



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS PRESENTES EN CHÍA
(*Salvia hispánica L.*), POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR FID

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

Profesora Guía
Mgt. María Elizabeth Mosquera Quelal

Autora
Diana Soledad Sotomayor Recalde

Año
2016

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con la estudiante 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”

Diana Soledad Sotomayor Recalde
CI.: 1722778030

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por acompañarme todos los días y regalarme la dedicación para culminar esta etapa de mi vida.

A mi familia, por su cariño, aliento y ejemplo, en especial por los valores y principios que me han formado como persona. A mis padres y hermana, todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

A mi Tutora de Tesis Mgt. Elizabeth Mosquera por su tiempo y criterio. Ha sido un privilegio contar con su ayuda y guía.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) especialmente al Dr. Iván Samaniego por su valioso aporte técnico a este trabajo de titulación.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres, José Eduardo y Marilú, han sido luz, amor y los pilares fundamentales en mi vida, por brindarme su apoyo incondicional y por depositar su confianza en cada reto presentado sin dudar ni un momento de mi capacidad.

A mi hermana, María Eduarda, por ser mi mejor amiga y brindarme su ayuda siempre, sin necesidad de muchas palabras, ha estado siempre a mi lado.

Les dedico este logro, por su motivación constante, por impulsarme siempre a cumplir mis sueños. Y por enseñarme que con dedicación, esfuerzo y sacrificio, todo es posible.

RESUMEN

En los últimos años la tendencia a buscar productos naturales utilizados en la elaboración de alimentos funcionales ha ido en aumento. En este marco se incluye a la chía (*Salvia hispánica L.*), que ha demostrado poseer un alto contenido de ácidos grasos ω , proteína y fibra en la composición de su semilla. El objetivo de este estudio fue caracterizar y cuantificar el perfil de ácidos grasos presentes en la chía y compararlos con aceites del mercado, para lo cual se escogió la semilla del cantón Colta, provincia de Chimborazo. Se realizó la extracción del aceite con éter de petróleo por medio de la separación de fases en el equipo Soxhlet, posteriormente este aceite se recogió y se utilizó para determinar la composición de ácidos grasos previo esterificación de las muestras y concentración de la fase orgánica para su análisis en el cromatógrafo de gases para su caracterización. A continuación se realizó la comparación con los perfiles de ácidos grasos de los aceites de aguacate, canola y palma con el fin de establecer el perfil beneficioso que podría tener la chía. La comparación con los aceites mencionados se realizó utilizando el análisis multivariado tomando como variables los porcentajes de cada uno de los ácidos grasos, los cuales hacen que en conjunto el perfil de ácidos grasos sea diferente entre los aceites evaluados. Después de la adaptación del método al cromatógrafo de gases que se opera en el Laboratorio de Calidad del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y que se realizó evaluando los parámetros de linealidad, tiempos de retención, límites de detección, cuantificación y precisión del método, se obtuvo que la chía de Colta contiene en mayores cantidades; ácido heneicosanóico (56,03%), ácido linoleico (17,29%), ácido palmítico (6,87%), y ácido oleico (5,85%), entre otros. Se concluyó que existe una coincidencia entre los ácidos grasos del aceite de palma y aguacate, ligeramente diferente el aceite de canola y totalmente diferente el aceite de chía. Los ácidos grasos representativos fueron; ácido oleico, ácido linoléico, ácido palmítico y ácido heneicosanoico.

ABSTRACT

In recent years the tendency to seek natural products used in the production of functional foods has increased. In this context it includes chia (*Salvia hispanica* L.), which has demonstrated a high content of ω fatty acids, protein and fiber in the composition of the seed. The aim of this study was to characterize and quantify the profile of fatty acids in chia and to compare it with oils on the market, for which the seed of the canton Colta, Chimborazo province was chosen. First, the oil extraction was performed with petroleum ether by phase separation in the Soxhlet equipment, and then this oil was collected and used to determine the fatty acid composition of the samples prior esterification and concentration of the organic phase for analysis in gas chromatograph for its characterization. Then, it takes place the comparison of the fatty acid profiles of avocado oil, canola oil and palm oil, in order to establish the beneficial profile chia could be performed. After adapting the method to the gas chromatograph at the Quality Laboratory of the Instituto Ecuatoriano de Investigaciones Agropecuarias and was evaluating the parameters of linearity, retention times, limits of detection, quantification and precision of the method, it was found that chia Colta contains larger amounts; heneicosanoic acid (56.03%), linoleic acid (17.29%), palmitic (6.87%) acid, and oleic acid (5.85%) acid, among others. Comparison with said oils was performed using multivariate analysis taking as variables the percentages of each of the fatty acids which make together the fatty acid profile differs from oils evaluated. It was concluded that there is a match between the fatty acids of palm oil and avocado oil slightly different and totally different canola oil chia. Representative fatty acids were; oleic acid, linoleic acid, palmitic acid and heneicosanoic acid. It is recommended to analyze the agronomic factors that can affect the composition of fatty acids in the Ecuadorian chia.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS.....	3
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos	3
1. MARCO TEÓRICO	4
1.1 Chía (<i>Salvia Hispánica L.</i>).....	4
1.1.2 Producción de chía en Ecuador	4
1.1.3 Composición bioquímica y nutricional de la chía	5
1.2 Aceites y grasas en alimentos.....	6
1.3 Ácidos grasos.....	8
1.3.1 Ácidos grasos en semillas de chía.....	9
1.4 Metodología para la identificación de ácidos grasos	11
1.4.1 Perfil de ácidos grasos.....	11
2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	19
2.1 Preparación de muestras de chía.....	19
2.1.1 Equipo y material utilizado	19
2.1.2 Procedimiento de preparación de muestras	20
2.2 Determinación del contenido de materia grasa total.....	21
2.2.1 Reactivos	21
2.2.2 Equipo y materiales	21
2.2.3 Procedimiento de extracción de la materia grasa	21
2.3 Identificación de ácidos grasos	23
2.3.1 Reactivos	24
2.3.2 Equipos y materiales.....	24
2.3.3 Procedimiento de esterificación de muestras	25
2.3.4 Condiciones cromatográficas.....	27
2.4 Análisis Cualitativo	28

2.5 Análisis Cuantitativo	28
2.6 Adaptación de la metodología analítica	28
2.6.1 Linealidad	28
2.6.2 Límite de detección y límite de cuantificación	30
2.6.3 Precisión	30
2.7 Análisis Proximal	31
2.7.1 Humedad	31
2.7.2 Determinación de cenizas.....	33
2.7.3 Determinación de proteína.....	34
2.7.4 Determinación del extracto etéreo por extracción con hexano	36
2.7.5 Cuantificación de fibra cruda	38
2.8 Comparación con otros aceites.....	39
2.8.1 Análisis multivariado	40
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
3.1 Estandarización de la metodología	41
3.2 Linealidad y rango lineal.....	41
3.3 Tiempo de retención	42
3.4 Límite de detección y límite de cuantificación	47
3.5 Precisión del método	49
3.6 Identificación y cuantificación de ácidos grasos del aceite de chía por cromatografía de gases.....	50
3.7 Análisis Proximal y composición química de la semilla de chía	54
3.8 Comparación de la calidad del aceite de la chía con otros aceites comestibles.....	55
3.9 Análisis multivariado en la composición de aceites	58
3.9.1 Ácidos grasos representativos en el estudio multivariado	60
4. ESTIMACIÓN ECONÓMICA PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE CHÍA.....	64
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	67

5.1 CONCLUSIONES.....	67
5.2 RECOMENDACIONES.....	68
REFERENCIAS	69
ANEXOS	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de semilla de chía (g/100g)	5
Tabla 2. Ácidos grasos en fuentes alimentarias	8
Tabla 3. Contenido y composición de ácidos grasos de aceite de semilla de chía cultivada en diversos países de América.....	10
Tabla 4. Composición de ácidos grasos en aceite de semilla de chía	10
Tabla 5. Composición de ácidos grasos en aceite de aguacate.....	16
Tabla 6. Composición de ácidos grasos en aceite de canola.....	17
Tabla 7. Ácidos grasos en aceite de palma.....	18
Tabla 8. Condiciones del equipo SOXTEC 2043 para porcentajes de grasa. ...	37
Tabla 9. Preparación de estándares para curvas de calibración de cromatógrafo en ácidos grasos.	41
Tabla 10. Ecuaciones lineales y R ² de los ácidos grasos encontrados.....	46
Tabla 11. Límites mínimos de detección y cuantificación para los ácidos grasos	48
Tabla 12. Análisis de la precisión del método según el coeficiente de variación en dos muestras de chía.	49
Tabla 13. Ácidos grasos detectados en el aceite de chía según el tiempo de retención.....	50
Tabla 14. Porcentaje de ácidos grasos presentes en chía	52
Tabla 15. Análisis proximal para la semilla de chía (INIAP)	54
Tabla 16. Ácidos grasos presentes en aceites estudiados.....	56
Tabla 17. Cantidad de ácido oleico en cada uno de los aceites estudiados	60
Tabla 18. Cantidad de ácido linoleico en cada uno de los aceites estudiados .	61
Tabla 19. Cantidad de ácido heneicosanoico en los aceites estudiados.....	62
Tabla 20. Cantidad de ácido palmítico en los aceites estudiados	63
Tabla 21. Rendimiento del aceite de chía, extracción por solvente éter de petróleo	64
Tabla 22. Porcentajes de ácidos grasos ω en aceites de aguacate, canola, palma y chía	65

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Molécula de glicerol.....	7
<i>Figura 2.</i> Molécula de triglicérido.....	7
<i>Figura 3.</i> Perfil cromatográfico de ácidos grasos presentes en aceite de semillas de chía (<i>Salvia hispánica L.</i>)	15
<i>Figura 4.</i> Harina de chía tamizada	20
<i>Figura 5.</i> Harina de chía almacenada	20
<i>Figura 7.</i> Preparación del equipo Soxhlet	22
<i>Figura 6.</i> Muestras de harina de chía pesada en dedales de celulosa.....	22
<i>Figura 8.</i> Muestras en el equipo Soxhlet	23
<i>Figura 9.</i> Muestras de aceite de chía	23
<i>Figura 11.</i> Separación de la fase orgánica.....	26
<i>Figura 10.</i> Muestras de aceite de chía con 1 ml de solución KOH/metano 0,5M.....	26
<i>Figura 12.</i> Muestras en el cromatógrafo de gases	26
<i>Figura 13.</i> Muestras en secado con nitrógeno	27
<i>Figura 14.</i> Cromatógrafo de gases con detector FID marca <i>Agilent Technologies 7890A</i>	28
<i>Figura 15.</i> Gráfica del tiempo de retención para C4, C6, C8, C10, C12, C14.	42
<i>Figura 16.</i> Gráfica del tiempo de retención para C18:0, C18:1n9c, C20:0, C22:0 y C24:0	43
<i>Figura 17.</i> Gráfica del tiempo de retención para C16.....	43
<i>Figura 18.</i> Gráfica del tiempo de retención para C11, C13, C14:1, C15:1, y C16:1.....	44
<i>Figura 19.</i> Gráfica del tiempo de retención para C17:0, C17:1, C18:1n9t, C18:2n6t, C18:2n6c, C18:3n6.....	44
<i>Figura 20.</i> Gráfica del tiempo de retención para C20:3n3, C23:0, C20:4n6c, C22:2, C20:5n3, C24:1, C22:6n3	45
<i>Figura 21.</i> Gráfica del tiempo de retención para C20:3n3, C23:0, C20:4n6, C22:2, C20:5n3, C24:1 y C22:6n3	45

<i>Figura 22. Ácidos grasos presentes en la semilla de chía</i>	<i>51</i>
<i>Figura 23. Proyección de las variables en el plano factorial de aceites de chía, aguacate, canola y palma.....</i>	<i>59</i>

INTRODUCCIÓN

La chía (*Salvia hispánica L.*) es un cultivo autóctono de Mesoamérica con una extensa historia agrícola. Existe una alta posibilidad de que haya sido originaria de los territorios en los que en actualidad se encuentran la República mexicana y Guatemala (Ayerza y Coates, 2005).

La principal característica de las semillas de chía es la cantidad de ácidos grasos esenciales que tiene en su composición. Las investigaciones revelan que 970 g/kg del aceite de chía se compone de lípidos neutros (Bushway, Wilson, Houston, & Bushway, 1984) y 574 g/kg de éstos, son ácido linolénico, conocido como omega-3 ($\omega 3$), posee además fibra, proteínas de alto valor biológico y antioxidantes naturales que protegen la semilla contra ciertas condiciones adversas. Además contienen otros importantes componentes nutricionales tales como vitaminas y minerales (Ayerza y Coates, 2005). Su consumo se relaciona con importantes beneficios en la disminución al riesgo de sufrir enfermedades relacionadas con la salud cardiovascular (Bemelmans, y otros, 2002).

El consumo de aceites vegetales comestibles en la ingesta diaria es muy importante ya que la grasa es uno de los macronutrientes que la componen. Es así como las autoridades sanitarias recomiendan aumentar el consumo de ácido graso poliinsaturado omega-3, en especial los de cadena larga (EPA y DHA), cuya fuente principal es el pescado. Dichos aceites en su forma natural poseen triglicéridos, que se constituyen de ácidos grasos insaturados, vitaminas liposolubles y ácidos grasos esenciales (Rodríguez y Magro, 2008).

La chía se ha estudiado en otros países como Chile, México y Cuba, pero desde su introducción en Ecuador, en el año 2005 por medio de la empresa Corporación Internacional Chía S.A., la cual lleva a cabo la explotación del cultivo en el norte y región costa central del país, no se han evaluado las semillas bioquímicamente por lo que es importante establecer un perfil de ácidos grasos debido a que la grasa forma parte importante de su composición (PRO ECUADOR, 2014).

La cromatografía de gases es una de las principales metodologías utilizadas para determinación del perfil de ácidos grasos en alimentos como la chía. En la chía, se ha utilizado el perfil cromatográfico de ácidos grasos en semillas de chía para la determinación del contenido de ácidos grasos saturados e insaturados. El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias goza de un cromatógrafo de gases con el cual se ha venido trabajando en investigaciones previas, el mismo que requiere una metodología estandarizada para la determinación de perfiles de ácidos grasos.

Por lo antes expuesto, el presente trabajo de titulación se planteó como un estudio de cuantificación y caracterización de ácidos grasos presentes en chía y en tres aceites adicionales, contribuyendo de esta manera a la investigación de la chía en el Ecuador, además de adaptar una metodología acorde a un cromatógrafo de gases con detector FID con el fin de establecer el perfil de ácidos grasos y posteriormente realizar un análisis comparativo que permita revisar los beneficios nutricionales de cada ácido graso. Se evaluaron distintos aspectos y parámetros para el tratamiento de las muestras y de la esterificación de las mismas, así como para la correcta caracterización y cuantificación de los ácidos grasos. Se expusieron también los aspectos que definen la calidad global de un aceite para aplicarlos en la obtención de alimentos funcionales.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Caracterizar los ácidos grasos presentes en la chía (*Salvia hispánica L.*), por medio de cromatografía de gases con detector FID para la evaluación del aceite y su comparación con productos afines.

Objetivos específicos

- Obtener muestras de aceite de chía y su posterior preparación para el análisis cromatográfico mediante esterificación de ácidos grasos.
- Adaptar la metodología analítica para la identificación del perfil de ácidos grasos presentes en cuatro muestras de aceites.
- Comparar el aceite de chía con aceites de otras semillas oleaginosas mediante el análisis de ácidos grasos y la condición bromatológica de los mismos.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Chía (*Salvia Hispánica L.*)

Las semillas de chía pertenecen a la familia de las *Lamiaceae*, en la cual sobresalen arbustos, hierbas, enredaderas y pocas veces árboles, son plantas con flores de color azul violáceo y sus tallos usualmente cuadrangulares, alcanza 245 géneros y alrededor de 7.900 especies, de los cuales 80 pertenecen al género *Salvia*, lo cual la convierte en uno de los grupos del reino vegetal más grandes (Ayerza y Coates, 2005).

Las semillas de chía denominadas científicamente *Salvia hispánica L.*, provienen de una herbácea anual del mismo nombre, su cultivo requiere un clima tropical o sub-Tropical, además de suelos arenosos soportando también los suelos de moderada fertilidad, no requiere de mucha lluvia para su desarrollo, su planta tiene hojas anchas con ramificaciones opuestas, un tallo hueco y cuadrado que dependiendo del momento en el que sea plantada llega a obtener una altura que varía desde el 1.20 metros a 2 metros de altura, con un ancho de entre 0.4 a 0.6 metros. Las semillas de chía tienen forma ovalada y cuentan con varios colores o tonalidades que van desde un tono blanco hasta un negro moteado, destacando su tamaño relativamente pequeño de aproximadamente 1,5 mm de ancho y 2 mm de largo (Ayerza y Coates, 2005).

1.1.2 Producción de chía en Ecuador

La producción de semillas de chía en el Ecuador se lleva a cabo desde el año 2005, su introducción fue estimulada por la empresa Corporación Internacional Chía S.A. que comenzó explotación en la zona norte del país en provincias como Imbabura y Pichincha, también en la región costa central en las provincias de Los Ríos y Santa Elena. Ecuador tiene muy poca experiencia en este tipo de cultivos, desde el año 2008 se han exportado a varios países unas 579.1 toneladas y la superficie plantada actualmente, es de 500 hectáreas reconocidas. Las empresas y personas en particular que se dedican a este cultivo son escasas por lo cual se genera una oportunidad de ingreso para nuevos competidores que puedan satisfacer la demanda creciente de semillas

de chía, ya que no requiere sistemas complejos de producción y se encuentra en pleno apogeo (PRO ECUADOR, 2014).

Actualmente, el mercado ecuatoriano de productores y exportadores de chía está representado principalmente por la Corporación Internacional Chía S.A que mediante esta actividad obtiene alrededor de 1.678.940 millones de ingresos, seguidos por su principal competencia, la empresa Montelia S.A con ventas de 1.658.105 millones de dólares. Kuna Chía es otra de las empresas que incursionan en la exportación de chía, gracias a su alianza con La Fabril para el 2015 cerraron su periodo con cerca de 2 millones de dólares. (Gutiérrez C. , 2015).

1.1.3 Composición bioquímica y nutricional de la chía

Las semillas de chía generalmente son fuente de compuestos lipídicos, dentro de los cuales se encuentran los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga con 2 grupos principales; los ácidos grasos ω -3 y ω -6 (Matthaus B. , 2003). La chía ha sido analizada en su composición química con el fin de caracterizarla con el análisis químico proximal. Para lo cual se ha estudiado el contenido de cenizas, humedad, proteína, cenizas, fibra dietética, carbohidratos y grasa (Jiménez, Masson, y Quitral, 2013) (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química de semilla de chía (g/100g)

Componente	Porcentaje (%)
Humedad	6,2
Proteína	19,9
Grasa	27,9
Ceniza	4,5
Hidratos de carbono	8,6
Fibra	33,0

Adaptado de P. Jiménez; L. Masson, V. Quitral, 2013, p.2-4.

Como se puede apreciar el valor de humedad es bajo, posee un contenido valioso de grasa y fibra, también es significativo el aporte proteico. Por otro lado en el artículo *Evaluación nutricional y química de semillas de chía*, el

rango de proteína se reporta de 22,1 a 33,4%, en grasa va de 19,0 al 26,5% y fibra ácido detergente se encuentra de 47,1 a 59,8% (Webber, Gentry, Kohlhepp, y McCrohan, 1992). Ayerza y Coates también aportaron a los estudios sobre la caracterización química de la chía reportando una cantidad de proteínas entre el 16 y 26%, lípidos 30,0 a 35%, carbohidratos de entre 9-41%, fibra 18 al 30% y cenizas de un 4 al 6% (Ayerza y Coates, 2011), (Coates, 2013).

1.2 Aceites y grasas en alimentos

Los alimentos deben sus características principales a los nutrientes que los componen (proteínas, lípidos, hidratos de carbono, sustancias minerales, vitaminas y agua), los cuales son capaces de conservar y construir tejidos, y de proveer la energía que se requiere diariamente (Madrid, Cenzano, y Vicente, 1997). Se pueden encontrar grasas y aceites en la mayoría de los alimentos que se consumen a diario por ejemplo en lácteos, aves, carnes y subproductos, frutos secos, y semillas oleaginosas vegetales. (Bailey, 2001).

Las grasas integran un componente muy importante en la dieta humana junto con los otros nutrientes. Las grasas son el recurso primordial de energía, al facilitar casi 9 kcal/g mientras que los carbohidratos y las proteínas proveen 4 kcal/g cada uno. Algunos alimentos grasos son fuentes de vitaminas liposolubles (A, D, E, y K) y la incorporación de alimentos grasos mejora la absorción de las mismas. Las grasas son también componentes de esenciales de membranas celulares y son vitales para obtener una dieta bien equilibrada (Lawson, 1999).

Aceites y grasas están conformados por el átomo de carbono con una valencia de 4, que se acopla con otros átomos de carbono para formar enlaces o reaccionar con otros elementos y es básico en la química alimentaria, en la cual se incluyen aceites y grasas. (Madrid, Cenzano, y Vicente, 1997).

Aceites y grasas son mezclas de triglicéridos. Su composición puede observarse en la figura 1.

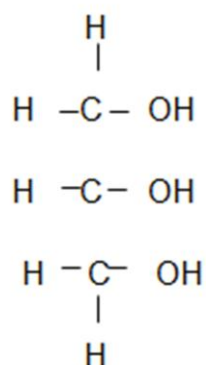


Figura 1. Molécula de glicerol

Adaptado de Manual de aceites y grasas comestibles por A. Madrid; I. Cenzano; J.M. Vicente 1997. AMV Ediciones, Mundi Prensa.

La molécula de un triglicérido es el resultado de una molécula de glicerol con 3 átomos de carbono, 5 átomos de hidrogeno y 3 grupos OH o hidroxilo, al combinarse con 3 ácidos (Madrid, Cenzano, & Vicente, 1997) (Figura 2).

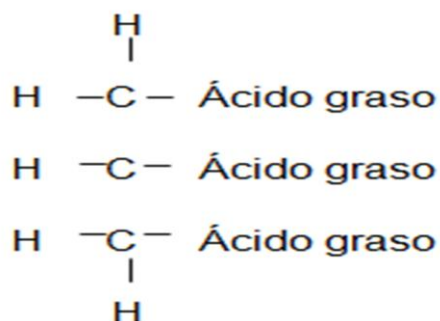


Figura 2. Molécula de triglicérido

Adaptado de Manual de aceites y grasas comestibles por A. Madrid; I. Cenzano; J.M. Vicente 1997. AMV Ediciones, Mundi Prensa.

Los aceites y grasas de origen vegetal son cuantiosos y cumplen con un rol muy importante en la nutrición del ser humano. Los podemos hallar en semillas y diversos frutos como por ejemplo, el olivo, girasol, maní, soya, algodón, maíz, canola, entre otros. Existen muchas fuentes de aceites y grasas de origen vegetal o animal que se usan frecuentemente para la producción de alimentos

Los ácidos grasos se encuentran también en diferentes alimentos, como se puede observar en la tabla 2.

Tabla 2. Ácidos grasos en fuentes alimentarias

Nombre	Átomos de carbono	Dobles enlaces	Puntos de fusión (°C)	Mayoritariamente presentes en:
Butírico	4	0	-8	Mantequilla
Laurico	12	0	44	Aceite de coco
Mirístico	14	0	54	Mantequilla, aceite de coco, aceite de palma
Palmítico	16	0	63	Grasas animales, aceite de palma
Esteárico	18	0	69	Sebo, manteca de cacao, manteca de cerdo, mantequilla
Oleico	18	1	14	Oliva, maní, manteca de cerdo, palma, maíz, chía, canola, colza
Linoléico	18	2	-5	Soya, cártamo, girasol, maíz
Linolénico	18	3	-11	Soya, canola
Araquidónico	20	4	-40	Manteca de cerdo, algunos aceites de pescado, sebo.

Adaptado de H. Lawson, 1999, p. 23.

1.3 Ácidos grasos

Los ácidos grasos son cadenas rectas alifáticas y pueden ser saturadas o insaturadas, están formadas de un número par de átomos de carbono y un grupo carboxilo.

