

## Extracción del aceite de la semilla de neem (*Azadirachta indica*)

Carlos Romero\* y Maritza Vargas

Departamento de Química Tecnológica, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo.  
Naguanagua, Venezuela

Recibido: 17-01-05 Aceptado: 30-11-05

### Resumen

Se determinan los parámetros dimensionales y la composición química proximal, de la semilla no germinable del árbol de neem, recolectada siguiendo un muestreo aleatorio sistemático estratificado, en una plantación nacional. Se comparan diferentes técnicas convencionales de extracción del aceite y se realiza la caracterización físico química y el perfil de ácidos grasos del aceite. La semilla se adapta a un modelo elipsoidal con una relación largo-ancho de 2,06. La masa de la semilla es 0,21 g (s = 0,05) y el 62% de la masa corresponde a la almendra. Los componentes principales de la almendra son: aceite, fibra cruda y proteínas; mientras que en la cáscara es la fibra cruda. Los macroelementos son superiores en la almendra y los microelementos en la cáscara. El mayor rendimiento de aceite se obtiene con la técnica sohxlet con hexano; con la técnica de prensado, es aproximadamente 10% inferior. Las características químicas de los aceites resultaron semejantes a los aceites vegetales comunes. El aceite presenta abundantes ácidos grasos insaturados (51 a 59%) y aproximadamente el 70% son cadenas de 18 carbonos.

**Palabras clave:** Aceite vegetal; ácidos grasos; *Azadirachta indica*; neem; prensado; sohxlet.

## Extraction of oil from the neem seed (*Azadirachta indica*)

### Abstract

Dimensional parameters and proximal chemical composition of nongerminable seeds of neem trees are determined. Samples were collected following a stratified systematic random sampling, in a local plantation. Different conventional techniques of oil extraction are compared, physicochemistry characterization and fatty acids profile of oils are carried out. Seed adapts to an ellipsoidal model, with a long-wide relationship of 2.06. Seed weight is 0.21 g (s = 0.05) and 62% corresponds to almond. Main components of almond are: oil, raw fiber and proteins; while in rind is raw fiber. Macroelements are superior in almond and microelements in rind. The biggest oil extraction results with sohxlet technique with hexan; with pressing technique, it is approximately 10% lower. Chemical characteristics of oils are similar to common vegetable oils. Oils presents abundant unsaturated fatty acids (51 to 59%) and approximately 70% are of 18 carbons chains.

**Key words:** *Azadirachta indica*; fatty acids; neem; pressed; sohxlet; vegetable oil.

\* Autor para la correspondencia. E-mail: cromero@uc.edu.ve

## Introducción

El cultivo de algunas especies vegetales se ha expandido a diferentes partes del mundo con la idea de ampliar la aplicación industrial de sus propiedades químicas y biológicas (1). El cultivo del árbol de neem (*Azadirachta indica*), originario de la India (2), es un ejemplo de ello y se ha expandido a Asia, África y América, incluyendo a Venezuela. En nuestro país se conocen al menos, dos plantaciones de árboles de neem para reforestación y el control de la erosión de los suelos; además, comercializan las semillas, hojas y la madera del árbol. Sin embargo, en la actualidad ninguna ofrece productos refinados o comercialmente estandarizados (3).

El árbol de neem pertenece a la familia de las Meliáceas; es una especie que pierde sus hojas solo bajo condiciones ambientales extremas. Han sido aislados y caracterizados alrededor de 300 compuestos químicos de la semilla de neem, algunos juegan un papel importante en el control de plagas; aproximadamente un tercio de estos compuestos aislados son limonoides, conocidos como azadirachtinas, que se encuentran concentrados en la semilla y han demostrado tener un efecto inhibitorio en el crecimiento de insectos, de allí el principal interés de utilizar su aceite en la formulación de pesticidas e insecticidas (4, 5); otros usos que se le dan al árbol de neem son: en la reforestación (6); en la medicina, donde se ha probado su actividad fungicida, bactericida, antiviral, antiinflamatoria y antirreumática (7); en la fabricación de productos cosméticos pudiendo mencionarse: cremas dentales, jabones, shampoos, cremas y lociones para el cuerpo, etc.

