

Comparación de la composición lipídica en semillas de maní (*Arachis hypogaea* L.) usando técnicas multivariadas

Lipid composition of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seeds using multivariate analysis

Auristela del Carmen MALAVÉ ACUÑA^{✉1} y Jesús Rafael MÉNDEZ NATERA²

¹Departamento de Ciencias, Unidad de Estudios Básicos y ²Departamento de Agronomía, Escuela de Ingeniería Agronómica. Universidad de Oriente, Avenida Universidad, Campus Los Guaritos, Maturín, 6201, estado Monagas. E-mails: auris797@gmail.com y jmendezn@cantv.net ✉ Autor para correspondencia

Recibido: 08/07/2007 Fin de primer arbitraje: 15/08/2007 Primera revisión recibida: 27/08/2007
Fin de segundo arbitraje: 30/09/2007 Segunda revisión recibida: 18/10/2007 Aceptado: 02/11/2007

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue comparar mediante técnicas multivariadas tres cultivares de maní (Rojo, Rosado y Americano Chico). Los lípidos se extrajeron con una mezcla de cloroformo-metanol (2:1 v/v). Para los análisis de cromatografía de capa fina con detector de ionización en llama (TLC/FID) se utilizaron chromads SIII. La cromatografía de gas-líquido se empleó para determinar la composición de ácidos grasos. Se determinaron el porcentaje de lípidos totales, la composición lipídica, *viz*, triacilgliceroles, diacilgliceroles, fosfolípidos y la composición de ácidos grasos, *viz*, palmítico, araquídico, oleico, linoleico, linolénico y eicosenoico. Se realizaron los análisis de componentes principales y de agrupamiento. Para el análisis de componentes principales, el primer componente explicó 64,3% de la variación y el segundo 35,7% (total 100,00 %), ninguno de los tres cultivares de maní se asociaron entre ellos, es decir, se formaron tres grupos individuales. En general, todos los caracteres presentaron valores altos de las cargas, exceptuando al ácido eicosenoico (C20:1) y al ácido behémico (C22:0). El análisis de agrupamiento indicó resultados diferentes a aquellos de los componentes principales. Tanto el análisis de agrupamiento basado en el método de UPGMA como el método Ward clasificaron dos grupos, el primero formado por Americano Chico y el segundo grupo formado por los cultivares Rojo y Rosado. En conclusión, el análisis de agrupamiento puede ser usado para estudiar las relaciones entre lípidos totales, composición lipídica y ácidos grasos de manera de identificar grupos similares en cuanto a estas características para diferentes cultivares de maní.

Palabras clave: Maní, cacahuete, *Arachis hypogaea*, análisis cromatográfico, análisis multivariado.

ABSTRACT

The objective of this work was to compare by multivariate techniques three cultivars of peanut (Rojo, Rosado and Americano Chico). Seed lipids were extracted with a chloroform-methanol mixture (2:1 v/v). For the chromatography analyses of fine layer with ionization detector in flame (TLC/FID), chromads SIII were used. The gas-liquid chromatography was used to determine the fatty acids composition. Percentage of total lipids, lipid composition, *viz*, triacylglycerol, diacylglycerol, phospholipids and fatty acids composition, *viz*, palmitic, araquídic, oleic, linoleic, linolenic and eicosenoic acids were determined. For the principal component analysis, the first component explained 64.3% of the variation and the second one explained 35.7% (total 100.00 %), the peanut cultivars did not associate among them, *id est*, three individual groups were formed. In general, all traits had high values of loadings, excepting eicosenoic acid (C20_1) and behemic acid (C22_0). Cluster analysis indicated different results than principal component analysis. Both, UPGMA and Ward methods produced two groups, the first one formed by Americano Chico and the second group formed for cultivars Rojo and Rosado. In conclusion, cluster analysis should be used to study the relationships among total lipids, lipid composition and fatty acids in order to identifying similar groups for these characters for different peanut cultivars.

Kew words: Peanut, groundnut, *Arachis hypogaea*, chromatography analyses, multivariate analyses

INTRODUCCIÓN

El maní fue un cultivo oleaginoso de mucha importancia en las décadas de los 70 y 80's, pero su producción ha venido disminuyendo paulatinamente. Según FEDEAGRO (2007) en el periodo 1992-2005,

la mayor producción ocurrió en 1993 con 6.285 t con 3922 ha sembradas, pero al año siguiente bajó abruptamente a 641 t en 300 ha, a partir de 1998 con 2.280 t y 1.002 ha sembradas, la producción y la superficie sembrada han venido disminuyendo hasta alcanzar sólo 271 t y 331 ha en el 2005, siendo la

oleaginoso de menor producción y menor superficie sembrada en el país. Sólo para el año 2004 y 2005, el valor de la producción fue de 514 y 161 millones de bolívares en comparación con 3.740 millones del año 1993. En relación a los rendimientos, los mayores se obtuvieron entre los años 2000 y 2003 con más de 2.800 kg/ha, para el año 2005, el rendimiento fue de 1.908 kg/ha.