Cuando se trata de un ácido graso insaturado, se refiere a que existe un doble enlace entre 2 átomos de carbono, de esta manera, un ácido graso insaturado puede reaccionar con hidrógeno para romper el doble enlace y formar un ácido graso saturado (Lawson, 1999).

Existen ácidos grasos con uno o más dobles enlaces, entre los cuales se encuentra el ω -9, con un solo doble enlace y 18 átomos de carbono de fórmula $C_{18}H_{34}O_2$. El ácido oleico se encuentra en la naturaleza muy comúnmente, en el reino vegetal como por ejemplo el aceite de oliva y en el reino animal formando parte de los triglicéridos de las grasas de reserva (Madrid, Cenzano, y Vicente, 1997).

El exponente principal de los ácidos grasos ω -3 es el ácido α -linolénico ($C_{18:3}$), que posteriormente se transforma en ácido eicosapentaenoico y luego en el ácido docosahexaenoico. Por otro lado, el ejemplo principal de los ácidos grasos ω -6 es el ácido linoleico ($C_{18:2}$) y uno de sus derivados más importantes es el ácido araquidónico. Los ácidos grasos mencionados son importantes componentes estructurales de los fosfolípidos de las membranas celulares (Madrid, Cenzano, y Vicente, 1997; Graciani Constante, 2006).

1.3.1 Ácidos grasos en semillas de chía

La cuantificación y caracterización de ácidos grasos en semillas de chía han sido analizadas en algunas partes del mundo. El contenido de aceite presente en la chía es de aproximadamente 33%, dentro del cual el ácido linolénico va del 62-64% (Ayerza, 1995). Existen desigualdades por la influencia de elementos ambientales y de cultivo que se dan en cada país. La tabla 3 muestra el contenido y estructura del aceite de semilla de chía a partir de cultivos en diferentes países.

Tabla 3. Contenido y composición de ácidos grasos de aceite de semilla de chía cultiva en diversos países de América

País	Aceite (g/100g semilla)	Palmítico (%)	Estearico (%)	Oleico (%)	Linoleico (%)	α -Linolénico (%)
Argentina	34	7	3	6,7	19,5	63,1
Bolivia	32,7	7,4	2,7	7,1	18,7	63,6
Colombia	29,9	7,5	3,5	7,6	19,2	57,9
México	31	6,7	3,3	7,5	19,6	61,6
Perú	32,4	7,2	3	6,9	18,4	64,2

Nota: Adaptado de Ayerza R, Coates W, 2005, p.197.

En todos los países el contenido de ácido α - linolénico es el más alto, seguido del ácido linoleico y de manera similar el ácido oleico. La tabla 4, revela los datos de un estudio llevado a cabo en la Universidad de Chile en cuanto a identificación de ácidos grasos de semilla de chía cultivada en este país.

Tabla 4. Composición de ácidos grasos en aceite de semilla de chía

Ácidos grasos	Chía (%)
Ác. Láurico	
Ác. Mirístico	0,08 \pm 0,00
Ác. Palmítico	7,29 \pm 0,17
Ác. Heptadecanoico	0,03 \pm 0,04
Ác. Estearico	3,84 \pm 0,09
Ác. Eicosanoico	0,23 \pm 0,00
Ác. Docosanoico	Trazas
Ác. Tetracosanoico	Trazas
Ácidos grasos saturados totales	11,47
Ác. Palmitoleico	0,06 \pm 0,00
Ác. Elaídico	1,91 \pm 0,29
Ác. Oleico	8,91 \pm 0,30
Ác. Octadecaenoico	1,31 \pm 0,05
Ác. Eicosaenoico	0,12 \pm 0,00
Ácidos grasos Monoinsat. Totales	12,25
Ác. Hexadecadienoico	0,18 \pm 0,00
Ác. Octadecadienoico trans	0,89 \pm 0,12
Ác. Linoleico	19,36 \pm 0,16
Ác. Eicosadienoico	0,28 \pm 0,03
Ác. α Linolénico	0,08 \pm 0,01
Ác. Linolénico	51,82 \pm 1,49
Ácidos grasos Poliinsat. Totales	72,61
No identificados	1,47

Adaptado de Jiménez, P. Masson, L. Quitral, V, 2013.

El valor más representativo corresponde al ω -3 con un aproximado de 51.82%, seguido por el ω -6 con un 19.36%, el ω -9 y el ácido palmítico con un 8.91% y un 7.29% correspondientemente.

Las semillas de chía han resurgido debido a que varios estudios revelaron su elevado contenido de ácido α -linolénico. En el estudio *Características preliminares del aceite de semillas de Salvia hispanica L. cultivadas en Cuba* se determinó la composición de ácidos grasos en lotes de aceites a partir de semillas de chía cultivadas en Cuba, dando como resultado un elevado porcentaje en ácido α - linoleico (58%), seguido el linoleico (20,9%).

1.4 Metodología para la identificación de ácidos grasos

La cromatografía de gases es una técnica analítica de separación muy utilizada en muchas ramas de la ciencia. Esta técnica consigue la separación de componentes con propiedades particulares gracias al paso de una muestra de una fase estacionaria con la ayuda de la fase móvil, por lo cual es importante conocer cómo se encuentran relacionados factores experimentales que forman parte del mismo (Razmilic, 2015). Las señales que emite el detector se registran en una serie de picos que constituyen el cromatograma. La posición de los picos corresponde al tiempo de retención y se usa con fines cualitativos, mientras que el tamaño de los mismos se relaciona con la concentración de los solutos en la muestra (Varcárcel y Gómez, 1988).

El cromatograma es la representación esquemática de la señal en función al tiempo de retención, que con la ayuda de un sistema de detección y registro dibuja una serie de picos que responden la naturaleza de la solución que contiene la muestra en función del tiempo (Rubinson y Rubinson, 2001).

1.4.1 Perfil de ácidos grasos

La cromatografía de gases ha sido utilizada para la mayoría de análisis y determinación del perfil de ácidos grasos.

Análisis cualitativo: gracias al análisis cromatográfico es posible determinar la información cualitativa, de manera que, se utiliza un sistema de detección que permite obtener el espectro de cada uno de los compuestos por separado y compararlo con una base de datos de espectros y de esta manera obtener muy precisamente la identidad de los componentes de la muestra (Harris, 2007).

Análisis cuantitativo: su fundamento se basa en la comparación de la altura, área o del pico del analito con la de uno o más patrones inyectados bajo las mismas condiciones cromatográficas (Harris, 2007).

1.4.2. Adaptación de la metodología analítica

Los métodos analíticos que se emplean para la producción de datos que permitan descubrir la composición química de alimentos deben ser adecuados, y es necesario el uso de técnicas analíticas exactas.

La linealidad es definida como la disposición del método analítico para alcanzar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito en un rango definido. Es determinado matemáticamente utilizando los resultados en el análisis del compuesto de interés a diversas concentraciones. Se relaciona directamente con la aplicación del método (Castillo Aguilar y González Hernández, 1997). Simultáneamente se fija el rango lineal, el cual que se refiere al intervalo que se encuentra entre la concentración mínima y máxima de analito para el cual el método ha sido ensayado (Vinagre, 2015).

Para la determinación de la linealidad es necesario preparar al menos 5 diluciones de un estándar, las mismas se inyectan mínimo por 2 ocasiones, se establece la curva de regresión sobre los puntos individuales y se grafica para su registro (Vinagre, 2015). Comellas (1994), recomienda en la validación de métodos por cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de un principio activo en un rango de 80 hasta 120% del valor teórico utilizando de 3 a 5 puntos experimentales. Por otro lado, Rampazoo (1990), especifica que si el método se emplea en estudios de estabilidad se utilizará un rango más amplio desde 0 hasta 120%.

Tiempo de retención (r^2), corresponde al tiempo transcurrido desde que se inyecta la muestra en el sistema, hasta la detección del máximo pico de elución, la retención se ejerce en función de las características moleculares de cada compuesto (Razmilic, 2015). López Valencia (2008), indica que los valores de r^2 en las curvas de calibración se acercan mucho al valor de 1, lo cual indica que las curvas se correlacionan en una línea recta. Para su estudio, propuso la metodología basada en la derivatización de ácidos grasos en un metiléster utilizando $H_2SO_4/MeOH$ al 2% y el uso del estándar comercial de mezcla de metilesteres de ácidos grasos marca RESTEK, el cual contiene 28 metilesteres de ácidos grasos.

El límite de detección es la mínima concentración detectable de manera confiable del método, es un término cualitativo. Por otro lado, el límite de cuantificación se refiere a la cantidad mínima del elemento que se encuentra en la muestra que se pondera bajo los mismos escenarios experimentales. En el estudio de *Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos*, los límites de detección y cuantificación se relacionaron con la señal/ruido, el límite de cuantificación se dedujo para la concentración que otorgue una señal 10 veces mayor a la señal producida, y el límite de detección es igual a la concentración del analito que proporcione una señal 3 veces superior a éste (López Valencia, 2008).

La precisión se establece mediante la realización de ensayos en una muestra para obtener mejores resultados y a continuación se calcula la desviación estándar. El objetivo es conocer la variabilidad del método y la existencia de errores. La recomendación para el cálculo de la precisión de un método analítico es analizar mínimo 6 inyecciones del estándar y puede medirse en condiciones repetitivas o en condiciones diferentes. Es importante indicar el intervalo de confianza alcanzado en el análisis (Vinagre, 2015).

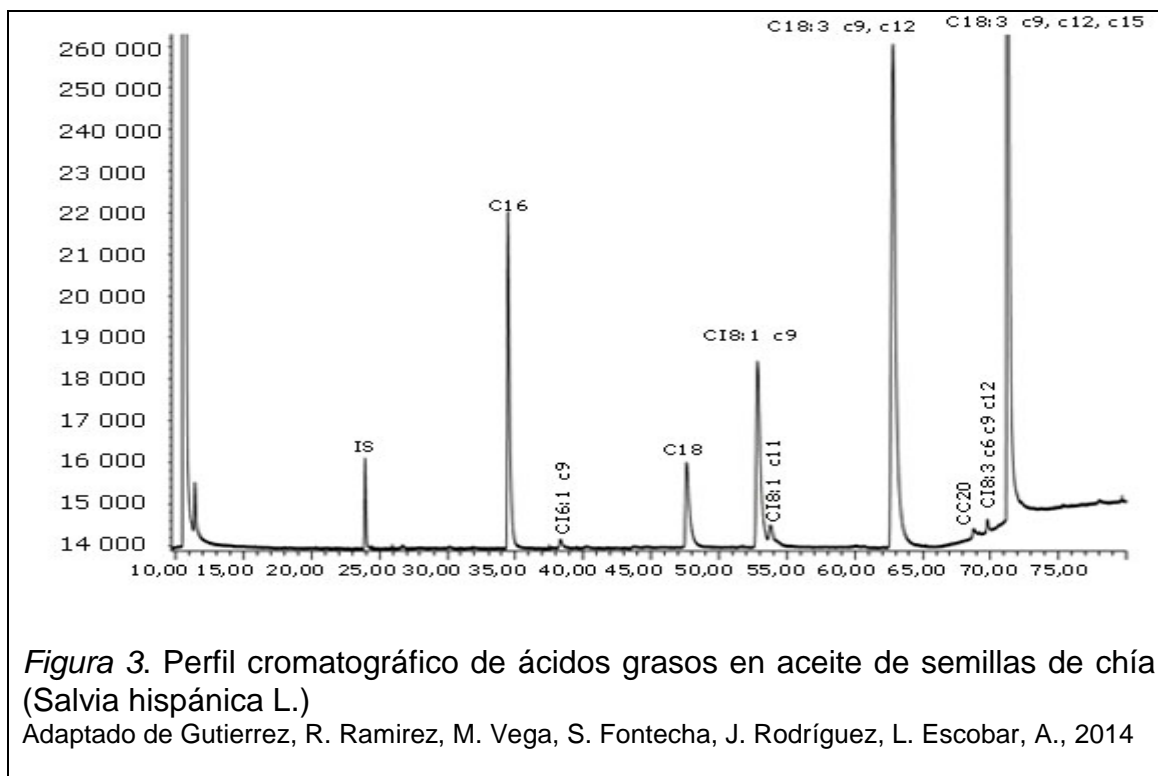
Para la calibración del método cromatográfico en el estudio de López Valencia se utilizaron diluciones del estándar de metilesteres de ácidos grasos en diversas concentraciones.

Cada compuesto identificado tuvo una concentración respecto del estándar comercial, por lo que fue preciso realizar la calibración individual de cada compuesto y al final se identificaron 21 ácidos grasos por el método de ionización química, escogido por el autor (López Valencia, 2008).

1.4.3 Identificación de ácidos grasos por cromatografía de gases en semilla de chía

Ricardo Ayerza en su artículo "*Oil content and fatty acid composition of chia (Salvia hispanica L.) from five northwestern locations in Argentina*" menciona la utilización de un cromatógrafo gas líquido Hewlett-Packard 5840^a, y de igual manera la metodología y procedimiento especificado en el Estándar Internacional ISO5509-1978. En ese estudio se analizaron semillas sembradas en diferentes lugares de Argentina, los resultados mostraron variación en el contenido de aceite y en la concentración de ácidos grasos ω en comparación a los cultivos nativos, por lo cual se examinó la influencia de la localización en la composición de los ácidos grasos en el aceite de chía (Ayerza R. , 1995).

Por otro lado, en el estudio de "*Contenido de ácidos grasos en semillas de chía (Salvia hispánica L.), cultivadas en 4 estados de México*", el análisis se efectuó en un cromatógrafo de gases Agilent 6890N, provisto de un detector de ionización de flama, para el cual se esterificaron los ácidos grasos. La caracterización de los ácidos grasos fue posible al comparar los tiempos de retención y áreas de los picos hallados en el cromatograma con los del estándar, en el mencionado estudio se usó un estándar de 37 ácidos grasos en forma de ésteres metílicos. Gutierrez y otros (2014), reportaron que los aceites obtenidos a partir de semillas cultivadas en diferentes estados de México tuvieron un perfil similar, se encontraron 9 ácidos grasos en el aceite de chía, primordialmente se encontró al ácido α -linolénico con 60,8- 63,4% y progresivamente a los ácido linolénico con 16,6- 18,5%, ácido oleico en un rango de 6,8- 7,6%, ácido palmítico con 6,8- 7,3% y el ácido esteárico con 3,1- 3,6% entre los más significativos. La variabilidad de los contenidos de ácidos grasos presentada en los aceites de este estudio, es muy probable se deba al factor origen. En la siguiente figura 3 se visualiza el cromatograma obtenido.



Como se ha evidenciado en los estudios mencionados, la cromatografía de gases ha sido utilizada para la determinación de ácidos grasos y de igual manera se ha desarrollado una metodología adaptada a cada caso y cada cromatógrafo.

1.5 Aceite de aguacate

El aguacate, perteneciente a la familia de las *Lauráceas*, ha desarrollado un creciente consumo a nivel mundial, por lo cual también han aumentado las superficies plantadas. Esta tendencia crecerá en el futuro por lo que la fabricación de productos asociados se considera como una opción cada vez más significativa. Entre los productos con valor agregado se encuentran las pulpas congeladas, productos de 4ta gama y aceites (Olaeta, 2003).

En cuanto a la obtención de aceite de aguacate se destaca que según estudios realizados el mismo contiene aproximadamente 80% de ácidos grasos insaturados, en mayor porcentaje se encuentra el donde el ácido oleico, sin embargo, al tiempo final de maduración esta proporción se ve reducida (Inoue y

Tateishi, 1995) y (Olaeta, Undurraga, & Schwartz, 1999). Entre sus características principales resalta su elevado punto de humo, además de un agradable sabor, entre otras razones es preferido por los profesionales de cocina.

En el estudio de *Extracción de aceite de aguacate: Un experimento industrial*, Martínez, Barranco y Moreno determinaron el perfil de ácidos grasos por cromatografía gaseosa y reportaron los datos de la tabla 5 (Martínez Nieto, Barranco Barranco, y Moreno Romero, 1992).

Tabla 5. Composición de ácidos grasos en aceite de aguacate

Ácido graso	Porcentaje (%)
Mirístico	0,03
Palmítico	16,55
Palmitoleico	7,17
Heptadecanoico	0,4
Esteárico	0,11
Oleico	0,48
Linoleico	63,83
Linolénico	10,93
a Linolénico	1,01
Eicosanoico	0,02

Adaptado de Martínez, L. Barranco, R. Moreno, V., 1992.

El ácido linoleico es el más representativo en el aceite de aguacate con un 63,83%.

1.6 Aceite de canola

La canola es una planta oleaginosa que forma parte de la familia de las *Crucíferas*, tiene una proporción importante de aceite, especialmente de una formidable cantidad de ácidos grasos de cadena larga. El aceite de canola es una versión modificada del aceite de colza, el cual se utilizaba con fines industriales pero no era apto para el consumo humano debido a su contenido de ácido erúxico y glucosinolatos, sustancias perjudiciales para la salud.

El problema se superó gracias a la selección de variedades cero las cuales no contienen este ácido graso dañino (Sánchez Pineda de las Infantas, 2003).

La canola, contiene alrededor del 44% de aceite, es rico en grasas monoinsaturadas. Respecto a las grasas poliinsaturadas, el aceite de canola contiene una proporción equilibrada de ácidos grasos ω -6 y ω -3. Además, el aceite de canola contiene ω -3 en su forma vegetal, ALA (ácido alfa linolénico), que no se puede utilizar hasta que se transforma en las formas animales EPA y DHA (Villarías Moradillo, 1971).

En el estudio de *El aceite de canola y sus efectos en la salud*, María Isabel Giacopini de Zambrano (2012), determinó el perfil de ácidos grasos por cromatografía gaseosa, los datos reportados se pueden observar en la tabla 6.

Tabla 6. Composición de ácidos grasos en aceite de canola

Ácido graso	Porcentaje (%)
Palmítico	4,5
Esteárico	2,0
Oleico	61
Linoleico	21
α Linolénico	9

Adaptado de Giacopini de Zambrano, M., 2012

Como se observa en la tabla, el aceite de canola presenta una alta concentración de monoinsaturados como el ácido oleico (61%), un contenido elevado de ácidos grasos esenciales como por ejemplo el ácido linoleico (C18:2n6) (21%) y α - linolenico (C18:3n3) (9 %), lo cual lo convierte en un aceite beneficioso para el organismo. (Giacopini de Zambrano, 2012).

1.7 Aceite de palma

El aceite de palma es obtenido del fruto de la palma (*Elais guineensis*). Actualmente, la palma se convirtió en la fuente principal de aceite vegetal del planeta incluso por delante de la soya, con 37 millones de toneladas

producidas en el 2006 lo cual significa el 31% de producción mundial de aceites comestibles (FAS, 2007).

La grasa del aceite de palma contiene alrededor de 50% de ácidos grasos, 40% de ácidos monoinsaturados y 10% de ácidos grasos poli insaturados y como la mayoría de aceites vegetales, comprenden niveles poco importantes de colesterol. En la tabla 7, INDUPALMA reporta los siguientes datos detallados de ácidos grasos (Indupalma, 2012).

Tabla 7. Ácidos grasos en aceite de palma

Nombre de ácido	Símbolo	Nivel (%)
Laurico	C12:0	0,4
Mirístico	C14:0	0,5- 2
Palmítico	C16:0	41-47
Palmitoleico	C16:1	0,6
Estearico	C18:0	3,5-6
Oleico	C18:1	36-44
Linoleico	C18:2	8-12
Linolenico	C18:3	0,5
Araquidico	C20:0	1

Nota: Adaptado de Indupalma, 2012.

La palma es aprovechada en su pulpa y almendra, al transformarse en productos con valor agregados se usan mayoritariamente en la industria agroalimentaria, alimentación animal, la industria química, cosmética, y recientemente ha cobrado notoriedad en estudios y proyectos futuros para agrocombustibles (Esmiol, 2008).

2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El experimento se realizó en el Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos perteneciente al Departamento de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias Estación Santa Catalina.

Se trabajó con muestras de chía (*Salvia hispánica L.*) pertenecientes a la comunidad de El Elirio, Colta en la provincia de Chimborazo. Existe una variedad de aceites en el mercado, las muestras de los aceites para el presente estudio análisis comparativo fueron; el aceite de aguacate debido a su reciente aparición y proyección de producción en el Ecuador, el aceite de canola por sus conocidas bondades y preferencia en la cocina de la ama de casa ecuatoriana y por último el aceite de palma, siendo el de mayor producción a nivel nacional y mundial. Los aceites preliminarmente mencionados han sido seleccionados en base a la cantidad y calidad de ácidos grasos presentes previamente conocidos.

2.1 Preparación de muestras de chía

Se prepararon las muestras para el análisis con el fin de reportar el resultado en base seca. La muestra se tomó tal y como ingresó al laboratorio. La preparación previa al análisis depende de la muestra, en el caso de materia con alto porcentaje de grasa como la chía se realizó a partir de la muestra molida ya que al encontrarse la muestra en menor tamaño de partícula resulta más fácil la identificación de sus componentes nutricionales en el análisis.

2.1.1 Equipo y material utilizado

Para la preparación de las muestras fue necesario el siguiente equipo y materiales:

- Molino Hamilton Beach 80350
- Balanza analítica LIBROR AEG-220
- Tamiz de 355 μ
- Agitador de tamices SIEVE SHAKER - 112

- Frascos plásticos tapa rosca

2.1.2 Procedimiento de preparación de muestras

Se acondicionó la muestra en congelación para evitar que en la posterior molienda se forme pasta debido al alto contenido de grasa que contiene la semilla. Una vez congelada se procedió a moler la muestra en el Molino Hamilton Beach 80350 hasta que se obtuvo la harina de chía con fibra. Se tamizó la muestra con la ayuda de un agitador para tamices SIEVE SHAKER-112, con la finalidad de separar la fibra de la harina, utilizando un tamiz de 355μ , tal y como se observa en la figura 4. Se guardó la harina tamizada en un frasco de plástico con tapa rosca, como ilustra la figura 5, para luego conservarse en congelación.



Figura 4. Harina de chía tamizada



Figura 5. Harina de chía almacenada

2.2 Determinación del contenido de materia grasa total

El contenido de grasa total en las muestras de chía se determinó por extracción con éter de petróleo por medio de la separación de fases con el equipo Soxhlet, con la finalidad de extraer en un 100% solamente la materia grasa para su posterior análisis.

2.2.1 Reactivos

Los reactivos que se utilizaron para la determinación del contenido de materia grasa fueron los siguientes:

- Agua destilada
- Éter de petróleo

2.2.2 Equipo y materiales

Los materiales y el equipo que fueron usados para la determinación del contenido de materia grasa se listan a continuación:

- Balanza analítica
- Balones de 250 ml con uniones esmeriladas
- Estufa a 80°C \pm 2°C
- Desecador
- Núcleos de ebullición
- Dedales de extracción de 33 mm x 94 mm libre de grasa
- Papel filtro de 15 cm
- Algodón libre de grasa
- Extractor Soxhlet con uniones esmeriladas, con sifón de capacidad de 100 ml
- Condensador con uniones esmeriladas
- Camisas de calentamiento

2.2.3 Procedimiento de extracción de la materia grasa

Se secó un balón en la estufa a 80°C por dos horas, posteriormente se enfrió en un desecador, luego se realizó el pesado inicial. A continuación sobre un

papel filtro adecuado al capuchón de celulosa se pesaron alrededor de 5g de muestra (Figura 6). Se cubrieron los capuchones con algodón y se colocaron dentro del extractor Soxhlet, se transfirieron alrededor de 50 ml de solvente sobre el Soxhlet unido al balón y consecutivamente se completó el volumen de solvente para llenar el nivel en el Soxhlet (Figura 7). Se colocó el equipo completo sobre el dispositivo de calentamiento y se procedió a extraer durante 8 horas (Figura 8).

