

Contribución de la Espectroscopía Infrarroja en el Control de Calidad de Aceites Esenciales de Menta Piperita y Eucalipto

ISAAC MIZRAHI, VIOLETA SONVICO y MIGUEL A. JUAREZ

Departamentos de Botánica, Unidad Plantas Aromáticas y de Estadística,
INTA, 1712 Castelar, Provincia de Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. Se determina cuantitativamente por espectroscopía infrarroja el contenido de mentol y acetato de mentilo en aceites esenciales de *Mentha piperita* y el de cineol en los de *Eucalyptus globulus*, efectuándose un estudio estadístico comparativo con los valores obtenidos por el análisis químico. Dada la concordancia satisfactoria hallada entre ambas técnicas, se considera que la espectroscopía infrarroja puede ser utilizada en lugar del análisis químico en el control de calidad de estas dos esencias, especialmente cuando no se dispone de suficiente volumen de muestra.

SUMMARY. The content of menthol and menthyl acetate in *Mentha piperita* essential oils as well as cineole in *Eucalyptus globulus* oils was quantitatively determined by infrared spectroscopy. A comparative statistic study with the values obtained by this technique and chemical analysis was done. According to the satisfactory concordance of the two methods, infrared spectroscopy can be used instead of chemical analysis in the control of quality of both essential oils, specially when the sample is insufficient.

INTRODUCCION

El aceite esencial de menta piperita es sin duda uno de los de mayor importancia comercial, siendo muy utilizado en pastas dentífricas, caramelos, confituras, productos farmacéuticos, bebidas alcohólicas y no alcohólicas, etc., a quienes imparte un sabor y aroma agradable. El de eucalipto es empleado principalmente en la industria cosmética, alimenticia y farmacéutica¹⁻⁴.

La producción de estos aceites esenciales ha sido estimada en el período 1978/1979 en unas 30 toneladas de menta piperita y unas 20 toneladas de eucalipto⁵, habiéndose producido posterior-

mente una disminución apreciable de las mismas por condiciones económicas adversas, siendo difícil establecer la producción actual de ellos. Se considera que esta situación puede revertirse en los próximos años.

Las principales zonas de producción han sido Córdoba, San Luis, San Juan y Mendoza en menta piperita y el sudeste de la provincia de Buenos Aires en eucalipto, destacándose al respecto Mar del Plata, Necochea, Miramar y Lobería.

La Unidad Plantas Aromáticas del INTA, ha efectuado introducciones de material vegetal de reproducción de bue-

PALABRAS CLAVE: Espectroscopía infrarroja; Aceites esenciales; Menta piperita; Eucalipto; Estudio estadístico

KEY WORDS: *Infrared spectroscopy; Essential oils; Peppermint; Eucalyptus; Statistic study*

na calidad de Inglaterra y de Italia en menta piperita y realizado ensayos que han permitido seleccionar el clon 626⁶, el cual en su oportunidad fue incorporado a algunos cultivos industriales de la zona de Villa Dolores, Córdoba y Merlo, San Luis. En eucalipto, teniendo en cuenta el bajo contenido de cineol en las esencias producidas en el país a partir del *Eucalyptus globulus*, del orden del 50 al 65%, el INTA introdujo semillas de *Eucalyptus fruticetorum* de Australia, especie que se caracteriza por su mayor rendimiento de esencia y contenido de cineol superior al 70%^{1,4}.

En los últimos años esta Unidad ha efectuado en Castelar una selección individuo por individuo que ha permitido obtener ejemplares de buen rendimiento de esencia y alto contenido de cineol, comprendido entre 84 y 88%, que están siendo multiplicados para su posterior distribución entre los productores⁷.

Los componentes que influyen principalmente en la calidad comercial de la esencia de menta piperita son el mentol y el acetato de mentilo y en la de eucalipto el cineol o eucaliptol.

La valoración de estos componentes por análisis químico se efectúa según los métodos establecidos en las normas IRAM respectivas^{8,9}. Estas determinaciones requieren un tiempo apreciable y disponer de suficiente volumen de esencia, lo cual no siempre es posible, por cuyo motivo en este trabajo se trató de desarrollar metodologías por espectroscopía infrarroja que permitieran determinar cuantitativamente el contenido de estos compuestos y que los valores obtenidos fueran estadísticamente comparables con los hallados por el análisis químico, con la particularidad que serían determinaciones más rápidas y requerirían mínimas cantidades de muestra.

