



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

COMPROBACIÓN DE MÉTODOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE  
ÁCIDOS GRASOS Y AMINOÁCIDOS DE LA SEMILLA CHÍA (*Salvia  
hispanica-L.*).

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Ingenieras Agroindustriales y de  
Alimentos

Profesora Guía

Mgt. María Elizabeth Mosquera Quelal

Autoras

Emilia Vintimilla Palacios

María José Reinoso García

Año

2015

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con los estudiantes orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

---

María Elizabeth Mosquera Quelal

Magister

CI.: 1715044192

### DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

---

Emilia Vintimilla Palacios

CI.: 1717313496

---

María José Reinoso García

CI.: 1721225017

## AGRADECIMIENTOS

Damos gracias a Dios por permitirnos terminar con éxitos esta carrera, hoy culmina una etapa llena de sacrificios y dedicación.

A nuestros, familiares, docentes y amigos quienes fueron el pilar fundamental para seguir adelante con cada una de las metas planteadas. A nuestra Tutora de Tesis Mgt. Elizabeth Mosquera por su guía y dedicación constante.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) con mención especial a la Dra. Elena Villacrés por la capacitación técnica brindada.

## DEDICATORIA

Dedicamos esta tesis a nuestros padres y hermanos que nos guiaron y nos dieron el apoyo necesario para culminar con éxitos esta carrera y convertirnos en dos profesionales que aportaremos en el desarrollo de nuestro país.

## RESUMEN

La investigación comprobó los mejores métodos de extracción de proteína, grasa total y azúcares totales de la semilla chía para la caracterización de ácidos grasos y aminoácidos. El proyecto se realizó durante 3 meses en los laboratorios del Instituto Nacional de Investigación Agropecuarias (INIAP) Estación Santa Catalina, en la investigación se aplicó los diferentes métodos para la extracción de los componentes de la semilla, los métodos utilizados para la extracción de proteína fueron por liofilizado, secado y fresco, para la extracción de grasa se evaluó la utilización de solventes hexano y éter y para la extracción total de azúcares totales se evaluó la influencia del uso del solvente isopropanol. La metodología consistió en la aplicación de un diseño experimental de bloques completamente al azar con 3 factores (métodos de extracción de proteína, extracción de grasa utilizando solventes y extracción de azúcares totales) y 3 repeticiones, en donde se analizó 5 variables; porcentaje de grasa, porcentaje de proteína, rendimiento de proteína, porcentaje de fibra y porcentaje de azúcares totales. El análisis de varianza determinó que existe diferencias en el uso de hexano y éter para la extracción de grasa, en la extracción de proteína dio como resultado al proceso de liofilizado, uso del solvente éter y uso del solvente isopropanol como mejor resultado al realizar una completa extracción de sus componentes. En la caracterización de ácidos grasos del mejor método de extracción de grasa dio como resultado el alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados sobresaliendo el ácido linolénico con 57%. En la caracterización de aminoácidos se obtuvo como resultado que la semilla chía contiene 25% de proteína y al purificarla se encuentran aminoácidos importantes (serina, ácido aspártico, histidina, leucina, treonina y fenilalanina), el aminoácido con mayor cantidad fue la Serina con 9,32% y en menor cantidad el Triptófano con un 0,9%. El estudio comparativo confirmó que la semilla contiene alto porcentaje de proteína y grasa, que al purificarla se encontraron aminoácidos esenciales y ácidos grasos poliinsaturados relevantes.

## ABSTRACT

The research validated the best methods for protein, total fat and total sugars extractions of chia seeds for the characterization of fatty acids and amino acids. The project was realized during three months in the laboratories of the National Institute of Agricultural Research (INIAP) Station Santa Catalina. In the research has shown the different methods for pure components extraction of the seed, the methods used for the extraction of protein were freeze-dried, dried and fresh; for the extraction of fat, the methods evaluated were the use of solvent hexane and ether and for the extraction of total sugar we evaluated the influence using the solvent isopropanol. We use of a completely randomized blocks as experimental design with three factors (protein extraction methods, fat extraction with the use of solvents and total sugar extraction) and three repetitions in which five variables were analyzed; percentage of fat, percentage of protein, yield of protein, percentage of fiber and percentage of total sugar, After an analysis of variance, was determined that there are differences in the use of hexane and ether for the removal of fat. As for the extraction of protein, analysis of variance resulted in the process of freeze-dried, solvent ether and usage of the solvent isopropanol as the best result by performing a complete extraction of its components. In the characterization of fatty acids of the best fat extraction method yielded results with high percentages of polyunsaturated fatty acids including linolenic acid with 57%. In the characterization of amino acids showed that the chia seed contain 24% of protein, when it was a purify exist amino acids essentials (serine, aspartic acid, histidine, leucine, threonine y phenylalanine) the mayor amino acids that can found was Serina with 9,32% and the amino acids with less percentage was Triptófano with 1,60%. The comparative study confirmed that chia seed contains a high percentage of protein and fat, that when it was purified by the separation of the components were found essential amino acids and poliunsaturated fatty acids in relevant amount.

# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS .....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos Específicos.....	4
<b>1. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
1.1 Chía (Generalidades) .....	5
1.1.1 Origen y distribución .....	5
1.1.2 Distribución Nacional .....	5
1.1.3 Descripción botánica .....	6
1.2. Nutrientes.....	7
1.2.1. Propiedades de los lípidos.....	11
1.2.1.1. Propiedades de los omega .....	12
1.2.2. Propiedades de las proteínas .....	13
1.2.2.1. Propiedades de los aminoácidos .....	14
1.2.2.2 Punto isoeléctrico de las proteínas .....	15
1.2.2.3. Concentrado proteico y aislado proteico .....	16
1.3.Métodos de extracción y caracterización de grasa, proteína..	17
1.3.1. Extracción del mucílago.....	17
1.3.2. Extracción de grasa .....	18
1.3.2.1. Extracción por solvente hexano .....	18
1.3.2.2. Extracción por equipo Soxhlet .....	19
1.3.3. Extracción de fibra .....	21
1.3.4. Extracción de azúcares totales .....	23
1.3.5. Extracción proteína.....	23
1.3.5.1. Determinación de nitrógeno .....	25
1.4. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos .....	26
1.4.1. Caracterización de ácidos grasos.....	26
1.4.2 Caracterización de aminoácidos .....	27
1.4.2.1. Análisis de aminoácidos .....	28
<b>2. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....</b>	<b>29</b>
2.1. Ubicación.....	29



3. HERRAMIENTAS.....	30
3.1. Equipos .....	30
3.2. Materiales .....	33
3.3. Insumos .....	33
3.4. Reactivos.....	34
4. MÉTODOS .....	35
4.1. Fase preliminar.....	35
4.1.1. Análisis proximal de la semilla chía.....	35
4.2. ANDEVA .....	36
4.2.1. Factores de estudio .....	37
4.2.2. Variables a evaluar .....	39
4.3. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos .....	39
4.4. Metodología de extracción .....	40
4.4.1. Descripción del diagrama de proceso de los métodos de extracción.....	44
4.4.1.1. Recepción.....	44
4.4.1.2. Desengrasado .....	47
4.4.1.3. Harina desengrasada.....	50
4.4.1.4. Suspensión en Agua.....	50
4.4.1.5. Primer ajuste de pH .....	51
4.4.1.6. Primera Centrifugación .....	52
4.4.1.7. Segundo ajuste de pH .....	52
4.4.1.8. Segunda Centrifugación .....	53
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	54
5.2. Análisis ANDEVA .....	54
5.2.1. Contenido de grasa .....	54
5.2.2. Contenido de proteína .....	56
5.2.3. Rendimiento de proteína .....	59
5.2.4. Contenido de fibra .....	66
5.2.5. Contenido de azúcares totales .....	69
5.3. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos .....	73
6. ANÁLISIS ECONÓMICO .....	80
6.2. Fase preliminar .....	80
6.3. Análisis ANDEVA .....	80

6.4. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos .....	83
7. Conclusiones y Recomendaciones .....	85
7.2. Conclusiones.....	85
7.3. Recomendaciones .....	86
REFERENCIAS.....	87
ANEXOS.....	92

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional de la semilla chía .....	9
Tabla 2. Ficha técnica del hexano.....	19
Tabla 3. Punto de ebullición de solventes (°C).....	20
Tabla 4. Ubicación geográfica INIAP.....	29
Tabla 5. Promedios de seis compuestos químicos de la semilla chía provenientes de dos localidades, 2015 .....	35
Tabla 6. Tratamientos en estudio.....	38
Tabla 7. Determinaciones químicas .....	39
Tabla 8. Varianza de la variable porcentaje de grasa, 2015 .....	55
Tabla 9. Promedios y prueba de Tukey (5%) de dos métodos de extracción de grasa de la semilla chía provenientes de Colta, 2015 .....	56
Tabla 10. Análisis de Varianza de porcentaje de proteína, 2015.....	57
Tabla 11. Análisis de Varianza de porcentaje de proteína, 2015.....	59
Tabla 12. Análisis de Varianza rendimiento de proteína, 2015.....	61
Tabla 13. Promedios y prueba de Tukey (5%) de dos métodos de extracción de proteína de la semilla chía provenientes de Colta, 2015 .....	61
Tabla 14. Promedios y prueba de Tukey (5%) de dos métodos de extracción de grasa de la semilla chía provenientes de Colta, 2015 .....	62
Tabla 15. Promedios y prueba de Tukey (5%) del uso de solvente isopropanol en la semilla chía provenientes de Colta, 2015 .....	62
Tabla 16. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los tres métodos de extracción de proteína y los dos métodos de extracción de grasa la semilla chía provenientes de Colta, 2015 .....	62
Tabla 17. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los tres métodos de extracción de proteína y el uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015.....	63
Tabla 18. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los 2 métodos de extracción de grasa y el uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015.....	64
Tabla 19. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los 3 métodos de extracción de proteína junto con los 2 métodos de extracción de grasa y el uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015.....	65
Tabla 20 Análisis de Varianza de porcentaje de fibra, 2015.....	68
Tabla 21. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los 3 métodos de extracción de proteína junto con los 2 métodos de extracción	

de grasa y el uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015.....	69
Tabla 22. Análisis de varianza de porcentaje de azúcares totales, 2015.....	70
Tabla 23. Promedios y prueba de Tukey (5%) del uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015 .....	71
Tabla 24. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción extracción de proteína y uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015.....	71
Tabla 25. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015.....	72
Tabla 26. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de segundo orden métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015 ...	73
Tabla 27. Perfil de ácidos grasos de la semilla chía del mejor tratamiento obtenido, 2015 .....	74
Tabla 28. Ácidos grasos de chocho, quinoa, amaranto y sangorache, 2013 ....	76
Tabla 29. Perfil de aminoácidos del aislado proteico de chía del mejor tratamiento obtenido, 2015.....	76
Tabla 30. Perfil de aminoácidos de la harina liofilizada de chía, 2015.....	78
Tabla 31. Perfil de aminoácidos del aislado proteico de quinoa liofilizada de chía, 2015 .....	79
Tabla 32. Costo análisis proximal de una variedad de chía de dos localidades (Cotacachi, Colta) 2015.....	80
Tabla 33. Costos iniciales de las extracciones de la semilla chía, 2015 .....	82
Tabla 34. Costos adicionales de los análisis de las fracciones de la semilla chía, 2015. ....	83

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Planta y semilla chía (Salvia hispanica- L.) .....	7
<i>Figura 2.</i> Ácidos grasos omega.....	13
<i>Figura 3.</i> Aminoácidos esenciales presentes en la semilla chía .....	15
<i>Figura 4.</i> Equipo Soxhlet.....	21
<i>Figura 5.</i> Equipo Kjeldahl automático.....	26
<i>Figura 6.</i> Molino martillo.....	30
<i>Figura 7.</i> Molino de aspas .....	30
<i>Figura 8.</i> Secador de aire forzado.....	31
<i>Figura 9.</i> Tamiz.....	31
<i>Figura 10.</i> Rotavapor .....	32
<i>Figura 11.</i> Centrifugadora .....	32
<i>Figura 12.</i> Homogenizador.....	32
<i>Figura 13.</i> Liofilizador.....	33
<i>Figura 14.</i> Soxhlet.....	33
<i>Figura 15.</i> Diagrama de flujo del proceso.....	41
<i>Figura 16.</i> Diagrama de flujo del proceso.....	41
<i>Figura 17.</i> Diagrama de flujo del proceso .....	41
<i>Figura 18:</i> Semilla seca.....	44
<i>Figura 19:</i> Semilla con mucílago .....	44
<i>Figura 20:</i> Tamizado de la semilla.....	45
<i>Figura 21:</i> Semilla congelada.....	45
<i>Figura 22:</i> Semilla en remojo .....	45
<i>Figura 23:</i> Tamizado de semilla liofilizada.....	46
<i>Figura 24:</i> Semilla y mucílago .....	46
<i>Figura 25.</i> Muestra para suspensión en hexano.....	47
<i>Figura 26.</i> Suspensión en hexano.....	47
<i>Figura 27.</i> Reposo en hexano .....	48
<i>Figura 28.</i> Filtrado (fase sólida y fase líquida .....	48
<i>Figura 29.</i> Aceite extraído por suspensión en hexano.....	48
<i>Figura 30.</i> Muestra en capuchones .....	49
<i>Figura 31.</i> Aceite extraído en equipo Soxhlet.....	49
<i>Figura 32.</i> Harina desengrasada.....	50

<i>Figura 33.</i> Fases extraídas con isopropanol.....	50
<i>Figura 34.</i> Agitación relación harina- agua 1:15 .....	51
<i>Figura 35.</i> Ajuste de pH 9.....	51
<i>Figura 36.</i> Fibra y Carbohidratos.....	52
<i>Figura 37.</i> Fracciones del centrifugado .....	52
<i>Figura 38.</i> Fracción lechosa ajustada a pH de 4,5 .....	52
<i>Figura 39.</i> Proteína aislada .....	53
<i>Figura 40.</i> Proteína aislada .....	53

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el procesamiento industrial y la preocupación por los aspectos de salud y seguridad de los nuevos aceites y productos grasos que se utilizan en la dieta, han conducido al desarrollo de técnicas y procedimientos analíticos para tener información detallada acerca de la naturaleza, el carácter, el tratamiento y su composición (Kirk, Sawyer y Egan, 2011, p.671).

En los años 90 la chía formó parte del proyecto “North Western Argentina Regional Project”, debido a sus importantes beneficios y al gran aporte para la industria alimentaria (González, 2009, p. 20). El pseudocereal es recomendado por tener gran cantidad de ácidos grasos omega 3 y aminoácidos esenciales que favorecen al organismo humano (Salazar, 2009).

Lípidos son todos los componentes que contienen ácidos grasos, pueden ser de origen vegetal o animal. El aceite proveniente de la semilla es rico en omega 3 ácido linolénico. Las semillas de chía contienen 35-40% de aceite del cual 17-26% es ácido linoleico y 50-57% es ácido linolénico (Capitani, 2013), 25% de fibra dietética y 20-23% de proteína, vitaminas y minerales, no contiene gluten, tiene bajo contenido de sodio y no es causante de alergias (Mosca, 2011).

Los constituyentes grasos de los alimentos son diversas sustancias lipídicas. El contenido de grasa, el cual puede ser formado de lípidos libres es aquel que puede ser extraído por disolventes ligeros, como petróleo y éter etílico, siendo estos menos polares; por otro lado, los lípidos conectados necesitan disolventes más polares para su extracción. Mediante hidrólisis o tratamientos químicos se puede obtener lípidos libre, la cantidad de lípido extraído de un producto alimenticio dependerá del método utilizado. La extracción de lípidos de los alimentos ha sido revisada en forma práctica por Carter, 1977. Krof, 1984, estudió las técnicas disponibles para determinaciones rápidas de grasa, incluyendo aquellas para operaciones de procesos de alimentos (Kirk, Sawyer, Egan, 2011, p.21).

La introducción comercial de la cromatografía gas-líquido a fines de los 50 y principios de los 60 hizo posible la determinación exacta y eficiente de la composición de los ácidos grasos saturados en las grasas y los aceites, convirtiéndose en ésteres metílicos a partir de los ésteres de triglicéridos. El perfil “huella digital” de los ácidos grasos que se obtiene de esta forma hace que en muchos casos, resulten obsoletas las antiguas pruebas de color y turbidez para cada aceite en particular, las cuales resultaban semiespecíficas. En la actualidad, gracias al avanzado equipo de cromatografía de gases y al uso de columnas capilares que tienen gran poder de resolución se conoce específicamente la composición posicional de los triglicéridos y composición isomérica geométrica en los ácidos grasos (Kirk, Sawyer, Egan, 2011, p.695).

Las proteínas están compuestas por cadenas polipeptídicas y estas se encuentran formadas por cadenas de aminoácidos. Existen 8 aminoácidos esenciales que no se encuentran presentes en los cereales como se presentan en el pseudocereal chía (fenilalanina, valina, treonina, isoleucina, metionina, leucina, lisina y triptófano) (Mosca, 2011). Las plantas más comunes en proveer estos aminoácidos son soya, arroz, trigo y maíz, sin embargo, estas plantas están asociadas con alergias y están limitados en uno o varios aminoácidos esenciales como el arroz, trigo y maíz que se limitan en lisina (Mosca, 2011). La semilla chía provee 20-23% de proteína; cantidad que supera a otros granos como el trigo (14%), maíz (9%), arroz (8,5%), avena (15,3%), cebada (9,2%) y amaranto (14,8%) (Busilacchi, 2013)

El contenido de proteínas totales en los alimentos se determina por el método Kjeldahl con el resultado del análisis del nitrógeno orgánico. Aunque con el tiempo ha estado sujeto a modificaciones, el método Kjeldahl en la actualidad es el análisis más seguro para determinar la cantidad de nitrógeno orgánico (Kirk, Sawyer, Egan, 2011, p.19).

El presente estudio se basa en comprobar los mejores métodos para la extracción de proteína, grasa y azúcares totales de la semilla chía en Ecuador y de esta manera caracterizar los aminoácidos y ácidos grasos presentes en la misma, con el objetivo de realizar un estudio comparativo con investigaciones



existentes de diferentes autores utilizando métodos similares en la extracción de sus fracciones. Por otro lado, el estudio ayudará a determinar los aminoácidos y ácidos grasos obtenidos mediante los métodos propuestos.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Comprobar que métodos son útiles para la caracterización de aminoácidos y ácidos grasos provenientes de semilla chía (*Salvia hispánica-L.*).

### Objetivos Específicos

- Determinar los métodos de mayor rendimiento para la extracción de grasa total de la semilla chía.

**Hipótesis nula:** Los dos métodos de extracción de grasa (uso de del solvente hexano, uso del solvente éter) son iguales.

**Hipótesis alternativa:** Los dos métodos de extracción de grasa son diferentes.

- Determinar los métodos de mayor rendimiento y pureza para la extracción de proteínas de la semilla chía.

**Hipótesis nula:** Los tres métodos de extracción de proteína (liofilizado, secado, fresco) son iguales

**Hipótesis alternativa:** Los tres métodos de extracción de proteína son diferentes.

- Comprobar si el uso del solvente isopropanol influye para una mayor extracción de azúcares totales.

**Hipótesis nula:** No existe diferencias al usar el solvente isopropanol para la extracción de azúcares totales.

**Hipótesis alternativa:** Existe diferencias al usar el solvente isopropanol para la extracción de azúcares totales.

- Caracterizar el perfil de aminoácidos y ácidos grasos presentes en la chía

## **1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1 Chía (Generalidades)**

#### **1.1.1 Origen y distribución**

Chía, (*Salvia hispanica-L.*) es una planta indígena de América Central y Sur América. Los pueblos que permanecían en estos continentes consumían el pseudocereal desde los tiempos precolombinos, por lo cual llegó a ser parte preponderante en su nutrición diaria (Cahill, 2003). Antes de conquistar el continente americano, la chía fue considerada como un súper alimento, derivada del lenguaje maya el cual significa fuerza. Hace 3500 años A.C. La chía se cultivaba por los Nahuas cuando Colón llegó a América y en la actualidad se produce comercialmente en Argentina, Bolivia y México (Coates, 2012, p.93).

La chía posee una larga trayectoria como alimento para las personas. Su domesticación se dio a conocer desde el año 2600 A.C. En el período de la conquista mesoamericana existían más de 20 especies botánicas con diferentes usos, 4 de ellas se destacaban por su composición nutricional. Alrededor del año 2600 A.C., la chía se denominó como el cultivo de mayor importancia en los pueblos que se asentaban en el actual México y Guatemala. La chía servía como medicina, era molida para conseguir partículas más pequeñas hasta obtener harina, la cual era consumida por los guerreros y atletas; se decía que estos atletas podían sobrevivir únicamente con el consumo de la semilla y realizando actividad física intensa (Coates, 2012, p.5)

#### **1.1.2 Distribución Nacional**

En cuanto a la producción de chía en Ecuador se da en las provincias de Pichincha, Manabí, Santa Elena, Imbabura y Chimborazo, es un cultivo de clima cálido seco con una altitud de 2700 m.s.n.m. El tiempo de siembra varía

de 4 a 5 meses de acuerdo a su ubicación, y prefiere las tierras arenosas de Santa Elena (Proecuador, 2013).

Según datos de Proecuador 2013, existen 500 hectáreas cultivadas en el país, se exportó 398 toneladas de chía desde Ecuador a Estados Unidos durante el citado año. La organización señala que la baja producción de esta semilla se debe al desconocimiento y falta de información de las propiedades y beneficios que tiene la chía, más no por ser un cultivo difícil de producir, manejar y darle valor agregado (Proecuador, 2013).

### **1.1.3 Descripción botánica**

*Salvia hispanica-L.* es una planta cultivada vía anual, pertenece a la familia Lamiaceae-Menta, se aprovechan sus semillas, y produce flores blancas o moradas. La planta puede crecer hasta 1m de altura y tiene hojas opuestas. Las flores de la chía con tamaño entre 3-4mm poseen pequeñas corolas y partes de flores fusionadas que contribuyen a una alta polinización. El color de la semilla varía de negro a gris y con una combinación de negro-blanco, la forma es ovalada con un tamaño aproximado de 1-2mm (Ayerza y Coates, 2005 y Dubois et al., 2007) como se observa en la *Figura 1*. Las semillas blancas poseen mayor peso, espesor y longitud en comparación con las semillas oscuras. La semilla seca y limpia se la puede conservar durante varios años por su contenido de antioxidantes, lo cuales evitan el deterioro de los aceites esenciales. El rendimiento que se obtiene es de 3000kg/ha para el aprovechamiento de su semilla (Ayerza y Coates, 2005 y Dubois et al., 2007).

La semilla chía prefiere climas tropicales y subtropicales, no crece favorablemente en heladas. Tiene un mejor desarrollo en suelos arenosos y limosos, y aquellos con fertilidad moderada, tolerando la acidez edáfica. La chía también tolera la sequía, no es necesario demasiada pluviosidad para su crecimiento (González, 2009, p.17).

El mucílago se encuentra en la epidermis del pericarpio de la semilla madura, al encontrarse en contacto con agua se fragmenta la capa superficial de células epidérmicas, lo que permite la salida de las fibras de mucílago que cubren la semilla. Al hidratarse el mucílago forma una capa transparente que rodea la semilla con gran fuerza, cuando varias semillas se hidratan forman una solución altamente estable y viscosa (Hernández y Miranda, 2008).

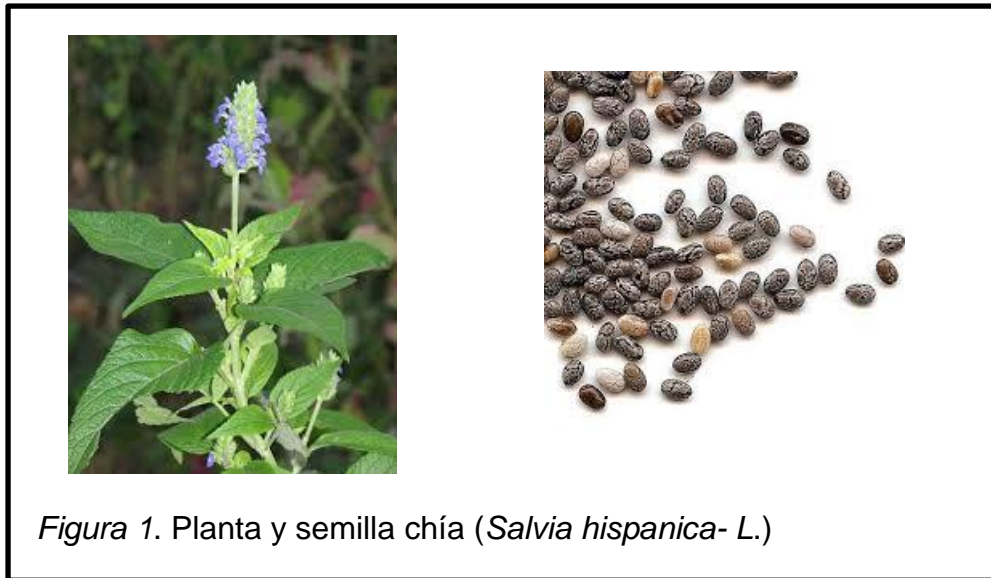


Figura 1. Planta y semilla chía (*Salvia hispanica*- L.)

## 1.2. Nutrientes

La semilla contiene 25-40% de aceite y de este el 60% es omega 3 (ácido linolénico) y el 20% omega 6 (ácido linoleico), ambos ácidos grasos esenciales son requeridos por el organismo para mantener la salud, no pueden ser sintetizados artificialmente. La semilla chía está compuesta de grasa (30-33%), proteína (15-25%), fibra dietética (18-30%), carbohidratos (26-41%), cenizas (4-5%), minerales, vitaminas y materia seca (90-93%). Otra característica clave de la semilla chía es no contener gluten (Vásquez, Rosado, Chel y Betancour, 2009).

Según datos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), la semilla contiene omega 3 más que los aceites de algas, arenque, hígado de bacalao, arenque americano o salmón (Ayerza y Coates, 2005). Los aceites de uso común (palma, oliva, girasol, maíz, soya y canola) no alcanzan el contenido de ácido graso que tiene la chía, pues ninguno posee más del 9%. Es una fuente importante de magnesio, calcio, potasio fósforo, hierro, cobre y zinc así como de vitamina B (Ayerza y Coates, 2005).

La fracción fibrosa de la semilla chía tiene alta capacidad de absorción de agua (11,73g/g), capacidad antioxidante (ácido cafeico, clorogénico y cinámico) (488,4 $\mu$ MET/g), comparada con el vino, té, café y jugo de naranja, de la misma forma cuenta con la presencia de flavonoides como miricetina, quercetina y kempferol (Vásquez, Rosado, Chel y Betancour, 2006).

Una de las características más importantes de la semilla es que, al ser expuesta en un medio líquido libera un polisacárido conocido como mucílago. Este polisacárido tiene propiedades fundamentales para la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica (Hernández y Miranda, 2008).

El mucílago posee altos niveles de carbono (37,99%), nitrógeno (1,38%), hidrógeno (5,64%) y oxígeno (47,27%). La composición de monosacáridos es D-arabinosa 6,77%, 16,78% D-xilosa+Dmanosa 2,11%, D-glucosa 3,9%, 12,1% ácido glucurónico y ácido galacturónico, con un 41,66% de azúcares totales (Hernández, 2013). El mucílago extraído de la semilla es una fuente potencial de hidrocoloides con propiedades funcionales importantes para la industria, tiene alta capacidad de retención de agua, es un aditivo que cumple con las funciones de espesar, emulsificar y estabilizar, es altamente soluble en agua fría y/o caliente. El mucílago de *Salvia hispanica-L.* tiene la capacidad de formar capas comestibles que junto con proteínas mejoran las propiedades funcionales y mecánicas de las mismas (Hernández y Miranda, 2008).

Esta semilla tiene varias ventajas comparada con otras y actúa benéficamente en ciertos problemas de salud. En la Tabla 1, se visualiza la composición nutricional de la chía según Coates.