Una vez transcurrido el tiempo se retiró el cartucho y se recuperó el solvente sobrante, se secó el balón en la estufa por 2 horas, se enfrió y se pesó hasta llegar a peso constante (Figura 9). Por último se transfirió el aceite a un recipiente con tapa para posterior análisis cromatográfico



Figura 6. Muestras de harina de chía pesada en dedales de celulosa



Figura 7. Preparación del equipo Soxhlet



Figura 8. Muestras en el equipo Soxhlet



Figura 9. Muestras de aceite de chía

2.3 Identificación de ácidos grasos

Su principio se basa en que el aceite obtenido de la extracción en el equipo Soxhlet, se recogió y se utilizó para determinar la composición de ácidos grasos. Se realizó mediante cromatografía de gases previo esterificación de las muestras, para lo cual se utilizó una solución alcohólica de hidróxido de sodio y posteriormente una solución alcohólica de ácido clorhídrico sometidas a calor con sus respectivos tiempos. Se adicionó agua y hexano para obtener dos fases y se extrajo y concentró la fase orgánica para su análisis en el cromatógrafo.

2.3.1 Reactivos

Los reactivos que se utilizaron para la preparación de la muestra fueron los siguientes:

- Hidróxido de Sodio
- Ácido Clorhídrico
- Agua bidestilada
- Hexano
- Hidróxido de Potasio en metanol 0,5 M
- Ácido clorhídrico en metanol 4:1 V/V
- Metanol grado HPLC
- Sulfato de Sodio Anhidro
- Solución estándar de ácidos grasos: Se preparó una solución estándar de 10000 ppm disuelta en hexano, a partir de 100mg del estándar comercial F.A.M.E Mix C4-C24.

2.3.2 Equipos y materiales

El equipo y materiales utilizados se listan a continuación:

- Cromatógrafo de gases con detector FID marca *Agilent Technologies 7890A*
- Micropipeta de 100 uL
- Micropipeta de 1000 uL
- Balanza analítica de precisión 0.1mg Shimadzu, Modelo LIBROR AEG-220.
- Columna capilar fusionada de sílica *SUPELCO* con espesor de película de 100m x 0,25mm x 0,2um.
- Agitador de tubos
- Tubos de ensayo con tapa rosca para esterificación de muestras.
- Vasos de precipitación
- Pipetas Pasteur
- Pera de succión

- Baño de agua
- Gradilla
- Espátula
- Viales ámbar capacidad 2 ml

2.3.3 Procedimiento de esterificación de muestras

Se pesaron aproximadamente 0,05 g de muestra en tubos de ensayo con tapa rosca para posteriormente adicionar 1 ml de solución KOH/metanol 0,5M (Figura 10). A continuación se taparon herméticamente y se ubicaron en un baño de agua a ebullición por alrededor de 10 minutos, luego se sacaron los tubos y se añadió 0,4 ml de HCl/metanol 4:1 v/v. Se taparon de nuevo los tubos y se situaron en un baño de agua a ebullición durante 25 minutos.

Consecutivamente se sacaron los tubos del baño de agua y se dejaron enfriar a temperatura ambiente (21°C). Luego se adicionó 2 ml de agua bidestilada. A continuación se añadieron 3 ml de hexano y se agitaron los tubos durante 30 segundos, luego se colocaron en la gradilla para permitir la separación de sus fases. Con una pipeta Pasteur, se extrajo la fase orgánica para luego colocar esta fase en otros tubos de ensayo y se repitió el proceso de extracción de fase orgánica por una ocasión más (Figura 11).

Con una espátula se adicionó sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), y se colocó la parte etérea en otro tubo y procedió a secar con nitrógeno a temperatura ambiente (Figura 13).

Se concentró la muestra con 2 ml de hexano, y posterior agitación se dispuso en un vial. Se inyectó en el Cromatógrafo de gases con detector FID, (Figura 12), utilizando la metodología propuesta para el análisis de metil ésteres de ácidos grasos CIS/TRANS (FAMES), se usó una columna capilar SP™ 2560 según el método de referencia Fatty acid analyses, The Reporter, volumen 25.4 (ALDRICH, 2006).

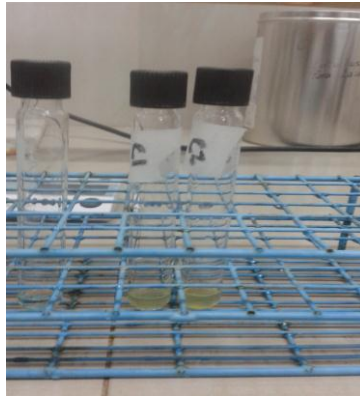


Figura 10. Muestras de aceite de chía con 1 ml de solución KOH/metano 0,5M

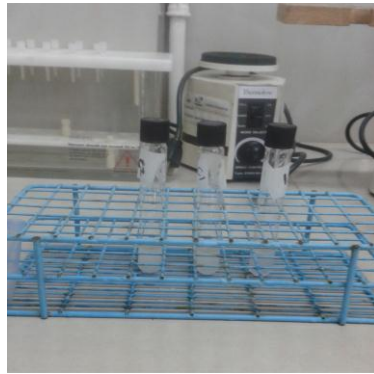


Figura 11. Separación de la fase orgánica.



Figura 12. Muestras en el cromatógrafo de gases



Figura 13. Muestras en secado con nitrógeno

2.3.4 Condiciones cromatográficas

Las condiciones cromatográficas utilizadas en el equipo fueron las siguientes:

- Columna: SP 2560 100m x 0.25mm i.D 0.20 μ m.
- Horno: 140°C (5 minutos), 4°C/minuto hasta 240°C (15 minutos)
- Temperatura de inyector: 260°C
- Detector: FID 260°C
- Gas portador: Helio 20cm/s a 175°C
- Inyección: 2 μ l, Split:40:1

El cromatógrafo de gases con detector FID marca *Agilent Technologies 7890*, permite obtener el espectro o cromatograma de cada compuesto y de una manera precisa establece la identidad de los componentes de la muestra, el cromatógrafo utilizado en este estudio se puede observar a continuación en la figura 14.



Figura 14. Cromatógrafo de gases con detector FID marca Agilent Technologies 7890A

2.4 Análisis Cualitativo

Para identificar los componentes de la muestra se calculan los tiempos que tarda cada sustancia en abandonar el sistema cromatográfico, según sus características moleculares, controlando todas las condiciones cromatográficas además de los patrones que presenta el estándar para realizar las comparaciones, en este caso, el estándar F.A.M.E Mix C4-C24.

2.5 Análisis Cuantitativo

La composición se establece por normalización de áreas, técnica más empleada y de mayor precisión, se refiere a utilizar la altura del pico o el área comparándolo con la del patrón inyectado bajo las mismas condiciones cromatográficas. La comparación de los resultados obtenidos con los datos bibliográficos previos permitirá establecer la naturaleza lipídica del aceite.

2.6 Adaptación de la metodología analítica

2.6.1 Linealidad

La linealidad del método se evaluó relacionando la función de respuesta del equipo con estándar FAME MIX SUPELCO 47885-1, para cada uno de los

ácidos grasos que presenta el estándar para su identificación. Con los resultados obtenidos se realizó el estudio de regresión lineal, evaluando los siguientes parámetros:

- Coeficiente de correlación (r): El coeficiente de relación indica el grado de relación entre la concentración (x) y la respuesta (y). El máximo valor que puede alcanzar es 1. Si el coeficiente de correlación es cercano a la unidad representa que sí hay correlación con una alta posibilidad, si por el contrario existe un valor cero indica la ausencia de analogía lineal entre las variables. El coeficiente de correlación se calcula con la ecuación 1.

$$r = \frac{\Sigma xy - \Sigma x \Sigma y / n}{\left[\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n} \right]^{1/2} \left[\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n} \right]^{1/2}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

n= Número de mediciones

x= Concentración (ng/mL)

y= Área

- Pendiente (m): Se trata del valor de la pendiente asociada a la sensibilidad del método. Se calcula gracias a la ecuación 2.

$$m = \frac{y-b}{x} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Dónde:

x= Concentración

y= Respuesta

m= Valor de la pendiente

a= Término independiente

- Intercepto (L): es el valor de Y cuando X toma el valor de 0. Este es el punto donde la línea cruza el eje Y. Se calcula con la ecuación 3.

$$L = y - mx \quad (\text{Ecuación 3})$$

Dónde:

L= Intercepto

x= Concentración

y= Respuesta

m= Valor de la pendiente

2.6.2 Límite de detección y límite de cuantificación

- **Límite de detección**

Utilizando el estudio de regresión lineal, se evalúa el límite de detección con la ecuación 4.

$$LD = \frac{3L}{m} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Dónde:

LD= Límite de detección

L = Intercepto

m = Pendiente

- **Límite de cuantificación**

Utilizando el estudio de regresión lineal, se evalúa el límite de cuantificación con la ecuación 5.

$$LC = 10L/m \quad (\text{Ecuación 5})$$

Dónde:

LC = Límite de cuantificación

L= Intercepto

m = pendiente

2.6.3 Precisión

Para determinar la precisión del método, se pesó una muestra de aceite de chía con tres repeticiones, se calculó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Se expresó la precisión del método en función del coeficiente de variación.

Desviación estándar: Se trata de la variación esperada con respecto a la media aritmética y se calcula gracias a la ecuación 6.

$$\sigma = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}{N} \quad (\text{Ecuación 6})$$

Dónde:

σ = Desviación estándar

N= Número de datos

Coeficiente de variación: Se utilizó esta medida de dispersión para comparar la variabilidad de un conjunto de datos según la ecuación 7.

$$Cv = \frac{\sigma}{|\bar{x}|} \times 100 \quad (\text{Ecuación 7})$$

Dónde:

CV= Coeficiente de variación

σ = Desviación estándar

$|\bar{x}|$ = Media aritmética del conjunto de datos

2.7 Análisis Proximal

Previo al análisis proximal, las muestras fueron ingresadas y codificadas en los laboratorios LSAIA del Departamento de Nutrición y Calidad del INIAP en Quito.

2.7.1 Humedad

La humedad de la muestra se perdió por volatilización gracias al calor. La materia seca es la cantidad de material que queda al de eliminar la humedad. La cantidad de agua liberada fue el resultado de la pérdida de peso de la muestra sometida a secado en una estufa hasta alcanzar peso constante; el residuo es la materia seca.

El equipo y material utilizados fueron los siguientes:

- Estufa
- Recipientes de acero inoxidable
- Balanza analítica
- Pinza metálica
- Desecador
- Espátula

2.7.1.1 Procedimiento para la determinación de humedad

Se lavaron los recipientes y se secaron en estufa a 65°C por 2 horas. Posteriormente, se retiraron de la estufa para su enfriamiento y pesado. Consecutivamente se pesaron aproximadamente 2 g. de muestra y se llevaron a la mufla a 105°C por 12 horas. Luego de este tiempo, se retiraron los recipientes con la muestra a un desecador, se enfrió y pesó

Se utilizó la ecuación 8 para el cálculo de la humedad:

$$H = \frac{Prms - Pr}{Prmh \times Pr} \times 100 \quad (\text{Ecuación 8})$$

Dónde:

H = Porcentaje de humedad

Pr = Peso del recipiente

Prmh = Peso del recipiente más de la muestra húmeda

Prms = Peso del recipiente más la muestra seca

2.7.2 Determinación de cenizas

Al llegar a una temperatura de 550°C, la materia orgánica se descartó por incineración, el residuo se denominó ceniza, la cual representa la fracción inorgánica del alimento, o muestra de la misma que tiene diversidad de minerales.

Los reactivos que se utilizaron para la determinación de cenizas fueron los siguientes:

- Ácido sulfúrico
- Dicromato de potasio
- **Solución sulfocrómica:** Para la preparación de ésta solución se pesó 20 g de dicromato de potasio en un Erlenmeyer de 1000 mL, se disolvió con 20 mL de agua y se vertieron lentamente 800 mL de ácido sulfúrico.

El equipo y material utilizados fueron los siguientes:

- Balanza analítica
- Crisoles de porcelana
- Desecador
- Espátula
- Estufa
- Mufla
- Pinza metálica
- Placa calentadora o reverbero

Para la adecuación de los crisoles fue necesario sumergirlos en solución sulfocrómica por dos horas y se enjuagó con agua destilada, posteriormente se secó a 105°C y se llevó al horno a 550°C por 2 horas, luego se retiró en un desecador y se enfrió.

2.7.2.1 Procedimiento para la determinación de cenizas

Se pesó el crisol y se agregaron de 2 gramos de muestra, a continuación se calcinó la muestra en la mufla a 600°C por 8 horas. Las cenizas obtenidas

fueron blancas y no mostraron adherencias en las paredes. Se colocaron en un desecador, luego se enfriaron y pesaron. La fórmula para el cálculo de las cenizas se muestra en la ecuación 9.

$$C = \frac{P_{CZ} - P_c}{P_{cm} - P_c} \times 100 \quad (\text{Ecuación 9})$$

Dónde:

C= Porcentaje de cenizas

P_c= Peso del crisol

P_{CZ}=Peso del crisol más ceniza

P_{cm}= Peso del crisol más muestra

2.7.3 Determinación de proteína

Para la determinación de proteína se llevó a cabo la transformación del nitrógeno contenido en las mismas, en sulfato de amonio cuando fueron digeridas en ácido sulfúrico mientras se encontraba en ebullición. El residuo se enfrió, y se diluyó con agua, consecutivamente se agregó hidróxido de sodio. El amonio se desprendió y a la vez se destiló para luego ser recibido en una solución de ácido bórico, que inmediatamente se tituló con ácido sulfúrico estandarizado.

Los reactivos que se utilizaron para la determinación de proteína se mencionan a continuación:

- Ácido sulfúrico 95-98% H₂SO₄ p.a
- Pastillas de digestión KJELTABS Cu/3.5
- Hidróxido de sodio 40%
- Ácido bórico 4% p.a Kjeltec models 2100,2200 y 1026
- Ácido bórico 1% Kjeltec models 2300,2400, 1030 y 1035
- Verde de bromocresol
- Rojo de metilo
- Solución estándar ácido clorhídrico 0.1000 N

- Sulfato de amonio 99%

Para la determinación de proteína fue necesaria la elaboración de varias soluciones, las cuales se detallan a continuación:

- Ácido sulfúrico: Grado reactivo concentrado del 95-98%
- Hidróxido de sodio: Solución al 40% peso/peso. Se pesaron 40g. de hidróxido de sodio en un balón. Luego se introdujo el balón en un baño frío, posteriormente se añadió agua destilada lentamente con agitación continua. Se disolvió completamente y se completó el aforo.
- Indicador Rojo de metilo: Se disolvió 100 mg de rojo de metilo en 100 mL de metanol.
- Verde bromocresol: Se disolvió 100 mg verde bromocresol en 100 mL de metanol.
- Ácido bórico: Solución al 4%. Se disolvió 400g de ácido bórico en 5 o 6 litros de agua destilada caliente. Luego se mezcló y adicionó más agua destilada caliente hasta un volumen de 9 L. Después se enfrió a temperatura ambiente y se añadió 100 mL de la solución de verde bromocresol y 70 mL de la solución de rojo de metilo. Finalmente se aforó a un volumen de 10 litros.
- Ácido bórico: Solución al 1%. Se disolvió 100 g. de ácido bórico en 5 o 6 litros de agua destilada caliente. Se mezcló y adicionó más agua destilada caliente hasta un volumen de 9 litros. Posteriormente se enfrió a temperatura ambiente y se añadieron 100 ml de la solución de verde bromocresol y 70 mL de la solución de rojo de metilo. Finalmente se aforó a un volumen de 10 L.
- Ácido clorhídrico: Solución 0.1000 N certificada para estándar.

El equipo y material utilizado para la determinación de proteína fue el siguiente:

- Balanza analítica
- Aparato de digestión
- Tubos de digestión
- Tecator Digestor 20 FOSS

- Titulador automático Kjelttec Sampler 8420
- Destilador Kjelttec Sampler 8400

2.7.3.1 Procedimiento para la determinación de proteína

Se pesó de 1.58 g de muestra en papel bond tarado y se hicieron pequeños envoltorios para luego ser depositados en tubos de digestión, teniendo siempre en cuenta el número de la muestra a colocar en cada tubo. Después se colocaron en el tubo dos pastillas de digestión Kjeltabs Cu/3.5 y se añadieron 15 ml de ácido sulfúrico. Posteriormente se ubicaron los tubos en el digestor con los calentadores a temperatura de 400°C por una hora. Una vez enfriados se adecuó el equipo Kjelttec Sampler 8400 para análisis de proteína. Se esperó 10 minutos por cada tubo para observar el resultado en la pantalla del equipo.

2.7.4 Determinación del extracto etéreo por extracción con hexano

Una vez pesadas las muestras y adecuadas en el equipo Soxtec 2043, el solvente utilizado se condensó continuamente, eliminando materiales solubles al pasar por la muestra. El restante se recogió en un balón que al terminar el proceso se destiló y se recogió en otro recipiente. La sustancia que quedó en el balón se secó y se pesó.

El reactivo que se utilizó para la extracción de grasa fue:

- Hexano

El equipo y material utilizado fue el siguiente:

- Balanza analítica
- Estufa
- Equipo Soxtec 2043
- Dedales de celulosa
- Núcleos de ebullición
- Desecador
- Espátula
- Pinza metálica

- Algodón

2.7.4.1 Procedimiento para la determinación del extracto etéreo

Se lavaron las copas de aluminio y se llevaron a una estufa a 105°C por dos horas para luego retirar en un desecador, con el fin de que se enfríen. Posteriormente se pesaron y añadió 80ml de hexano.

Se pesaron de 2 a 3 g de muestra seca que se colocaron en un dedal limpio y se taparon con algodón. En seguida se depositaron los dedales con la muestra en el equipo Soxtec 2043. Se operó desde el software del equipo con las condiciones establecidas para el tipo de muestra.

Las condiciones del equipo dependen del porcentaje de grasa, al ser la chía una semilla con alto porcentaje de grasa, las condiciones del equipo se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Condiciones del equipo SOXTEC 2043

Porcentaje en muestras	Condiciones Soxtec
Muestras de 30 a 60% de grasa	<ul style="list-style-type: none"> - 280°C - 30 minutos en ebullición - 60 minutos de lavado - 10 minutos secado de muestra - 10 minutos de recuperación de solvente

A continuación se muestra la ecuación 10, la cual se utiliza para el cálculo el extracto etéreo.

$$EE = \frac{P_{hr} - P_h}{P_m} \times 100 \quad (\text{Ecuación 10})$$

Dónde:

EE= Extracto etéreo

Ph= Peso de la copa de aluminio

Phr= Peso de la copa más el residuo

Pm= Peso de la muestra

2.7.5 Cuantificación de fibra cruda

Una vez que la muestra ha sido liberada de la humedad y grasa presentes en la misma se digirió en primer lugar con una solución ácida y posteriormente pasó por la solución alcalina; los restantes orgánicos se recogieron en un crisol filtro. Posteriormente se incineró la muestra y la fibra cruda se determinó por pérdida de peso.

Los reactivos utilizados para la cuantificación de fibra cruda fueron los siguientes:

- Ácido sulfúrico
- Hidróxido de sodio
- Alcohol isoamílico
- Hexano

El equipo y material fueron los siguientes:

- Balanza analítica
- Equipo para digestión LABCONCO
- Estufa
- Mufla
- Equipo de filtración
- Vasos de 600 ml forma larga
- Cisoles filtrantes de porcelana
- Lana de vidrio
- Pipetas volumétricas

2.7.5.1 Procedimiento para la determinación de fibra cruda

Se pesaron de 1,56 gramos de muestra en un vaso de 600 mL, luego se añadieron 200mL de ácido sulfúrico al 0,007% por y 1mL de alcohol isoamílico. Se digestó por 30 minutos, se agregaron 20 ml de hidróxido de sodio al 22% y 1 mL de alcohol isoamílico y nuevamente se digestó por 30 minutos.

Se recogió la fibra en crisoles filtro que contenían una capa de lana de vidrio en su base, se lavaron con agua caliente desmineralizada y 100 mL de ácido sulfúrico al 0,007% y 20 mL de hexano, los lavados de la fibra culminaron con agua bidestilada. Se secó en una estufa a 105°C por 8 horas y se retiró en un desecador y posteriormente se enfrió y pesó.

Según la ecuación 11:

$$F_c = \frac{P_{cf} - P_{cc}}{P_m} \times 100 \quad (\text{Ecuación 11})$$

Dónde:

F_c= Porcentaje de la fibra cruda

P_{cf}= Peso del crisol secado a 105°C

P_{cc}=Peso del crisol después de la incineración

P_m= Peso de la muestra.

El análisis proximal permite conocer la cantidad específica de cada nutriente mediante el análisis químico y sirve de referencia para comparar la información obtenida con la reportada con otros autores.

2.8 Comparación con otros aceites

Los aceites escogidos para el presente estudio fueron los siguientes.

- Aceite de aguacate
- Aceite de canola
- Aceite de palma

La comparación se realizó analizando los aceites en el cromatógrafo de gases para obtener los perfiles de los ácidos grasos correspondientes en relación al aceite de chía. Posteriormente se utilizó el análisis multivariado y la técnica de componentes principales con el fin de estudiar simultáneamente el conjunto de datos que se lograron.

2.8.1 Análisis multivariado

Las variables (ácidos grasos encontrados), se determinaron gracias al análisis cromatográfico de cada aceite estudiado. Al tratarse de un análisis de componentes principales las variables están correlacionadas. La matriz de datos se compone de cada ácido graso y los porcentajes encontrados en los aceites analizados.

Una vez ingresados los porcentajes de cada uno de los ácidos grasos de los aceites en el programa STATISTICA, se procedió a realizar la comparación, para la demostración gráfica se utilizó una proyección doble de las variables. De esta manera se visualizaron los ácidos grasos que marcan una diferencia en cuanto a su porcentaje en cada aceite.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Estandarización de la metodología

Una vez escogida la metodología se procedió a realizar pruebas en el laboratorio, estableciéndose las condiciones del proceso de análisis. La estandarización del método para la determinación de ácidos grasos utilizando cromatografía de gases con detector FID se realizó con un estándar F.A.M.E Mix C4-C24. Para la estandarización de la metodología se realizaron las correspondientes pruebas en 4 muestras de chía.

Para establecer las condiciones del sistema cromatográfico se realizaron pruebas en el equipo, se utilizó la metodología propuesta para el análisis de metil ésteres de ácidos grasos CIS/TRANS (FAMES) se usó una columna capilar SP™ 2560 según el método de referencia Fatty acid analyses, The Reporter, volumen 25.4. Sigma-Aldrich (ALDRICH, 2006).

3.2 Linealidad y rango lineal

Para elaborar la curva de calibración se preparó un estándar de 1 mg de la mezcla de ácidos grasos por mililitro, a partir de esta solución se realizaron diluciones para obtener los diferentes niveles de la curva, como se observa en la tabla 9.

Tabla 9. Preparación de estándares para curvas de calibración de cromatógrafo en ácidos grasos.

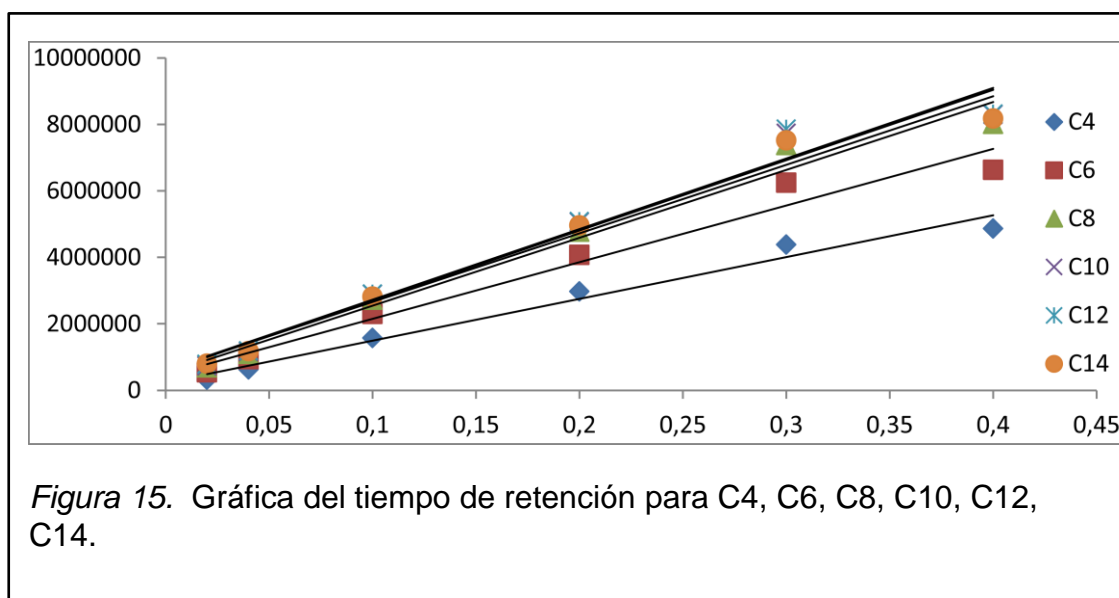
Concentración estándar (mg/ml)	Volumen de estándar (ml)	Volumen de hexano (ml)
P ₀	0	1
P ₁	0,2	0,8
P ₂	0,4	0,6
P ₃	0,6	0,4
P ₄	0,8	0,2
P ₅	1	0

Al realizar el análisis de la linealidad y rango lineal del método se obtuvieron resultados directamente proporcionales a la concentración del estándar en un rango definido entre 0 y 1, corroborándose con la información reportada por Castillo y González (1997).