El maní es rico en aceite, el cual contiene de 47 a 50% de un aceite no secante. El aceite tiene un color amarillo pálido, el cual se debe principalmente al β -caroteno y a la lutelina. El aroma y sabor del aceite se acentúa por la oxidación y no llega a ser irritable tan rápidamente como algunos otros aceites vegetales, particularmente el aceite de algodón, está relativamente libre de fosfátidos y de constituyentes no pertenecientes al aceite. Varios estudios epidemiológicos han ligado al aceite de maní con un menor riesgo de enfermedad cardíaca (O'Brien, 2004). Reciente investigación ha mostrado que el aceite de maní contiene resveratrol, un fitoquímico también encontrado en el vino rojo que ha sido ligado con un menor riesgo de enfermedad cardíaca (Haumann, 1998).

Por otra parte, Awad *et al.*, (2000) indicaron que el maní y sus productos, tales como aceite de maní, mantequilla de maní y harina de maní son buenas fuentes de fitoesteroles, los cuales se han sugerido que juegan un papel protector, especialmente el β -sitosterol, en el cáncer de colon, prostata y mama. El maní tostado contiene de 61-114 mg de fitoesteroles (100 g dependiendo de la variedad de maní y 78-83% del mismo está en la forma de β -sitosterol, el aceite de maní no refinado contiene 207 mg de fitoesteroles/100 g, que es similar a aquel de la Base de Datos de los Nutrientes del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y este valor es más alto que aquel del aceite de oliva no refinado. La mantequilla de maní y la harina de maní contienen de 144-157 y 55-60 mg de fitoesteroles/100 g.

Se ha utilizado varios métodos para caracterizar a los cultivares de maní. La forma más común de evaluar a los cultivares de maní es de acuerdo a sus características agronómicas. Méndez-Natera *et al.*, (2003) evaluaron 25 cultivares de maní en época de lluvias en Jusepín, estado Monagas, Venezuela sin la aplicación de fungicidas y determinaron los siguientes caracteres: rendimiento de frutos y almendras/ha, número de frutos en 100 gramos, peso de 100 frutos, número de frutos y

semillas/planta, número de semillas/fruto y número de semillas en 100 frutos, peso de 100 semillas, contenido de aceite y porcentaje de frutos vanos. Luna (1997) estudió el comportamiento agronómico y epidemiológico de cuatro cultivares nativos y 29 introducidos de maní en la sabana de Jusepín.

Se han llevado a cabo otros métodos para estudiar la variabilidad de cultivares de maní. Méndez-Natera *et al.*, (2002) evaluaron caracteres fitopatológicos en quince cultivares de maní (*Arachis hypogaea* L.) ante la cercosporiosis utilizando caracteres tales como: tasas de desarrollo de la enfermedad mediante los modelos Gompertz y Logits, área bajo la curva de progreso de la enfermedad, etc. También se han utilizado técnicas isoenzimáticas, Galgaro y Romero Lopes (1994) evaluaron la variabilidad genética dentro y entre diferentes muestras de maní de los cultivares Roxo, Tatu Branco, Tatu Vermelho, Tatuí Vermelho y Tatuí utilizando electroforesis de geles de poliácridamida, estudiando los sistemas enzimáticos de leucina aminopeptidasa, aspartato amnitransferasa y peroxidasa. Por otra parte, otros autores han usado las técnicas del ADN para analizar la variabilidad entre cultivares de maní. Borges *et al.*, (2007) evaluaron la variabilidad genética entre 29 accesiones de maní mediante los marcadores moleculares al azar (RAPD) utilizando 31 cebadores de los cuales 12 (39%) revelaron polimorfismo y realizaron un análisis de agrupamiento, el cual separó las accesiones en dos grupos con 89% de similitud.

Según Skoog (2005) entre los métodos de cromatografía plana figuras la cromatografía de capa fina, la cromatografía en papel y la electrocromatografía, casi toda la cromatografía plana se basa actualmente en la técnica de capa fina que es más rápida, tiene mejor resolución y resulta más sensible que su equivalente en papel. Desde un punto de vista teórico, de tipos de fases estacionaria y móvil, y de sus aplicaciones, la cromatografía de líquidos y la de capa fina son notablemente similares. Algunos expertos en cromatografía han asumido la posición de que los experimentos de capa fina deben efectuarse siempre antes que los experimentos de columna. La cromatografía de capa fina ha llegado a ser el caballo de batalla de la industria farmacéutica para la siempre importante determinación de la pureza de sus productos. También ha encontrado múltiples aplicaciones en los laboratorios clínicos y es la columna vertebral de muchos estudios bioquímicos y biológicos. Como consecuencia de tal abundancia de

áreas de aplicación, la cromatografía de capa fina sigue siendo una técnica muy importante.