Esta investigación pretende contribuir a esclarecer las propiedades y características del aceite de la semilla de neem y su relación con los diferentes métodos de extracción convencionales, con el fin de establecer su posible utilización en productos comerciales.

## Materiales y Métodos

Las muestras de semillas se recolectaron siguiendo un plan de muestreo aleatorio sistemático, estratificado proporcional, en la plantación de la Cooperativa mixta "El Bucal", ubicada en el estado Falcón (8, 9). El tamaño de la muestra se estableció bajo las siguientes consideraciones: error absoluto máximo de 0,5 y nivel de confianza de 99%. De cada árbol muestreado se tomaron 40 semillas y se mezclaron para obtener la muestra representativa de la plantación.

De la muestra representativa se seleccionan al azar 40 semillas, para medir la masa, longitud y ancho, tanto de la semilla como de la almendra, utilizando una balanza analítica con precisión de 0,0001 g y un Vernier con precisión de 0,001 cm.

Para determinar la composición de la semilla se realizaron análisis físicos y químicos a la cáscara y a la almendra, siguiendo el esquema que se presenta en la Figura 1, utilizando metodologías estándares (10-13).

La extracción de aceite de la semilla de neem se realizó mediante dos métodos convencionales: prensado y extracción Soxhlet, como se indica en la Figura 2; todas por triplicado (14). Para el método de prensado se pesaron 15 g de la almendra. La masa se envolvió en tela tul y se colocó entre dos películas de plástico grado alimenticio (Ziploc™) previamente pesadas; este sistema se sometió a un prensado hidráulico (Carver) a temperatura ambiente, a distintas presiones: 5, 10, 15 y 20 kpsi y tiempos de extracción de 5 a 45 minutos, para evaluar los efectos sobre la extracción. Culminado el proceso de extracción, se retiró el residuo sólido contenido en la tela tul y se pesaron las películas con aceite para determinar el rendimiento de la extracción. El residuo sólido se sometió a extracción con hexano, para calcular la cantidad de aceite residual.

Para la extracción de aceite con el método Soxhlet, se pesaron aproximadamente 15 g de la almendra, previamente triturada

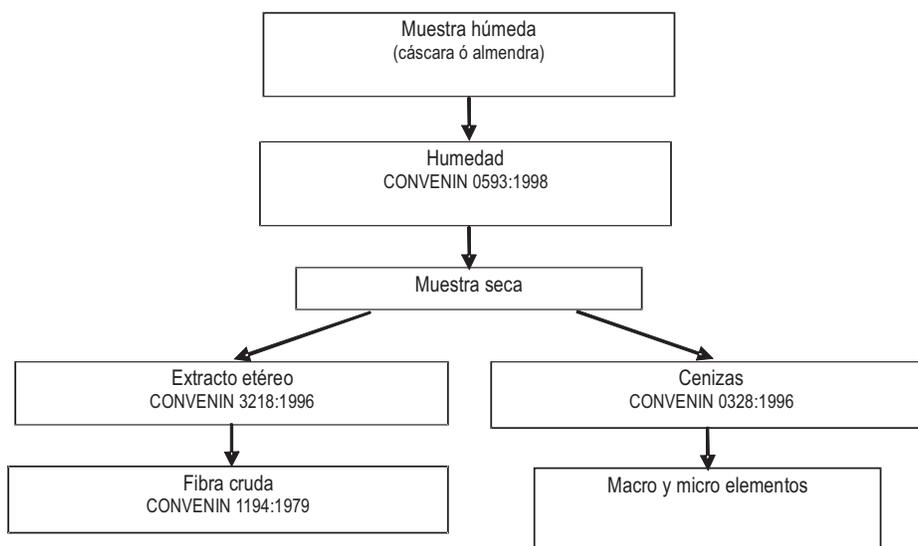


Figura 1. Esquema del análisis proximal de la semilla de neem.

