interno 12,5 ppm  
Area Estándar Interno = 873  
Area compuesto de interés: Metil palmitato: 1261  
Factor de respuesta = 1,6686

Concentración Metil Palmitato =  $Cis \times Asc \times Fr/Ais$   
=(12,5 ppm x 1261 x 1,6686/ 873) = 30,128 ppm

30,128 mg/L metil Palmitato x 0,0019 L = 0,0572 mg Metil Palmitato

0,0572 mg metil Palmitato = 5,72 x 10<sup>-5</sup> g metil palmitato

$5,72 \times 10^{-5}$  g metil palmitato x (256,4g ácido palmitico / 270,4 g metil palmitato)

= $5,42 \times 10^{-5}$  g ácido palmitico = 0,0542 mg Acido palmitico

0,0542 mg Acido palmitico / 0,5 L = 0,108 ppm acido palmitico en la muestra total (500 mL)

Numero de moles =

$5,42 \times 10^{-5}$  g ácido palmitico x ( 1mol ácido palmitico / 256,4 g ácido palmitico)  
= $2,116 \times 10^{-7}$

Muestra 4.

Volumen de muestra total= 500 mL (0,5 L)

Volumen final de la muestra concentrada=0,8 mL (0,00080 L)

Concentración estándar Interno 12,5 ppm

Area Estándar Interno = 1672

Area compuesto de interés: Metil palmitato: 355

Factor de respuesta = 1,6686

Concentración Metil Palmitato =  $Cis \times Asc \times Fr/Ais$

$= (12,5 \text{ ppm} \times 355 \times 1,6686 / 1672) = 4,428 \text{ ppm}$

4,428 mg/L metil Palmitato x 0,00080 L = 0,00354 mg Metil Palmitato

0,00354 mg metil Palmitato =  $3,54 \times 10^{-6}$  g metil palmitato

$3,54 \times 10^{-6}$  g metil palmitato x (256,4g ácido palmitico / 270,4 g metil palmitato)

= $3,35 \times 10^{-6}$  g ácido palmitico = 0,00335 mg Acido palmitico

0,00335 mg Acido palmitico / 0,5 L = 0,00671 ppm ácido palmitico en la muestra total (500 mL)

Numero de moles =

$3,35 \times 10^{-6}$  g ácido palmitico x ( 1mol ácido palmitico / 256,4 g ácido palmitico) =  
 $1,30 \times 10^{-8}$  moles ácido palmitico

Muestra No	Concentración ppm	Numero de Moles
1	0,0857	$1,672 \times 10^{-7}$
2	0,1520	$2,960 \times 10^{-7}$
3	0,1085	$2,116 \times 10^{-7}$
4	0,0067	$1,309 \times 10^{-8}$
Promedio	0,0820	$1,720 \times 10^{-7}$

Los cálculos para todas las muestras se realiza de la misma manera, tomando como promedio el numero de ácidos grasos identificados por planta de tratamiento en el agua cruda y tratada. Por ejemplo en la planta de tratamiento de centenario, en el agua tratada él ácido palmitico se encuentra en dos de las cuatro muestras analizadas; por lo tanto el promedio para de ácido palmitico resulta de dividir el total de la concentración de ácido palmitico entre dos. Los datos de las muestras analizadas se encuentran consignados en el anexo E

Anexo E. Tablas de datos para la cuantificación de las muestras de agua cruda y tratada

AGUA CRUDA PLANTA CENTENARIO

Metil Palmitato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	Factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	13,774	3,6	580	963	1,6686	0,0904	0,0857	$1,6720 \times 10^{-7}$
2	13,782	2,0	731	381	1,6686	0,1601	0,1520	$2,959 \times 10^{-7}$
3	13,782	1,9	1261	873	1,6686	0,1144	0,1085	$2,1164 \times 10^{-7}$
4	13,775	0,8	355	1672	1,6686	0,0071	0,00672	$1,3090 \times 10^{-8}$
Promedio							0,0882	$1,720 \times 10^{-7}$

Metil Palmitoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	14,057	3,6	28	963	3,1854	0,0083	0,0079	$1,5530 \times 10^{-8}$
2	14,059	2,0	96	381	3,1854	0,0401	0,0380	$7,4773 \times 10^{-8}$
3	14,059	1,9	154	873	3,1854	0,0267	0,0253	$4,9731 \times 10^{-8}$
4	N.I. <sup>2</sup>	0,8	0	1672	3,1854	0	0	
Promedio							0,0237	$4,6678 \times 10^{-8}$

<sup>2</sup> N.I.=No Identificado

Metil Oleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester	Area estándar interno	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,124	3,6	1264	963	1,0802	0,1276	0,1216	$2,1523 \times 10^{-7}$
2	16,132	2,0	697	381	1,0802	0,0988	0,0942	$1,6666 \times 10^{-7}$
3	16,133	1,9	1273	873	1,0802	0,0748	0,0713	$1,2610 \times 10^{-7}$
4	16,116	0,8	143	1672	1,0802	0,0018	0,0017	$3,1166 \times 10^{-9}$
						Promedio	0,0722	$1,2780 \times 10^{-7}$

Metil Linoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,817	3,6	311	963	1,0065	0,0292	0,0278	$4,966 \times 10^{-8}$
2	16,818	2,0	149	381	1,0065	0,0197	0,0187	$3,3401 \times 10^{-8}$
3	16,824	1,9	269	873	1,0065	0,0147	0,0140	$2,5008 \times 10^{-8}$
4	16,818	0,8	49	1672	1,0065	0,0006	0,00056	$1,0015 \times 10^{-9}$
						Promedio	0,0153	$2,7270 \times 10^{-8}$

AGUA TRATADA PLANTA CENTENARIO

Metil Palmitato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	1,0	0	629	1,6686	0	0	0
2	N.I	4,0	0	683	1,6686	0	0	0
3	13,790	1,9	579	624	1,6686	0,0735	0,0697	$1,3596 \times 10^{-7}$
4	13,789	2,5	142	1915	1,6686	0,0077	0,0073	$1,4296 \times 10^{-8}$
						Promedio	0,0385	$7,5126 \times 10^{-8}$

Metil Palmitoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	14,059	1,0	365	629	3,1854	0,0462	0,0438	$8,6100 \times 10^{-8}$
2	N.I	4,0	0	683	3,1854	0	0	0
3	14,016	1,9	296	624	3,1854	0,0716	0,0679	$1,3351 \times 10^{-7}$
4	14,060	2,5	24	1915	3,1854	0,0019	0,0018	$3,5331 \times 10^{-9}$
						Promedio	0,0378	$7,4383 \times 10^{-8}$

Metil Oleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	Factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,112	1,0	9133	629	1,0802	0,3921	0,3737	$6,6138 \times 10^{-7}$
2	16,114	4,0	459	683	1,0802	0,0726	0,0692	$1,2244 \times 10^{-7}$
3	16,157	1,9	113	624	1,0802	0,0093	0,0088	$1,5647 \times 10^{-8}$
4	16,129	2,5	34	1915	1,0802	0,0012	0,00114	$2,0218 \times 10^{-9}$
Promedio							0,1130	$2,0037 \times 10^{-7}$