El análisis de componentes principales presenta múltiples ventajas: es una técnica que reduce la dimensionalidad de un conjunto de datos multivariados, removiendo las interrelaciones existentes entre variables, organiza los datos en forma de vectores ortogonales en donde cada una de las variables dentro del vector se comportan en forma similar con base en sus correlaciones; a cada uno de estos vectores se le llama componente principal. Esta prueba también expresa la mayor parte de la varianza de los datos ortogonales, y es una herramienta útil para simplificar el análisis e interpretación de la gran cantidad de variables consideradas en una evaluación exhaustiva (Broschat, 1979).

El análisis de conglomerados no es más que un conjunto de técnicas que se utilizan para clasificar los objetos o casos en grupos relativamente homogéneos llamados conglomerados (clusters). Los objetos en cada grupo (conglomerado) tienden a ser similares entre sí (alta homogeneidad interna, dentro del cluster) y diferentes a los objetos de los otros grupos (alta heterogeneidad externa, entre clusters) con respecto a algún criterio de selección predeterminado. De este modo, si la clasificación es un éxito, los objetos dentro del cluster estarán muy cercanos unos de otros en la representación geométrica, y los clusters diferentes estarán muy apartados. El análisis de conglomerados tiene como propósito esencial, agrupar aquellos objetos que reúnan idénticas características, es decir, se convierte así en una técnica de análisis exploratorio diseñada para revelar las agrupaciones naturales dentro de una colección de datos. Este análisis no hace ninguna distinción entre variables dependientes y variables independientes sino que calcula las relaciones interdependientes de todo el conjunto de variables (Gondar Nores, 2004).

El objetivo de este trabajo fue comparar mediante técnicas multivariadas (análisis de agrupamiento y de componentes principales) tres cultivares experimentales de maní (Rojo, Rosado y Americano Chico).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas se colectaron en la Estación Experimental de Sabana de la Universidad de Oriente, Jusepín, Monagas, de tres cultivares de maní; Rojo,

Rosado y Americano Chico. Para llevar a cabo la extracción de los lípidos, las muestras se trataron con una mezcla de cloroformo-metanol (2:1 v/v) siguiendo el método reportado por Overturf y Dryer (1969). Se tomaron porciones aproximadas de dos gramos por cada 20 ml de mezcla de solventes. La muestra con la mezcla se sometió a agitación magnética por espacio de media hora, se filtró y el residuo fue lavado con 10 ml más de mezcla.

El filtrado que contenía los lípidos totales, se pasó a un embudo separador y se le agregaron ocho ml de solución de NaCl 0,05 N, se agitó varias veces y se guardó bajo refrigeración durante doce horas. A continuación se separó la capa orgánica y se evaporó la mezcla de solventes en un rotaevaporador, luego a la fracción lipídica obtenida se le burbujeó nitrógeno, se pesó para determinar la cantidad de lípidos totales y finalmente se refrigeró. Para los análisis de cromatografía de capa fina con detector de ionización en llama (TLC/FID) se utilizó un analizador Iatroscan MK-5, operando junto un integrador Hewlett Packard 3390A. El detector de ionización en llama se operó a una velocidad de flujo de hidrógeno de 160 ml/min y a una velocidad de flujo de aire de 2000 ml/min. La velocidad de análisis se fijó a 60 seg/varilla. La identificación de los diferentes lípidos se hizo en base a los tiempos de retención de patrones comerciales y se expresaron como un porcentaje del total de los lípidos. La cromatografía de gas-líquido se empleó para determinar la composición de ácidos grasos. Para ello cada extracto lipídico fue previamente saponificado, seguido por la metilación de los ácidos grasos utilizando el método de Brockerhoff (Litchfield, 1972). Los ésteres metílicos correspondientes a cada muestra se analizaron en un cromatógrafo Varian serie 3300, equipado con una columna capilar de 30 m de largo y 0,55 pulgada de diámetro. Se usó nitrógeno como gas de arrastre a un flujo de 38 ml/min.

La separación se realizó en las siguientes condiciones: Temperatura del inyector y temperatura del detector: 300 °C y temperatura de la columna: 200 °C. El área de los picos se determinó con un integrador Hewlett Packard, modelo 3390A y la identificación de los ácidos grasos mediante comparación de los tiempos de retención de patrones comerciales de ésteres metílicos. Se determinaron el porcentaje de lípidos totales, la composición lipídica, *viz*, triacilgliceroles, diacilgliceroles, fosfolípidos y la composición de ácidos grasos, *viz*, palmítico, araquídico, oleico, linoleico, linoléico y eicosenoico.

