

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y
BIOTECNOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA



CARACTERIZACIÓN DE ACEITE OBTENIDO DE SEMILLA DE CHÍA (*Salvia hispanica L.*) CULTIVADA EN EL DISTRITO DE VÍTOR, AREQUIPA

Tesis presentada por el Bachiller:
Quezada Herrera María Jimena Geraldine

Para optar el Título Profesional de
INGENIERO BIOTECNÓLOGO

Asesor:
Dr. José Villanueva Salas

AREQUIPA – PERÚ

2016



*“No tengas miedo de renunciar a lo bueno para perseguir lo grandioso”
“Perseverance can overcome all obstacles.
Even the laws of nature cannot stop it”*

John D. Rockefeller

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme todo lo que sucede (Colosenses 3:17). A mis padres por apoyarme en el camino a la conclusión de mis estudios, por enseñarme a ser paciente y perseverante ante las adversidades que se presentan. A mi hermano por sus consejos y apoyo incondicional. A todos los que directa e indirectamente me apoyaron con sus críticas constructivas para el término de esta tesis, los cuales fueron la motivación necesaria durante todo este periodo.



INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	5
1.1 Objetivos	7
1.2 Hipótesis	8
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	9
2.1 <i>Salvia hispanica L.</i>	9
2.1.1 División taxonómica	9
2.1.2 Morfología	10
2.1.3 Características de producción	10
2.1.4 Inclusión de semilla de chía en el mercado nacional	11
2.2 Grasas de origen vegetal.....	12
2.3 Ácidos grasos	13
2.3.1 Ácidos grasos saturados no ramificados	14
2.3.2 Ácidos grasos insaturados no ramificados	14
2.3.3 Importancia de los ácidos omega-3 y omega-6.....	16
2.3.3.1 Ácido omega-3.....	16
2.3.3.2 Ácido omega-6.....	17
2.3.3.3 Balance omega-6/omega-3	17
2.4 Metodo de extraccion de aceites.....	18
2.4.1 Prensado mecánico	18
2.4.2 Extraccion con solventes.....	19
2.4.2.1 Método de Randall	19
2.4.2.2 Selección del solvente	20
2.4.3 Extraccion con fluidos supercríticos	21
2.5 Cromatografía de gases	22
2.5.1 Componentes de un cromatógrafo de gases	23
2.5.1.1 Fase móvil	23
2.5.1.2 Puerto de inyección	24

2.5.1.3 Horno de columna	24
2.5.1.4 Fase estacionaria	25
2.5.1.5 Columna cromatográfica	26
2.5.1.6 Detectores	28
2.5.1.6.1 Detector de conductividad térmica (TCD).....	29
2.5.1.6.2 Detector de ionización de flama (FID)	30
2.5.2 Ventajas y desventajas de la aplicación de cromatografía de gases.....	31
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.1 Muestra	32
3.2 Ambiente utilizado	32
3.3 Materiales, reactivos y equipos	32
3.3.1 Materiales	32
3.3.2 Reactivos	33
3.3.3 Equipos.....	33
3.4 Métodos	34
3.4.1 Obtención de la muestra.....	34
3.4.2 Determinación del contenido de humedad.....	34
3.4.3 Obtencion del aceite de semilla de chía	35
3.4.4 Determinación de propiedades fisicoquímicas del aceite de chía.....	36
3.4.4.1 Índice de saponificación	36
3.4.4.2 Índice de yodo	38
3.4.4.3 Índice de peróxido	40
3.4.5 Determinación de acidos grasos.....	42
CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSION.....	44
4.1 Obtención de la muestra	44
4.2 Porcentaje de humedad.....	44
4.3 Obtención de aceite proveniente de semilla de chía.....	47
4.4 Determinación de propiedades fisicoquimicas del aceite de semilla de chía	52
4.4.1 Índice de saponificación	52
4.4.2 Índice de yodo	55
4.4.3 Índice de peróxido	59

4.5 Caracterización de ácidos grasos presentes en el aceite de chía..... 63

CAPITULO V: CONCLUSIONES..... 68

CAPITULO VI: SEGUERENCIAS 69

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 70

ANEXOS..... 74



ÍNDICE DE FIGURAS

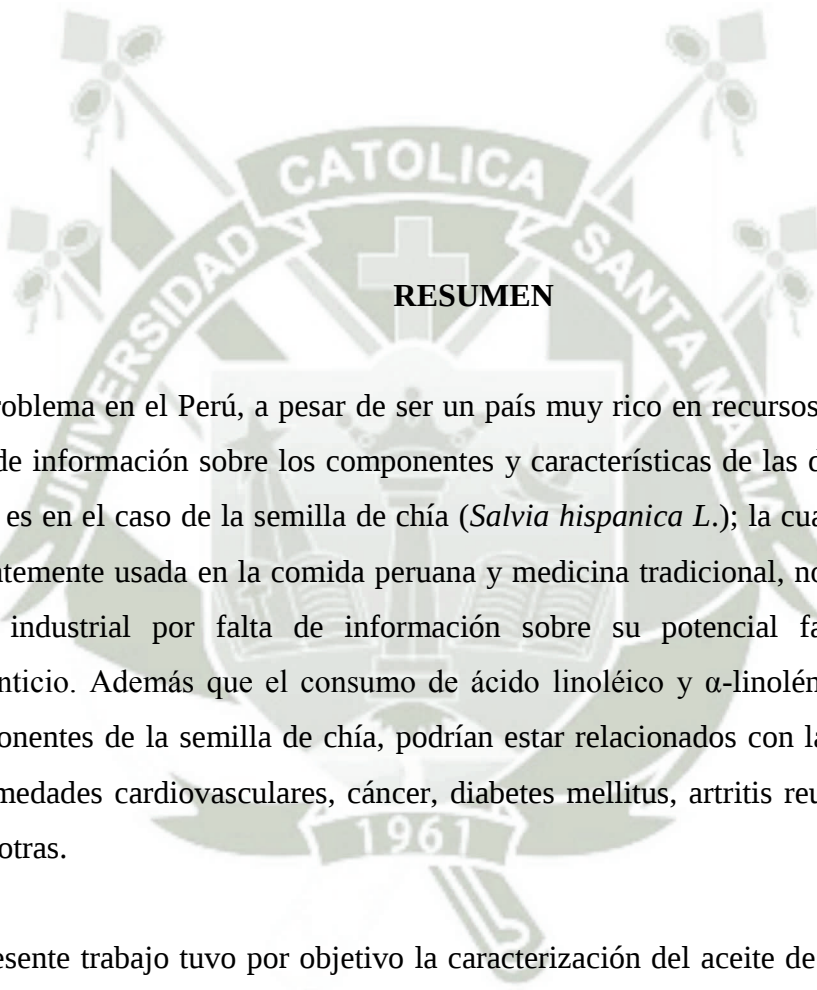
	Pág.
Figura N°1 Inflorescencia de flor de chía y semilla	11
Figura N°2 Esterificación de ácidos grasos	13
Figura N°3 Estructura del ácido α -Linolénico (ω -3)	14
Figura N°4 Estructura del Ácido Linoléico (ω -6) y α -Linolénico (ω -3).....	15
Figura N°5 Estructuras químicas de los ácidos Eicosapentaenoico (EPA) y Docosaheptaenoico (DHA).....	16
Figura N°6 Estructuras químicas de los ácidos Linolénico (LA) y Araquidónico (AA).....	17
Figura N°7 Estructura y características de la prensa de aceite	18
Figura N°8 Fases de extracción según el método de Randall	20
Figura N°9 Esquema de los componentes del sistema de extracción supercrítica.....	22
Figura N°10 Esquema del sistema de cromatografía de gases.....	23
Figura N°11 Horno con columna capilar	24
Figura N°12 Columna Capilar RESTEK Stabilwax®-DA	26
Figura N°13 Detector de conductividad térmica.....	30
Figura N°14 Detector de ionización de flama.....	31
Figura N°15 Extracción con solventes – Método de Randall	36
Figura N°16 Formula química de formación de jabón.....	37
Figura N°17 Reacción química de Wijs	38
Figura N°18 Reacción química índice de peróxido.....	40
Figura N°19 Proceso de metanólisis	42
Figura N°20 Contaminantes presentes en la muestra de chía	44
Figura N°21 Comparativo índice de humedad en semilla por país.....	47
Figura N°22 Tamizado harina de chía.....	48
Figura N°23 Comparativo rendimiento de extracción por país.....	50
Figura N°24 Aceite obtenido de semilla de chía	51
Figura N°25 Rendimiento en comparación con diferentes tipos de semilla	51
Figura N°26 Titulación con ácido clorhídrico, índice de saponificación.....	52
Figura N°27 Comparativo índice de saponificación por país.....	54
Figura N°28 Índice de saponificación de diferentes tipos de semilla	55

Figura N°29	Índice de yodo en muestra de chía	56
Figura N°30	Comparativo índice de yodo por país.....	58
Figura N°31	Índice de yodo en diferentes tipos de semilla.....	59
Figura N°32	Comparativo índice de peróxido por país.....	61
Figura N°33	Índice de peróxido en diferentes tipos de semilla	62
Figura N°34	Componentes del cromatógrafo de gases y muestra FAME	63
Figura N°35	Identificación de Ácidos Grasos.....	64
Figura N°36	Comparación del contenido de ácidos grasos poliinsaturados en aceite de chía por país.....	65
Figura N°37	Comparación del contenido de ácidos grasos en aceite de chía	66



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N°1 Solventes más utilizados y su punto de ebullición.....	20
Tabla N°2 Peso de la muestra e índice de yodo previsto.....	39
Tabla N°3 Porcentaje de humedad en la semilla de chía (<i>Salvia hispanica L.</i>)	45
Tabla N°4 Estadísticas descriptivas índice humedad	45
Tabla N°5 Comparativo índice de humedad en semilla por país	46
Tabla N°6 Rendimiento obtenido de la semilla de chía (<i>Salvia hispanica L.</i>).....	48
Tabla N°7 Estadísticas descriptivas rendimiento de extracción.....	49
Tabla N°8 Comparativo rendimiento de extracción por país	49
Tabla N°9 Índice de saponificación obtenido de la semilla de chía (<i>Salvia hispanica L.</i>).....	52
Tabla N°10 Estadísticas descriptivas índice de saponificación.....	53
Tabla N°11 Comparativo índice de saponificación por país	53
Tabla N°12 Índice de yodo obtenido de la semilla de chía (<i>Salvia hispanica L.</i>).....	56
Tabla N°13 Estadísticas descriptivas índice de yodo	57
Tabla N°14 Comparativo índice de yodo por país	57
Tabla N°15 Índice de peróxido de la semilla de chía (<i>Salvia hispanica L.</i>).....	60
Tabla N°16 Estadísticas descriptivas índice de peróxido	60
Tabla N°17 Comparativo índice de peróxido por país	61
Tabla N°18 Identificación de ácidos grasos presentes en aceite de semilla de chía	64



RESUMEN

Un problema en el Perú, a pesar de ser un país muy rico en recursos naturales, es la falta de información sobre los componentes y características de las diversas plantas, como es en el caso de la semilla de chía (*Salvia hispanica L.*); la cual a pesar de ser recientemente usada en la comida peruana y medicina tradicional, no es explotada a nivel industrial por falta de información sobre su potencial farmacológico y alimenticio. Además que el consumo de ácido linoléico y α -linolénico, principales componentes de la semilla de chía, podrían estar relacionados con la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes mellitus, artritis reumatoide, asma, entre otras.

El presente trabajo tuvo por objetivo la caracterización del aceite de semilla de chía obtenido por el método de extracción con solventes aplicando el método de Randall, en afán de preservar de manera más eficiente las características fisicoquímicas del mismo, las cuales fueron determinadas, como también el rendimiento de extracción.

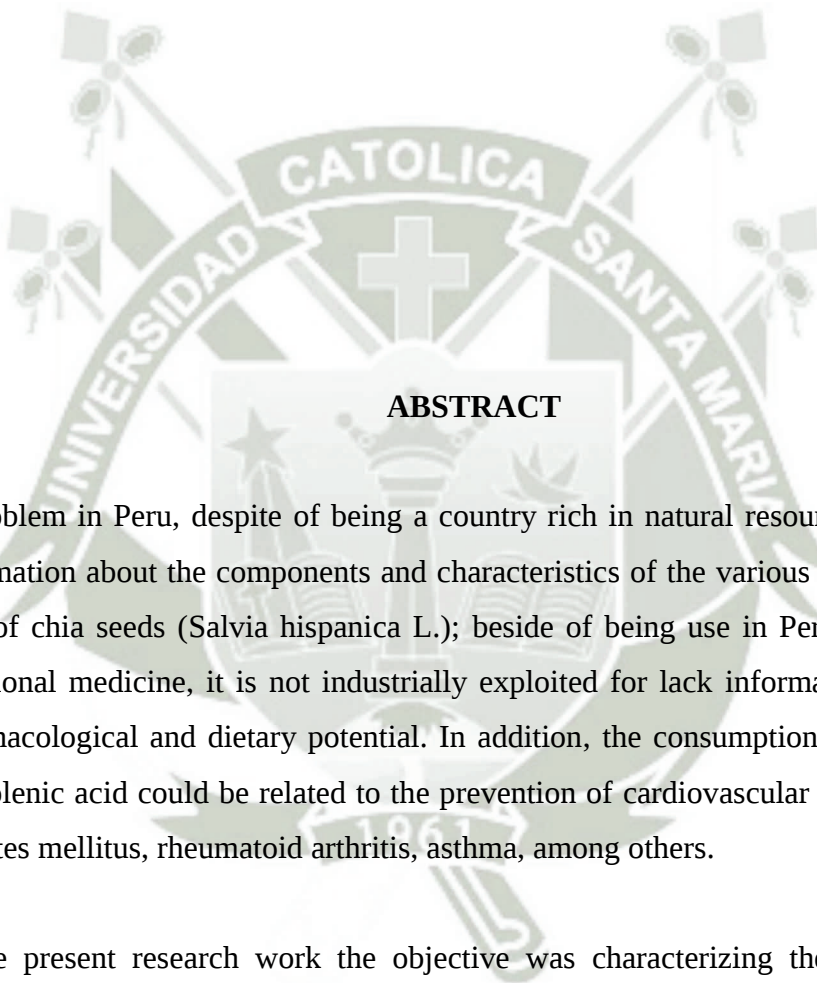
La composición acídica del aceite obtenido se realizó mediante cromatografía de gases, siendo identificados como ésteres metílicos derivados de ácidos grasos

(FAME), empleando el método de transesterificación de compuestos grasos con metanol. La determinación de las propiedades fisicoquímicas se realizó de acuerdo a la AOAC para el caso de humedad e índice de peróxidos y de acuerdo al método de Koettstorter y Wijs, el índice de iodo y saponificación respectivamente.

El porcentaje de humedad en la semilla de chía analizada fue 7.14%, una vez realizada la extracción del aceite se determinó un rendimiento de extracción de 32.09%. Con respecto a las determinaciones fisicoquímicas; el índice de saponificación obtenido en promedio fue de 177.32 mg KOH/g aceite, para el índice de yodo se obtuvo un promedio de 123.26 g I₂/100 g aceite y en el caso de índice de peróxido se obtuvo un promedio de 5.38 meq peróxido/kg.

Con respecto a los datos obtenidos en la identificación de ácidos grasos presentes en el aceite de semilla de chía, los principales ácidos grasos presentes fueron: Heneicosanoico (63%) > Araquidónico (18.59%) > Linolénico (7.70%) > Oleico (3.26%) > Palmitoleico (7.42%)

Palabras clave: aceite, ácidos grasos, chía, *Salvia hispanica L.*



ABSTRACT

A problem in Peru, despite of being a country rich in natural resources, is the lack information about the components and characteristics of the various plants, as is the case of chia seeds (*Salvia hispanica* L.); beside of being use in Peruvian food and traditional medicine, it is not industrially exploited for lack information about it is pharmacological and dietary potential. In addition, the consumption of linoleic and α -linolenic acid could be related to the prevention of cardiovascular disease, cancer, diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, asthma, among others.

In the present research work the objective was characterizing the chia seed oil obtained by the solvent extraction method using the method of Randall with the intention of preserve more efficiently the physicochemical characteristics, and were determined the extraction yield.

The fatty acid composition of the oil obtained was performed by gas chromatography, being identified as methyl esters derived from fatty acids (FAME)

using transesterified fatty compounds with methanol. The determination of the physicochemical properties was performed according to the AOAC in the case of humidity and peroxide value and according to Koettstorter and Wijs method, the iodine value and saponification value respectively.

The moisture content in the analyzed chia seed was 7.14%, once the oil extraction was done the yield was determined at 32.09%. On the other hand, the physicochemical determinations, as the saponification value obtained in average was 177.32 mg KOH/g oil, in the iodine value case the average was 123.26 gI₂/100 g oil, and for the case of peroxide value the average was 5.38 meq peroxide/Kg.

Finally, the identification of principal fatty acid present in chia seed oil were: heneicosanoic (63%) > Arachidonic (18.59%) > Linoleic (7.70%) > Oleic (3.26%) > Palmitoleic (7.42%)

Keywords: oil, fatty acids, chia, *Salvia hispanica L.*

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una especie que pertenece a la familia de la *Lamiaceae*, donde también se encuentran algunas plantas aromáticas como la menta, el tomillo, el romero y el orégano.

El uso de la semilla y sus subproductos se remonta a la época de los Mayas y los Aztecas, quienes empleaban la semilla como alimento, medicina, ofrenda a los dioses y materia prima para producir un aceite que era empleado como base en pinturas decorativas y ungüentos cosméticos.⁵³

En la actualidad, la semilla de chía se ha convertido en fuente de gran interés gracias a su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, en especial el ácido α -linolénico; también por la fibra, la proteína y los antioxidantes. La importancia del consumo de ácidos grasos esenciales como el ácido α -linolénico (ALA), el cual es un ácido graso ω -3 y al estar en un balance adecuado con el ácido linoleico (LA), el cual es un ácido graso ω -6 puede ayudar a reducir el riesgo de algunas enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y enfermedades degenerativas, como el Parkinson y el Alzheimer.⁵³

Actualmente se está realizando una revalorización de muchos de los productos producidos por las comunidades campesinas alto andinas y de las pequeñas parcelas de la costa y selva que tienen mucha demanda. Además, esta aceptación abre las puertas para la exportación de nuestros productos en el extranjero.