MATERIAL Y METODOS

La metodología utilizada para determinar cuantitativamente el contenido de mentol, acetato de mentilo y cineol por espectroscopía infrarroja, fue la siguiente:

Mentol. Se prepararon soluciones de *l*-mentol purísimo (99,70% determinado por cromatografía en fase gaseosa) en cloroformo en concentraciones entre 30 y 50% (p.p), teniendo en cuenta que estos valores comprenden los porcentajes de mentol normalmente presentes en los aceites esenciales de menta piperita^{1,2,4,10}.

Se obtuvieron los espectros infrarrojos de estas soluciones determinándose la absorbancia de la banda a 993 cm⁻¹ de su espectro¹¹, tomando como base la absorbancia a 2000 cm⁻¹. La recta que representaba los porcentajes de mentol en las soluciones y las respectivas absorbancias a 993 cm⁻¹ fue calculada matemáticamente por el método de los cuadrados mínimos¹².

Mediante la recta hallada se calculó posteriormente el % de mentol en 22 aceites esenciales de menta piperita, a partir de la absorbancia a 993 cm⁻¹ de sus espectros. En estas muestras se determinó además el contenido de alcoholes libres como mentol por análisis químico^{8,13}, para su comparación con los valores hallados por el método espectrofotométrico.

Estos aceites esenciales fueron seleccionados de tal manera que abarcaran un rango lo más amplio posible en su contenido de mentol.

Acetato de mentilo. Se calculó matemáticamente la recta de calibración mediante 15 esencias de menta piperita con un contenido de ésteres como acetato de mentilo, determinado por análisis químico^{8,14}, comprendido entre 4 y 16% y las absorbancias a 1245 cm⁻¹ de sus respectivos espectros¹¹, tomando co-

mo base la absorbancia a 2000 cm^{-1} . Estos valores de acetato de mentilo abarcan los presentes en las esencias normales de menta piperita^{2,8,15}.

Con esta recta se calculó posteriormente el porcentaje de acetato de mentilo de otras 21 esencias, a partir de la absorbancia a 1245 cm^{-1} de sus espectros. Estas esencias, cuyo contenido de ésteres como acetato de mentilo fue determinado previamente por análisis químico, fueron consideradas como incógnitas con el objeto de establecer las diferencias entre los dos métodos.

Cineol. La recta de calibración fue hallada matemáticamente a partir de soluciones de cineol de 98,5% de pureza, determinado por cromatografía en fase gaseosa, en sulfuro de carbono de concentraciones comprendidas entre 49 y 73% (p:p) y las respectivas absorbancias a 1307 cm^{-1} de sus espectros¹¹, tomando como base la absorbancia a 2000 cm^{-1} .

Se calcularon posteriormente los contenidos de cineol en 19 esencias de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), naturales y algunas rectificadas, a partir de la absorbancia a 1307 cm^{-1} de sus espectros. En estas esencias se valoró el contenido de cineol por análisis químico por el método del orto-cresol¹⁶.

En la obtención de los espectros infrarrojos de este trabajo se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer Modelo 467 y una celda sellada de 0,025 mm de espesor, con ventanas de cloruro de sodio.

Estudio estadístico. Se analizó estadísticamente^{17,18} la relación entre los porcentajes de mentol, acetato de mentilo y cineol hallados por espectroscopía infrarroja y análisis químico. Para ello se calcularon las variancias entre determinaciones aisladas para cada componente y método, las cuales fueron menores

para la técnica espectrofotométrica.