Tabla 1. Composición nutricional de la semilla chía

<b>Nombre Principal</b>	<b>Valor Medio</b>	<b>Valor Máximo</b>	<b>Valor Mínimo</b>	<b>Unidades</b>
<b>Calorías</b>	4,60	529,00	356,00	Cal/100g
Calorías de la grasa	2,33	309,00	110,00	Cal/100g
<b>Grasa total</b>	30,89	34.30	21,40	g/100g
Grasa saturada	3,47	3.91	2.48	g/100g
Grasa trans	0,14	0,19	0,04	g/100g
Grasa poliinsaturada	23,97	26,00	16.20	g/100g
Grasa monoinsaturada	2,36	2,76	1,71	g/100g
Omega 3	18,56	21,10	12.30	g/100g
Omega 6	3,91	7.15	3.88	g/100g
<b>Carbohidratos totales</b>	40,27	54,00	12,00	g/100g
<b>Fibra dietética</b>	34,41	41.20	33,00	g/100g
<b>Fibra insoluble</b>	31,39	33,9	28,00	g/100g
<b>Fibra soluble</b>	1.66	5,80	1,10	g/100g
<b>Proteínas</b>	22.23	24.40	19,30	g/100g
<b>Vitaminas</b>				
Vitamina A	53,00	80,00	33,00	UV/100g
Vitamina C	1,61	2.09	0.05	mg/100g
Vitamina E	0,74	0,74	0,74	UI
Vitamina B1(aurina)	0.62	0,74	0,21	mg/100g
Vitamina B2 (Riboflavina)	0,17	0,22	0,12	mg/100g
Niacina	8,83	11,9	5,97	mg/100g
Ácido fólico	48,53	51,4	43,1	mg/100g
<b>Minerales</b>				
Calcio	569,80	616,00	523,00	mg/100g
Hierro	7,72	9.78	6,27	mg/100g
Fósforo	770,30	880,00	675,00	mg/100g
Magnesio	334,50	369,00	321,00	mg/100g
Zinc	5.68	6.48	4.46	mg/100g
Selenio	55,15	92,50	17,80	mcg/100g

<b>Nombre Principal</b>	<b>Valor Medio</b>	<b>Valor Máximo</b>	<b>Valor Mínimo</b>	<b>Unidades</b>
Cobre	1,66	1,88	1,44	mg/100g
Manganeso	3,28	4,32	2,46	mg/100g
Cromo	9,07	16,40	1,74	mcg/100g
Sodio	128,00	272,00	22,00	mcg/100g
Potasio	653,00	741,00	596,00	mg/100g
<b>Aminoácidos esenciales</b>				
Leucina	1421,00	1700,00	1210,00	mg/100g
Isoleucina	830,00	1100,00	700,00	mg/100g
Valina	985,00	1110,00	857,00	mg/100g
Lisina	1005,00	1100,00	849,00	mg/100g
Treonina	735,00	894,00	647,00	mg/100g
Metionina	609,00	1200,00	430,00	mg/100g
Fenilalanina	1053,00	1350,00	900,00	mg/100g
Triptófano	452,00	1600,00	178,00	mg/100g
<b>Aminoácidos no esenciales</b>				
Arginina	2221,00	2750,00	1950,00	mg/100g
Histidina	550,00	629,00	483,00	mg/100g
Alanina	1082,00	1300,00	920,00	mg/100g
Acido aspártico	1751,00	2150,00	1490,00	mg/100g
Cisteína	422,00	500,00	370,00	mg/100g
Ácido glutámico	3628,00	4370,00	3140,00	mg/100g
Glicina	977,00	1120,00	830,00	mg/100g
Prolina	804,00	893,00	683,00	mg/100g
Cerina	1087,00	1280,00	928,00	mg/100g
Tirosina	584,00	880,00	23,00	mg/100g

Tomada de Coates W, 2012



### 1.2.1. Propiedades de los lípidos

El estudio de los lípidos y su importancia en la nutrición humana constituye una de las áreas necesarias en la investigación nutricional. Los lípidos son el principal nutriente energético, aporta mayor cantidad de energía que las proteínas y carbohidratos, estos contribuyen 9Kcal/g, mientras que las proteínas y carbohidratos aportan 4Kcal/g (Coates, 2012, p. 21).

Los lípidos están compuestos de pequeñas cantidades de fosfolípidos, colesterol y otros esteroides, en gran cantidad de triglicéridos. Los lípidos se almacenan en el cuerpo en forma de triglicéridos y estos químicamente son moléculas de glicerol esterificadas con tres ácidos grasos (Coates, 2012, p.22).

El contenido de grasa, el cual es formado de lípidos libres es aquel que puede ser extraído por disolventes ligeros, como petróleo y éter etílico, siendo estos menos polares; por otro lado, los lípidos conectados necesitan disolventes más polares para su extracción. Mediante hidrólisis o tratamientos químicos se puede separar para la obtención del lípido libre, la cantidad de lípido extraído de un producto alimenticio dependerá del método utilizado (Kirk, Sawyer y Egan, 2011).

Los ácidos grasos son los bloques de construcción de algunos lípidos en el cuerpo, compuestos de una cadena de hidrocarburos; es decir una cadena de átomos de carbono unida a una de átomos de hidrogeno. Los ácidos grasos se clasifican según sus cadenas, pueden ser de cadena corta (<6 carbonos), cadena mediana (6-10 carbonos) o cadena larga (12 o más carbonos). Estos pueden clasificarse según su saturación; saturados (sin doble enlace), monoinsaturados (1 doble enlace) y poliinsaturados (>1 doble enlace). Los ácidos grasos poliinsaturados tiene una sub clasificación en la cual el primer doble enlace se encuentra entre los 3 átomos de carbono (omega 3 o n3) y si el doble enlace se encuentra en los 6 átomos del metil carbono (omega 6 o n6) (Coates, 2012, p.22).

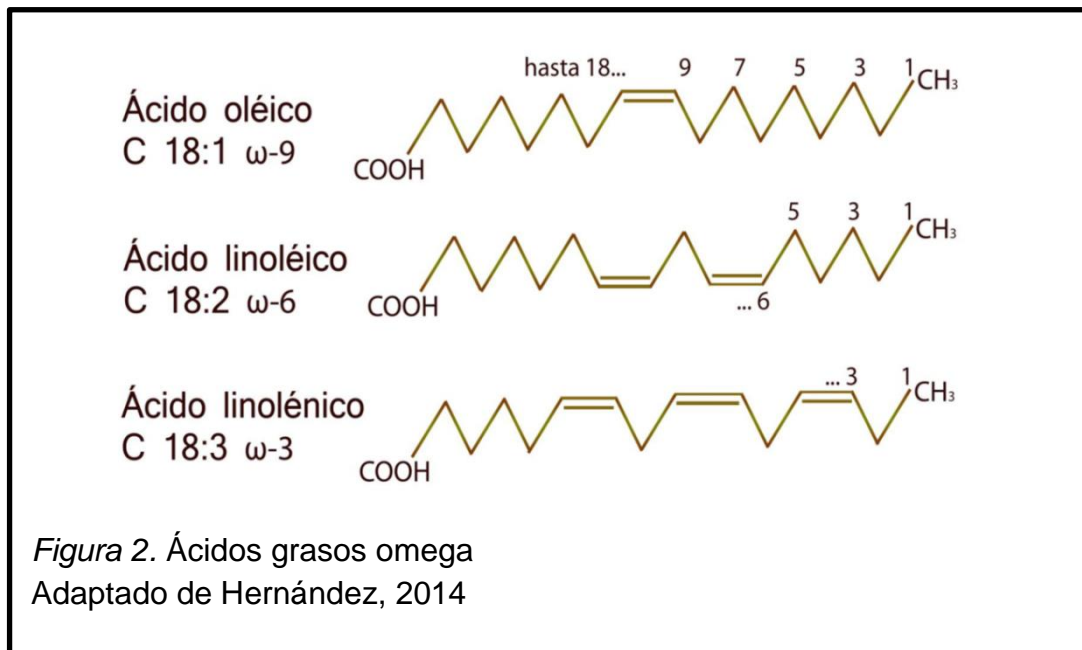
Los ácidos grasos saturados y monoinsaturados son conocidos como ácidos grasos no esenciales pues pueden ser sintetizados por el organismo, mientras que los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y 6 se denominan ácidos grasos esenciales y deben ser suministrados por la dieta. Los ácidos grasos se conocen por sus siglas en inglés Saturated Fatty Acids (SFA), Monounsaturated Fatty Acids (MUFA), Poliunsaturated Fatty Acids (PUFA) (Coates, 2012, p.23).

#### **1.2.1.1. Propiedades de los omega**

El aceite de la semilla chía es una de las mejores fuentes vegetales (<60%), seguido por la linaza (57%), la colza, la soja, el germen de trigo y las nueces (7-13%). El ácido linolénico a pesar de ser el principal precursor del DHA y EPA desarrolla una mínima conversión, de allí la importancia del consumo de alimentos que se conviertan en una fuente directa de EPA y DHA (Coates, 2012, p.25).

El principal ácido graso linoleico (omega 6) puede ser transformado en el cuerpo en ácido graso gamma linolénico (GLA) y araquidónico (AA). Por otro lado, el ácido linolénico (omega 3) puede ser sintetizado en EPA y el DHA. La transformación de omega 6 a GLA y AA, y del omega 3 en EPA y DHA se da mediante procesos en los que actúan enzimas saturasa y elongasa; estas dos familias de PUFA tienen los procesos similares y por lo tanto, compiten por las enzimas para que se realice la desaturación y la elongación (Coates, 2012, p.25).

La *Figura 2* indica la estructura de los ácidos grasos poliinsaturados presentes en la semilla chía.



### 1.2.2. Propiedades de las proteínas

Las proteínas y los ácidos nucleicos son moléculas de formación en los seres vivos, se almacenan en pequeñas unidades conocidas como genes en el ácido desoxirribonucleico (ADN) y se transcribe para crear diferentes tipos de ácido ribonucleico (ARN) siendo los ribosomas que traducen el mensaje que forman las proteínas. Las proteínas tienen un importante papel en los sistemas biológicos, existen alrededor de 3000 clases de proteínas que cumplen con las funciones de estructura, transporte, defensa, almacenamiento, reconocimiento, motilidad y función catalítica. Se puede formar gran cantidad de proteínas a partir de 20 aminoácidos (unidades básicas); estas combinaciones de secuencia de aminoácidos, longitud de cadena y organización estructural, permiten obtener diversas funciones que dependen de las propiedades fisicoquímicas (Salvador, 2006, p.120)

### 1.2.2.1. Propiedades de los aminoácidos

En cuanto al contenido de aminoácidos en la chíá, se puede encontrar que el aporte de lisina es relativamente alto y la cisteína y metionina se pueden comparar favorablemente a los existentes en otros cereales. Aminoácidos son la estructura química más simple de las proteínas, conforman los eslabones para la formación de péptidos y al formar cadenas polipeptídicas son denominadas proteínas (Salvador, 2006, p.121).

De los 20 aminoácidos 8 son considerados como indispensables porque deben ser ingeridos en la dieta ya que su síntesis en el organismo es despreciable, estos son leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, valina, triptófano y treonina. Los niños en su dieta también necesitan la presencia de histidina, los aminoácidos restantes no son indispensables de ingerirlos a través de la dieta, pues el organismo puede crearlos a partir de los aminoácidos no esenciales siendo estos glicina, ácido glutámico, alanina, ácido aspártico, asparagina, glutamina, cisteína, prolina, tirosina y serina (Salvador, 2006, p.121). La *Figura 3* indica la estructura de los 8 aminoácidos esenciales.

AMINOÁCIDO	FÓRMULA MOLECULAR	ESTRUCTURA QUÍMICA
Glicina	$C_2H_5NO_2$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{H} \end{array}$
Alanina	$C_3H_7NO_2$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Valina	$C_5H_{11}NO_2$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_3 \end{array}$
Leucina	$C_6H_{13}NO_2$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_3 \end{array}$
Isoleucina	$C_6H_{13}NO_2$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Fenilalanina	$C_9H_{11}NO_2$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$
Tirosina	$C_9H_{11}N_1O_3$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{OH} \end{array}$
Triptófano	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH} \\   \\ \text{CH} \\   \\ \text{H} \end{array}$

*Figura 3. Aminoácidos esenciales presentes en la semilla chía*  
Adaptado de Voet, 2006, pp.72

### 1.2.2.2 Punto isoeléctrico de las proteínas

El punto isoeléctrico (pI) es el punto en el cual la proteína presenta carga neta nula compensada, es decir, igual número de cargas positivas que negativas, la solubilidad de la proteína es mínima. Se determina mediante el pH en el cual el

precipitado presenta mayor contenido de proteína. La carga que tiene una proteína dependerá del tipo de aminoácidos que la conforman y del pH determinado (Peinado y Meléndez, 2012). El pH isoelectrico se evalúa de acuerdo al valor en el cual el precipitado presenta mayor contenido de proteína, es decir, a pH donde la proteína no tiene carga eléctrica y no puede desplazarse en un campo eléctrico (Serpa, Hincapié y López, 2014).

Las proteínas tienen la capacidad de alcanzar según el pH en el que se encuentran, carga neta: negativa, positiva o nula. El hecho de que las proteínas puedan tener carga se aprovecha en la práctica para la separación de mezclas de proteínas, mediante la técnica llamada electroforesis en la cual existe un desplazamiento en campo eléctrico. Por lo tanto, una proteína en una disolución de pH que se encuentra por encima de su pI alcanza una carga eléctrica negativa, mientras si el pH se encuentra por debajo de su pI alcanzará una carga positiva (Salvador, 2006).

Al introducir a una disolución de proteínas a un campo eléctrico se produce la separación de las proteínas hacia un polo u otro. La mayor cantidad de proteínas intracelulares tienen carga negativa, debido a que su pH fisiológico es mayor a su pH isoelectrico (próximo a 7). Se denomina proteínas ácidas cuando su punto isoelectrico es menor (pepsina), y proteínas básicas cuando su punto isoelectrico es mayor (histonas) (Salvador, 2006).

### **1.2.2.3. Concentrado proteico y aislado proteico**

Se denomina concentrado proteico al producto que contiene hasta un 70% de proteína en base seca y se obtiene de harinas desengrasadas que han sido sometidas a un proceso de extracción, para eliminar los azúcares totales, fibra y otros componentes menores (Luna, 2007, p.42). Los aislados proteicos más conocidos son de soja, puesto que ofrece mayores ventajas tanto económicas, nutricionales y funcionales y mantienen las cualidades sensoriales deseables fundamentales para la aprobación del consumidor. Los productos como los

aislados deben ser de alta calidad, es decir, mismo sabor, textura, color, aroma, composición química y nutricional. Estos parámetros son los que determinan el grado de sustitución proteica. En los últimos años se han elaborado aislados proteicos de otros cultivos tales como: colza, trigo, maíz, garbanzo e incluso de cultivos menores como amaranto (Vioque, Sánchez, Pedroche, Yust y Millán, 2001). Los aislados se caracterizan por tener un 90% de contenido de proteína mínimo en base seca, este se obtiene a partir de harinas desengrasadas a partir de diferentes extracciones de azúcares totales, fibra y otros componentes menores (Luna, 2007, p.42)

El método de extracción de aislados proteicos se basa en la obtención básica de las proteínas solubles seguido de una precipitación ácida en el pl de las proteínas. El precipitado obtenido se lava con agua (pH 4.5), etanol y acetona, teniendo como resultado un concentrado proteico con un 86% de proteína y 90% de azúcares solubles respecto a la harina desengrasada. El concentrado final tiene características físico-químicas interesantes, las cuales son atractivas para la industria alimentaria y obtención de hidrolizados proteicos después de su purificación (Vioque, Sánchez, Pedroche, Yust y Millán, 2001).

### **1.3. Métodos de extracción y caracterización de grasa y proteína.**

#### **1.3.1. Extracción del mucílago**

El método más utilizado para la extracción del mucílago es por liofilización. Se remoja las semillas de chía en agua en una relación de 1:10p/v por 4h a temperatura ambiente removiéndola por 15min para lograr una hidratación completa de la semilla evitando aglomeración. Seguido a esto la semilla hidratada se coloca en bandejas de plástico cubiertas con papel aluminio y se congela a (-20°C) por 96h para llevarlo a liofilizar (-50°C; 0,033mbar, 4días). Finalmente, el mucílago es tamizado en una malla N°20 ASTM (840µm) para separarlo de la semilla en 3 periodos de 15min cada uno (Capitani, 2013).

### **1.3.2. Extracción de grasa**

Las grasas son elementos biológicos no solubles en el agua, sin embargo son solubles en solventes no polares como hexano, éter, cloroformo, benceno y otros similares (Luna, 2007, p.38). La extracción de grasa de la semilla se realiza con la finalidad de obtener dos fases, la fase líquida y la fase sólida, la fase líquida se denomina aceite, mientras que la fase sólida se denomina torta o harina desengrasada con un contenido proteico de 34-50%, a partir de este se procede a realizar las siguientes extracciones de sus diferentes componentes (fibra, carbohidratos y proteína) (Vioque, Sánchez, Pedroche, Yust y Millán, 2001).

#### **1.3.2.1. Extracción por solvente hexano**

El hexano es un disolvente orgánico que predomina en las extracciones de grasa por requerir menos tiempo y menos riesgos de incendio o explosión. Su uso se encuentra autorizado por la FDA, 2006 de E.E.U.U. Para la extracción de la harina, lípidos libres o el aislado se utiliza hexano durante 6h a temperatura ambiente teniendo una relación harina: solvente 1:10p/v. El cual extrae el 85% de la grasa presente en la semilla (Mosca, 2011). En la Tabla 2 se observa las principales características del solvente hexano de su ficha técnica.



Tabla 2. Ficha técnica del hexano

Fórmula	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>
Usos	Forma parte de la gasolina, se utiliza para la obtención de aceite de semillas, como disolvente en la formulación de productos como laca, cemento, y pintura, reacciones de polimerización y en el laboratorio se utiliza como solvente y materia prima para análisis.
Punto de inflamación	No aplica
Densidad relativa	0.66
Punto de ebullición a 1 atm	68° C (154°F)
Punto de congelación	-95°C (-139°C)
pH	No aplica
Peso molecular	86.18
Apariencia y color	Gas incoloro e inodoro

Adaptado de Linde, 2010

### 1.3.2.2. Extracción por equipo Soxhlet

El principio básico de la extracción mediante el equipo Soxhlet se fundamenta en la separación de una fracción específica de la muestra con el uso de un solvente. Para iniciar el proceso de extracción se prepara la muestra y se coloca en el capuchón, los capuchones se llenan de muestra hasta la mitad para que no se impida la difusión, posterior a este se coloca el solvente en un balón para que realice la primera sifonada con arrastre de grasa alrededor de 5-20min, al realizarse la sifonada el solvente cae sobre el capuchón; se espera que se realice la segunda sifonada del solvente cubriendo el capuchón hasta producir nuevamente las sifonadas necesarias para la extracción del 100% del aceite. El aceite obtenido de la extracción se concentra en el fondo del balón, luego de ser recuperado el solvente (Núñez, 2008). La Tabla 3 indica los

grados de ebullición de los diferentes solventes que se pueden utilizar en el equipo Soxhlet.

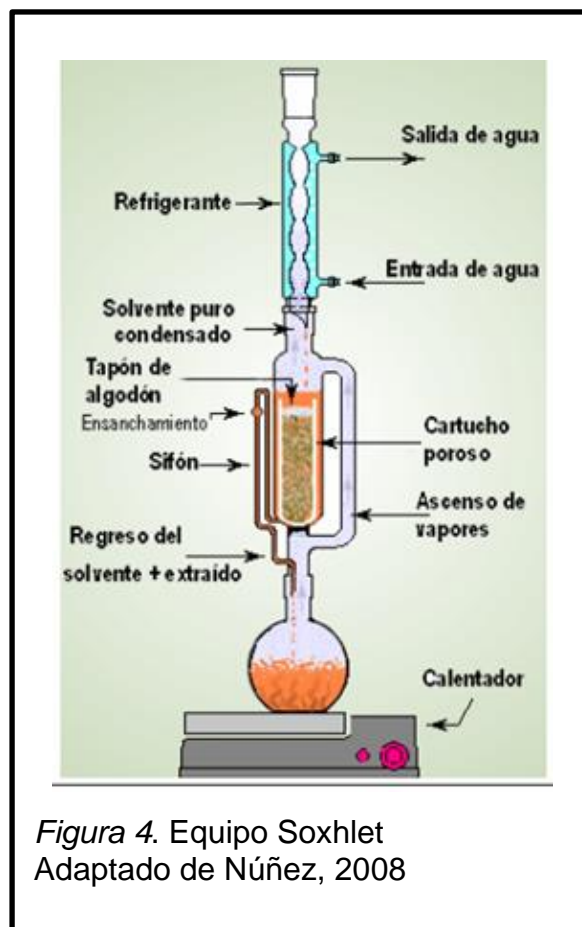
Tabla 3. Punto de ebullición de solventes (°C)

Solvente	° de ebullición	Solvente	° de ebullición
Éter	35	Hexano	69
Diclorometano	40	Etanol tolueno	73
Éter de petróleo	35-50	Acetato de etilo	77
Cloroformo	62	Etanol	78
Metanol	65	Benceno	80
Etanol-Benceno	65	Ciclohexano	81
Ácido Fórmico	101	Tolueno	111
Dioxano	102		

Adaptado de Núñez, 2008

- **Aplicación del solvente:** La cantidad de solvente tiene que ser la determinada para que se realicen correctamente las sifonadas y la extracción de aceite al 100%, no puede quedar seco el balón inferior ya que se seca la muestra y se quema. Durante el proceso existe pérdida del solvente por evaporación (Núñez C, 2008).
- **Solventes a utilizar:** Es importante conocer el parámetro de estas sustancias que se pueden usar en el equipo Soxhlet. Una característica importante para tomar en cuenta es que los solventes de carácter no polar suelen tener dificultad al realizar la sifonada debido a que el vidrio se humedece. (Núñez C, 2008).
- **Extracción:** Al tener el equipo completamente armado, con flujo de agua constante, listo el capuchón con la muestra y solvente, se enciende el equipo y comienza el proceso de extracción. Cuando alcanza la

temperatura de ebullición el solvente se evapora y comienza a condensarse en el refrigerante y a gotear sobre el capuchón. Una vez que se realiza la sifonada toma aproximadamente de 5 a 20min volver a tener otra, esto depende de factores como el tipo de solvente y en la temperatura que se encuentra, ya sea ambiente o en estado de ebullición; la cantidad de sifonadas se dan de acuerdo al tipo de muestra y solvente aplicado (Nuñez C, 2008); en la *Figura 4* se observa el equipo Soxhlet con las partes importantes.



### 1.3.3. Extracción de fibra

Los restos del esqueleto de las células vegetales son denominadas fibras (glúcidos, polisacáridos, oligosacáridos, ligninas y otras sustancias asociadas a los vegetales) tomando en cuenta componentes como pectinas, mucílagos y

gomas; según la Asociación Americana de la Química de los Cereales. La pared celular es la principal fuente de fibra dietética, con propiedades hidrofóbicas e hidrofílicas, las características más importantes son las propiedades de intercambio iónico, hidratación y adsorción orgánica (Baena y García, 2012).

La fibra dietética está compuesta por celulosa, un polisacárido formado por unidades de anhídrido glucosa unidos por enlaces  $\beta$  1-4 glucosídicos permitiendo desarrollar cadenas largas y lineales. Otro componente es la hemicelulosa, grupo de polisacáridos heterogéneo de pentosas, principalmente D-xilano ramificados que se unen entre sí, la hemicelulosa más abundante es el xiloglucano. El componente mayoritario de la fibra dietética es el mucílago, producto vegetal de peso molecular mayor a 200.000g/gmol, compuesto por polisacáridos celulósicos (Baena y García, 2012).

La fibra se clasifica en soluble e insoluble y se puede obtener mediante procesos químicos controlando pH y con el uso de enzimas que simulan las condiciones fisiológicas. La fibra soluble al estar en contacto con el agua crea un retículo donde queda adherida, formando soluciones viscosas, la fibra insoluble se tamiza en mallas de diámetro 300 $\mu$ m y el residuo insoluble se pesa y seca para posteriores extracciones de proteína y carbohidratos (Baena y García, 2012).

La chía tiene 1,6; 2,3; 2,6; 8,3; 9,8 veces más contenido de fibra que la cebada, trigo, avena, maíz y arroz respectivamente. El contenido de fibra en la harina después de la extracción de aceite representa el 40%, el 5% es fibra soluble (mucílago) (Capitani, 2013).

#### **1.3.4. Extracción de azúcares totales**

La cantidad de azúcares solubles se determina mediante el proceso de desengrasado de la harina, 5g de la misma se extraen con 200ml de etanol al 95% mediante agitación durante 2h a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifuga a 4000rpm durante 15min, el sobrenadante se filtra a través de papel filtro. La cuantificación de azúcares totales se realiza mediante análisis en laboratorio (Vioque, Sánchez, Pedroche, Yust y Millán, 2001).

#### **1.3.5. Extracción proteína**

A pesar que el concentrado proteico mantiene las características químicas óptimas con relación a la harina, presenta contenidos altos de otros componentes que alteran el producto final. Incluyendo compuestos como lípidos, fibra, azúcares reductores y fenoles. La fibra (celulosa, hemicelulosa, lignina, sustancias pécticas, entre otros) es el componente que se encuentra en mayor proporción y debe ser eliminada, si se pretende tener un producto rico en proteína (Parrado, 1991).

El proceso de extracción de aislados proteicos tiene una serie de pasos para eliminar o disminuir los componentes no proteicos, obteniendo así un producto final con 80-90% de proteína. Este procedimiento se realiza mediante la secuencia de 2 operaciones; en la primera, las proteínas son suspendidas en agua para ser separadas del resto de los compuestos no solubles (glúcidos insolubles). El producto obtenido contiene compuestos solubles y proteína del concentrado proteico. Aunque varias de las proteínas vegetales son solubles a pH neutrales, se recomienda extraer las proteínas a pH alcalinos, puesto que favorece la solubilización de las proteínas desnaturalizadas durante la obtención de los concentrados (Vioque, Sánchez, Pedroche, Yust y Millán, 2001).

La obtención de concentrados proteicos que parten de la obtención de harina desengrasada de oleaginosas y cereales tiene como objetivo principal la

eliminación completa de los componentes solubles no proteicos que se encuentran en la harina desengrasada. Como resultado de las centrifugaciones se tiene un producto rico en proteínas y azúcares insolubles. Los métodos principales utilizados en la actualidad para la obtención de concentrados proteicos se detallan a continuación:

- **Obtención de compuestos no proteicos con la utilización de agua ajustada al pI de las proteínas (pH 4,5):** Este proceso elimina la mayor parte de los compuestos funcionales (sales y compuestos nitrogenados no proteicos). El proceso consiste en realizar diversas extracciones con agua y centrifugaciones para precipitar los compuestos insolubles obtenidos en el sobrenadante, en este se encuentran disueltos los componentes que se van a eliminar posteriormente. La extracción a diferentes pH es controlado, lo que asegura que la desnaturalización de las proteínas es poca, manteniendo las propiedades funcionales del producto, sin embargo, los compuestos responsables de olores y sabores desagradables no se pierden totalmente (Vioque, Sánchez, Pedroche, Yust y Millán, 2001).
- **Obtención de compuestos no proteicos mediante soluciones hidroalcohólicas (Campbell et al., 1985).** El hexano que se utiliza en el desengrasado y el agua no son los mejores solventes en la eliminación de compuestos responsables de olores y sabores extraños del producto. Por lo tanto, las proteínas generalmente son poco solubles en mezclas agua-alcohol, cuando el alcohol representa más del 40%v/v. El uso de mezclas hidroalcohólicas disminuye la solubilidad de las proteínas con relación al uso de agua e incluso de alcohol puro. El etanol es generalmente el alcohol específico en la preparación de concentrados mediante mezclas hidroalcohólicas (Campbell, et al. 1985).

La técnica consiste en extraer la harina con soluciones de etanol al 50-70%v/v y secar posteriormente el producto (Campbell et al. 1985). El producto obtenido puede ser destilado. El porcentaje de etanol que se va a utilizar tiene que ser el

adecuado, puesto que, con porcentajes bajos se produce una desnaturalización de las proteínas, la recuperación del alcohol se dificulta por la destilación y el secado del concentrado se hace más complejo. Por otro lado, con altos niveles de etanol la extracción de azúcares no es suficiente (Vioque, Sánchez, Pedroche, Yust y Millán, 2001).

La principal diferencia que existe entre estos métodos está en la insolubilización de las proteínas; los menores contenidos en azúcares totales se consiguen mediante la extracción isoelectrica, mientras que los porcentajes más bajos en grasa se obtienen mediante la extracción con soluciones hidroalcohólicas (Juan, Pastor, Alaiz, Megías, Vioque, 2007).

El concentrado proteico es extraído en medio básico con la utilización del solvente NaOH al 0.2% o  $H_2SO_3$  al 0.25%. Con estas soluciones se extrae el 60% de las proteínas aproximadamente. Para la obtención de las proteínas se realiza una extracción alcalina con NaOH 0,1M; y una precipitación en las cuales se evalúa 3 valores de pH (4,0-4,25- 4,5) y temperaturas 50°C. Todos los precipitados que se obtiene presentan el mayor contenido de proteína (Vioque, Sánchez, Pedroche, Yust y Millán, 2001).