Se realizaron los análisis de componentes principales y de agrupamiento, en el primero se utilizó la matriz de correlación entre los caracteres anteriores y las cargas se calcularon mediante los coeficientes de los componentes principales y para el segundo se utilizaron el método UPGMA con la distancia Euclideana y el método de Ward. El análisis multivariado se realizó con el programa PAST V. 1.50 de septiembre 2006 (Hammer *et al.*, 2001)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el análisis de componentes principales el primer componente explicó 64,3% de la variación y el segundo 35,7% (total 100,00 %), ninguno de los tres cultivares de maní se asociaron entre ellos, es decir, se formaron tres grupos individuales (Figura 1). En general todos los caracteres presentaron valores altos de las cargas, exceptuando al ácido eicosenoico (C20:1) y al ácido behémico (C22:0) (Figura 2).

El análisis de agrupamiento indicó resultados diferentes a aquellos de los componentes principales (Figuras 3 y 4). Tanto el análisis de agrupamiento

basado en el método de UPGMA como el método Ward clasificaron dos grupos, el primer grupo formado por un solo cultivar, Americano Chico y el segundo grupo formado por los cultivares Rojo y Rosado. En ambos análisis de conglomerados se pudo confirmar un buen ajuste con los valores de la matriz de distancia genética mediante el coeficiente de correlación cofenética de $r = 0,9996$. Genet *et al.*, (2005) indicaron que valores cofenéticos de 0,75 o más son usualmente recomendados para el mejor ajuste del análisis de conglomerados. Estos resultados indican que el método de análisis de conglomerados o agrupamientos basado en el método UPGMA y el de Ward son útiles a la hora de unir o separar a cultivares de maní basado en su perfiles lipídicos, pero el análisis de componentes principales falló en realizar esta unión o separación. Similitud de resultados para el análisis de conglomerados pero no para el de los componentes principales fueron reportados por Malavé-Acuña y Méndez-Natera (2005, 2006), quienes trabajaron con tres cultivares de ajonjolí y girasol, respectivamente, e indicaron la utilidad de los métodos multivariados para agrupar o separar genotipos de estos cultivos basados en los perfiles lipídicos.

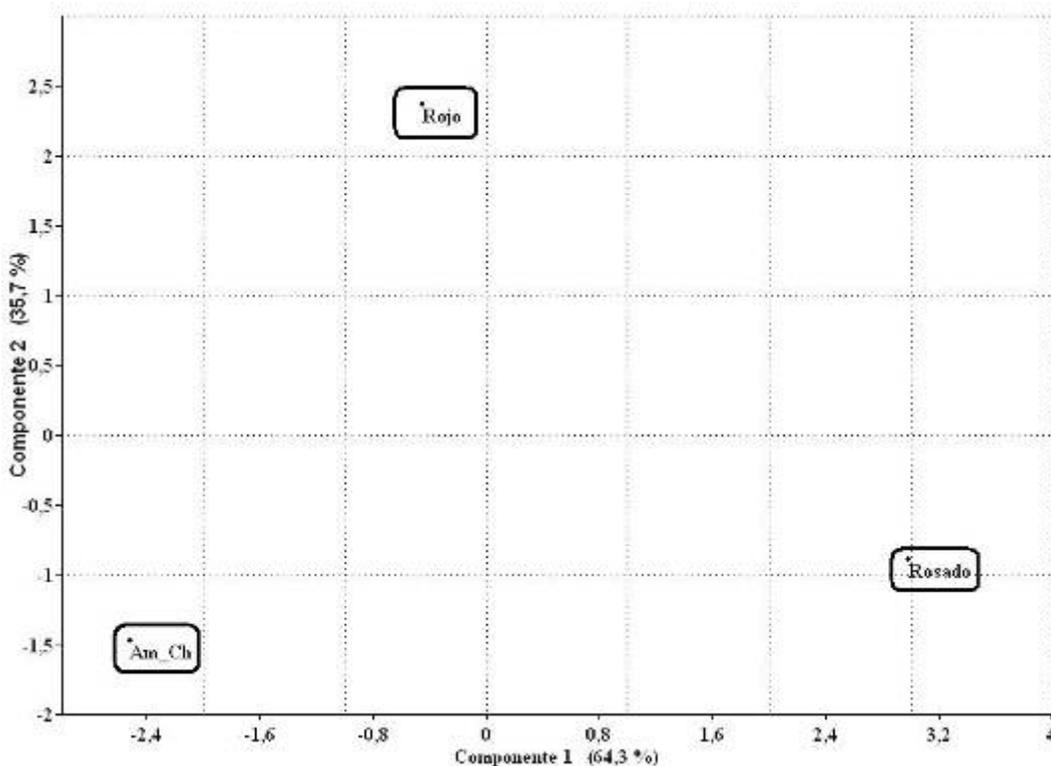


Figura 1. Componentes principales de tres cultivares de maní (*Arachis hypogaea* L.)