Se estimaron posteriormente, en cada caso, las ecuaciones de regresión que relacionaban los resultados obtenidos por ambos métodos y se determinó la variabilidad de los puntos alrededor de la recta de regresión, la variancia del coeficiente de regresión y los intervalos de confianza al 5% de cada una de las rectas. Se efectuó la prueba de la hipótesis $\beta = 0$, que fue rechazada en los tres casos al nivel del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las rectas de calibración obtenidas para los tres compuestos estudiados, fueron:

% *mentol*: $-8,745 + 122,059$. absorbancia a 993 cm^{-1}

% *acetato de mentilo*: $-2,834 + 17,405$. absorbancia a 1245 cm^{-1}

% *cineol*: $-19,979 + 215,984$. absorbancia a 1307 cm^{-1}

En las tablas 1 y 2 pueden observarse los porcentajes de mentol y acetato de mentilo determinados por espectroscopía infrarroja por medio de las rectas respectivas y los obtenidos por análisis químico, en las esencias de menta analizadas.

Al efectuarse el estudio estadístico de los valores hallados por los dos métodos, para cada compuesto, se observa que hay una relación lineal entre ellos, que puede ser expresada por las siguientes ecuaciones:

Mentol:

$\hat{z}_i: 3,9924 + 0,9066 \cdot \hat{y}_i$

Acetato de mentilo:

$\hat{z}_i: -0,0202 + 1,0232 \cdot \hat{y}_i$

donde \hat{z}_i es el porcentaje estimado del componente por análisis químico e \hat{y}_i el porcentaje hallado por espectroscopía infrarroja.

La prueba de la hipótesis $\beta = 0$ fue rechazada en ambos casos al nivel del 5%,

Muestra Nº	% de mentol	
	Espectroscopía infrarroja \hat{y}_i	Análisis químico \hat{z}_i
1	36,73	34,86
2	36,89	36,08
3	34,55	36,17
4	36,08	36,28
5	36,33	36,37
6	38,55	36,55
7	36,35	36,65
8	37,82	37,21
9	37,90	37,60
10	38,95	37,78
11	39,54	38,14
12	35,02	38,68
13	36,94	40,50
14	39,83	41,25
15	40,12	41,36
16	39,73	41,60
17	42,48	42,82
18	43,80	42,99
19	42,16	43,26
20	43,56	45,15
21	46,67	45,23
22	44,79	45,32

Tabla 1. Determinación cuantitativa de mentol en aceites esenciales de *Mentha piperita* por espectroscopía infrarroja y análisis químico

lo que permite inferir que estas ecuaciones describen la relación existente entre ambos métodos.

La concordancia entre la espectroscopía infrarroja y el análisis químico para evaluar el contenido de mentol en las esencias de menta piperita se considera satisfactoria, teniendo en cuenta la amplitud de los intervalos de confianza de la ecuación de regresión (Tabla 3 y Fig. 1). De lo anterior surge que si el valor determinado por espectroscopía infrarroja fuera de 40,0% y se quisiera conocer cuál sería el porcentaje de mentol que se hallaría si se utilizara el método químico, puede afirmarse que el intervalo 36,9–43,7% cubre

Muestra	% de acetato de mentilo	
	Espectroscopía infrarroja \hat{y}_i	Análisis químico \hat{z}_i
A	4,76	4,63
B	4,36	4,70
C	4,82	5,02
D	5,53	5,16
E	5,79	5,51
F	6,14	5,83
G	6,05	6,44
H	6,31	6,59
I	6,86	6,77
J	6,88	7,21
K	7,22	7,97
L	9,54	9,38
M	9,04	9,45
N	9,08	9,61
O	10,17	9,67
P	9,61	10,47
Q	10,28	10,75
R	11,53	11,29
S	11,21	11,93
T	12,27	12,38
U	13,85	14,09

Tabla 2. Determinación cuantitativa de acetato de mentilo en aceites esenciales de *Mentha piperita* por espectroscopía infrarroja y análisis químico.

el valor esperado con una probabilidad del 95%, lo cual es más que aceptable.

En el caso del acetato de mentilo la concordancia entre ambas técnicas es muy satisfactoria (Tabla 4 y Figura 2), dado que para un valor hallado por espectroscopía infrarroja de 10,0% correspondería un intervalo de 9,3–11,1% si se utilizara el método químico, con una probabilidad del 95%.