Dando a conocer las amplias propiedades brindadas por su composición, una vez realizada la caracterización del aceite obtenido de semillas de chía, por extracción con solventes, permitirá ampliar su producción en la región y posterior

comercialización como subproductos (aceite, polvo o harina), con el fin de incorporarlos en matrices alimentarias o productos farmacéuticos, o finalmente, para ser consumido directamente como alimento funcional.

Por lo anterior, este trabajo tuvo como objetivo hacer una descripción de las características fisicoquímicas y caracterizar los ácidos grasos presentes en el aceite obtenido de semilla de chía (*Salvia hispanica L.*) obtenido por extracción con solventes, resaltando su importancia como fuente vegetal de ácidos grasos, con intención de promover o ampliar su uso en la industria de alimentos.



OBJETIVOS

El presente trabajo pretende alcanzar los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Caracterizar el aceite obtenido de semilla de chía (*Salvia hispanica L.*) cultivada en el distrito de Vitor, Arequipa.

Objetivos específicos:

- Determinar el rendimiento de aceite obtenido de semilla de chía por método de extracción con solventes aplicando el método de Randhall.
- Determinar características fisicoquímicas; como humedad en semilla, índice de yodo, índice de saponificación e índice de peróxido del aceite obtenido.
- Determinar los ácidos grasos presentes en el aceite extraído.

HIPÓTESIS

Dado que la composición en ácidos grasos le confieren al aceite de semilla de chía (*Salvia hispanica L.*) cualidades benéficas desde el punto de vista nutricional, teniendo aplicación en la industria alimentaria. Es probable que el aceite obtenido de semilla de chía cultivada en el distrito de Vítor y obtenido por método de extracción con solvente bajo el método de Randall tenga porcentaje altos de ácidos poliinsaturados, siendo esto de suma importancia debido a que solo se puede obtener por ingesta de alimentos.



CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. *Salvia hispanica L.*

La *Salvia hispanica L.* es comúnmente conocida como chía, siendo esta palabra una adaptación española al término nahua *chian* o *chien* (plural), término que en náhuatl significa “semilla de la que se obtiene aceite”.⁴⁹

La semilla de chía empezó a ser usada para la alimentación humana en la época precolombina, alrededor del año 3500 a.C. y toma importancia por ser uno de los cultivos básicos en el centro de México y América Central entre los años 1500 y 900 a.C.⁷

El uso de la semilla y sus subproductos se remonta a la época de los Mayas y los Aztecas, quienes empleaban la semilla como alimento, medicina, ofrenda a los dioses y materia prima para producir un aceite que era empleado como base en pinturas decorativas y ungüentos cosméticos.⁵³

La harina tostada, otro de sus subproductos, era utilizada para la elaboración de una popular bebida nutritiva denominada “Chía fresca” (agua, limón, chía). Años después del descubrimiento de América, los cereales aportados por los españoles desplazaron su cultivo, el cual casi llegó a desaparecer. Su cultivo solo sobrevivió en las áreas montañosas de México y Guatemala y a finales del siglo pasado, el interés por la chía resurgió por considerarla buena fuente de Omega-3, fibra alimentaria, proteína y antioxidantes.⁵³

2.1.1. División taxonómica

Según la clasificación taxonómica propuesta por Linneo, la posición sistemática de la chía (*Salvia hispanica L.*) es la siguiente:⁵³

Reino: Vegetal o *Plantae*

División: *Magnoliophyta o Angiospermae*

Clase: *Magnoliopsida o Dicotyledoneae*

Orden: *Lamiales*

Familia: *Lamiaceae*

Subfamilia: *Nepetoideae*

Tribu: *Mentheae*

Género: *Salvia*

Especie: *hispanica*

2.1.2. Morfología

Su planta tiene una altura entre un 1,0 y 1,5 metros, y sus tallos son ramificados, de sección cuadrangular con pubescencias cortas y blancas. Las hojas opuestas con bordes aserrados miden de 80 a 100 cm de longitud, y 40 a 60 mm de ancho.⁵¹ Las flores son hermafroditas, púrpuras o blancas, pedunculadas y se encuentran reunidas en grupos de seis o más, en verticilos sobre el raquis de la inflorescencia.²⁵ Figura N°1A

El fruto al igual que otras especies de la familia Lamiaceae, es típicamente un esquizocarpo consistente en lóculos indehiscentes que se separan para formar cuatro mericarpios parciales denominados núculas, comúnmente conocidos como “semillas”, los cuales son monospermicos, ovales, suaves y brillantes, de color pardo grisáceo con manchas irregulares marrones en su mayoría y algunos blancos.⁷ Figura N°1B

2.1.3. Características de producción

La chía es un cultivo que crece en condiciones tropicales y subtropicales y no es tolerante a las heladas. En cuanto a las condiciones edáficas en las que se desarrolla, puede decirse que favorecen su crecimiento la disponibilidad de una amplia variedad de niveles de nutrientes y humedad, esta última sobre todo para la germinación. Sin embargo, un bajo contenido de nitrógeno puede ser un factor limitante para obtener buenos rendimientos.²³

Una vez establecida, la plántula se comporta bien con cantidades limitantes de agua. Por otro lado, los suelos donde mejor se desarrolla la planta son los arenosos-limosos, aunque también puede crecer en suelos arcillosos-limosos de buen drenaje.²³

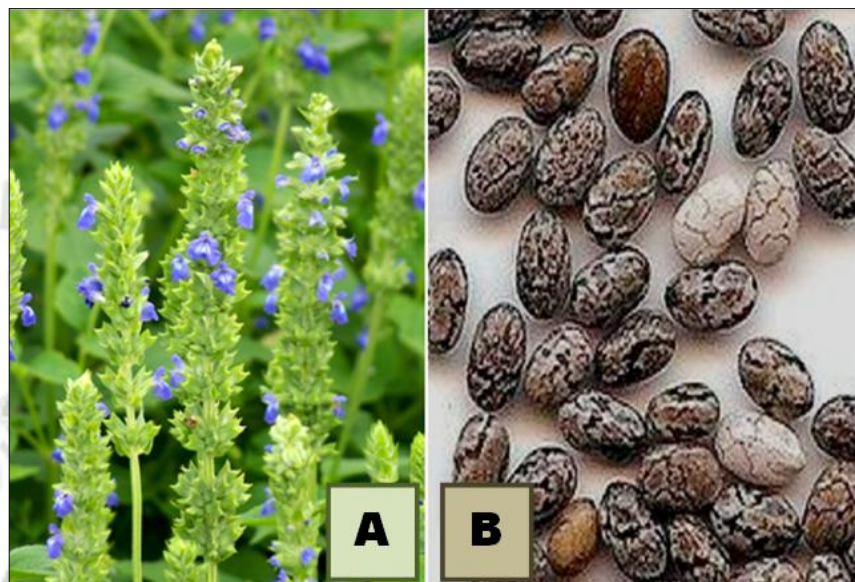


Figura N°1. A) Inflorescencias de flor de chía, B) Semillas de chía

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. Es probable que las altas temperaturas reduzcan la formación del ácido graso α -linolénico, tal como ocurre en otras oleaginosas.¹⁸

2.1.4. Inclusión de semilla de chía en el mercado nacional

De acuerdo a información del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), se pueden abrir nuevos mercados en Brasil para productos como cítricos, flores, chía; en India, con quinua y espárragos; en China, quinua, granada, stevia y lácteos; Japón con cítricos, uvas, arándanos, entre otros.

Esta entidad indicó a inicios de 2015 que el Perú cuenta con un extraordinario potencial agrícola por el boom agroexportador de los años recientes, impulsado también por la ejecución de los grandes proyectos de irrigación como Olmos (Lambayeque), Chavimochic III (La Libertad), Majes-Siguas II (Arequipa) y otros.

Hace tan solo 5 años la producción de chía en el Perú era incipiente. Se importaba de México a S/. 120 el kilo, así que este cultivo básico para los Aztecas y Mayas era inaccesible para la mayoría de peruanos. Sin embargo, con el tiempo se dio a conocer, los agricultores apostaron por lo fácil que era cultivarla y lo bien que se pagaba por ella. En el Perú, ya hay a quienes les está pasando factura el abuso de esta semilla, pero no por consumo, sino por su sobreproducción. Ello especialmente en Arequipa y Cusco que según la Sunat, basado en los impuestos que pagan por exportación concentran el 98,5% de la producción nacional.

La inclusión de chía en Arequipa se da por medio de la Autoridad Autónoma de Majes (AUTODEMA) por medio del Proyecto Majes-Siguas II, debido a la facilidad de cultivo y la gran demanda que adquirió esta semilla en los recientes años debido a sus múltiples beneficios para la salud. La firma del contrato entre el Gobierno regional de Arequipa y el Consorcio Angostura-Siguas S.A., contribuyó a ampliar la frontera agrícola en 38,500 nuevas hectáreas de cultivos, aprovechando también la vigencia de los 17 tratados de libre comercio y acuerdos bilaterales.

2.2. Grasas de origen vegetal

Las grasas vegetales se clasifican de forma general en mantecas que son solidas a temperatura ambiente y los aceites que son líquidos. Las grasas son ésteres de ácidos grasos con el glicerol. Debido a la estructura simétrica de la molécula de glicerol, existen dos posiciones idénticas exteriores (1-, 3-) y una posición central (2-), en las cuales se esterifican los ácidos grasos.³⁹

El tipo de ácido graso, así como su distribución en estas posiciones, determina las características del triglicéridos.

Así, no sólo es de gran importancia la composición ácida sino también la estructura de los triglicéridos la cual da origen a la respectiva composición. El contenido de aceite presente en la semilla de chía es de alrededor de 33%, el cual presenta el mayor porcentaje de ácido α -linolénico conocido hasta el momento (62 - 64%), así como el tenor más elevado (82,3%) de ácidos grasos esenciales (ácidos α -linolénico y linoléico).⁵

2.3. Ácidos grasos

Actualmente, si bien se conocen más de 200 ácidos grasos, son pocos los que participan con un porcentaje $> 3\%$ en la conformación de los triglicéridos de los aceites y grasas alimenticias. El resto, generalmente se presentan a nivel de trazas o en mayores cantidades en ciertas especies.⁹

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos que constan de cadenas hidrocarbonadas de longitud y grado de insaturación (dobles enlaces) variables, y se encuentran de formas libres y esterificadas al glicerol como componentes de los lípidos.²⁰ Figura N° 2.

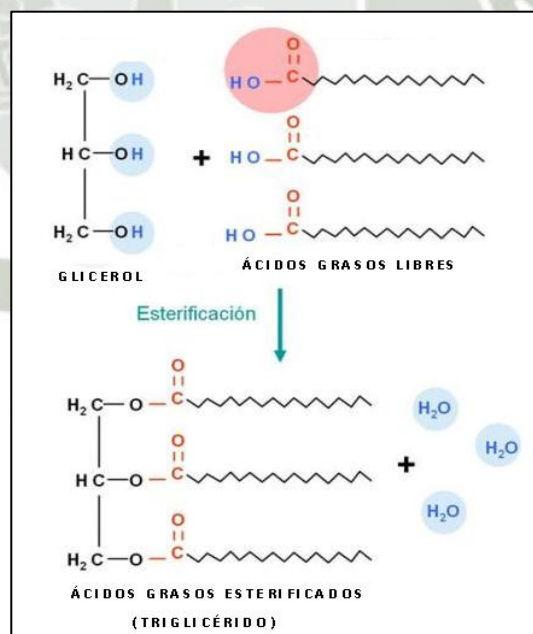


Figura N°2. Esterificación de ácidos grasos

La denominación de los ácidos grasos se realiza de la siguiente forma: la abreviatura C18:0 indica que es un ácido graso con 18 carbonos (C18) sin dobles enlaces, mientras que C18:2 significa que tiene 2 dobles enlaces. Los átomos de carbono de los ácidos grasos se numeran empezando por el extremo carboxilo. Los átomos de carbono 2 y 3 suelen denominarse α y β , respectivamente.²⁹

En el caso de los ácidos grasos insaturados, se les asigna una numeración griega. Se considera el último carbono (extremo metilo terminal) como carbono omega (ω), y se hace referencia a la ubicación del último doble enlace, por ejemplo, cuando el ultimo doble enlace se ubica inmediatamente después del tercer carbono, comenzando a contar del carbono ω , se le denomina ácido graso ω -3.⁸ Figura N° 3.

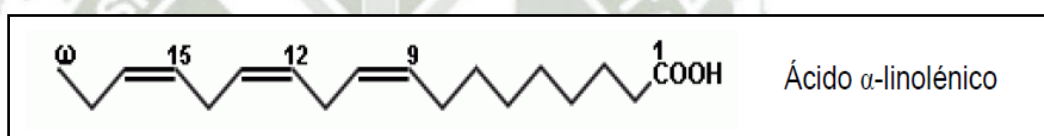


Figura N°3. Estructura del ácido α -Linolénico (ω -3)

2.3.1. Ácidos grasos saturados no ramificados

Los ácidos grasos saturados hasta C8 son líquidos a temperatura ambiente, no presentan dobles enlaces y se encuentran presentes principalmente en la grasa de la leche. Los ácidos cáprico, mirístico y láurico son característicos del aceite de coco y la semilla de palma, mientras que los ácidos palmítico y esteárico son los ácidos grasos saturados más comunes.⁸

2.3.2. Ácidos grasos insaturados no ramificados

Estos ácidos grasos son muy especiales debido a que algunos de ellos son esenciales para los mamíferos y en especial para el hombre. Esto significa que el organismo no puede sintetizarlos y por lo tanto depende de su incorporación a través de la dieta. Con respecto a los ácidos grasos monoinsaturados, solo presentan un doble enlace, la cadena más corta que ha sido detectada hasta el momento en las grasas naturales es la del ácido

caproleico (C10:1), El único ácido graso monoinsaturado presente en cantidades significativas es el ácido oleico, mientras que los demás existen en cantidades promedio mucho menores.⁸

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) poseen dos o más pares de átomos de carbono con dobles enlaces. Los PUFAs de mayor importancia son los ácidos linoleico y α -linolénico, los cuales son esenciales ya que no pueden ser sintetizados en el organismo y deben por lo tanto, ser obtenidos a partir de la dieta.⁸

Los PUFAs constituyen un sustrato fácilmente oxidable, presentando una mayor susceptibilidad al deterioro oxidativo a medida que aumenta el número de dobles enlaces. El ácido graso ω -6 más común de nuestra dieta es el linoléico (18:2 ω -6), conocido como el padre de dicha familia, siendo el ácido graso ω -3 el menos común.⁸

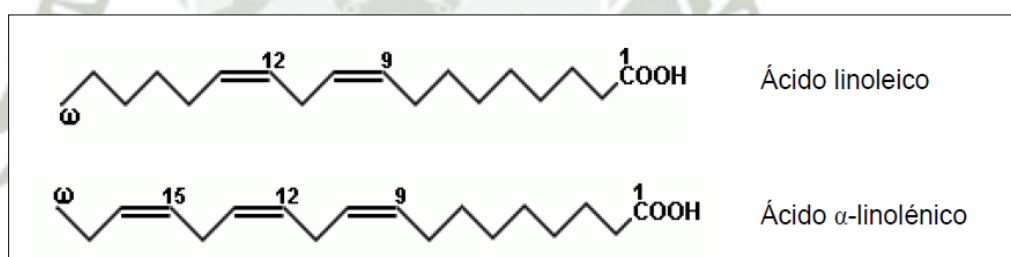


Figura N°4. Estructura del Ácido Linoléico (ω -6) y α -Linolénico (ω -3)

Actualmente, se disponen en el mercado de cuatro fuentes de ácidos grasos ω -3. Las dos más importantes en volumen de producción son las asociadas al pez menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y la semilla de lino, mientras que la fuentes minoritarias son la semilla de chía y las algas marinas.⁶

Cabe señalar que los aceites de chía, lino y algas marinas al ser especies vegetales se diferencian principalmente del obtenido a partir del pez menhaden, ya que este último al ser un recurso de origen animal contiene

cantidades apreciables de colesterol (521 mg/100g). (United States Department of Agriculture, 2002)⁵³

Por otra parte, en lo que respecta al enriquecimiento de alimentos con ω -3, la chía presenta la ventaja de no transmitir el característico “olor a pescado”, lo que la diferencia de las otras fuentes previamente mencionadas, con un menor contenido de sodio.⁷

2.3.3. Importancia de los ácidos omega – 3 y omega-6

2.3.3.1. Ácido omega-3

Los ácidos grasos ω -3 son aquellos que se derivan del ácido α -linolénico, este actúa en el cuerpo humano como un sustrato para la transformación del ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), mediante la acción de las enzimas de saturación y elongación.⁸. Figura N° 5.

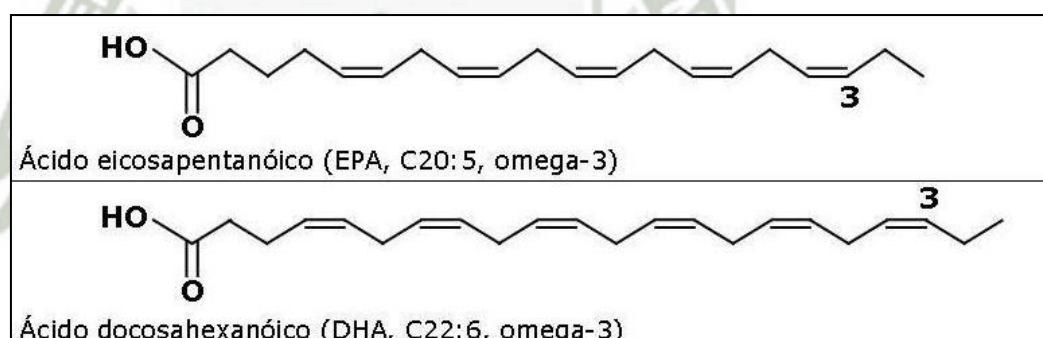


Figura N°5. Estructuras químicas de los ácidos Eicosapentaenoico (EPA) y Docosahexaenoico (DHA)

Los suplementos enriquecidos con EPA mejoran significativamente la angustia psicológica y los síntomas depresivos durante las transiciones de la menopausia y se han indicado como un agente anti-inflamatorio anti-caquexia efectiva. Por otro lado, el DHA es esencial para el crecimiento y el desarrollo funcional del cerebro en bebés, además de ser requerido en el mantenimiento de la función normal del cerebro en adultos.¹⁷

2.3.3.2. Ácido omega-6

Los ácidos grasos ω -6 derivan del ácido linoléico (LA) el cual por medio de enzimas desaturasas y elongasas va a ser precursor de ácido graso gamma linoléico (GLA) el cual se encuentra en algunos aceites vegetales y ácido araquidónico (AA) que es uno de los ácidos grasos más importantes asociados a los fosfolípidos de membrana, además puede ser oxidado a una variedad de compuestos eicosanoides importantes en la señalización célula-célula.⁸ Figura N° 6.