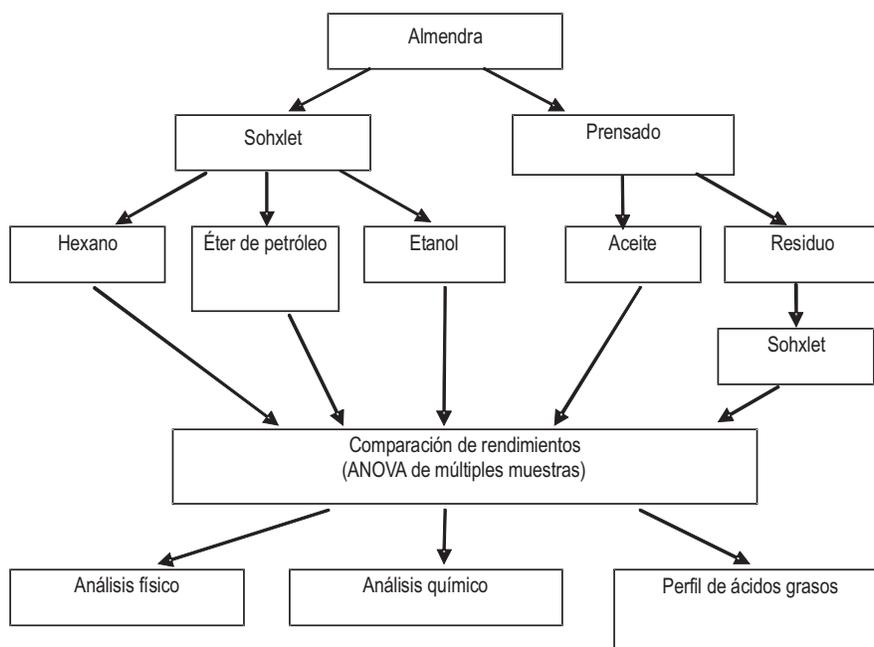


Figura 2. Esquema de extracción de aceite de la semilla de neem y su caracterización.

en un mortero cerámico. Se transfirió la muestra al cartucho de extracción y se ubicó en el dispositivo de extracción Soxhlet. Se realizaron extracciones con reflujo por 6 horas, utilizando los solventes: éter de petróleo, hexano y etanol. Culminado el tiempo

de extracción, se evaporó el solvente y finalmente se sometió a vacío por dos horas.

Con el objeto de determinar las diferencias en cuanto al porcentaje de extracción entre los diferentes procedimientos utilizados, se aplicó un análisis de un factor ANOVA.

La caracterización de los aceites se realiza según la metodología estándar que se muestra en la Tabla 1 (15-21). El perfil de ácidos grasos se determinó preparando los ésteres metílicos siguiendo la norma COVENIN 2281:1998 (22). Se empleó un cromatógrafo Hewlett Packard modelo 5890 con detector de ionización de llama e integrador, una columna capilar DB-23 (Cat J & W Scientific. US1363243H) de 30 m, diámetro interno 0,32 mm, con N<sub>2</sub> como gas de arrastre y un flujo de 82 mL/min. El gradiente de temperatura fue de 150 a 180°C con una rata de 1°C/min y se inyectaron 0,2 µL de muestra.

Los análisis espectrométricos se realizaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 3100 de doble haz, con ionización a la llama de acetileno-óxido de etileno, con las respectivas lámparas para la detección de los elementos.

## Resultados y Discusión

Las características dimensionales de las semillas y la almendra se muestran en la Tabla 2. Aproximadamente, el 62 por ciento de la masa de la semilla corresponde a la almendra la proporción largo ancho de la semilla es 2,06 (1,3 cm/0,63 cm).

La Figura 3 muestra la gráfica de dispersión del volumen de la semilla, aplicando el modelo elipsoidal, versus la masa de la semilla. El valor de correlación R<sup>2</sup> resultó 0,9133.

En la Tabla 3 se reporta la composición proximal realizada a la cáscara y la semilla de neem. Los componentes principales de la cáscara son fibra cruda y carbohidratos, mientras que la almendra contiene aceite, fibra cruda y proteínas. Debido a que la cáscara no contiene aceite, la extracción del

Tabla 1  
Análisis fisicoquímicos para la caracterización de la semilla de neem

Análisis	Método
Densidad relativa	Picnómetro
Índice de refracción	COVENIN 0702:2001
Índice de acidez	COVENIN 0325:2001
Índice de saponificación	COVENIN 0323:1998
Índice de yodo	COVENIN 0324:2001
Índice de peróxido	COVENIN 0508:2001
Título	AOCS 1259
Color	COVENIN 1191:1996
Perfil de ácidos grasos	COVENIN 2281:1998