La concordancia entre estas dos técnicas de análisis surge también de la Tabla 5, donde se indican las diferencias porcentuales entre los contenidos de mentol y acetato de mentilo determinados por ellas, tomando como base el va-

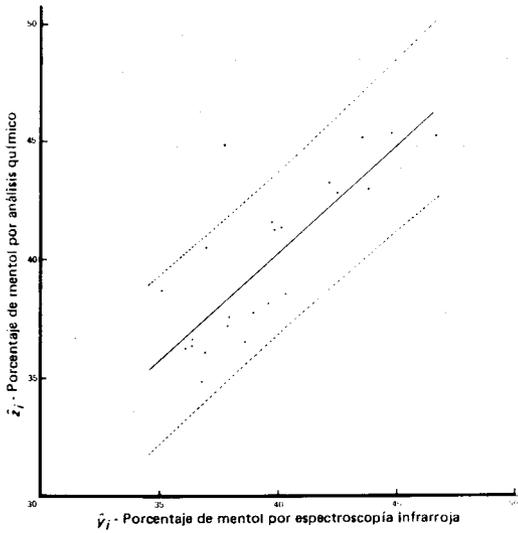


Figura 1. Representación gráfica de los porcentajes de mentol hallados por espectroscopía infrarroja y análisis químico en *Mentha piperita*. Recta de Regresión ($\hat{z}_i = 3,9924 + 0,9066 \cdot \hat{y}_i$) e intervalos de confianza (5 %)

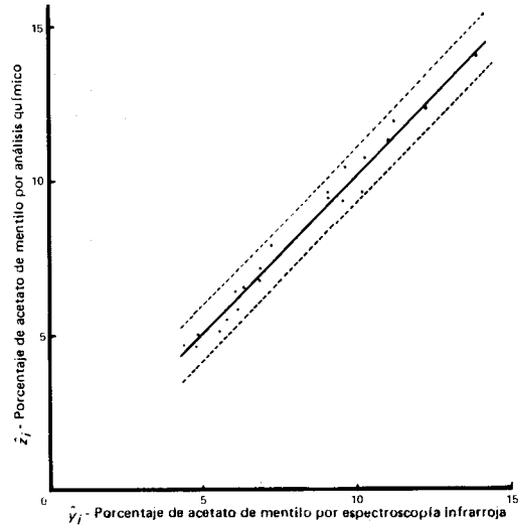


Figura 2. Representación gráfica de los porcentajes de acetato de mentilo obtenidos por espectroscopía infrarroja y análisis químico en *Mentha piperita*. Recta de Regresión ($\hat{z}_i = -0,0202 + 1,0232 \cdot \hat{y}_i$) e intervalos de confianza (5 %).

\hat{y}_i	\hat{z}_i	Intervalo de confianza	Límites del intervalo de confianza 5%
35,00	35,72	± 3,53	32,19 – 39,25
36,00	36,63	± 3,48	33,15 – 40,11
37,00	37,54	± 3,44	34,10 – 40,98
38,00	38,44	± 3,42	35,02 – 41,86
39,00	39,35	± 3,40	35,95 – 42,75
40,00	40,26	± 3,41	36,85 – 43,67
41,00	41,16	± 3,42	37,74 – 44,58
42,00	42,07	± 3,45	38,62 – 45,52
43,00	42,98	± 3,50	39,48 – 46,48
44,00	43,88	± 3,55	40,33 – 47,43
45,00	44,79	± 3,62	41,17 – 48,41
46,00	45,70	± 3,70	42,00 – 49,40

Tabla 3. Intervalos de confianza de la ecuación de regresión del mentol
 $\hat{z}_i = 3,9924 + 0,9066 \cdot \hat{y}_i$

\hat{y}_i	\hat{z}_i	Intervalo de confianza	Límites del intervalo de confianza 5%
4,40	4,48	± 0,89	3,59 – 5,37
5,20	5,30	± 0,88	4,42 – 6,18
6,00	6,12	± 0,87	5,25 – 6,99
6,80	6,94	± 0,86	6,08 – 7,80
7,60	7,76	± 0,86	6,90 – 8,62
8,40	8,58	± 0,86	7,72 – 9,44
9,20	9,39	± 0,86	8,53 – 10,25
10,00	10,21	± 0,87	9,34 – 11,08
10,80	11,03	± 0,88	10,15 – 11,91
11,60	11,85	± 0,89	10,96 – 12,74
12,40	12,67	± 0,90	11,77 – 13,57
13,20	13,49	± 0,92	12,57 – 14,41
14,00	14,31	± 0,95	13,36 – 15,26

Tabla 4. Intervalos de confianza de la ecuación de regresión del acetato de mentilo
 $\hat{z}_i = -0,0202 + 1,0232 \cdot \hat{y}_i$

lor hallado por análisis químico.