A diferencia de los ácidos grasos ω -3, los ácidos ω -6, por lo general va a ser generadores de prostaglandinas, tromboxano y leucotrienos ((PGE1, PGE2, PGI2, TXA2, LTB4) estimulantes del sistema inmune, vasoconstrictores y procoagulantes, con perfil por tanto potencialmente proinflamatorio, proalergizante y deletéreo a nivel cardiovascular.⁴⁰

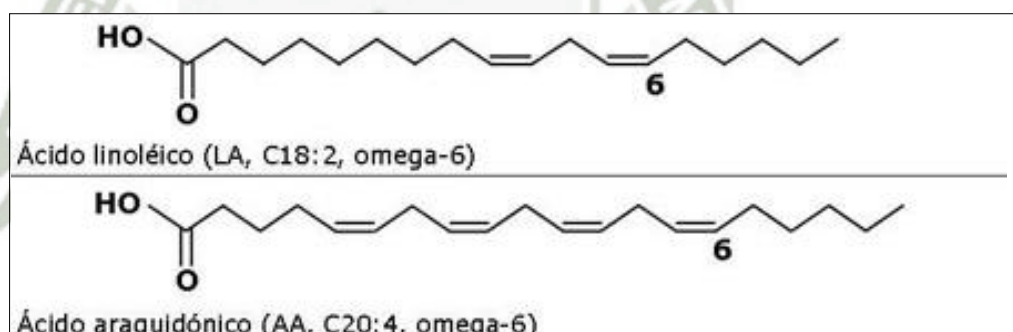


Figura N°6 Estructuras químicas de los ácidos Linoléico (LA) y Araquidónico (AA)

2.3.3.3. Balance omega-6/omega-3

La importancia de la relación omega-3/omega-6 para la salud humana también es bien conocida, ya que muchos estudios antropológicos, nutricionales y genéticos indican que una relación de ácidos grasos muy bajo promueve la patogénesis de muchas enfermedades, incluyendo enfermedad cardiovascular, cáncer, osteoporosis, así como enfermedades inflamatorias y autoinmunes, mientras que el aumento de los niveles de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFA) ejercen efectos supresores.⁴¹

Mientras que una relación de Omega-3/Omega-6 más alta es deseable con el fin de reducir el riesgo de algunas enfermedades crónicas. Debido a que muchos de ellos son multigénica y multifactorial, la proporción óptima de ácidos grasos Omega-3/Omega-6 variaría con la enfermedad considerada.⁴¹

2.4. Método de extracción de aceites

2.4.1. Prensado mecánico

El prensado mecánico se realiza a través del uso de las denominadas prensas continuas, las cuales comprimen la masa de la semilla preparada a presión elevada, logrando de esta manera liberar el aceite contenido en la masa, el cual escurre a través del barril de la prensa.

El material que sale de las prensas con un bajo contenido de aceite residual (6-7%) se denomina “torta o expeller”, mientras que el aceite separado, el cual arrastra impurezas, deberá ser clarificado a través del uso de decantadoras y separadoras centrífugas antes de ser derivado a los tanques de almacenamiento.⁴

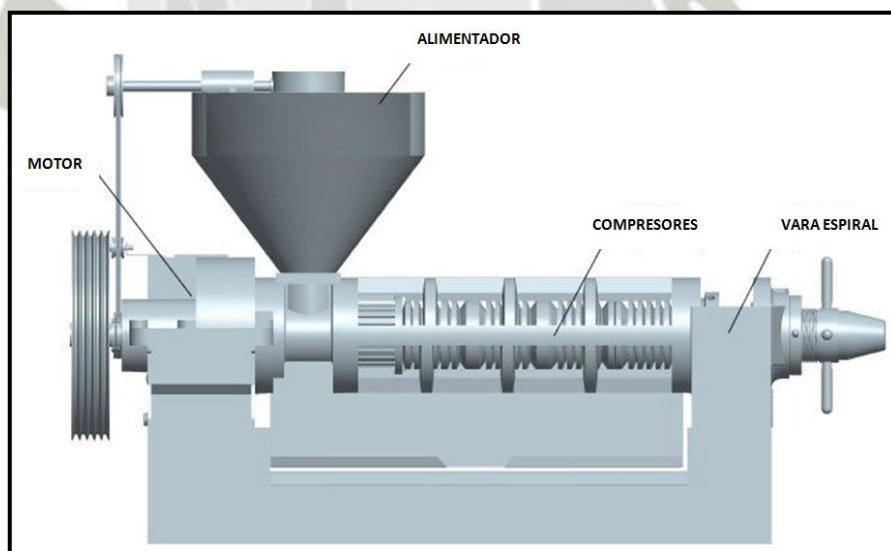


Figura N°7. Estructura y características de la prensa de aceite

2.4.2. Extracción con solventes

Se basa en la separación del aceite de la masa o harina previamente preparada a partir de las semillas y acondicionada, utilizando un solvente orgánico, el cual se hace pasar a través del material en proceso, en cantidad y temperatura adecuadas para asegurar una correcta extracción del aceite.²¹ A fin de que el proceso de extracción se lleve a cabo de manera correcta, el material a extraer debe ser convenientemente preparado, mientras que el disolvente debe ser puro, sin contaminantes y calentado hasta la temperatura adecuada de modo tal que el proceso extractivo se lleve a cabo con la mayor eficiencia posible.⁴

2.4.2.1. Método de Randall

La extracción según el método Randall se utiliza en la extracción de grasa. Este método disuelve ciertas sustancias mediante dos fases con una final de recuperación del solvente empleado. En la primera fase la muestra se encuentra contenida en un dedal de celulosa, el cual es sumergido en un solvente hirviendo, mientras que en el segundo paso el dedal es removido del solvente y pasa a una etapa de reflujo o lavado, finalmente el solvente es destilado y recuperado.⁴⁸

La extracción en caliente según el método de Randall es hasta 5 veces más rápida que el método convencional de extracción según Soxhlet. Las características que cuenta este sistema son:⁴⁸

- Ahorro de costos gracias a la rapidez de las extracciones.
- Sistema de extracción roscado para mayor seguridad.
- Manejo y ajuste individual para cada dedal y muestra.
- Control manual, el usuario puede levantar o bajar el sistema de extracción completo con una palanca.

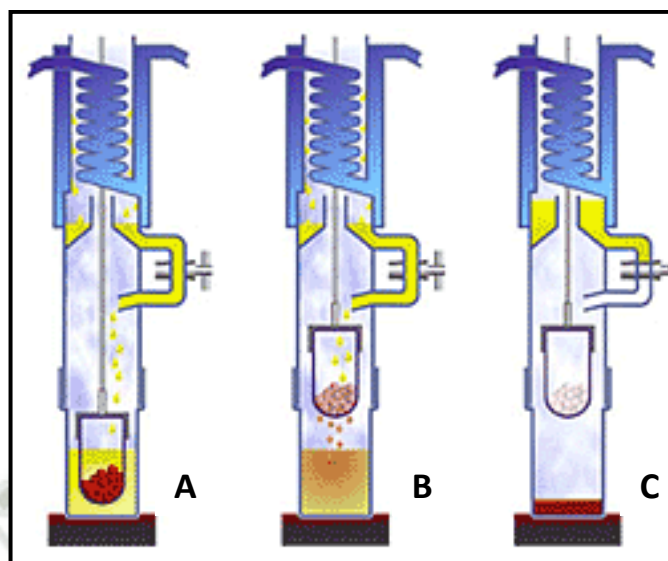


Figura N°8. Fases de extracción según el método de Randall.

A) Inmersión, B) Lavado o reflujo, C) Recuperación

2.4.2.2. Selección del solvente

Al momento de seleccionar un solvente se debe considerar los siguientes criterios de selección: la temperatura de ebullición del solvente, el calor latente de evaporación, la polaridad del solvente, por ejemplo, el tipo de solvente de carácter no polar suele tener alguna dificultad en sifonar puesto que no moja el vidrio. Los solventes más utilizados son los siguientes: ³⁷

Tabla N°1. Solventes más utilizados y su punto de ebullición. ³⁵

Tipo de Solvente	Punto de Ebullición (°C)
Éter	35
Diclorometano	40
Éter de Petróleo	35-50
Cloroformo	62
Metanol	65
Etanol-benceno	65
Hexano	69
Etanol tolueno	73
Acetato de etilo	77
Etanol	78

Tipo de Solvente	Punto de Ebullición (°C)
Benceno	80
Ciclohexano	81
Acido Fórmico	101
Tolueno	111

2.4.3. Extracción con fluidos supercríticos (SFE)

Básicamente, el sistema de extracción consiste en una bomba de alta presión, una celda de extracción, una zona en la que se produce la descomposición del fluído, y por ultimo un sistema adecuado de colección de los analitos.⁵⁰

El extractor propiamente dicho consta de una o varias celdas de extracción, donde se sitúa la muestra, y de un sistema adecuado que permite fijar y mantener la temperatura del fluido durante toda la etapa de extracción.¹⁰

La instrumentación necesaria para realizar una extracción con fluidos supercríticos es, en principio, bastante simple. Ver Figura N° 9.

Las temperaturas usuales de trabajo oscilan entre 30 y 150° C. El tamaño de las celdas de extracción puede variar ampliamente, aunque los volúmenes típicos de las mismas oscilan entre 0.5 y 10 ml, por lo que el tamaño de la muestra en SFE suele ser considerablemente menor.⁴⁶

La parte del equipo donde se produce la descompresión del fluído supercrítico (restricor) suele consistir en un simple capilar de pequeño diámetro interno, metálico o de sílice fundido (restricor fijo), o bien en una serie de válvulas micrométricas que permiten controlar de forma mecánica el diámetro del orificio de salida del restricor (restricor variable).²⁴

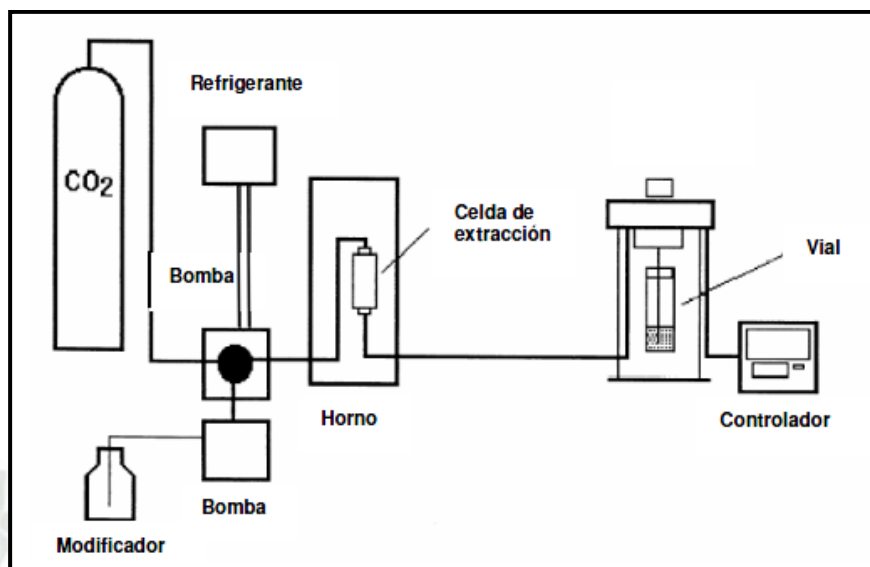


Figura N°9. Esquema de los componentes del sistema de extracción supercrítica

La temperatura de la zona del restrictor también suele estar termoestabilizada con el fin de evitar que los analitos extraídos precipiten dentro de él y lo obstruyan, ya que cuando se utilizan fluidos que son gases a presión ambiente, la expansión de estos durante el proceso de descompresión produce un fuerte enfriamiento.⁴⁶

2.5. Cromatografía de gases

La forma más usual de hacer cromatografía de gases es utilizando un líquido como fase estacionaria; recibe entonces el nombre de cromatografía gas-líquido (CGL). También se utilizan absorbentes, dando lugar a la cromatografía gas-sólido (CGS), pero en mucho menor proporción.¹⁵

La cromatografía de gases es una técnica analítica que puede ser utilizada para separar compuestos orgánicos basada en sus volatilidades. También provee información cualitativa y cuantitativa de los componentes presentes en una mezcla. Los componentes son separados por sus diferencias de partición entre la fase móvil gaseosa y la fase estacionaria en la columna, permitiendo que sean separados en tiempo y espacio.¹⁵

2.5.1. Componentes de un cromatógrafo de gases

Un cromatógrafo de gases consiste de:

- Fase móvil.
- Puerto de inyección.
- Horno de la columna.
- Fase estacionaria.
- Columna.
- Detector.
- Sistema de registro de datos.

2.5.1.1. Fase móvil

Gaseosa, líquida o fluido supercrítico. Estas fases son generalmente gases inertes como helio, argón o nitrógeno. El gas portador lleva las moléculas del analito a través de la columna, este movimiento es inhibido por la adsorción que presenta el analito tanto en las paredes de la columna como en los materiales empaquetados en la misma.³⁶

Debe reunir ciertas condiciones:

- Capaz de minimizar la difusión gaseosa
- Ser inerte para evitar interacciones (tanto con muestra como con fase estacionaria)
- Fácilmente disponible y puro
- Económico
- Compatible con el detector a utilizar

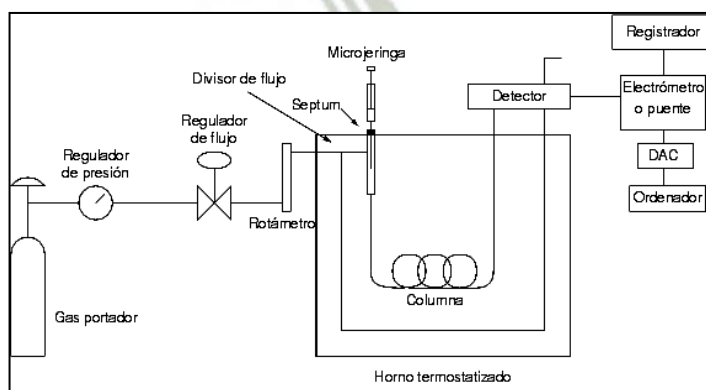


Figura N°10. Esquema del sistema de cromatografía de gases

2.5.1.2. Puerto de inyección

Es un dispositivo que permite la introducción de la muestra en la corriente del gas portador. El inyector se trata de una cámara situada a la entrada de la columna y calentada independientemente de ésta (a temperatura superior del punto de ebullición del componente más volátil de la muestra, generalmente), que suele tener una membrana de caucho a través de la cual se introduce la muestra con la ayuda de una microjeringa hipodérmica.¹²

La técnica de inyección de muestra recomendada para líquidos en cromatografía de gases es el método de flujo del solvente. El solvente puro es introducido a la jeringa seguida de una bolsa de aire, después se coloca la solución muestra, y finalmente otra bolsa de aire. Se lee el volumen de la muestra y posteriormente se inyecta al cromatógrafo.¹²

2.5.1.3. Horno de columna

En el interior se sitúa la columna, donde se debe tener una buena regulación de la temperatura. Dentro del horno la columna se conecta en un extremo al puerto de inyección, y en el otro al detector. La columna debe estar en el centro del horno sin tener contacto con las paredes.¹⁵

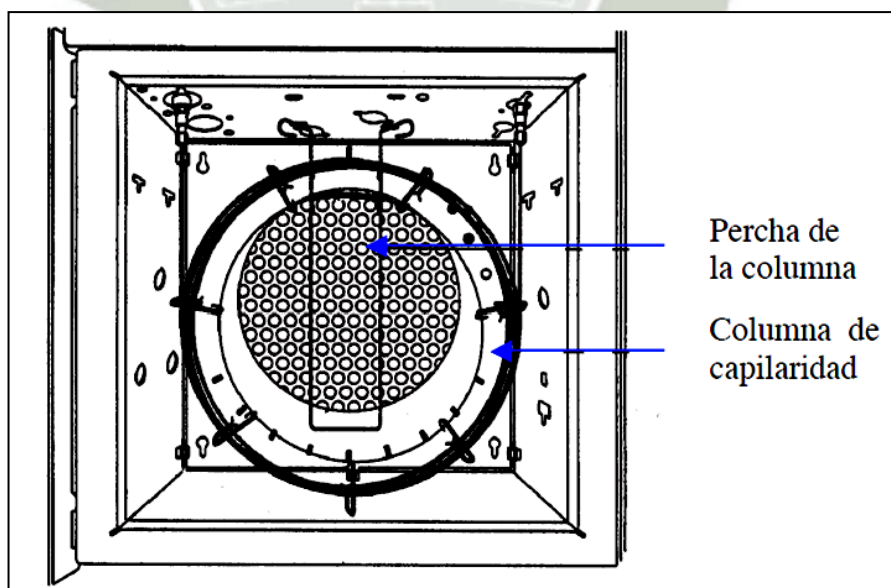


Figura N°11. Horno con columna capilar

2.5.1.4. Fase estacionaria

La fase estacionaria es la encargada de separar los componentes de la muestra. Esta puede ser un sólido o un líquido, dispuestos sobre un sólido que actúa como soporte (columna). El sólido de la fase estacionaria puede ser de aluminio, sílica gel, carbón o tierra de diatomeas; y el líquido de la fase estacionaria debe tener una baja viscosidad y una alta y diferencial solubilidad.¹⁵

Para la elección de la fase estacionaria se deben de tener en cuenta las siguientes consideraciones:

- Los límites de temperatura del líquido elegido, considerando su viscosidad y volatilidad.
- La posibilidad de reacciones irreversibles con la columna
- La fuerza de interacción soluto-solvente que han de influir en los coeficientes de actividad de los componentes de la mezcla
- La elección de la fase estacionaria dependerá no solo de la presencia de polaridad dentro de los solutos, sino del grado de separación de dos sustancias que dependen de sus respectivos coeficientes de reparto.