Metil Linoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,866	1,0	2028	629	1,0065	0,0811	0,0772	$1,3772 \times 10^{-7}$
2	16,825	4,0	154	683	1,0065	0,0227	0,0216	$3,8525 \times 10^{-8}$
3	16,820	1,9	110	624	1,0065	0,0084	0,0080	$1,4284 \times 10^{-8}$
4	N.I	2,5	0	1915	1,0065	0	0	0
Promedio							0,0356	$6,351 \times 10^{-8}$

AGUA CRUDA PLANTA MIJITAYO

Metil Palmitato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	13,789	1,0	2857	1136	1,6686	0,1049	0,0995	$1,9395 \times 10^{-7}$
2	13,780	0,8	2488	980	1,6686	0,0847	0,0803	$1,5663 \times 10^{-7}$
3	13,790	3,3	281	760	1,6686	0,0509	0,0485	$9,459 \times 10^{-8}$
4	13,781	2,3	191	1428	1,6686	0,0128	0,0122	$2,3824 \times 10^{-8}$
Promedio							0,0601	$1,172 \times 10^{-7}$

Metil Palmitoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	1,0	0	1136	3,1854	0	0	0
2	14,060	0,8	873	980	3,1854	0,0567	0,0538	$1,0574 \times 10^{-7}$
3	14,056	3,3	450	760	3,1854	0,1556	0,1475	$2,8992 \times 10^{-7}$
4	N.I	2,3	0	1428	3,1854	0	0	0
Promedio							0,1007	$1,978 \times 10^{-7}$

Metil Oleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,130	1,0	233	1136	1,0802	0,0055	0,0053	$9,3426 \times 10^{-9}$
2	16,130	0,8	1718	980	1,0802	0,0379	0,0361	$6,3882 \times 10^{-8}$
3	16,137	3,3	357	760	1,0802	0,0419	0,0399	$7,0609 \times 10^{-8}$
4	16,149	2,3	159	1428	1,0802	0,0069	0,0066	$1,1665 \times 10^{-8}$
						Promedio	0,0219	$3,887 \times 10^{-8}$

Metil Linoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	1,0	0	1136	1,0065	0	0	0
2	16,820	0,8	591	980	1,0065	0,0121	0,0116	$2,0608 \times 10^{-8}$
3	16,831	3,3	279	760	1,0065	0,0305	0,0290	$5,1747 \times 10^{-8}$
4	16,832	2,3	81	1428	1,0065	0,0033	0,0031	$5,5727 \times 10^{-9}$
						Promedio	0,0146	$2,598 \times 10^{-8}$

AGUA TRATADA PLANTA MIJITAYO

Metil Palmitato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	13,770	0,8	113	1563	1,6686	0,0024	0,0023	$4,4603 \times 10^{-9}$
2	13,780	1,8	1128	588	1,6686	0,1440	0,1366	$2,6629 \times 10^{-7}$
3	13,780	2,2	207	632	1,6686	0,0301	0,0286	$5,5862 \times 10^{-8}$
4	13,780	1,6	93	1395	1,6686	0,0044	0,0042	$8,2606 \times 10^{-9}$
Promedio							0,0429	$8,63 \times 10^{-8}$

Metil Palmitoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	0,8	0	1563	3,1854	0	0	0
2	14,073	1,8	611	588	3,1854	0,1489	0,1412	$2,7752 \times 10^{-7}$
3	14,060	2,2	64	632	3,1854	0,0177	0,0168	$3,3056 \times 10^{-8}$
4	N.I	1,6	0	1395	3,1854	0	0	0
Promedio							0,0790	$1,553 \times 10^{-7}$

Metil Oleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	Factor resp.	ppm Metil éster	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,120	0,8	569	1563	1,0802	0,0079	0,0075	$1,3266 \times 10^{-8}$
2	16,140	1,8	955	588	1,0802	0,0789	0,0752	$1,3316 \times 10^{-7}$
3	16,130	2,2	69	632	1,0802	0,0065	0,0062	$1,0941 \times 10^{-8}$
4	N.I	1,6	0	1395	1,0802	0	0	0
Promedio							0,0296	$5,25 \times 10^{-8}$

Metil Linoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	0,8	0	1563	1,0065	0	0	0
2	16,820	1,8	268	588	1,0065	0,0206	0,0196	$3,5044 \times 10^{-8}$
3	16,820	2,2	33	632	1,0065	0,0029	$2,752 \times 10^{-3}$	$4,9068 \times 10^{-9}$
4	N.I	1,6	0	1395	1,0065	0	0	0
Promedio							0,0112	$1,9975 \times 10^{-8}$

AGUA CRUDA PLANTA SAN FELIPE

Metil Palmitato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	2,9	0	1297	1,6686	0	0	0
2	13,780	1,1	576	694	1,6686	0,0381	0,0361	$7,0406 \times 10^{-8}$
3	13,775	2,1	91	1408	1,6686	0,0057	0,0054	$1,0467 \times 10^{-8}$
4	13,770	2,7	59	2018	1,6686	0,0033	0,0031	$6,0876 \times 10^{-9}$
						Promedio	0,0149	$2,8987 \times 10^{-8}$

Metil Palmitoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	14,059	2,9	123	1297	3,1854	0,0219	0,0208	$4,0806 \times 10^{-8}$
2	14,060	1,1	245	694	3,1854	0,0309	0,0293	$5,7619 \times 10^{-8}$
3	N.I	2,1	0	1408	3,1854	0	0	0
4	N.I	2,7	0	2018	3,1854	0	0	0
						Promedio	0,0250	$4,9213 \times 10^{-8}$

Metil Oleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	Factor resp.	ppm Metil éster	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	2,9	0	1297	1,0802	0	0	0
2	16,120	1,1	261	694	1,0802	0,0112	0,0106	$1,8844 \times 10^{-8}$
3	N.I	2,1	0	1408	1,0802	0	0	0
4	16,110	2,7	43	2018	1,0802	0,0016	0,0015	$2,6206 \times 10^{-9}$
						Promedio	0,0061	$1,0732 \times 10^{-8}$

Metil Linoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	2,9	0	1297	1,0065	0	0	0
2	16,820	1,1	190	694	1,0065	0,0076	0,0072	$1,2864 \times 10^{-8}$
3	16,818	2,1	43	1408	1,0065	0,0016	0,0015	$2,7395 \times 10^{-9}$
4	N.I	2,7	0	2018	1,0065	0	0	0
						Promedio	0,0043	$7,8016 \times 10^{-9}$

AGUA TRATADA PLANTA SAN FELIPE

Metil Palmitato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	13,780	2,9	355	1102	1,6686	0,0390	0,0369	$7,2044 \times 10^{-8}$
2	13,780	1,1	528	1165	1,6686	0,0208	0,0197	$3,8446 \times 10^{-8}$
3	13,780	1,8	336	1208	1,6686	0,0209	0,0198	$3,861 \times 10^{-8}$
4	N.I	1,2	0	1083	1,6686	0	0	0
						Promedio	0,0255	$4,97 \times 10^{-8}$