En mentol, las diferencias entre las dos técnicas son menores a 5,50% en el 90,9% de las esencias estudiadas, con un

valor promedio de 3,21%. En acetato de mentilo, el 81,0% de las muestras presentó coincidencias dentro del 6,06%, con una diferencia promedio del 4,60%.

Mentol		Acetato de mentilo	
Muestra N°	Diferencia* porcentual	Muestra	Diferencia* porcentual
1	+ 5,36		
2	+ 2,25	A	+ 2,18
3	- 4,48	B	- 7,23
4	- 0,55	C	- 3,98
5	- 0,11	D	+ 7,17
6	+ 5,47	E	+ 5,08
7	- 0,82	F	+ 5,32
8	+ 1,64	G	- 6,06
9	+ 0,80	H	- 4,25
10	+ 3,10	I	+ 1,33
11	+ 3,67	J	- 4,58
12	- 9,46	K	- 9,40
13	- 8,79	L	+ 1,71
14	- 3,44	M	- 4,34
15	- 3,00	N	- 5,52
16	- 4,50	O	+ 5,17
17	- 0,79	P	- 8,21
18	+ 1,88	Q	- 4,37
19	- 2,54	R	+ 2,13
20	- 3,52	S	- 6,04
21	+ 3,18	T	- 0,89
22	- 1,17	U	- 1,70
Promedio	3,21	Promedio	4,60

Tabla 5. Diferencias porcentuales de los contenidos de mentol y acetato de mentilo hallados por espectroscopía infrarroja y análisis químico en aceites esenciales de *Mentha piperita*.

* Base análisis químico

TECNICA	DIFERENCIA PORCENTUAL	
	Mentol	Acetato de mentilo
ESPECTROSCOPIA INFRARROJA Mizrahi, Sonvico y Juarez	0,11 - 9,46	0,89 - 9,40
CROMATOGRAFIA EN FASE GASEOSA Farnow ^{19,20}		
a) Por integración interna	0,88 - 33,00	0,00 - 52,89
b) Por cálculo de factores	0,00 - 24,78	0,45 - 54,46
Mizrahi, Gómez Artero y Rossi²¹		
a) Por integración interna	0,10 - 25,20	1,90 - 18,30
b) Por standard interno	0,10 - 7,00	0,10 - 9,20
Perina, Leon y Pereyra²² Por integración interna	14,36	51,92

Tabla 6. Diferencias porcentuales halladas en la determinación cuantitativa de mentol y acetato de mentilo por espectroscopía infrarroja y cromatografía en fase gaseosa.

Muestra N°	Porcentaje de cineol	
	Espectroscopía infrarroja \hat{y}_i	Análisis químico \hat{z}_i
1	55,81	57,6
2	57,57	58,5
3	57,41	59,0
4	57,51	59,7
5	58,65	59,9
6	59,13	60,4
7	60,68	60,8
8	59,62	61,2
9	59,36	62,1
10	61,90	62,3
11	63,06	62,4
12	64,53	63,5
13	64,90	65,5
14	63,87	66,1
15	67,81	67,8
16	70,59	69,3
17	72,59	71,3
18	69,08	71,8
19	71,27	71,9

Tabla 7. Determinación cuantitativa de cineol en esencias de *Eucalyptus globulus* por espectroscopía infrarroja y análisis químico

Las diferencias porcentuales obtenidas en mentol y acetato de mentilo por esta metodología infrarroja son comparables con las halladas por otros autores entre la cromatografía en fase gaseosa y otros métodos de análisis (Tabla 6)¹⁹⁻²².