Las fases se pueden clasificar en:

- No polares: para separar sustancias pocas o nada polares. El más utilizado son las gomas de silicona OV-1, OV-101 o SE-30, para trabajar hasta más de 300°C donde se consiguen eficacias de columna extraordinarias.
- Con carácter ligeramente polar: utilización general, buena selectividad para mezclas mixtas. Sebacato de dietil (2 etil hexilo), aceite de silicona, gomas de silicona.
- De polaridad media o alta: no aptos para hidrocarburos no aromáticos. Aceite de Ucon LB-550X, polifenil éter, Carbowax 1 540, succinato de butanodiol.

2.5.1.5. Columna cromatográfica

Las columnas están hechas de cobre, acero inoxidable o tubos de vidrio, dobladas o enrolladas. Excepto para las de vidrio, las columnas son empacadas mientras se están doblando. La separación de la mezcla se realiza dentro de la columna, por lo tanto, es la parte más importante del cromatógrafo.¹³

La elección de las columnas es lo más crítico, existen dos diferencias fundamentales que deben ser consideradas para la elección de la columna: La cantidad de muestra que admiten (capacidad de carga) y los valores de los flujos del gas portador. La capacidad de carga se define como la cantidad de muestra que se puede inyectar sin pérdida apreciable de eficacia y está relacionado con la cantidad de fase estacionaria por unidad de longitud de la columna.³⁶



Figura N°12. Columna Capilar RESTEK Stabilwax®-DA

Las columnas empaquetadas contienen un soporte sólido inerte con una cubierta delgada de la fase líquida. El soporte sólido es frecuentemente tierra de diatomeas. La fase líquida puede tener una viscosidad baja y una alta solubilidad para la mezcla de componentes.³⁶

Las columnas de capilaridad originalmente contenían una película del líquido cubriendo la pared interna de la columna de vidrio o metal. Las columnas de capilaridad ahora contienen una capa de revestimiento sólido dentro de ella con poro en el centro.

Estas columnas son mejores porque se les puede aplicar una velocidad óptima de flujo más rápida (aprox. de 2- 5 mL por min en lugar de 1 mL por min). Debido a este tipo de columnas, los análisis han podido ser más sensibles. Los flujos del gas portador que se utilizan en columnas capilares suelen ser del orden de 0.5-3 mL/min, mientras que en una columna clásica ascienden a un orden de 30-100 mL/min.³⁶

Para poder utilizar la columna capilar con éxito será necesario introducir entre el inyector y la columna un dispositivo denominado divisor de flujo, cuya finalidad es permitir la entrada en la columna de una pequeña fracción solamente del flujo que pasa por el sistema de inyección.³⁶

La relación de división (flujo al exterior/flujo que pasa por la columna) suele oscilar entre 50 y 120. Esto permite disminuir la cantidad de muestra que pasa por la columna (que queda reducida a la fracción que indica la relación de división) y aumentar la velocidad lineal del gas portador en el sistema de inyección en la cantidad indicada por la relación de la división (la difusión molecular en esta parte del instrumento se hace muy pequeña).³⁶

Entre los factores que disminuyen la eficacia de una columna se encuentran:

- Tamaño de la partícula de relleno
- Longitud de la columna. Limita en cuanto a las velocidades lineales del gas portador, originando tiempos de análisis muy largos y sin mejorar la resolución.
- Diámetro de la columna. Más importante en columnas capilares abiertas, por la resistencia que opone la fase móvil a la transferencia de masas.
- Naturaleza de las fases. Fase estacionaria: no afecta. Gas portador: viscosidad y valores del coeficiente de difusión en la fase móvil.

- Cantidad de fase estacionaria. A menor cantidad mayor eficacia.
- Temperatura de la columna. Al aumentar esta disminuye la eficacia al afectar directamente en el coeficiente de reparto.
- Velocidad del gas portador. Una velocidad elevada es la óptima.
- Cantidad de muestra inyectada.

2.5.1.6. Detectores

Los detectores son dispositivos que indican y miden los solutos en la corriente del gas acarreador, convirtiendo una señal no medible directamente en una señal elaborable de una propiedad física. Esta señal es elaborada por una comparación entre el gas acarreador puro (blanco) y el mismo gas llevando cada uno de los componentes previamente separados en la columna, esto es traducido en una señal eléctrica que es amplificada y registrada al momento de salir de la columna. Un buen detector es altamente sensible, tiene una respuesta lineal (linearidad) sobre un amplio rango de concentración y es relativamente insensible a variaciones de flujo y temperatura (rango dinámico lineal).¹⁵

Pueden ser clasificados por:

- Grado de selectividad: detectores universales que responden a la mayoría de los solutos; específicos-selectivos con respuesta a un grupo particular de sustancias.
- Recuperación de la muestra: en referencia a si la muestra es destruida o no.
- Modo de respuesta: dependientes de flujo de masa (cantidad de soluto independientemente de la cantidad de gas portador); dependientes de concentración (cantidad de soluto por unidad de volumen de gas portador).
- Proceso de detección: ionización; óptico-espectroscópico; electroquímico.

Los detectores más ampliamente utilizados son el detector de conductividad térmica (TCD) y el detector de ionización de flama (FID).

2.5.1.6.1. Detector de conductividad térmica (TCD)

Consiste de dos celdas metálicas idénticas, cada una conteniendo un filamento de alambre de tungsteno o de tungsteno con lámina de oro. El efluente fluye a través de una celda y el gas portador (He o H_2) fluye a través de la otra.

En un lado de la muestra el gas fluye por el filamento mientras que en el lado de referencia el gas puede pasar sobre el alambre del filamento y difundir a través de él. Los filamentos son calentados por una corriente eléctrica. La temperatura del elemento sensor depende de la conductividad térmica del gas que fluye alrededor.¹⁵

Cambios en conductividad térmica, como cuando las moléculas orgánicas desplazan un poco al gas portador, provocan un incremento en la temperatura del elemento el cual está siendo monitoreado como un cambio en la resistencia.

Dos pares del TCD son utilizados en cromatografía de gases, un par localizado en la salida de la columna para detectar los componentes separados mientras van saliendo, el otro par localizados antes del inyector o en una columna de referencia separando las resistencias de los dos pares y están acomodados en un circuito de puente.

Este es un método no destructivo dependiente de concentración, con selectividad universal, con un límite de detección de ~ 400 pg/mL de gas portador. Su modo de detección es debido al cambio de resistencia del cable basado en la termoconductividad del gas cuando fluye a través de la columna.³⁶

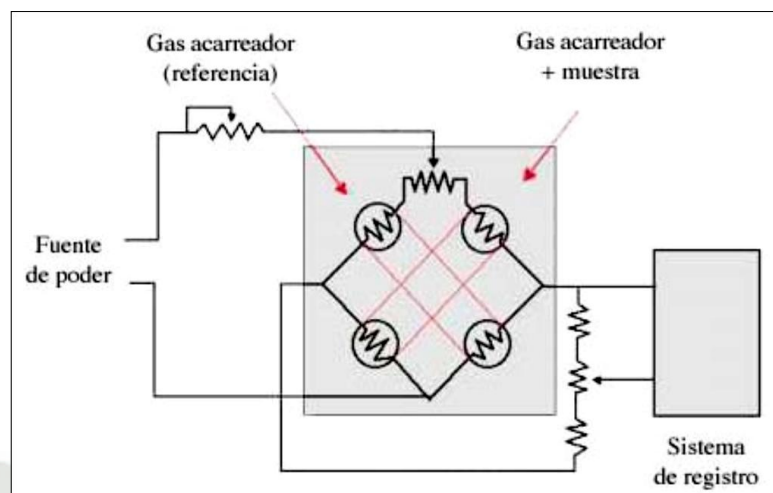


Figura N°13. Detector de conductividad térmica

2.5.1.6.2. Detector de ionización de flama (FID)

El FID consiste de una flama hidrógeno/aire y una placa colectora. Las muestras que salen de la columna pasan a través de la flama, la cual rompe las moléculas orgánicas y produce iones. Los iones son colectados en un electrodo parcial y produce una señal eléctrica. Es extremadamente sensible en un amplio rango dinámico. La única desventaja es que destruye la muestra.³⁶

La muestra debe ser un combustible, esta entra en la base del detector, se mezcla con el hidrógeno y entra a la flama. Hay compuestos con poca o sin respuesta al FID, compuesto como el NH_3 , CS_2 , Nox , CO , CO_2 , O_2 , H_2O , N_2 , compuestos perhalogenados, etc. La respuesta está basada en el número de carbonos y otros elementos tales como halógenos y el oxígeno presentes que reducen la combustión.³⁶

Este es un método destructivo dependiente de flujo de masa, con selectividad para compuestos orgánicos, con un límite de detección de $\sim 100\text{pg/seg}$. Su modo de detección es debido a la producción de iones en una flama resultando en una corriente que puede ser medida.⁵¹

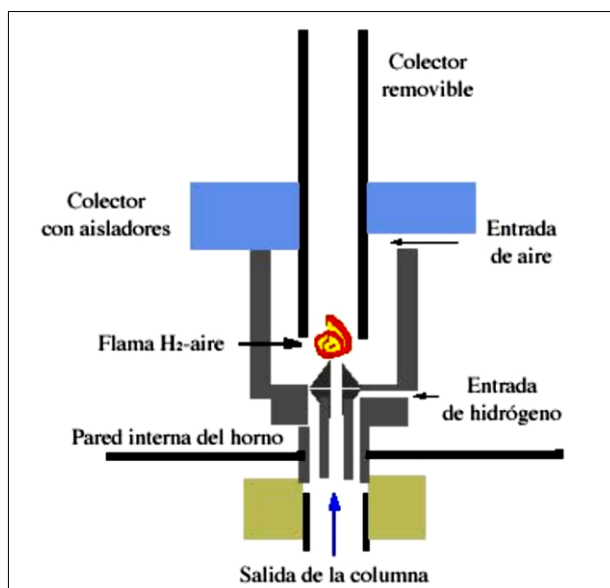


Figura N°14. Detector de ionización de flama

2.5.2. Ventajas y Desventajas de la aplicación de cromatografía de gases

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Rápido tiempo de análisis	Limitado para muestras volátiles
Buena resolución	Limitado para compuestos termolábiles
Buenos análisis cuantitativos	Preparación de tamaño de muestras no buena
Limites de detección bajos	
Fiable, simple y barato	
No destructivo	

*Fuente: Miller JM, Crowther JB. Analytic chemistry in a GMP environment.²⁷

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MUESTRA

Para el presente estudio se utilizaron semillas de chía (*Salvia hispanica L.*) procedentes del Valle de Vítor en la ciudad de Arequipa. Se recolectaron 2 kg directamente del agricultor.

3.2. AMBIENTE UTILIZADO

El siguiente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad (H-204 /205) de la Universidad Católica de Santa María en la ciudad de Arequipa.

3.3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

3.3.1. Materiales

Baguetas
 Beakers 100, 250 mL
 Bureta graduada de 50 mL
 Crisoles
 Dedal de celulosa
 Espátulas
 Fiolas de 1,5, 10, 100, 250 y 500 mL
 Frascos color ámbar 5, 30 mL
 Gradilla
 Matraz Erlenmeyer de 250 mL
 Pipetas volumétricas de 1,5 y 10 mL
 Probetas graduadas de 50, 100 mL

Refrigerante de reflujo

Tamiz #30

Tubo de ensayo

Viales ámbar

3.3.2. Reactivos

REACTIVO	MARCA	CALIDAD
Acido acético	JT BAKER	Para Análisis
Acido clorhídrico	MERCK	Para Análisis
Acido fosfórico	MERCK	Para Análisis
Aire comprimido	PRAXAIR	Para Análisis
Almidón	MERCK	Para Análisis
Agua destilada	-	-
Cloroformo	MERCK	Para Análisis
Éter de petróleo	JT BAKER	Para Análisis
Fenoltaleína	MERCK	Para Análisis
Helio comprimidos	PRAXAIR	Para Análisis
Hexano	MERCK	Para Análisis
Hexano	MERCK	Para Cromatografía en Fase Liquida
Hidrogeno comprimido	PRAXAIR	Para Análisis
Hidróxido de Potasio	MERCK	Para Análisis
Hidróxido de Sodio	JT BAKER	Para Análisis
Reactivo de Wijs	DELTA QUIMICA	Para Análisis
Tiosulfato de Sodio	JT BAKER	Para Análisis
Tolueno	MERCK	Para Análisis
Complejo Trifloruro de Boro – Metanol 20%	MERCK	Para Análisis
Sulfato de Sodio Anhidro	JT BAKER	Para Análisis
Yoduro de potasio	MALLINCKRODT	Para Análisis

3.3.3. Equipos

Los equipos utilizados en la presente investigación están calibrados y verificados.

EQUIPOS	MARCA	MODELO
Balanza Analítica	OHAUS	Discovery DV215CD
Cocinilla	GALLENKAMP	MSH-300i
Estufa- Incubadora	JP.SELECTA	2000210

EQUIPOS	MARCA	MODELO
Equipo de Extracción con solventes	VELP SCIENTIFICA	SER-148
Refrigeradora	COLDEX	E-162
Cromatógrafo de Gases	ULTRA SHIMATSU	GC/MS-QP2010
Columna capilar	RESTEK	RT-2560

3.4. MÉTODOS

3.4.1. Obtención de la muestra

Se obtuvo semillas de chíá cultivada en el Valle de Vitor directamente del agricultor. Se limpió manualmente 2.000 kg de semillas de chíá, separándolas de elementos extraños.

3.4.2. Determinación del contenido de humedad

Método: Secado en estufa

Fundamento: Este método se basa en evaporar de manera continua la humedad de la muestra y el registro de la pérdida de peso, en comparación con el peso de la semilla húmeda. La estufa se utiliza para determinar el agua contenida (como % de humedad) en una muestra de material orgánico.

El horno aumenta su temperatura gradualmente conforme pase el tiempo así como también sea su programación, posee un tablero de control que muestra el punto de regulación y la temperatura real dentro del horno. El cálculo de la humedad se determina por la pérdida de peso que sufre la muestra después de ser sometida al proceso de calentamiento.

Procedimiento: El contenido de humedad se evaluó según la técnica de la AOAC (1990). Para ello se distribuyó uniformemente 1.000 g de semillas en crisoles, los cuales fueron secados en una estufa durante 4 h a 100°C. El procedimiento se realizó por triplicado.

Expresión de resultados:

$$H^{\circ} (bs) = \frac{Ph - Ps}{Ps} * 100$$

Donde:

Ph: Peso de la muestra antes del calentamiento (g)

Ps: Peso de la muestra después del calentamiento (g)

3.4.3. Obtención del aceite de semilla de chía

Método: Extracción con solventes – Método de Randall

Fundamento: Esta extracción consiste en someter la harina de chía, previo tamizado a través de una malla #30 con la intención de uniformizar el tamaño de partícula, al contacto con un disolvente orgánico, el cual extrae el aceite, separándolo de la mezcla de aceite-disolvente. El sistema opera en dos fases mas una de recuperación del solvente, permitiendo reducir tiempos de extracción, minimiza la contaminación atmosférica y reduce costos de análisis.

Procedimiento: Se pesó en cada dedal de celulosa 5.000 g de muestra y en los beakers se colocó 50 mL de éter de petróleo, el equipo es cerrado herméticamente. Este método consistió en un primer paso donde el disolvente entró en contacto con la harina de chía en una etapa de ebullición por un tiempo de 45 minutos a 110°C. Posteriormente el dedal de celulosa cambió de posición a una etapa de enjuague donde se eliminó la materia prima soluble restante del paso anterior por un tiempo de 30 minutos. En un tercer paso denominado recuperación del solvente, se giraron las palancas del equipo para evitar el paso del mismo hacia a los contenedores. La solución de aceite en el disolvente se evaporó, condensándolo para volver a ser utilizado, siendo retenido en la parte superior del condensador, quedando el aceite crudo listo para ser almacenado en contenedores de color ámbar. Se realizó el procedimiento por triplicado.



Figura N° 15. Extracción con solventes – Método de Randall. En la imagen A se observa el paso de ebullición, en la imagen B el paso de enjuague y en la imagen C etapa de recuperación del solvente.

Expresión de resultados:

$$\%R = \frac{W3 - W2}{W1} * 100$$

Donde:

W1: Peso de la muestra

W2: Peso del beaker

W3: Peso del beaker conteniendo el aceite

3.4.4. Determinación de propiedades fisicoquímicas del aceite de chía

3.4.4.1. Índice de saponificación

Método: Koettstorfer

Fundamento: Es la cantidad de hidróxido de potasio expresado en miligramos, necesario para saponificar un gramo de aceite o grasa. Este método se basa en la reacción química de los ácidos grasos con un álcali, formándose la sal del ácido³⁰. La formula química es la siguiente:

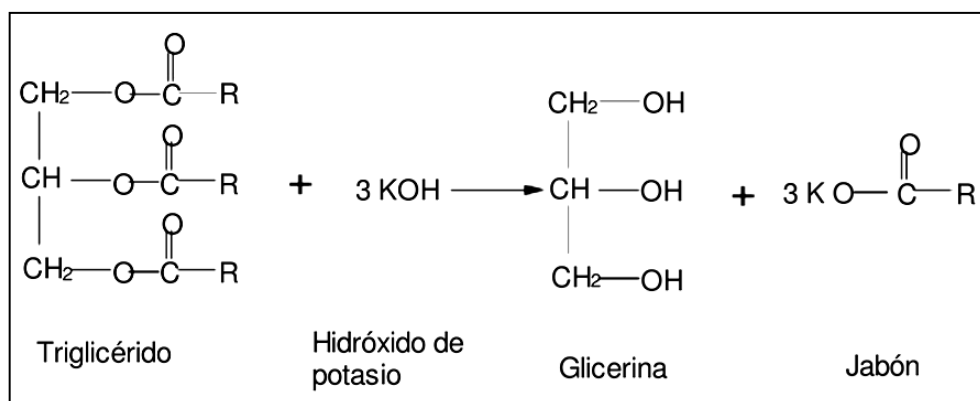


Figura N°16. Fórmula química de formación de jabón

Reactivos:

Acido clorhídrico 0,5N

Solución etanólica de hidróxido de potasio

Solución indicadora de fenolftaleína 1%

Procedimiento:

Se pesó 2.000 g de muestra en un matraz erlenmeyer, luego se añadió 25 mL de la solución etanólica de hidróxido de potasio y se adaptó el refrigerante de reflujo. Se llevó a ebullición lenta pero constante por 1 hora. Pasado el tiempo se retiró del calor y se añadió de 4 o 5 gotas de fenolftaleína, posteriormente se tituló con la solución de acido clorhídrico 0,5 N. Se realizó el ensayo en blanco en las mismas condiciones pero omitiendo el aceite.