Metil Palmitoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester	Area estándar interno	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	N.I	2,9	0	1102	3,1854	0	0	0
2	14,057	1,1	330	1165	3,1854	0,0248	0,0235	$4,62323 \times 10^{-8}$
3	14,057	1,8	117	1208	3,1854	0,0139	0,0132	$2,58676 \times 10^{-8}$
4	14,060	1,2	251	1083	3,1854	0	0	0
						Promedio	0,0183	$3,605 \times 10^{-8}$

Metil Oleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	Factor resp.	ppm Metil éster	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,130	2,9	237	1102	1,0802	0,0168	0,0160	$2,8409 \times 10^{-8}$
2	16,130	1,1	177	1165	1,0802	0,0045	0,0043	$7,6125 \times 10^{-9}$
3	16,140	1,8	173	1208	1,0802	0,0070	0,0066	$1,1742 \times 10^{-8}$
4	16,132	1,2	117	1083	1,0802	0,0035	0,0033	$5,9051 \times 10^{-9}$
Promedio							0,0076	$1,3417 \times 10^{-8}$

Metil Linoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu$ v)	Area estándar interno ( $\mu$ v)	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,820	2,9	471	1102	1,0065	0,0312	0,0297	$5,2944 \times 10^{-8}$
2	16,820	1,1	155	1165	1,0065	0,0037	0,0035	$6,2515 \times 10^{-9}$
3	16,820	1,8	51	1208	1,0065	0,0019	0,0018	$3,2461 \times 10^{-9}$
4	16,822	1,2	117	1083	1,0065	0,0033	0,0031	$5,538 \times 10^{-9}$
Promedio							0,0095	$1,6995 \times 10^{-8}$

RED DE DISTRIBUCION

Metil Palmitato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester	Area estandar interno	factor resp.	ppm Metil ester	ppm acido graso	moles acido graso
1	N.I	2,1	0	703	1,6686	0	0	0
2	N.I	1,6	0	834	1,6686	0	0	0
3	13,780	2,1	186	2577	1,6686	0,0063	0,0059	$1,1689 \times 10^{-8}$
4	13,774	1,3	243	2740	1,6686	0,0048	0,0045	$8,8910 \times 10^{-9}$
						Promedio	0,0052	$1,30 \times 10^{-8}$

Metil Palmitoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester	Area estandar interno	factor resp.	ppm Metil ester	ppm acido graso	moles acido graso
1	14,074	2,1	330	703	3,1854	0,0785	0,0744	$1,4627 \times 10^{-7}$
2	14,050	1,6	244	834	3,1854	0,0373	0,0353	$6,9456 \times 10^{-8}$
3	N.I	2,1	0	2577	3,1854	0	0	0
4	N.I	1,3	0	2740	3,1854	0	0	0
						Promedio	0,0549	$1,079 \times 10^{-7}$

Metil Oleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	Factor resp.	ppm Metil éster	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,120	2,1	134	703	1,0802	0,0108	0,0103	$1,8233 \times 10^{-8}$
2	16,150	1,6	172	834	1,0802	0,0089	0,0085	$1,5030 \times 10^{-8}$
3	16,120	2,1	51	2577	1,0802	0,0011	0,0011	$1,8931 \times 10^{-9}$
4	16,118	1,3	59	2740	1,0802	0,0008	0,0007	$1,2751 \times 10^{-9}$
Promedio							0,0051	$9,061 \times 10^{-9}$

Metil Linoleato								
Muestra No	Tr min	Volumen Final Muestra mL	Area Metil Ester ( $\mu\text{v}$ )	Area estándar interno ( $\mu\text{v}$ )	factor resp.	ppm Metil ester	ppm ácido graso	moles ácido graso
1	16,820	2,1	106	703	1,0065	0,0080	0,0076	$1,3525 \times 10^{-8}$
2	16,820	1,6	87	834	1,0065	0,0042	0,0040	$7,1294 \times 10^{-9}$
3	N.I	2,1	0	2577	1,0065	0	0	0
4	N.I	1,3	0	2740	1,0065	0	0	0
Promedio							0,0058	$1,0327 \times 10^{-8}$

Anexo F. Determinación de los triglicéridos con número de carbonos equivalente a 42 (ECN 42)

<i>Ácido graso</i>	<i>Abreviatura</i>	<i>Peso molecular (g/mol)</i>
Palmítico	P 16:0	256.4
Palmitoleico	Po 16:1	254.4
Oleico	O 18:1	282.5
Linoleico	L 18:2	280.4

Porcentaje en moles de cada ácido graso.  
Normalización al 100% de los ácidos grasos.

$$\begin{aligned} \% \text{moles P (1,2,3)} &= \text{moles P} * 100 / \text{moles totales} \\ \% \text{moles Po (1,2,3)} &= \text{moles Po} * 100 / \text{moles totales} \\ \% \text{moles O (1,2,3)} &= \text{moles O} * 100 / \text{moles totales} \\ \% \text{moles L (1,2,3)} &= \text{moles L} * 100 / \text{moles totales} \end{aligned}$$

El resultado proporciona el porcentaje de cada ácido graso en % moles en todas las posiciones (1,2,3) de los triglicéridos (TG).

A continuación se calculan la suma de los ácidos grasos saturados (AGS) y los ácidos grasos insaturados (AGI).

$$\begin{aligned} \% \text{moles AGS} &= \% \text{moles P} \\ \% \text{moles AGI} &= 100 - \% \text{moles AGS} \end{aligned}$$

Cálculo de la composición de los ácidos grasos en las posiciones 2 y 1-3 de los TG.

Los ácidos grasos se distribuyen en tres grupos del siguiente modo: dos idénticos para las posiciones 1 y 3 y uno para la posición 2, con coeficientes diferentes para los ácidos saturados y los insaturados.

Ácidos grasos saturados en la posición 2 de los TG.

$$\% \text{moles P (2)} = \% \text{moles P (1,2,3)} * 0.06$$

Ácidos grasos insaturados en la posición 2 de los TG.

$$\% \text{moles Po (2)} = \% \text{moles Po (1,2,3)} * [ 100 - \% \text{moles P (2)} ] / \% \text{moles AGI}$$

$$\% \text{moles O (2)} = \% \text{moles O (1,2,3)} * [ 100 - \% \text{moles P (2)} ] / \% \text{moles AGI}$$

% moles L (2) = % moles L (1,2,3) \* [ 100 - %moles P (2) ] / %moles AGI  
 Ácidos grasos en las posiciones 1 y 3 de los TG.

$$\% \text{ moles P (1,3)} = \frac{\% \text{ moles P (1,2,3)} - \% \text{ moles P (2)}}{2} + \% \text{ moles P (1,2,3)}$$

$$\% \text{ moles Po (1,3)} = \frac{\% \text{ moles Po (1,2,3)} - \% \text{ moles Po (2)}}{2} + \% \text{ moles Po (1,2,3)}$$

$$\% \text{ moles O (1,3)} = \frac{\% \text{ moles O (1,2,3)} - \% \text{ moles O (2)}}{2} + \% \text{ moles O (1,2,3)}$$

$$\% \text{ moles L (1,3)} = \frac{\% \text{ moles L (1,2,3)} - \% \text{ moles L (2)}}{2} + \% \text{ moles L (1,2,3)}$$

A continuación se presenta el empleo de estas formulas con los resultados obtenidos para los ácidos grasos encontrados en el agua cruda de la planta de tratamiento de Centenario.