#### **1.3.5.1. Determinación de nitrógeno**

La determinación de nitrógeno total se realiza según el método de Kjeldahl (AOAC, 2012). Se emplea un digestor y destilador. Para realizar la digestión se coloca 1g de muestra en el tubo digestor con 10g de catalizador, posteriormente se añade 25ml de  $H_2SO_4$  concentrado para ser calentado. Cuando la solución es aclarada se calienta por 30min para asegurar que se realice una oxidación completa de la materia orgánica, se deja enfriar para continuar con el proceso de destilación, en el cual se prepara una solución de  $H_3BO_3$  al 4% al que se agregó una solución compuesta de 0.02g de rojo de metilo y 0,04g de verde bromocresol disueltos en 19ml de alcohol y 1ml de agua destilada, se coloca 50ml de la solución en un Erlenmeyer para recoger el

$\text{NH}_4^+$  destilado al final del condensador, se agrega NaOH al 30% para eliminar el amonio hasta obtener una solución azul debido al conjunto de iones  $\text{NH}_4^+$  y cobre indicando que la cantidad de NaOH es la adecuada para neutralizar el exceso de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . La destilación se realiza hasta alcanzar 100ml en el Erlenmeyer; para determinar el  $\text{NH}_4^+$  absorbido por el  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , se titula el destilado con ácido HCl 0,1N. El contenido en nitrógeno proteico se obtiene por la diferencia con el contenido no proteico y se utiliza el factor 6.25 para obtener las cantidades proteicas correspondientes (Capitani, 2013). La *Figura 5* indica el digestor y destilador para realizar el análisis de proteína en el equipo Kjeldahl automático.



*Figura 5.* Equipo Kjeldahl automático

## 1.4. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos

### 1.4.1. Caracterización de ácidos grasos

Para realizar la caracterización de ácidos grasos existen 2 métodos: la cromatografía en papel y en capa fina (TLC) y cromatografía de gases, siendo el más preciso el método de cromatografía de gases (Kirk, Sawyer y Egan, 2011, p.699). Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs por sus siglas en



inglés) abarcan cadenas de 18, 20 y 22 carbonos que tienen dobles enlaces 2-6 con configuración *cis*, separados por un grupo CH<sub>2</sub> (Kirk, Sawyer y Egan, 2011, p.699).

La introducción comercial de la cromatografía gas-líquido a fines de los 50 y principios de los 60 hizo posible la determinación exacta y eficiente de la composición de los ácidos grasos saturados en las grasas y los aceites, convirtiéndose en ésteres metílicos a partir de los ésteres de triglicéridos. El perfil "huella digital" de los ácidos grasos obtenidos a partir de este método resulta ser más específico si se compara con las antiguas pruebas de color y turbidez para cada aceite en particular, las cuales resultaban ser semiespecíficas. En la actualidad, gracias al avanzado equipo de cromatografía de gases y al uso de columnas capilares que tienen gran poder de resolución se conoce específicamente la composición posicional de los triglicéridos y composición isomérica geométrica en los ácidos grasos (Kirk, Sawyer y Egan, 2011, p.695).

#### **1.4.2 Caracterización de aminoácidos**

La caracterización de aminoácidos se ha desarrollado por el método de cromatografía líquida de alta presión (HPLC), este ha llegado a ser una técnica muy usada, complementaria a la cromatografía de gases. Esta técnica es valiosa en la determinación de compuestos no volátiles (Kirk, Sawyer y Egan, 2011, p.19). La HPLC en el análisis de lípidos tiene una utilidad limitada debido a la falta de detectores adecuados. Los triglicéridos no pueden absorber longitudes de onda analíticas de ultra violeta, y, por lo tanto, es necesario obtener derivados de los ácidos grasos en forma de ésteres que contengan cromóforos sensibles en el ultravioleta (Kirk, Sawyer y Egan, 2011, p.698).

#### 1.4.2.1. Análisis de aminoácidos

Para el análisis de aminoácidos se hidroliza 10mg de muestra con 4ml de HCl 6N. Las soluciones se incuban en atmósfera de nitrógeno durante 24h a 100°C. Los aminoácidos se determinan mediante hidrólisis ácida, tras derivatización con dietil etoximetilenemalonato, mediante HPLC de acuerdo con el método de Alaiz et al. (1992) usando el ácido D,L-a-aminobutírico como estándar interno. Las pérdidas de aminoácidos sensibles a la hidrólisis ácida se considera una cuantificación precisa. El equipo de HPLC consiste en un multisistema Model 600E con un detector 484 UV-Vis (Waters, Milford, MA). La separación se realiza con una columna de fase reversa 300 x 3.9mm I.D. (Novapack Ci8, 4µm, Waters) utilizando un sistema de gradiente binario. Los solventes usados comúnmente son: 25mM  $C_2H_3NaO_2$  con 0.02% ácido sódico (pH 6) y  $CH_3CN$ . Los solventes se inyectan en la columna con un flujo de 0.9ml/min de la siguiente forma: tiempo 0-3min, gradiente lineal de  $C_2H_3NaO_2:CH_3CN$  (91:9) a  $C_2H_3NaO_2:CH_3CN$  (86:14); 3-13min, elución con  $C_2H_3NaO_2:CH_3CN$  (86:14); 13-30min, gradiente lineal de  $C_2H_3NaO_2:CH_3CN$  (86:14) a  $C_2H_3NaO_2:CH_3CN$  (69:31); 30-35min, elución con  $C_2H_3NaO_2:CH_3CN$  (69:31). La columna se mantiene a 18°C con un controlador de temperatura (Ruiz, Díaz, Anaya, Rojas, 2013).

## 2. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El experimento se realizó en los laboratorios de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias Estación Santa Catalina (INIAP).

### 2.1. Ubicación

La ubicación del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias Estación Santa Catalina (INIAP) en donde se realizó la fase experimental durante 3 meses se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Ubicación geográfica INIAP

<b>Provincia:</b>	Pichincha
<b>Cantón:</b>	Mejía
<b>Parroquia:</b>	Cutuglagua
<b>Lugar:</b>	Laboratorios Nutrición y Calidad
<b>Longitud:</b>	78° 23´o
<b>Altitud:</b>	3058m.s.n.m
<b>Latitud:</b>	00° 22´ s.
<b>Longitud:</b>	78° 08´oeste
<b>Pluviosidad</b>	50.3(min) año

### 3. HERRAMIENTAS

#### 3.1. Equipos

Los equipos utilizados para la extracción de grasa y proteína se mencionan a continuación:

- Molino Martillo (Typ ADEB80 N2Y4)



*Figura 6. Molino martillo*

- Molino de aspas (LF 827-D)

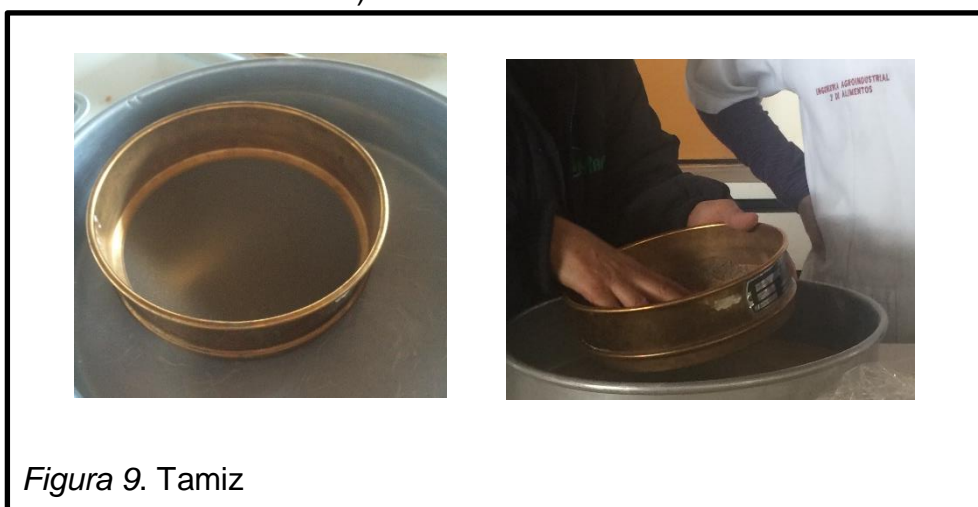


*Figura 7. Molino de aspas*

- Secador de aire forzado (HS122A)



- Tamiz 250 $\mu$ m, 300 $\mu$ m (Frame Mat. L Brass/ Pat No 667924, Mesh mat L.S/ steel/ serie No 06824)



- Rotavapor (Buchi/ Sybron/ Thermdyne)



*Figura 10. Rotavapor*

- Centrifugadora (Tenko TGL 20M)



*Figura 11. Centrifugadora*

- Homogenizadora (Schaub flextour/ Ultra turrax/ tipo T45/N)

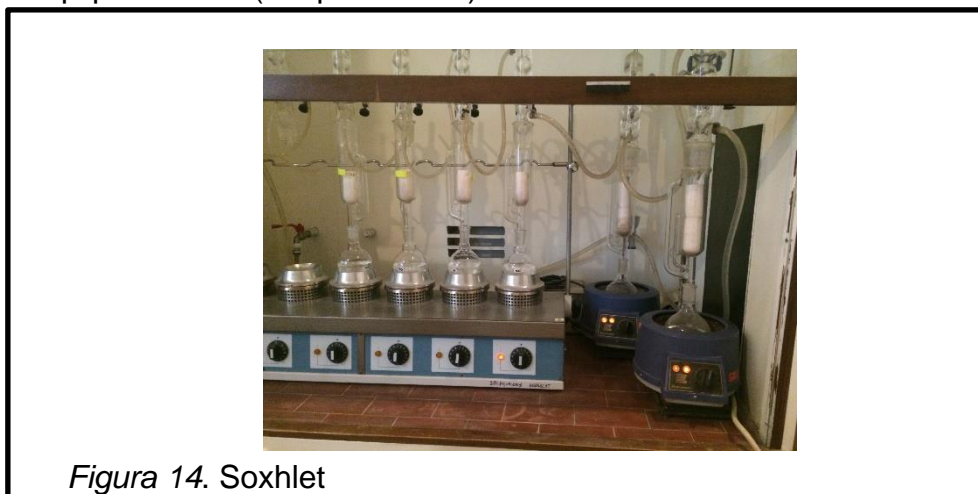


*Figura 12. Homogenizador*

- Liofilizador (LABCONCO / Freeze dry system)



- Equipo Soxhlet (Grupo Selecta)



### 3.2. Materiales

Los principales materiales para la realización del proyecto son los expuestos en el reglamento de la A.O.A.C.

### 3.3. Insumos

El insumo necesario fue la semilla chía obtenida de la comunidad Elirio, cantón Colta, provincia de Chimborazo

### 3.4. Reactivos

Los reactivos utilizados en la fase experimental se detallan a continuación:

- Hexano
- Hidróxido de sodio
- Ácido Clorhídrico
- Isopropanol
- Éter de petróleo



## 4. MÉTODOS

### 4.1. Fase preliminar

La fase preliminar se basó en la selección de una variedad de semilla chía proveniente de 2 localidades (Cotacachi y Colta). La comparación del análisis proximal de estas, determinó la semilla con mejores valores nutritivos en sus componentes.

#### 4.1.1. Análisis proximal de la semilla chía

El análisis proximal es la composición química de la semilla chía compuesta por extracto etéreo (E.E), proteína, fibra, humedad, cenizas, y elementos libres de nitrógeno (E.L.N). En la Tabla 5, se presentan los resultados obtenidos de la composición química de la semilla chía proveniente de las localidades de Colta y Cotacachi. El informe entregado por el laboratorio mencionado se encuentra en el Anexo 1 y 2.

Tabla 5. Promedios de seis compuestos químicos de la semilla chía provenientes de dos localidades, 2015

<b>Localidad</b>	<b>Humedad %</b>	<b>Cenizas %</b>	<b>E.E %</b>	<b>Proteína %</b>	<b>Fibra %</b>	<b>E.L.N %</b>
Colta	5,86	4,70	31,48	24,64	19,48	19,69
Cotacachi	5,54	5,20	24,41	21,61	30,82	17,95

Los porcentajes de nutrientes presentes en la semilla chía pueden variar dependiendo del sector de donde provienen, características geográficas como el clima, suelo, fertilización, altitud y manejo del cultivo (Hernández y Miranda, 2008). Al comparar los resultados nutricionales de la semilla utilizada del sector

Colta con la semilla obtenida del sector Cotacachi se observó la variación de porcentajes de cada uno de los nutrientes como se indica en el (Anexo 1 y 2).

Al realizar los análisis de las semillas de las 2 localidades, se encontró 3 componentes que tuvieron una diferencia significativa en sus porcentajes, siendo estos, fibra, proteína y extracto etéreo (grasa). El alto porcentaje de variación (11,34%) en fibra de la semilla del sector Cotacachi pudo deberse a que los suelos son menos explotados lo que da como resultado la riqueza en fibra y cenizas. (Hernández y Miranda, 2008) Por otro lado, la variación mayor que existió en el porcentaje de grasa y proteína de la semilla del sector Colta pudo deberse a los requerimientos nutricionales del cultivo y del suelo, el ciclo del cultivo tiende a ser más largo en condiciones frías (5 meses), por consiguiente existe una mayor capacidad de generar proteínas. La fertilización rica en nitrógeno es una variante importante para tener un cultivo con los nutrientes de interés para su evaluación (Aguilera, 2013). Por esta razón, se utilizó la semilla proveniente del sector Colta para la realización del proyecto.

#### **4.2. ANDEVA**

El análisis estadístico ocupó un diseño experimental de bloques completamente al azar con 3 factores (método de extracción de proteína, extracción de grasa con el uso de solventes y extracción de azúcares totales) y 3 repeticiones, analizando 5 variables; porcentaje de grasa, porcentaje de proteína, rendimiento de proteína, porcentaje de fibra y porcentaje de azúcares totales.

#### **4.2.1. Factores de estudio**

##### **Factor A:** Métodos de extracción de proteína

A1: Secado

A2: Liofilizado

A3: Fresco

##### **Factor B:** Extracción de grasa utilizando solventes

B1: Hexano

B2: Éter

##### **Factor C:** Extracción de azúcares totales y fibra

C1: Con Isopropanol

C2: Sin Isopropanol

Mediante la utilización del programa INFOSTAT, se obtuvo la combinación de los factores A, B, C con un total de 12 tratamientos, 3 repeticiones, 36 unidades experimentales, Tabla 6, y el tamaño de la unidad experimental aplicada fue de 100g de semilla chía.

Tabla 6. Tratamientos en estudio

<b>Tratamiento</b>	<b>Métodos extracción proteína</b>	<b>Métodos extracción grasa</b>	<b>Métodos extracción de carbohidratos y fibra</b>	<b>Descripción</b>
<b>T1</b>	A1	B1	C1	Método secado con método vía química y solvente isopropanol
<b>T2</b>	A1	B1	C2	Método secado con método vía química sin solvente isopropanol
<b>T3</b>	A1	B2	C1	Método secado con método Soxhlet con solvente isopropanol
<b>T4</b>	A1	B2	C2	Método secado con método Soxhlet sin solvente isopropanol
<b>T5</b>	A2	B1	C1	Método liofilización con método vía química con solvente isopropanol
<b>T6</b>	A2	B1	C2	Método liofilización con método vía química sin solvente isopropanol
<b>T7</b>	A2	B2	C1	Método liofilización con método Soxhlet con solvente isopropanol
<b>T8</b>	A2	B2	C2	Método liofilización con método Soxhlet sin solvente isopropanol
<b>T9</b>	A3	B1	C1	Semilla completa con método vía química con solvente isopropanol
<b>T10</b>	A3	B1	C2	Semilla completa con método vía química sin solvente isopropanol
<b>T11</b>	A3	B2	C1	Semilla completa con método Soxhlet con solvente isopropanol
<b>T12</b>	A3	B2	C2	Semilla completa con método Soxhlet sin solvente isopropanol

Para los tratamientos se aplicó un análisis de varianza y una separación de medias (Tukey) al 5% de error.

#### 4.2.2. Variables a evaluar

Las variables (porcentaje de grasa, porcentaje de proteína, rendimiento proteína, porcentaje de fibra, porcentaje de azúcares totales) se determinaron mediante análisis químicos mencionados en la Tabla 7.

Tabla 7. Determinaciones químicas

<b>Variables</b>	<b>Método</b>	<b>Anexo</b>
Porcentaje de grasa	Método A.O.A.C. 1997. N° 920.39. Dpto. Nutrición y Calidad INIAP.	Anexo 3
Porcentaje de proteína	Método A.O.A.C. 1997. N° 920.152. Dpto. Nutrición y Calidad INIAP.	Anexo 4
Rendimiento Proteína	Evaluación por diferencia de pesos	
Porcentaje de fibra	Método A.O.A.C. 1997. N° 920.86. Dpto. Nutrición y Calidad INIAP.	Anexo 5
Porcentaje de azúcares totales	Método Doboys y Hamilton, 1956. Dpto. Nutrición y Calidad INIAP.	Anexo 6

#### 4.3. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos

La caracterización de ácidos grasos se realizó del mejor tratamiento resultante de la aplicación del diseño experimental. Dicho perfil se ejecutó en el laboratorio LSAIA del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

(INIAP) Santa Catalina mediante un análisis de cromatografía de gases. La caracterización de aminoácidos se realizó del mejor tratamiento resultante de la aplicación del diseño experimental. Dicho perfil se ejecutó en el laboratorio Excelencia Química S.A. en la ciudad de Guayaquil mediante un análisis de HPLC, utilizando el método Burbach Institute Prederivatización (HPLC-FDL).

#### **4.4. Metodología de extracción**

Para comprobar los métodos de extracción de grasa y proteína se desarrolló un diagrama de flujo en el cual se indican los 3 métodos para la obtención de proteína (secado, liofilizado y fresco), para la extracción de proteína fue necesario separar previamente todos sus componentes, por esta razón el diagrama incluye los métodos utilizados para la extracción total de grasa y de la misma manera la influencia del uso del solvente isopropanol para la completa extracción de azúcares totales, teniendo como producto final un aislado proteico *Figura 15, Figura 16, Figura 17.*

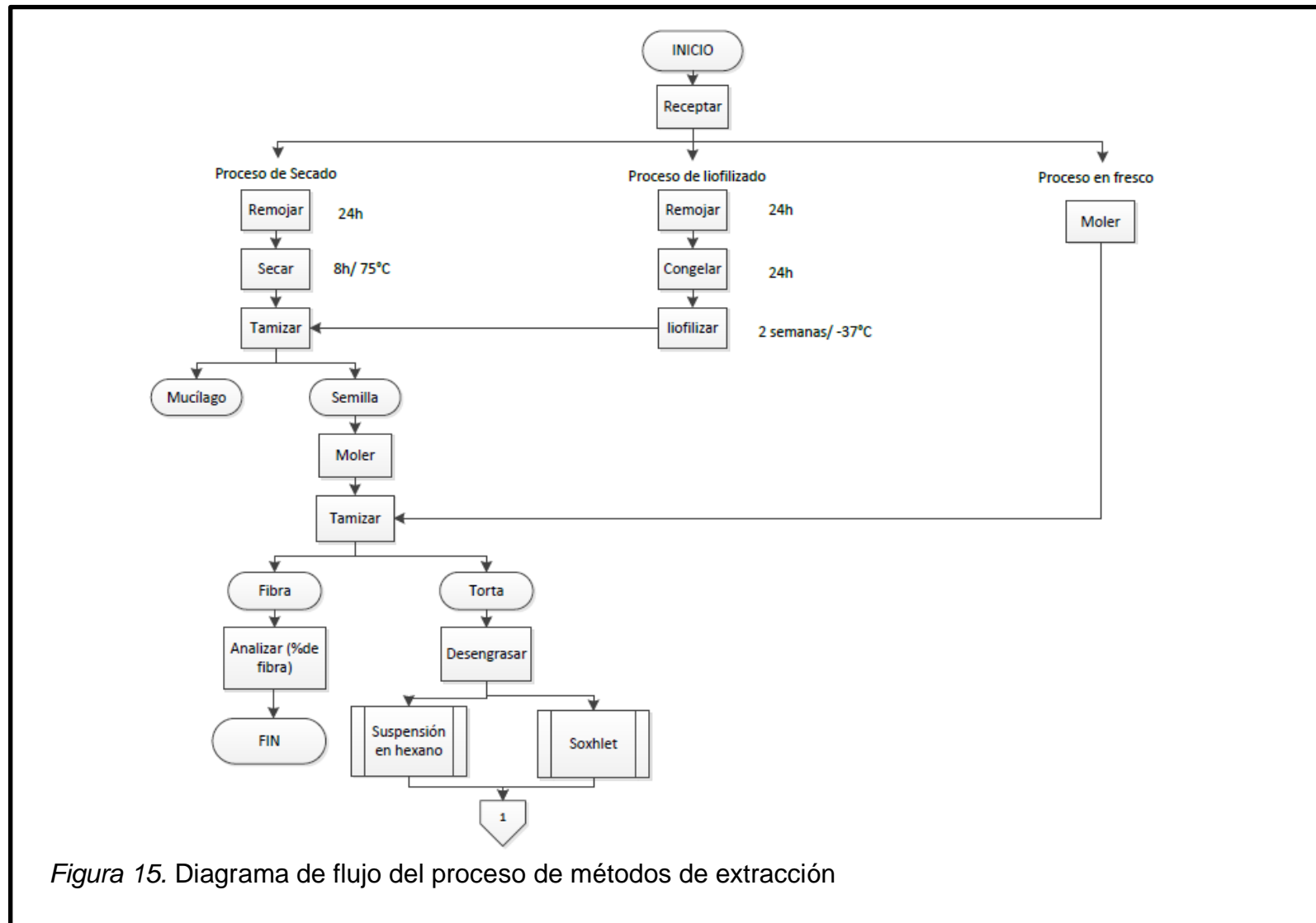
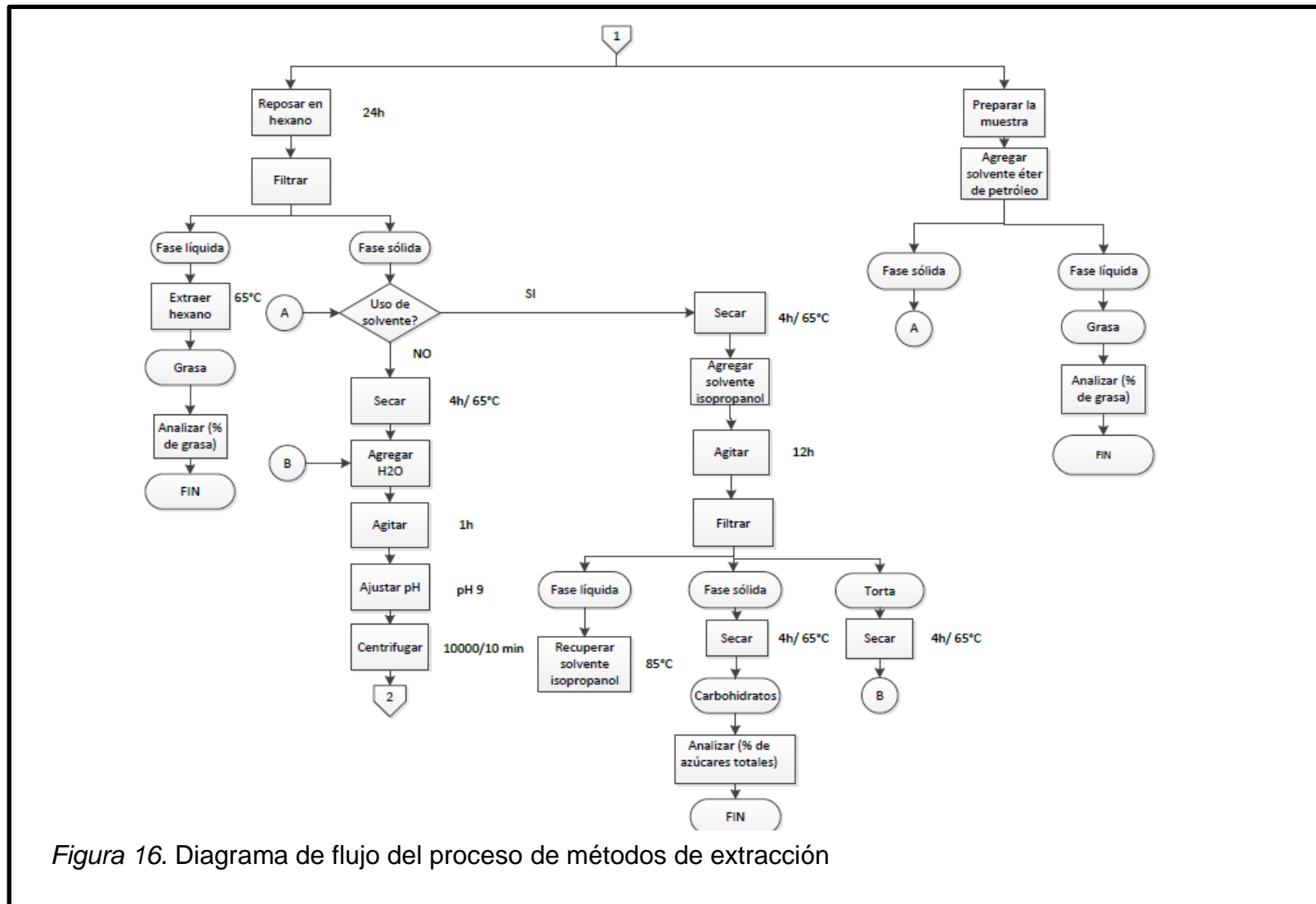


Figura 15. Diagrama de flujo del proceso de métodos de extracción





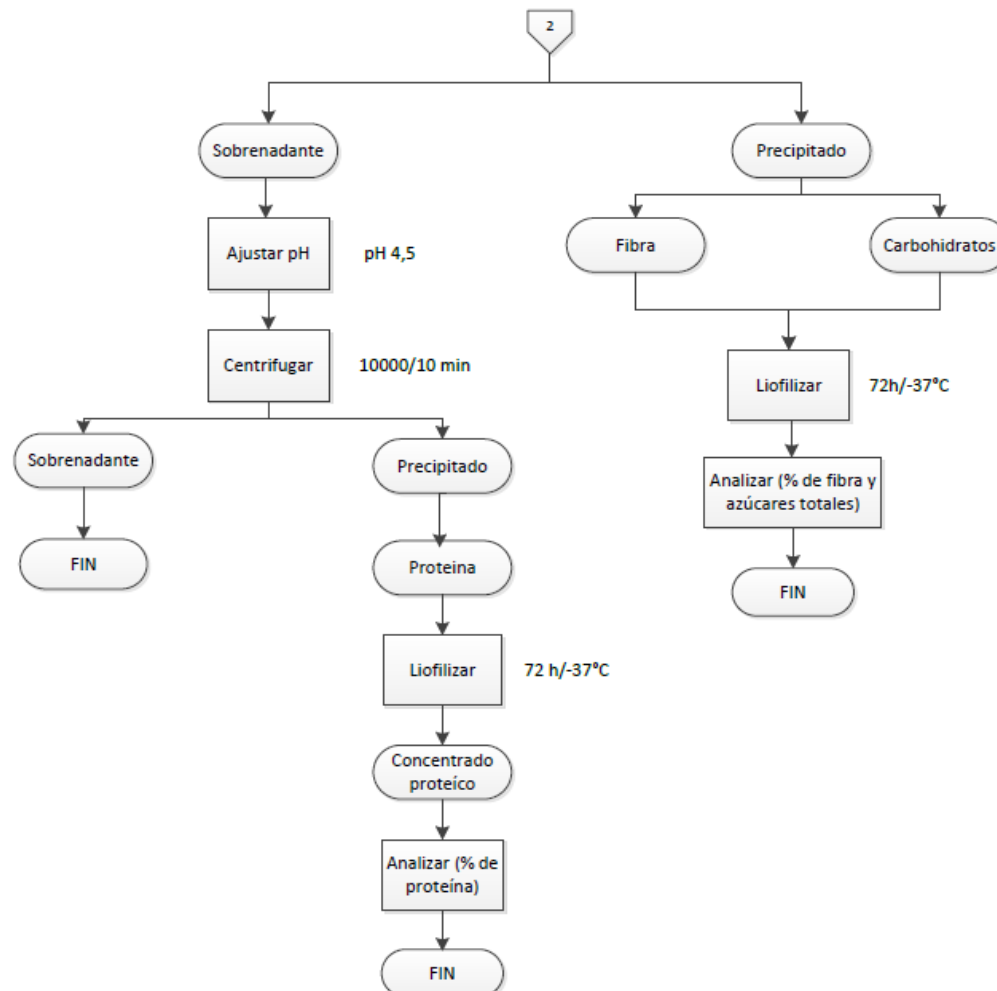


Figura 17. Diagrama de flujo del proceso de métodos de extracción

#### 4.4.1. Descripción del diagrama de proceso de los métodos de extracción.

##### 4.4.1.1. Recepción

Se recibió la semilla chía del sector Comunidad Elirio cantón Colta proveniente de la provincia de Chimborazo para comprobar los métodos más eficientes de extracción de aceite y de proteína.

- **Métodos utilizados**

**A) Método de secado:** Para iniciar este método se dejó en remojo 100g de semilla por 24h, en el transcurso de ese tiempo la semilla absorbió agua liberando mucílago el cual formó un gel viscoso, se dejó secar la semilla en la estufa de aire forzado durante 8h a 75°C. Posteriormente, la semilla se tamizó en una malla de 300µm para tener como resultado dos fracciones; el mucílago *Figura 18* la semilla seca *Figura 19*.