Tabla 2  
Características dimensionales de la semilla de neem

	Semilla			Almendra		
	Masa (g)	Largo (cm)	Ancho (cm)	Masa (g)	Largo (cm)	Ancho (cm)
Promedio	0,21	1,3	0,63	0,13	1,07	0,47
Desviación estándar	0,05	0,2	0,07	0,02	0,08	0,04

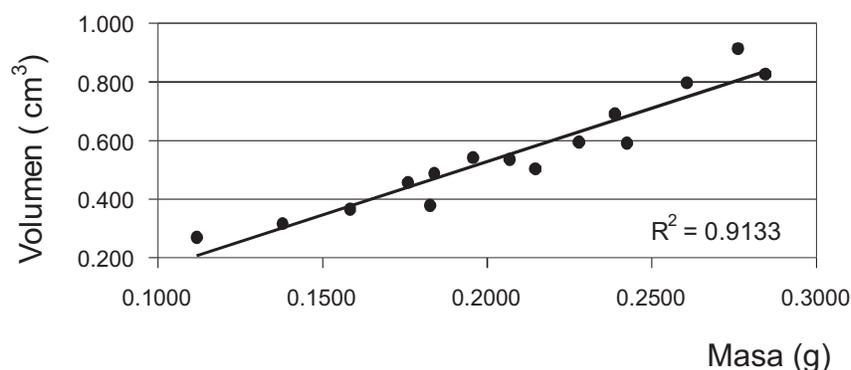


Figura 3. Correlación volumen elipsoidal versus masa de semilla.

Tabla 3  
Composición proximal de la semilla de neem

	Cáscara		Almendra	
	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
% Humedad	11,9	0,2	9,5	0,1
% Extracto etéreo	No detectado	28,0	1,7	
% Cenizas	1,6	0,1	5,6	0,4
% Fibra cruda	55,0	1,4	24,0	2,0
% Proteínas	4,45	0,03	21,8	0,5
% Carbohidratos	27,0	1,4	11,1	2,7

aceite se realizó exclusivamente de la almendra.

Las Tablas 4 y 5 muestran los contenidos de macro y micro elementos en la semilla. Se detectaron y cuantificaron los micro elementos Cu Zn y Mn. El mayor contenido de macro elementos se observa en la almendra (4,97%) y contrariamente, la cáscara presenta mayor contenido de micro elementos (120,3 ppm).

El efecto de la presión y del tiempo de prensado sobre la cantidad de aceite extraído utilizando la técnica de prensado, se muestra en las Figuras 4 y 5 respectivamente; se observa que el porcentaje de aceite extraído es lineal respecto del incremento de la presión, en el rango de estudio. El porcentaje de aceite extraído permanece constante a

partir de los 15 minutos de extracción, a una presión de 18 kpsi; estas son las condiciones a las cuales se realiza la extracción del aceite para el resto de los ensayos.

Los resultados de la extracción de aceite por el método de prensado, así como por el método Soxhlet, para los distintos solventes orgánicos utilizados, se muestran en la Tabla 6. El porcentaje de extracción de aceite sigue un orden decreciente hexano, éter de petróleo, etanol, hasta el método de prensado. La Tabla 7 muestra el análisis de varianza (ANOVA) para los diferentes métodos de extracción e indica una diferencia significativa entre los métodos. ( $p < 0,05$ ), por los que se realizó la prueba de comparación (contraste) con los resultados que se muestran en la Tabla 8. Son de particular interés las diferencias con respecto al método de ex-

Tabla 4  
Macroelementos en la semilla de neem

	Cáscara		Almendra	
	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
% Potasio	0,10	0,02	0,91	0,03
% Calcio	0,38	0,04	0,19	0,02
% Magnesio	0,01	0,01	0,12	0,01
% Azufre	0,10	0,01	0,27	0,04
% Nitrógeno	0,71	0,01	3,48	0,08
ppm Fósforo	210	30	320	30
ppm Hierro	63,5	0,7	70	1

Tabla 5  
Microelementos en la semilla de neem

	Cáscara		Almendra	
	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
ppm Cobre	23,9	0,2	25,2	0,6
ppm Zinc	80,4	0,3	38,8	0,1
ppm Manganeso	15,6	0,9	23,3	1,6

tracción con hexano, por ser el que presentó mayor porcentaje de aceite. La mayor diferencia se observa con el prensado y es de aproximadamente 10%.