Expresión de resultados:

$$IS = \frac{(B - M) * N}{P} * 56,1$$

Donde:

IS = Índice de saponificación

B = Volumen en mL de HCl 0.5 N requeridos para titular el blanco

M = Volumen en mL de HCl 0.5 N requeridos para titular la muestra

N = Normalidad de la solución de HCl

P = Peso de la muestra en gramos

56,1 = Equivalentes de hidróxido de potasio

3.4.4.2. Índice de yodo

Método: Wijs – volumétrico

Fundamento: Es la medida de la no saturación de las grasas y aceites, se expresa en términos del número de gramos de yodo absorbido por gramo de muestra (por ciento de yodo absorbible). Este método se basó en la reacción del monoclóruo de yodo en medio acético con los ácidos grasos, y en medir la cantidad de yodo que está presente libremente. En función de éste se determina el grado de insaturación del aceite²⁷. La reacción química es la siguiente:

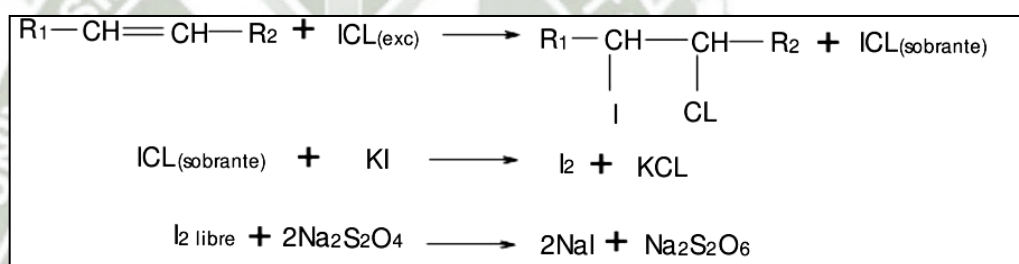


Figura N° 17. Reacción química de Wijs

Reactivos:

- Yoduro de potasio, solución de 100 g/L, exento de yodatos o yodo libre
- Engrudo de almidón. Se mezcló 5 g de almidón soluble con 30 ml de agua, se añadió esta mezcla a 1000 mL de agua en ebullición, hervir durante 3 minutos y dejar enfriar.
- Solución volumétrica patrón de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0.05 N
- Disolvente, preparado mezclando volúmenes iguales de ciclohexano y ácido acético.

- Reactivo de Wijs, que contenga monoclóruo de yodo en ácido acético. Se utilizara reactivo de Wijs comercializado.

Procedimiento:

Determinación Índice de Yodo

Se pesó la muestra en función del índice de yodo previsto, como se indica en la Tabla N° 2:

Tabla N° 2. Peso de la muestra e índice de yodo previsto

Índice de Yodo previsto	Peso de muestra problema (g)
Menos de 5	3,00
5-20	1,00
21-50	0,40
51-100	0,20
101-150	0,13
151-200	0,10

Se introdujo la muestra problema en un matraz de 500 mL. Se añadió 20 mL del disolvente, luego se agregó 25 mL de reactivo de Wijs, se tapó, se agitó el contenido y se colocó el matraz alejado de la luz por dos horas.

Se preparó del mismo modo un ensayo en blanco con el disolvente y el reactivo, pero sin la muestra problema. Una vez transcurrido el tiempo correspondiente, se agregó a cada uno de los matraces 20 mL de solución de yoduro potásico y 150 mL de agua. Se añadió unas gotas de engrudo de almidón y se tituló con la solución de tiosulfato sódico hasta que desapareció el color azul después de una agitación muy intensa.

Expresión de resultados:

$$IY = \frac{(V_t - V_m) * C * 12.69}{P}$$

Donde

IY = Índice de yodo

V_t = Volumen de solución de tiosulfato de sodio gastado en la titulación del blanco, en mL.

V_m = Volumen de solución de tiosulfato de sodio gastado en la titulación de la muestra, en mL.

C = Concentración exacta de la solución de tiosulfato de sodio, expresada en mol/l.

12.69 = Equivalente del yodo.

P = Peso de la muestra en gramos.

3.4.4.3. Índice de peróxido

Método: volumétrico

Fundamento: El índice de peróxido indica los miliequivalentes de oxígeno en forma de peróxido por kilogramo de grasa o aceite. (IP). Este método se basó en la determinación de la cantidad de peróxidos contenidos por medio de una titulación³³. La reacción química es la siguiente:

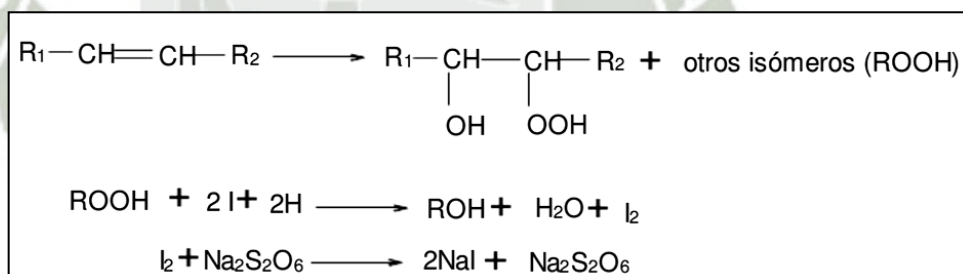


Figura N°18. Reacción química índice de peróxido

Reactivos:

- Solución de ácido acético glacial
- Solución de cloroformo
- Solución valorada de tiosulfato de sodio 0.05 N.
- Solución saturada de yoduro de potasio en exceso
- Solución indicadora de almidón.

Procedimientos:**Determinación Índice de Peróxidos**

Se pesó 2.000 g de muestra dentro de un matraz, se añadió 10 mL de solución de cloroformo y se agitó hasta que la muestra se disolvió totalmente. Se añadió 15 mL de ácido acético y a continuación, 1 mL de solución de yoduro potásico en exceso, se agitó y se dejó reposar durante 5 minutos en oscuridad.

Se tituló lenta y cuidadosamente con solución 0.002 N de tiosulfato de sodio; se agitó vigorosamente después de cada adición, hasta tener una coloración ligeramente amarilla; se añadió solución indicadora de almidón y se continuó la titulación sin dejar de agitar hasta la desaparición del color azul.

Se hace una prueba en blanco en las mismas condiciones en las que se efectuó la de la muestra. Se anotó en cada caso los mililitros de solución de tiosulfato 0.002 N gastados en la titulación.

Expresión de resultados:

$$IP = V * N * \frac{1000}{P}$$

Donde

IP = Índice de Peróxido

V = Mililitros de solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación de la muestra.

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

P = Peso de la muestra en gramos.

3.4.5. Determinación de ácidos grasos

Método: Composición de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa (CG) expresada en ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME)

Fundamento: En la cromatografía de gases la muestra se volatilizó y se inyectó en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produjo por el flujo de una fase móvil, que es un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interaccionó con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.

Preparación de los ésteres metílicos

La metanólisis de un compuesto graso, es el resultado de tres reacciones reversibles consecutivas²⁹: transesterificación parcial del triglicérido (TG) para formar el diglicérido (DG), transesterificación parcial del DG para formar el monoglicérido (MG), transesterificación parcial del MG para formar FAME y glicerol (G).

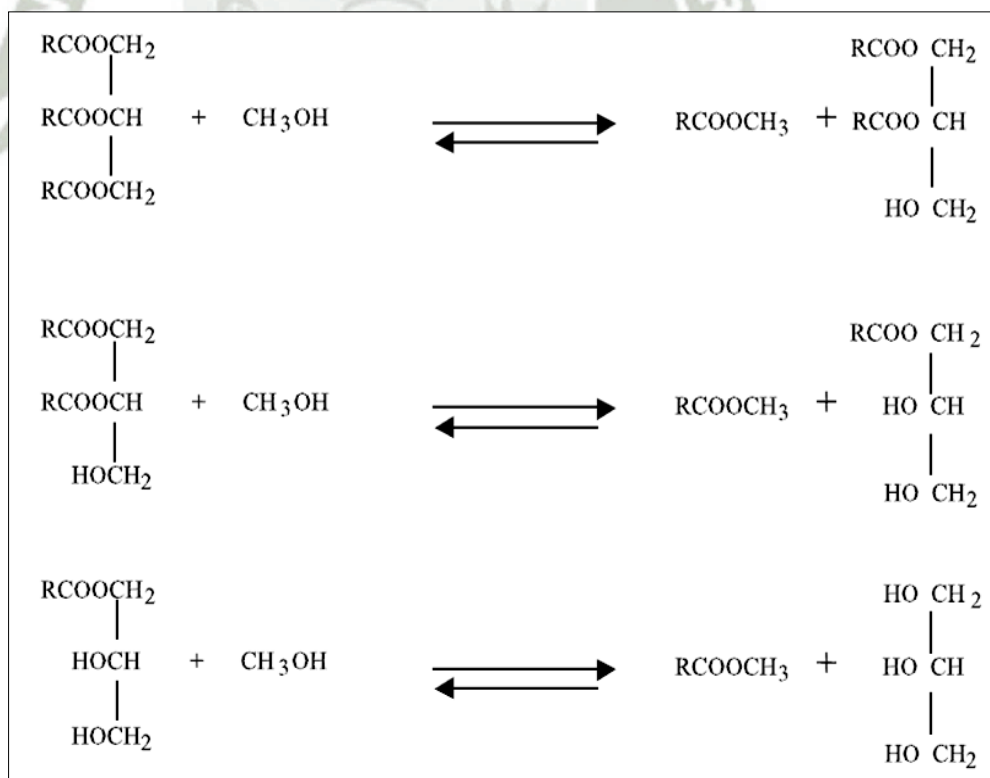


Figura N° 19. Proceso de metanólisis

Procedimiento:

Se disolvió el aceite extraído en 2 mL de trifloruro de boro y 1 mL de tolueno con grado GC. Luego se realizó una incubación a 100°C durante 45 minutos. Se dejó enfriar a temperatura ambiente, se agregó 5 mL de agua destilada y 1 mL de hexano. Posteriormente se agregó 1.000 g de sulfato de sodio anhidro y se esperó hasta que la fase hexánica clarifique, pasado el tiempo se colocó el sobrenadante en un vial para cromatografía de gases.

Análisis por cromatografía de gases

El extracto de FAME obtenido, se cuantificó mediante un detector FID, haciendo uso de una columna de bicianopropil polisiloxano 100%, con los siguientes parámetros:

- Volumen de inyección: 8 μ l
- Temperatura de inyección: 250°C
- Modo: Split
- Presión: 279,3 kPa
- Flujo total: 405.8 mL/min
- Temperatura inicial de la columna: 100°C
- Temperatura de estabilización: 250°C

El estándar empleado fue mix de FAMES #35077 de la marca RESTEK, específicamente para la determinación de ácidos grasos. Ver Anexo N° 1. Componentes mix FAME #35077.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta parte se muestran los resultados obtenidos en la parte experimental según lo indicado en el Capítulo III. Se realizó la extracción a la semilla de chía (*Salvia hispanica L.*) para lograr la obtención del aceite de la misma, se evaluó el rendimiento, sus propiedades fisicoquímicas, así como la identificación y cuantificación de los ácidos grasos presentes en el aceite obtenido.

4.1. Obtención de la muestra

Se obtuvo semillas con contaminantes, como residuos de madera o pequeñas piedras y algunos agentes biológicos como gusanos propios de las cosechas, por lo que se tuvo que realizar una selección y limpieza de las misma, previo a la evaluación. En la figura N° 20 se puede observar la presencia de contaminantes presentes en la muestra obtenida.



Figura N°20. Contaminantes presentes en la muestra de chía

4.2. Porcentaje de humedad

Para una óptima extracción de aceite es importante que la muestra se encuentre sin moléculas de agua para una conservación adecuada, evitando la presencia de microorganismos que puedan alterar la extracción y permitan un mayor tiempo de almacenamiento de la misma.

El método que se empleó para determinar el porcentaje de humedad se describe en el Capítulo 3.4.4.2, se realizó tres ensayos por muestra.

Tabla N° 3

Porcentaje de humedad en la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.)

N° de ensayo	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Porcentaje (%)
1	1.000	0.93	7.52
2	1.000	0.93	7.52
3	1.000	0.94	6.38

La Tabla N° 3 muestra los valores obtenidos por triplicado en la determinación de la humedad. Las características del polvo de chía luego de la prueba de porcentaje de humedad, fue un polvo blanco deshidratado sin aroma, con una humedad de 6.38% como valor mínimo obtenido para 1.000 g de muestra, dato que favorece la extracción del aceite.

Tabla N° 4

Estadísticas descriptivas índice humedad

Estadístico	<i>Salvia hispanica</i> L. (Perú)
Media	7.14
Mediana	7.52
Moda	7.52
Desviación Estándar	0.66
Varianza	0.43
Mínimo	6.38
Máximo	7.52

En la Tabla N°4 se observa que los datos obtenidos por triplicado muestran un bajo margen de error entre ellos, debido a que se tienen datos agrupados como resultado de la prueba estadística realizada; esto es comprobable debido a que la

desviación estándar (0.66) comparada con el máximo valor (7.52) obtenidos se encuentran formando una pendiente positiva confirmando que los datos se encuentran agrupados. Estos resultados se sometieron a pruebas estadísticas, donde se realizó una comparación con datos obtenidos en bibliografía de semilla proveniente de Argentina y Guatemala.

Tabla N° 5
Comparativo índice de humedad en semilla por país

		VALORES	PERÚ	INDICE DE VARIACIÓN
ARGENTINA	MEDIA + DESV.	7.4	7.84	1.07
	MEDIA	7	7.14	1.10
	MEDIA - DESV.	6.6	6.44	1.14
GUATEMALA	MEDIA + DESV.	10.1	7.84	1.46
	MEDIA	10	7.14	1.57
	MEDIA - DESV.	9.9	6.44	1.71

La humedad de las semillas oleaginosas debe ser por debajo del 10%, para asegurar su almacenamiento, evitar desarrollo de hongos y minimizar el proceso de degradación biológica que genera la existencia de ácidos grasos libres. En la Tabla N° 5 se muestra el contenido de humedad en la semilla de chía peruana, la cual tiene valores de 7.14 ± 0.66 %, siendo similar a la reportada en semilla Argentina 7 ± 0.4 % pero con diferencia respecto a la semilla de Guatemala que tiene valores de 10 ± 0.1 %. Con respecto al índice de variación entre los datos de mediana se observa que se tiene una variación positiva del 10% de la semilla Argentina respecto de la semilla peruana, sin embargo, para el caso de semilla proveniente de Guatemala respecto de la semilla peruana se tiene una variación positiva de 57%, dejando más clara la diferencia que existe respecto a las semillas comparadas.

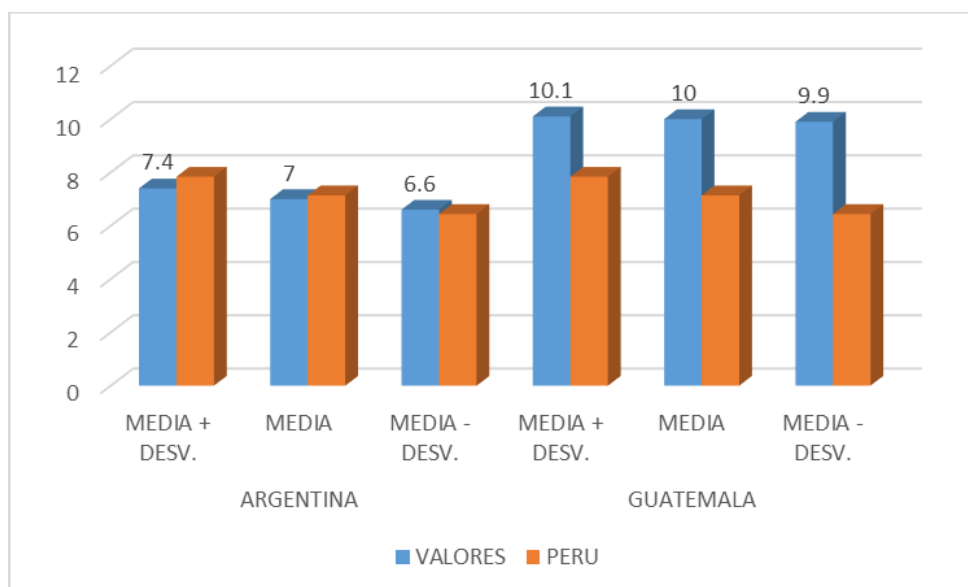


Figura N°21. Comparativo índice de humedad en semilla por país

De igual forma se observan estos resultados en la Figura N°21, donde los valores de semilla peruana mostrado de color naranja son cercanos a los valores de semilla Argentina pero tienen diferencia mínima con los valores obtenidos de la semilla de Guatemala. Estos valores pueden deberse a que la temperatura en Arequipa (Perú – 21°C) y en Salta (Argentina – 25°C) es similar, sin embargo la temperatura en Quetzaltenango (Guatemala – 15°C) es inferior; además la humedad relativa en Guatemala (67%) es mayor que en Perú (23%) y Argentina (57%), por lo que al ser la semilla de chía una semilla higroscópica absorbe mayor cantidad de agua, y esto se comprueba en los resultados obtenidos, ya que la humedad de las semillas se ve influenciada por la temperatura y humedad relativa del lugar de cultivo.

4.3. Obtención de aceite proveniente de semilla de chía

Con la intención de evitar considerar como variable dependiente el tamaño de las partículas de harina, es que se uniformizó la harina pasándola por una malla N°30, previo a la etapa de extracción. En la figura N°22 se observa el proceso realizado.