3.3 Tiempo de retención

Una vez preparados los estándares se realizaron las curvas de calibración, para cada uno de los ácidos grasos, se inyectó el estándar para la detección de los mismos según su tiempo de retención, los resultados de las curvas de calibración se muestran en las figuras 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21. La presentación de las gráficas se ha dividido de acuerdo al tiempo de retención en común que tienen cada uno de los ácidos grasos.

La figura 15 muestra las gráficas lineales para ácido butírico (C4), ácido capríco (C6), ácido caprílico (C8), ácido cáprico (C10), ácido láurico (C12), ácido mirístico (C14).



La figura 16 muestra las gráficas lineales para el ácido esteárico (C18:0), ácido oléico (C18:1N9C), ácido araquídico (C20:0), ácido behénico (C22:0), ácido lignocérico (C24:0).

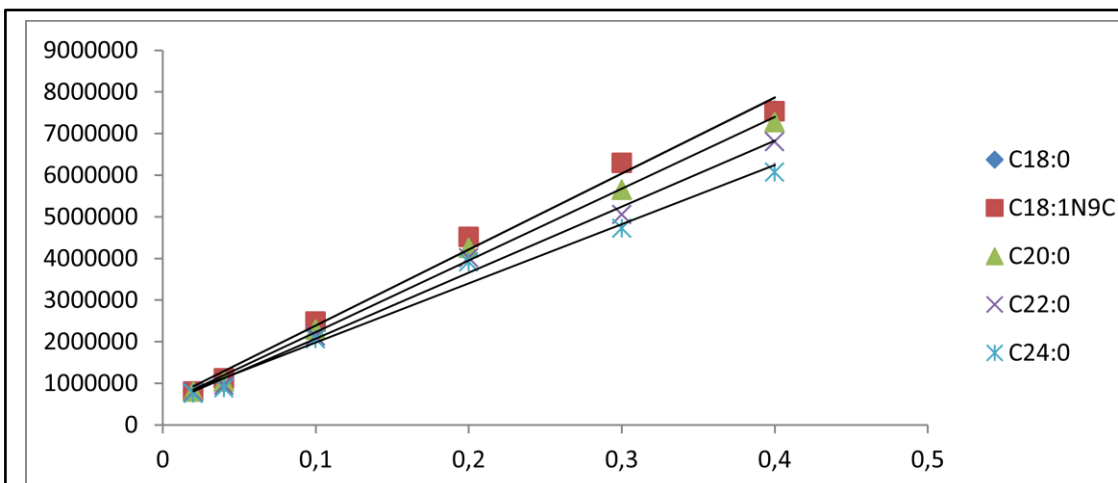


Figura 16. Gráfica del tiempo de retención para C18:0, C18:1n9c, C20:0, C22:0 y C24:0

La figura 17 muestra la gráfica lineal para ácido palmítico.

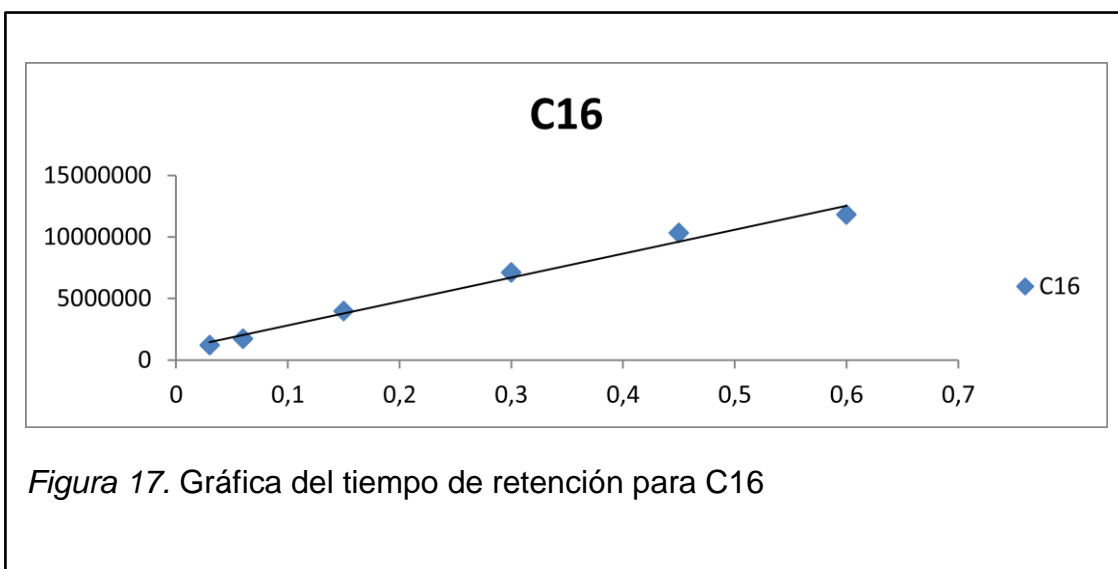
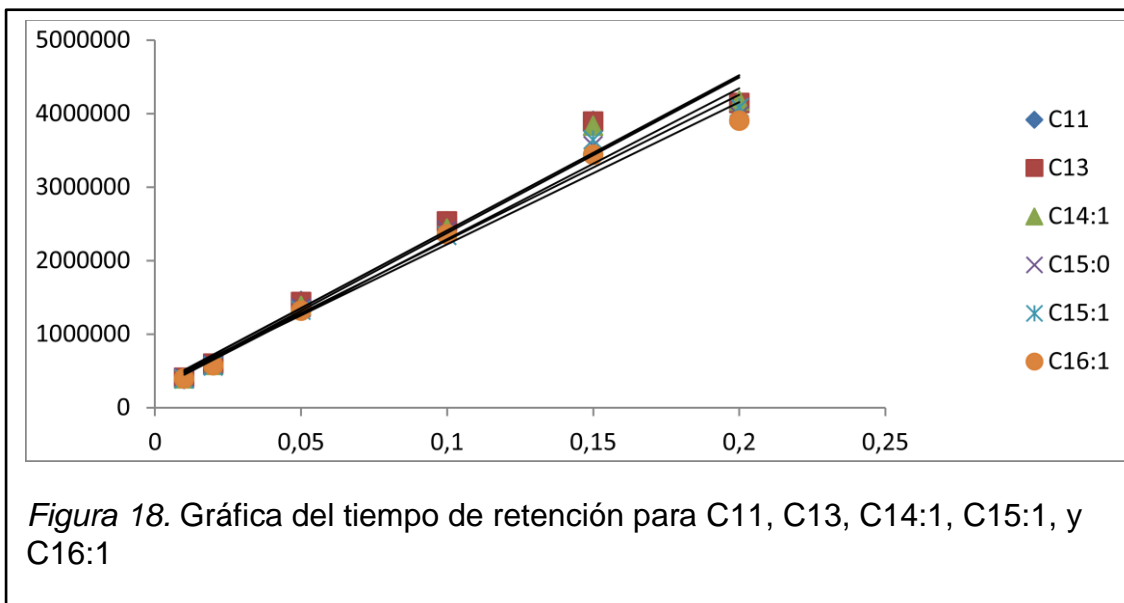
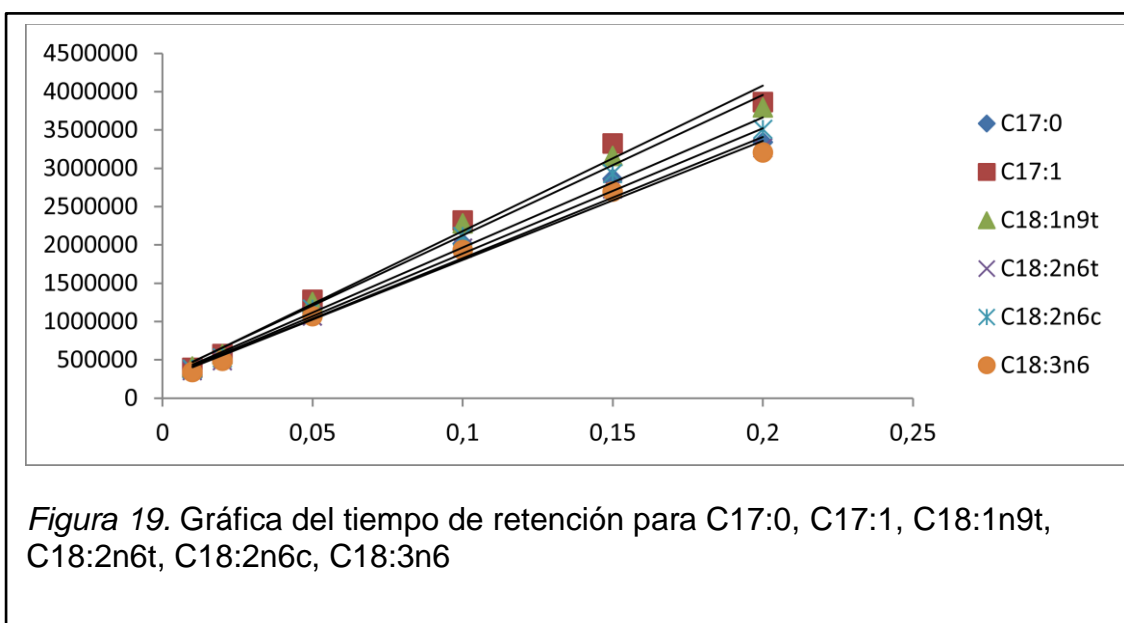


Figura 17. Gráfica del tiempo de retención para C16

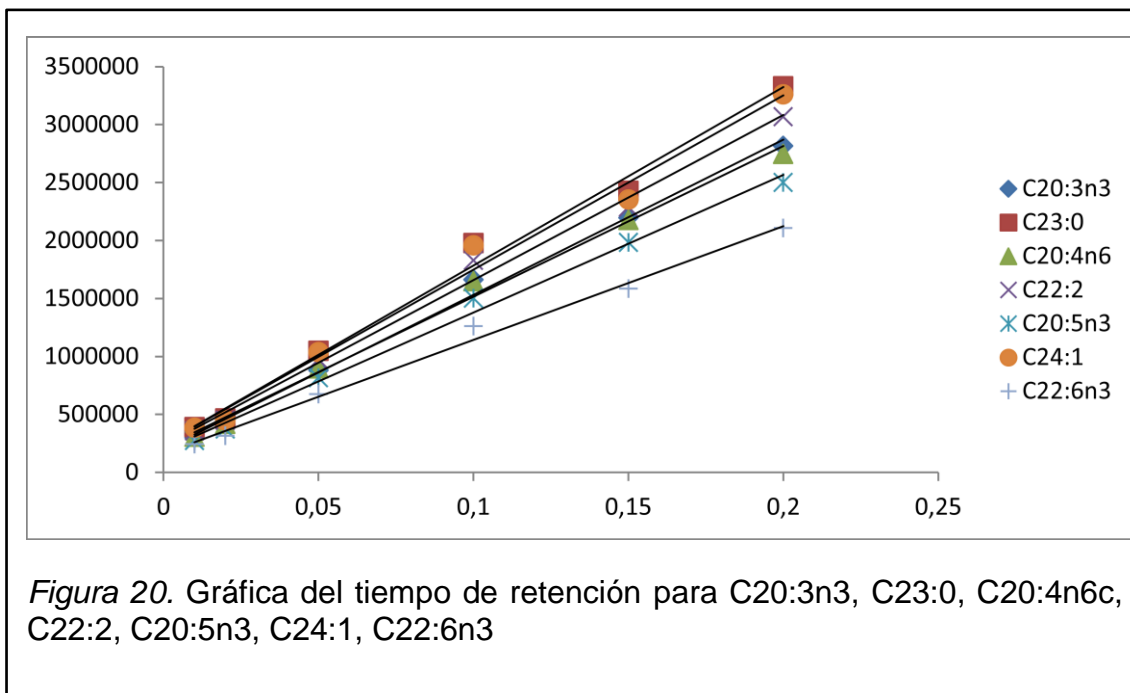
La figura 18 muestra las gráficas lineales para ácido undecanóico (C11), ácido tridecanóico (C13), ácido miristoléico (C14:1), ácido pentadecanóico (C15:1), ácido cis-10-pentadecanóico (C15:1), y ácido palmitoléico (C16:1).



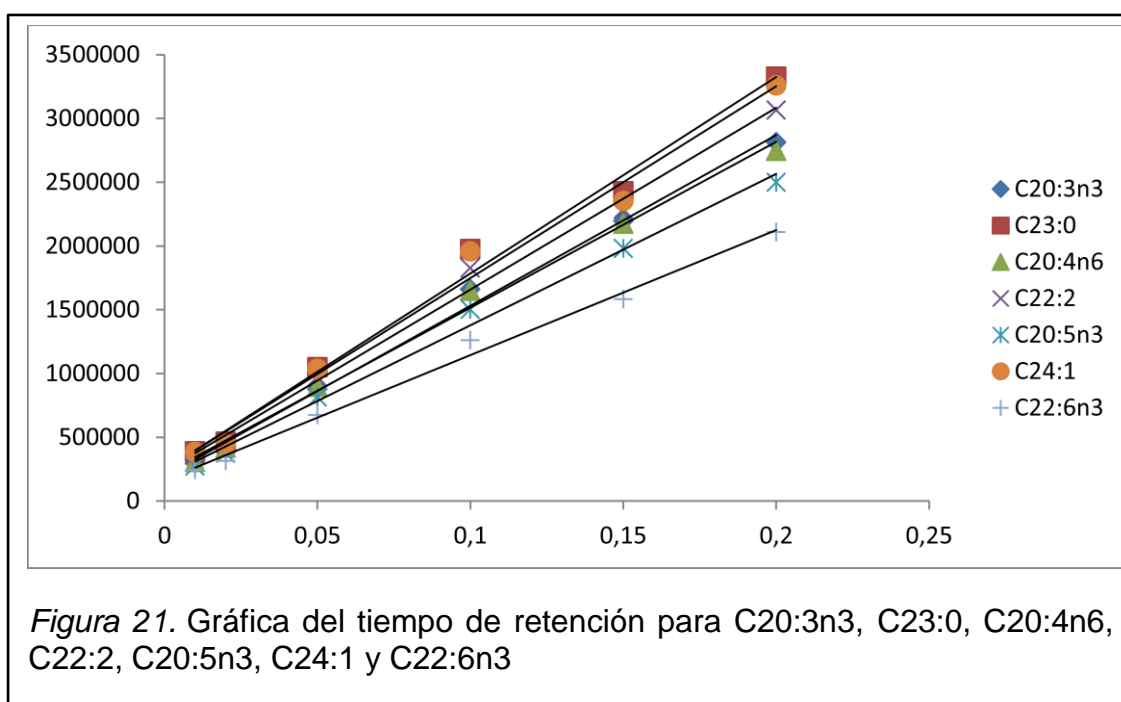
La figura 19 muestra las gráficas lineales para ácido heptadecanóico (C17:0), ácido cis-10-heptadecanóico (C17:1), ácido elaídico (C18:1n9t), ácido linolelaídico (C18:2n6t), ácido linoléico (C18:2n6c), ácido γ -linoléico (C18:3n6).



La figura 20 muestra las gráficas lineales para ácido cis-11-eicosenoico (C20:1), ácido linoléico (C18:3n3), ácido heneicosanóico (C21:0), ácido cis-11-14-eicosadienoico (C20:2), ácido cis-8-11-14-eicosatrienoico (C20:3n6), y ácido erúcico (C22:1n9).



La figura 21 muestra las gráficas lineales para ácido cis-1, 14,17-eicosatrienóico (C20:3n3), ácido tricosanóico (C23:0), ácido metilcis-5, 8, 11, 14-eicosatetraenóico (C20:4n6), ácido cis-13,16- docosadienóico (C22:2), ácido cis-5, 8, 11, 14,17-eicosapentaenóico (C20:5n3), ácido nervónico (C24:1) y ácido cis-4-7-10-13-16-19-docosahexaenóico (C22:6n3).



En la tabla 10 se detallan las ecuaciones lineales obtenidas y el R^2 que es el coeficiente de determinación y demuestra el ajuste del modelo a los datos obtenidos.

Tabla 10. Ecuaciones lineales y R^2 de los ácidos grasos encontrados

Nombre	Símbolo	Ecuación del ácido graso	R^2
Ácido Butírico	C4	$y = 1E+07x + 237030$	0,98
Ácido Caprónico	C6	$y = 2E+07x + 501322$	0,98
Ácido Caprílico	C8	$y = 2E+07x + 600390$	0,98
Ácido Cáprico	C10	$y = 2E+07x + 572817$	0,97
Ácido Láurico	C12	$y = 2E+07x + 445437$	0,97
Ácido Mirístico	C14	$y = 2E+07x + 601552$	0,97
Ácido Estearico	C18:0	$y = 2E+07x + 566793$	0,99
Ácido Oléico	C18:1n9c	$y = 2E+07x + 566147$	0,99
Ácido Araquídico	C20:0	$y = 2E+07x + 509453$	1,00
Ácido Behénico	C22:0	$y = 2E+07x + 490656$	0,99
Ácido Lignocérico	C24:0	$y = 1E+07x + 559894$	0,98
Ácido Palmítico	C16:0	$y = 2E+07x + 871522$	0,99
Ácido Undecanoico	C11	$y = 2E+07x + 299269$	0,97
Ácido Tridecanoico	C13	$y = 2E+07x + 304627$	0,97
Ácido Miristoléico	C14:1	$y = 2E+07x + 262395$	0,98
Ácido Pentadecanoico	C15:0	$y = 2E+07x + 298922$	0,98
Ácido Cis-10-pentadecanoico	C15:1	$y = 2E+07x + 242051$	0,98
Ácido Palmitoléico	C16:1	$y = 2E+07x + 289604$	0,98
Ácido Heptadecanoico	C17:0	$y = 2E+07x + 253526$	0,99
Ácido Cis-10-heptadecanoico	C17:1	$y = 2E+07x + 282840$	0,99
Ácido Elaídico	C18:1n9t	$y = 2E+07x + 292017$	0,99
Ácido Linolelaídico	C18:2n6t	$y = 2E+07x + 247536$	0,99
Ácido Linoléico	C18:2n6c	$y = 2E+07x + 268685$	0,99
Ácido γ -Linoléico	C18:3n6	$y = 2E+07x + 248287$	0,99
Ácido Cis-11-eicosenoico	C20:1	$y = 2E+07x + 269395$	0,99
Ácido Linolenico	C18:3n3	$y = 2E+07x + 238666$	0,99
Ácido Heneicosanoico	C21:0	$y = 2E+07x + 240487$	1,00
Ácido Cis-11-14-eicosadienoico	C20:2	$y = 2E+07x + 254147$	0,99
Ácido is-8,11,14-eicosatrienoico	C20:3n6	$y = 1E+07x + 238565$	0,99
Ácido Erúxico	C22:1n9	$y = 2E+07x + 281931$	0,99
Ácido Cis-11,14,17-eicosatrienoico	C20:3n3	$y = 1E+07x + 194572$	1,00
Ácido Tricosanoico	C23:0	$y = 2E+07x + 245259$	0,99
Ácido Metilcis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	C20:4n6	$y = 1E+07x + 216027$	0,99
Ácido Cis-13,16-docosadienoico	C22:2	$y = 1E+07x + 234234$	0,99
Ácido Cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	C20:5n3	$y = 1E+07x + 192236$	0,99
Ácido Nervónico	C24:1	$y = 2E+07x + 244619$	0,99
Ácido Cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	C22:6n3	$y = 1E+07x + 163976$	0,99

Las curvas de calibración generadas en relación al estándar inyectado revelaron la detección de 37 ácidos grasos para la metodología propuesta. Estos resultados difieren de los obtenidos en el estudio de López Valencia (2008), en el cual se detectaron 28 ácidos grasos para la metodología utilizada en su estudio, la diferencia radica en la esterificación de la muestra, en el estándar utilizado, la condiciones cromatográficas y en el equipo utilizado.

La metodología de esterificación que se realizó en este estudio, los reactivos utilizados como el hidróxido de sodio, ácido clorhídrico y el hidróxido de potasio, además de la solución estándar F.A.M.E Mix C4-C24 ayudó a que fueran 37 ácidos grasos detectados, mientras que López Valencia utilizó una mezcla de hidróxido sulfúrico con metanol al 2% y su estándar de mezcla de metilésteres de ácidos grasos RESTEK. Lo cual evidencia que existió una mayor efectividad en la detección de ácidos grasos por la metodología aplicada en la presente investigación.

Se observó que las ecuaciones indican valores de r^2 en las curvas de calibración que se acercan mucho al valor de 1, lo cual revela que las curvas se correlacionan en una línea recta tal cual lo expresa López Valencia (2008), en su estudio *Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos*.

Los r^2 resultantes en este estudio se encuentran entre valores desde 0,97 a 1 lo cual indica que el modelo ejecutado es el adecuado ya que mientras más se acerca los valores a 1, los puntos explican la variable dependiente casi sin error al ser analíticamente exactas.

3.4 Límite de detección y límite de cuantificación

Se realizó la estimación del límite de detección y de cuantificación en base a los resultados establecidos en el estudio de linealidad, esto se realizó utilizando el valor del intercepto y de la pendiente. Para la determinación del límite de detección se aplica la ecuación 4 y para el cálculo del límite de cuantificación se aplica la ecuación 5. De esta manera se puede deducir que el método,

presenta un límite de detección y de cuantificación cuyos resultados se observan en la tabla 11.

Tabla 11. Límites mínimos de detección y cuantificación para los ácidos grasos

Nombre del ácido graso	Símbolo	Límite de detección (mg/ml)	Límite de cuantificación (mg/ml)
Ácido Butírico	C4	0,07	0,14
Ácido Caprónico	C6	0,07	0,13
Ácido Caprílico	C8	0,08	0,15
Ácido Cáprico	C10	0,09	0,17
Ácido Láurico	C12	0,09	0,18
Ácido Mirístico	C14	0,09	0,18
Ácido Estearico	C18:0	0,09	0,17
Ácido Oléico	C18:1n9c	0,08	0,17
Ácido Araquídico	C20:0	0,08	0,15
Ácido Behénico	C22:0	0,07	0,15
Ácido Lignocérico	C24:0	0,08	0,17
Ácido Palmítico	C16:0	0,13	0,26
Ácido Undecanóico	C11	0,04	0,09
Ácido Tridecanóico	C13	0,05	0,09
Ácido Miristoléico	C14:1	0,04	0,08
Ácido Pentadecanóico	C15:0	0,04	0,09
Ácido Cis-10-pentadecanoico	C15:1	0,04	0,07
Ácido Palmitoléico	C16:1	0,04	0,09
Ácido Heptadecanóico	C17:0	0,04	0,08
Ácido Cis-10-Heptadecanoico	C17:1	0,04	0,08
Ácido Eláidico	C18:1n9t	0,04	0,09
Ácido Linoleláidico	C18:2n6t	0,04	0,07
Ácido Linoléico	C18:2n6c	0,04	0,08
Ácido γ -Linoléico	C18:3n6	0,04	0,07
Ácido Cis-11-eicosenóico	C20:1	0,04	0,08
Ácido Linolénico	C18:3n3	0,04	0,07
Ácido Heneicosanóico	C21:0	0,04	0,07
Ácido Cis-11-14-eicosadienóico	C20:2	0,04	0,08
Ácido Cis-8,11,14-eicosatrienóico	C20:3n6	0,04	0,07
Ácido Erúcico	C22:1n9	0,04	0,08
Ácido Cis-11,14,17-eicosatrienóico	C20:3n3	0,06	0,12
Ácido Tricosanóico	C23:0	0,04	0,07
Ácido metilcis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	C20:4n6	0,06	0,13
Ácido cis-13,16-docosadienoico	C22:2	0,07	0,14
Ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	C20:5n3	0,06	0,12
Ácido nervónico	C24:1	0,04	0,07
Ácido cis-4,7,10,13,16,19-docosaheptaenoico	C22:6n3	0,05	0,10

En el presente estudio, el límite de detección revela la mínima concentración mostrada de manera confiable por el método utilizado con valores desde 0,04 a 0,13 mg/ml lo cual revela que la esterificación de la muestra fue la adecuada para detectar valores muy pequeños. De igual manera los valores para el límite de cuantificación van desde 0,07 a 0,18 mg/ml, los cuales son valores totalmente aceptables ya que los ácidos grasos se encuentran en el aceite como componentes mayoritarios. Con estos valores tan bajos de cuantificación se evitan falsos positivos.