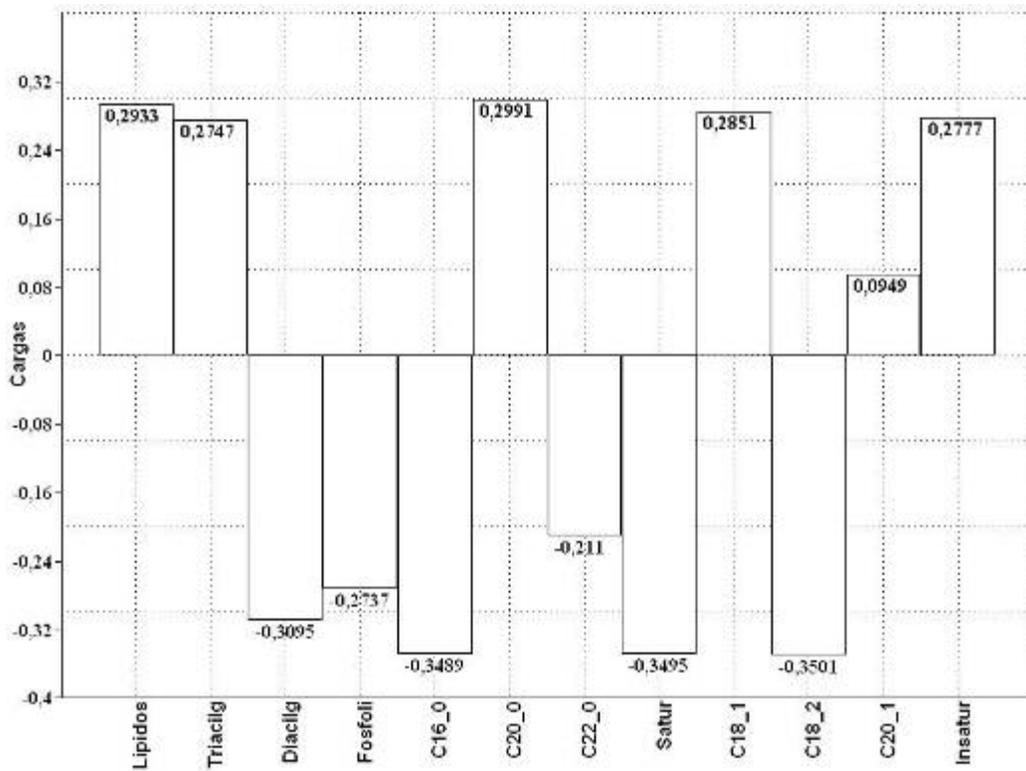


Figura 2. Máximas cargas de los componentes principales de tres cultivares de maní (*Arachis hypogaea* L.)