En lo que respecta a la determinación de cineol en las esencias de *Eucalyptus globulus*, se indican en la Tabla 7 los porcentajes de cineol obtenidos por espectroscopía infrarroja mediante la recta de calibración anteriormente mencionada y por análisis químico, en las 19 muestras estudiadas. De acuerdo al estudio estadístico realizado, la relación entre ambos conjuntos de valores puede ser expresada por la siguiente ecuación.

$$\hat{z}_i = 8,9012 + 0,8717 \cdot \hat{y}_i$$

donde \hat{z}_i es el porcentaje estimado de cineol por análisis químico e \hat{y}_i el porcen-

taje de cineol hallado por espectroscopía infrarroja.

La amplitud de los intervalos de confianza de la ecuación de regresión (Tabla 8 y Figura 3), indica que la concordancia entre ambas técnicas es satisfactoria, dado que si el valor hallado por espectroscopía infrarroja fuera de 63,0% correspondería un porcentaje que se hallaría por el método químico entre 61,4 y 66,3%, intervalo que cubre ese valor con una probabilidad del 95%, lo que es bastante aceptable.

Esta concordancia surge también de las diferencias porcentuales halladas entre los dos métodos para las 19 muestras de eucalipto estudiadas, tomando como base los valores obtenidos por análisis químico (Tabla 9). Las diferencias son inferiores al 4,45% en todas las muestras, con un promedio general del 2,02% y con 73,7% de las esencias presentando diferencias inferiores al 2,7%.

\hat{y}_i	\hat{z}_i	Intervalo de confianza	Límites del intervalo de confianza (5%)
56,00	57,72	± 2,59	55,13 - 60,31
57,00	58,59	± 2,56	56,03 - 61,15
58,00	59,46	± 2,53	56,93 - 61,99
59,00	60,33	± 2,51	57,82 - 62,84
60,00	61,20	± 2,49	58,71 - 63,69
61,00	62,08	± 2,48	59,60 - 64,56
62,00	62,95	± 2,48	60,47 - 65,43
63,00	63,82	± 2,47	61,35 - 66,29
64,00	64,69	± 2,48	62,21 - 67,17
65,00	65,56	± 2,48	63,08 - 68,04
66,00	66,43	± 2,50	63,93 - 68,93
67,00	67,31	± 2,51	64,80 - 69,82
68,00	68,18	± 2,53	65,65 - 70,71
69,00	69,05	± 2,56	66,49 - 71,61
70,00	69,92	± 2,59	67,33 - 72,51
71,00	70,79	± 2,63	68,16 - 73,42
72,00	71,66	± 2,66	69,00 - 74,32

Tabla 8. Intervalos de confianza de la ecuación de regresión correspondiente a *Eucalyptus globulus*. $\hat{z}_i = 8,9012 + 0,8717 \cdot \hat{y}_i$

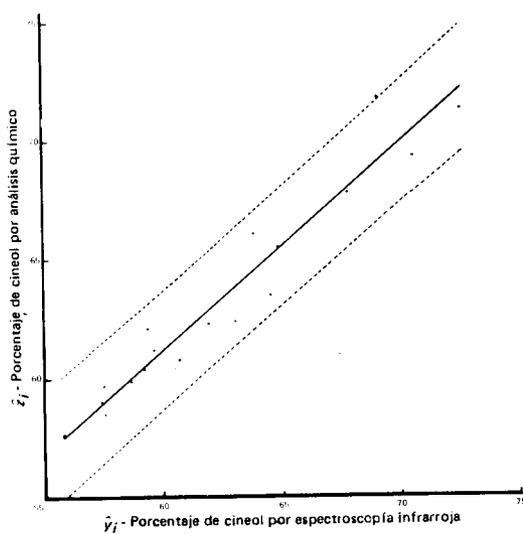


Figura 3. Representación gráfica de los porcentajes de cineol obtenidos por espectroscopía infrarroja y análisis químico en *Eucalyptus globulus*. Recta de Regresión ($\hat{z}_i = 8,9012 + 0,8717 \cdot \hat{y}_i$) e intervalos de confianza (5 %).