Figura N°22. Tamizado de harina de chíá, en la imagen A se muestra el proceso de uniformizado, en la imagen B se muestra el tamiz empleado N° 30, en la imagen C se observa la harina obtenida luego del proceso de tamizado.

En la Tabla N° 6 se observa que la cantidad máxima de aceite que se obtuvo fue de 1.61 g a partir de 5.000 g de polvo de semilla de *Salvia hispanica L.*, en todas las repeticiones se utilizó 50 mL de éter de petróleo como solvente. El aceite se colocó en frascos de color ámbar cerrado herméticamente para que no se tenga interferencia con la luz, evitando la oxidación del aceite.

Tabla N° 6

Rendimiento obtenido de la semilla de chíá (*Salvia hispanica L*)

N° de Ensayo	Muestra (g)	Cantidad de aceite (g)	Rendimiento (%)
1	4.999	1.60	32.09
2	5.000	1.61	32.10
3	4.999	1.60	32.09

El aceite obtenido fue de un color amarillo oscuro, denso. Los residuos de la extracción como el solvente fue recuperado y el residuo de la extracción fue un producto blanquesino libre de grasas, el cual fue desechado. El aceite se mantuvo en refrigeración a 10°C hasta el momento de realizar las pruebas fisicoquímicas, a fin de preservar sus propiedades evitando la degradación por agentes ambientales.

Tabla N° 7
Estadísticas descriptivas rendimiento de extracción

Estadístico	<i>Salvia hispanica L.</i> (Perú)
Media	32.09
Mediana	32.09
Moda	32.09
Desviación Estándar	0.005
Varianza	0.00
Mínimo	32.09
Máximo	32.10

En la Tabla N°7 se observa que los datos obtenidos por triplicado muestran un bajo margen de error entre ellos, debido a que se tienen datos agrupados como resultado de la prueba estadística realizada, esto es comprobable debido a que la desviación estándar (0.005) comparada con el máximo valor (32.10) obtenidos se encuentran en un pendiente positiva lo que confirma que los datos se encuentran agrupados. Estos resultados se sometieron a pruebas estadísticas, donde se realizó una comparación con datos obtenidos en bibliografía de semilla proveniente de Argentina y Guatemala.

Tabla N° 8
Comparativo rendimiento de extracción por país

		VALORES	PERU	INDICE DE VARIACIÓN
ARGENTINA	MEDIA + DESV.	34	32.10	1.059
	MEDIA	33.6	32.09	1.047
	MEDIA - DESV.	33.2	32.08	1.035
GUATEMALA	MEDIA + DESV.	28.6	32.10	0.891
	MEDIA	26.7	32.09	0.832
	MEDIA - DESV.	24.8	32.08	0.773

En la Tabla N° 8 se observa que el rendimiento del aceite extraído de semilla peruana se encontró en un promedio de $32.09 \pm 0.005\%$, valores que resultaron menores que los publicados por Ixtania (2010) para aceite obtenido de semilla Argentina $33.6 \pm 0.4\%$, pero superiores a los reportados para semilla proveniente de Guatemala $26.7 \pm 1.9\%$. Con respecto al índice de variación entre los datos evaluados se observa que se tuvo una variación positiva de 4.7% entre la semilla Argentina respecto de la semilla peruana, al contrario de lo que se obtuvo al evaluar la semilla de Guatemala con respecto de la peruana donde se tuvo una variación negativa de 83.2%, lo que proporciona con mayor claridad el mejor rendimiento de la semilla peruana sobre la de Guatemala.

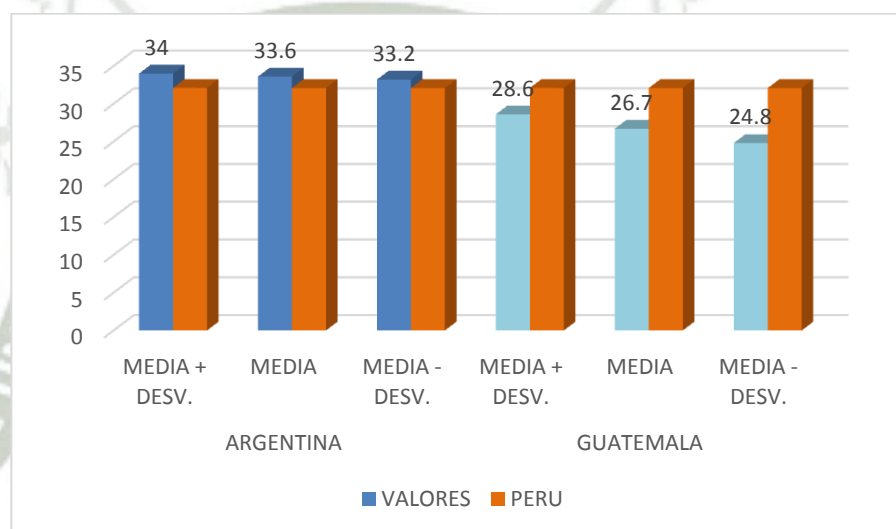


Figura N° 23. Comparativo rendimiento de extracción por país

En base a la Figura N°23 se puede deducir que el rendimiento superior en el caso de semilla Argentina podría deberse a la humedad presente en la semilla (7%), ya que en el caso de la semilla de Guatemala el contenido de humedad es de 10%, se descarta el factor del método de extracción para el que caso de semillas extranjeras, ya que ambas se realizaron por extracción con Soxhlet, sin embargo, para el caso de semilla Argentina se considera que el solvente empleado, el cual fue hexano, pudo favorecer el rendimiento de aceite obtenido. En la Figura N°24 se observa el aceite obtenido de semilla de chía por triplicado para semilla de chía.



Figura N° 24. Aceite obtenido de semilla de chía

La Figura N° 25 muestra el rendimiento de extracción de la semilla peruana en comparación con diferentes tipos de semillas; se observa en el caso de la semilla de Sacha Inchi reportado por Zanabria (2012) que obtuvo el mejor rendimiento de extracción (37.57%), siendo el rendimiento de la semilla de zapallo el más bajo, el cual fue reportado por Choquenaira (2013). En base a estos valores se puede deducir que para mejorar el rendimiento de extracción es preciso pasar la harina por una fase de pre calentamiento a fin de disminuir la humedad en el interior de la semilla, de igual forma se podría mejorar el rendimiento empleando el uso de solventes como éter de petróleo o hexano de naturales no polar, los cuales tienen mayor compatibilidad con el aceite a extraer, el cual es de naturales apolar.

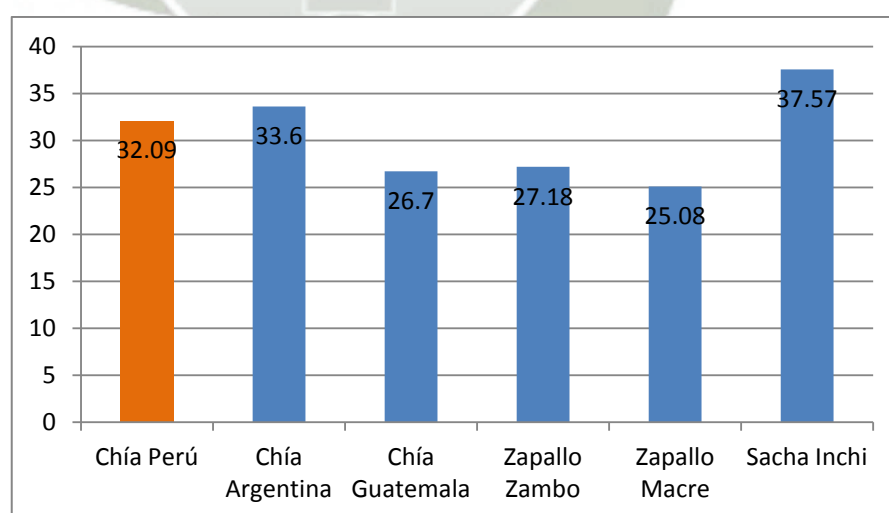


Figura N° 25. Rendimiento en comparación con diferentes tipos de semilla

4.4. Determinación de propiedades fisicoquímicas del aceite de semilla de chía

4.4.1. Índice de saponificación

Este valor da la medida del peso molecular promedio de los glicéridos mixtos que constituyen el aceite, ya que si estos contienen ácidos grasos de bajo peso molecular, el número de moléculas presentes en 1g de muestra será mayor que si los ácidos grasos son de alto peso molecular. Puede deducirse que a mayor IS, mayor concentración de ácidos grasos de bajo peso molecular.

Tabla N° 9

Índice de saponificación obtenido de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.)

Peso muestra (g)	Normalidad (meq/mL)	Titulo blanco (mL)	Titulo muestra (mL)	Índice (mg KOH/g aceite)
2.018	0.5419	26.3	14.6	176.25
2.005	0.5419	26.3	14.5	178.92
2.012	0.5419	26.3	14.6	176.78

La Tabla N° 9 muestra los valores obtenidos luego de la titulación de la muestra, los cuales se realizaron por triplicado obteniendo un valor máximo de 178.92 mg KOH/g aceite, con una normalidad de 0.5419 meq/mL de ácido clorhídrico luego de realizar la valoración del titulante. Estos resultados se sometieron a pruebas estadísticas descriptivas. La Figura N° 26 muestra el proceso de titulación de la muestra y el blanco para el análisis del índice de saponificación.



Figura N° 26. Titulación con ácido clorhídrico, índice de saponificación

Tabla N° 10
Estadísticas descriptivas índice de saponificación

Estadístico	<i>Salvia hispanica L.</i> (Perú)
Media	177.32
Mediana	176.78
Moda	176.25
Desviación Estándar	1.22
Varianza	1.49
Mínimo	176.25
Máximo	178.92

La Tabla N° 10 muestra el valor promedio obtenido el cual fue de 177.32 ± 1.22 mg KOH/g aceite. Siendo datos agrupados debido a la pendiente positiva formada entre la desviación estándar y el valor máximo encontrado, confirmando que el margen de errores entre los datos es bajo. Estos resultados se sometieron a pruebas estadísticas, donde se realizó una comparación con datos obtenidos en bibliografía de semilla proveniente de Argentina y Guatemala.

Tabla N° 11
Comparativo índice de saponificación por país

		VALORES	PERU	INDICE DE VARIACIÓN
ARGENTINA	MEDIA + DESV.	193.16	178.54	1.082
	MEDIA	193.09	177.32	1.089
	MEDIA - DESV.	193.02	176.10	1.096
GUATEMALA	MEDIA + DESV.	193.04	178.54	1.081
	MEDIA	193.01	177.32	1.088
	MEDIA - DESV.	192.98	176.10	1.096

La Tabla N° 11 muestra que el índice de saponificación obtenido del aceite de semilla de chía se encontró en un promedio de 177.32 ± 1.22 mg KOH/g aceite, valores que resultaron menores que los reportados en semilla Argentina 193.09 ± 0.07 mg KOH/g aceite, y para los reportados para aceite de semilla proveniente de Guatemala 193.01 ± 0.03 mg KOH/g aceite.

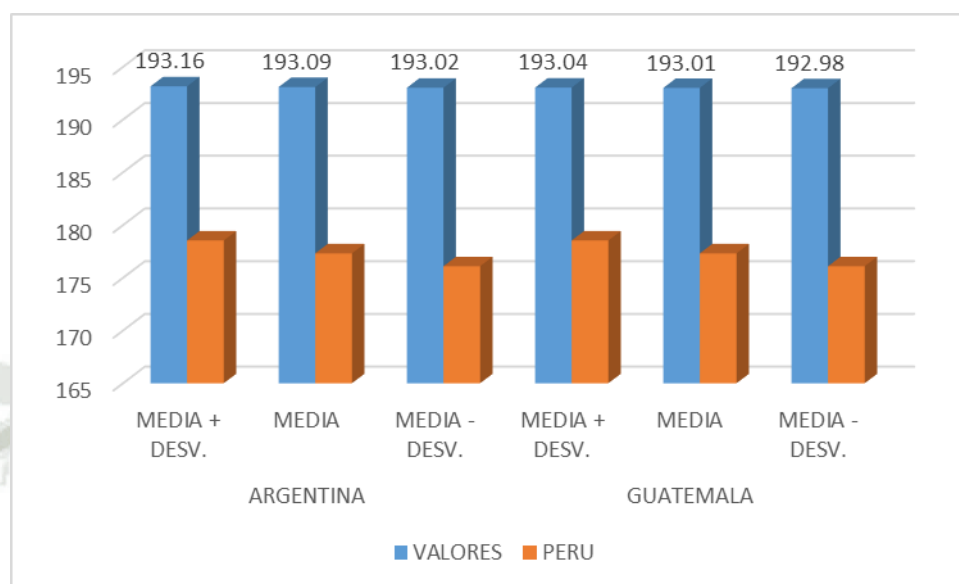


Figura N° 27. Comparativo índice de saponificación por país

Estos valores se pueden apreciar mejor en la Figura N°27, donde el índice de saponificación de la semilla peruana se muestra en color naranja. Los valores obtenidos no fueron tan elevados como los esperados debido a que la tendencia es decreciente dependiendo del tiempo de almacenamiento, debido a la oxidación que sufren los ácidos grasos, donde estos pasan por una transformación en otros compuestos de naturaleza no saponificable. Los valores superiores a 160 mg KOH/g aceite indican la presencia de ácidos grasos de alto peso molecular presentes en la molécula de triglicérido, por lo que es posible que se tenga la cantidad de ácidos poliinsaturados en el aceite obtenido que se espera, mas no en la concentración obtenida por Ixtania (2010). Estos resultados también pueden deberse a que el tiempo de saponificación no fue el suficiente, por lo que el triglicérido no pudo liberar en su totalidad los ácidos grasos, y al entrar en contacto con el hidróxido de potasio este logro neutralizar solo los ácidos grasos que pudieron ser liberados durante la hora que duro el proceso de saponificación.

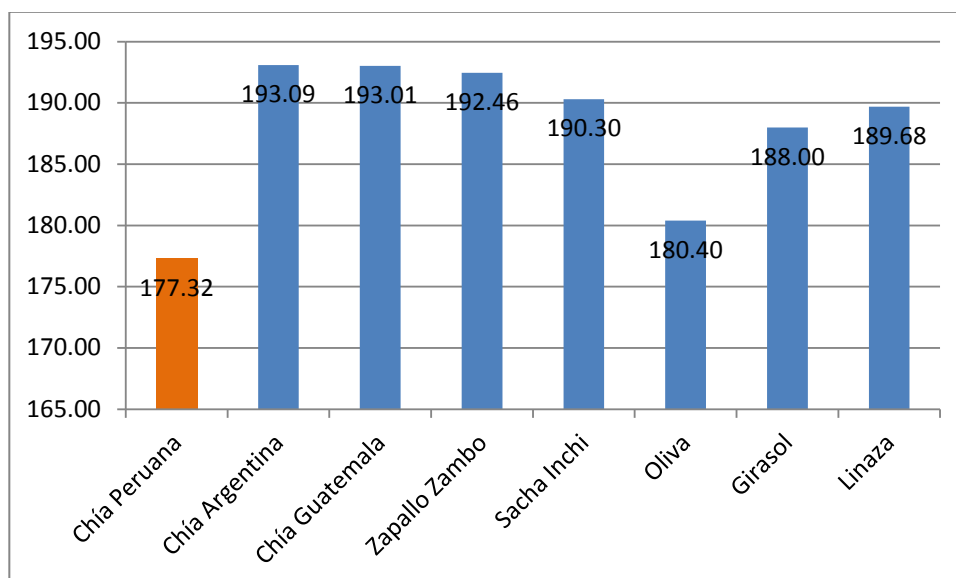


Figura N° 28. Índice de saponificación de diferentes tipos de semilla

La Figura N° 28 muestra los valores del índice de saponificación obtenido en distintos tipos de semillas en el cual se observan valores superiores a los obtenidos del aceite de semilla peruana. En el caso del aceite de oliva se observa que el valor reportado por Ixtania (2010) es conforme con los valores que el CODEX STAN 33-1981 indican para el aceite de oliva virgen los cuales deberían encontrarse entre 184 – 196 mg de KOH/g de aceite. Respecto a los valores reportados por Zanabria (2012) y Choquenaira (2013) para sachá inchi y zapallo vemos que no se tiene mucha diferencia entre ellos, los cuales también se encuentran cercanos de los valores reportados por Pérez (2004) para semillas de girasol, los reportados por Velasco (2004) para linaza. Ya que el aceite obtenido de chía es un aceite virgen porque no contiene aditivos adicionales, este debería tener un índice de saponificación superior al reportado en el CODEX.

4.4.2. Índice de yodo

Los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos no saturados reaccionan con el yodo, o algunos compuestos de yodo, formando compuestos por adición. Por lo tanto, mientras más bajo es el índice de yodo, más alto es el grado de saturación de una grasa o aceite. La grasa, previamente disuelta, se mezcla con un volumen de solución de monoclóruo de yodo.

La cantidad de yodo que no se adiciona a los dobles enlaces de los ácidos grasos, se valora en forma de triyoduro con tiosulfato de sodio en presencia de almidón como indicado.

Tabla N° 12

Índice de yodo obtenido de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.)

Peso muestra (g)	Normalidad (meq/mL)	Titulo blanco (mL)	Titulo muestra (mL)	Índice de yodo (g I ₂ /100 g aceite)
0.104	0.0541	46.5	27.8	123.44
0.103	0.0541	46.5	28.0	123.30
0.106	0.0541	46.5	27.5	123.06

La Tabla N° 12 muestra los valores obtenidos de índice de yodo realizado por triplicado, obteniendo como valor máximo 123.44 g I₂/100 g aceite, con una normalidad de 0.0541 meq/mL al valorar el titulante con dicromato de potasio.



Figura N° 29. Índice de yodo en muestra de chía

La Figura N° 29 muestra las repeticiones realizadas con la muestra de aceite de chía para la obtención del índice de yodo, en la imagen de la izquierda se observan las muestras previo a la titulación con tiosulfato de sodio, en la imagen de la derecha se muestra los matraces posteriores a la titulación, teniendo la desaparición del color luego de agregar el almidón.