3.5 Precisión del método

Se realizó el análisis de la precisión del método, para lo cual se preparó dos muestras de chía siguiendo la metodología citada anteriormente y se inyectó en el equipo. Se calculó la desviación estándar y el coeficiente de variación por medio de las ecuaciones 6 y 7 respectivamente, los resultados se expresan en la tabla 12.

Tabla 12. Análisis de la precisión del método según el coeficiente de variación en dos muestras de chía.

Nombre del ácido graso	Símbolo	%Ácido graso		Promedio	Desviación estándar	%CV
Ácido Mirístico	C14	0,05	0,05	0,05	0,00	1,9
Ácido Esteárico	C18:0	2,93	3,15	3,04	0,16	5,21
Ácido Oléico	C18:1n9c	5,82	5,88	5,85	0,04	0,68
Ácido Araquídico	C20:0	0,27	0,27	0,27	0,00	0,36
Ácido Behénico	C22:0	0,08	0,08	0,08	0,00	4,31
Ácido Lignocérico	C24:0	0,11	0,11	0,11	0,00	1,11
Ácido Palmítico	C16:0	6,76	6,97	6,87	0,15	2,11
Ácido Palmitoléico	C16:1	0,18	0,18	0,18	0,00	1,18
Ácido Linolelaídico	C18:2n6t	0,09	0,09	0,09	0,00	0,74
Ácido Linoleico	C18:2n6c	17,19	17,39	17,29	0,14	0,8
Ácido γ -Linoleico	C18:3n6	1,36	1,38	1,37	0,01	0,96
Ácido Linolénico	C18:3n3	1,36	1,36	1,36	0,00	0,18
Ácido Heneicosanoico	C21:0	55,74	56,32	56,03	0,41	0,74
Ácido Cis-11-14-eicosadienoico	C20:2	0,05	0,04	0,05	0,00	3,79
Ácido Erúxico	C22:1n9	0,02	0,02	0,02	0,00	5,95
Ácido Nervónico	C24:1	0,03	0,03	0,03	0,00	5,77

El error máximo que se permite entre dos repeticiones es el 3%, debido a que el criterio técnico evalúa esta proporción máxima de confianza, lo cual hace aceptable el porcentaje en precisión del método utilizado. Se puede apreciar que en los ácidos; esteárico, behénico, cis-11-14-eicosadienónico, erúcico y nervónico, el coeficiente de variación es superior al 3%, esto se debe a la escasa cantidad de éstos ácidos en la muestra, por lo cual su resultado no es notable. Vinagre (2015) sugiere 6 inyecciones del estándar en condiciones repetitivas en su estudio *Calidad de métodos analíticos*, pero la metodología propuesta en el presente estudio sugiere la inyección del estándar por cada muestra de aceite. La investigación expuesta coincide con la metodología propuesta por López Valencia (2008) quién hizo una calibración individual para cada compuesto.

3.6 Identificación y cuantificación de ácidos grasos del aceite de chía por cromatografía de gases

Con el método previamente optimizado se procedió al análisis de dos muestras de chía para identificar los ácidos grasos que componen la grasa existente, como se puede observar en la tabla 13.

Tabla 13. Ácidos grasos detectados en el aceite de chía según el tiempo de retención.

Nombre	Símbolo	RT
Ácido Mirístico	C14	19,83
Ácido Esteárico	C18:0	26,21
Ácido Oléico	C18:1n9c	27,30
Ácido Araquídico	C20:0	29,20
Ácido Behénico	C22:0	31,98
Ácido Lignocérico	C24:0	34,83
Ácido Palmítico	C16:0	23,11
Ácido Palmitoléico	C16:1	24,34
Ácido Linoleláidico	C18:2n6t	28,09
Ácido Linoléico	C18:2n6c	28,80
Ácido γ -Linoléico	C18:3n6	29,91
Ácido Linolénico	C18:3n3	30,41
Ácido Heneicosanóico	C21:0	30,59
Ácido Cis-11-14-eicosadienónico	C20:2	31,61
Ácido Erúcico	C22:1n9	32,96
Ácido Nervónico	C24:1	35,89

Cómo se puede observar en la precedente tabla, se identificaron 16 ácidos grasos en la chía, de los 37 que fueron inyectados mediante la comparación del tiempo de retención de cada pico en la muestra con respecto al tiempo de retención de cada pico del estándar y el orden de elución de los ácidos grasos presentes en el aceite de chía.

El cromatograma obtenido en el análisis se muestra en la figura 23, las muestras ingresaron por duplicado.

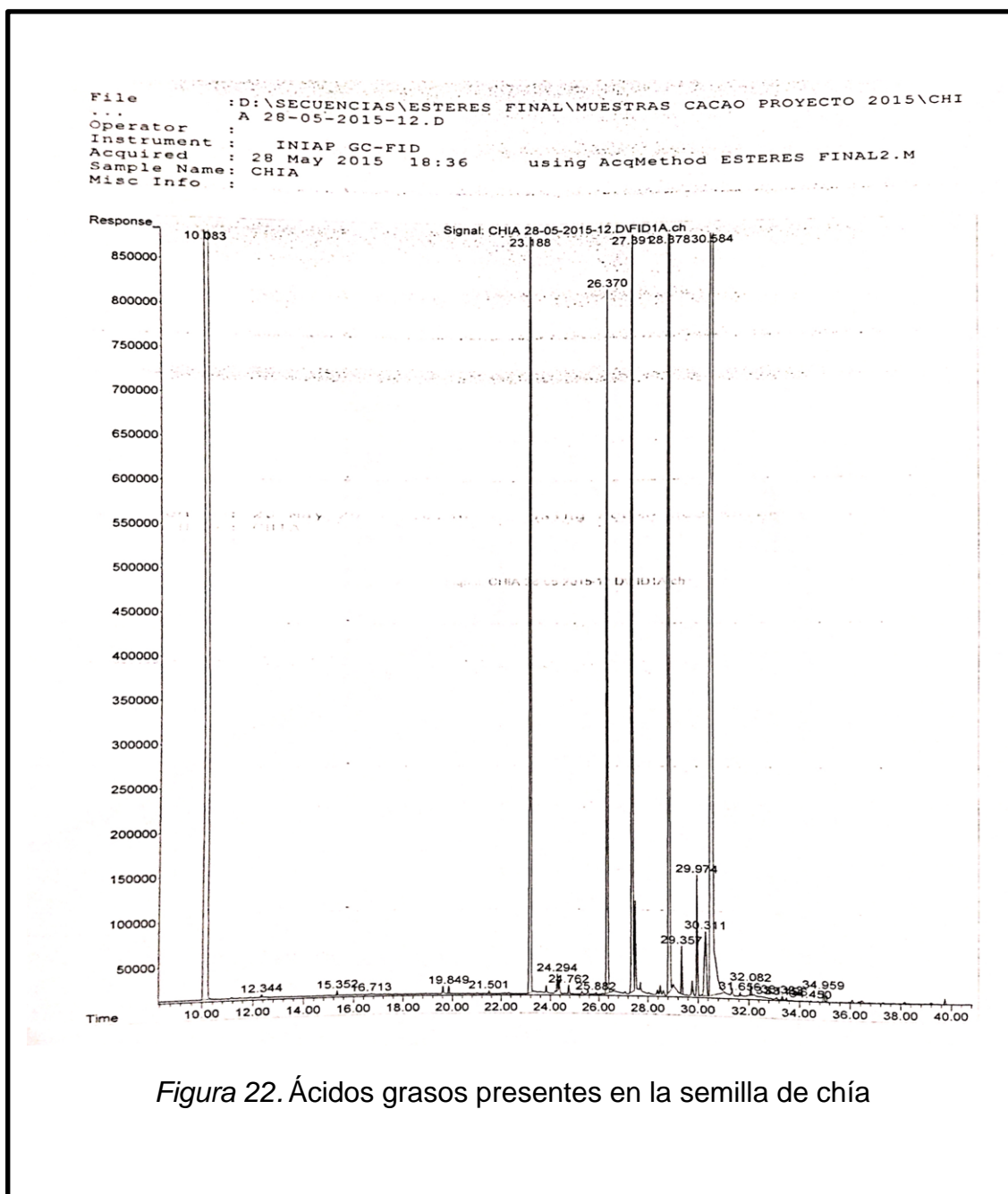


Figura 22. Ácidos grasos presentes en la semilla de chía

El cromatograma indica en sus picos, los ácidos grasos detectados por el cromatógrafo de gases. Posteriormente se realizó la cuantificación de los ácidos grasos en la muestra utilizando el método de estándar externo, en el cual se relaciona el área de la muestra con respecto al área del estándar por la concentración y se obtuvo el contenido de cada ácido graso de la chía, resultados que se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Porcentaje de ácidos grasos presentes en chía

Nombre del ácido graso	Símbolo	Ácido graso (%)
Ácido Mirístico	C14	0,05
Ácido Esteárico	C18:0	3,04
Ácido Oleico	C18:1n9c	5,85
Ácido Araquídico	C20:0	0,27
Ácido Behénico	C22:0	0,08
Ácido Lignocérico	C24:0	0,11
Ácido Palmítico	C16:0	6,87
Ácido Palmitoléico	C16:1	0,18
Ácido Linoleláidico	C18:2n6t	0,09
Ácido Linoléico	C18:2n6c	17,29
Ácido γ -Linoléico	C18:3n6	1,37
Ácido Linolénico	C18:3n3	1,36
Ácido Heneicosanóico	C21:0	56,03
Ácido Cis-11-14-eicosadienóico	C20:2	0,05
Ácido Erúcico	C22:1n9	0,02
Ácido Nervónico	C24:1	0,03

Como se puede observar en la tabla 14, los ácidos grasos más representativos son; ácido heneicosanóico (56,03%), ácido linoleico (17,29%), ácido palmítico (6.87%), ácido oleico (5,85%), ácido esteárico (3,04%), γ -linoléico (1,37%), linolénico (1,36%).

El aceite de chía analizado mostró porcentajes similares en los ácidos palmítico, esteárico, oleico y linoleico, reportados por Ayerza y Coates (2005), esto podría deberse a la coincidencia en suelos areno-limosos los cuales favorecen su crecimiento aunque también puede desarrollarse en suelos

arcillo-limosos con buen drenaje como los existentes en Argentina, Bolivia, Colombia, México y Perú y que coinciden con la textura arenosa a franco-arenosa de la localidad de Colta a 3000 a 3500 m.s.n.m (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Colta, 2014). La semilla de chía del cantón Colta es la clásica mezcla entre semillas blancas y negras cultivadas a 3180 m.s.n.m. en un suelo negro andino, con alto valor biológico y porcentajes importantes en fibra, proteína y extracto etéreo (Vintimilla y Reinoso, 2015).

Sin embargo, no concuerda con el resultado del ácido γ -linoléico (1,37%) y el elevado contenido del ácido heneicosanoico presentado en esta investigación lo cual podría deberse que la temperatura, la luz, el tipo de suelo y la nutrición de las plantas afectan tanto la cantidad como la calidad del aceite contenido en la semilla de chía. Se ha encontrado una correlación negativa entre las temperaturas medias y el contenido del ácido graso α -linolénico de la semilla de chía formada a principios de abril y a fines de mayo (Ayerza, 1995). Es probable que las altas temperaturas reduzcan la formación de este ácido graso esencial, tal como ocurre en otras oleaginosas, según lo informado por Howell & Collins (1957).

La variabilidad de los contenidos de ácidos grasos presentada en los aceites estudiados, es muy probable se deba al factor origen, ya que algunos investigadores han demostrado el efecto de factores como la calidad del suelo y condiciones climáticas sobre la composición química del aceite de chía. Esto ha sido verificado en aceites de maíz, jojoba y chía, observando que un incremento en la temperatura se relaciona con una disminución en el contenido de aceite y, la composición de ácidos grasos saturados aumenta, mientras que los insaturados disminuyen (Ayerza R. , 2011).

Las diferencias encontradas en el contenido total e individual de ácidos grasos de un aceite de chía del estudio realizado en Cuba con respecto al presente estudio, pudieran estar influenciadas por diferentes factores como son las condiciones climáticas, forma de cultivo, tipo de suelo, altitud del terreno, tipo de semilla, entre otras variables propias de las materias primas, el aceite conseguido a partir de semillas de *S. hispanica* L. (Vicente, y otros, 2013).

3.7 Análisis Proximal y composición química de la semilla de chía

El análisis proximal de la semilla de chía se realizó en el laboratorio de análisis de alimentos del Instituto Nacional de Investigaciones agropecuarias siguiendo las metodologías detalladas en el capítulo 2. En la tabla 15 se pueden observar los resultados obtenidos.

Tabla 15. Análisis proximal para la semilla de chía (INIAP)

Análisis	Porcentaje (%)
Humedad	5,86
Cenizas	4,7
Extracto etéreo	31,48
Proteína	24,64
Fibra Cruda	19,48
Elementos libres de nitrógeno	19,69

En el presente trabajo de titulación se analizó semillas de chía con el fin de conocer su composición química y el aporte de nutrientes que ofrece, las semillas analizadas se caracterizaron por su bajo contenido de humedad y de igual manera de cenizas con valores de 5,86% y 4,7% respectivamente. Por otro lado, el contenido de grasa, de 31,48%, es el más alto en relación a los demás nutrientes y también posee un contenido proteico importante que equivale al 24,64% y su valor de fibra que corresponde al 19,48%.

En el artículo sobre la evaluación nutricional y química de semillas de chía, se revelan resultados de entre 22,1% a 33,4%, en proteína, en grasa de 19% al 26,5% y fibra ácido detergente se encuentra de 47,1% a 59,8% (Webber, Gentry, Kohlhepp, y McCrohan, 1992). Por otro lado Ayerza y Coates (2011), presentaron un contenido de proteínas que varió entre y 16 a 26 g/100g respectivamente, respecto al contenido de materia grasa, los valores reportados oscilan entre 30 y 35%, además de un rango amplio en el contenido de fibra que va desde 18 al 30%.

Las muestras analizadas en este estudio revelan resultados de proteína, grasa y fibra dentro rangos en los que se encuentran los reportados por otros autores,

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 a mayores alturas, aproximadamente de 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).

A pesar de que los valores no difieren en gran cantidad entre sí, las diferencias encontradas en la composición química de los estudios previamente mencionados con la investigación realizada en este trabajo de titulación, se pueden atribuir a distintos factores, entre los cuales se puede mencionar a la especie, variedad, altura de cultivo, condiciones climáticas, geografía y factores agronómicos. En general, está documentado que la elevación de la tierra se asocia con la disminución de la temperatura ambiental, así como una fuerte relación entre la creciente temperatura estacional y el número del procesos metabólicos y fisiológicos básicos de las plantas, lo cual pudo tener una influencia positiva en los porcentajes obtenidos de cada nutriente en la semilla de chía para el presente estudio (Ayerza R. , 2011).

Debido a que es una planta sensible al fotoperiodo, la estación de crecimiento depende de la latitud a la cual se realice el cultivo. Los suelos areno-limosos como los encontrados en Colta, favorecen su crecimiento aunque también puede desarrollarse en suelos arcillo-limosos con buen drenaje. Las observaciones de campo indican un buen crecimiento de este cultivo en suelos con un amplio nivel de variación de nutrientes (Ayerza y Coates, 2005).

3.8 Comparación de la calidad del aceite de la chía con otros aceites comestibles

Con la finalidad de comparar la calidad de la grasa que se encuentra en la chía con otros aceites, se realizó el análisis del aceite de aguacate, canola y palma.

Los resultados en cuanto a su identificación y cuantificación de ácidos grasos de igual manera que en el aceite de chía se realizó mediante la relación del

área de la muestra con respecto al área del estándar por la concentración de la misma, lo cual dio como resultado el contenido de cada ácido graso presente en cada uno de los aceites escogidos para el presente trabajo, la tabla 16 muestra los resultados conseguidos en este análisis.

Tabla 16. Ácidos grasos presentes en aceites estudiados

Nombre	Símbolo	Chía (%)	Aguacate (%)	Canola (%)	Palma (%)
Ácido Láurico	C12				0,01
Ácido Mirístico	C14	0,05	0,04	0,04	0,28
Ácido Estearico	C18:0	3,04	0,53	1,17	2,61
Ácido Oléico	C18:1n9c	5,85	45,25	38,57	35,72
Ácido Araquídico	C20:0	0,27	0,06	0,37	0,18
Ácido Behénico	C22:0	0,08	0,08	0,21	0,03
Ácido Lignocérico	C24:0	0,11	0,05	0,09	0,06
Ácido Palmítico	C16:0	6,87	17,57	3,12	31,63
Ácido Pentadecanóico	C15:0		0,07	0,01	0,07
Ácido Palmitoleico	C16:1	0,18	8,52	0,15	0,29
Ácido Heptadecanóico	C17:0		0,02	0,04	0,09
Ácido Cis-10-heptadecanóico	C17:1		0,07	0,04	0,03
Ácido Linoleláidico	C18:2n6t	0,09			
Ácido Linoleico	C18:2n6c	17,29	11,16	14,41	12,91
Ácido γ -Linoleico	C18:3n6	1,37		0,28	
Ácido Cis-11-eicosenoico	C20:1		0,15	1,07	0,08
Ácido Linolénico	C18:3n3	1,36	0,85		0,49
Ácido Heneicosanóico	C21:0	56,03	0,02	6,59	
Ácido Cis-11-14-eicosadienóico	C20:2	0,05	0,02	0,06	0,02
Ácido Erúcico	C22:1n9	0,02		0,29	
Ácido Tricosanóico	C23:0		0,01		0,03
Ácido Nervónico	C24:1	0,03	0,02	0,14	

Se puede observar que no todos los ácidos grasos están presentes en los aceites analizados, como se puede apreciar en los espacios en blanco, no existió identificación debido a que las cantidades detectadas en el estudio cromatográfico no fueron representativas, éste hecho marcó la diferencia en el momento de comparar la calidad y sus beneficios nutricionales. De igual manera algunos ácidos grasos son significativos en cada aceite y otros son comunes entre sí.

El aguacate es un alimento rico en nutrientes que contiene una alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados que llega al 60%, ácidos grasos poliinsaturados con un 20%, nada de colesterol y los restantes son ácidos grasos saturados (Pérez, Villanueva, y Cosío, 2005).

El análisis se realizó con muestras por duplicado, los resultados obtenidos en el mismo expresó que en el aceite de aguacate los ácidos grasos con mayor presencia son; ácido oleico (45,25%), ácido palmítico (17,57%), ácido linoleico (11,16%) y el ácido palmitoleico (8,52%). Los precedentes resultados difieren por los reportados en bibliografía ya que según los autores; Martínez, Nieto y Moreno (1992), en el perfil de ácidos grasos el aceite de aguacate presenta un porcentaje de ácido oleico de 0,48%. En el ácido palmítico y palmitoleico los resultados son similares, presentando un 16,55% y 7,17% respectivamente y el ácido graso más notable es el linoleico con un 63,83%. La variación en los resultados puede deberse a que en el presente estudio se tomó la muestra del aceite procesado y comercial.

El aceite de canola, es uno de los más utilizados para la cocina y la fabricación de comida en Europa y la tendencia de consumo ha incrementado notablemente en los últimos años en el Ecuador. Es por ésta razón que fue tomado en cuenta para la comparación de ácidos grasos.

Con muestras por duplicado, los resultados obtenidos en la identificación y cuantificación de ácidos grasos detalla que los ácidos; oleico (38,57%), linoleico (14,41%), heneicosanóico (6,56%), palmítico (3,12%), esteárico (1,17%), y cis-11-eicosenóico (1,07%), se encuentran en mayor porcentaje en

relación a los demás. En referencia a los resultados citados por otros autores, tan solo difiere en la cantidad de ácido oleico, ya que Giacomini de Zambrano (2012), presenta un valor de 61%, y en ácido linoleico con 21%. La variación en los resultados puede deberse a que en el presente estudio se tomó la muestra del aceite procesado y comercial, además de las técnicas de extracción de aceite y proceso de refinamiento utilizado.

EL incremento en la demanda del consumo mundial del aceite de palma acrecentó su producción, Ecuador es uno de los mayores productores de aceite de palma y su uso culinario es común en la cocina ecuatoriana. Se ha escogido este aceite para el análisis comparativo de calidad de ácidos grasos debido a la popularidad del mismo en el mercado nacional (Indupalma, 2012).

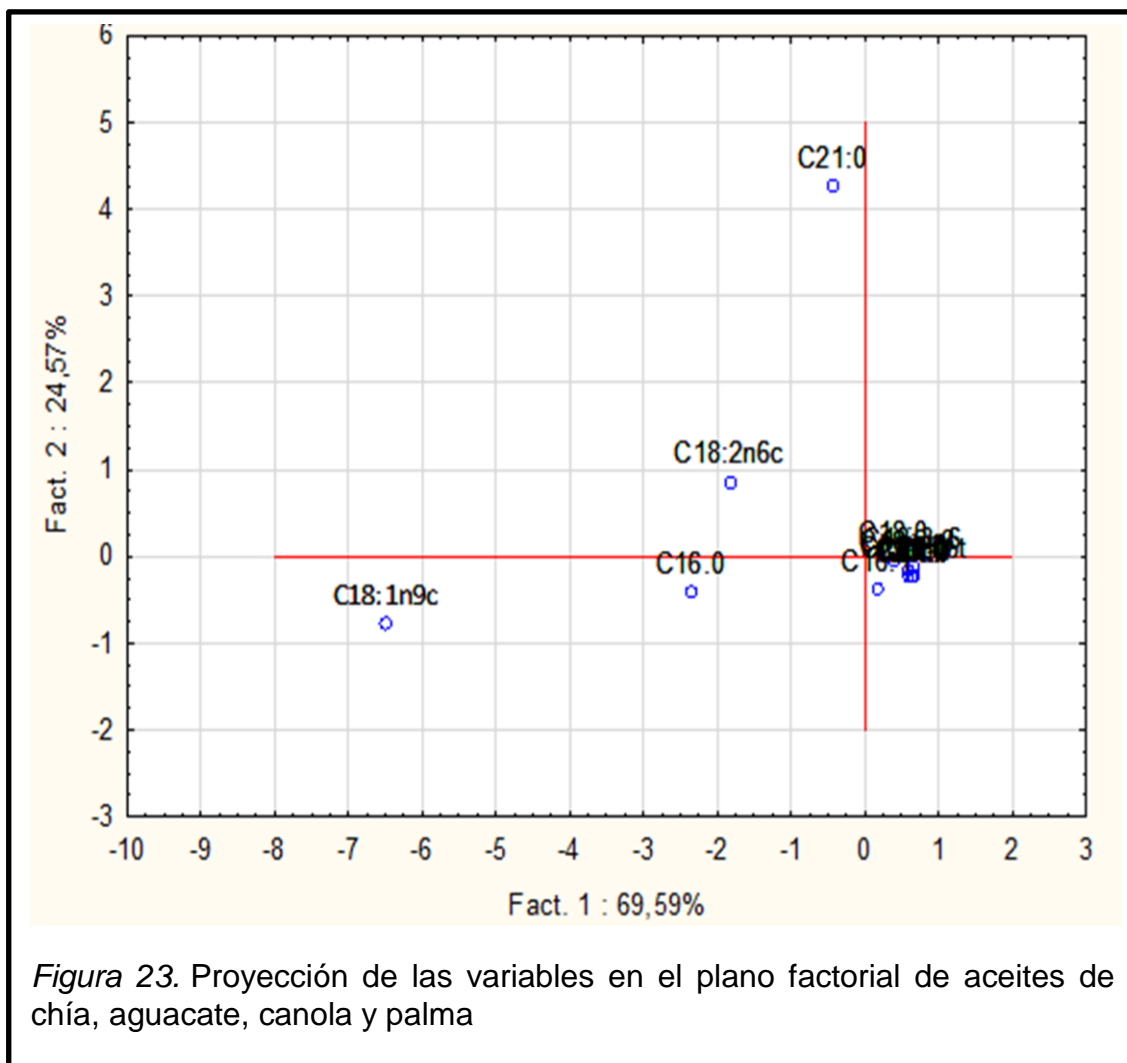
El análisis se efectuó con muestras por duplicado, la información arrojó que los ácidos que mayor importancia debido a su mayor porcentaje son; ácido oléico (35,72%), palmítico (31,63%), y el ácido linolénico (12,91%). De acuerdo al análisis descrito por Indupalma (2012), los resultados solamente difieren en cuanto a la cantidad de ácido linolénico (0,5%) y en mayor cantidad para el ácido palmítico con 47%. La variación en los resultados puede deberse a que en el presente estudio se tomó la muestra del aceite procesado y comercial, además de las técnicas de extracción de aceite y proceso de refinamiento usado en el mismo.