Muestra N°	Base análisis químico %
1	- 3,11
2	- 1,59
3	- 2,70
4	- 3,67
5	- 2,09
6	- 2,10
7	- 0,20
8	- 2,58
9	- 4,41
10	- 0,64
11	+ 1,06
12	+ 1,62
13	- 0,92
14	- 3,37
15	+ 0,02
16	+ 1,86
17	+ 1,81
18	- 3,79
19	- 0,88
Promedio	2,02

Tabla 9. Diferencias porcentuales entre los contenidos de cineol hallados por espectroscopía infrarroja y análisis químico en aceites esenciales de *Eucalyptus globulus*

CONCLUSIONES

Se considera satisfactoria la concordancia obtenida en mentol, acetato de mentilo y cineol, entre los valores hallados por espectroscopía infrarroja y el análisis químico, presentando la espectroscopía infrarroja una mayor rapidez en el análisis y un menor requerimiento de esencia.

Teniendo en cuenta la amplitud de los intervalos de confianza, el método infrarrojo puede ser utilizado en lugar del químico en el control de calidad de los aceites esenciales de menta piperita y eucalipto, especialmente cuando no se dispone de suficiente volumen de muestra.

Por otra parte, la técnica infrarroja desarrollada presenta la ventaja que con un mismo espectro de menta piperita es posible determinar simultáneamente los porcentajes de mentol y acetato de mentilo y con ello su calidad en forma rápida, empleando sólo una pequeña cantidad de muestra.

AGRADECIMIENTOS. Al Director Técnico Ing. Ricardo Perina y al Dr. Arnaldo L. Bandoni de la firma ENYS S.A., por su valiosa contribución al determinar la pureza del mentol y del cineol por cromatografía en fase gaseosa. Al Sr. José Almada por su colaboración en el análisis químico de los aceites esenciales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Fenaroli, G. (1963) "*Le Sostanze Aromatiche. I. Sostanze Aromatiche Naturali*", Ulrico Hoepli, Milano
2. Furia, T.E. y N. Bellanca (1971) "*Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*", The Chemical Rubber Co., Cleveland
3. Marzocca, A. (1962) *IDIA* 171: 1-47
4. Guenther, E. (1955) "*The Essential Oils*", D. Van Nostrand Company Inc., New York, Vol. III y IV
5. Ishikawa, R., I. Mizrahi, M.A. Juárez y H.W. Lafourcade (1982) *SAIPA* 4: 58-78
6. Collura, A.M., I. Mizrahi y A. Marzocca (1971) V Congreso Internacional de Oleos Esenciales, San Pablo
7. Mizrahi, I., H.W. Lafourcade, M.A. Juárez y M.A. Elechosa (1982) *SAIPA* 4: 13-32
8. Instituto Argentino de Racionalización de Materiales (1972) Norma IRAM-SAIPA 185-17
9. Instituto Argentino de Racionalización de Materiales (1971) Norma IRAM-SAIPA 185-18
10. Igolen, G., L. Crabalona, J. Dumas, L. Benezet y P. Teisseire (1959) "*Methodes d'analyse et constantes analytiques des huiles essentielles*". Syndicat des fabricants et importateurs d'huiles essentielles et produits aromatiques naturels. Grasse
11. Bellanato, J. y A. Hidalgo (1971) "*Infrared Analysis of Essential Oils*", Heyden Son Ltd, London
12. Roederer, J.G. (1963) "*Mecánica Elemental*", EUDEBA. Buenos Aires
13. Instituto Argentino de Racionalización de Materiales (1982) Norma IRAM-SAIPA 185-13
14. Instituto Argentino de Racionalización de Materiales (1978) Norma IRAM-SAIPA 185-12
15. National Academy of Sciences (1981) "*Food Chemical Codex*", National Academy Press, Washington D.C.
16. Instituto Argentino de Racionalización de Materiales (1971) Norma IRAM-SAIPA 185-18
17. Draper, N.R. y H. Smith (1966) "*Applied Regression Analysis*", John Wiley, New Jersey
18. Steel, R.G.D. y J.H. Torrie (1960) "*Principles and Procedures of Statistics*", Mc Graw Hill, New York
19. Farnow, H. (1970) *Dragoco Report* 12: 247-57
20. Farnow, H. (1967) "*Gas Chromatography*", Dragoco, Holzminden
21. Mizrahi, I., J.G. Gómez Artero y R. Rossi (1970) Sesiones Químicas Argentinas de San Luis. Asociación Química Argentina. Buenos Aires
22. Perina, R., R. León y M. Pereyra (1978) *SAIPA* 1: 114-26