La fracción que se utilizó para continuar con el procedimiento fue la semilla seca, *Figura 20*, la cual se trituroó en un molino de martillo y nuevamente se

tamizó para obtener la fibra y la torta; de la torta se obtuvo la harina desengrasada.



**B) Método de liofilizado:** Para iniciar este método se dejó remojar 100g de semilla por 24h, *Figura 21*, en el transcurso de ese tiempo la semilla absorbió agua liberando mucílago el cual formó un gel viscoso. Al día siguiente se dejó congelar la semilla a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 24h, *Figura 22*.



Pasado este tiempo (24h), la muestra se liofilizó por dos semanas para la extracción de mucílago y de sus diferentes componentes; una vez obtenida la muestra totalmente liofilizada se tamizó en una malla de  $300\mu\text{m}$ , *Figura 23* y así se separó el mucilago de la semilla.



La semilla libre de mucílago, *Figura 24*, se molió y se tamizó nuevamente para obtener la fibra y la torta; la que posteriormente fue desengrasada.



**C) Método en fresco:** Para este método se trituró la semilla en un molino de martillo y se tamizó usando una malla de 300 $\mu$ m, las fracciones obtenidas fueron fibra y torta, esta última se utilizó para proceder con los siguientes pasos de extracción.

Al conocer los tres métodos de extracciones (secado, liofilizado y fresco) se tiene como resultado mucílago, fibra y harina. La principal característica de

estos métodos es separar el mucílago de la semilla para una mejor extracción de sus fracciones. La harina que se obtuvo de los diferentes métodos sigue un proceso similar durante las extracciones posteriores, las cuales se detallan a continuación:

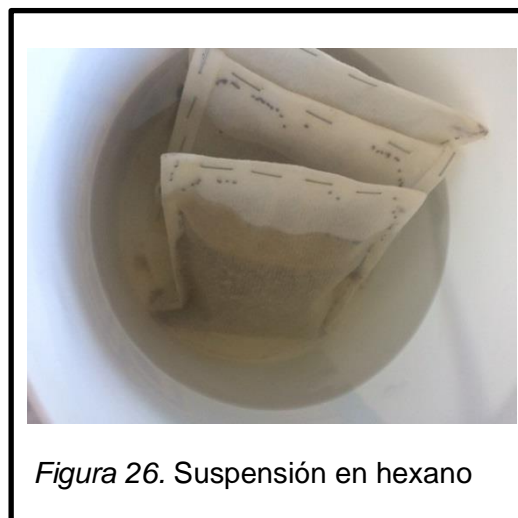
#### 4.4.1.2. Desengrasado

Una vez obtenida la torta a partir de los tres métodos mencionados se consiguió harina desengrasada; para la obtención de esta se comprobó dos diferentes métodos (suspensión en hexano y éter en Soxhlet).

**A) Suspensión en hexano:** Se colocó la torta obtenida en un papel filtro cualitativo, *Figura 25*, y se dejó en suspensión en solvente hexano por 24h, *Figura 26*, la relación hexano/torta fue de 2:1.

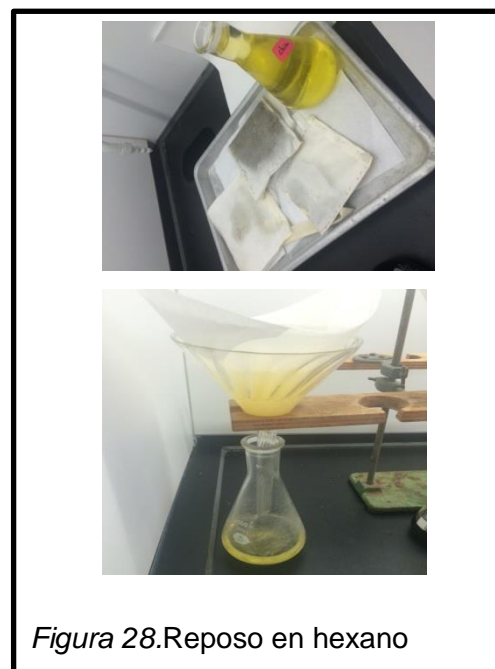


*Figura 25.* Muestra para suspensión en hexano



*Figura 26.* Suspensión en hexano

Concluido este tiempo (24h), *Figura 27*, se filtró la fracción líquida y se obtuvo como resultado grasa con hexano, *Figura 28*.



Para separar estas dos fracciones (grasa y hexano) se utilizó el equipo rotavapor durante 30min a 65°C; de esta manera, se extrajo el 90% (Villacrés, 2001) del solvente utilizado y el 30% de grasa respecto al peso total de la semilla. El color de la grasa depende del método de extracción utilizado (hexano o éter) *Figura 29.*



**B) Equipo Soxhlet:** Se secó el balón en la estufa a 80°C por 2h, se enfrió en el desecador y se pesó, se colocó 5g de muestra en papel filtro mismo que se incorporó al capuchón de celulosa, *Figura 30.* Se

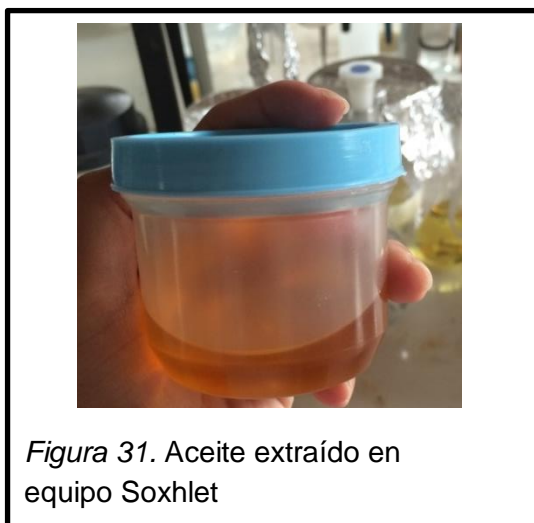
cubrió los capuchones con algodón y se prendió el equipo Soxhlet. Se agregó 50ml de solvente sobre el tubo unido al balón, se completó el volumen de solvente, éter de petróleo, hasta cubrir el capuchón.



*Figura 30.* Muestra en capuchones

Al tener el equipo en completo funcionamiento, se procedió a extraer la fracción grasa durante 8 horas con 8-10 sifonadas por hora. Una vez terminadas las sifonadas, se retiró el capuchón con la muestra y se procedió a recuperar el solvente sobrante. La fracción grasa se filtró para evitar impurezas de la extracción.

Para tener el peso específico de la grasa se dejó la muestra en la estufa por 2h a 65°C; finalmente, se pesó el aceite y se almacenó, la *Figura 31*, muestra el aceite obtenido mediante el uso de éter en el equipo Soxhlet. La fracción sólida, se utilizó para realizar posteriores extracciones de sus componentes



*Figura 31.* Aceite extraído en equipo Soxhlet

#### 4.4.1.3. Harina desengrasada

Se denomina harina desengrasada a la fracción sólida extraída dependiendo del método de desengrasado que se haya utilizado (suspensión en hexano o éter en Soxhlet), esta harina se dejó en la estufa por 4h a 65°C *Figura 32*, una vez seca la muestra, se dividió el procedimiento en dos metodologías de acuerdo al tratamiento, ya sea con uso del solvente isopropanol o sin él, *Figura 33*; al realizar el proceso con uso del solvente se dejó la muestra en suspensión por 24h con agitación constante. Pasado este tiempo, se filtró la fracción líquida teniendo como resultado los carbohidratos totales y el solvente. La fracción sólida se sometió a calor en la estufa por 4h a 65°C para extracciones posteriores.



*Figura 32.* Harina desengrasada



*Figura 33.* Fases extraídas con isopropanol

#### 4.4.1.4. Suspensión en Agua

La harina desengrasada entera y la harina desengrasada, sin fibra y sin carbohidratos, es decir libre de azúcares totales obtenida al aplicar el solvente isopropanol, se dejó en suspensión en agua en una relación 1:15 de harina/agua y se agitó por 15min, *Figura 34*.

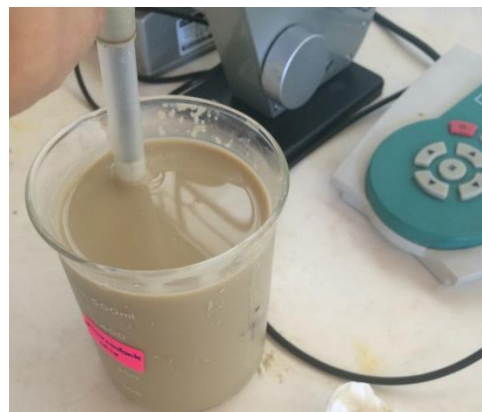




*Figura 34.* Agitación relación harina-agua 1:15

#### 4.4.1.5. Primer ajuste de pH

Al concluir la agitación se subió el pH a 9 con el uso del solvente NaOH 5M, *Figura 35*, con el fin de obtener mayor rendimiento de proteína, al llegar al pH establecido se aplicó una agitación de 2h para que el solvente actúe en el medio básico y que exista mayor solubilización de la proteína produciendo una ruptura de las mismas para facilitar su extracción.



*Figura 35.* Ajuste de pH 9

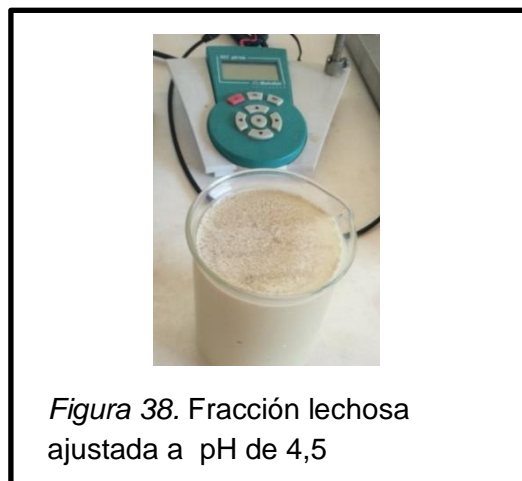
#### 4.4.1.6. Primera Centrifugación

Se realizó la primera centrifugación a 10.000rpm durante 10min en la cual se obtuvo el primer precipitado y el sobrenadante. En el precipitado, se obtuvo las fracciones de carbohidratos y fibra, mientras que en el sobrenadante se encuentran las proteínas, *Figura 36 y Figura 37.*



#### 4.4.1.7. Segundo ajuste de pH

El sobrenadante fue reducido a un pH de 4,5 valor equivalente al punto isoeléctrico de las proteínas vegetales con el uso del solvente HCl 6N, *Figura 38,* con el fin de que las cargas tanto positivas como negativas estén equilibradas y exista una mejor extracción de proteína.



#### 4.4.1.8. Segunda Centrifugación

Se realizó la segunda centrifugación a 10.000rpm durante 10min en la cual se obtuvo nuevamente un precipitado y un sobrenadante. En este caso, en el precipitado se encontró la proteína que posteriormente fue pesada, congelada y liofilizada, *Figura 39 y Figura 40*.



*Figura 39. Proteína aislada*



*Figura 40. Proteína aislada*

Los tres métodos de extracción se diferencian en el proceso inicial (semilla seca, semilla liofilizada y semilla fresca), desengrasado (suspensión en hexano y éter en Soxhlet) y extracción de azúcares totales (uso del solvente isopropanol).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.2. Análisis ANDEVA

#### 5.2.1. Contenido de grasa

Al realizar el análisis de varianza a través de un diseño de bloques completamente al azar en arreglo factorial, se determinó que existen diferencias en el uso de los solventes hexano y éter. El uso del solvente éter en el equipo Soxhlet fue más preciso para la extracción total de grasa ya que al utilizar este equipo la extracción fue más eficiente con el disolvente en su punto de ebullición 35°C y más volátil, lo que permitió un rendimiento óptimo de grasa con un 99%. Estos resultados obtenidos concuerdan con estudios realizados previamente por Yxtaina 2010, cuyo estudio reporta un 33,6% de grasa, dato corroborado con los resultados obtenidos en la investigación en cuestión, 33,7% de grasa. El tiempo de extracción no debe superar las 8h debido a que pasado este tiempo se extraen componentes no lipídicos, por otro lado, si el tiempo empleado es menor de 8h no existe una completa extracción, como indica la investigación de Quintana y Valencia 2014 en la que se obtuvo un rendimiento menor al esperado (14%/ 4h). El uso del solvente hexano no fue el óptimo puesto que únicamente se realizó una inmersión sin ayuda mecánica ni calor, lo que no permitió su adecuada extracción como lo menciona en su investigación Yxtaina 2010. El solvente éter ofrece el mejor balance de características específicas como mayor límite de saturación y mayor selectividad con respecto al soluto por extraer, estabilidad en las condiciones del proceso, baja presión de vapor, baja viscosidad, baja toxicidad, baja densidad, baja tensión superficial, baja inflamabilidad y bajo costo, siendo más selectivo para lípidos hidrofóbicos (Núñez, 2008).

El uso del equipo Soxhlet permite gran capacidad de recuperación del solvente, utiliza una instrumentación simple, no requiere una segunda filtración, el éter y la muestra están en contacto directo y repetitivo, el disolvente se origina de una

condensación volviéndose líquido y caliente, favoreciendo la solubilidad de la muestra (Yxtaina, 2010)

En la Tabla 8, se presenta el análisis de varianza del porcentaje de grasa en la semilla chía proveniente de la localidad de Colta, donde se pudo apreciar que existen diferencias altamente significativas para el uso de hexano-éter. Para el uso del solvente isopropanol y la interacción de segundo orden ext. proteína\*hexano-éter\*isopropanol, se encontraron diferencias significativas. Esto sugiere no rechazar la hipótesis alternativa, la cual indica que existen diferencias en los métodos de extracción de grasa estudiados. Para las interacciones de primer orden ext. proteína\*hexano-éter, ext. proteína\*isopropanol y hexano-éter\*isopropanol no se encontraron diferencias significativas, lo que sugiere que los métodos estudiados fueron estadísticamente iguales. En este análisis, se obtuvo un coeficiente de variación de 9,07, que está dentro de los rangos para una investigación en laboratorio, ya que este no debe sobrepasar el 10% (Dgestyc, 2005). Finalmente, el porcentaje de grasa obtenido, considerando los diferentes métodos fue de 33,7%.

Tabla 8. Varianza de la variable porcentaje de grasa, 2015

<b>%Grasa</b>					
<b>F.V.</b>	<b>GI</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>p-valor</b>
Total	35	2325,19			
Repetición	2	0,53	0,27	0,05	0,9538
Ext. proteína	2	12,95	6,47	1,15ns	0,3335
Hexano-éter	1	2078,14	2078,14	370,69**	<0,0001
Isopropanol	1	35,44	35,44	6,32 *	0,0197
Ext. proteína*hexano-éter	2	8,32	4,16	0,74ns	0,4877
Ext. proteína*isopropanol	2	19,65	9,83	1,75ns	0,1966
Hexano-éter*isopropanol	1	1,94	1,94	0,35ns	0,5622
Ext. proteína*hexano-éter*isopropanol	2	44,87	22,44	4,00 *	0,0329
Error	22	123,14	5,61		

CV=9,07%

Media porcentaje de grasa= 26,1%

El análisis de varianza dio como resultado que el uso de éter en el equipo Soxhlet fue altamente significativo para la extracción de grasa, por lo tanto se realizó la prueba de separación de medias (Tukey) al 5% de error para determinar el mejor solvente Tabla 9.

Tabla 9. Promedios y prueba de Tukey (5%) de dos métodos de extracción de grasa de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

<b>Solvente</b>	<b>Medias %</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Calificación</b>
Éter	33,7	0,56	A
Hexano	18,5	0,56	B

Nota: Medias con letras diferentes son de diferentes rangos

### 5.2.2. Contenido de proteína

Al realizar el análisis de varianza se determinó que existen diferencias en el método de extracción de grasa, uso de solvente hexano-éter y el uso del solvente isopropanol para la extracción de proteína.

En la Tabla 10, se presenta el análisis de varianza del porcentaje de proteína en la semilla chía, donde se observó diferencias altamente significativas en la ext. de proteína, uso del solvente hexano-éter, uso del solvente isopropanol, en la interacción ext. proteína\*hexano-éter, ext. proteína\*isopropanol y ext. proteína\*hexano-éter\*isopropanol. Esto sugiere no rechazar la hipótesis alternativa, la cual indica que existieron diferencias en la aplicación de los 3 métodos de extracción de proteína estudiados, mientras que la interacción hexano-éter\*isopropanol no mostró diferencias significativas, lo que sugiere que los métodos estudiados son estadísticamente iguales. En este análisis, se obtuvo un coeficiente de variación de 3,4 valor que está dentro de los rangos para una investigación en laboratorio, al no sobrepasar el 10% (Digestyc, 2005). Finalmente, el porcentaje de proteína obtenido, considerando los diferentes métodos fue de 93,97%.

Tabla 10. Análisis de Varianza de porcentaje de proteína, 2015

%Proteína					
F.V.	GI	SC	CM	Fc	p-valor
Total	35	3270,76			
Repetición	2	21,84	10,92	1,58	0,2294
Ext. proteína	2	942,71	471,35	68,01**	<0,0001
Hexano-éter	1	1153,39	1153,39	166,42**	<0,0001
Isopropanol	1	532,76	532,76	76,87**	<0,0001
Ext. proteína*hexano-éter	2	177,04	88,52	12,77**	0,0002
Ext. proteína*isopropanol	2	172,68	86,34	12,46**	0,0002
Hexano-éter*isopropanol	1	23,90	23,90	3,45ns	0,0768
Ext. proteína*hexano-éter*isopropanol	2	93,97	46,98	6,78**	0,0051
Error	22	152,47	6,93		

CV=3,4%

Media de porcentaje de proteína= 77,41%

La Tabla 11, indica que el mejor método para la obtención de un aislado proteico fue mediante la extracción de todos los componentes de la semilla, por esta razón, los mejores procesos fueron los siguientes: proceso de liofilizado, uso del solvente éter en el equipo Soxhlet para la extracción total de grasa y uso del solvente isopropanol para la completa extracción de carbohidratos; el proceso de liofilizado mantiene los valores nutritivos iniciales y permitió una mayor extracción de proteína debido a que eliminó el 90% del mucílago presente en la semilla. Estos datos no fueron encontrados en el estudio de extracción expuesto por Capitani 2013, donde obtuvo un rendimiento de 4g de mucílago y 82,3g de harina sin mucílago, dando como resultado un rendimiento de aproximadamente 45%, esto puede deberse a las horas de remojo de la semilla 4h, mientras que en la investigación se realizó durante 24h; este tiempo prolongado permitió la obtención de todo el mucílago el cual fue extraído posteriormente, proceso que facilitó las extracciones posteriores. Tomando en cuenta que el mucílago es un polisacárido que forma un gel viscoso, es necesaria su eliminación al inicio del proceso para romper enlaces permitiendo tener un aislado proteico con 93% de proteína.

Según Yxtaina 2010, el uso del equipo Soxhlet con solvente éter es el mejor método para la extracción de proteína, ya que se obtiene harina completamente desengrasada, la cual fue utilizada para conseguir un aislado proteico más puro; este método permitió obtener el 99% de grasa contenida en la semilla. El uso del solvente isopropanol fue fundamental en el proceso de extracción de proteína, puesto que eliminó los carbohidratos presentes en la semilla dejando únicamente la proteína; estos carbohidratos están compuestos de azúcares totales, azúcares reductores y almidón; los azúcares son solubles en alcohol y la polaridad que tienen permite su total extracción, lo que corrobora la investigación realizada por Villacrés, 2001. Finalmente, la extracción de proteína se fundamenta en eliminar previamente todas las fracciones que contenga la semilla, por esta razón, los métodos específicos para obtener un aislado proteico deben extraer la mayor cantidad de sus componentes.

Los resultados obtenidos en la extracción de proteína se asemejan a los expuestos en la investigación de Vásquez, Rosado, Chel y Betancour 2010, debido a que la metodología utilizada fue similar a la propuesta, excepto del proceso previo que se dio a la semilla para la eliminación de mucilago (liofilizado) el porcentaje de extracción de chíá, según los autores fue de 74%, mientras que el porcentaje extraído en la presente investigación fue de 93,97%, esto puede deberse al proceso extra mencionado y a que el tipo de semilla utilizada en ambos estudios fue de diferentes localidades (México, con valor inicial de 21,1% de proteína y Ecuador con valor inicial de 24,6% de proteína). Cabe recalcar, que uno de los procesos más importantes para la extracción de proteína es el tipo de tamizado que se realice, como menciona Capitani 2011, demostrando que las fracciones que atravesaron la malla del tamiz exhibieron un contenido de proteína mayor al de la harina.

El análisis de varianza dio como resultado al método de extracción de grasa, uso de solvente éter-hexano y al uso de solvente isopropanol como altamente significativos para la extracción de proteína, por lo tanto, se realizó la prueba de



separación de medias (Tukey) al 5% de error para determinar el mejor método  
Tabla 11.

Tabla 11. Análisis de Varianza de porcentaje de proteína, 2015

Métodos de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Uso de solvente isopropanol	Medias %	Desviación estándar	Calificación						
					A	B	C	D	E	F	
Liofilizado	Éter	Con isopropanol	93,97	1,52	A						
Liofilizado	Éter	Sin isopropanol	88,73	1,52	A						
Liofilizado	Hexano	Con isopropanol	85,78	1,52	A	B					
Fresco	Éter	Con isopropanol	85,56	1,52	A	B	C				
Secado	Éter	Con isopropanol	79,78	1,52		B	C	D			
Secado	Éter	Sin isopropanol	77,93	1,52			C	D			
Secado	Hexano	Con isopropanol	74,28	1,52				D	E		
Fresco	Éter	Sin isopropanol	73,44	1,52				D	E		
Secado	Hexano	Sin isopropanol	73,1	1,52				D	E		
Liofilizado	Hexano	Sin isopropanol	69,19	1,52					E		
Fresco	Hexano	Con isopropanol	69,16	1,52					E		
Fresco	Hexano	Sin isopropanol	58,96	1,52							F

Nota: Medias con letras diferentes son de diferentes rangos

### 5.2.3. Rendimiento de proteína

Para la extracción de grasa, el mejor método fue el uso del solvente hexano en suspensión, este proceso extrajo únicamente el 55% de la grasa de la semilla, al contrario de lo que sucedió en el equipo Soxhlet con uso del solvente éter que extrajo el 99% de la grasa, resultado comprobado por Yxtaina 2010. Por esta razón, el rendimiento de la proteína es mayor, puesto que no existió una separación específica de los componentes. El uso del solvente isopropanol permitió la extracción total de los carbohidratos presentes en la semilla; como en esta variable se evalúa el rendimiento final de proteína, no fue necesario una extracción completa de los componentes, es por ello que el mejor método para extraer la proteína fue en ausencia del solvente isopropanol, datos comprobados por Villacrés 2011 y Vásquez, Rosado, Chel y Betancour 2010.

Esta variable dio como resultado que el mayor rendimiento de proteína se obtiene sin separar los componentes presentes en la semilla, sin embargo, este

resultado no asegura un aislado proteico puro, teniendo baja calidad de proteína, lo que calificó al tratamiento como el menos adecuado en porcentaje de proteína. Es decir, el rendimiento de proteína, no necesariamente se relaciona con el porcentaje extraído como se menciona en el apartado 5.2.

Según Mosca 2011, el rendimiento de la proteína depende del pH básico utilizado en los procesos de extracción de la misma, a pH 10-12 se tiene mayor rendimiento, sin embargo, existe desnaturalización de la proteína; por esta razón, lo ideal es trabajar a pH 8-9 donde el grupo amino se rompe al estar en contacto con un componente alcalino lo que provoca la separación de los almidones.

En la Tabla 12, se presenta el análisis de varianza del rendimiento de proteína en la semilla chía, donde se indica que existió diferencias altamente significativas que determina el mejor método para obtener alto rendimiento de proteína. En los métodos de ext. proteína, uso del solvente hexano-éter, uso del solvente isopropanol, en las interacciones ext. proteína\*hexano-éter, ext. proteína\*isopropanol y ext. proteína\*hexano-éter\*isopropanol se encontraron diferencias altamente significativas, mientras que la interacción hexano-éter no muestra diferencias significativas, lo que sugiere que los métodos estudiados fueron estadísticamente iguales. En este análisis, se obtuvo un coeficiente de variación de 16,31 valor fuera de los rangos para una investigación en laboratorio ya que sobrepasa el 10% (Digestyc, 2005). Finalmente, el rendimiento de proteína obtenido, considerando los diferentes métodos fue de 28,2%.

Tabla 12. Análisis de Varianza rendimiento de proteína, 2015

% Rendimiento de proteína					
F.V.	GI	SC	CM	Fc	p-valor
Total	35	1929,79			
Repetición	2	2,42	1,21	0,17	0,8457
Ext. proteína	2	894,58	447,29	62,33**	<0,0001
Hexano-éter	1	12,30	12,30	1,71ns	0,2040
Isopropanol	1	156,17	156,17	21,76**	0,0001
Ext. proteína*hexano-éter	2	219,83	1009,91	15,32**	0,0001
Ext. proteína*isopropanol	2	253,26	126,63	17,65**	<0,0001
Hexano-éter*isopropanol	1	94,87	94,87	13,22**	0,0015
Ext. proteína*hexano*éter*isopropanol	2	138,51	69,25	9,65**	0,0010
Error	22	157,86	7,18		

CV= 16,31%

Media de porcentaje de rendimiento de proteína= 16,42%

El análisis de varianza dio como resultado al método de extracción de proteína, uso de solvente éter-hexano, uso de solvente isopropanol, ext. proteína\*hexano-éter, ext. proteína\*isopropanol y ext. proteína\*hexano-éter\*isopropanol como altamente significativos para el mayor rendimiento de proteína, por lo tanto, se realizó la prueba de Tukey al 5% para determinar el mejor método, Tabla 13.

Tabla 13. Promedios y prueba de Tukey (5%) de dos métodos de extracción de proteína de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

Métodos de extracción de proteína	Medias %	Desviación estándar	Calificación
Fresco	23,29	0,77	A
Liofilizado	14,38	0,77	B
Secado	11,61	0,77	C

Nota: Medias con una letra común no son significativamente

La prueba de Tukey al 5% para el método de extracción de proteína Tabla 13 dio como resultado al proceso número 1 (fresco) como el mejor método para obtener mayor rendimiento de proteína.

CV= 16,31%

Medias del porcentaje de rendimiento de proteína= 16,42%

Tabla 14. Promedios y prueba de Tukey (5%) de dos métodos de extracción de grasa de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

<b>Solvente</b>	<b>Medias</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Calificación</b>
Hexano	17,01	0,63	A
Éter	15,84	0,63	A

Nota: Medias con una letra común no son significativamente

La prueba de Tukey al 5% para los 2 métodos de extracción de grasa (hexano-éter) Tabla 14 dio como resultado que el uso del solvente hexano en suspensión es el mejor método para obtener mayor rendimiento de proteína.

CV= 16,31

Promedio= 16,42

Tabla 15. Promedios y prueba de Tukey (5%) del uso de solvente isopropanol en la semilla chía provenientes de Colta, 2015

<b>Uso de solvente isopropanol</b>	<b>Medias %</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Calificación</b>
Sin isopropanol	18,51	0,63	A
Con isopropanol	14,34	0,63	B

Nota: Medias con una letra común no son significativamente

La prueba de Tukey al 5% para el uso del solvente isopropanol Tabla 15, dio como resultado que al no hacer uso del solvente isopropanol se obtuvo mayor rendimiento de proteína.

CV= 16,31%

Medias de porcentaje de uso de solvente isopropanol= 16,42%

Tabla 16. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los tres métodos de extracción de proteína y los dos métodos de extracción de grasa la semilla chía provenientes de Colta, 2015

<b>Método de extracción de proteína</b>	<b>Solvente</b>	<b>Medias %</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Calificación</b>	
Fresco	Hexano	24,10	1,09	A	
Liofilizado	Hexano	22,49	1,09	A	B
Liofilizado	Éter	18,43	1,09		B
Secado	Éter	13,11	1,09		C
Fresco	Éter	10,32	1,09		C
Secado	Hexano	10,12	1,09		C

Nota: Medias con una letra común no son significativamente

La prueba de Tukey al 5% para la interacción de los 3 métodos de extracción de proteína y los 2 métodos de extracción de grasa Tabla 16, dio como resultado que el proceso en fresco para la extracción de proteína y el uso del solvente hexano en suspensión para la extracción de grasa como la mejor interacción para obtener el mayor rendimiento de proteína.

CV= 16,31%

Medias de porcentaje de métodos de extracción de proteína y uso de solventes= 15,26%

Tabla 17. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los tres métodos de extracción de proteína y el uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

<b>Método de extracción de proteína</b>	<b>Uso del solvente isopropanol</b>	<b>Medias %</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Calificación</b>	
Fresco	Sin isopropanol	25,06	1,09	A	
Fresco	Con isopropanol	21,53	1,09	A	B
Liofilizado	Sin isopropanol	12,85	1,09		B
Secado	Con isopropanol	12,61	1,09		C
Secado	Sin isopropanol	10,62	1,09		C
Liofilizado	Con isopropanol	8,90	1,09		C

Nota: Medias con una letra común no son significativamente

La prueba de Tukey al 5% para la interacción de los 3 métodos de extracción de proteína junto con el uso del solvente isopropanol Tabla 17, dio como mejor

resultado que el proceso en fresco sin el uso del solvente isopropanol fue la mejor combinación para obtener el mayor rendimiento de proteína.