Ácido graso	Concentración en ppm	Moles
Palmítico	0.0882	$1.72 \times 10^{-7}$
Palmitoleico	0.0237	$4.66 \times 10^{-8}$
Oleico	0.0722	$1.28 \times 10^{-7}$
Linoleico	0.0153	$2.73 \times 10^{-8}$

El total de moles es  $3.737 \times 10^{-7}$

2. Normalización al 100% de los ácidos grasos.

$$\% \text{ moles P (1,2,3)} = 1.720 \times 10^{-7} * 100 / 3.737 \times 10^{-7} = 46,015$$

$$\% \text{ moles Po (1,2,3)} = 4.66 \times 10^{-8} * 100 / 3.737 \times 10^{-7} = 12,490$$

$$\% \text{ moles O (1,2,3)} = 1.28 \times 10^{-7} * 100 / 3.737 \times 10^{-7} = 34,197$$

$$\% \text{ moles P (1,2,3)} = 2,73 \times 10^{-8} * 100 / 3.737 \times 10^{-7} = 7,297$$

El resultado proporciona el porcentaje de cada ácido graso en % moles en todas las posiciones (1,2,3) de los triglicéridos (TG).

A continuación se calculan la suma de los ácidos grasos saturados (AGS) y los ácidos grasos insaturados (AGI).

$$\% \text{moles AGS} = 46.015$$

$$\% \text{moles AGI} = 53.985$$

Cálculo de la composición de los ácidos grasos en las posiciones 2 y 1-3 de los TG.

Los ácidos grasos se distribuyen en tres grupos del siguiente modo: dos idénticos para las posiciones 1 y 3 y uno para la posición 2, con coeficientes diferentes para los ácidos saturados y los insaturados.

Ácidos grasos saturados en la posición 2 de los TG.

$$\% \text{moles P (2)} = 46.015 * 0.06 = 2.760$$

Ácidos grasos insaturados en la posición 2 de los TG.

$$\% \text{ moles Po (2)} = 12,490 * [ 100 - 2.760 ] / 53.985 = 22.517$$

$$\% \text{ moles O (2)} = 34.197 * [ 100 - 2.760 ] / 53.985 = 61.652$$

$$\% \text{ moles L (2)} = 7.297 * [ 100 - 2.760 ] / 53.985 = 13.155$$

Ácidos grasos en las posiciones 1 y 3 de los TG.

$$\% \text{ moles P (1,3)} = \frac{46.015 - 2.760}{2} + 46.015 = 67.643$$

$$\% \text{ moles Po (1,3)} = \frac{12.490 - 22.517}{2} + 12.490 = 7.477$$

$$\% \text{ moles O (1,3)} = \frac{34.197 - 61.652}{2} + 34.197 = 20.470$$

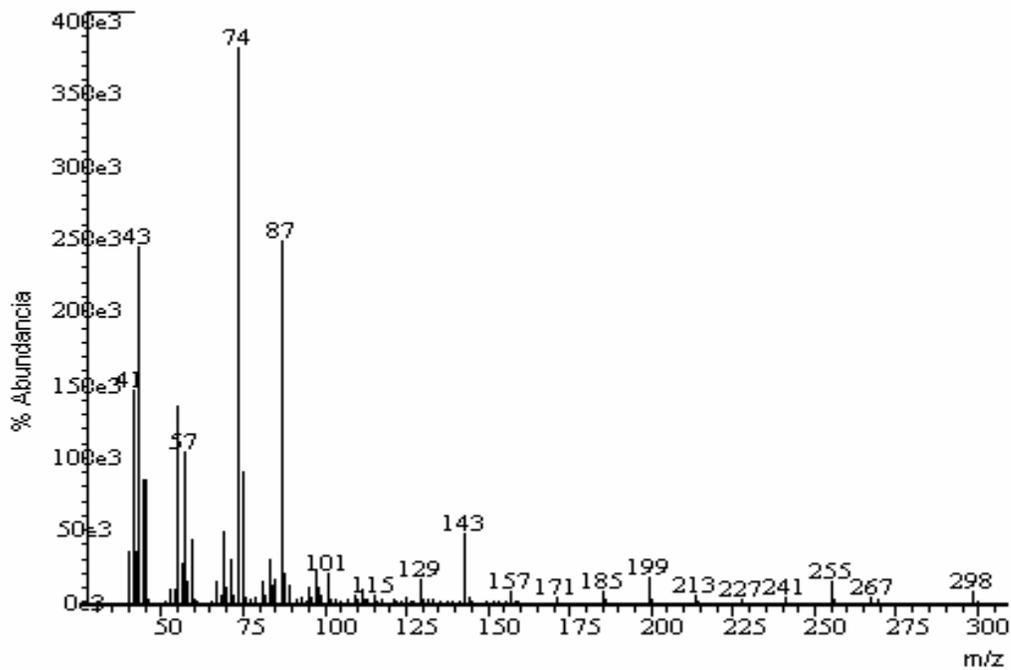
$$\% \text{ moles L (1,3)} = \frac{7.297 - 13.155}{2} + 7.297 = 4.368$$

<i>Ácido graso</i>	<i>% moles Posición 1-3</i>	<i>% moles Posición 2</i>
Palmítico	67.643	2.760
Palmitoleico	7.477	22.517
Oleico	20.470	61.652
Linoleico	4.368	13.155