Los resultados de la caracterización física de los aceites obtenidos por los distintos métodos se muestran en la Tabla 9. Las propiedades como índice de refracción, punto de fusión y título mostraron ser similares y se encuentran en los rangos reportados para los aceites de semillas comunes (23). La densidad para el aceite de prensado resultó ligeramente mayor; el color del aceite extraído con etanol es más intenso al resto de los aceites.

La Tabla 10 muestra los resultados de los análisis químicos realizados a los aceites. Resalta el índice de acidez, el cual es superior en los aceites extraídos con solventes

orgánicos que el obtenido por prensado, esto sugiere un posible efecto de la temperatura de extracción sobre la reacción de conversión de triglicéridos a ácidos grasos libres. Sin embargo, no se descarta un efecto de actividad enzimática lipásica sobre los triglicéridos que favorezca su descomposición (23).

El índice de yodo corrobora la presencia de insaturaciones en los componentes del aceite; los resultados (<100) señalan también que el aceite es tipo no secante (23). Los valores de índice de saponificación y porcentaje de insaponificables sugieren su posible uso en jabones y cosméticos, para lo cual se exige un valor mínimo de 185 (24). Los resultados del índice de peróxido, luego de una semana de extracción, indican estabilidad de los aceites ante la reacción de oxidación.

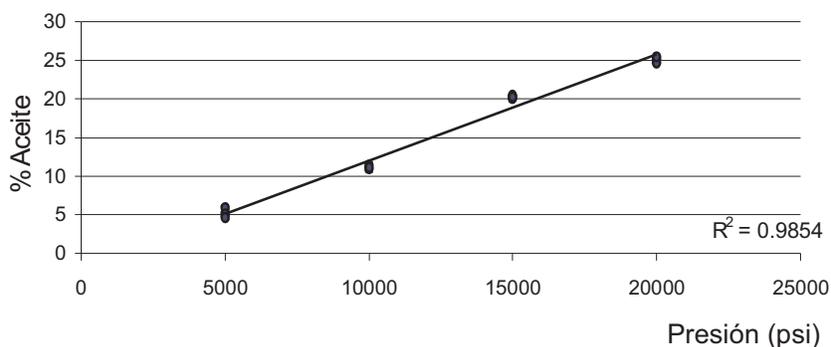


Figura 4. Porcentaje de aceite extraído versus presión.

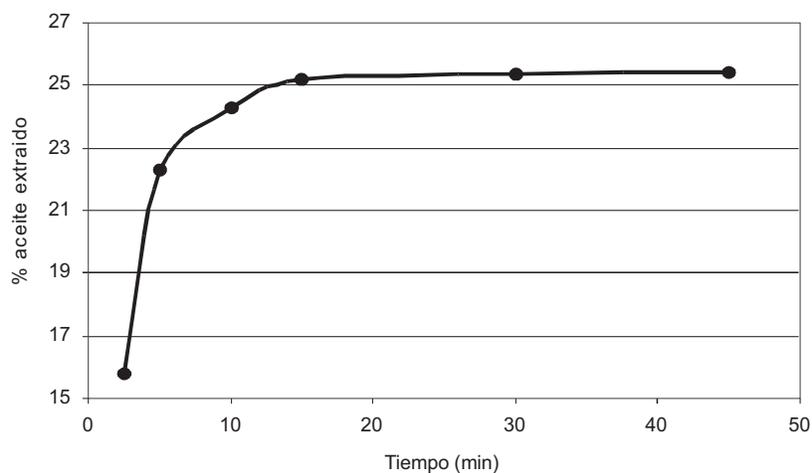


Figura 5. Porcentaje de aceite versus tiempo de prensado.