Tabla N° 13
Estadísticas descriptivas índice de yodo

Estadístico	<i>Salvia hispanica L.</i> (Perú)
Media	123.26
Mediana	123.30
Moda	123.06
Desviación Estándar	0.16
Varianza	0.03
Mínimo	123.06
Máximo	123.44

La Tabla N° 13 muestra que los datos obtenidos por triplicado muestran un bajo margen de error entre ellos, debido a que se tienen datos agrupados como resultado de la prueba, esto es comprobable debido a que la desviación estándar (0.16) comparada con el máximo valor (123.44) obtenido se encuentran formando una pendiente positiva, confirmando que los datos se encuentran agrupados. Estos resultados se sometieron a pruebas estadísticas, donde se realizó una comparación con datos obtenidos en bibliografía de semilla proveniente de Argentina y Guatemala.

Tabla N° 14
Comparativo índice de yodo por país

		VALORES	PERU	INDICE DE VARIACIÓN
ARGENTINA	MEDIA + DESV.	211.6	123.4	1.71
	MEDIA	210.5	123.3	1.71
	MEDIA - DESV.	209.4	123.1	1.70
GUATEMALA	MEDIA + DESV.	215.9	123.4	1.75
	MEDIA	215	123.3	1.74
	MEDIA - DESV.	214.1	123.1	1.74

La Tabla N° 14 muestra que el índice de yodo obtenido del aceite de semilla de chíá se encontró en un promedio de 123.06 ± 0.16 g I₂/100 g aceite, valores que resultaron menores que los reportados en semilla Argentina 210.5 ± 1.1 g I₂/100 g aceite, y para los reportados para aceite de semilla proveniente de Guatemala 215 ± 0.9 g I₂/100 g aceite. De igual forma se puede apreciar en la Figura N° 30, donde se observa valor para el índice de yodo de semilla peruana identificado de color naranja es inferior a los obtenidos para semillas extranjeras. Los valores obtenidos no fueron los esperados debido a que la velocidad de adición del yodo a los dobles enlaces es muy lenta, y el tiempo de dos horas no fue el suficiente o es posible que al contener ácidos grasos con dos o tres dobles enlaces, al ser estos más sensibles a la oxidación, se produjera un enranciamiento del aceite. Sin embargo los valores obtenidos se encuentran dentro de los valores aceptados para aceites provenientes de oleaginosas, los cuales no serían apropiados de encontrarse bordeando valores inferiores a 60 g I₂/100 g aceite, característicos de grasas animales.

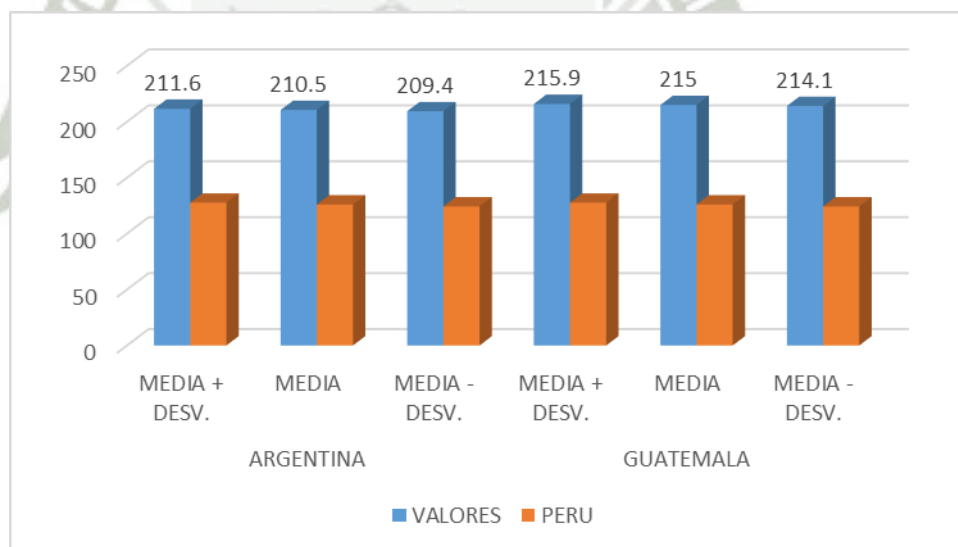


Figura N° 30. Comparativo índice de yodo por país

La Figura N°31 muestra el índice de yodo obtenido en el análisis a diferentes tipos de semillas, en el caso de zapallo reportado por Choquenaira (2013) se observan que el valor obtenido es inferior al aceptado para aceites de oleaginosas, sin embargo los valores reportados para aceite de oliva se encuentran dentro del rango propuesto en el CODEX STAN 33-1981, que

indica que el índice de yodo para aceite de oliva virgen debe encontrarse en un rango de 75-94 g I₂/100 g aceite. En el caso de girasol y linaza los valores son aceptados ya que tienen valores superiores a 100 g I₂/100 g aceite característico de aceites provenientes de oleaginosas. (Rodríguez, 2013)

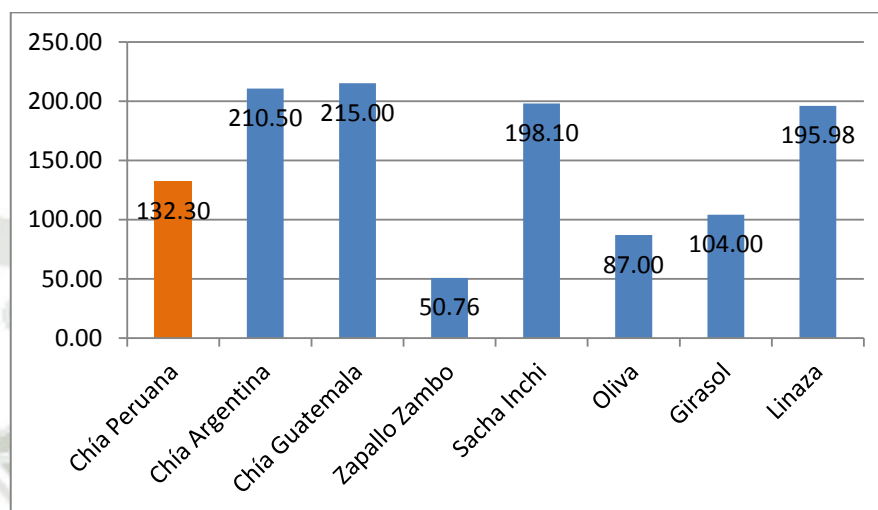


Figura N° 31. Índice de yodo en diferentes tipos de semilla

4.4.3. Índice de Peróxido

La causa de la alteración de los aceites puede ser el resultado de una reacción tanto química como bioquímica pero la oxidación de las grasas es más frecuente por efecto de reacciones químicas. Lo esencial es que los dobles enlaces de sus ácidos grasos constituyentes, reaccionan con el oxígeno del aire formando compuestos que al descomponerse originan otros, a los cuales se les atribuye el olor y sabor desagradables característicos de las grasas oxidadas, y es esto lo que se conoce con el nombre de rancidez. Las sustancias que oxidan el yoduro de potasio en las condiciones descritas se supone son peróxidos u otros productos similares de oxidación del aceite, por lo que el índice obtenido puede tomarse, en una primera aproximación, como una expresión cuantitativa de los peróxidos del aceite. El oxígeno activo resultante de la oxidación de los aceites, reacciona con el yoduro de potasio liberando yodo, el cual se valora con tiosulfato de sodio utilizando solución de almidón como indicador.

Tabla N° 15
Índice de peróxido de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.)

Peso muestra (g)	Normalidad (meq/mL)	Titulo muestra (mL)	Índice (meq peróxido/kg)
1.005	0.0541	0.1	5.38
1.003	0.0541	0.1	5.39
1.006	0.0541	0.1	5.38

Esta prueba se realizó en un inicio con un titulante de 0.002N de concentración, sin embargo, la titulación se extendió por varias horas y casi alcanzando a un gasto de 100 mL sin presentar un cambio de color permanente en la solución, debido a esto se decidió concentrar más el titulante hasta alcanzar una normalidad de 0.05 N. El valor menor obtenidos de las tres repeticiones realizadas fue de 5.38 meq peróxido/kg, siendo un valor que se obtuvo duplicado. El gasto del titulante se mantuvo constante en las tres repeticiones en un 0.1 mL de tiosulfato de sodio.

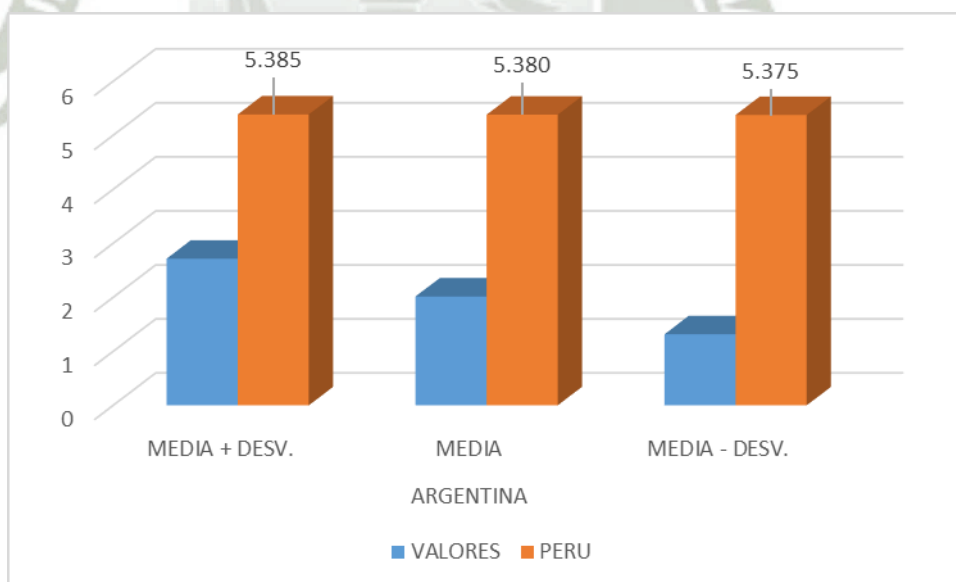
Tabla N° 16
Estadísticas descriptivas índice de peróxido

Estadístico	<i>Salvia hispanica</i> L. (Perú)
Media	5.38
Mediana	5.38
Moda	5.38
Desviación Estándar	0.00
Varianza	0.00
Mínimo	5.38
Máximo	5.39

La Tabla N° 16 muestra los datos obtenidos de la estadística descriptiva de los valores de índice de peróxido, donde se tiene un promedio de 5.38 ± 0.00 meq peróxido/kg. Los datos obtenidos no presentan un error considerable debido a la relación entre la desviación estándar y el máximo valor obtenido, los cuales forman una pendiente positiva. Estos resultados se sometieron a pruebas estadísticas, donde se realizó una comparación con datos obtenidos en bibliografía de semilla proveniente de Argentina.

Tabla N° 17
Comparativo índice de peróxido por país

		VALORES	PERU	INDICE DE VARIACIÓN
ARGENTINA	MEDIA + DESV.	2.715	5.385	0.50
	MEDIA	2.015	5.380	0.37
	MEDIA - DESV.	1.315	5.375	0.24


Figura N°32. Comparativo índice de peróxido por país

La Tabla N° 17 y Figura N°32 muestra que el índice de peróxido obtenido del aceite de semilla de chía se encontró en un promedio de 5.38 meq O_2 /kg, valores

que resultaron mayores que los reportados en semilla Argentina 2.01 meq/kg. Los valores obtenidos no fueron tan bajos como los esperados debido a que el aceite analizado puede estar compuesto en su mayoría por ácidos grasos saturados o contener en una baja concentración ácidos grasos poliinsaturados, o que debido al tiempo de almacenamiento el aceite sufrió oxidación. Sin embargo, un valor de ≤ 20 meq O₂/kg en un aceite extra virgen es aceptado, por lo que se acepta el valor obtenido.

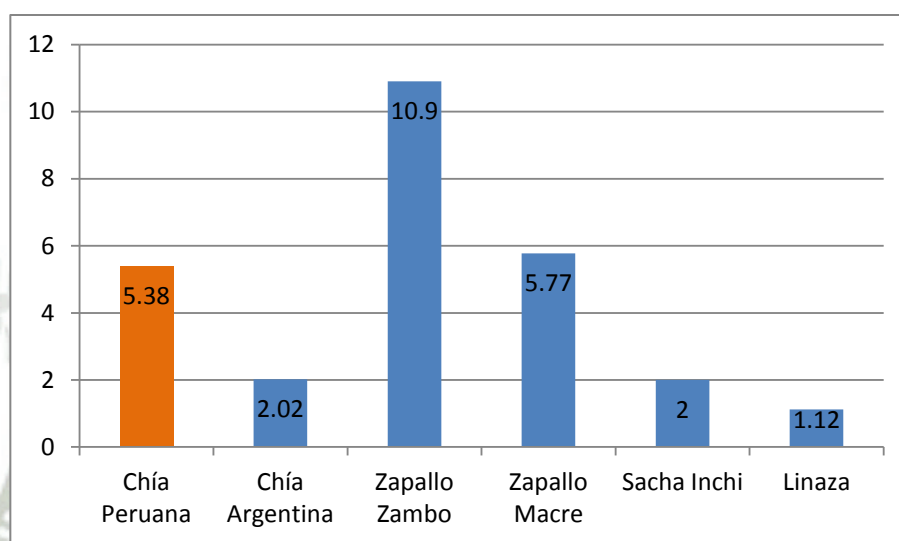


Figura N°33. Índice de peróxido en diferentes tipos de semilla

La Figura N° 33 muestra el índice de peróxido obtenidos en la evaluación de distintos aceites obtenidos de oleaginosas, en el caso del zapallo Zambo reportado por Choquenaira (2013), se observa un índice de peróxido muy elevado lo que indica un aceite en proceso de enranciamiento debido a un mal almacenamiento del aceite o presencia de microorganismos, en el caso de zapallo Macre al igual que en la muestra de chía peruana tienen un índice de peróxido por encima de los esperado, pudiendo deberse a la presencia de ácidos grasos con dos o tres dobles enlaces que son mas susceptibles a la oxidación del aceite. Respecto a los valores reportados por Ixtania (2010) y Zanabria (2012) para aceite de chía Argentina, linaza y sachu inchi respectivamente, se tienen valores bajos lo que nos permite deducir que estos aceites se encuentran en buen estado a pesar de las posibles exposiciones a factores de oxidación. Considerar la adición de antioxidantes a los aceites obtenidos sería favorable a fin de preservar no solo su

contenido lipídico, sino también sus vitaminas liposolubles (A y tocoferoles), además de ser un aceite libre de olores y sabores desagradables, los cuales pueden resultar tóxicos al consumidor, evitando la aceptación de productos locales en el mercado.

4.5. Caracterización de ácidos grasos presentes en el aceite de chía

Se analizó el perfil de ácidos grasos debido a la abundante información que se señala sobre esta semilla como fuente de ácido graso poliinsaturados; además confirmar si estos datos reportados tienen alguna variación con las semillas cultivadas en la ciudad de Arequipa.

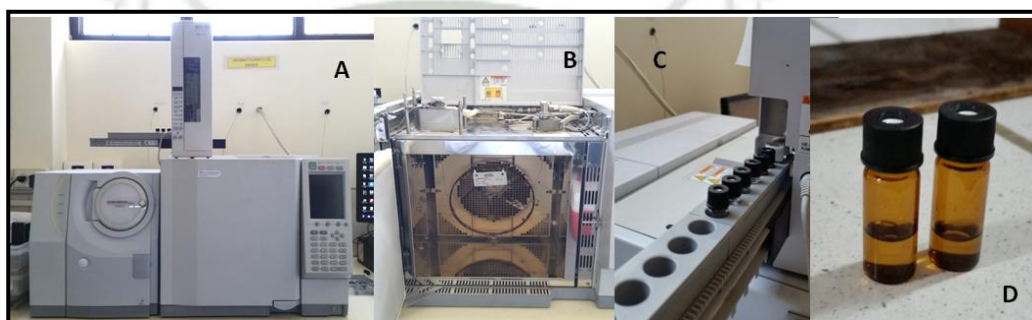


Figura N° 34. Componentes del cromatógrafo de gases y muestra FAME

La Figura N° 34 muestra en la imagen A el cromatógrafo empleado en la identificación de los ácidos grasos, en la imagen B la columna RESTEK #35077 específica para identificación de ácidos grasos en su forma metilada, en la imagen C se muestra el carrito porta muestras, lugar donde la aguja de inyección absorbe la muestra para luego inyectarla hacia la columna, considerando previamente un paso de lavado con hexano de calidad cromatográfica, la imagen D muestra los viales cargados de muestra para ser inyectados en el equipo.

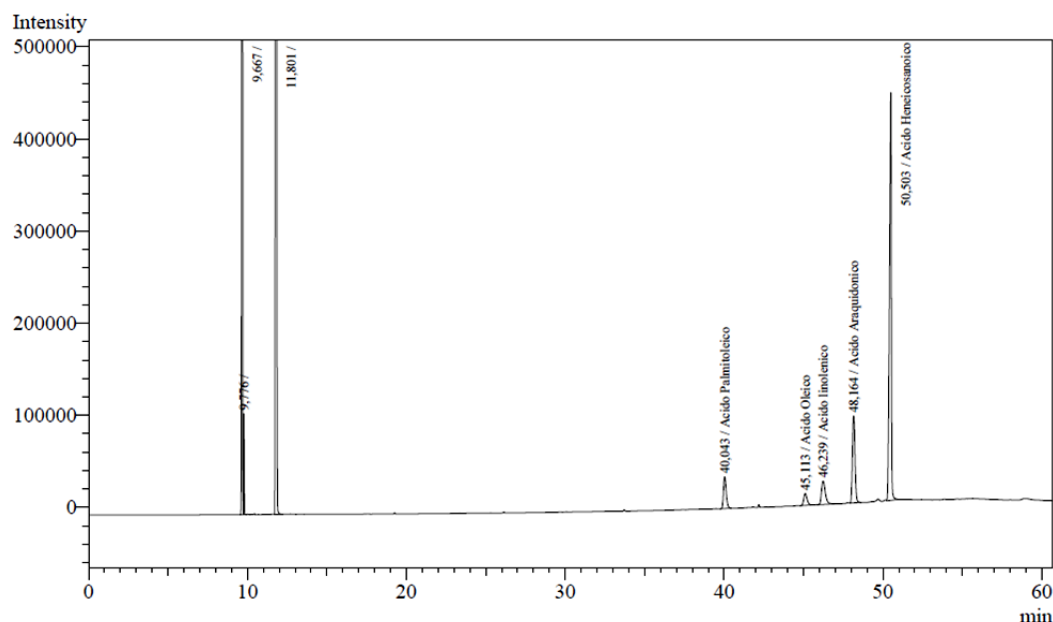


Figura N° 35. Identificación de ácidos grasos

La Figura N° 35 muestra los picos identificados, pertenecientes a los ácidos grasos presentes en el aceite de chía peruana analizada. Al inicio de la corrida cromatográfica se muestran dos picos de gran tamaño posiblemente residuos del solvente empleado para realizar el lavado de la columna previo a la inyección de la muestra en forma de FAME, a partir de los 40 minutos es que se comienzan a reconocer los ácidos grasos presentes en el aceite. Los ácidos grasos presentes en el aceite, así como los tiempos de retención se muestran en la Tabla N°18.