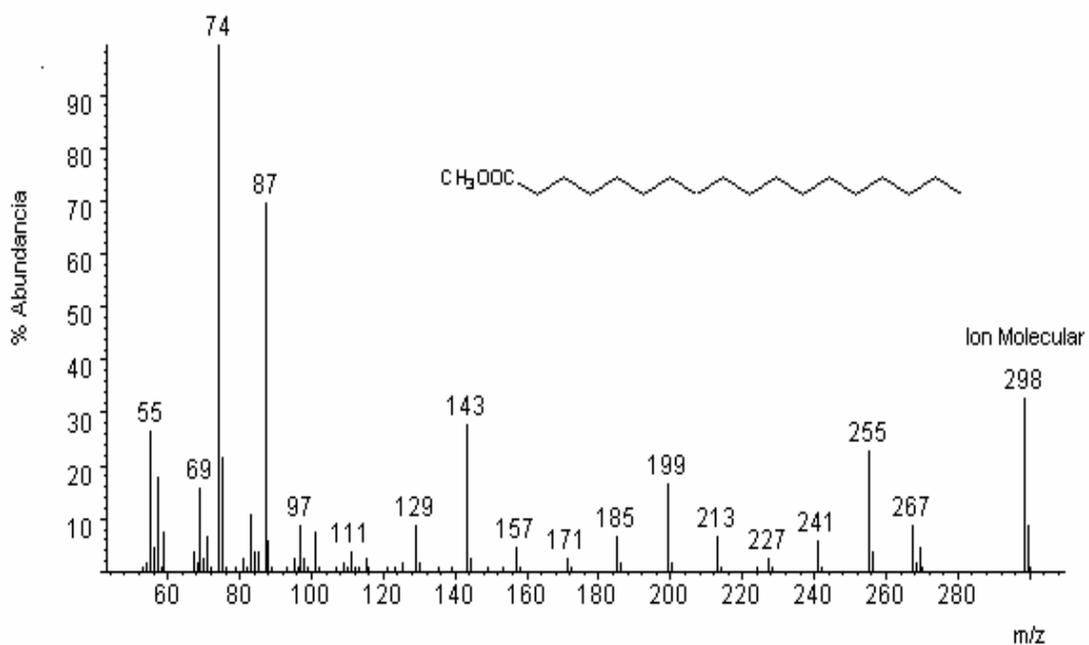
Anexo G. Espectros de masas de los cinco ácidos grasos encontrados en el agua tratada en la planta de tratamiento de Centenario

M Estearato: a) Muestra b) Estándar

a)

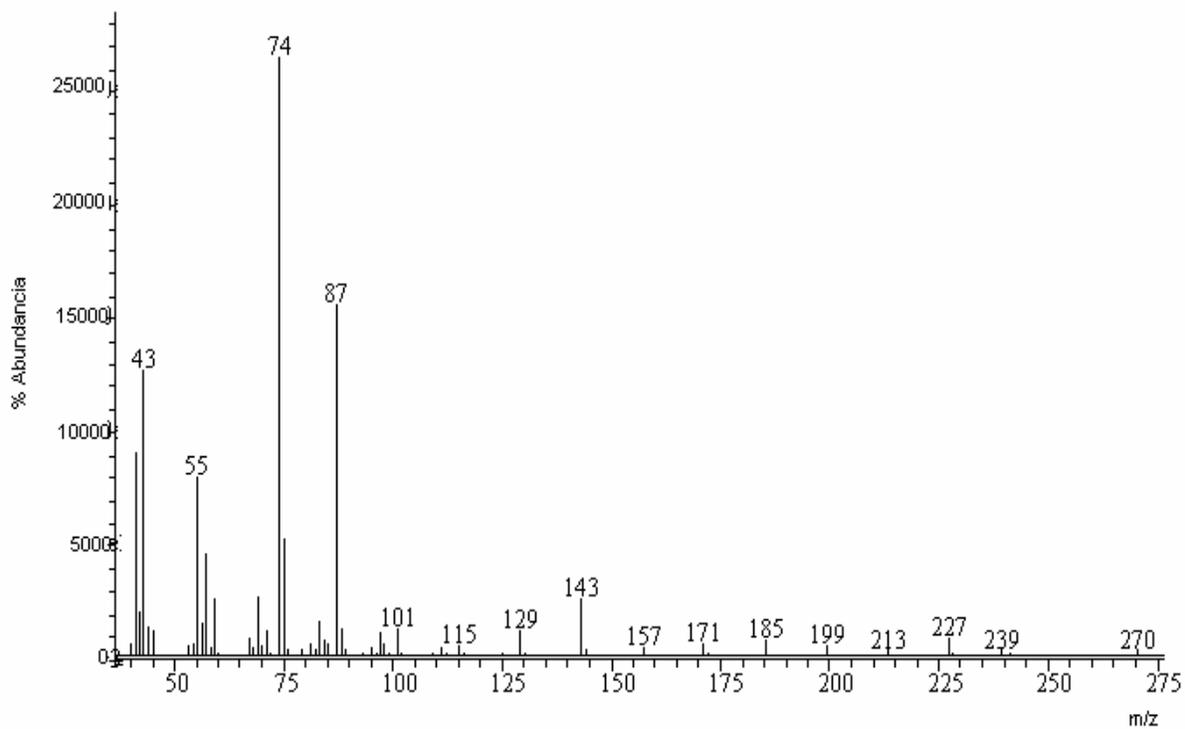


b)

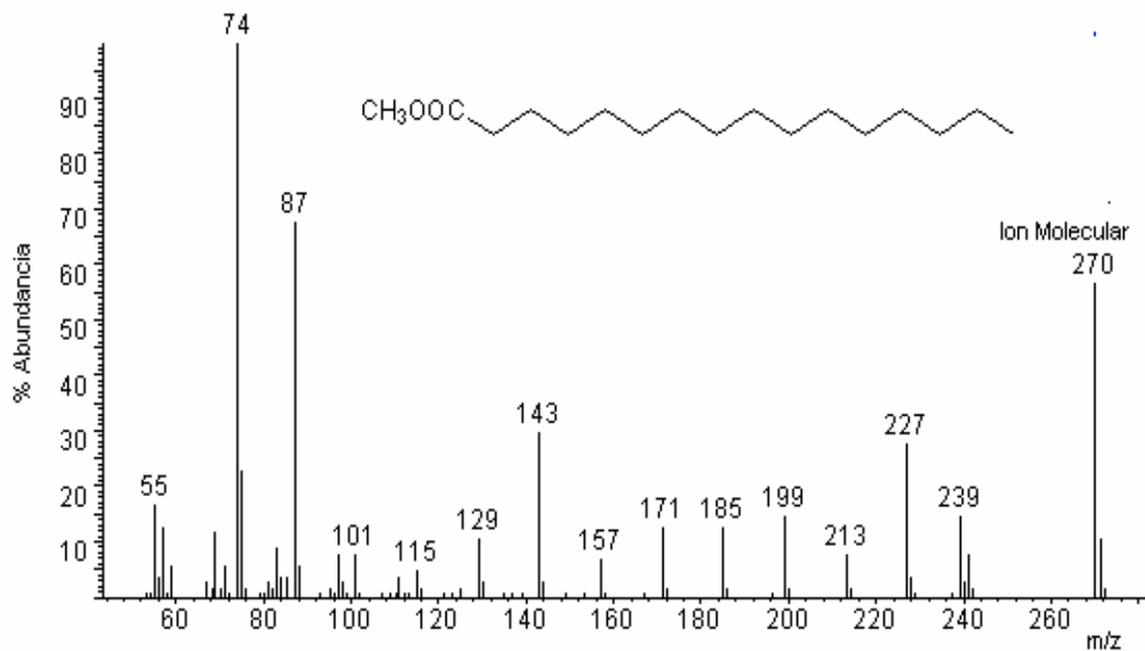


M Palmitato : a) Muestra b) Estándar

a)