Tabla 6  
Resultados de extracción

	Extracción Soxhlet (% de aceite)			Prensado (% de aceite)
	Hexano	Éter de petróleo	Etanol	
Promedio	35,44	33,80	26,37	25,13
Desviación estándar	0,39	0,34	0,46	0,40

Tabla 7  
Resultados del análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Valor p
Método de extracción	2238,75	4	559,69		
Error	1,436	10	0,144	3896,28	0,0000
Total	2240,19	14			

Tabla 8  
Resultados de pruebas de contraste

Contraste	Diferencia entre % de aceite
Éter-Etanol	7,43
Hexano-Etanol	9,07
Etanol-Prensado	1,24
Hexano-Éter	1,64
Éter-Prensado	8,67
Hexano-Prensado	10,31

La Tabla 11 muestra la composición en ácidos grasos obtenidos por cromatografía de los aceites (Figura 6). Aproximadamente, 70 por ciento corresponde a ácidos con 18 átomos de carbono: esteárico, oleico, linoleico y linolénico, y 17 por ciento a ácidos con 16 carbonos: palmítico y palmitoleico. Entre el 34 y 46 por ciento de los ácidos corresponden a saturados, mientras que entre el 51 y 59 por ciento de los ácidos son insaturados.

### Conclusiones

El plan de muestreo aleatorio sistemático permitió realizar la caracterización dimensional de la semilla; ésta se adapta a un

Tabla 9  
Propiedades físicas de los aceites

Extracto	Color Lovibond ( $\pm 0,1 1''$ )			Índice de refracción ( $\pm 0,0003$ )	Densidad relativa ( $\pm 0,0002$ )	Punto de fusión ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ )	Título ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ )
	Rojo	Amarillo	Azul				
Prensado	4,8 s = 0,1	49 s = 1	0,5 s = 0,2	1,4540	0,9435	17,4	38,8
Sohxlet-hexano	4,8 s = 0,1	58 s = 8	1,3 s = 0,3	1,4540	0,9416	17,4	38,8
Sohxlet-éter de petróleo	4,7 s = 0,2	56 s = 5	1,4 s = 0,2	1,4542	0,9422	17,4	38,8
Sohxlet-etanol	6,7 s = 0,3	69 s = 5	2,3 s = 0,1	1,4548	0,9374	17,8	38,8

Tabla 10  
Propiedades químicas de los aceites

	Prensado	Sohxlet-hexano	Sohxlet-éter de petróleo	Sohxlet-etanol
Índice de peróxido * (meq O <sub>2</sub> /Kg muestra)	3,9 (s = 0,2)	3,9 (s = 0,3)	3,8 (s = 0,2)	2,4 (s = 0,3)
Índices de yodo (g yodo/100 g muestra)	67 (s = 1)	67 (s = 1)	67 (s = 1)	67 (s = 1)
Índice de saponificación (Mg KOH/g muestra)	194 (s = 1)	195 (s = 1)	195 (s = 1)	196 (s = 1)
Índice de acidez (Mg KOH/g aceite)	17,3 (s = 0,5)	21,7 (s = 0,3)	21,7 (s = 0,4)	18,8 (s = 0,3)
% insaponificables	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1

\* una semana después de extraído.

Tabla 11  
Composición porcentual en ácidos grasos de los aceites

Ácido graso	Nombre común	Tiempo de retención (min)	Prensado	Sohxlet-hexano	Sohxlet-éter de petróleo	Sohxlet-etanol
C14:0	Mirístico	3,38	0,13	0,12	0,04	0,01
C14:1	Miristoléico	3,91	0,18	0,08	0,04	0,10
C15:0	Pentadecanoico	4,52	1,24	1,45	1,27	1,05
C16:0	Palmítico	6,60	15,54	19,70	17,94	17,04
C16:1	Palmitoléico	7,17	0,30	0,17	0,09	0,34
C17:0	Margárico	8,70	0,11	0,17	0,14	0,13
C18:0	Estearico	11,43	15,39	20,44	21,17	18,98
C18:1	Oleico	12,20	43,27	36,96	39,02	36,63
C18:2	Linoléico	13,69	13,96	14,02	14,16	14,42
C18:3	Linolénico	15,36	0,16	0,39	0,45	0,45
C19:0	Nonadecanoico	15,15	0,09	0,08	0,14	0,29
C20:0	Araquídico	18,58	2,16	1,50	1,51	1,41
C22:0	Behénico	27,63	0,15	0,21	0,26	0,24
C22:1	Cetoléico	28,49	0,05	0,00	0,01	0,00
C24:0	Lignocérico	32,93	0,31	0,05	0,02	0,03
C22:4	Tetradocosenoico	39,20	0,37	0,19	0,21	0,18
	No identificados		6,61	4,46	3,55	8,70