Tabla N° 18

Identificación de ácidos grasos presentes en aceite de semilla de chía

# Pico	Tiempo de Retención (min)	Área	Peso	Concentración	Nombre Compuesto
1	40.043	408163	34377	7.420%	Ac. Palmitoleico
2	45.113	185159	12914	3.258%	Ac. Oleico
3	46.239	429535	25329	7.702%	Ac. Linolénico
4	48.164	1080359	94422	18.592%	Ac. Araquidónico
5	50.503	3686746	441759	63.029%	Ac. Heneicosanoico

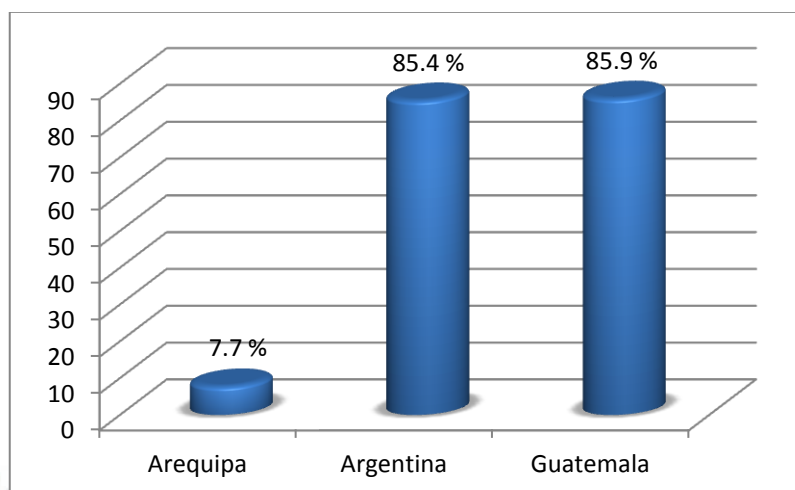


Figura N° 36. Comparación del contenido de ácidos grasos poliinsaturados en aceite de chía por país

Los principales ácidos grasos presentes en el aceite fueron: Heneicosanoico > Araquidónico (C20:4) > Linolénico (C18:3) > Oleico (C18:1) > Palmitoleico (C16:1). Estos resultados no son concordantes con los estudios realizados previamente (Ixtania, 2010), en los cuales el principal ácido graso fue el ácido α -linolénico en un rango de 65.6 – 69.3%, seguido del ácido linoléico en un rango de 16.6-19.7%, los cuales nos dan un total de ácidos grasos poliinsaturados de 85.4 – 85.9%. A pesar de que en el presente trabajo se identificaron ambos ácidos como ácido linolénico (ácidos poliinsaturados totales) en concentración del 7.7% es considerado muy bajo en comparación con los valores reportados previamente. Se cree que una de las razones por las cuales se obtuvieron estas concentraciones bajas es debido a ciertos factores ambientales como son temperatura, luz, tipo de suelo y nutrición de las plantas que afectan la calidad del aceite. Basado en la investigación reportada por Ayerza (1995) donde las temperaturas medias y el contenido de ácido linolénico tiene una correlación negativa o en el caso de Howell y Collins (1957) donde reportaron que las temperaturas altas reducen la formación del ácido linolénico en oleaginosas.

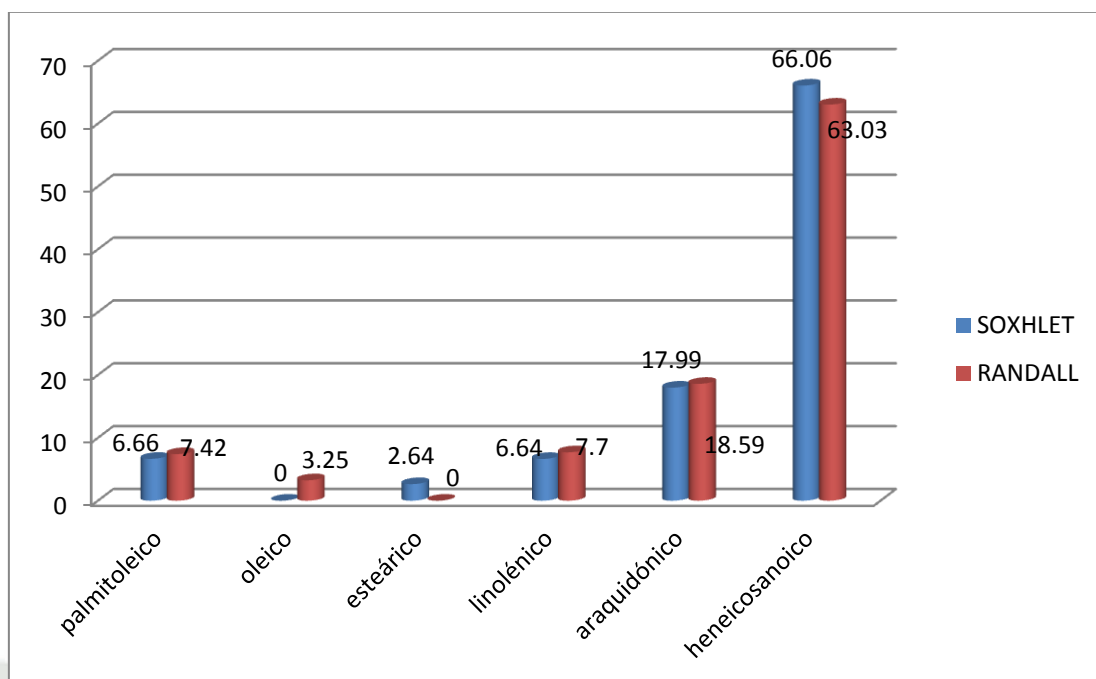


Figura N° 37. Comparación del contenido de ácidos grasos en aceite de chía

Otra posible explicación a que los datos obtenidos no fueran los esperados, es que en la etapa de ebullición en el proceso de extracción bajo el método de Randall se pudieron degradar los ácidos grasos presentes debido al calentamiento de la placa inferior a 110°C ; para descartar dicha idea se realizó una extracción bajo el método convencional Soxhlet, bajo una temperatura controlada que no superó los 60°C , posterior a la extracción se realizó la metilación de los ácidos grasos según el procedimiento indicado en el Capítulo III y se procedió a una corrida cromatográfica, los resultados se observan en la Figura N° 37 donde se muestra una comparación entre ambos ácidos grasos presentes en la muestra de aceite. En el caso del ácido palmitoleico (C16:1) se presenta en mayor concentración bajo el método de Randall con una diferencia del 0.76%, lo mismo que sucede en el caso del ácido araquidónico (C20:4) con una diferencia de 0.6% y con el ácido linolénico (C18:3) con una diferencia de 1.06% a favor del método de Randall. Al contrario del ácido heneicosanoico (C21:0) el cual se encuentra en mayor concentración empleando el método de Soxhlet para la extracción. La mayor diferencia entre ambas extracciones es la presencia de ácido esteárico (C18:0) bajo el método de Soxhlet y la presencia de ácido oleico

(C18:1) bajo el método de Randall, de esta información se puede concluir que el oleico presente en el aceite extraído bajo el método de Soxhlet se encuentra saturado posiblemente por una hidrogenación durante el proceso de extracción o metanólisis lo que genera que se convierta en ácido esteárico. En base a este análisis se puede inferir que la extracción bajo el método de Randall en la etapa de ebullición no altera el contenido de ácidos grasos en el aceite, además que este método permite mantener a los ácidos grasos presentes sin alteraciones conservando sus propiedades de insaturación con beneficios directos a la salud debido a su consumo, a pesar que el ácido omega-9 no sea considerado un ácido graso esencial.



CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación se puede concluir:

Primera: Se determinó el rendimiento de aceite obtenido de semilla de chía por método de extracción con solventes aplicando el método de Randall, obteniendo un promedio de 32.09%.

Segunda: Se determinaron las características fisicoquímicas, obteniendo 7.14% de humedad, índice de yodo de 123.26 g I₂/100 g aceite, índice de saponificación de 177.32 mg KOH/g aceite e índice de peróxidos de 5.38 meq O₂/kg del aceite obtenido.

Tercera: Se determinaron los ácidos grasos presentes en el aceite extraído, los cuales fueron ácido heneicosanoico (63.02%) > araquidónico (18.59%) > linolénico (7.7%) > Oleico (3.2%) > Palmitoleico (7.4%)

CAPÍTULO VI

SUGERENCIAS

Se sugiere realizar la extracción empleando fluidos supercríticos, ya que permiten preservar el aceite sin modificar sus características fisicoquímicas, evitando la contaminación con solventes y la degradación de los ácidos grasos debido a las altas temperaturas. De igual forma se sugiere un posterior estudio sobre los factores que alteran la composición de ácidos grasos presentes en la semilla de chía, a fin de implementar una mejora en las cosechas de productos emergentes.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ALABDULKARIM B., BAKEET Z. Y ARZOO S. Role of some functional lipids in preventing diseases and promoting health. Arabia Saudita.2012
2. AOCS. Official method of analysis; 17th edition. Revision 1.2002
3. AOCS Official method 996.06. Preparation of methyl ester of long-chain fatty acids.2005
4. AUTINO H. Temas selectos en aceites y grasas, procesamiento. Brasil.2009
5. AYERZA R. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from Five Northwestem Locations in Argentina. EEUU.1995
6. AYERZA R. Y COATES W. Nuevos cultivos industriales: Proyecto Regional del noroeste de Argentina. Proceso de nuevos cultivos. EEUU. 1996
7. AYERZA R. Y COATES W. Rediscovering a forgotten crop of Aztecs. EEUU. 2005
8. BERG J.M., TYMOCZKO J.L., STRYER L. Bioquímica. EEUU.2002
9. BOCKISCH M. Extraction of vegetable oils. EEUU. 1998
10. BRUNNER G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. EEUU. 2005
11. CHOQUENAIRA R., RIVAS S. Extracción del aceite de las semillas de Cucurbita máxima Dutch var. Macre y var. Zambo, determinación de ácidos grasos insaturados libres (ácido oleico, ácido linoleico y ácido α -linoleico) de su efecto antibacteriano contra *Escherichia coli* y *Shigella flexneri*. Perú. 2013
12. DABRIO M. Cromatografía de Gases. Volumen I. España.1971
13. DABRIO M. Cromatografía de Gases. Volumen II. España.1971
14. DEAN J. Methods for environmental trace analysis, Analytical Techniques in the Sciences. 2003
15. GUNTUZEIN J. Handbook of chromatography, general data and principles. EEUU. 2000
16. HAWTHORNE S. Analytical-Scale Supercritical Fluid Extraction.1990
17. HORROCKS L., YEO Y. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA), Pharmacological Research. 1999
18. HOWELL R., COLLINS F. Factors affecting linolenic and linoleic acid content of soybean. 1957

19. JARAMILLO Y., GIL M. La chia (salvia hispanica L.), una fuente de nutrientes para el desarrollo de alimentos saludables.2013
20. KATAN M.B. Efectos de los ácidos grasos individuales sobre el colesterol sérico total y el de las lipoproteínas. 1993
21. KAMOFISKY G. The theory of solvents extraction I. Oil extraction. 1949
22. KAMOFISKY G. Design of oil seed extractors I. Oil extraction. 1987
23. LOBO R., FUENTES J., MORANDINI M. Desarrollo del cultivo de chia en Tucumán. Avance Agroindustrial. Argentina. 2009
24. LUQUE DE CASTRO M., VALCARCEL M., TENA M. Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico. Barcelona.1993
25. MARTINEZ M. Plantas útiles de la flora mexicana. Mexico.1959
26. MATTEA F., IXTANIA V., NOLASCO S. Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Characterization of Argentinean chia seed oil. EEUU. 2010
27. MILLER J., CROWTHER J. Analytic Chemistry in a GMP Environment. 2000
28. MIRANDA F. La vegetación de Chiapas. México. 1978
29. NARVAEZ P., Producción de ésteres metílicos de ácidos grasos: variables asociadas al proceso de transformación. Colombia. 2004
30. NIELSEN S. Food analysis. Crude fats analysis. EEUU. 1998
31. NMX-G-075-1987. Alimentos. Determinación de la densidad relativa en aceites y grasas vegetales o animales. Dirección General de Normas. 1987
32. NMX-F-152-S-1981. Alimentos para humanos. Aceites y grasas vegetales o animales. Determinación del índice de yodo por el método de Wijs. 1981
33. NMX-F-154-S-1987. Alimentos para humanos. Aceites y grasas vegetales o animales. Determinación del índice de peróxidos. Dirección General de Normas.1981
34. NMX-F-174-S-1981. Alimentos para humanos. Determinación del índice de saponificación en aceites y grasas vegetales o animales. Dirección General de Normas. 1981
35. NOLLET L. Handbook of food analysis. EEUU. 1996
36. OLGUIN L., RODRIGUEZ H. Métodos en Biotecnología. Cromatografía de Gases. 2004

37. PEREZ EE, CARELLI AA. Chemical characterization of oils and meal from wild sunflower (*Helianthus petiolaris* nutt). 2004
38. RODRIGUEZ J. Implementación del análisis cuantitativo de índice de yodo para aceite de palma, aceite de pescado y sebo, en la compañía industrial de productos agropecuarios (CIPA S.A.). 2013
39. SALFATE T. Ácidos Grasos Omega-3 y Omega-6 en las raciones alimenticias del programa de alimentación escolar JUNAEB. 2006
40. SILVEIRA M., MONEREO S. Alimentos funcionales y nutrición óptima. España. 2003
41. SIMOPOULUS A. The importance of omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic disease. 2008
42. SONG J., FUJIMOTO K., MIYAZAWA T. Polyunsaturated (n-3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid-containing oils. 2000
43. TAGA MS, MILLER EE. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. 1984
44. TRUJILLO T. Desarrollo y validación de una técnica analítica por cromatografía de gases para la determinación de ácidos grasos trans en snacks salados, cobertura de chocolate y sus probables componentes- Arequipa 2014. Perú. 2015
45. TURRILLAS E. Preparación de muestras para el análisis de plaguicidas mediante microondas y fluidos presurizados. 2007
46. VALVERDE A., FERNANDEZ-ALBA A., CONTRERAS M. Extraction of Methamidophos Residues from vegetables with Supercritical Fluid Carbon Dioxide. 1995
47. VELASCO I, TECATE A. Extracción y caracterización del aceite de semilla de chia (*Salvia hispanica* L.): estudio para su valoración y aprovechamiento. Mexico. 2004
48. VELD SCIENTIFICA – SER 148 Manual. 2010
49. WATSON G. Nahuatl Word in American English. American Speech. 1938
50. WENCLAWIAK B. Analysis with Supercritical Fluid: Extraction and Chromatography. 1992

51. WILGARD MR, PIHILIPS RC. The determination of the rate extraction of crude lipids from oilseeds with solvents. 1949
52. WILSON H., KLEE M. Analysis of sulfur and phosphorus compounds with a flame photometric detector on the Agilent 6890 Series Gas Chromatograph. Innovating the HP way Manual. 1997
53. IXTANIA V. Caracterización de la semilla y el aceite de chia (*Salvia hispanica* L.) obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en tecnología de alimentos. Argentina. 2010
54. IXTANIA V., GIMENO M., BÁRZANA E. Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): characterization and process optimization. 2010
55. ZANABRIA S. Extracción de aceites de semillas de *Plukenetia Voluvillis* L. “Sacha Inchi” por fluidos supercríticos (FSC) y determinación de los ácidos grasos linolénico, linoleico y oleico por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) Arequipa 2012. Perú. 2012



ANEXOS

Estándar mix de FAME #35077

Lista de componentes y ficha técnica del estándar mix de FAME

ID #	NOMBRE	TIEMPO DE RETENCION	CONCENTRACION
1	Acido Butírico	11.202	4
2	Acido Caprilico	13.404	4
3	Acido Caproico	17.251	4
4	Acido Decanoico	22.548	4
5	Acido Undecanoico	25.436	2
6	Acido Dodecanoico	28.345	4
7	Acido Tridecanoico	31.175	2
8	Acido Mirístico	33.934	4
9	Acido Miristoleico	36.150	2
10	Acido Pentadecanoico	36.557	2
11	Acido Cis-Pentadecano	38.726	2
12	Acido Palmitico	39.110	6
13	Acido Palmitoleico	40.855	2
14	Acido Heptadecanoico	41.490	2
15	Acido Cis-Heptadecanoico	43.211	2
16	Acido Esteárico	43.819	4
17	Acido Octadecanoico	44.835	2
18	Acido Oleico	45.293	4
19	Acido Linolenico	46.456	2
20	Acido Linoleico	47.449	2
21	Acido Araquidónico	48.161	4
22	Acido Cis-Linoleico	49.051	2
23	Acido Eicosanoico	49.519	2
24	Acido Cis-9,12 Linoleico	49.900	2

25	Acido Heneicosanoico	50.192	2
26	Acido Eicosadienoico	51.588	2
27	Acido Behenoico	52.230	4
28	Acido Eicosatrienoico	53.170	2
29	Acido Erucico	53.591	2
30	Acido Cis-Eucosatrinoico	54.1017	2
31	Acido Cis-Araquidonico	54.235	2
32	Acido Tricosanoico	54.428	2
33	Acido Docosadienoico	55.708	2
34	Acido Lignoserico	56.094	4
35	Acido Cis-5,8,11,14,17	56.327	2
36	Acido Nervonico	57.096	2
37	Acido Cis-4,7,10,13,16	57.768	2