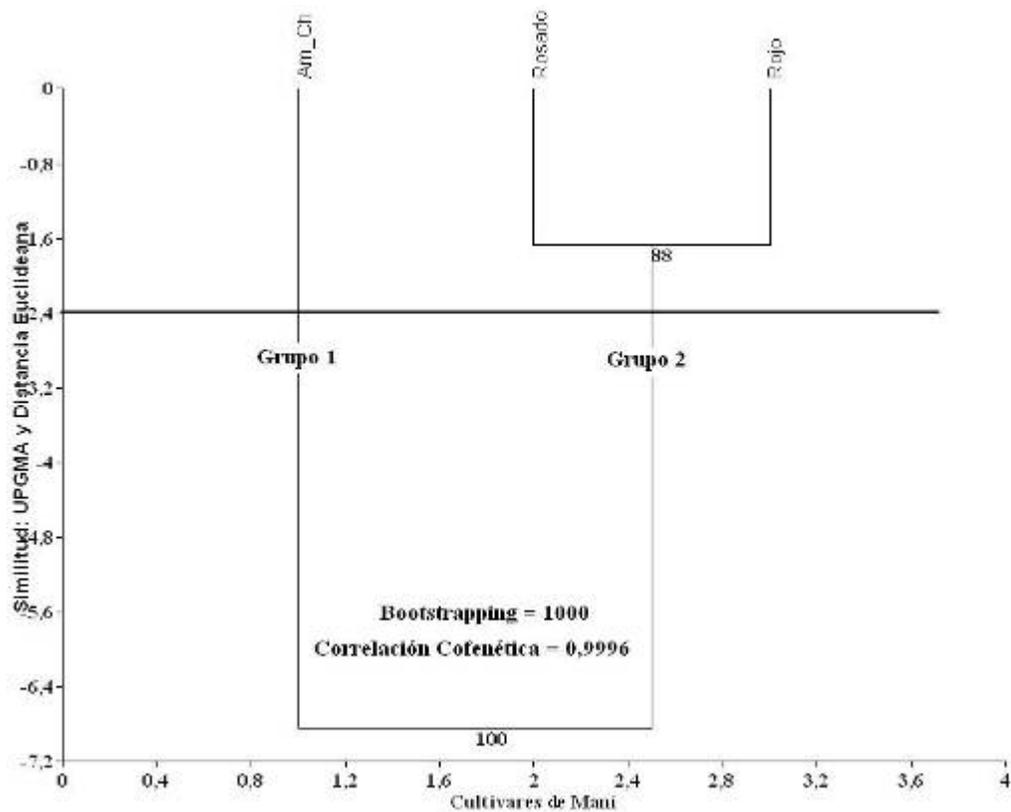


Figura 3. Análisis de agrupamiento método UPGMA y distancia Euclídeana de tres cultivares de maní (*Arachis*

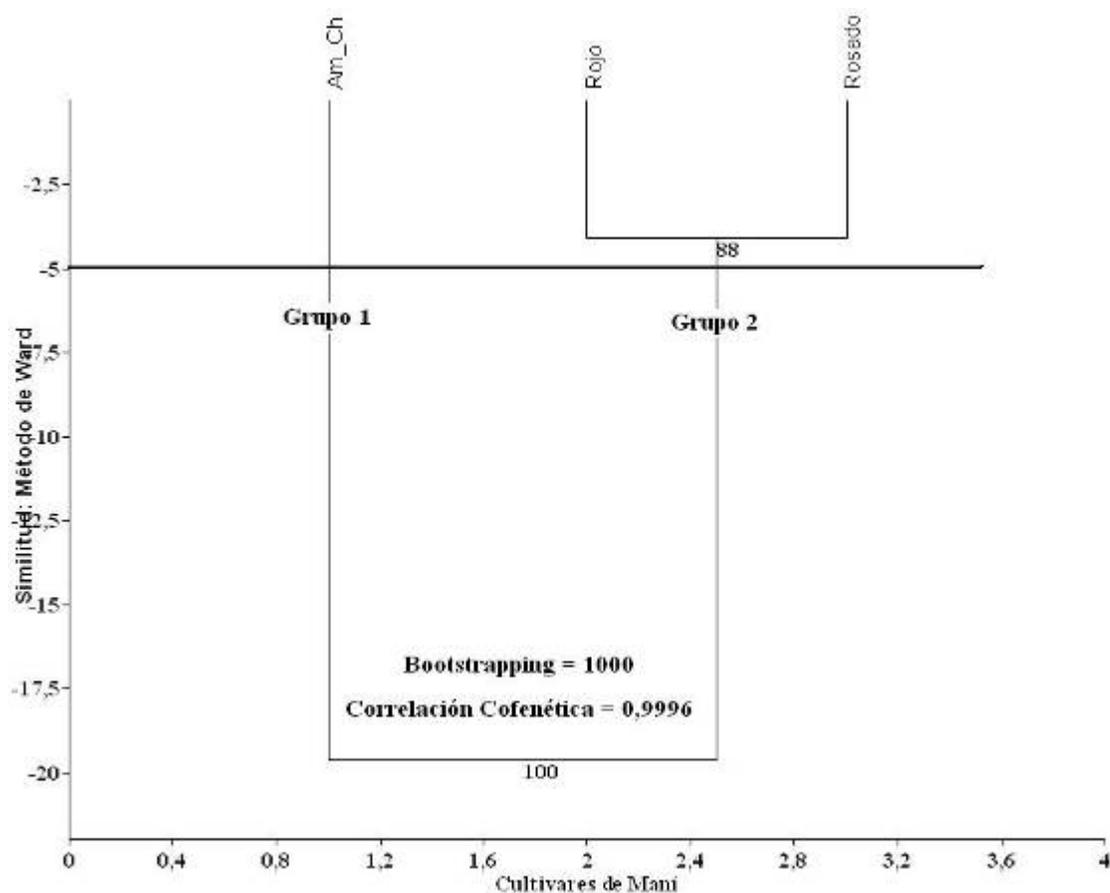


Figura 4. Análisis de agrupamiento método de Ward de tres cultivares de maní (*Arachis hypogaea* L.)