3.9 Análisis multivariado en la composición de aceites

Se realizó el análisis multivariado debido a que la asociación entre los aceites es alta. Un análisis multivariado permite estudiar simultáneamente un conjunto de datos cuando existen algunas variables medidas para cada muestra. Es importante entender el fenómeno en conjunto para realizar una correcta comparación y conclusión óptima teniendo en cuenta la información disponible en el conjunto de datos que se analizaron. El análisis multivariante es de gran ayuda para estudiar relaciones simultáneas entre tres o más variables con el objetivo de tomar decisiones óptimas en el contexto en que se encuentre la información que contribuye el conjunto de datos analizado (Kachigan, 1991).

La proyección de doble proyección de las variables, muestra que los ácidos grasos se concentraron en un solo sector debido a su similitud y concentración, los ácidos grasos que se destacaron se pueden ver en otros sectores del plano.

La figura proyecta la matriz de datos que son los porcentajes de cada ácido grasos de cada aceite estudiado que se ingresaron en el programa para una proyección doble de variables.



La proyección de datos en el análisis multivariado arrojó la diferencia entre los siguientes ácidos grasos:

- Ácido Oleico (C18:1n9c)
- Ácido Linoléico (C18: 2n6c)

- Ácido Palmítico (C16:0)
- Ácido Heneicosanóico (C21:0)

Como se observa en la figura 23, la mayoría de ácidos grasos se agrupan en un sector, demostrando las coincidencias y su repetitividad en los 4 tipos de aceites analizados. Sin embargo, los ácidos grasos que se mostraron diferentes, deben esta condición a la cantidad del mismo que se encuentra en cada aceite.

3.9.1 Ácidos grasos representativos en el estudio multivariado

El análisis estadístico arrojó que existen 4 ácidos grasos representativos, la importancia radica en los porcentajes de cada uno de ellos detectados por el estudio cromatográfico en cada uno de los aceites analizados.

3.9.1.1 Ácido Oleico

El ácido oleico es uno de los ácidos grasos destacados según la proyección plana. La cantidad de ácido oleico que se encontró en cada uno de los aceites estudiados se pueden observar en la tabla 17.

Tabla 17. Cantidad de ácido oleico en cada uno de los aceites estudiados

Aceite	Contenido de ácido oleico (%)
Chía	5,85
Aguacate	45,25
Canola	38,57
Palma	35,72

El ácido oleico (C18:1n-9) es el representante de los ácidos grasos monoinsaturados. Del ácido oleico se derivan eicosanoides, los cuales contribuyen a la actividad vasodilatadora. Produce una reducción de triglicéridos, del colesterol total y LDL, así como de la oxidación del mismo, entre los beneficios más importantes se encuentra el de ser capaz de inducir la prominencia de la fracción de alta densidad (HDL).

En el presente estudio la mayor cantidad de ácido oleico la contiene el aceite de aguacate e igualmente en elevadas proporciones los aceites de canola y

palma. Por otro lado la chía contiene apenas 5,85% de ácido linoleico en su composición.

Los ácidos grasos insaturados, en especial los de la familia omega, contribuyen con múltiples beneficios a la salud. Su aporte a la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer de colon y enfermedades inmunológicas es significativo (Castro-González, 2002).

3.9.1.2 Ácido Linoleico

El ácido linoleico es otro de los ácidos grasos destacados según la proyección plana. La cantidad de ácido linoleico que se encontró en cada uno de los aceites estudiados se pueden observar en la tabla 18.

Tabla 18. Cantidad de ácido linoleico en cada uno de los aceites estudiados

Aceite	Contenido de ácido linoleico (%)
Chía	17,29
Aguacate	11,16
Canola	14,41
Palma	12,91

El ácido linoleico, es un ácido graso esencial ω -3 cuantioso en el reino vegetal y animal. La gran mayoría de los aceites vegetales colaboran con cantidades significativas de ácido linoleico. Una de las mejores fuentes de aporte de ácido linoleico son los aceites de girasol, cártamo, maíz, soja. También son fuente de ácido linoleico las verduras, frutos secos, los cereales, las semillas, huevos y pescados (Roberts, O' Brien, y Subak-Sharpe, 2003).

En el presente estudio, la comparación de ácidos grasos arrojó que la mayor cantidad de ácido linoleico la contiene el aceite de chía y en cantidades menores los aceites de aguacate, canola y palma.

El consumo de alimentos con elevado contenido de ácido linoleico, presenta varios beneficios entre los que se encuentran; eleva las defensas, reduce los niveles de grasa corporal, y la presión arterial, además controla el aumento de las lipoproteínas y los triglicéridos para que se mantengan en niveles

aceptables y de esta manera disminuir el riesgo de enfermedades en el sistema circulatorio (Coronado, Vega y León, Gutiérrez, García, y Díaz, 2006). Otros estudios sugieren que las dietas con un elevado contenido de ácidos grasos ω -3 disminuye el riesgo de sufrir cáncer de mama, intestino y páncreas (Fennema, 2000).

3.9.1.3 Ácido heneicosanoico

El ácido heneicosanoico es un ácido graso saturado de cadena larga con 21 carbonos. La información sobre éste ácido graso es muy escasa, sin embargo el estudio *The inhibitory action of long- chain fatty acids on the DNA binding activity of p53*, Iijima y otros (2006), propone al ácido heneicosanoico como regulador de la división celular y podría colaborar en la supresión de tumores (Iijima, y otros, 2006). La tabla 19 muestra la cantidad de ácido heneicosanoico encontrado en cada muestra analizada.

Tabla 19. Cantidad de ácido heneicosanoico en los aceites estudiados

Aceite	Porcentaje (%)
Chía	56,03
Aguacate	0,02
Canola	6,59
Palma	-

De todos los ácidos grasos encontrados en el aceite de chía, el ácido heneicosanoico alcanzó un porcentaje de 56,03%, es decir que la mayor parte de su aceite está compuesto por este ácido graso muy poco estudiado. Es importante proponer un futuro estudio del mismo para el aporte de la ciencia y de igual manera para la extracción de este ácido graso y su aplicación en diversos campos. La canola tiene un contenido bajo llegando al 6,59%, mientras que el aceite de aguacate y el de palma carecen de ácido heneicosanoico.

3.9.1.4 Ácido palmítico

El ácido palmítico es un ácido graso saturado de origen vegetal que proviene de la hidrólisis de la palma (Bailey, 2001). La cantidad de ácido palmítico que se encontró en cada uno de los aceites estudiados se pueden observar en la tabla 20.

Tabla 20. Cantidad de ácido palmítico en los aceites estudiados

Aceite	Porcentaje (%)
Chía	6,87
Aguacate	17,57
Canola	3,12
Palma	31,63

Los aceites vegetales, tales como aceite de palma, son ampliamente utilizados en la industria alimentaria y altamente representado en la dieta humana. El ácido palmítico, es un ácido graso saturado y es el principal constituyente del aceite de palma refinado, contiene tanto compuestos beneficiosos saludables, tales como triglicéridos, vitamina E, rica fuente de carotenoides, tocoferoles y tocotrienoles (Mancini, y otros, 2015).

Al ser un ácido graso saturado, estudios revelan los efectos poco saludables y su relación con la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares y el cáncer relacionados con el consumo de ácido palmítico (Mancini, y otros, 2015). En el presente estudio, el aceite de canola tiene 3,12% del mismo y la chía muestra un contenido de apenas 6,87%, lo cual indica que son aceites sin un contenido representativo de ácido palmítico.

4. ESTIMACIÓN ECONÓMICA PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE CHÍA

Una vez caracterizado el perfil de ácidos grasos y habiéndose evaluado las características bioquímicas de la chía, es importante analizar el futuro de la chía como un alimento funcional y el aprovechamiento de la calidad de sus ácidos grasos para la elaboración de un aceite. El consumo de aceites vegetales es importante debido a que su principal componente son los triglicéridos, que a su vez se constituyen de ácidos grasos insaturados y vitaminas liposolubles (Rodríguez y Magro, 2008)

Para la obtención de los aceites vegetales comestibles existen 2 técnicas de extracción generalmente utilizadas tanto a nivel industrial como en laboratorio, son: el prensado y la extracción con solventes. El método más utilizado en la industria es el prensado, debido a que cuando se trabaja con solventes, estos se impregnan en el aceite y se reduce la capacidad de utilizarlo como un alimento, además que aumentan los costos de extracción y no siempre se recupera todo el solvente (Plank, 2005).

Para esta investigación de laboratorio, se utilizó la extracción por solvente, hexano y éter de petróleo, que presentó un elevado rendimiento, pero cuando se trabaja a escala industrial requiere grandes volúmenes de solvente en relación al aceite extraído por lo que la eficacia del proceso se ve reducida. La tabla 21 muestra el valor obtenido en rendimiento de esta investigación.

Tabla 21. Rendimiento del aceite de chía, extracción por solvente éter de petróleo

Cantidad de aceite crudo extraído (g)	50g
Cantidad de materia prima utilizada (g)	7,45g
Rendimiento del proceso (100)	14,9%

En su estudio *Diseño de una planta para la extracción del aceite vegetal comestible de las semillas de chía*, Cefla (2015), realizó la extracción del aceite de chía con una prensa expeller marca Baldor, presentó un rendimiento de 24,74% y tomó como variables de operación la temperatura y el diámetro de la

boquilla de la prensa. La diferencia radica en que al realizarse la extracción en prensado queda aproximadamente entre 7 a 10% de aceite en la torta residual, además de que se tomaron en cuenta las impurezas restantes en el proceso.

De igual manera se considera el uso de 5 equipos en la planta de producción, que son; tamiz, prensa Expeller, filtro, tanque de sedimentación y tanque de almacenamiento. Se debe tomar en consideración el alto costo de la materia prima por lo que el producto está destinado a un sector de mediano y alto poder adquisitivo (Cefla, 2015).

En el presente trabajo, se mostró que el aceite de chía tiene un elevado contenido de ácido heneicosanoico (56,03%), que si bien no ha sido estudiado a profundidad, tiene un gran potencial a nivel investigativo y de bien para la dieta, además se analizaron especialmente ácidos grasos benéficos para el organismo por lo cual se plantea la opción de escoger al consumidor respecto a los ácidos grasos ω encontrados en cada aceite en estudio, los valores y el precio de venta al público se muestran en la tabla 22.

Tabla 22. Porcentajes de ácidos grasos ω en aceites de aguacate, canola, palma y chía

Ácido graso ω	Aguacate	Canola	Palma	Chía
ω -9	45,25 %	38,57 %	35,72 %	5,85 %
ω -6	11,16 %	14,41 %	12,92 %	17,29 %
ω -3	0,85 %	0,28 %	0,49 %	2,73%
P.V.P (\$)	6,45	3,56	1,20	21

En virtud de que no existe aceite de chía en el mercado ecuatoriano, Cefla (2015), propuso el cálculo del precio del aceite en base a un costo de producción por unidad de \$16,81. Para una producción diaria de 24 botellas de 0,5 L y precio de venta al público sugerido de \$21.

El presente análisis económico deja a decisión del consumidor el consumo del aceite de chía, que a pesar de su elevado valor monetario respecto a los

demás, posee elevados contenidos de ácidos grasos ω lo cual se traduce en cualidades benéficas para el organismo.

4.1 Costo de investigación

Se consideraron los gastos incurridos durante la investigación, tanto de los análisis realizados así como del material utilizado en la misma. Con el objetivo de analizar las características previas al análisis del perfil de ácidos grasos, llevado a cabo en el Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos, del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Es importante mencionar que gracias a la apertura con la mencionada institución en el uso de reactivos y equipos, el costo de la investigación se redujo al pago de un cilindro de aire extra puro (\$117,53), 1 kg de chía (\$10), 1 botella de aceite de aguacate (\$6,45) y 1 botella de aceite de canola (\$3,56), dando un valor final de \$137,54.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

La caracterización de ácidos grasos presentes en la semilla de chía se realizó gracias a la obtención de muestras de aceite por extracción en Soxhlet en lugar de una prensa, la cual facilitó la posterior esterificación y concentración de la fase orgánica para su análisis en el cromatógrafo de gases.

La adaptación de la metodología analítica fue necesaria para la correcta identificación del perfil de ácidos grasos de la semilla de chía analizados mediante el estándar del cromatógrafo de gases, el cual evaluó 37 ácidos grasos, de los cuales 16 pertenecen a la semilla chía, los ácidos grasos más representativos son; ácido heneicosanóico (56,03%), ácido linoleico (17,29%), ácido palmítico (6.87%), ácido oleico (5,85%), ácido esteárico (3,04%), linolénico (1,36%) y el γ -linoleico (1,37%).

Se comparó el perfil de ácidos grasos del aceite de chía, con los aceites comerciales de aguacate, canola, y palma, los ácidos grasos representativos en el estudio comparativo fueron; ácido oleico, ácido linoleico, ácido palmítico y ácido heneicosanoico. Todos los aceites analizados presentan contenidos importantes de ácidos grasos ω , conocidos por sus múltiples beneficios . La chía se destacó con elevados contenidos de ácido heneicosanoico, ácido linoleico y por su bajo contenido de ácido palmítico, en virtud de los favores que presentan cada uno de los ácidos grasos estudiados, la chía revela ser una excelente opción para la dieta y su aporte a la salud.

5.2 RECOMENDACIONES

Para la obtención del aceite de chía se puede probar con diferentes solventes a fin de conocer con cuál de ellos hubo mayor rendimiento del aceite. Además se puede utilizar una prensa manual para la extracción del aceite de chía.

En la adaptación de la metodología analítica se sugiere experimentar con diferentes estándares que permitan comprobar si la detección de ácidos grasos para el aceite de chía puede ser superior a 16.

Se recomienda dirigir la comparación a otros aceites comerciales a fin de complementar la información obtenida en el presente estudio.

Seguidamente, se propone continuar la investigación hacia la incorporación del aceite de chía en alimentos funcionales ya que es poseedora de ácidos grasos beneficiosos para el organismo humano y de igual manera en buscar técnicas que permitan proteger o aislar compuestos sensibles presentes en la chía para su asociación en alimentos. En virtud de lo expuesto, un futuro enfoque integral a la investigación de la semilla de chía puede ampliar el aprovechamiento de los subproductos derivados del cultivo de la chía y su valor agregado, lo cual además de constituir una alternativa para la industria alimentaria, es también una opción en la diversificación de la producción agrícola y desarrollo socioeconómico del Ecuador.

Se recomienda el estudio profundo del ácido heneicosanoico, con el fin de completar la información obtenida en el presente estudio, así como analizar a futuro la extracción de éste ácido graso con el fin de aprovechar sus posibles beneficios como por ejemplo en la industria farmacéutica, entre otras.

REFERENCIAS

- Aldrich, S. (2006). Fatty acid analyses. *The Reporter*, 25.4, 3-4.
- Alicante, U. d. (2004). *Repositorio de revistas* . Recuperado el 20 de Abril de 2015, de <http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8247/4/T3gascromat.pdf>
- Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *JAACS*, 1079-1081.
- Ayerza, R. (2011). The seed's oil content and fatty acid composition of chía (*Salvia hispanica* L.) Var. Iztac1, grown under six tropical ecosystems conditions. *Interciencia*, 620-623.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2005). *Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs* (1 ed.). Tucson: The University of Arizona Press.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2006). *Chía, Redescubriendo un olvidado alimento de los Aztecas*. Buenos Aires: Del Nuevo Extremo.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acids profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *IndCrop Prod*, 34: 1366-71.
- Bailey, A. (2001). *Aceites y grasas industriales*. España: Reverté.
- Bemelmans, W., Broer, J., Feskens, E., Smit, A., Muskiet, F., Lefrandt, J., . . . Meyboom-de Jong, B. (2002). Effect of an increased intake of α -linolenic acid and group nutritional education on cardiovascular risk factors: The Mediterranean alpha-linolenic enriched Groningen dietary intervention study. *PubMed Web of Science* ®, 221-227.
- Bueno, M., Di Sapia, O., Barolo, M., Busilacchi, H., Quiroga, M., & Severin, C. (2010). Análisis de la calidad de los frutos de *Salvia hispánica* L. (Lamiaceae) comercializados en la ciudad de Rosario (Santa Fé, Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(3), 221-227.

- Bushway, A., Wilson, A., Houston, L., & Bushway, R. (1984). Selected properties of the lipid and protein from chia seed. *Journal of Food Science*, 555-557.
- Capitani, M., Spotorno, V., Nolasco, S., & Tomás, M. (2012). Physico-chemical and functional characterization of by products from chia (*Salvia hispanica* L.) seed of Argentina. *Food Sci Technol-Leb*, 94-102.
- Castillo Aguilar, B., & González Hernández, R. (1997). Protocolo de validación de métodos analíticos para cuantificación de fármacos. *Revista Cubana Farmacéutica*, 1-2.
- Castorena, J. H., Rojas, M., Delgado, R., & Robles de la Torre, R. (Julio-Diciembre de 2011). Análisis de pulpa y aceite de aguacate con espectroscopia infrarroja. *Conciencia Tecnológica*(42).
- Castro-González, M. I. (2002). ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3: BENEFICIOS Y FUENTES. *SCIELO*, 8.
- Cefla, K. (Abril de 2015). Diseño de una planta para la extracción del aceite vegetal comestible de las semillas de chíá (*Salvia hispanica* mediante prensadoL.) . Quito, Pichincha, Ecuador: EPN.
- Coates, W. (2013). *Chía, El increíble supernutriente*. Madrid: EDAF.
- Comellas, L. (1994). Desarrollo de métodos en HPLC. *Instituto Químico de Sarria*, 68.
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., García, B., & Díaz, G. (2006). Los ácidos grasos omega-3 y omega- 6: Nutrició, bioquímica y salud. *Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco*, 72-79.
- Esmiol, S. (Enero de 2008). *Amigos de la tierra*. Obtenido de http://www.tierra.org/spip/IMG/pdf/Aceite_de_Palma.pdf
- FAS, U. (2007). Major vegetable oils. *World Supply and Distribution*.
- Fennema, O. (2000). *Química de alimentos*. Madison: Acribia.
- French, M., Sundram, K., & Clandinin, M. (2002). Cholesterolaemic effect of palmitic acid in relation to other dietary fatty acids. *Asian Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1-7.
- Giacopini de Zambrano, M. I. (2012). El aceite de canola y sus efectos en la salud. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 25(2), 1-5.

- Gil, Á. (2004). *Libro blanco de los Omega-3*. Madrid: Panamericana.
- Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Colta. (2014). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial*. Colta: Sistema Nacional de Información.
- Graciani Constante, E. (2006). *Aceites y Grasas*. Madrid: S.A Mundi- Prensa.
- Gutiérrez, R., Ramírez, L., Vega, S., Fontecha, J., Rodríguez, L., & Escobar, A. (2014). Contenido de ácidos grasos en semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) cultivadas en cuatro estados de México. *Scielo. Revista Cubana de Plantas Medicinales*.
- Harris, D. C. (2007). *Análisis químico cuantitativo*. Reverté: Barcelona.
- Howell, R., & Collins, F. (1957). Factors affecting linolenic and linoleic acid content of. *Agronomic Journal*, 593-597.
- Iijima, H., Kasai, N., Murakami, S., Sugawara, F., Sakaguchi, K., Yoshida, H., & Mizushima, Y. (2006). The inhibitory action of long-chain fatty acids on the DNA binding activity of p53. *PubMed*, 571-7.
- Indupalma. (2012). *Indupalma*. Obtenido de <http://www.indupalma.com/aceite-de-palma>
- Inoue, H., & Tateishi, A. (1995). Ripening and Fatty acids composition of avocado fruit in Japan. *III World Avocado Congress Tel Aviv*, 366-369.
- Jiménez, P., Masson, L., & Quitral, V. (2013). Composición química de semillas de chía, linaza y rosa mosqueta y su aporte de ácidos grasos omega-3. *Scielo. Revista chilena de nutrición*, 2-4.
- Kachigan, S. K. (1991). *Multivariate Statical Analysis* (2 ed.). New York: Radius Press.
- Lawson, H. (1999). *Aceites y grasas alimentarios*. Zaragoza: Acribia, S.A.
- López Valencia, J. P. (2008). Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos. *Programa de tecnología química*, 20-50.
- Madrid, A., Cenzano, I., & Vicente, J. (1997). *Manual de aceites y grasas alimentarias*. Barcelona: AMV Ediciones. Mundi Prensa.

- Madrid, A., Cenzano, I., & Vicente, J. (1997). *Manual de aceites y grasas comestibles*. Barcelona: AMV Ediciones. Mundi Prensa.
- Mancini, A., Imperlini, E., Nigro, E., Montagnese, A., Orru, S., & Buono, P. (2015). Biological and nutritional properties of pal oil and palmitic acid: effects on health. *Molecules*, 17340-17353.
- Martínez Nieto, L., Barranco Barranco, R., & Moreno Romero, V. (1992). Extracción de aceite de aguacate: Un experimento industrial. *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*, 1-5.
- Martínez, M., Marín, M., Salgado, C., Revol, J., & Penci, M. (2012). Chia (*Salvia hispánica* L) oil extraction: Study of processing parameters. *Food Sci Technol-Leb*, 47:78-82.
- Matthaus, B. (2003). *Seed oil Fatty Acids*. Detmold: Wiley.
- Morera, J. (1983). *El aguacate*. Turrialba, Costa Rica: CIDIA.
- Muñiz, A. (23 de Enero de 2016). *Ácido araquidónico, fundamentos y beneficios*. Obtenido de <http://megustaestarbien.com/2012/01/24/acido-araquidonico-lo-que-debes-saber/>
- Olaeta, J. (2003). Industrialización del aguacate: Estado actual y perspectivas futuras. *Proceedings V World Avocado Congress*, (págs. 749-754). Valparaiso.
- Olaeta, J., Undurraga, Y., & Schwartz, M. (1999). Determinación de la evolución y caracterización de los aceites en aguacates (*Persea americana* Mill) Fuerte y Hass cultivados en Chile. *RevistaChapingo*, 117-122.
- Olivieri, A. (14 de Diciembre de 2015). Regresión lineal en química analítica. *Regresión lineal en química analítica*. Rosario, Argentina.
- Pérez, R., Villanueva, S., & Cosío, R. (4 de Noviembre de 2005). El aceite de aguacate y sus propiedades nutritivas. *e-Gnosis*.
- Plank, R. (2005). *El empleo del frío en la industria de la alimentación* (1er ed.). Barcelona, España: Reverté.
- PRO ECUADOR. (2014). La semilla de salvia hispana o chía, otro superalimento. *Boletín de Análisis de Mercados Internacionales*, 4-6.