CV= 16,31%

Media de porcentaje de métodos de extracción de proteína y uso de solvente isopropanol= 16,43%

Tabla 18. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los 2 métodos de extracción de grasa y el uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

<b>Solvente</b>	<b>Uso de solvente</b>	<b>Medias %</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Calificación</b>
Hexano	Sin isopropanol	20,72	0,89	A
Éter	Sin isopropanol	16,30	0,89	B
Éter	Con isopropanol	15,38	0,89	B
Hexano	Con isopropanol	13,31	0,89	B

Nota: Medias con letras diferentes son de diferentes rangos

La prueba de Tukey al 5% para la interacción de los 2 métodos de extracción de grasa y el uso de solvente isopropanol Tabla 18, dio como resultado que el uso del solvente hexano en suspensión y el no hacer uso del solvente isopropanol como la mejor combinación para obtener el mayor rendimiento de proteína.

CV= 16,31%

Media de porcentaje de solvente y uso de solvente isopropanol= 16,43%

Tabla 19. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los 3 métodos de extracción de proteína junto con los 2 métodos de extracción de grasa y el uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

Métodos de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Uso de solvente isopropanol	Medias %	Desviación Estándar	Calificación			
					A	B	C	D
Fresco	Hexano	Sin isopropanol	28,20	1,55	A			
Liofilizado	Hexano	Sin isopropanol	25,20	1,55	A	B		
Liofilizado	Éter	Sin isopropanol	24,93	1,55	A	B		
Liofilizado	Éter	Con isopropanol	23,28	1,55	A	B		
Liofilizado	Hexano	Con isopropanol	19,77	1,55		B	C	
Secado	Éter	Con isopropanol	13,74	1,55			C	D
Secado	Éter	Sin isopropanol	12,48	1,55			C	D
Fresco	Éter	Sin isopropanol	11,50	1,55				D
Secado	Hexano	Con isopropanol	11,48	1,55				D
Fresco	Éter	Con isopropanol	9,13	1,55				D
Secado	Hexano	Sin isopropanol	8,75	1,55				D
Fresco	Hexano	Con isopropanol	8,76	1,55				D

Nota: Medias con letras diferentes son de diferentes rangos

La prueba de separación de medias (Tukey) al 5% de error para la interacción de los 3 métodos de extracción de proteína junto con los 2 métodos de extracción de grasa y el uso de solvente isopropanol, Tabla 19, dio como resultado que el mayor rendimiento de proteína se obtuvo a partir del proceso en fresco para la extracción de proteína, haciendo uso de hexano en suspensión para la extracción de grasa y sin la aplicación del solvente isopropanol para la extracción de azúcares totales. El proceso en fresco, se realizó con la semilla completa, es decir, sin acondicionamiento, lo que no generó pérdidas de ningún componente; en este caso el mucílago de la semilla formó un gel viscoso que retuvo todas las fracciones sin permitir su extracción pura, generando mayor rendimiento en la proteína.

#### 5.2.4. Contenido de fibra

Al realizar la prueba de separación de medias (Tukey) al 5% de error se determinó que existen diferencias en el método de extracción de proteína, uso de solvente hexano-éter y uso del solvente isopropanol para la extracción de fibra. Los mejores procesos para la extracción de fibra fueron: fresco, uso del solvente éter en equipo Soxhlet y sin la aplicación del solvente isopropanol. El proceso en fresco determinó una mayor extracción de fibra debido a que no existió ningún proceso previo para la semilla, realizando directamente la molienda, lo que no generó ninguna pérdida de esta variable; comparando con los 2 métodos restantes (secado y liofilizado) la semilla recibió procesos previos (tamizado) antes de la molienda, generando una pérdida de alrededor del 10% de fibra.

En cuanto al uso del solvente hexano-éter e isopropanol, los mejores métodos fueron: éter en el equipo Soxhlet como sostiene en su investigación Yxtaina 2010 e isopropanol según Villacrés 2001, puesto que fueron los más eficientes al extraer totalmente las fracciones de grasa y carbohidratos de la semilla respectivamente.

El contenido de fibra en la harina residual de chía, luego de la extracción de aceite, representa alrededor de 40% como menciona Capitani 2011. En la investigación realizada el contenido de fibra se determinó con el método expuesto por la A.O.A.C, teniendo un porcentaje de 46,13%. Por otro lado, en la investigación de Capitani 2011, obtuvo un total de 46,1% de fibra al utilizar un método similar al propuesto (solvente-tamiz), al comparar con el porcentaje obtenido en este trabajo, se puede concluir que el método aplicado es el correcto para la completa extracción de fibra. El proceso de tamizado de la harinas permitió tener fracciones fibrosas con un aumento del 14% de fibra total con respecto de las harinas (Capitani, 2011).

Al disminuir el tamaño de partícula de la malla del tamiz, disminuye el contenido de fibra cruda, esto muestra una relación directa en el tamaño de partículas y contenido de fibra; el mayor porcentaje de fibra se encuentra en la



fracción con tamaño  $>280\mu\text{m}$ , 4 veces superior al encontrado en la fracción fina de tamaño  $<73\mu\text{m}$ ; esto confirma que la cáscara de las semilla retenidas en la fracción gruesa es rica en fibra, sin embargo, este contenido fue muy similar al encontrado en la harina desengrasada (Vásquez, Rosado, Chel y Betancour, 2010).

Una diferencia que marcó el resultado final del contenido de fibra con respecto a otros autores fue el porcentaje presente en la semilla completa al realizar un análisis proximal; Capitani 2011 e Yxtaina 2010 reportaron en la semilla proveniente de Argentina un porcentaje inicial de 27% de fibra, mientras que la semilla de Ecuador utilizada en la investigación tuvo un porcentaje inicial de 19,48%. La semilla proveniente de México mostró un porcentaje mayor a los mencionados 33.6% en el análisis proximal (Sandoval, 2012).

En la Tabla 20, se presenta el análisis de varianza del contenido de fibra presente en la semilla chía, donde se pudo observar que existen diferencias altamente significativas que determinaron el mejor método para obtener una adecuada extracción de fibra.

La ext. de proteína y las interacciones ext. proteína\*hexano-éter, ext. proteína\*isopropanol, hexano-éter\*isopropanol y ext. proteína\*hexano-éter\*isopropanol mostraron diferencias altamente significativas, el factor hexano-éter fue significativo, mientras que el uso de solvente isopropanol no muestra diferencias significativas, lo que sugiere que los métodos estudiados fueron estadísticamente iguales. En este análisis, se obtuvo un coeficiente de variación de 5,14 lo que indica que está dentro de los rangos para una investigación en laboratorio (Digestyc, 2005). Finalmente, el porcentaje de fibra, obtenido considerando los diferentes métodos, fue de 46,13%.

Tabla 20. Análisis de Varianza de porcentaje de fibra, 2015

%Fibra					
F.V.	GI	SC	CM	Fc	p-valor
Total	35	466,05			
Repetición	2	1,28	0,64	0,14	0,8744
Ext. proteína	2	54,85	27,43	5,78**	0,0096
Hexano*éter	1	34,63	34,63	7,29*	0,0131
Isopropanol	1	7,65	7,65	1,61ns	0,2177
Ext. proteína*hexano*éter	2	67,74	33,87	7,13**	0,0041
Ext. proteína*isopropanol	2	76,02	38,01	8,00**	0,0024
Hexano*éter*isopropanol	1	56,58	56,58	11,91**	0,0023
Ext. proteína*hexano*éter*isopropanol	2	62,83	31,42	6,62**	0,0056
Error	22	104,47	4,75		

CV= 5,14%

Media de porcentaje de fibra= 42,37%

El análisis de varianza dio como resultado a la ext. de proteína y las interacciones ext. proteína\*hexano-éter, ext. proteína\*isopropanol, hexano-éter\*isopropanol y ext. proteína\*hexano-éter\*isopropanol como altamente significativos para la extracción de fibra, por lo tanto se realizó la prueba de Tukey al 5% para determinar el mejor método Tabla 21.

Tabla 21. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de los 3 métodos de extracción de proteína junto con los 2 métodos de extracción de grasa y el uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

Métodos de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Uso de solvente isopropanol	Media %	Desviación Estándar	Calificación			
Fresco	Éter	Con isopropanol	46,13	1,26	A			
Liofilizado	Hexano	Sin isopropanol	45,37	1,26	A	B		
Secado	Éter	Sin isopropanol	45,35	1,26	A	B		
Liofilizado	Éter	Sin isopropanol	44,99	1,26	A	B		
Secado	Hexano	Con isopropanol	44,40	1,26	A	B	C	
Liofilizado	Hexano	Con isopropanol	43,68	1,26	A	B	C	
Liofilizado	Éter	Con isopropanol	42,37	1,26	A	B	C	
Fresco	Éter	Sin isopropanol	42,12	1,26	A	B	C	
Fresco	Hexano	Con isopropanol	41,26	1,26	A	B	C	D
Secado	Éter	Con isopropanol	39,20	1,26		B	C	D
Secado	Hexano	Sin isopropanol	38,06	1,26			C	D
Fresco	Hexano	Sin isopropanol	35,62	1,26				D

Nota: Medias con una letra común no son significativamente

### 5.2.5. Contenido de azúcares totales

Los resultados indicaron que el mejor método para la extracción de azúcares totales es la aplicación del método de liofilizado junto con el uso del solvente éter en el equipo Soxhlet y con la utilización de isopropanol. En esta variable, los resultados de los 3 factores (ext. proteína, uso de hexano-éter y uso de isopropanol) fueron fundamentales porque permitió la extracción completa de sus fracciones (mucílago, grasa y carbohidratos) respectivamente, dejando que el solvente isopropanol actúe únicamente con los azúcares presentes.

El uso del solvente isopropanol fue fundamental en el proceso para la total extracción de carbohidratos (azúcares totales, azúcares reductores y almidón), ya que su principal función fue separar los mismos de las demás fracciones presentes en la semilla chía; estos azúcares son solubles en alcohol y la polaridad que tienen con el solvente permite su completa extracción como lo indica en su investigación Villacrés, 2001.

En la Tabla 22, se presenta el análisis de varianza del contenido de azúcares totales presente en la semilla chía, donde se pudo observar que existieron diferencias altamente significativas que determinaron el mejor método para la extracción de azúcares totales. En el factor, uso del solvente isopropanol, las interacciones de primer grado de ext. proteína\*hexano-éter, ext. proteína\*isopropanol y la interacción de segundo grado ext. proteína\*hexano-éter\*isopropanol se obtuvo diferencias altamente significativas. Esto sugiere no rechazar la hipótesis alternativa que indica que existen diferencias en la aplicación del uso del solvente, mientras que el método de ext. proteína, uso de hexano-éter y la interacción hexano-éter\*isopropanol no mostraron diferencias significativas, lo que sugiere que los métodos estudiados fueron estadísticamente iguales. En este análisis, se obtuvo un coeficiente de variación de 5,14, lo que indica que está dentro de los rangos para una investigación en laboratorio al ser menor al 10%. Finalmente, el porcentaje de azúcares totales obtenido, considerando los diferentes métodos, fue de 8,44%.

Tabla 22. Análisis de varianza de porcentaje de azúcares totales, 2015

<b>% Azúcares totales</b>					
<b>F.V.</b>	<b>GI</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>p-valor</b>
Total	35	221,74			
Repetición	2	2,34	1,17	1,63	0,2191
Ext. proteína	2	1,89	0,95	1,32ns	0,2877
Hexano-éter	1	0,64	0,64	0,89ns	0,3554
Isopropanol	1	124,17	124,17	172,94**	<0,0001
Ext. proteína* hexano-éter	2	29,83	14,91	20,77**	<0,0001
Ext. proteína*isopropanol	2	23,99	12,00	16,71**	<0,0001
Hexano-éter*isopropanol	1	1,78	1,78	2,48ns	0,1299
Ext. proteína* hexano-éter*isopropanol	2	21,30	10,65	14,83**	0,0001
Error	22	15,80	0,72		

CV= 5,14%

Media de porcentaje de azúcares totales= 4,55%

El análisis de varianza dio como resultado que el uso del solvente isopropanol, las interacciones de primer grado de ext. proteína\*hexano-éter, ext. proteína\*isopropanol y la interacción de segundo grado ext. proteína\*hexano-éter \*isopropanol como altamente significativas para obtener mayor porcentaje de azúcares totales, por lo tanto se realizó la prueba de Tukey al 5% para determinar el mejor método Tabla 23.

Tabla 23. Promedios y prueba de Tukey (5%) del uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

Uso de solvente	Medias	Desviación estándar	Calificación
Con isopropanol	6,41	0,2	A
Sin isopropanol	2,70	0,2	B

Nota: Medias con letras diferentes son de diferentes rangos

La prueba de Tukey al 5% para el uso del solvente isopropanol Tabla 23 dio como mejor resultado su uso para asegurar una mayor extracción de azúcares totales.

CV= 5,14%

Media de porcentaje de uso de solvente isopropanol=4,55%

Tabla 24. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción extracción de proteína y uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

Método de extracción de proteína	Uso del solvente	Medias %	Desviación estándar	Calificación		
Liofilizado	Con isopropanol	7,76	0,35	A		
Secado	Con isopropanol	5,83	0,35		B	
Fresco	Con isopropanol	5,66	0,35		B	
Fresco	Sin isopropanol	3,60	0,35		C	
Liofilizado	Sin isopropanol	2,67	0,35		C	D
Secado	Sin isopropanol	1,83	0,35			D

Nota: Medias con letras diferentes son de diferentes rangos

La prueba de Tukey al 5% para la interacción de primer grado ext. proteína\*uso del solvente isopropanol Tabla 24 dio como mejor resultado que el proceso de

lío-filizado junto con el uso del solvente isopropanol asegura una mayor extracción de azúcares totales.

CV=5,14%

Media de porcentaje de métodos de extracción de proteína con uso de solvente isopropanol =4,55%

Tabla 25. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

<b>Solvente</b>	<b>Uso del solvente</b>	<b>Medias %</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Calificación</b>
Éter	Con isopropanol	6,77	0,28	A
Hexano	Con isopropanol	6,06	0,28	A
Hexano	Sin isopropanol	2,79	0,28	B
Éter	Sin isopropanol	2,61	0,28	B

Nota: Medias con letras diferentes son de diferentes rangos

La prueba de Tukey al 5% para la interacción de primer orden uso de hexano-éter y uso del solvente isopropanol Tabla 25 dio como mejor resultado que el proceso de secado junto con el uso del solvente isopropanol asegura una mayor extracción de azúcares totales.

CV=5,14%

Media de porcentaje de solvente con uso de solvente isopropanol= 4,82%

Tabla 26. Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción de segundo orden métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol de la semilla chía provenientes de Colta, 2015

Métodos de extracción de proteína	Solvente	Uso de solvente	Medias %	Desviación estándar	Calificación	
Liofilizado	Éter	Con isopropanol	8,44	0,49	A	
Secado	Hexano	Con isopropanol	7,90	0,49	A	
Secado	Éter	Con isopropanol	7,62	0,49	A	
Fresco	Hexano	Con isopropanol	7,06	0,49	A	
Fresco	Éter	Con isopropanol	7,45	0,49		B
Fresco	Hexano	Sin isopropanol	3,93	0,49		B
Liofilizado	Éter	Sin isopropanol	3,28	0,49		B
Liofilizado	Hexano	Con isopropanol	3,21	0,49		B
Liofilizado	Éter	Sin isopropanol	2,73	0,49		B
Liofilizado	Hexano	Sin isopropanol	2,61	0,49		B
Secado	Hexano	Sin isopropanol	1,83	0,49		B
Secado	Éter	Sin isopropanol	1,83	0,49		B

Nota: Medias con letras diferentes son de diferentes rangos

### 5.3. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos

La caracterización de ácidos grasos y aminoácidos se realizó del mejor tratamiento obtenido en el diseño experimental, en el caso de ácidos grasos se analizó el aceite del método obtenido a través del proceso de liofilizado y uso del equipo Soxhlet con el solvente éter. Para el análisis de aminoácidos se utilizó el aislado proteico obtenido del tratamiento 7 (proceso de liofilizado, uso equipo Soxhlet con éter y uso del solvente isopropanol); estos análisis se realizaron en laboratorios que brindan servicio externo. En la Tabla 27, se observa el perfil de ácidos grasos (LSAIA-INIAP) y la Tabla 29, presenta el perfil de aminoácidos (Excelencia Química) que se encontraron en el mejor tratamiento (Anexo 49).

Tabla 27. Perfil de ácidos grasos de la semilla chía del mejor tratamiento obtenido, 2015

<b>Perfil ácidos grasos</b>	<b>Símbolo</b>	<b>Tiempo de retención</b>	<b>% Ácido Graso</b>
Ácido Mirístico	C14	19,83	0,05
Ácido Pentadecanoico	C15:0	21,46	0,02
Ácido Palmítico	C16:0	23,11	7,59
Ácido Palmitoleico	C16:1	24,34	0,01
Ácido Heptadecanoico	C17:0	24,70	0,05
Ácido cis-10-Heptadecanoico	C17:1	25,91	0,01
Ácido Esteárico	C18:0	26,21	3,49
Ácido oleico	C18:1n9C	27,30	6,07
Ácido linoleico	C18:2n6C	28,80	21,67
Ácido Araquídico	C20:0	29,20	0,27
Ácido $\alpha$ -linoleico	C18:3n6	29,91	0,39
Ácido-cis-11-eicosenoico	C20:1	30,17	0,17
Ácido linolénico	C18:3n3	30,41	57,47
Ácido cis-11-14 eicosadienoico	C20:2	31,61	0,04
Ácido behénico	C22:0	31,98	0,09
Ácido erúcico	C22:1n9	32,96	0,02
Ácido cis-11,14,17 dicosatrienoico	C20:3n3	33,30	0,06
Ácido tricosanoico	C20:0	33,38	0,02
Ácido cis 13,16-docosadienoico	C22:2	34,46	0,01
Ácido lignosérico	C24:0	34,83	0,12
Ácido nervorico	C24:1	35,89	0,01

Con la corrida en un cromatógrafo de gases (Anexo 45-48) se obtuvo los porcentajes de ácidos grasos que se indica en la Tabla 27, los resultados



obtenidos reportaron un contenido de 85,21% de ácidos grasos poliinsaturados C18. Se confirma según Quintana y Valencia 2014, que los principales ácidos grasos detectados en el aceite de chía en orden de abundancia fueron omega 3 (57,47%), omega 6 (21,67%), omega 9 (6,07%) y ácido palmítico (7,59%). Al comparar estos resultados con bases teóricas de la semilla chía se pudo confirmar que al realizar la extracción del mucílago mediante el proceso de liofilizado se obtiene mayor porcentaje de ácidos grasos por la pureza de la extracción de grasa como indica en su investigación Yxtaina 2010.

El principal ácido graso presente en los aceites fue el ácido linolénico con 61-74% (Quintana y Valencia 2014), estos resultados concuerdan con estudios realizados previamente por Ayerza 1995, donde el principal ácido graso es ácido linolénico con 64-69%, estos porcentajes fueron arrojados mediante una extracción por prensado; la metodología utilizada en esta investigación se basó en la aplicación de solvente éter, por lo cual se obtuvo un porcentaje menor de 57,47% de ácido linolénico.

El contenido y la composición de ácidos grasos del aceite de semilla chía puede variar debido a la influencia de factores ambientales y localidad del cultivo (Argentina 63,1%, Bolivia 63,6%, Colombia 57,9%, México, 61,6%, Perú 64,2% y el actualmente el estudiado Ecuador 57,47%) como indica Ayerza y Coates 2005; es decir que el resultado de ácido linolénico arrojado en la investigación se encontró dentro de los porcentajes comparados anteriormente. En la extracción del aceite de la semilla chía se utilizó la metodología correcta, ya que al comparar los resultados del contenido de ácidos grasos con investigaciones realizadas por Yxtaina 2010, los porcentajes obtenidos de la extracción por solvente en las localidades de Argentina y Guatemala son menores con excepción del ácido linolénico. Estos resultados concuerdan con estudios realizados previamente por Coates 2012, Ayerza 1995, A.O.C.S 1998, Yxtaina 2010, Quintana y Valencia 2014.

Por otro lado, si se compara con otros alimentos, los porcentajes de ácidos grasos obtenidos de la chía prevalecen ante estos como se presenta en la Tabla 28.

Tabla 28. Ácidos grasos de chocho, quinoa, amaranto y sangorache, 2013

Ácidos Grasos	Chocho Criollo	Quinoa Criolla Blanca	Amaranto Alegría	Sangorache INIAP Rubí
Palmítico	10,93	11,33	18,98	18,38
Oleico	45,16	21,66	26,16	27,73
Linoleico	31,52	55,67	46,06	44,25
Linolenico	2,84	4,17	0,77	0,91

Tomado de Villacrés, Pastor, Quelal, Zambrano y Morales, 2013.

Como se observa en la Tabla 28, los porcentajes del ácido graso saturado (palmítico) fue alto comparado con la semilla chía con 7,59%, es decir, que esta semilla tuvo mayor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados. Estos resultados confirmaron la importancia que tiene la semilla chía tanto en su alto contenido de omega 3 como de omega 6 (Villacrés, Pastor, Quelal, Zambrano, Morales, 2013).

Tabla 29. Perfil de aminoácidos del aislado proteico de chía del mejor tratamiento obtenido, 2015

Aminoácido	Símbolo	Resultado	Unidad
Acido Aspártico	Asp	6,70	gAA/100g
Acido Glutámico	Glu	2,05	
Serina	Ser	9,32	
Histidina	His	6,39	
Treonina	Thr	4,84	
Glicina	Gly	3,05	
Arginina	Arg	4,01	
Alanina	Ala	3,22	
Tirosina	Tyr	3,05	
Valina	Val	3,24	
Metionina	Met	2,52	
Fenilalanina	Phe	4,08	
Isoleucina	Lle	2,78	
Leucina	Leu	4,88	
Lisina	Lys	3,73	
Triptófano	Trp	0,90	

Al evaluar la proteína aislada de chíá obtenida del mejor tratamiento mencionado en el diseño experimental con 93,97% de proteína verdadera, se determinaron 16 aminoácidos presentes en el aislado; de los cuales 8 de estos son esenciales en la dieta diaria con un total de 26,97% representando el 30% del aislado. El 62% restante equivale al porcentaje total de los aminoácidos no esenciales y un 2% de elementos no nitrogenados dentro del aislado. Los aminoácidos de la proteína de chíá presentaron un adecuado perfil de aminoácidos esenciales, destacándose el contenido de lisina, metionina y cistina, los cuales fueron mayores que los presentes en las proteínas de otros cereales (Ayerza y Coates, 2010).

Por otro lado, si estos resultados se comparan con los análisis obtenidos por Coates 2012 se confirma que al realizar la extracción pura de proteína, los porcentajes de aminoácidos esenciales y no esenciales son mayores, siendo estos aproximadamente 4 veces más respecto de los mencionados por el autor. Caso contrario sucedió con los resultados obtenidos por los autores Vásquez, Rosado, Chel y Betancour 2010, ya que al comparar el perfil de aminoácidos con sus estudios, existieron diferencias en algunos porcentajes siendo estos ligeramente mayores.

Al analizar todos los resultados obtenidos se pudo concluir, que para realizar un análisis real de perfil de aminoácidos, se debe partir de un aislado proteico, mas no de la semilla ni la harina, puesto que los resultados finales varían, como se observa en la Tabla 30, (Anexo 50).

Tabla 30. Perfil de aminoácidos de la harina liofilizada de chía, 2015

<b>Aminoácido</b>	<b>Símbolo</b>	<b>Resultado</b>	<b>Unidad</b>
Acido Aspártico	Asp	0,81	gAA/100g
Acido Glutámico	Glu	0,25	
Serina	Ser	0,95	
Histidina	His	0,80	
Treonina	Thr	0,59	
Glicina	Gly	0,38	
Arginina	Arg	0,62	
Alanina	Ala	0,49	
Tirosina	Tyr	0,36	
Valina	Val	0,45	
Metionina	Met	0,23	
Fenilalanina	Phe	0,49	
Isoleucina	Lle	0,34	
Leucina	Leu	0,61	
Lisina	Lys	0,32	
Triptófano	Trp	0,40	

Como se indica en la Tabla 30, los porcentajes de aminoácidos obtenidos a partir de la harina liofilizada (mejor método fase experimental) mostraron un decremento con respecto a los obtenidos en el aislado proteico. El total de aminoácidos esenciales fue de 3,43% confirmando con los análisis de Vásquez, Rosado, Chel y Betancourt 2010, se pudo apreciar que los aminoácidos aumentaron su contenido en el aislado proteico con respecto a la harina, sin embargo, tanto la harina como el aislado proteico se encontraron limitados por triptófano siendo el más significativo, mostrando un valor de 0,9% en la investigación, y 0,8% según autores antes mencionados. Friedman y Brandon 2001 aseveran que el procesamiento y almacenamiento de la harina disminuye drásticamente el contenido de aminoácidos con la consecuente formación de compuestos oxidados.

Al comparar el aislado proteico de la semilla chía con el aislado proteico de la semilla de quinua Tabla 31, Anexo 51, se afirmó que la composición nutricional de la chía en cuanto a aminoácidos fue superior a las semillas como la quinua, amaranto y soja (Capitani, 2013).

Tabla 31. Perfil de aminoácidos del aislado proteico de quinoa, 2015

<b>Aminoácido</b>	<b>Símbolo</b>	<b>Resultado</b>	<b>Unidad</b>
Acido Aspártico	Asp	4,36	gAA/100g
Acido Glutámico	Glu	1,40	
Serina	Ser	5,45	
Histidina	His	4,28	
Treonina	Thr	7,35	
Glicina	Gly	4,63	
Arginina	Arg	3,25	
Alanina	Ala	4,69	
Tirosina	Tyr	2,21	
Valina	Val	2,43	
Metionina	Met	1,62	
Fenilalanina	Phe	2,56	
Isoleucina	Lle	2,08	
Leucina	Leu	3,83	
Lisina	Lys	3,29	

Tomado de Nazate, 2015

La Tabla 31 presenta los porcentajes de aminoácidos obtenidos de un aislado proteico de quinua teniendo 7 aminoácidos esenciales con un total de 23,16% con una diferencia de 3,71% con respecto al aislado de chía. Según los resultados expuestos en el estudio de Nazate 2015, el mayor porcentaje de aminoácido que se encontró en la quinua fue la treonina con 7,35%, mientras que la chía presenta la serina con un valor de 9,32%.

## 6. ANÁLISIS ECONÓMICO

Se consideró los resultados de la fase preliminar, fase experimental realizadas en el laboratorio para comprobar el mejor método de extracción de grasa y proteína para la caracterización de ácidos grasos y aminoácidos de la semilla chía, por lo que se realizan 3 tablas en donde se detallan: Costo de materiales necesarios para la fase preliminar (análisis proximal de la semilla), fase experimental (extracciones) y caracterizaciones de ácidos grasos y aminoácidos:

### 6.2. Fase preliminar

Se describe el costo del análisis proximal realizado en el laboratorio LSAIA – INIAP de las variables (humedad, cenizas, extracto etéreo, proteína, fibra y elementos libres de nitrógeno), Tabla 32.

Tabla 32. Costo análisis proximal de una variedad de chía de dos localidades (Cotacachi, Colta) 2015

<b>Parámetros evaluados</b>	<b>Cotacachi</b>	<b>Colta</b>
Humedad	Costo \$62	Costo \$ 62
Cenizas	Método MO-LSAIA-01	
Extracto etéreo		
Proteína		
Fibra		
Elementos libres de nitrógeno		

### 6.3. Análisis ANDEVA

Los costos de la fase Experimental se presentan en la Tabla 33 y Tabla 34, la Tabla 33 indica los costos iniciales para realizar las distintas extracciones de los 36 tratamientos con los diferentes métodos utilizados, en la Tabla 34 se observa los costos adicionales de los análisis realizados para las fracciones extraídas evaluadas en el diseño de bloques completamente al azar

(porcentaje de grasa, porcentaje de proteína, rendimiento de proteína, porcentaje de fibra y porcentaje de azúcares totales). Todos los análisis mencionados fueron realizados en el laboratorio LSAIA-INIAP.