El análisis de conglomerados (métodos UPGMA y Ward) permitió agrupar los cultivares de maní de acuerdo a sus características lipídicas. Resultados similares en relación al análisis de conglomerados fueron indicados por Genet *et al.*, (2005) realizaron un experimento con el objetivo de clasificar y agrupar 98 genotipos de mostaza Etiopes de acuerdo a su composición de ácidos grasos y determinar la relación genética entre los genotipos. El dendrograma generado por el análisis de conglomerados UPGMA agrupó los genotipos de *B. carinata* en 11 grupos distintivos. Pero resultados diferentes se observaron para el análisis de componentes principales debido a que mostró que la relación de desaturación, relación de elongación, ácidos grasos monoinsaturados, relación de desaturación oleica y el ácido vacínico tuvieron las cargas más altas en el primer componente que explicó el 39,28% de la variación total. Para el segundo componente, el ácido esteárico, ácidos grasos saturados, ácido palmítico, relación desaturación oleica, ácidos grasos poliinsaturados y ácido α -

linolénico tuvieron las cargas más altas que explicaron 30,97% de la variación total. Los cinco componentes principales explicaron el 96,01% de la variación total.

García López *et al.*, (1996) aplicaron técnicas quimiométricas multivariadas a la composición de ácidos grasos de datos cromatográficos de gas de 19 cultivares de almendro y encontraron que el análisis de componentes principales aplicados a todos los valores individuales de los ácidos grasos de los diferentes cultivares condujeron a tres variables nuevas las cuales acumularon aproximadamente 90 % de la variación total. La proyección de los diferentes cultivares en el espacio reducido permitió la visualización de algunos grupos diferentes de cultivares. El análisis de conglomerados clasificó los cultivares de almendro estudiados en tres grupos. Dentro de un grupo grande se encontraron muchos cultivares del área del Mediterráneo y el cultivar Americano Non Pareil. El segundo grupo incluyó algunos cultivares Americanos e Italianos y el tercer

grupo cubrió un cultivar Americano y un Australiano, en asociación con dos Españoles. Mannina *et al.*, (2001) utilizaron la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de alta resolución y la cromatografía gaseosa para analizar 16 monoviedades de aceites de oliva, obtenidas de algunos olivares Mediterráneos cultivados contemporáneamente en campos experimentales localizados en Italia y en la región de Catamarca en Argentina. Estas muestras permitieron estudiar diferentes condiciones pedoclimáticas en la composición de los aceites de oliva. La cromatografía de gases proporcionó el perfil en ácidos grasos de los aceites de oliva. Los datos de la cromatografía de gases fueron sometidos a un análisis discriminante lineal y a un análisis cluster en árbol. Un minucioso análisis de estos resultados permitió seleccionar olivares que fueron menos afectados por las condiciones climáticas presentes en la región de Catamarca. Los olivares seleccionados produjeron aceites de oliva que pueden mantener sus características Mediterráneas y pueden ser propuestos como plantas colonizantes en esta región silvestre de Argentina.

Por otra parte, López y Widrlechner (2004) describieron morfológica, fenológica y químicamente la diversidad de accesiones de cilantro (*Coriandrum sativum* L) en los Estados Unidos. En el 2002, 139 accesiones de cilantro fueron cultivadas y las muestras de semillas se cosecharon y analizaron para ácidos grasos. Se calculó una matriz de correlación de estos resultados y luego se realizó un análisis de conglomerados sobre esta matriz. Basado en los resultados del análisis de conglomerados inicial, 60 accesiones diversas se seleccionaron para evaluación del rendimiento con dos épocas de siembra en el 2003. Se realizó un análisis de varianza para la composición de ácidos grasos y contenido de aceites esenciales. El análisis del algoritmo de conglomerados UPGMA reveló nueve grupos cuando se aplicó una distancia promedio de 0,5 entre grupos.

También se han utilizado los ácidos grasos y el análisis de conglomerado para separar aislados de *Rhizoctonia solani*. Baird *et al.*, (2000) caracterizaron esteres metílicos de ácidos grasos de aislados de *R. solani* AG-4 y AG-7 mediante cromatografía de gases y encontraron que el análisis de conglomerados y el dendograma mostrando la distancia Euclideana fueron efectivos en separar los aislados AG-4 y AG-7 y los subgrupos de los aislados geográficos de AG-7. Griguol *et al.*, (2003)

analizaron ocho muestras de distintas variedades de helados comercializados en España para determinar su contenido en ácidos grasos de cadena media y larga, con especial interés en el contenido en ácidos grasos trans y encontraron que el análisis estadístico (análisis cluster) realizado, basándose en el contenido en ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y trans, permitió diferenciar tres grupos distintos de helados según la fuente de grasa mayoritaria empleada en su elaboración.

CONCLUSIÓN

El análisis de conglomerados puede ser usado para estudiar las relaciones entre lípidos totales, composición lipídica y ácidos grasos de manera de identificar grupos similares de cultivares de maní en cuanto a estas características.