- Rampazoo, P. (1990). Standardisation and validation of analytical methods in the pharmaceutical industry . *II Farmaco*, 807-15.
- Razmilic, B. (2015). Principios básicos de cromatografía. *Merck Química Chilena*, 2-3.
- Reed. (2001). Avocados. *Food New Zeland*, 20-25.
- Roberts, A. J., O' Brien, M. E., & Subak-Sharpe, G. (2003). *Nutricéuticos*. Barcelona: Robin Book.
- Rodríguez, V., & Magro, E. (2008). *Bases de la alimentación humana* (1ra ed.). Madrid, España: Reverté.
- Rubinson, K., & Rubinson, J. (2001). *Análisis Instrumental* . London: Pretice Hall.
- Sánchez Pineda de las Infantas, M. T. (2003). *Procesos de elaboración de alimentos y bebidas*. Madrid: Mundi Prensa.
- Taga, M., Miller, E., & Pratt, D. (1984). Chia seed as a source of natural lipid antioxidants. *JAOCS*, 928-931.
- Varcárcel, M., & Gómez, A. (1988). *Técnicas Analíticas de Separación*. Barcelona: Reverté, S.A.
- Vázquez, J. A., Rosado, J. G., Chel, L. A., & Betancour, D. A. (2010). Procesamiento en seco de harina de chíá (*Salvia hispanica* L.): caracterización química de fibra y proteína. *CyTA-Journal of Food*, 117-127.
- Vicente, R., Rodríguez, E., González, V., López, O., Rivera, M., & González, M. (2013). Características preliminares del ac eite de semillas de *Salvia hispanica* L. cultivadas en Cuba. *Scielo. Revista Cubana de Plantas Medicinales*.
- Villarías Moradillo, J. L. (1971). *El cultivo rentable de la colza como recurso sostenible del agrodiesel*. Madrid: Ediciones Agrotécnicas.
- Vinagre, J. (2015). Calidad de métodos analíticos. *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición*. FAO, 5.
- Webber, C., Gentry, H., Kohlhepp, E., & McCrohan, P. (1992). The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. *Ecol Food Nutrition*, 26:119-25.

ANEXOS

Anexo 1. Método 108.003 Contenido de ácidos grasos como ésteres metílicos.
Institute for Nutraceutical Advancement.

Para preparar las muestras se pesaron aproximadamente 150 mg de aceite, se adicionó 1 mL de disolución de patrón interno (ácido C_{13:0}, a 10 mg/mL en metanol) y 3 mL de cloruro de acetilo 10 % en metanol (agente metilante); se cerró el tubo de ensayos y se calentó a 85 °C durante 2 h, con agitación ocasional cada 15 min. Se dejó enfriar, se añadieron 4 mL de hexano y 4 mL de agua destilada. Se agitó en zaranda durante 15 min, se dejó reposar y se extrajo una alícuota de 3 mL de la fase orgánica superior hacia otro tubo de ensayos, donde se añadieron 4 mL de hexano y 4 mL de hidróxido de sodio a 1 mol/L en metanol. Se cerró, se agitó en zaranda por 15 min, se añadieron 4 mL de agua destilada, se cerró y se agitó en zaranda por 15 min. Se dejó reposar y se extrajo una alícuota de 2 mL hacia un vial, de donde se tomó 1 µL para el análisis cromatográfico. Se empleó un cromatógrafo de gases 7890 A (Agilent, EE. UU.), con detector de ionización por llama y una columna capilar BPX-70 (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm Df, SGE, Australia). El programa de temperatura fue de: 4 min a 100 °C; de 100 hasta 180 °C a 10 °C/min; de 180 hasta 185 °C a 1 °C/min; de 185 hasta 240 °C a 25 °C/min y 15 min a 240 °C. La temperatura del detector y el inyector fue 260 °C, y el flujo del gas portador (H₂) de 0,8 mL/min. Los análisis se realizaron por triplicado. Los patrones de AG (Sigma, EE. UU.), demás reactivos y disolventes (Merck, Alemania) fueron puros para análisis

Anexo 2. Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos. (López Valencia, 2008)

Esterificación de la muestra

La esterificación del aceite se realizó utilizando una mezcla de H₂SO₄/MeOH al 2%, tanto el ácido como el metanol deben ser anhidros, para evitar desplazamientos en el equilibrio. A 40-50 mg del extracto lipídico en un tubo con tapa rosca se agregó 1 mL de benceno (se cambió por hexano por disponibilidad). Se adicionó 2 mL de la mezcla H₂SO₄/MeOH al 2% posteriormente de que la muestra se disolvió. Después de taponar el tubo con la tapa rosca, se llevó a un baño María a 90 °C durante dos horas. Después del tubo estar a temperatura ambiente, se adicionó 0,5 mL de agua y se mezcló. Se hicieron extracciones de la mezcla tres veces con porciones de 3 mL de pentano (se utilizó hexano grado cromatográfico para eliminar interferencias en el análisis cromatográfico de gases). Se combinaron los tres extractos de hexano y reducir el volumen hasta $\frac{1}{4}$ del volumen inicial por calentamiento. Para el análisis en CG la muestra fue totalmente anhidra

Se compró un estándar comercial de mezcla de metilesteres de ácidos grasos marca RESTEK, con código de catálogo 35078, el cual contiene la 28 metilesteres de ácidos grasos. La concentración del estándar es de mL mg 30. Los metilesteres presentes en el estándar y su concentración en él, se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Composición del estándar de mezcla de metilesteres marca RESTEK

NUMERO DE CARBONOS	COMPUESTO	PORCENTAJE (% PESO)
4:0	Metil butirato	1,5%
6:0	Metil hexanoato	1,5%
8:0	Metil octanoato	2,0%
10:0	Metil decanoato	2,5%
11:0	Metil undecanoato	2,5%
12:0	Metil laurato	5,0%
13:0	Metil tridecanoato	2,5%
14:0	Metil miristato	2,5%
14:1	Metil miristoleato (cis-9)	1,5%
15:0	Metil pentadecanoato	1,5%
16:0	Metil palmitato	10,0%
16:1	Metil palmitoleato (cis-9)	5,0%
17:0	Metil heptadecanoato	2,5%
18:0	Metil estearato	5,0%
18:1	Metil oleato (cis-9)	15,0%
18:1	Metil elaidato (trans-9)	2,5%
18:2	Metil linoleato (cis-9,12)	10,0%
18:2	Metil linoelaidato (trans-9,12)	2,5%
18:3	Metil linolenato (cis-9,12,15)	5,0%
20:0	Metil araquidato	2,5%
20:1	Metil eicosenoato (cis-11)	1,5%
22:0	Metil behenato	2,5%
22:1	Metil erucato (cis-13)	1,5%
23:0	Metil tricosanoato	1,5%
24:0	Metil lignocerato	2,5%
20:5	Metil eicosapentaenoato (cis-5,8,11,14,17)	2,5%
24:1	Metil nervonato (cis-15)	2,5%
22:6	Metil docosahexaenoato (cis-4,7,10,13,16,19)	2,5%

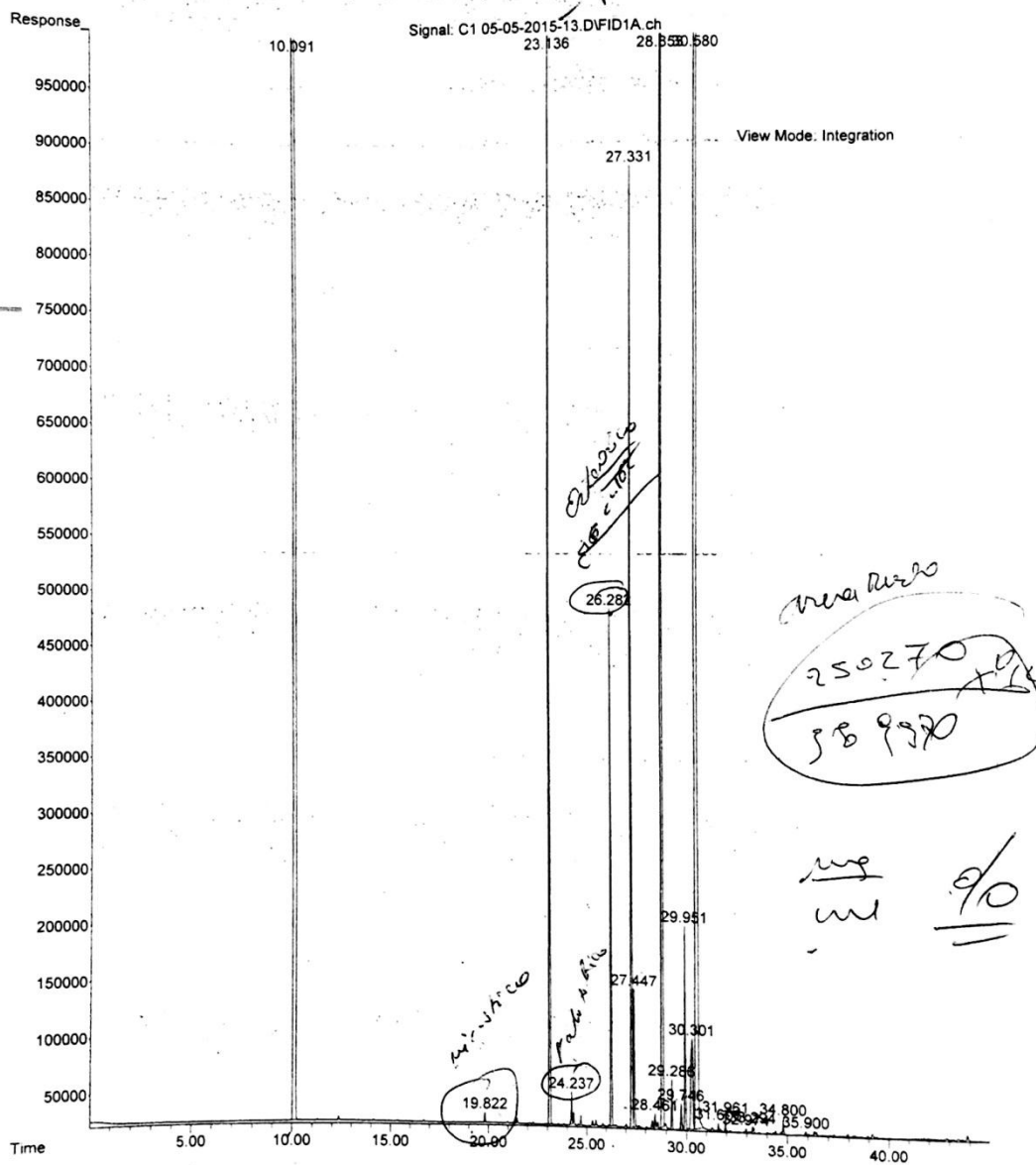
Las condiciones en las que fue eluido el estándar para el certificado de análisis fueron las siguientes: Columna Famewax (cat # 12498). 30 m, 0,32 mm, 0,25 μ m. Gas transportador: hidrogeno con flujo de seg cm 40 Programación de la temperatura: 100 °C por 4 minutos. Se lleva hasta 240 °C con una rata de 3 min °C , se mantiene esta temperatura por 10 minutos Temperatura del inyector: 200 °C Temperatura del detector: 250 °C Tipo de detector: DIL 2.5.1 Patrones. A partir del estándar 35078 el cual está a una concentración de mL /mg , se realizaron las respectivas diluciones para obtener varios patrones. Estos patrones cubren concentraciones que van desde 2,5 hasta 500 ppm de la mezcla de metilesteres.

Análisis cromatográfico

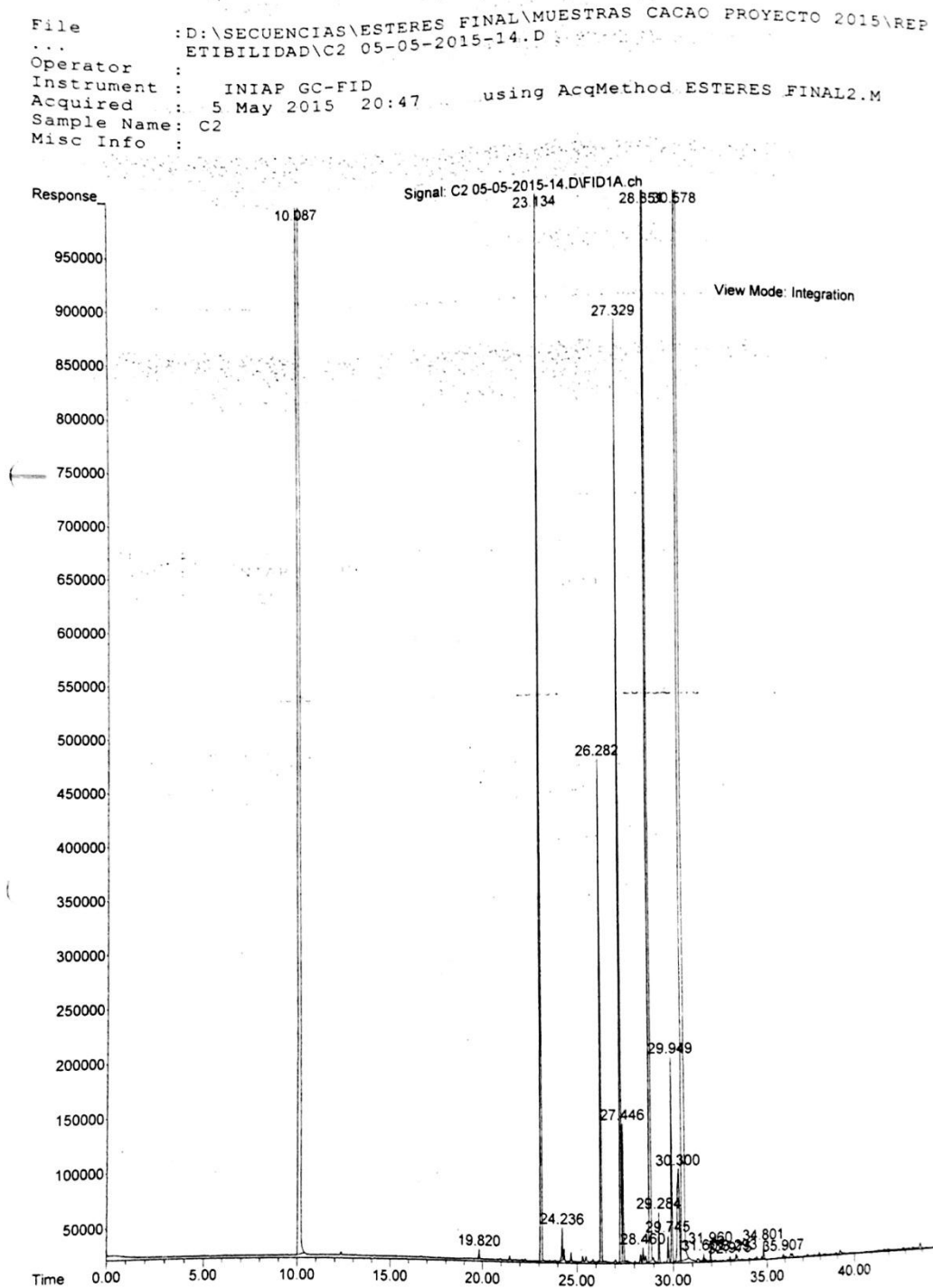
El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas marca Shimadzu GC-MS QP-2010. Sistema equipado con autoinyector AOC-20i, automuestreador AOC-20s, inyección Split-splitless, modo de ionización EI/SCI/NCI y un sistema de inserción directa controlado por un software GCMS solution. Con una columna de 30 m de largo, 0,25 mm DI, 0,25 μm de partícula Rtx-CLPesticides Restek. Base de datos de espectros de masas Wiley, 7° edición, 2003.

Anexo 3. Cromatograma repetición 1 (C1)

File : D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\REP
 ... ETIBILIDAD\C1 05-05-2015-13.D
 Operator :
 Instrument : INIAP GC-FID
 Acquired : 5 May 2015 19:58 ... using AcqMethod ESTERES FINAL2.M
 Sample Name: C1
 Misc Info :

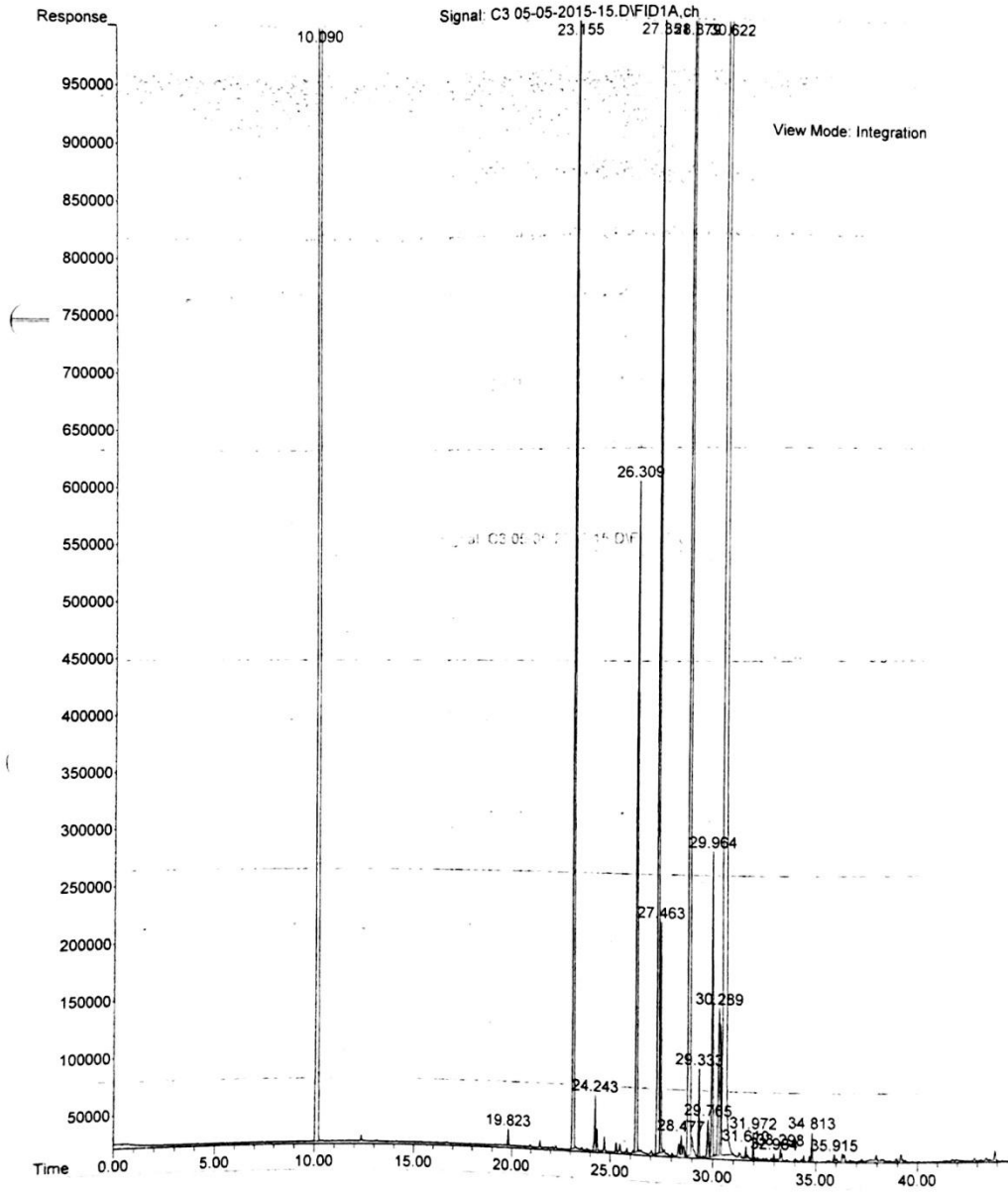


Anexo 4. Cromatograma repetición 2 (C2)



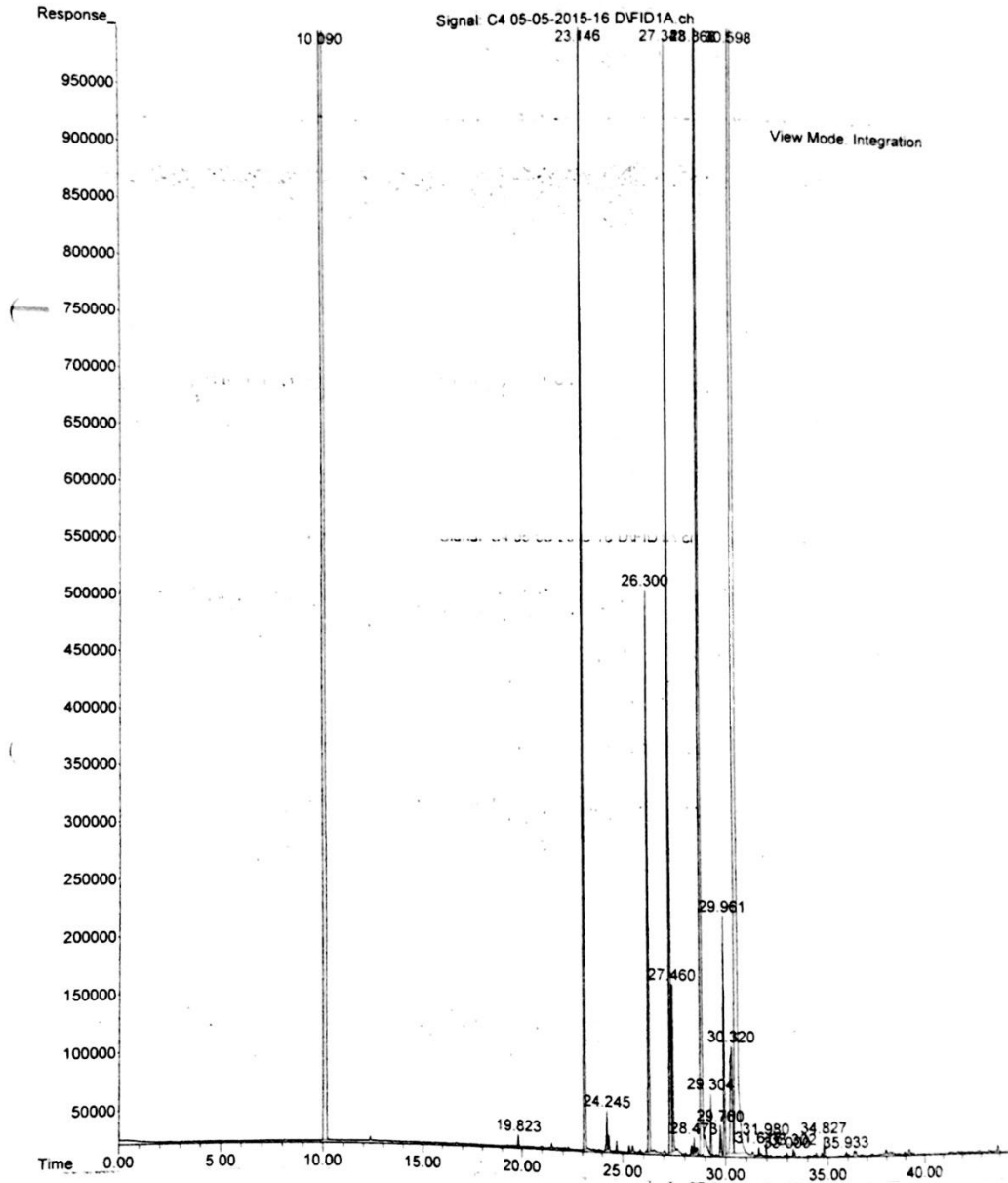
Anexo 5. Cromatograma repetición 3 (C3)