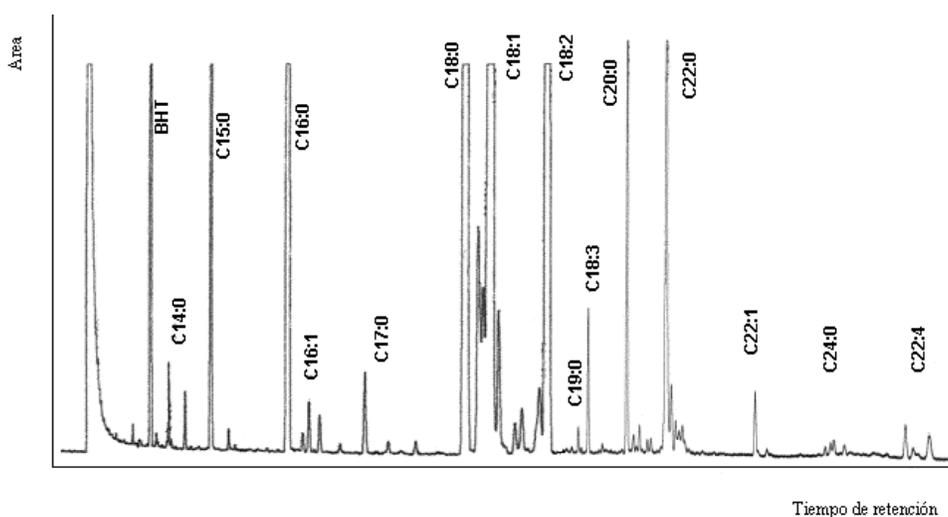


Figura 6. Cromatograma característico del perfil de ácidos grasos.

modelo elipsoidal, con una proporción ancho largo igual a 2,06. La masa de la semilla resultó ser de 0,21 g (S = 0,05 g) y el 62 por ciento de la masa de la semilla corresponde a la almendra.

La evaluación proximal de la almendra de la semilla arrojó como principales componentes aceite, fibra cruda y proteínas. La cáscara esta constituida principalmente por fibra y carbohidratos. Se identificaron y cuantificaron, los siguientes macroelementos: K, Ca, Mg, S, N, P y Fe. Los microelementos presentes son Cu, Mn y Zn. El contenido de microelementos es superior en la cáscara.

El rendimiento de la extracción del aceite de la semilla de neem arrojó el siguiente orden:

hexano  $\geq$  éter de petróleo > etanol  $\approx$  prensado.

El análisis de varianza (ANOVA) indica una diferencia significativa entre los métodos de extracción. La prueba de comparación de contraste indica que la diferencia entre la extracción con solvente y prensado es de 10,3 por ciento.

Se observó un efecto lineal de la presión sobre el porcentaje de extracción por prensado, en el rango de 5000 a 20000 psi. El tiempo mínimo de extracción resultó ser 15 minutos.

Las propiedades físicas de índice de refracción, punto de fusión y título resultaron semejantes para los extractos con solventes y prensado. Las propiedades químicas de los aceites extraídos se encuentran en los rangos reportados para aceites de semillas comunes. El índice de acidez de los aceites extraídos con solventes resultó mayor al del prensado, sugiriendo un efecto térmico sobre los triglicéridos con conversión a ácidos libres. Los resultados de yodo indican la presencia abundante de compuestos insaturados en el aceite. El índice de peróxido, luego de una semana de extraídos los aceites, indica estabilidad ante la reacción de

oxidación. Los valores de índice de saponificación señalan un potencial uso de los aceites en la industria de los jabones.