LITERATURA CITADA

- Awad, A. B.; K. C. Chan, A. C. Downie and C. S. Fink. 2000. Peanuts as a source of β -sitosterol, a sterol with anticancer properties. *Nutrition and Cancer* 36 (2): 238-241.
- Baird, R. E.; R. D. Gitaitis, D. E. Carling, S. M. Baird, P. J. Alt and B. G. Mullinix. 2000. Determination of whole-cell fatty acid profiles for the characterization and differentiation of isolates of *Rhizoctonia solani* AG-4 And AG-7. *Plant Disease* 84 (7): 785-788.
- Borges, W. L.; G. Ribeiro Xavier e N. Gouvêa Rumjanek. 2007. Variabilidade genética entre acessos de amendoim. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42 (8): 1151-1157.
- Broschat, K. T. 1979. Principal component analysis in horticultural research. *Hort Science* 14 (2): 114-117.
- FEDEAGRO. 2007. Producción Agropecuaria. <http://www.fedeagro.org/produccion/default.asp>. Última visita 15 de marzo de 2007.
- Galgaro, M. L. e C. Romero Lopes. 1994. Isoenzimatic variability among five peanut cultivars. *Bragantia* 53 (2): 135-140.

- García López, C.; N. Grané Teruel, V. Berenguer Navarro, J. E. García García and M. L. Martín Carratalá. 1996. Major fatty acid composition of 19 almond cultivars of different origins. A chemometric approach. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 44 (7): 1751-1755.
- Genet, T.; M. T. Labuschagne and A. Hugo. 2005. Genetic relationships among Ethiopian mustard genotypes based on oil content and fatty acid composition. *African Journal of Biotechnology* 4 (11): 1256-1268.
- Gondar Nores, J. E. 2004. Análisis Cluster. <http://www.estadistico.com/arts.html?20001023-1&PHPSESSID=d7218afde6b5a4e289ef81e43ef9ee9d>. Última visita 25 de marzo de 2007.
- Griguol, V.; I. M. Vicario y M. León Camacho. 2003. Contenido en isómeros geométricos de los ácidos grasos en helados comerciales españoles. *Grasas y Aceites* 54 (1): 19-23.
- Hammer, Ö.; D. A. T. Harper and P. D. Ryan. 2001. PAST: Palaeontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4 (1): 9 p.
- Haumann, B. F. 1998. Peanuts find niche in healthy diet. *INFORM* 9: 746-752.
- Litchfield, C. 1972. Analysis of triglycerides. Academic Press. New York. Cap: 1, 2, 6, 11 y 12.
- Lopez, P. and M. P. Widrlechner. 2004. Morphological and chemical variability in coriander germplasm. Association for the Advancement of Industrial Crops Conference, September 19-23, Minneapolis, MN. USA. AAIC Abstracts p. 30.
- Luna, J. 1997. Estudio del comportamiento agronómico y epidemiológico de cuatro cultivares nativos y 29 introducidos de maní (*Arachis hypogaea* L.) en la sabana de Jusepín, estado Monagas. Trabajo de Grado para Ingeniero Agrónomo. Escuela de Ingeniería Agronómica. Maturín. Universidad de Oriente. 161 p.
- Malavé Acuña, A. y J. R. Méndez Natera. 2005. Comparación de la composición lipídica en semillas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) usando técnicas multivariadas. *Revista Científica UDO Agrícola* 5 (1): 48-53.
- Malavé Acuña, A. y J. R. Méndez-Natera. 2006. Comparación de la composición lipídica en semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.) usando técnicas multivariadas. *Revista Científica UDO Agrícola* 6 (1): 27-32.
- Mannina, L.; G. Ansanelli, A. Segre, G. Fontanazza y M. Patumi. 2001. Aceites de oliva de Italia y Argentina: estudios de RMN y cromatografía gaseosa. *Grasas y Aceites* 52 (6): 380-388.
- Méndez-Natera, J. R.; D. Osorio y J. R. Cedeño. 2003. Evaluación de cultivares de maní (*Arachis hypogaea* L.) sin la aplicación de fungicidas en época de lluvias. *Revista Científica UDO Agrícola* 3 (1): 47-58.
- Méndez Natera, J. R.; L. Acosta Toussaint y J. R. Cedeño. 2002. Evaluación de caracteres fitopatológicos en quince cultivares de maní (*Arachis hypogaea* L.) ante la cercosporiosis. In Libro de Resúmenes del VIII Congreso Latinoamericano de Botánica y II Congreso Colombiano de Botánica. p. 161.
- O'Brien, R. D. 2004. Fats and oils: Formulating and processing for applications. CRC Press. New York, U.S.A. 616 p.
- Overturf, M. and R. Dryer. 1969. Experiment in the biochemistry of animal lipids, En Kerkut, G. (De): *Experimental physiology and biochemistry*. Vol. 2. Academic Press, New York, pp. 81-163.
- Skoog, D. A.; D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch. 2005. Fundamentos de química analítica. 8^{va} Edición. Thomson Learning Ibero. 1196 p.