Tabla 33. Costos iniciales de las extracciones de la semilla chía, 2015

Detalle	Unidad	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
<b>Insumos</b>													
Chía	100g	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
<b>Materiales</b>													
Estufa de aire forzado	1,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00
Molino de martillos	1,00	580,00	580,00	580,00	580,00	580,00	580,00	580,00	580,00	580,00	580,00	580,00	580,00
Tamiz	1,00	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23
Rotavapor	1,00	500,00	500,00			500,00	500,00			500,00	500,00		
Agitador	1,00	25,34	25,34	25,34	25,34	25,34	25,34	25,34	25,34	25,34	25,34	25,34	25,34
Agitador calentador análogo	1,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00
Balanza analítica	1,00	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36	1725,36
pHmetro	1,00	382,50	382,50	382,50	382,50	382,50	382,50	382,50	382,50	382,50	382,50	382,50	382,50
Centrifugadora	1,00	379,00	379,00	379,00	379,00	379,00	379,00	379,00	379,00	379,00	379,00	379,00	379,00
Liofilizador	1,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00	6500,00
Congelador	1,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00	1600,00
Equipo Soxhlet	1,00			4800,00	4800,00			4800,00	4800,00			4800,00	4800,00
Papel filtro cualitativo	1,00	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
Vasos de precipitación	3,00	264,48	264,48	264,48	264,48	264,48	264,48	264,48	264,48	264,48	264,48	264,48	264,48
Pipetas	2,00	162,40	162,40	162,40	162,40	162,40	162,40	162,40	162,40	162,40	162,40	162,40	162,40
<b>Reactivos</b>													
Hexano	100ml	2,40	2,40			2,40	2,40			2,40	2,40		
Éter	250ml			5,15	5,15			5,15	5,15			5,15	5,15
Isopropanol	75ml	0,92		0,92		0,92		0,92		0,92		0,92	
Hidróxido de sodio	5g	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Ácido clorhídrico	3,5ml	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
<b>Total</b>		<b>13625,01</b>	<b>13624,09</b>	<b>17927,76</b>	<b>17926,84</b>	<b>13625,01</b>	<b>13624,09</b>	<b>17927,76</b>	<b>17926,84</b>	<b>13625,01</b>	<b>13624,09</b>	<b>17927,76</b>	<b>17926,84</b>



En la Tabla 33 se observan los costos de cada tratamiento utilizado para la extracción de las fracciones de la semilla chía. Los costos más bajos obtenidos se dieron en los tratamientos T2 (secado, uso del solvente hexano y sin uso de isopropanol), T6 (liofilizado, uso del solvente hexano y sin uso de isopropanol) y T10 (fresco, uso del solvente hexano y sin uso de isopropanol); el costo total de estos es de \$13624,09, costo similar por el uso de los mismos equipos y reactivos, lo que no sucede con los tratamientos que utilizan el equipo Soxhlet y el solvente isopropanol, causa por la cual los costos aumentaron.

Tabla 34. Costos adicionales de los análisis de las fracciones de la semilla chía, 2015.

<b>Análisis</b>	<b>Método</b>	<b>Costo \$</b>
%grasa	MO-LSAIA-01.03	17
%proteína	MO-LSAIA-01.04	20
%fibra	MO-LSAIA-01.05	15
%azúcares totales	MO-LSAIA-21	16,80

#### **6.4. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos**

Los costos de la caracterización de ácidos grasos y aminoácidos realizados del mejor tratamiento al extraer la grasa y la proteína de la semilla chía. El perfil de ácidos grasos incluye el estudio de ácido mirístico, ácido pentadecanoico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido heptadecanoico, ácido cis-10-heptadecanoico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido araquídico, ácido  $\alpha$ -linoleico, ácido-cis-11-eicosenoico, ácido linolenico, ácido cis-11-14 eicosadienoico, ácido erúcico, ácido cis-11,14,17 dicosatrienoico, ácido tricosanoico, ácido cis 13,16- docosadienoico, ácido lignoserico y ácido nervorico, análisis realizado en el laboratorio LSAIA-INIAP mediante el método de Cromatografía de gases siguiendo el método de American Oil Chemistry Society AOCS Oficial Method Ce 1h-05 teniendo un costo de \$80.

El perfil de aminoácidos constó de 16 aminoácidos esenciales y no esenciales (ácido aspártico, ácido glutámico, serina, histidina, treonina, glicina, arginina,

alanina, tirosina, valina, metionina, fenilalanina, isoleucina, leucina y lisina), el análisis se realizó en el laboratorio Excelencia Química S.A. en la provincia del Guayas mediante el método de Burbach Institute Prederivatización (HPLC-FLD) con un costo de \$160,80.

## **7. Conclusiones y Recomendaciones**

### **7.2. Conclusiones**

El proceso de liofilizado y el uso del solvente éter en el equipo Soxhlet fue el mejor método para la extracción de grasa total de la semilla chía, teniendo un aceite con mayor rendimiento 33,7%.

El proceso de liofilizado, uso del solvente éter en el equipo Soxhlet y uso de solvente isopropanol fue el método más preciso para la extracción de proteína con mayor rendimiento 28,2% y pureza 93,97%.

El uso del solvente isopropanol influye en la extracción de azúcares totales, obteniendo un total de 8,44%.

El perfil de ácidos grasos de la semilla chía analizados mediante el estándar del cromatógrafo de gases, evaluó 37 ácidos grasos, de los cuales 21 pertenecen a la semilla chía, los porcentajes obtenidos en mayor proporción fueron palmítico 7,59%, oleico (omega 9) 6,07%, linoleico (omega 6) 21,67% y linolénico (omega 3) 57,47%.

El perfil de aminoácidos del aislado proteico de la semilla chía obtenidos mediante el método de Burbach Institute Prederivatizacion (HPLC-FLD), demostró que la semilla contiene los 8 aminoácidos esenciales y un porcentaje representativo de aminoácidos no esenciales.

### 7.3. Recomendaciones

Para la extracción de grasa total de la semilla chía se puede utilizar diferentes solventes en el equipo Soxhlet, pero se recomienda la utilización del solvente éter, debido a que este realiza la extracción en menor tiempo 8h y se obtiene mayor porcentaje de grasa.

Se puede complementar esta investigación aplicando el método de prensado para la extracción total de grasa y haciendo uso del aceite de forma industrial.

Para la extracción de la proteína de la semilla chía, se sugiere extraer previamente todos los componentes presentes en la misma, uno de los procesos más importantes para obtener un aislado proteico es la extracción del gel viscoso (mucílago).

Para obtener un aislado proteico con alto porcentaje de proteína, se recomienda trabajar con pH de 8-9, no mayor a esto puesto que desnaturaliza a la proteína.

Se recomienda tomar en cuenta el tamaño de la malla del tamiz utilizado para realizar la extracción de proteína, si se tiene una malla de 100 $\mu$ m la proteína y la fibra presentaran los mejores rendimientos.

En posteriores investigaciones se sugiere que la caracterización tanto de ácidos grasos como aminoácidos sean de todos los tratamientos expuestos, para así verificar si existió perdidas de algún ácido graso o aminoácido al aplicar los diferentes métodos.

## REFERENCIAS

- Aguilera, A. (2013). *Tecnología de Semillas, siembra e instalación del cultivo de Salvia hispanica*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Asunción.
- Association of Official Analytical Chemistry. (1998). *Oficial methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society*. (16.<sup>a</sup> ed.). Maryland: AOAC International 1998
- Ayerza, R. y Coates, W. (2005). Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutrition Research*. 25(11), 995-1003 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2005.09.013>.
- Ayerza, R. y Coates, W. (2010). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and products*. 34(2), 1366-1371 doi: 10.1016/j.indcrop.12.007.
- Ayerza, R., Coates, W. (2006). *Chia, rediscovering a forgotten crop of the Aztecs*. Buenos Aires-Argentina: Nuevo Extremo S.A.
- Ayerza, R., Wayne Coates. (2004). Protein and oil content, peroxide index and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) grown in six tropical and sub-tropical ecosystems of South America. *Tropical Science*, 3(44), 131 - 135 doi: 10.1002/ts.154.
- Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chía (*Salvia hispanica*-L.) from five north wester locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists´ Society*. 72(9), 1079-1081.
- Baena, M. y Garcia, N. (2012). *Obtención y caracterización de fibra dietaría a partir de cascarilla de las semillas tostadas de theobroma cacao I. de una industria chocolatera colombiana*. (Tesis de Maestria). Universidad Tecnológica de Pereira.

- Bradford, J. (2012). Programa de métodos oficiales. *Journal of AOAC International*. 91(5), 50-83 doi: ISSN1944-7922
- Busilacchi, H. et al, Evaluacion de Salvia hispanica L. cultivada en el sur de Santa Fe República Argentina). *Cultivos Tropicales*. 34(4), 55-59 doi: ISSN0258-5936.
- Cahill, J. (2003). Ethno Botany of chia, Salvia hispanica L. (Lamiaceae). *Economic Botany*. 57(4). 604-618.
- Campbell, M.F., Krau, C.W., Yackel, W.C., y Yang, H.S. (1985). *Soy protein concentrate*, Orlando: Academic Press, Inc.
- Capitani, M. (2013). *Caracterización y funcionalidad de subproductos de chía (Salvia hispanica L.) aplicación en tecnología de alimentos*. (Tesis Doctoral). Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.
- Clark, P.K. y Proctor, A. (1994). Effect of equilibrium oil extraction on the chemical composition and sensory quality of soy flour and concentrates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(8), 823-826 doi: 10.1007/BF02540456.
- Coates, W. (2012). *The complete guide to the ultimate super food*. New York: Sterling.
- Coates, W. y Ayerza, R. (2006). Production potential of chia in northwestern Argentina. *Industrial Crops and Products*, 5(3), 229-233. doi:10.1016/0926-6690(96)89454-4.
- Digestyc, (2005). *Encuesta de hogares de propósitos múltiples*. El Salvador: Estadísticas Europeas (EUROSTAT).
- Gil, (2014). *Libro Blanco de los Omega 3*. (2ª Ed.). España: Médica Panamericana.

- González, A. Kafarov, V. y Guzmán A. (2009). Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas. *Prospect*, 7(2), 53-60.
- Hernández, J. y Miranda, C. (2008). Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispanica*). *Fitotecnia Mexicana*. 31(2). 105-113. doi: ISSN0187-7380.
- Juan, R. Pastor, J. Alaiz, M. Megías, C. y Vioque, J. (2007). Caracterización proteica de once semillas de amaranto. *Grasas y Aceites*. 58(1). 49-55 doi: 0017-3495.
- Kirk, R. Sawyer, R. y Egan, H. (2011). *Composición y análisis de alimentos de Pearson*. (2ª Ed.). España: Grupo Editorial Patria.
- Linde, (2010). Hoja de seguridad del material Hexano. *Linde Group*. 5 (2). 1-5.
- Luna, A. (2007). *Composición y procesamiento de la soya para consumo humano*. *Investigación y Ciencia*. 15(37). 35-44 doi: ISSN1665-442.
- Mosca, D. (2011), Chia seed protein concéntrate. *Patent Cooperation Treatate (PST)*. 42(6). doi: WO/2011/089525.
- Nazate, K. (2015). *Obtención de proteína hidrolizada de quinua (*Chenopodium quinua Willd*) a partir de un aislado proteico*. (Tesis Maestría). Universidad Técnica del Norte.
- Núñez, E. (2008). Extracciones con equipo Soxhlet. *Udo Agrícola*. 15(3). 2-5.
- Parrado, J. (1991). *Desarrollo de un proceso enzimático para el aprovechamiento proteico de la harina de girasol desengrasada*. (Tesis Doctoral). Universidad de Sevilla. Doi: L-2343-2014.
- Peinado, J. y Melendez, F. (2012). Medida del pH: Disoluciones reguladoras. Precipitación isoeléctrica de la caseína. *Bioquímica y Biología Molecular*. 27(4). 1-6.
- Proecuador. (2013). Publicación semilla chía. *Boletín de Análisis de Mercados Internacionales*. 3(5). 4-5 doi: ISSN1390-8138.

- Quintana, J. y Valencia, J. (2014). Caracterización del aceite de semilla de chia (*Salvia hispanica*. L) extraído con solvente orgánico y prensado en frío. *Ingeniería: Ciencia, Tecnología e Innovación*. 2(1). 7-14 doi: ISSN: 2313-1926
- Ruiz, C. Diaz, C. Anaya, J. y Rojas, R. (2013). Analisis proximal, antinutrientes, perfil de ácidos grasos y aminoácidos de semillas y tortas de dos especies de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia Huayllabamba*). *Sociedad química de Peru*. 79(1). 29-36 doi: ISSN1810-634X
- Salazar, I. (2009). Composición en ácidos grasos alfa linolénico en huevo y carne de aves empleando chía (*Salvia hispanica* L.) en el alimento. *INCI*. 34(3). 209-213 doi: ISSN0378-1844.
- Salvador, B. (2006). *Química de los alimentos*. (5ª Ed.). México: Pearson.
- Sandoval, M. (2012). *Aislamiento y caracterización de proteínas de reserva de chia (Salvia hispanica-L.)*. (Tesis Maestría). Universidad Autónoma de Querétaro.
- Serpa, G. Hincapié, G. y Álvarez, C. (2014). Determinación del punto isoeléctrico de las proteínas presentes en cuatro fuentes foliares: yuca (*Manihot esculenta* Crantz) variedades verónica y tai, jatropha (*Jatropha curcas* L.) y gmelina (*Gmelina arborea*). *Prospect*. 12(1). 30-39.
- Vásquez, J. Rosado, J. Chel, L. y Betancourt, D. (2010). Procesamiento en seco de harina de chía (*Salvia hispanica*. L): caracterización química de fibra y proteína. *Journal of food*. 8(5). 117-127 doi: 10.1080-19476330903223580
- Villacrés, E. (2001). *Obtención de un Hidrolizado Enzimático de alta Funcionalidad a partir del Chocho*. (Tesis de Maestría). Escuela Politécnica Nacional del Ecuador.
- Villacrés, E. Pastor, G. Quelal, MB. Zambrano, I. y Morales SH. (2013). Effect of processing on the content of fatty acids, tocopherols and sterols in the



oils of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd, Lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet), amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) and sangorache (*Amaranthus quitensis* L.). *Journal of Food Science and Technology*. 2(4). 44-55 doi:ISSN:2315-5098.

Vioque, J. Sánchez, R. Pedroche, J. Yust, M. y Millán, F. (2001). Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos. *Grasa y Aceites*. 52(2). 127-131 doi:10.3989/gya.2001.v52.i2.384.


Voet, D. (2004). *Bioquímica*. (3<sup>a</sup> Ed.). Argentina: Médica Panamericana.

Yxtaina, V. (2010). *Caracterización de la semilla y aceite chia (Sakvia hispanica. L) obtenido mediante distintos procesos*. Aplicación y tecnología de alimentos. (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de la Plata.


## ANEXOS

# Anexo 1. Análisis proximal semilla chía sector Cotacachi

MC-LSAIA-2201-03



**INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**  
**ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD**  
**LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS**  
 Panamericana Sur Km. 1, CutigaguaTf. 2690691-3007134. Fax. 3007134  
 Casilla postal 17-01-340



Proyecto Seguridad Alimentaria  
 Sra. Sonia Anatoa  
 02 de octubre del 2014  
 11:55  
 Proximal, Minerales


**INFORME DE ENSAYO No: 14-263**

**NOMBRE PETICIONARIO:** Ing. Eliana Villacrés  
**DIRECCION:** Panamericana Sur km 1  
**FECHA DE EMISION:** 23 de octubre del 2014  
**FECHA DE ANALISIS:** Del 06 al 23 de octubre del 2014

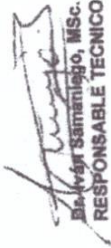
**INSTITUCION:** Proyecto Seguridad Alimentaria  
**ATENCION:** Sra. Sonia Anatoa  
**FECHA DE RECEPCION:** 02 de octubre del 2014  
**HORA DE RECEPCION:** 11:55  
**ANALISIS SOLICITADO:** Proximal, Minerales

ANÁLISIS	HUMEDAD	CENIZAS <sup>U</sup>	E.E. <sup>D</sup>	PROTEINA <sup>U</sup>	FIBRA <sup>U</sup>	E.L.N. <sup>U</sup>	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.02	MO-LSAIA-01.03	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.05	MO-LSAIA-01.06	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	
UNIDAD	%	%	%	%	%	%	
14-1766	5,54	5,20	24,41	21,81	30,82	17,95	Chía 2400, Cotacachi 114
ANÁLISIS		Ca <sup>O</sup>	P <sup>O</sup>	Mg <sup>O</sup>	K <sup>O</sup>	Na <sup>O</sup>	
METODO	MO-LSAIA-03.01.02	MO-LSAIA-03.01.04	MO-LSAIA-03.01.02	MO-LSAIA-03.01.02	MO-LSAIA-03.01.03	MO-LSAIA-03.01.03	
METODO REF.	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980	
UNIDAD	%	%	%	%	%	%	
14-1766	0,32	0,32	0,55	0,55	0,78	0,02	
ANÁLISIS		Cu <sup>P</sup>	Fe <sup>O</sup>	Mn <sup>O</sup>	Zn <sup>O</sup>		
METODO	MO-LSAIA-03.02	MO-LSAIA-03.02	MO-LSAIA-03.02	MO-LSAIA-03.02	MO-LSAIA-03.02		
METODO REF.	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980	U. FLORIDA 1980		
UNIDAD	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm		
14-1766	11	173	48	57			

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.  
 OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente  
 Los datos de Fósforo serán entregados posteriormente.



**DI. Armando Rubio**  
RESPONSABLE DE CALIDAD




**Javier Samaniego, MSc.**  
RESPONSABLE TECNICO


**RESPONSABLES DEL INFORME**

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.  
 Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo  
 NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de esta se encuentra totalmente prohibida. Si usted ha recibido este informe por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

## Anexo 2. Análisis proximal semilla chía sector Colta



**INIA**



**SAIA**

ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALIN,  
DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD  
**LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS**  
Panamericana Sur Km. 1, Cutuglagua Tifs. 2690691-3007134. Fax 3007134  
Casilla postal 17-01-340

**INFORME DE ENSAYO No: 15-099**

**NOMBRE PETICIONARIO:** Srta. Diana Sotomayor  
**DIRECCION:** Panamericana Norte Km 3 1/2  
**FECHA DE EMISION:** 28/04/2015  
**FECHA DE ANALISIS:** Del 13 al 23 de abril de 2015

**INSTITUCION:** Srta. Diana Sotomayor  
**ATENCION:** 10/04/2015  
**FECHA DE RECEPCION: :** 08H14  
**HORA DE RECEPCION:** Proximal  
**ANALISIS SOLICITADO**

ANÁLISIS	HUMEDAD	CENIZAS <sup>U</sup>	E.E. <sup>U</sup>	PROTEINA <sup>U</sup>	FIBRA <sup>U</sup>	E.L.N. <sup>U</sup>	IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.02	MO-LSAIA-01.03	MO-LSAIA-01.04	MO-LSAIA-01.05	MO-LSAIA-01.06	
MÉTODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	
UNIDAD	%	%	%	%	%	%	
15-0435	5,86	4,70	31,48	24,64	19,48	19,69	Muestra de chia

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.  
OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

**RESPONSABLE DE CALIDAD**

*Armando Rúbio*  
**Dr. Armando Rúbio**  
**RESPONSABLE DE CALIDAD**

**LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS**

**I.N.I.A.S.**

**DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD**

**RESPONSABLE TÉCNICO**

*Iván Samaniego*  
**Dr. Iván Samaniego, MSc.**  
**RESPONSABLE TÉCNICO**

**RESPONSABLES DEL INFORME**

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.  
Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

**NOTA DE DESCARGO:** La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigido únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por en notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

Página 1 de 1

### **Anexo 3. Determinación del contenido de grasa**

Método A.O.A.C. 1997. N° 920.39. Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad del INIAP.

#### **Principio**

El solvente que es utilizado se condensa de forma continua extrayendo materiales solubles al pasar por medio de la muestra. El extracto se coloca en un vaso que al terminar el proceso de destilación queda en el vaso el extracto graso de la muestra.

#### **Reactivos**

- Hexano ( grado técnico)
- Sulfato de sodio anhidro

#### **Procedimiento**

- Lavar los vasos de destilación con agua destilada y llevar a la estufa a 105°C por 2 horas, retirar los vasos en un desecador, enfriar, pesar, y añadir 200 ml de hexano.
- Pesar de 1 a 2 gramos de muestra, mezclar con 2 a 3 gramos de sulfato de sodio anhidro, colocar en un cartucho limpio y tapar con algodón.
- Depositar el cartucho con la muestra dentro del dedal de vidrio y colocar dentro del vaso con hexano, montar el equipo Goldfish, abrir la llave de agua fría para el refrigerante, extraer la grasa por 4 horas.
- Secar el vaso de destilación con el residuo en una estufa a 105°C por 7 horas retirarlos de la estufa en un desecador, se enfría y se pesa.

### **Cálculos:**

Se utiliza la ecuación:

$$EE = \frac{Pvr - Pv}{Pm} \times 100$$

### **Dónde:**

EE = Extracto etéreo (%)

Pv = Peso del vaso tarado

Pvr = Peso del vaso más residuo

Pm = Peso de la muestra

### **Anexo 4. Determinación del contenido de proteína**

Método A.O.A.C. 1997. N° 920.152. Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad del INIAP.

### **Principio**

El nitrógeno de las proteínas y otros compuestos se transforman en sulfato de amonio, al ser digeridas en ácido sulfúrico en ebullición, el residuo se enfría, se diluye con agua y se agrega hidróxido de sodio y se procede a destilar. El amoniaco presente se desprende y se recibe en una solución de ácido bórico, que luego se titula con ácido clorhídrico estandarizado.

### **Reactivos**

- Ácido sulfúrico concentrado (92%)
- Ácido clorhídrico 0.02 N
- Hidróxido de sodio al 50 %
- Ácido bórico al 4 %

- Indicador mixto: rojo de metilo al 0.1 % y verde de bromocresol al 0,2 % en alcohol al 95 %.
- Mezcla catalizadora: 800 g de sulfato de potasio o sodio, 50 g de sulfato cúprico penta hidratado, y 50 g de dióxido de selenio.
- Agua desmineralizada

### Digestión

- Pesar alrededor de 0,04 g de la muestra, colocar dentro del balón de digestión y añadir 0,5 g de catalizador y 2ml de ácido sulfúrico al 92%.
- Colocar los balones en el digestor micro Kjeldahl en los calentadores a 500°C hasta que la solución adquiriera una coloración verde. Retirar los balones del digestor y enfriar.

### Destilación

- Colocar la muestra en el destilador, añadir 10 ml de hidróxido de sodio al 50 %, destilar recogiendo el destilado en 6 ml de ácido bórico al 4 % hasta obtener 60 ml de volumen.

### Titulación

- Al destilado se agrega 4 gotas del indicador mixto y se titula con ácido clorhídrico 0,02N hasta que la solución cambie de color. Se realiza también una titulación con un blanco.

### Cálculos

Se utiliza la ecuación:

$$\%P = \frac{(Ma - Mb) \times N \times 0.014 \times 6.25}{Pm} \times 100$$

$$\% P = \frac{(Ma - Mb) \times F}{Pm} \times 100$$

Dónde:

P = Contenido de proteína (%)

N = Normalidad del ácido titulante

Ma = ml de ácido gastados en la titulación de la muestra

Mb = ml de ácido gastados en la titulación del blanco

Pm = Peso de la muestra en gramos

1.25 = Factor de conversión de nitrógeno a proteína

#### **Anexo 5.** Determinación del contenido de fibra cruda o bruta

Método A.O.A.C. 1997. N° 920.86. Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad del INIAP.

#### **Principio**

Una muestra libre de humedad (menos 20%) y grasa (menos 12%) se digiere primero con una solución ácida y luego con una solución alcalina; los residuos orgánicos restantes, se recogen en un crisol filtro. La pérdida de peso después de incinerar la muestra, se denomina fibra cruda.

#### **Reactivos**

- Ácido sulfúrico al 7%
- Hidróxido de sodio al 22%
- Antiespumante: alcohol isoamílico
- Hexano



## Procedimiento

- Se pesan de 1 a 2 g de muestra en un vaso de 600ml, se añade 200 ml de ácido sulfúrico al 7% y 1 ml de alcohol isoamílico.
- Se digiere por 30 minutos y se agrega 20ml de hidróxido de sodio al 22% y se vuelve a digerir por 30 minutos más, disminuyendo la temperatura.
- Se recoge la fibra en crisoles filtrantes previamente lavados en cuya base se ha depositado una capa de lana de vidrio hasta la mitad del crisol aproximadamente.
- Se lava con agua desmineralizada caliente, con 10 ml de ácido sulfúrico al 7 por mil y 20ml de hexano, terminándose los lavados de la fibra con agua.
- Se seca en una estufa a 105°C por 8 horas, se retira en un desecador se enfría y se pesa.
- Se calcina en una mufla por 4 horas a 600°C, retirar en un desecador enfriar y pesar.

## Cálculos

Según la ecuación:

$$\% Fc = \frac{Pcf - Pcc}{Pm} \times 100$$

### Donde:

%Fc = Porcentaje de fibra cruda

Pcf = Peso del crisol + muestra, desecados a 105°C

Pcc = Peso del crisol + muestra, después de la incineración

Pm = Peso de la muestra

## **Anexo 6.** Determinación del contenido de azúcares totales

Método Doboys y Hamilton, 1956. Adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad del INIAP.

### **Materiales y Equipos**

- Tubos de ensayo con tapa
- Matraz aforado: 25, 50 ml (varios)
- Papel filtro
- Embudos de vidrio
- Pipetas volumétricas
- Licuadora
- Fotómetro

### **Reactivos**

- Glucosa
- Antrona
- Ácido sulfúrico
- Alcohol al 80%

### **Preparación de estándares**

- Preparar un patrón de 0,5 g de glucosa en 100ml de alcohol al 80%.
- Tomar 1ml y diluir a 100ml, concentración obtenida 50 mg/L.
- Preparar una cura de concentración entre 0 y 50mg/L.

### **Preparación del reactivo**

- Preparar reactivo 0,2 g de antrona en 100ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.

### **Preparación de la muestra**

- Pesar 15 g de muestra con 40ml de alcohol al 80%.
- Filtrar la solución.
- Aforar el filtrado hasta un volumen conocido (50ml).
- Diluir la solución.

### **Procedimiento**

Teniendo en cuenta la gran sensibilidad del método es necesario efectuar diluciones en la muestra a analizar.

- Poner 2ml de la muestra preparada en cada tubo, previamente diluida, colocar en un baño de hielo – agua y añadir 4 ml de reactivo antrona, preparar un blanco de antrona.
- Agitar los tubos sobre el vortex y colocar en ebullición durante 10 min exactos.
- Colocar los tubos en un baño agua – hielo, agitar y esperar 10 minutos para eliminar burbujas de aire.
- Leer la absorbancia a 625nm.