El perfil de ácidos grasos por cromatografía, muestra una composición de ácidos grasos totales semejantes, entre los aceites extraídos. Aproximadamente entre el 51 y 59 por ciento de los ácidos grasos son insaturados y 34 a 46 por ciento son saturados. El 70 por ciento de los ácidos grasos corresponden a cadenas de 18 carbonos; el 16 por ciento de los ácidos grasos corresponden a cadenas de 16 carbonos.

### Agradecimientos

Los autores quieren expresar su agradecimiento a las siguientes instituciones por la colaboración prestada: Laboratorio de Alimentos de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de Carabobo, Laboratorio de Industrias Diana y el Laboratorio de Farmacología de Ciencias Médicas de la Universidad de Carabobo.

### Referencias Bibliográficas

1. SCHMUTTERER H. Origin, geographical distribution and use of the Neem tree ***Proceeding of seminar: The potencial of the Neem tree in Ghana***. Dodowa (Ghana), pp. 27-32, 1998.
2. SCHMUTTERER H. ***The neem Tree. Source of unique products for integrated pest management, medicine, industry and other purpose***. VCH Publ. (Germany), pp. 66- 72, 1995.
3. FÖSTER P, MOSER G. Neem in development-cooperation projects. ***Status report on global neem usage*** (Eds. GTZ), Eschborn (Germany), pp. 95-MARTES AM96, 2000.
4. HOESCHLE I. Alternatives to synthetic pesticides with emphasis on neem. ***Memories of National Conference on Biopesticides***. Jakarta (Indonesia), pp. 35-41, 1998.

5. 5PBSTID. Neem, a tree for solving global problem. **Report of Panel of Board of Science and Technology for International Development**. National Research Council (USA), pp. 25, 1992.
6. ABBIW D. **Useful plants of Ghana**. Intermediate Technology Publications and the Royal Botanic Gardens, Kew, (UK) pp. 337-358, 1990.
7. SITTE A. The medical potential of neem tree products. **Proceeding of seminar The potential of Neem Tree**. University of Ghana (Ghana), pp. 69-74, 1998.
8. MONTGOMERY D, RUNGER G. **Probabilidad y Estadística aplicada a la Ingeniería**. Mc Graw Hill (México), pp. 60-208, 1996.
9. WEIRES R. **Investigación y muestreo. Aspectos básicos del muestreo y la medición**. Prentice Hall Hispanoamericana (México), pp. 96-124, 1986.
10. **COVENIN 0593**. Aceites y grasa vegetales. Determinación de humedad. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 1998.
11. **COVENIN 3218**. Aceites y grasa vegetales. Determinación del extracto etéreo. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 1996.
12. **COVENIN 0328**. Aceites y grasa vegetales. Determinación de cenizas. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 1996.
13. **COVENIN 1194**. Aceites y grasa vegetales. Determinación de fibra cruda. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 1979.
14. VAUGHAN J. **The structure and utilization of Oil seed**. Barnes & Noble Inc. Chapman and Hall (Inglaterra), pp. 155-179, 1970.
15. **COVENIN 0702**. Aceites y grasa vegetales. Determinación del índice de refracción. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 2001.
16. **COVENIN 0325**. Aceites y grasa vegetales. Determinación de la acidez. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 2001.
17. **COVENIN 0323**. Aceites y grasa vegetales. Determinación del índice de saponificación. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 1998.
18. **COVENIN 0324**. Aceites y grasa vegetales. Determinación del índice de yodo. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 2001.
19. **COVENIN 0508**. Aceites y grasa vegetales. Determinación del índice de peróxidos. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 2001.
20. A.O.C.S. 1259. Determination of titer in natural oils. **Amer Oil Chem Soc** 46 (USA), pp. 363-367, 1970.
21. **COVENIN 1191**. Aceites y grasa vegetales. Determinación del color. Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 1996.
22. **COVENIN 2281**. Aceites y grasa vegetales. Determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases (1ra. Revisión). Fondonorma-COVENIN (Venezuela), 1998.
23. RANKEN M. **Manual de industrias de alimentos**. Segunda edición. Editorial Acribia, Zaragoza (España), pp. 195-245, 1993.
24. MATISSEK R., SCHNEPEL F., STEINER G. **Análisis de alimentos. Fundamentos, Métodos y Aplicaciones**. Editorial Acribia, Zaragoza (España), pp. 1-329, 1998.