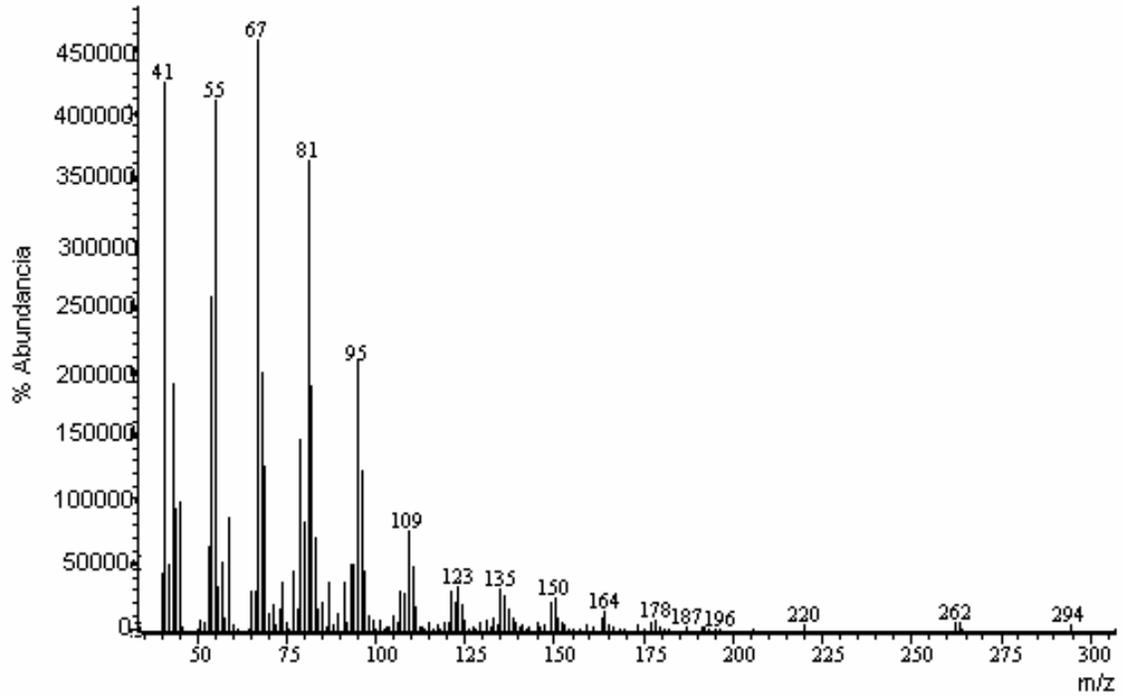


b)

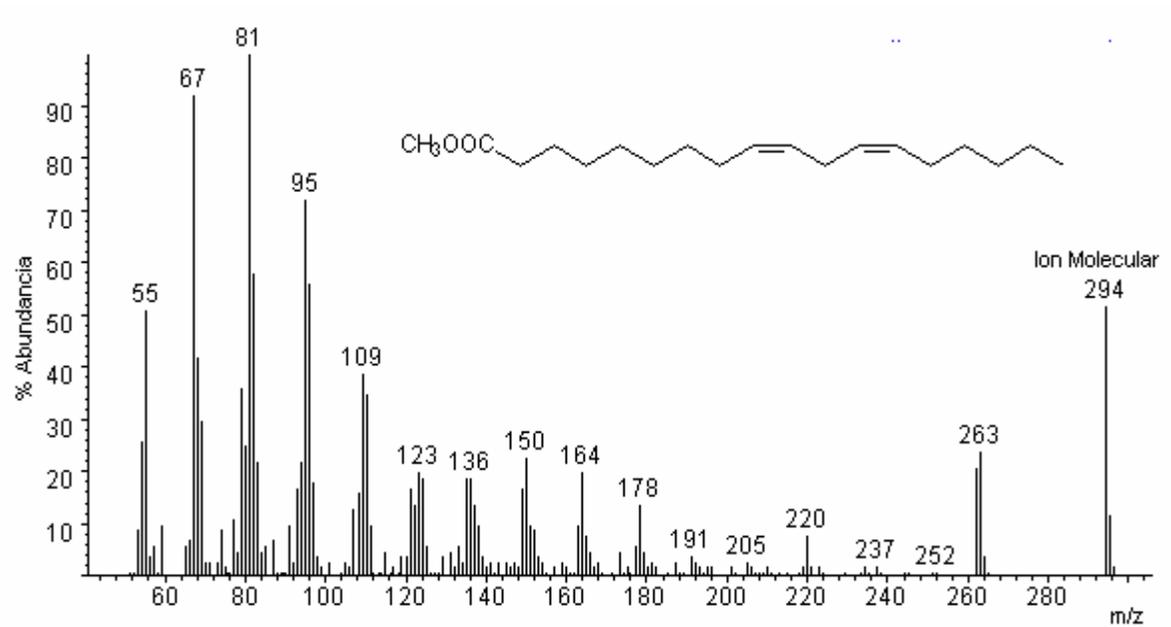


M. Linoleato: a) Muestra b) Estándar

a)

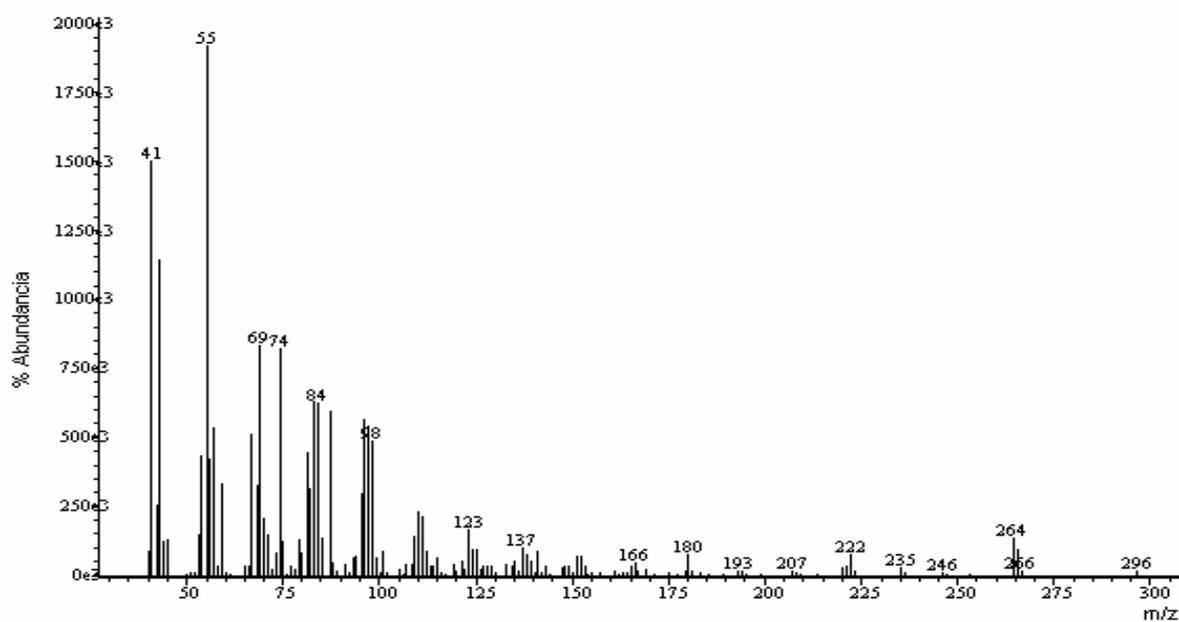


b)