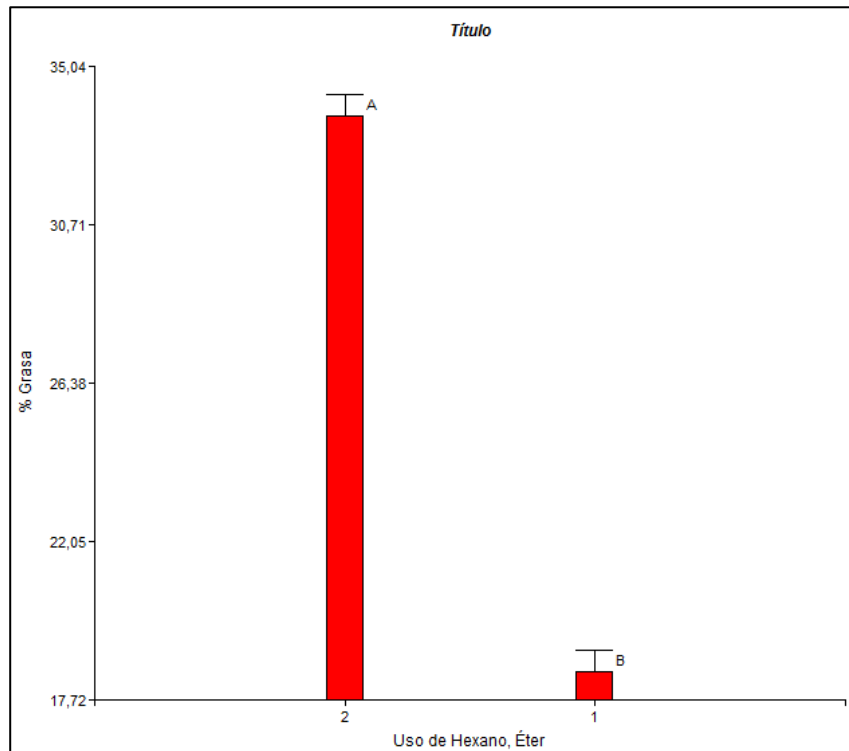
## Anexo 7. Datos iniciales diseño experimental

Caso	Repeticiones	Método de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Uso de solvente isopropanol	%Grasa	%Proteína	%Rendimiento de proteína	%Fibra	%Azúcares totales
1	1	1	1	1	13,32	74,01	10,01	45,72	8,61
2	1	1	1	2	24,39	72,77	9,55	42,63	1,83
3	1	1	2	1	34,70	81,38	14,67	37,28	9,81
4	1	1	2	2	34,68	80,13	12,69	46,26	1,54
5	1	2	1	1	17,90	83,4	20,00	43,02	3,97
6	1	2	1	2	20,00	70,1	23,75	46,17	1,74
7	1	2	2	1	35,55	92,4	28,14	41,42	9,74
8	1	2	2	2	35,86	91,18	25,19	42,87	3,1
9	1	3	1	1	16,46	65,89	6,72	42,16	6,52
10	1	3	1	2	16,40	57,76	24,41	34,63	3,64
11	1	3	2	1	32,64	85,54	9,49	47,83	3,94
12	1	3	2	2	33,01	78,62	11,54	39,37	3,81
13	2	1	1	1	19,03	74,67	12,98	43,77	7,2
14	2	1	1	2	17,89	73,38	7,93	33,98	1,83
15	2	1	2	1	32,61	76,49	12,74	41,14	5,84
16	2	1	2	2	30,24	73,45	12,20	43,43	2,01
17	2	2	1	1	18,01	87,04	19,48	44	2,26
18	2	2	1	2	19,00	67,32	26,71	45,68	3,23
19	2	2	2	1	29,08	93,26	14,58	44,15	6,85
20	2	2	2	2	43,10	87,49	24,64	49,2	2,42
21	2	3	1	1	19,19	70,84	10,57	40,73	7,51
22	2	3	1	2	18,82	60,18	31,61	36,1	4,25
23	2	3	2	1	33,01	85,65	8,81	45,22	4,69
24	2	3	2	2	33,40	66,1	11,64	43,44	2,69
25	3	1	1	1	16,10	74,15	11,46	43,7	7,89
26	3	1	1	2	23,00	73,15	8,78	37,58	1,82
27	3	1	2	1	33,67	81,47	13,80	39,19	7,21
28	3	1	2	2	31,78	80,2	12,54	46,35	1,93
29	3	2	1	1	17,30	86,89	19,83	44,03	3,41
30	3	2	1	2	20,15	70,15	25,14	44,26	2,85
31	3	2	2	1	32,34	93,18	27,12	41,55	8,72
32	3	2	2	2	34,50	87,52	24,95	42,9	2,66
33	3	3	1	1	18,20	70,76	8,70	40,89	7,15
34	3	3	1	2	17,90	58,93	28,58	36,13	3,9
35	3	3	2	1	32,85	85,5	9,10	45,33	4,12
36	3	3	2	2	33,56	75,6	11,33	43,56	3,33

**Anexo 8.** Porcentaje de grasa de 100g de semilla chía

Tratamiento	Descripción	R1	R2	R3
T1	A1B1C1	13,32	19,03	16,10
T2	A1B1C2	24,39	17,89	23,00
T3	A1B2C1	34,70	32,61	33,67
T4	A1B2C2	34,68	30,24	31,78
T5	A2B1C1	17,90	18,01	17,30
T6	A2B1C2	20,00	19	20,15
T7	A2B2C1	35,55	29,08	32,34
T8	A2B2C2	35,86	43,10	34,50
T9	A3B1C1	16,46	19,19	18,20
T10	A3B1C2	16,40	18,82	17,90
T11	A3B2C1	32,64	33,01	32,85
T12	A3B2C2	33,01	33,40	33,56

**Anexo 9.** Prueba de Tukey al 5% con el mejor solvente



**Anexo 10.** Porcentaje de proteína de 100g de semilla chía

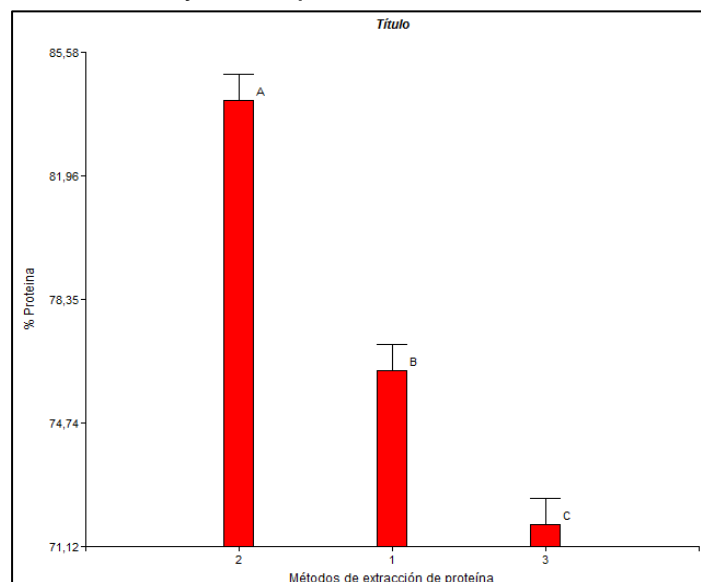
Proteína		R1	R2	R3
T1	A1B1C1	74,01	74,67	74,15
T2	A1B1C2	72,77	73,38	73,15
T3	A1B2C1	81,38	76,49	81,47
T4	A1B2C2	80,13	73,45	80,2
T5	A2B1C1	83,4	87,04	86,89
T6	A2B1C2	70,1	67,32	70,15
T7	A2B2C1	92,4	93,26	93,18
T8	A2B2C2	91,18	87,49	87,52
T9	A3B1C1	65,89	70,84	70,76
T10	A3B1C2	57,76	60,18	58,93
T11	A3B2C1	85,54	85,65	85,5
T12	A3B2C2	78,62	66,1	75,6

**Anexo 11.** Tukey 5% para métodos de extracción de proteína

Métodos de extracción de proteína	Medias%	Desviación Estándar	Calificación
2	84,16	0,76	A
1	76,27	0,76	B
3	71,72	0,76	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Anexo 12.** Prueba de Tukey al 5% para métodos de extracción de proteína.

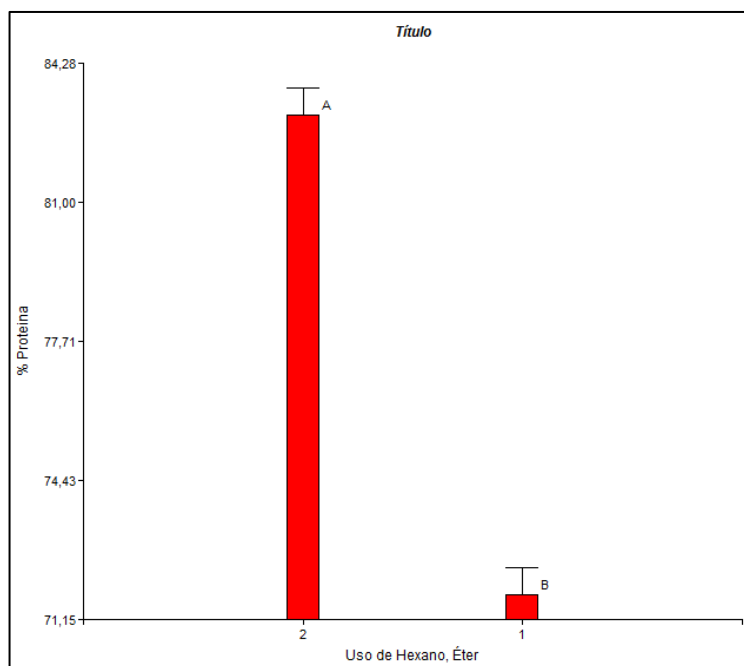


**Anexo 13.** Prueba de Tukey 5% para el uso de hexano-éter

Uso de hexano , éter	Medias %	Desviación Estándar	Calificación
2	83,06	0,62	A
1	71,74	0,62	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Anexo 14.** Prueba de Tukey 5% para el uso de hexano-éter



**Anexo 15.** Prueba de Tukey 5% para el uso de solvente isopropanol

Uso de solvente isopropanol	Medias	Desviación Estándar	Calificación
1	81,25	0,62	A
2	73,56	0,62	B

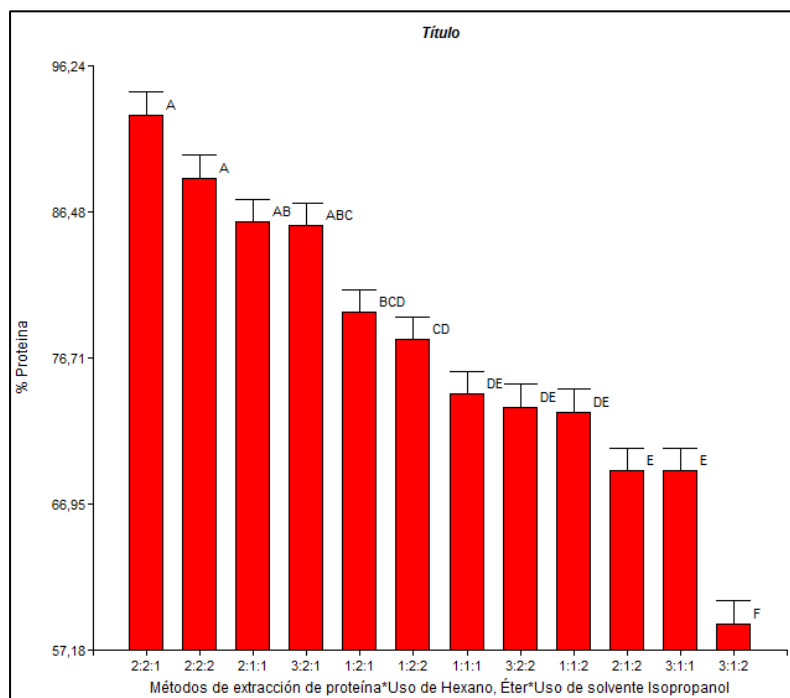
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Anexo 16.** Descripción de Interacciones entre métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol.

Métodos de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Uso de solvente isopropanol	Medias	Desviación Estándar	Calificación					
2	2	1	92,95	1,52	A					
2	2	2	88,73	1,52	A					
2	1	1	85,78	1,52	A	B				
3	2	1	85,56	1,52	A	B	C			
1	2	1	79,78	1,52		B	C	D		
1	2	2	77,93	1,52			C	D		
1	1	1	74,28	1,52				D	E	
3	2	2	73,44	1,52				D	E	
1	1	2	73,1	1,52				D	E	
2	1	2	69,19	1,52					E	
3	1	1	69,16	1,52					E	
3	1	2	58,96	1,52						F

Medias con una letra común no son significativamente ( $p > 0,05$ )

**Anexo 17.** Descripción de Interacciones entre métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol.





**Anexo 18.** Rendimiento de proteína de 100g de semilla chía

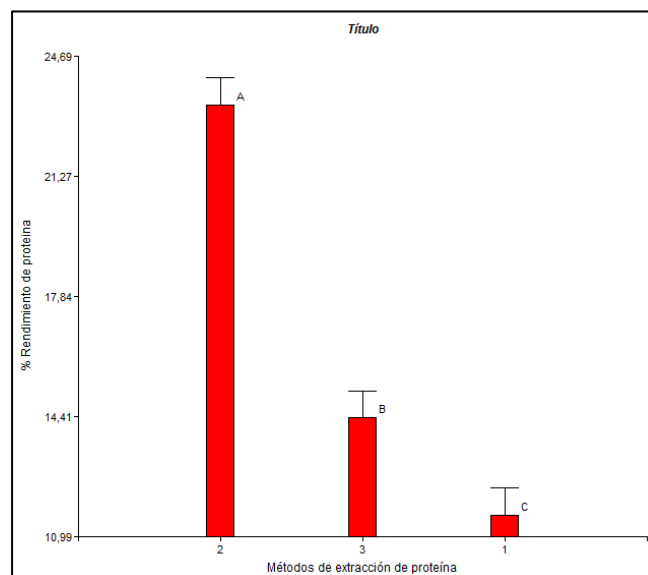
Rendimiento de proteína		R1	R2	R3
T1	A1B1C1	10,01	12,98	11,46
T2	A1B1C2	9,55	7,93	8,78
T3	A1B2C1	14,67	12,74	13,80
T4	A1B2C2	12,69	12,20	12,54
T5	A2B1C1	20,00	19,48	19,83
T6	A2B1C2	23,75	26,71	25,14
T7	A2B2C1	28,14	14,58	27,12
T8	A2B2C2	25,19	24,64	24,95
T9	A3B1C1	6,72	10,57	8,70
T10	A3B1C2	24,41	31,61	28,58
T11	A3B2C1	9,49	8,81	9,10
T12	A3B2C2	11,54	11,64	11,33

**Anexo 19.** Prueba de Tukey 5% para métodos de extracción de proteína

Métodos de extracción de proteína	Medias %	Desviación Estándar	Calificación
2	23,29	0,77	A
3	14,38	0,77	B
1	11,61	0,77	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Anexo 20.** Prueba de Tukey 5% para métodos de extracción de proteína

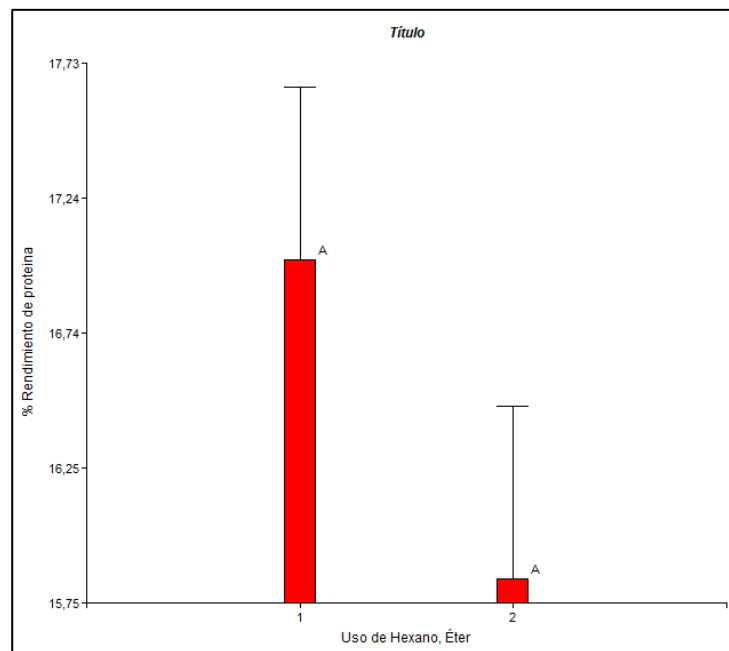


**Anexo 21.** Prueba de Tukey 5% para el uso de hexano-éter

Uso de hexano , éter	Medias %	Desviación Estándar	Calificación
1	17,01	0,63	A
2	15,84	0,63	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ )

**Anexo 22.** Prueba de Tukey 5% para el uso de hexano-éter

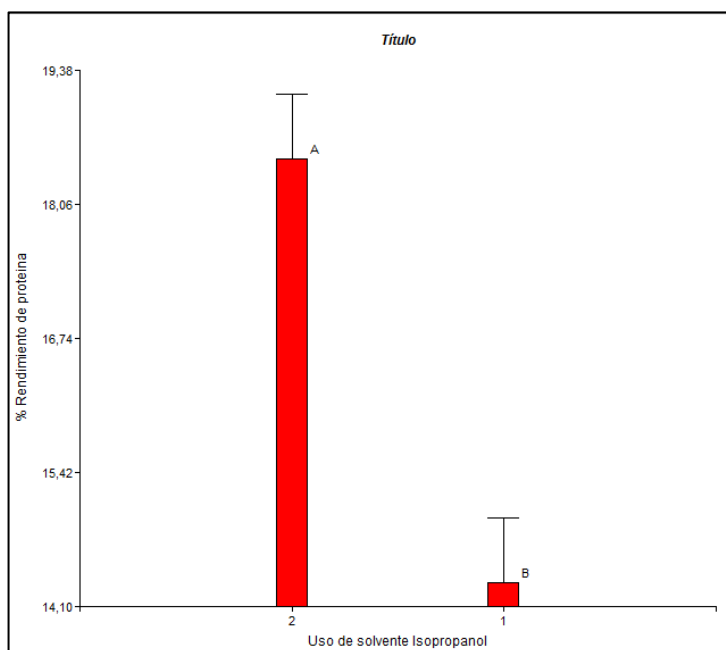


**Anexo 23.** Prueba de Tukey 5% para el uso de solvente isopropanol

Uso de solvente isopropanol	Medias	Desviación Estándar	Calificación
2	18,51	0,63	A
1	14,34	0,63	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ )

**Anexo 24.** Prueba de Tukey 5% para el uso de solvente isopropanol

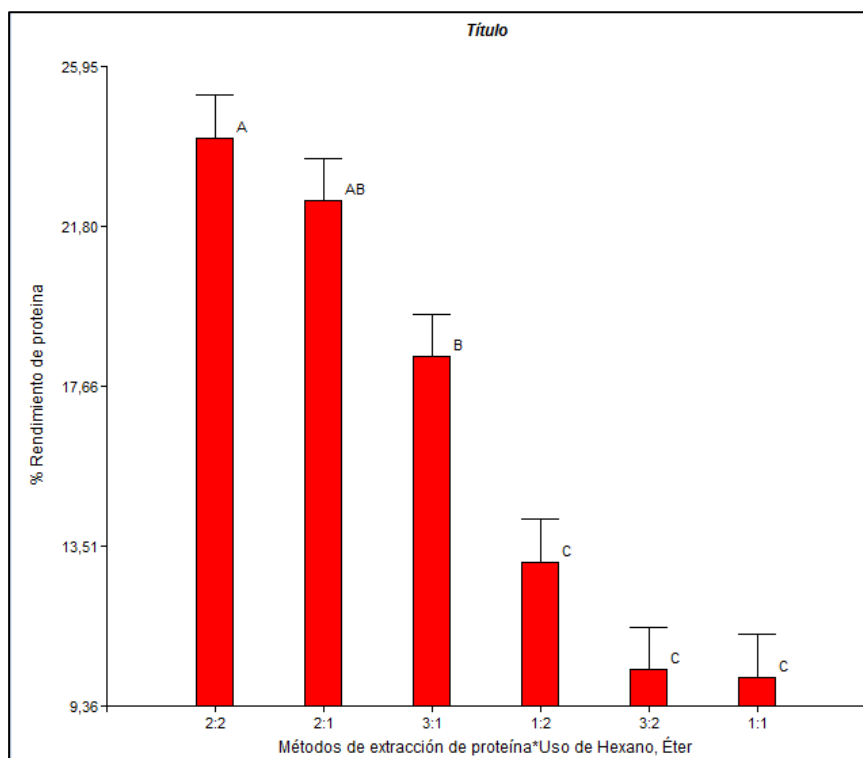


**Anexo 25.** Prueba de Tukey 5% para método de extracción de proteína y uso de hexano-éter

Método de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Medias %	Desviación Estándar	Calificación	
2	2	24,1	1,09	A	
2	1	22,49	1,09	A	B
3	1	18,43	1,09		B
1	2	13,11	1,09		C
3	2	10,32	1,09		C
1	1	10,12	1,09		C

Medias con una letra común no son significativamente ( $p > 0,05$ )

**Anexo 26.** Prueba de Tukey 5% para método de extracción de proteína y uso de hexano-éter

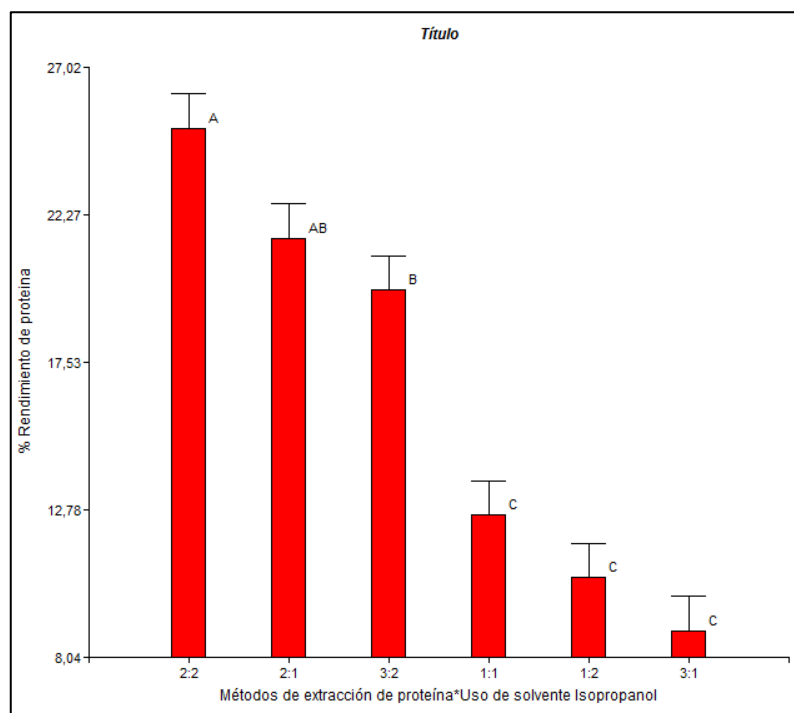


**Anexo 27.** Prueba de Tukey 5% para método de extracción de proteína y uso de solvente isopropanol.

Método de extracción de proteína	Uso del solvente isopropanol	Medias %	Desviación Estándar	Clasificación	
2	2	25,06	1,09	A	
2	1	21,53	1,09	A	B
3	2	12,85	1,09		B
1	1	12,61	1,09		C
1	2	10,62	1,09		C
3	1	8,9	1,09		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Anexo 28.** Prueba de Tukey 5% para método de extracción de proteína y uso de solvente isopropanol

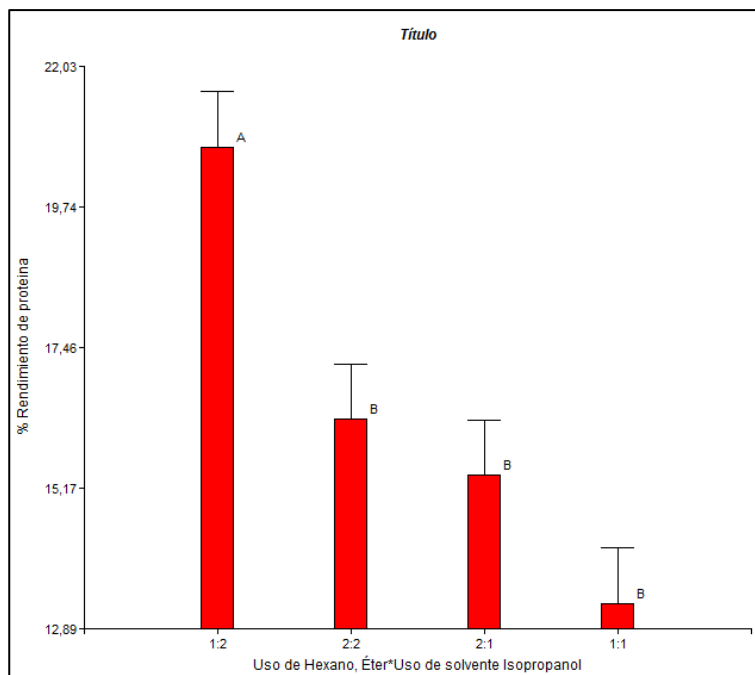


**Anexo 29.** Prueba de Tukey 5% para el uso de hexano-éter y uso del solvente isopropanol

Uso de hexano, éter	Uso del solvente isopropanol	Medias %	Desviación Estándar	Calificación
1	2	20,72	0,89	A
2	2	16,3	0,89	B
2	1	15,38	0,89	B
1	1	13,31	0,89	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

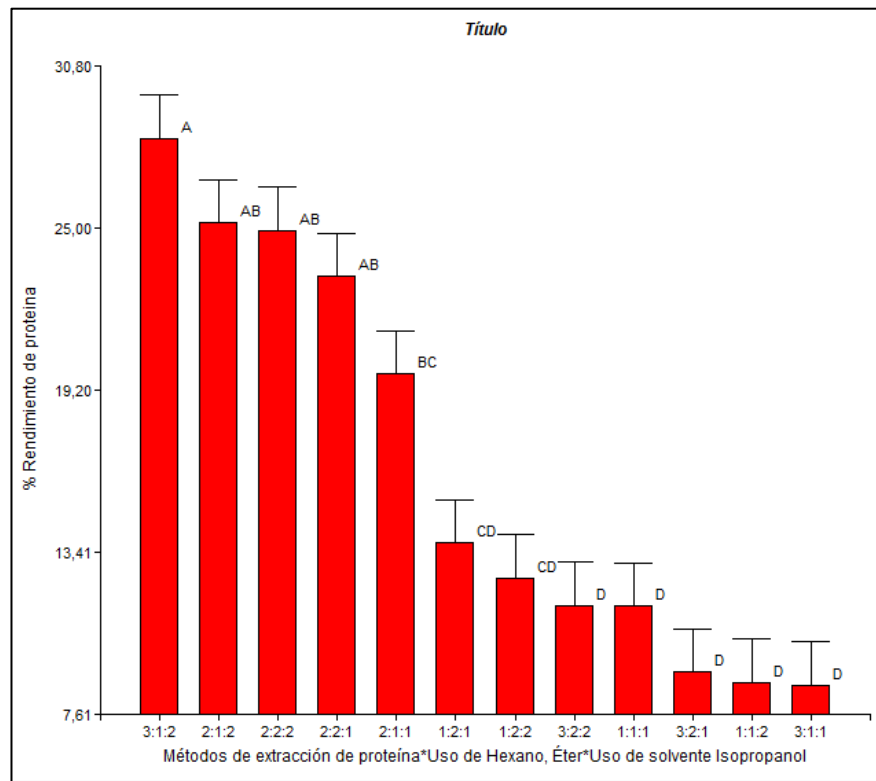
**Anexo 30.** Prueba de Tukey 5% para el uso de hexano-éter y uso del solvente isopropanol



**Anexo 31.** Prueba de Tukey 5% para métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol

Métodos de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Uso de solvente isopropanol	Medias %	Desviación Estándar	Calificación			
3	1	2	28,2	1,55	A			
2	1	2	25,2	1,55	A	B		
2	2	2	24,93	1,55	A	B		
2	2	1	23,28	1,55	A	B		
2	1	1	19,77	1,55		B	C	
1	2	1	13,74	1,55			C	D
1	2	2	12,48	1,55			C	D
3	2	2	11,5	1,55				D
1	1	1	11,48	1,55				D
3	2	1	9,13	1,55				D
1	1	2	8,75	1,55				D
3	1	1	8,76	1,55				D

**Anexo 32.** Prueba de Tukey 5% para métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol



**Anexo 33.** Porcentaje de fibra para 100g de semilla chía

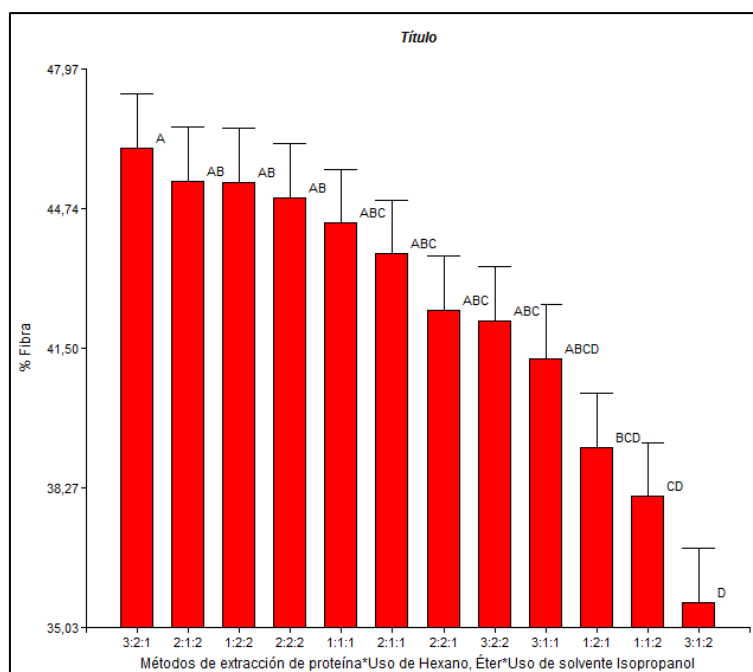
Fibra		R1	R2	R3
T1	A1B1C1	45,72	43,77	43,7
T2	A1B1C2	42,63	33,98	37,58
T3	A1B2C1	37,28	41,14	39,19
T4	A1B2C2	46,26	43,43	46,35
T5	A2B1C1	43,02	44	44,03
T6	A2B1C2	46,17	45,68	44,26
T7	A2B2C1	41,42	44,15	41,55
T8	A2B2C2	42,87	49,2	42,9
T9	A3B1C1	42,16	40,73	40,89
T10	A3B1C2	34,63	36,1	36,13
T11	A3B2C1	47,83	45,22	45,33
T12	A3B2C2	39,37	43,44	43,56

**Anexo 34.** Prueba de Tukey para métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol

Métodos de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Uso de solvente isopropanol	Medias		Desviación Estándar	Calificación			
			%						
3	2	1	46,13		1,26	A			
2	1	2	45,37		1,26	A	B		
1	2	2	45,35		1,26	A	B		
2	2	2	44,99		1,26	A	B		
1	1	1	44,4		1,26	A	B	C	
2	1	1	43,68		1,26	A	B	C	
2	2	1	42,37		1,26	A	B	C	
3	2	2	42,12		1,26	A	B	C	
3	1	1	41,26		1,26	A	B	C	D
1	2	1	39,2		1,26		B	C	D
1	1	2	38,06		1,26			C	D
3	1	2	35,62		1,26				D