File :D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\REP
... ETIBILIDAD\C3 05-05-2015-15.D
Operator :
Instrument : INIAP GC-FID
Acquired : 5 May 2015 21:35 using AcqMethod ESTERES FINAL2.M
Sample Name: C3
Misc Info :



Anexo 6. Cromatograma repetición 4 (C4)

File : D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\REP
... ETIBILIDAD\C4 05-05-2015-16.D
Operator :
Instrument : INIAP GC-FID
Acquired : 5 May 2015 22:24 using AcqMethod ESTERES FINAL2.M
Sample Name: C4
Misc Info :

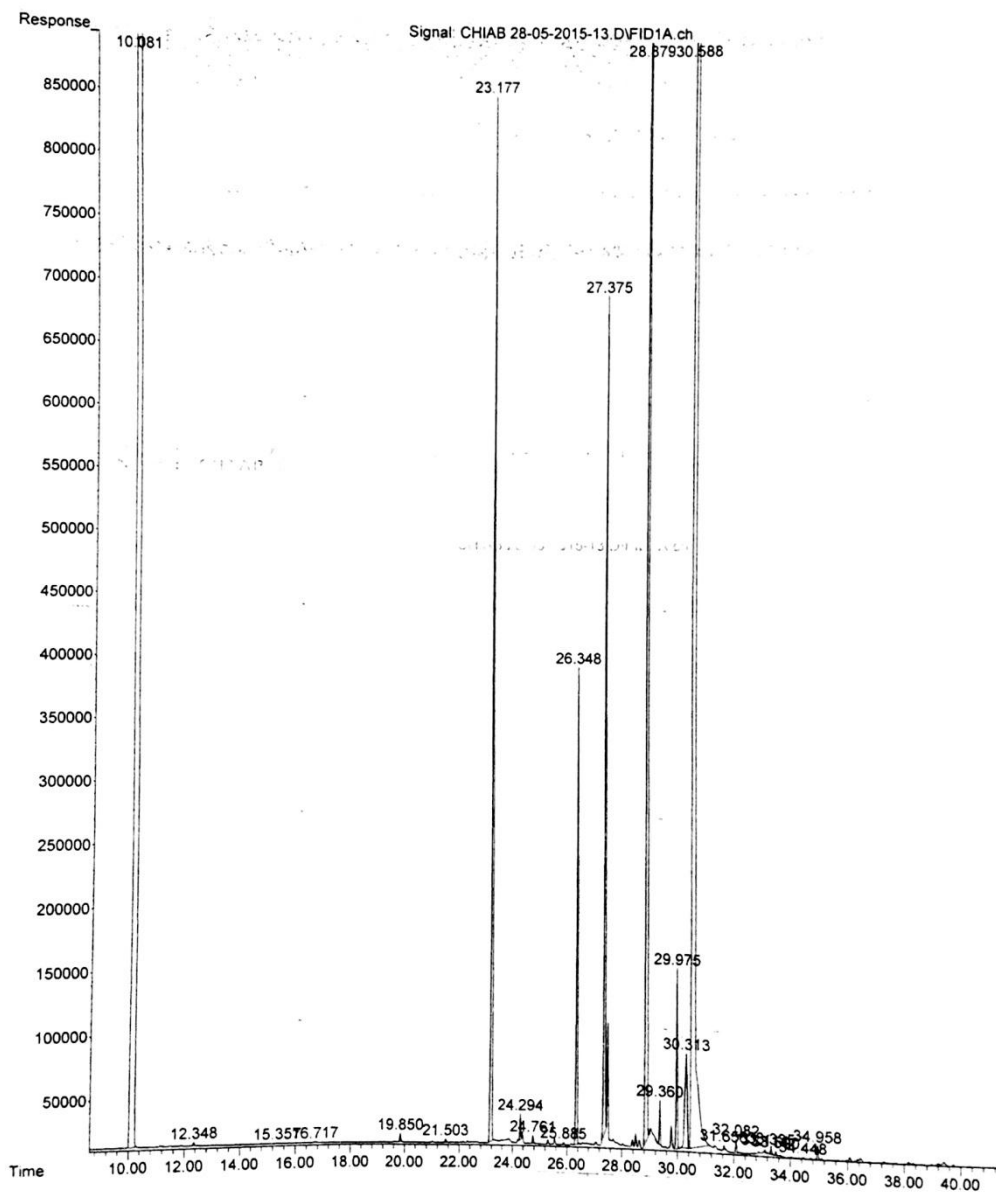


Anexo 7. Cálculos de pendiente, ordenada y R² según tiempo de retención.

NOMBRE	SÍMBOLO	PENDIENTE	ORDENADA	r ²
Ácido butírico	c4	1E+07	237030	0,9786
Ácido caproico	c6	2E+07	445437	0,9699
Ácido caprilico	c8	2E+07	501322	0,9762
Ácido caprico	c10	2E+07	572817	0,9725
Ácido laurico	c12	2E+07	601552	0,9697
Ácido mirístico	c14	2E+07	600390	0,9764
Ácido estearico	c18:0	2E+07	566793	0,9923
Ácido oléico	c18:1n9c	2E+07	566147	0,9917
Ácido araquídico	c20:0	2E+07	509453	0,9959
Ácido behénico	c22:0	2E+07	490656	0,9931
Ácido lignocérico	c24:0	2E+07	559894	0,9841
Ácido palmítico	c16:0	2E+07	871522	0,9863
Ácido undecanoico	c11	2E+07	299269	0,9705
Ácido tridecanoico	c13	2E+07	304627	0,9717
Ácido miristoleico	c14:1	2E+07	262395	0,9783
Ácido pentadecanoico	c15:0	2E+07	298922	0,9815
Ácido cis-10-pentadecanoico	c15:1	2E+07	242051	0,9845
Ácido palmitoleico	c16:1	2E+07	289604	0,9846
Ácido heptadecanoico	c17:0	2E+07	253526	0,9889
Ácido cis-10-heptadecanoico	c17:1	2E+07	282840	0,9886
Ácido eláidico	c18:1n9t	2E+07	292017	0,9918
Ácido linoleláidico	c18:2n6t	2E+07	247536	0,9917
Ácido linoleico	c18:2n6c	2E+07	268685	0,9915
Ácido γ-linoleico	c18:3n6	2E+07	248287	0,991
Ácido cis-11-eicosenoico	c20:1	2E+07	269395	0,9948
Ácido linolenico	c18:3n3	2E+07	238666	0,993
Ácido heneicosanoico	c21:0	2E+07	240487	0,9956
Ácido cis-11-14-eicosadienoico	c20:2	2E+07	254147	0,9943
Ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico	c20:3n6	2E+07	238565	0,9949
Ácido erucico	c22:1n9	2E+07	281931	0,9943
Ácido cis-11,14,17-eicosatrienoico	c20:3n3	1E+07	194572	0,9954
Ácido tricosanoico	c23:0	2E+07	245259	0,991
Ácido metilcis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	c20:4n6	1E+07	216027	0,9942
Ácido cis-13,16-docosadienoico	c22:2	1E+07	234234	0,9929
Ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	c20:5n3	1E+07	192236	0,9938
ácido nervónico	c24:1	2E+07	244619	0,9884
ácido cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	c22:6n3	1E+07	163976	0,9932

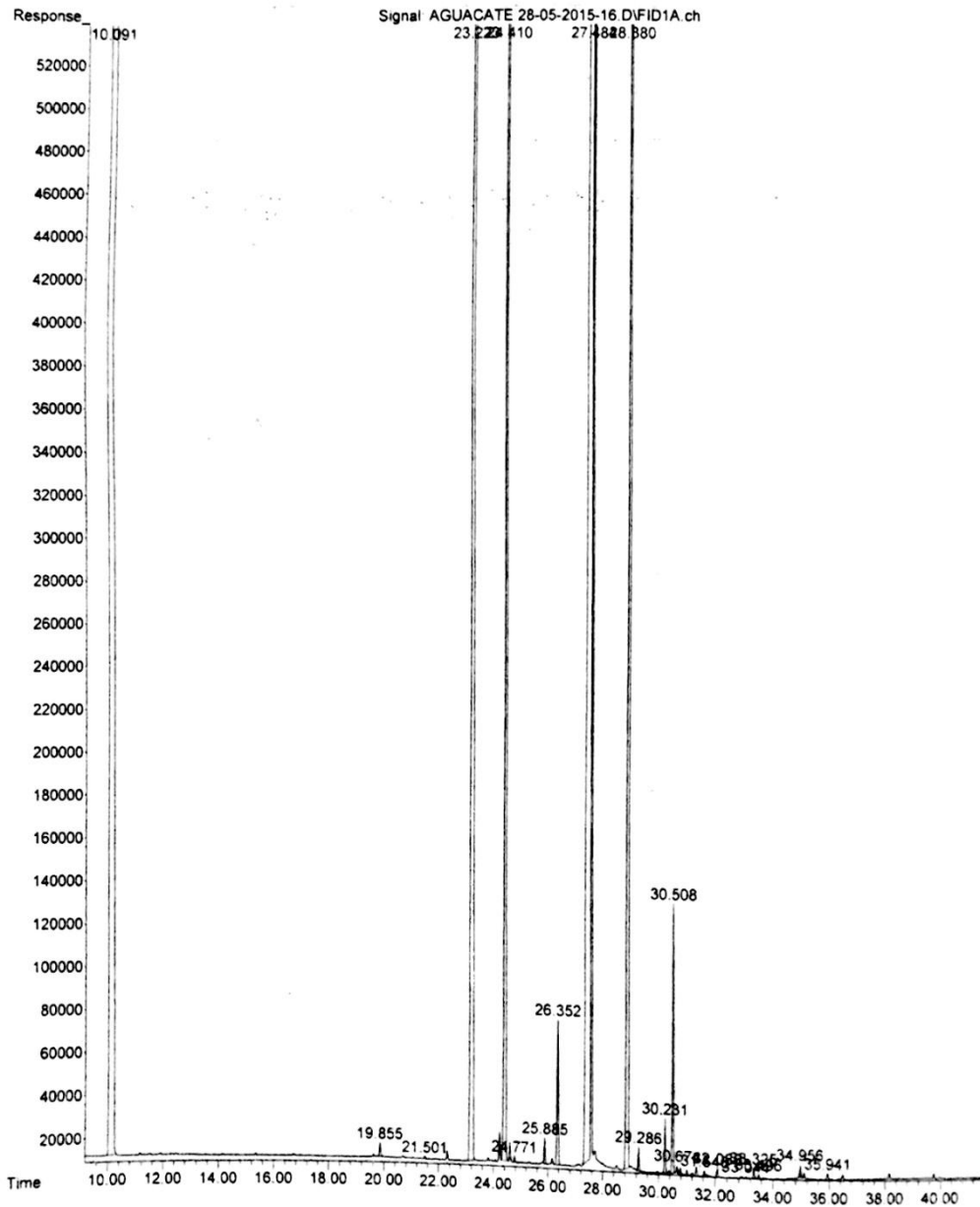
Anexo 8. Cromatograma repetición aceite de chía

File : D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\CHI
... AB 28-05-2015-13.D
Operator :
Instrument : INIAP GC-FID
Acquired : 28 May 2015 19:24 using AcqMethod ESTERES FINAL2.M
Sample Name: CHIAB
Misc Info :



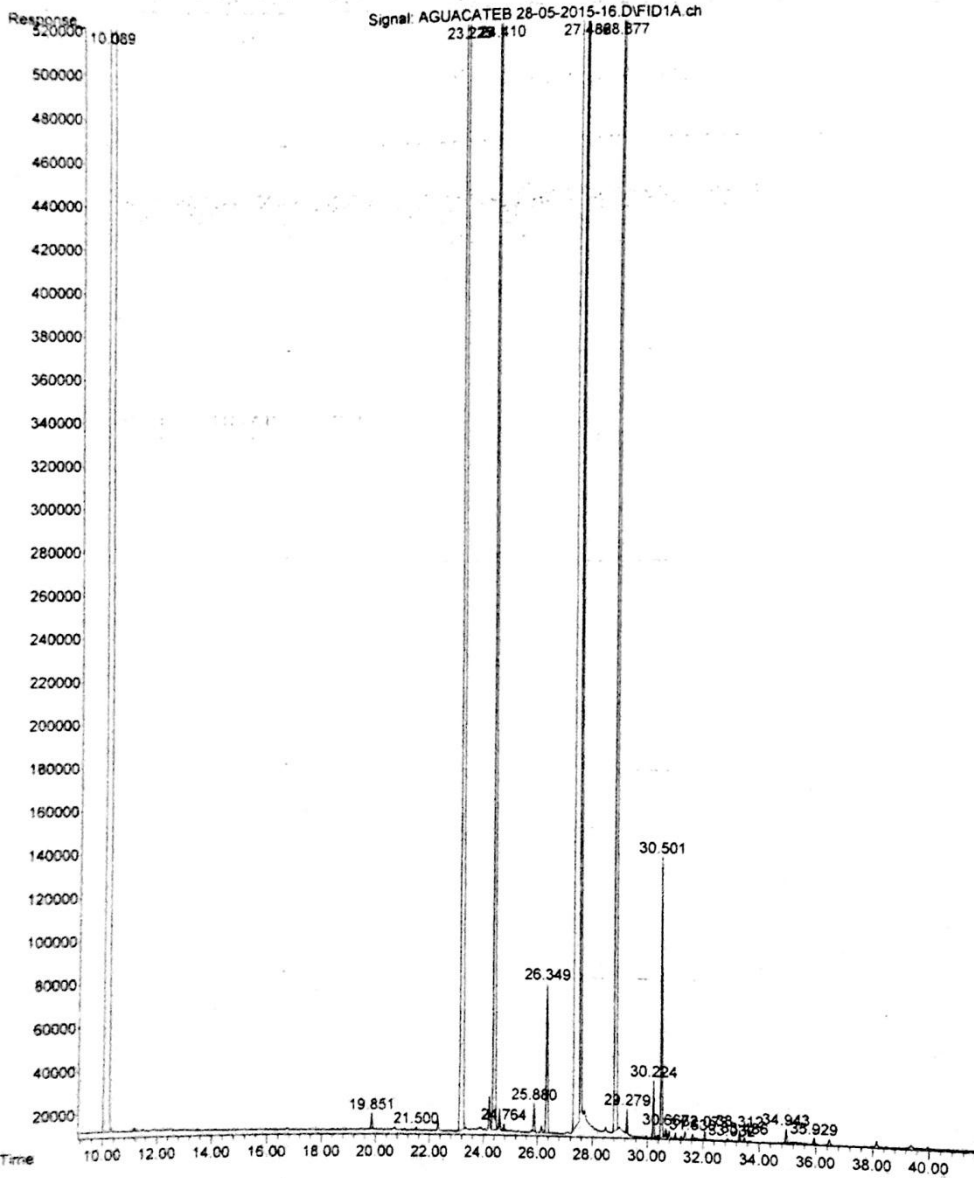
Anexo 9. Cromatograma aceite de aguacate

File :D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\AGU
... ACATE 28-05-2015-16.D
Operator :
Instrument : INIAP GC-FID
Acquired : 28 May 2015 21:50 using AcqMethod ESTERES FINAL2.M
Sample Name: AGUACATE
Misc Info :



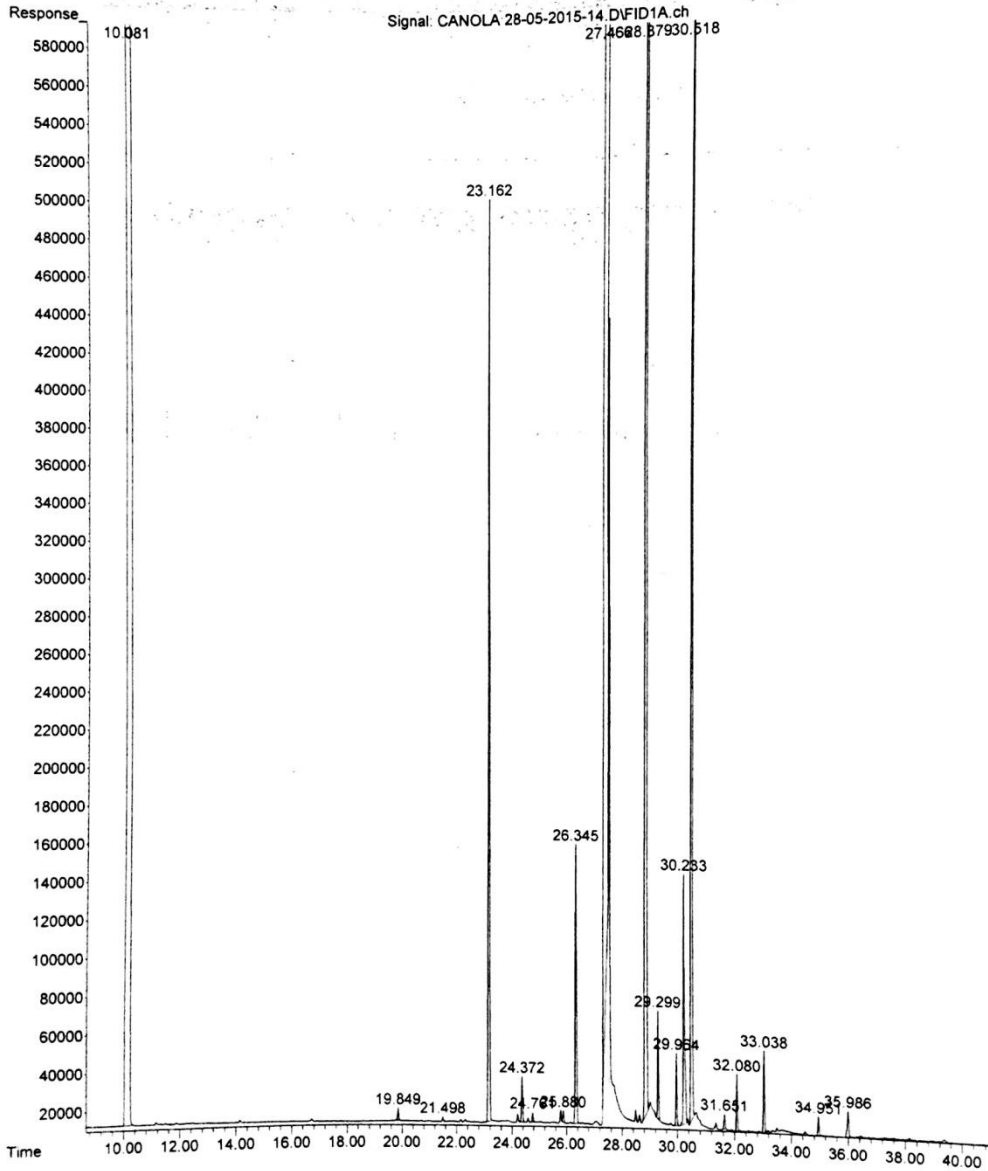
Anexo 10. Cromatograma repetición aceite de aguacate

File :D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\AGU
... ACATEB 28-05-2015-16.D
Operator :
Instrument : INIAP GC-FID
Acquired : 28 May 2015 22:39 using AcqMethod ESTERES FINAL2.M
Sample Name: AGUACATEB
Misc Info :



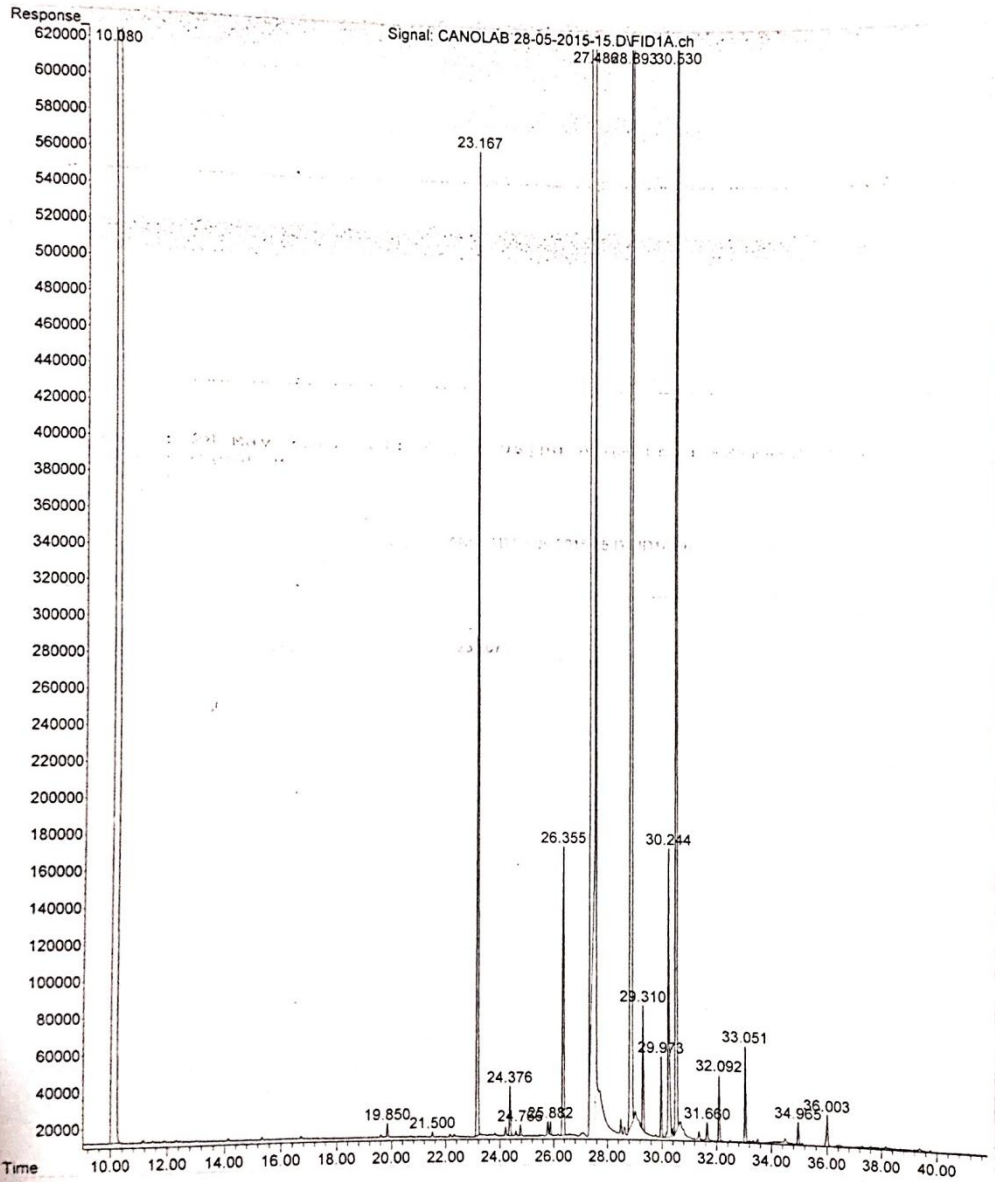
Anexo 11. Cromatograma aceite de canola

File : D:\SECUENCIAS\ESTERES FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\CAN
... OLA 28-05-2015-14.D
Operator :
Instrument : INIAP GC-FID
Acquired : 28 May 2015 20:13 using AcqMethod ESTERES FINAL2.M
Sample Name: CANOLA
Misc Info :




Anexo 12. Cromatograma repetición aceite de canola


File : D:\SECUENCIAS\ESTERES_FINAL\MUESTRAS CACAO PROYECTO 2015\CAN
...
Operator : OLAB 28-05-2015-15.D
Instrument : INIAP GC-FID
Acquired : 28 May 2015 21:02 using AcqMethod ESTERES_FINAL2.M
Sample Name : CANOLAB
Misc Info :



Anexo 13. Análisis Proximal Chía. (LSAIA-INIAP)



LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS
Panamericana Sur Km. 1, Cutubagua Tlfs. 2690691-3007134, Fax 3007134
Castilla postal 17-01-340



ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALIN.
DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD

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

ANÁLISIS	HUMEDAD	CENIZAS ^U	E.E. ^U	PROTEINA ^U	FIBRA ^U	E.L.N. ^U	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.02	MO-LSAIA-01.03	MO-LSAIA-01.04	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	%	%	%	%	%	%	
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

Armando Rubio
Dr. Armando Rubio
RESPONSABLE DE CALIDAD

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 dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el receptor por 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