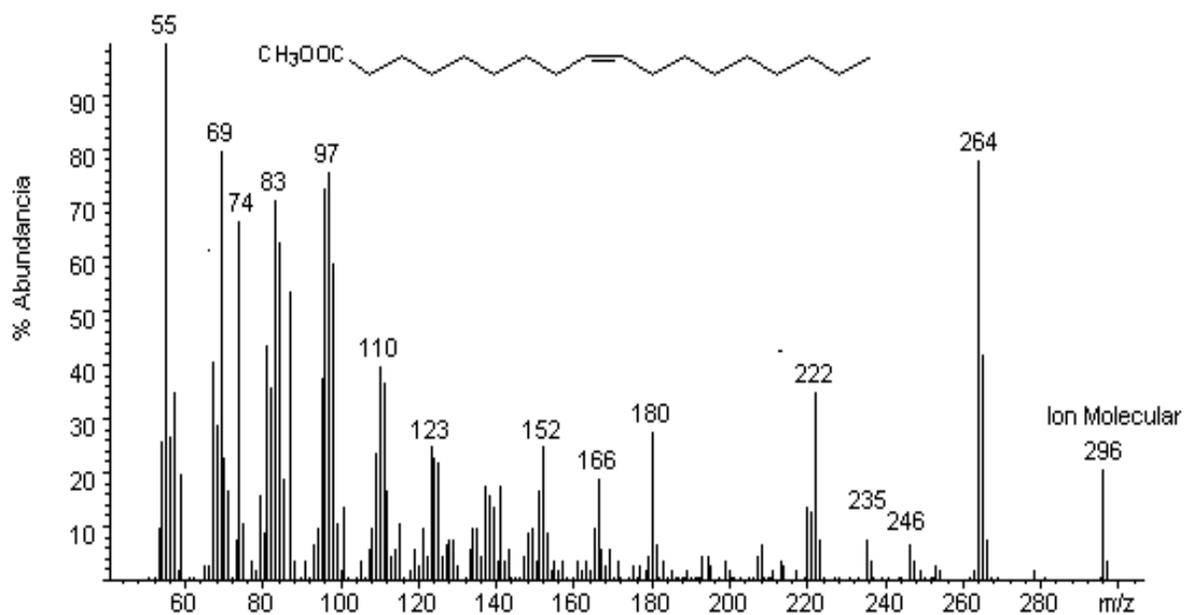


M Oleato: a) Muestra b) Estándar

a)

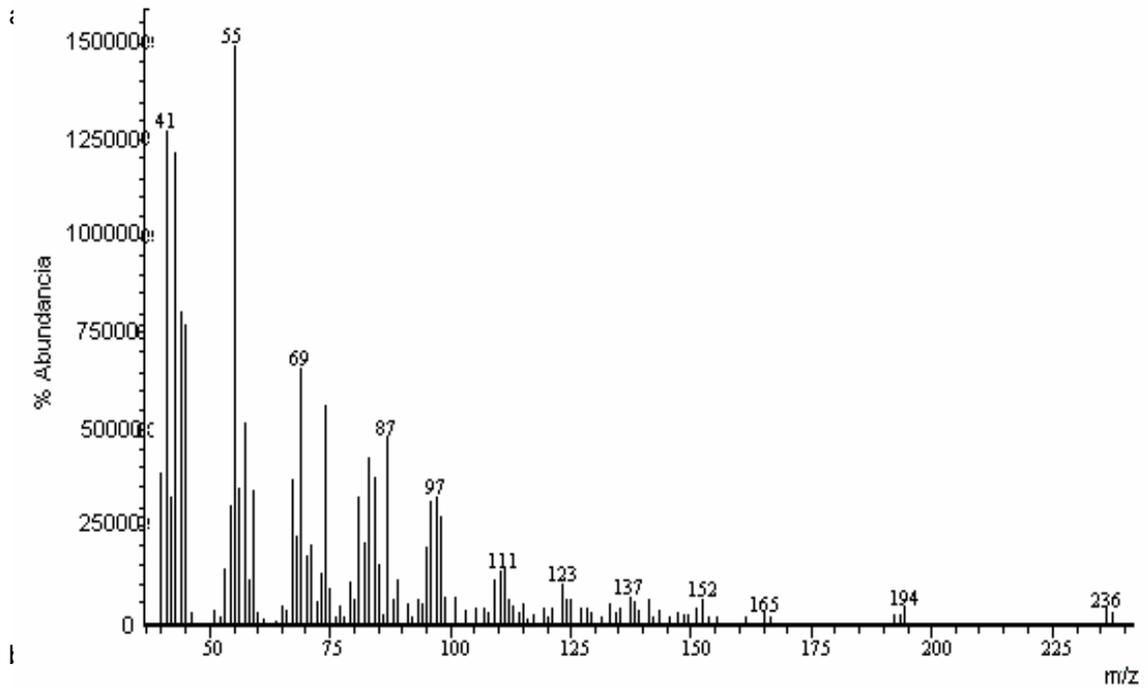


b)