Medias con una letra común no son significativamente ( $p > 0,05$ )

**Anexo 35.** Prueba de Tukey para métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol





**Anexo 36.** Porcentaje de azúcares totales de 100g de semilla chía.

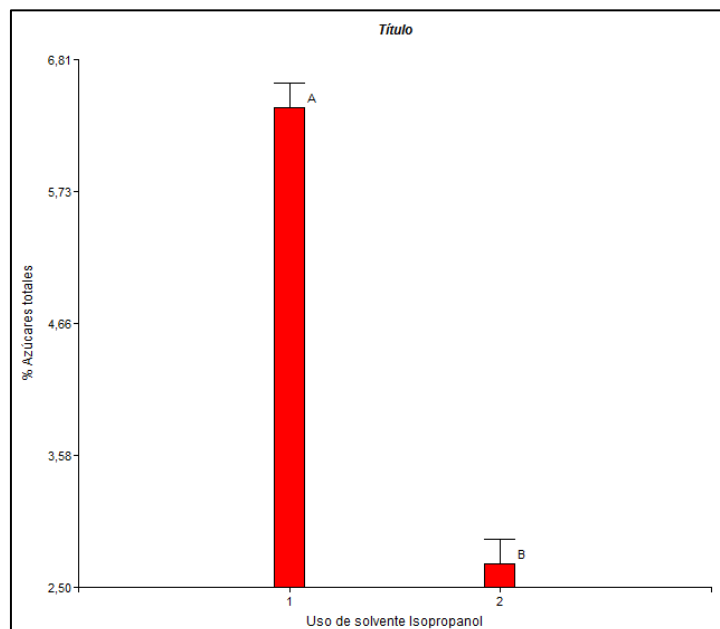
Azúcares totales		R1	R2	R3
T1	A1B1C1	8,61	7,20	7,89
T2	A1B1C2	1,83	1,83	1,82
T3	A1B2C1	9,81	5,84	7,21
T4	A1B2C2	1,54	2,01	1,93
T5	A2B1C1	3,97	2,26	3,41
T6	A2B1C2	1,74	3,23	2,85
T7	A2B2C1	9,74	6,85	8,72
T8	A2B2C2	3,10	2,42	2,66
T9	A3B1C1	6,52	7,51	7,15
T10	A3B1C2	3,64	4,25	3,90
T11	A3B2C1	3,94	4,69	4,12
T12	A3B2C2	3,81	2,69	3,33

**Anexo 37.** Prueba de Tukey 5% para el uso de solvente isopropanol

Uso de solvente isopropanol	Medias %	Desviación Estándar	Calificación
1	6,41	0,2	A
2	2,7	0,2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Anexo 38.** Prueba de Tukey 5% para el uso de solvente isopropanol

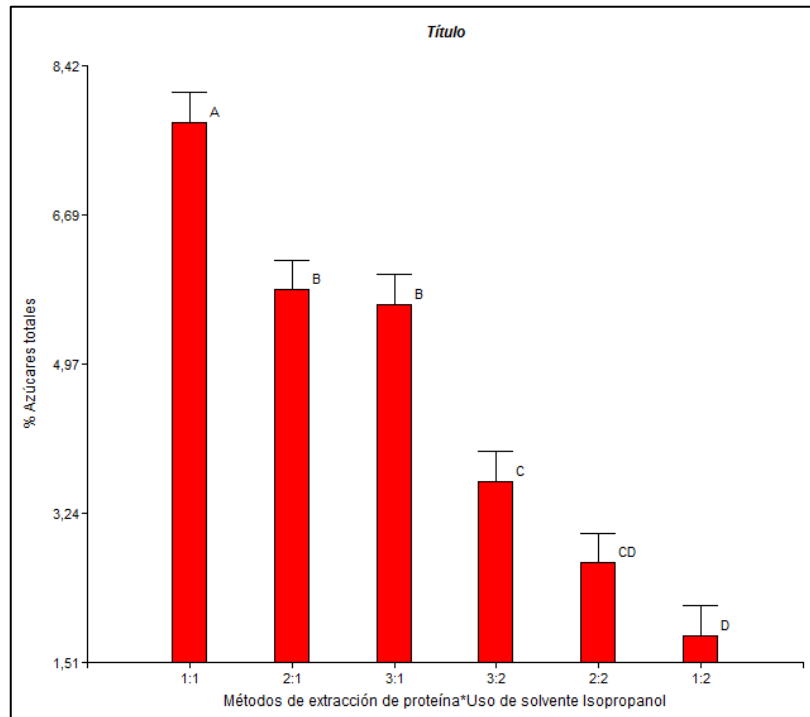


**Anexo 39.** Prueba de Tukey 5% para método de extracción de proteína y uso del solvente isopropanol

Método de extracción de proteína	Uso del solvente isopropanol	Medias %	Desviación Estándar	Calificación	
1	1	7,76	0,35	A	
2	1	5,83	0,35	B	
3	1	5,66	0,35	B	
3	2	3,60	0,35	C	
2	2	2,67	0,35	C	D
1	2	1,83	0,35		D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

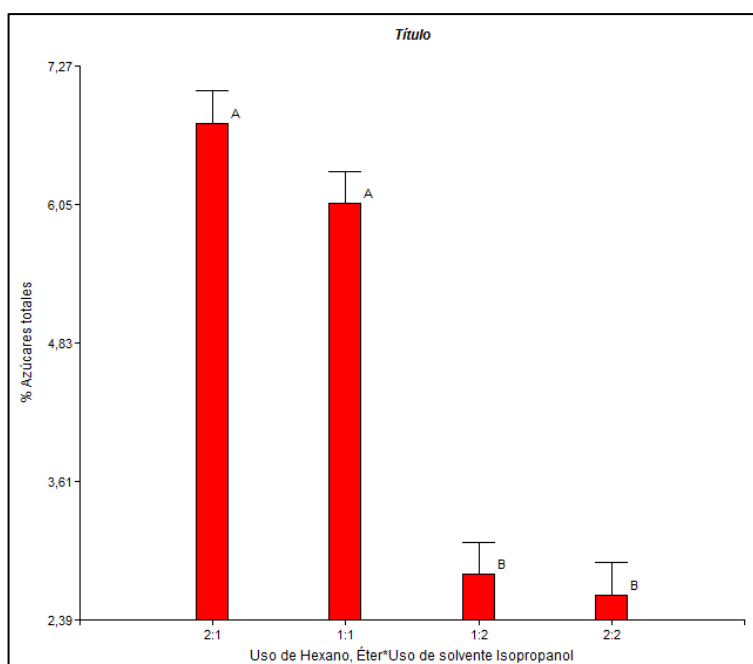
**Anexo 40.** Prueba de Tukey 5% para método de extracción de proteína y uso del solvente isopropanol



**Anexo 41.** Prueba de Tukey 5% para el uso de hexano-éter y uso del solvente isopropanol

Uso de hexano, éter	Uso del solvente isopropanol	Medias %	Desviación Estándar	Calificación
2	1	6,77	0,28	A
1	1	6,06	0,28	A
1	2	2,79	0,28	B
2	2	2,61	0,28	B

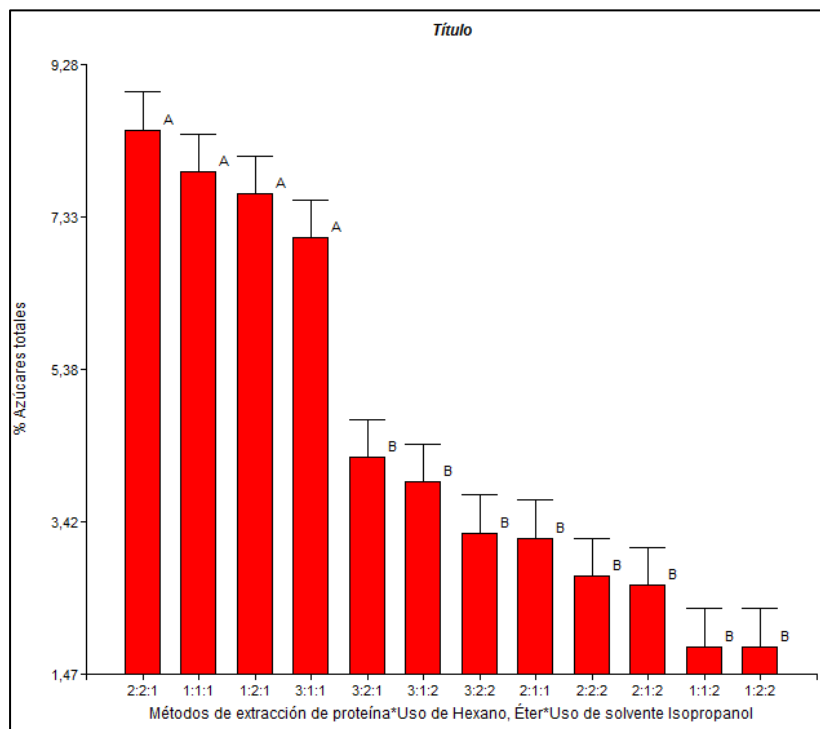
**Anexo 42.** Prueba de Tukey 5% para el uso de hexano-éter y uso del solvente isopropanol



**Anexo 43.** Prueba de Tukey 5% para métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol

Métodos de extracción de proteína	Uso de hexano, éter	Uso de solvente isopropanol	Medias %	Desviación Estándar	Calificación
2	2	1	8,44	0,49	A
1	1	1	7,90	0,49	A
1	2	1	7,62	0,49	A
3	1	1	7,06	0,49	A
3	2	1	7,45	0,49	B
3	1	2	3,93	0,49	B
2	2	2	3,28	0,49	B
2	1	1	3,21	0,49	B
2	2	2	2,73	0,49	B
2	1	2	2,61	0,49	B
1	1	2	1,83	0,49	B
1	2	2	1,83	0,49	B

**Anexo 44.** Prueba de Tukey 5% para métodos de extracción de proteína, uso de hexano-éter y uso de solvente isopropanol



# Anexo 45. Informe ácidos grasos del mejor tratamiento

Area Percent Report

Data Path : D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\  
 Data File : CHIA R 28-07-2015-2.D  
 Signal(s) : FID1A.ch  
 Acq On : 28 Jul 2015 13:44  
 Sample : CHIA R  
 Misc :  
 ALS Vial : 9 Sample Multiplier: 1

Integration File: autoint1.e

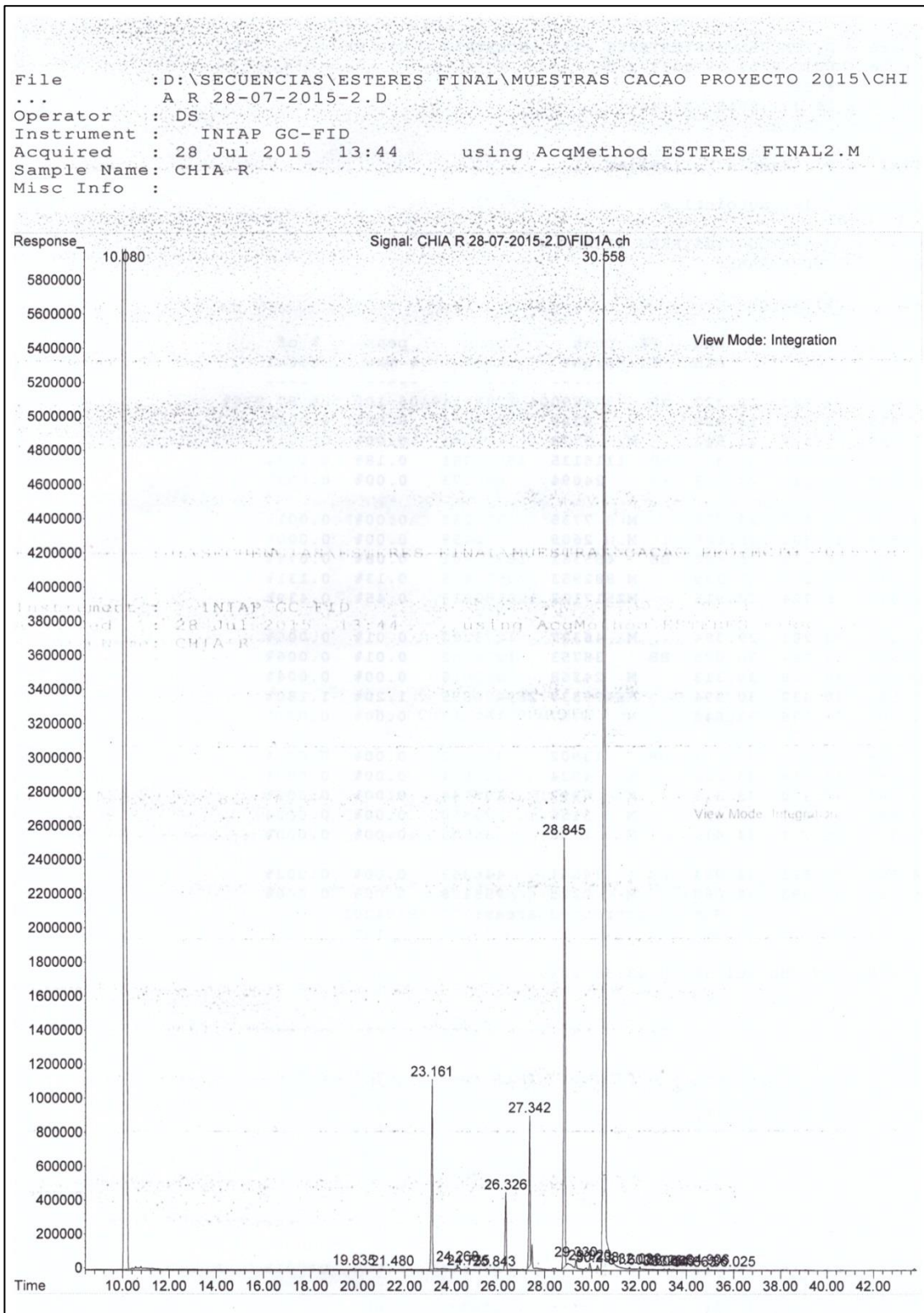
Method : D:\METODOS\ESTERES FINAL2.M  
 Title : CURVA FAMES

Signal : FID1A.ch

peak #	R.T. min	Start min	End min	PK TY	peak height	peak area	peak % max.	% of total
1	10.080	9.982	10.322	BB	787489004	22377145406	100.00%	97.976%
2	19.835	19.774	19.900	M	8229	249476	0.00%	0.001%
3	21.480	21.419	21.541	M	3778	115531	0.00%	0.001%
4	23.161	23.038	23.314	BB	1116135	39590081	0.18%	0.173%
5	24.268	24.211	24.312	PV	24094	640173	0.00%	0.003%
6	24.735	24.691	24.778	BB	7735	210232	0.00%	0.001%
7	25.843	25.804	25.888	M	2609	70459	0.00%	0.000%
8	26.326	26.214	26.452	BB	455361	16953461	0.08%	0.074%
9	27.342	27.251	27.399	M	882953	29911675	0.13%	0.131%
10	28.845	28.724	28.915	M	2517122	100180913	0.45%	0.439%
11	29.330	29.281	29.384	M	46327	1273227	0.01%	0.006%
12	29.920	29.844	30.029	BB	38753	1276042	0.01%	0.006%
13	30.238	30.188	30.313	M	24368	810016	0.00%	0.004%
14	30.558	30.432	30.594	M	5499339	269476695	1.20%	1.180%
15	31.600	31.556	31.646	M	16757	182557	0.00%	0.001%
16	32.039	31.944	32.101	BB	13902	397952	0.00%	0.002%
17	33.065	33.018	33.125	M	4024	109854	0.00%	0.000%
18	33.261	33.218	33.313	M	6892	196544	0.00%	0.001%
19	33.449	33.417	33.495	M	3156	75618	0.00%	0.000%
20	34.363	34.324	34.414	M	1356	36798	0.00%	0.000%
21	34.906	34.821	34.984	BB	14541	446367	0.00%	0.002%
22	36.025	35.993	36.069	M	2225	255128	0.00%	0.000%
Sum of corrected areas: 22839404201								

ESTERES FINAL2.M Thu Jul 30 09:43:56 2015

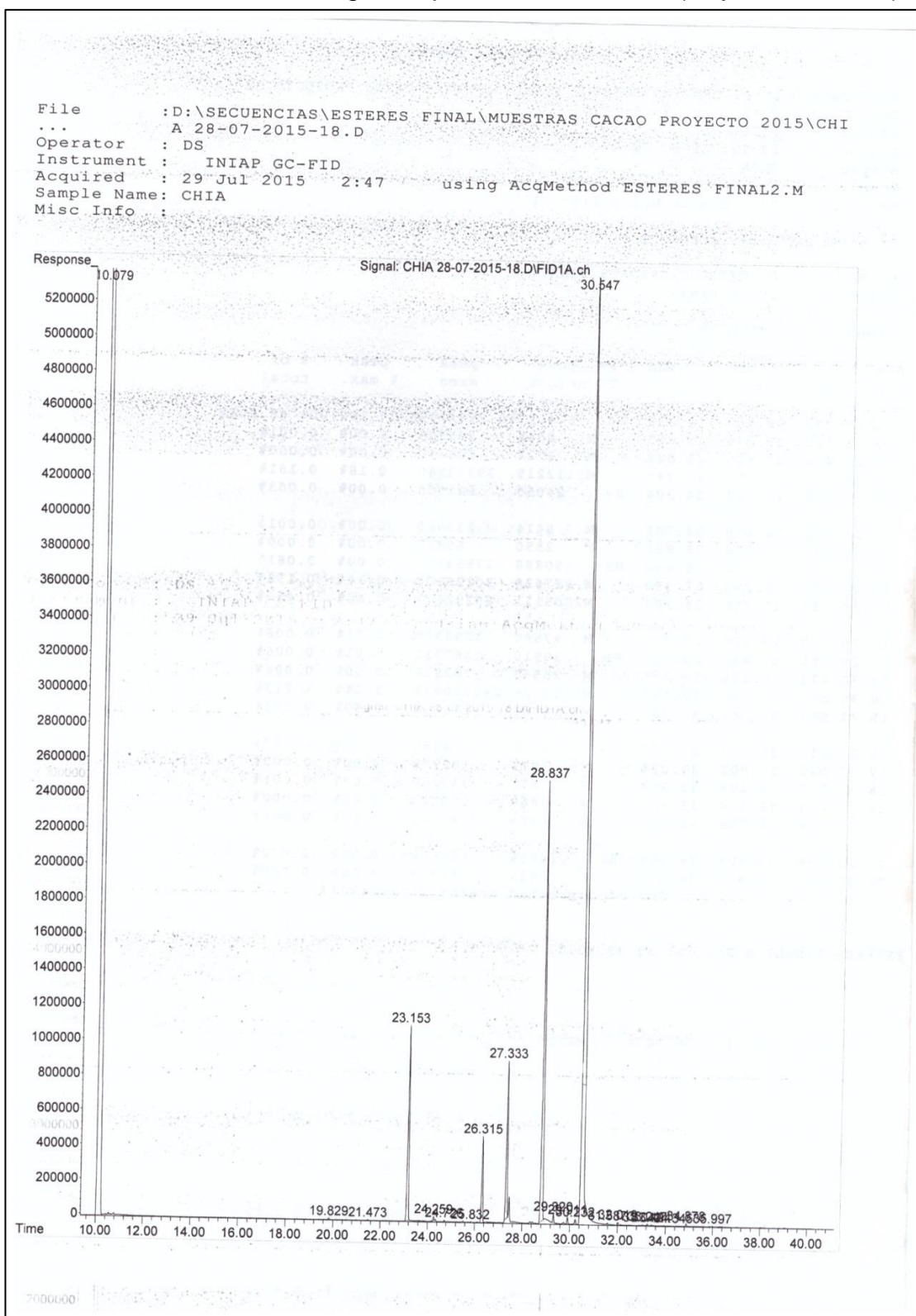
## Anexo 46. Curvas de ácidos grasos presentes en la chía (mejor tratamiento)



## Anexo 47. Informe ácidos grasos del mejor tratamiento

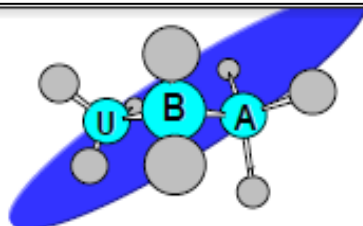
Area Percent Report								
Data Path : D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\								
Data File : CHIA 28-07-2015-18.D								
Signal(s) : FID1A.ch								
Acq On : 29 Jul 2015 2:47								
Sample : CHIA								
Misc :								
ALS Vial : 23 Sample Multiplier: 1								
Integration File: autoint1.e								
Method : D:\METODOS\ESTERES FINAL2.M								
Title : CURVA FAMES								
Signal : FID1A.ch								
peak #	R.T. min	Start min	End min	PK TY	peak height	peak area	peak % max.	% of total
1	10.079	9.983	10.323	BB	752462760	21343496037	100.00%	98.004%
2	19.829	19.771	19.893	M	8085	243809	0.00%	0.001%
3	21.473	21.420	21.526	M	3727	108340	0.00%	0.000%
4	23.153	23.050	23.246	M	1112219	39312840	0.18%	0.181%
5	24.259	24.203	24.304	PV	24050	642968	0.00%	0.003%
6	24.726	24.679	24.781	M	8414	239859	0.00%	0.001%
7	25.832	25.794	25.882	M	2550	69817	0.00%	0.000%
8	26.315	26.204	26.453	BB	490888	17554151	0.08%	0.081%
9	27.333	27.253	27.390	M	897629	30125509	0.14%	0.138%
10	28.837	28.715	28.907	M	2505111	99222347	0.46%	0.456%
11	29.320	29.269	29.372	M	47580	1292998	0.01%	0.006%
12	29.911	29.836	30.008	BB	38910	1267731	0.01%	0.006%
13	30.232	30.184	30.296	M	25566	782914	0.00%	0.004%
14	30.547	30.435	30.583	M	5189225	242310943	1.14%	1.113%
15	31.587	31.543	31.629	M	6763	175298	0.00%	0.001%
16	32.019	31.922	32.077	BV	14271	404350	0.00%	0.002%
17	33.042	33.002	33.094	M	3873	102278	0.00%	0.000%
18	33.247	33.193	33.310	M	7677	233809	0.00%	0.001%
19	33.424	33.378	33.466	M	3869	100113	0.00%	0.000%
20	34.345	34.298	34.406	M	1413	46049	0.00%	0.000%
21	34.878	34.803	34.958	BB	751485460	24546806030	0.00%	0.002%
22	35.997	35.957	36.033	M	2414	262239	0.00%	0.000%
Sum of corrected areas:						321778249077	0.00%	0.000%
ESTERES FINAL2.M Thu Jul 30 09:50:03 2015								
7	25.832	25.794	25.882	M	2550	69817	0.00%	0.000%
10	28.837	28.715	28.907	M	2505111	99222347	0.46%	0.456%

### Anexo 48. Curvas de ácidos grasos presentes en la chía (mejor tratamiento)





**Anexo 49.** Informe de perfil de aminoácidos del aislado proteico de la semilla chía.



**Analytical  
Laboratories**  
Testing & Consulting

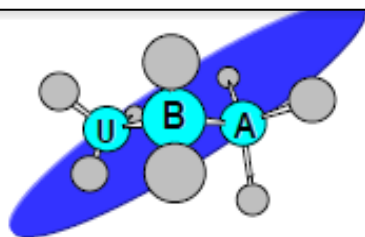
WWW.UBA-LAB.COM

**INFORME DE RESULTADOS**  
**IDR 10606-2015**

Fecha: 20 de Agosto del 2015

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	ELIZABETH MOSQUERA QUELAL					
Dirección	Nulez de Vela N36-121 y Corea					
Teléfono	2924163					
Contacto	Ing. Elizabeth Mosquera Quelal					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Chia	Cantidad	Aprox. 100 g			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	N/A			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	08 de Agosto del 2015			
Toma de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha toma de muestra	N.A.			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	21.5	Humedad (%)	45.0			
Fecha de Inicio de Análisis	08 de Agosto del 2015					
Fecha de Finalización del análisis	11 de Agosto del 2015					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidad	Limite Detección (ppm)
Proteína Aislada Chia	UBA-10606-1	Acido Aspartico	Burbach. Rudolph Institute	6.70	gAA/100g	2.00
		Acido Glutamico		2.05		
		Serina		3.32		
		Histidina		6.39		
		Treonina		4.84		
		Glicina		3.05		
		Arginina		4.01		
		Alanine		3.22		
		Tirosina		3.05		
		Valina		3.24		
		Metionina		2.52		
		Fenilalanina		4.08		
		Isoleucina		2.78		
		Leucina		4.88		
		Lisina		3.73		
Proteína verdadera (%)	63.87					
<b>Observaciones:</b>						
1. Los resultados emitidos en este Informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote.						
2. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio.						
3. Nomenclatura: N.E. = No Estimado; N.A. = No aplica; AA = Aminoácidos						

Anexo 50. Informe de perfil de aminoácidos de harina liofilizada de chía



**Analytical  
Laboratories**  
Testing & Consulting

WWW.UBA-LAB.COM

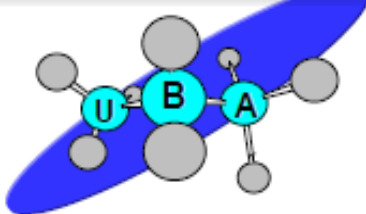
**INFORME DE RESULTADOS**

IDR 10386-2015

Fecha: 04 de Agosto del 2015

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	ELIZABETH MOSQUERA QUELAL					
Dirección	Nufez de Vela N36-121 y Corea					
Teléfono	2924163					
Contacto	Ing. Elizabeth Mosquera Quelal					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Chía	Cantidad	Aprox. 300 g			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	N/A			
Presentación	Funda plástica transparente	Fecha de recepción	29 de Julio del 2015			
Toma de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha toma de muestra	N.A.			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	22.8	Humedad (%)	53.0			
Fecha de inicio de Análisis	30 de Julio del 2015					
Fecha de Finalización del análisis	31 de Julio del 2015					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidad	Limite Detección (ppm)
Semilla Liofilizada Molida	UBA-10386-1	Acido Aspartico	Burbach. Rudolph Institute	0.81	gAA/100g	2.00
		Acido Glutamico		0.25		
		Serina		0.95		
		Histidina		0.80		
		Treonina		0.59		
		Glicina		0.38		
		Arginina		0.62		
		Alanine		0.49		
		Tirosina		0.36		
		Valina		0.45		
		Metionina		0.23		
		Fenilalanina		0.49		
		Isoleucina		0.34		
		Leucina		0.61		
		Lisina		0.32		
Proteina verdadera (%)	7.70					
<b>Observaciones:</b>						
1. Los resultados emitidos en este Informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote.						
2. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio.						
3. Nomenclatura: N.E. = No Estimado; N.A. = No aplica; AA = Aminoácidos						
4. Informe entregado con retraso por problemas en la Instrumentación analítica.						

**Anexo 51.** Informe de perfil de aminoácidos del aislado proteico de la semilla de quinua.



**Analytical  
Laboratories**  
Testing & Consulting

WWW.UBA-LAB.COM

---

**INFORME DE RESULTADOS**  
**IDR 9829-2015**

Fecha: 03 de Julio del 2015

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	NAZATE FRAGA KARINA FERNANDA					
Dirección	Ibarra , barrio la Victoria, calle: Av. Aurelio Espinosa 4-39 y Jorge Guzmán Rueda					
Teléfono	09-93790654					
Contacto	Srta. Karina Nazarte Fraga					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada de Quinoa	Cantidad	Aprox. 300 g			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	N/A			
Presentación	Funda plástica transparente	Fecha de recepción	24 de Junio del 2015			
Toma de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha toma de muestra	N.A.			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	25.8	Humedad (%)	48.5			
Fecha de Inicio de Análisis	26 de Junio del 2015					
Fecha de Finalización del análisis	27 de Junio del 2015					
RESULTADOS						
PERFIL DE AMINOACIDOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidad	Limite Detección
Proteína Hidrolizada de Quinoa	UBA-9829-1	Acido Aparico	Burbach. Rudolph Institute	4.36	gAA/100g	2.00 ppb
		Acido Glutámico		1.40		
		Serina		5.45		
		Histidina		4.28		
		Treonina		7.35		
		Glicina		4.63		
		Arginina		3.25		
		Alanine		4.69		
		Tirosina		2.21		
		Valina		2.43		
		Metionina		1.62		
		Fenil alanina		2.56		
		Isoleucina		2.08		
		Leucina		3.83		
		Lisina		3.29		
		Proteína verdadera (%)	53.42			

FOR ADM. 04 R01

Página 1 de 2

**CONTROL DE CALIDAD**

ALIMENTOS      FARMACEUTICOS      AMBIENTALES      COSMETICOS