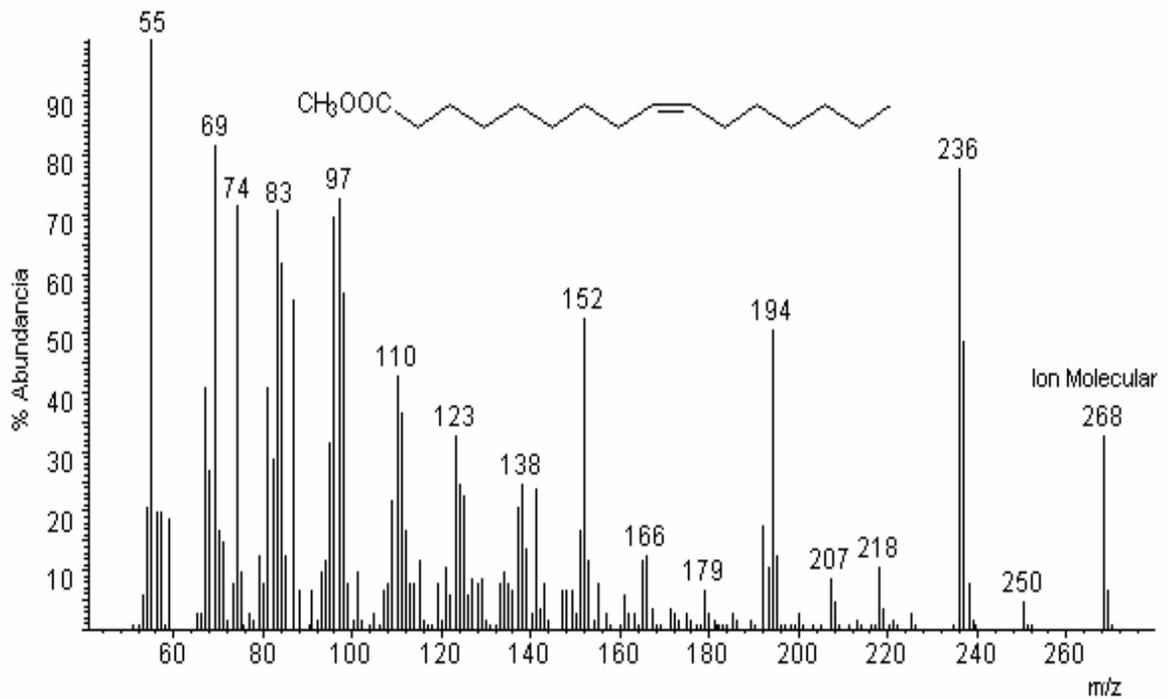


M Palmitoleato a) Muestra b) Estándar

a)

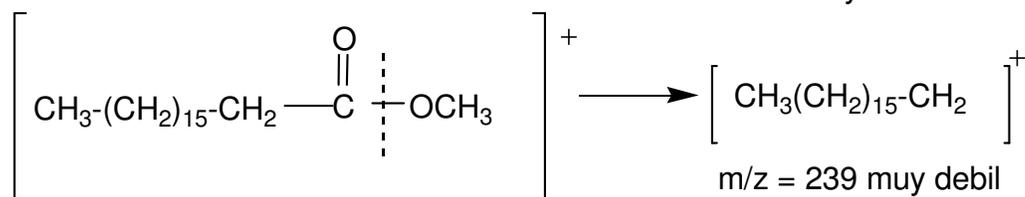
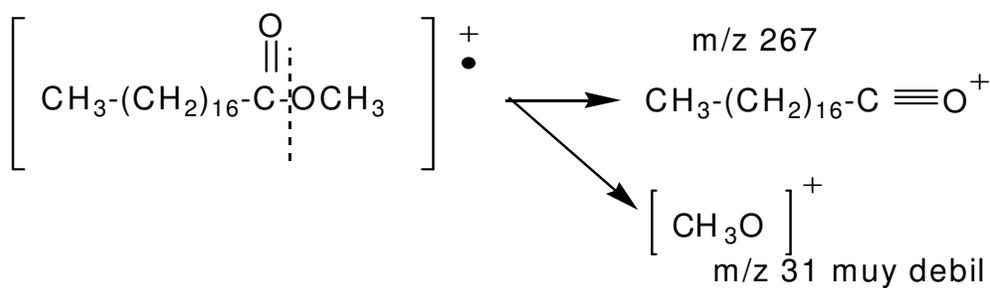
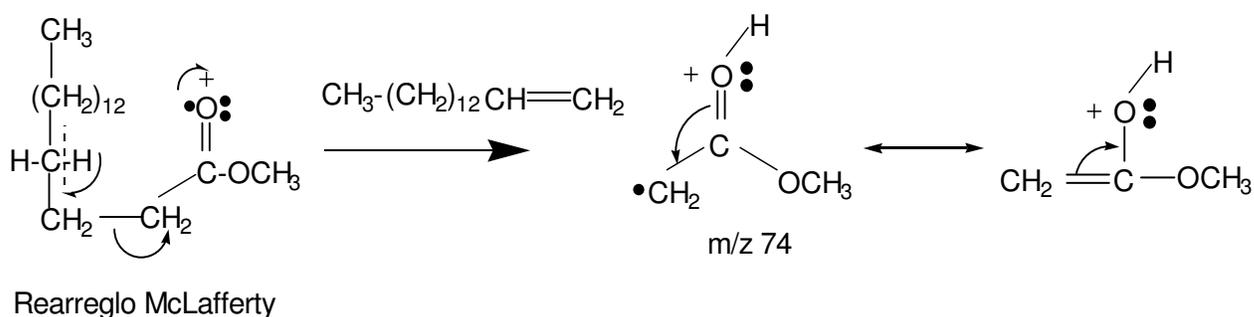
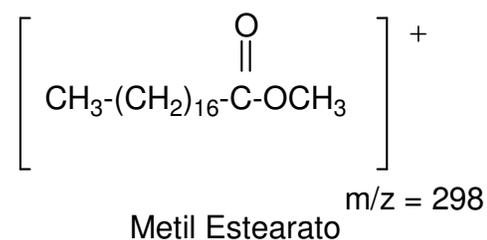


b)

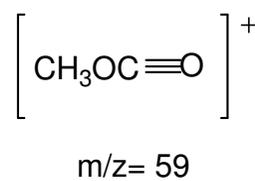


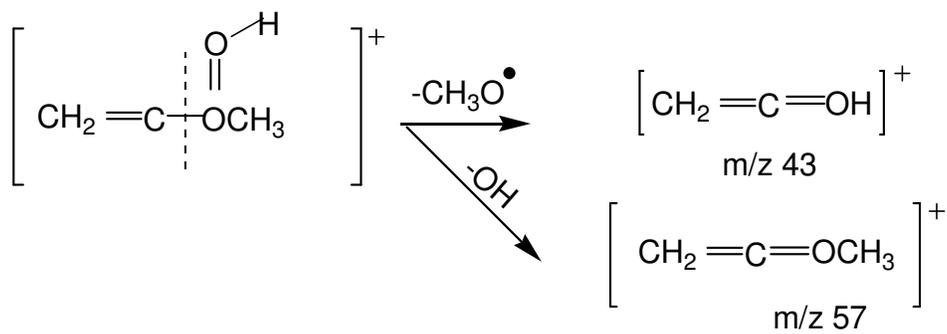
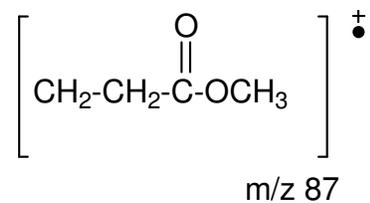
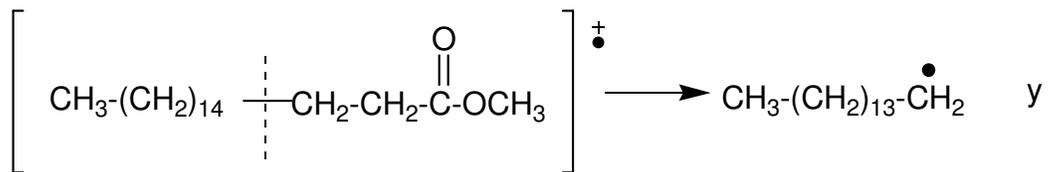
Anexo H. Fragmentaciones de los metil estearato (saturado) y Oleico (insaturado)

Rutas de fragmentación del metil estearato



y





## Rutas de fragmentación del metil oleato

